



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I868465 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：111125911

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 06 日

(51)Int. Cl. : A61K47/68 (2017.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61K31/4745 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/10/07 日本

2016-199341

2017/05/16 日本

2017-097589

2017/09/08 日本

2017-172814

(71)申請人：日商第一三共股份有限公司(日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED
(JP)

日本

(72)發明人：慈幸貴洋 JIKOH, TAKAHIRO (JP)；扇谷祐輔 OGITANI, YUSUKE (JP)；吉原一孝 YOSHIHARA, KAZUTAKA (JP)；遠藤聖子 ENDO, SEIKO (JP)；藤崎良彦 FUJISAKI, YOSHIHIKO (JP)

(74)代理人：王彥評；賴碧宏

審查人員：官速貞

申請專利範圍項數：47 項 圖式數：14 共 138 頁

(54)名稱

抗HER2抗體-藥物結合物之用途

(57)摘要

本發明提供對既存的抗HER2藥具抗性或難治性之HER2表現癌的治療劑及治療方法，其中使用由式：-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)所示之連接物(linker)及藥物與抗HER2抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugate)，作為對於對既存的抗HER2藥具抗性或難治性之HER2表現癌的有效治療。

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗 HER2 抗體-藥物結合物之用途

【中文】

本發明提供對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的治療劑及治療方法，其中使用由式：
-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX) 所示之連接物 (linker) 及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物 (antibody-drug conjugate)，作為對於對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的有效治療。

【指定代表圖】

無。

【代表圖之符號簡單說明】

無。

【特徵化學式】

無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗 HER2 抗體-藥物結合物之用途

【技術領域】

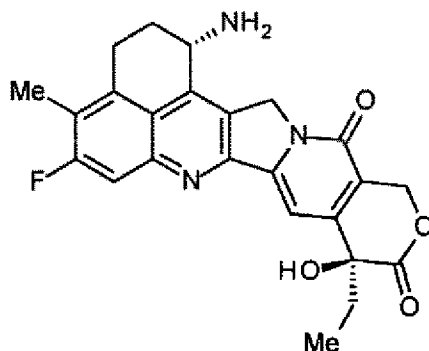
【0001】本發明係關於利用抗體-藥物結合物 (antibody-drug conjugate) 之藥劑抗性癌 (以下亦簡記為「抗性癌」) 之治療，特別係關於獲得抗性之癌的治療，該抗體-藥物結合物係將抗 HER2 抗體與依喜替康 (exatecan) 經由連接物 (linker) 結構鍵結而成。

【先前技術】

【0002】在結合至表現於癌細胞表面且可內化 (Internalization) 至細胞之抗原的抗體上，鍵結具有細胞毒性之藥物而成之抗體-藥物結合物 (Antibody-Drug Conjugate; ADC)，可期待藉由可選擇性地將藥物送達至癌細胞而使藥物蓄積在癌細胞內，消滅癌細胞 (非專利文獻 1~3)。作為 ADC，例如，抗 CD33 抗體與卡奇黴素 (calicheamicin) 鍵結而成之 Mylotarg (註冊商標; INN: 吉妥珠單抗奧佐米星 (Gemtuzumab ozogamicin)) 已被認可作為急性骨髓性白血病的治療藥。又，抗 CD30 抗體與奧瑞他汀 (auristatin) 鍵結而成之 Adcetris (註冊商標; INN: 本妥昔單抗維多汀 (Brentuximab vedotin)) 已被認可作為何杰金氏淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma) 與未分化大細胞型淋巴瘤 (anaplastic large-cell lymphoma) 的治療藥 (非專利文獻 4)。再者，經由連接物結構而將為抗 HER2 抗體之曲妥珠單抗 (Trastuzumab) 與為抗腫瘤

性藥物之類美登素(maytansinoid)(DM1)鍵結而成之Kadcyla(註冊商標；T-DM1；INN：曲妥珠單抗依坦辛(Trastuzumab Emtansine)；非專利文獻 34)亦已被認可。至今已被認可之 ADC 所含有之藥物係以 DNA 或微管蛋白為標的(target)。

【0003】作為抗腫瘤性的低分子化合物，已知有喜樹鹼衍生物，其係抑制拓撲異構酶 I 而表現抗腫瘤作用的化合物。其中，下式：



【0004】所示之抗腫瘤性化合物(依喜替康，IUPAC名：(1S,9S)-1-胺基-9-乙基-5-氟-1,2,3,9,12,15-六氫-9-羥基-4-甲基-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮((1S,9S)-1-amino-9-ethyl-5-fluoro-1,2,3,9,12,15-hexahydro-9-hydroxy-4-methyl-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinoline-10,13-dione)(亦可表現成化學名：(1S,9S)-1-胺基-9-乙基-5-氟-2,3-二氫-9-羥基-4-甲基-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-10,13(9H,15H)-二酮((1S,9S)-1-amino-9-ethyl-5-fluoro-2,3-dihydro-9-hydroxy-4-methyl-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinoline-10,13(9H,15H)-dione)))係水溶性的喜樹鹼衍

生物(專利文獻 1、2)。此化合物與現在臨床所使用之愛萊諾迪肯(Irinotecan)不同，其為了表現抗腫瘤效果，不需要利用酵素之活化。又，被觀察到比為愛萊諾迪肯的藥效本體之 SN-38、同樣在臨床所使用之托普樂肯(topotecan)更強之拓撲異構酶 I 抑制活性，已確認在活體外(in vitro)對各種癌細胞之更強的殺細胞活性(cytocidal activity)。尤其，已確認對於藉由 P-醣蛋白(P-glycoprotein)的表現而對 SN-38 等顯示抗性之癌細胞亦有效果。又，已確認在小鼠之人類腫瘤皮下移植模式亦有強抗腫瘤效果，但已進行臨床試驗之藥物尚未上市(非專利文獻 5~10)。關於依喜替康作為 ADC 的藥物是否有效地作用，仍未明確。

【0005】DE-310 係生物分解性之羧甲基葡聚糖多元醇聚合物(carboxymethyldextran polyalcohol polymer)與依喜替康經由 GGFG 肽間隔物(spacer)所鍵結而成之複合物(專利文獻 3)。其藉由將依喜替康進行高分子前驅藥化，而保持高的血中滯留性，再利用腫瘤新生血管的滲透性之亢進與腫瘤組織滯留性，而被動性地提高往腫瘤部位之指向性。DE-310 係藉由利用酵素之肽間隔物的剪切，而為活性本體之依喜替康、及甘胺酸與胺基鍵結之依喜替康被持續地游離，其結果藥物動力(pharmacokinetics)被改善。在非臨床試驗中之各種腫瘤的評價模式中，DE-310 即使其所含之依喜替康的總量較依喜替康單劑的投予時更為減少，亦顯示較單劑的投予時更高的有效性。關於 DE-310，亦已實施臨床試驗

而確認有效例，並有報告指出確認相較於正常組織，活性本體更聚集在腫瘤。另一方面，亦有報告指出，往腫瘤之 DE-310 及活性本體的聚集與往正常組織的聚集之差別並不大，在人體中未觀察到被動性的靶向作用 (targeting)(非專利文獻 11~14)。就結果而言，DE-310 亦未上市，關於依喜替康是否有效地發揮作為指向此種靶向作用之藥物的功能，仍未明確。

【0006】作為 DE-310 的相關化合物，雖亦已知有將 -NH-(CH₂)₄-C(=O)-所示之結構部分插入 -GGFG-間隔物與依喜替康之間，將 -GGFG-NH-(CH₂)₄-C(=O)-作為間隔物結構之複合物(專利文獻 4)，但關於此複合物之抗腫瘤效果則完全未知。

【0007】HER2 係被鑑定為第二型人類表皮生長因子受體相關癌基因之代表性生長因子受體型之癌基因產物之一，係具有分子量 185kDa 之酪胺酸激酶域 (tyrosine kinase domain) 的跨膜型受體蛋白 (非專利文獻 15)。HER2 之 DNA 序列及胺基酸序列已被公開在公共資料庫上，例如可藉由 M11730(Genbank)、NP_004439.2(NCBI)等之登錄編號而參照。

HER2(neu, ErbB-2) 係 EGFR(epidermal growth factor receptor: 表皮生長因子受體)家族之一，已知藉由形成同型二聚體(homodimer)、或形成與為其他 EGFR 受體之 HER1(EGFR, ErbB-1)、HER3(ErbB-3)、HER4(ErbB-4)的異型二聚體(heterodimer)(非專利文獻 16~18)，細胞內酪胺酸殘基被自磷酸化而進行活化，

藉此於正常細胞及癌細胞中，在細胞的增殖・分化・生存上扮演重要的角色(非專利文獻 19、20)。有報告指出 HER2 在乳癌、胃癌、卵巢癌等各種的癌種類中過度表現(非專利文獻 21～26)，在乳癌中為負面的預後因子(非專利文獻 27、28)。

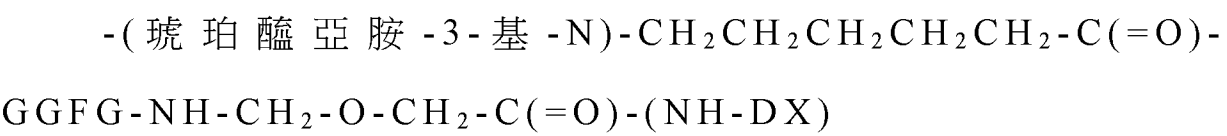
【0008】曲妥珠單抗係被稱作重組人源化抗 HER2 單株抗體(huMAb4D5-8，rhuMAb HER2，賀癌平(HERCEPTIN)(註冊商標))之小鼠抗 HER2 抗體 4D5(非專利文獻 29、專利文獻 5)之人源化抗體(專利文獻 6)。曲妥珠單抗係特異性地結合至 HER2 的細胞外域(extracellular domain)IV，經由抗體依賴性細胞毒性(antibody-dependent cellular cytotoxicity，ADCC)誘導或來自 HER2 之訊息傳遞抑制而發揮抗癌效果(非專利文獻 30、31)。曲妥珠單抗因對過度表現 HER2 之腫瘤顯示高效果(非專利文獻 32)，故作為在過度表現 HER2 之轉移性乳癌患者的治療藥，在美國於 1999 年上市，在日本於 2001 年上市。

乳癌中之曲妥珠單抗的治療效果已被充分證明，另一方面(非專利文獻 33)，對曲妥珠單抗有所反應者，據稱為已接受廣範圍之以往的抗癌治療之過度表現 HER2 之乳癌患者的約 15%，此集團的約 85%之患者對曲妥珠單抗處理無反應、或反應僅為微弱。

【0009】因此，為了患有對曲妥珠單抗無反應或反應微弱之過度表現 HER2 之腫瘤或與 HER2 表現相關疾病的患者，而認識到將與 HER2 表現相關之疾病作為標的

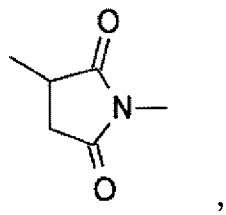
的治療藥之必要性，已開發有經由連接物結構將曲妥珠單抗與抗腫瘤性藥物鍵結而成之 T-DM1、以 HER2 之細胞外域 II 作為標的並設計成抑制異型二聚體形成之帕妥珠單抗 (Pertuzumab)(賀疾妥 (Perjeta)(註冊商標)；非專利文獻 35、專利文獻 7)。然而，反應性、活性的強度、以及適應範圍尚未充分，存在以 HER2 作為標的之未滿足的需求 (unmet needs)。

【0010】作為抗體-藥物結合物，已知有以抗 HER2 抗體與依喜替康作為構成要素之抗體-藥物結合物，尤其已得知以下結構者具有優異特性(專利文獻 8)。亦即，下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物。



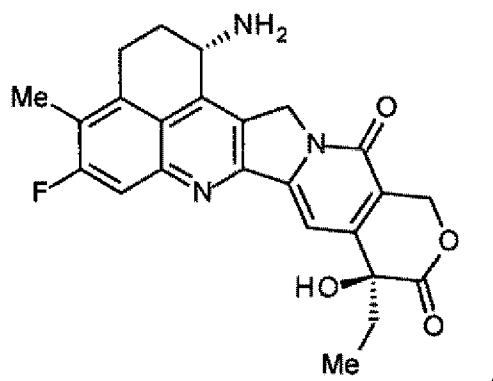
(式中，

$-(\text{琥珀醯亞胺-3-基-N})-$ 係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

$-(\text{NH-DX})$ 係下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



【0011】上述的抗 HER2 抗體-藥物結合物係對每一抗 HER2 抗體分子鍵結下式所示之藥物-連接物結構：

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)。此藥物-連接物結構可在抗體之鏈間的雙硫鍵部位(二處的重鏈-重鏈間、及二處的重鏈-輕鏈間)，經由硫醚鍵而鍵結最多 8 個。已取得鍵結了與此最多數量接近之幾乎 8 個的藥物-連接物結構之抗 HER2 抗體-藥物結合物。已得知此種每一抗體分子的藥物鍵結數多的抗體-藥物結合物，係發揮非常優異的抗癌作用。例如，在使用膽癌小鼠之前臨床研究中，確認到即使在癌細胞中 HER2 的表現為低表現，亦具有殺細胞活性(專利文獻 8、非專利文獻 36)。如此，上述的抗 HER2 抗體-藥物結合物被期待作為優異的抗癌藥，且正在進行臨床試驗。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0012】

[專利文獻 1]日本特開平 5-59061 號公報

[專利文獻 2]日本特開平 8-337584 號公報

[專利文獻 3]國際公開第 1997/46260 號

[專利文獻 4]國際公開第 2000/25825 號

[專利文獻 5]美國專利第 5677171 號說明書

[專利文獻 6]美國專利第 5821337 號說明書

[專利文獻 7]國際公開第 01/00244 號

[專利文獻 8]國際公開第 2015/115091 號

[非專利文獻]

【0013】

[非專利文獻 1]Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13.

[非專利文獻 2]Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537.

[非專利文獻 3]Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452.

[非專利文獻 4]Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637.

[非專利文獻 5]Kumazawa, E., Tohgo, A., Exp. Opin. Invest. Drugs (1998) 7, 625-632.

[非專利文獻 6]Mitsui, I., et al., Jpn J. Cancer Res. (1995) 86, 776-786.

[非專利文獻 7]Takiguchi, S., et al., Jpn J. Cancer Res. (1997) 88, 760-769.

[非專利文獻 8]Joto, N. et al., Int J Cancer (1997) 72, 680-686.

- [非專利文獻 9]Kumazawa, E. et al., Cancer Chemother. Pharmacol. (1998) 42, 210-220.
- [非專利文獻 10]De Jager, R., et al., Ann N Y Acad Sci (2000) 922, 260-273.
- [非專利文獻 11]Inoue, K. et al., Polymer Drugs in the Clinical Stage, Edited by Maeda et al. (2003) 145-153.
- [非專利文獻 12]Kumazawa, E. et al., Cancer Sci (2004) 95, 168-175.
- [非專利文獻 13]Soepenbergh, O. et al., Clinical Cancer Research, (2005) 11, 703-711.
- [非專利文獻 14]Wente M. N. et al., Investigational New Drugs (2005) 23, 339-347.
- [非專利文獻 15]Coussens L, et al., Science. 1985; 230(4730): 1132-1139.
- [非專利文獻 16]Graus-Porta G, et al., EMBO J. 1997; 16: 1647-1655.
- [非專利文獻 17]Karnagaran D, et al., EMBO J. 1996; 15: 254-264.
- [非專利文獻 18]Sliwkowski MX, et al., J Biom Chem. 1994; 269: 14661-14665.
- [非專利文獻 19]Di Fore PP, et al., Science. 1987; 237: 178-182.
- [非專利文獻 20]Hudziak RM, et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1987; 84: 7159-7163.

- [非專利文獻 21]Hardwick R, et al., Eur. J Surg Oncol. 1997 (23): 30-35.
- [非專利文獻 22]Korkaya H, et al., Oncogene. 2008; 27(47): 6120-6130.
- [非專利文獻 23]Yano T, et al., Oncol Rep. 2006; 15(1): 65-71.
- [非專利文獻 24]Slamon DJ, et al., Science. 1987; 235: 177-182.
- [非專利文獻 25]Gravalos C, et al., Ann Oncol 19: 1523-1529, 2008.
- [非專利文獻 26]Fukushige S et al., Mol Cell Biol 6: 955-958, 1986.
- [非專利文獻 27]Slamon DJ, et al. Science. 1989; 244: 707-712.
- [非專利文獻 28]Kaptain S et al., Diagn Mol Pathol 10: 139-152, 2001.
- [非專利文獻 29]Fendly. et al., Cancer Research 1990 (50): 1550-1558.
- [非專利文獻 30]Sliwkowski MX, et al., Semin Oncol. 1999; 26(4, Suppl 12): 60-70.
- [非專利文獻 31]Hudis CA, et al., N Engl J Med. 357: 39-51, 2007.
- [非專利文獻 32]Vogel CL, et al., J Clin Oncol. 2002; 20(3): 719-726.

[非專利文獻 33]Baselga et al., J. Clin. Oncol. 14: 737-744 (1996).

[非專利文獻 34]Howard A. et al., J Clin Oncol 29: 398-405.

[非專利文獻 35]Adams CW, et al., Cancer Immunol Immunother. 2006; 6: 717-727.

[非專利文獻 36]Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research, 2016, Oct 15; 22(20): 5097-5108, Epub 2016 Mar 29.

【發明內容】

[發明欲解決之課題]

【0014】抗癌藥在用於治療而持續投予的情形中，已知即使一度確認到效果，亦會因癌細胞獲得抗性(以下，在本發明中亦稱作「二次抗性」)而治療效果變得無法確認。例如，在 HER2 表現癌中，進行利用曲妥珠單抗依坦辛之治療的結果，已知會新產生已獲得對於曲妥珠單抗依坦辛之抗性或難治性的癌。因此，期望一種可提供新治療方法之藥劑，此新治療方法係對此種已獲得抗性之癌(以下，在本發明中亦稱作「二次抗性癌」)發揮功效。本發明以提供即使為因利用既存的抗 HER2 藥之治療而已獲得抗性或難治性之 HER2 表現癌，亦可確認到充分的治療效果之治療劑及治療方法作為主要課題。

又，已知有即使表現 HER2，亦從一開始便未確認到對既存的抗 HER2 藥之治療效果的癌(換言之，並非因

利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備對既存的抗 HER2 藥之抗性或難治性的 HER2 表現癌)。作為此種 HER2 表現癌，可舉出 HER2 低表現的癌、乳癌及胃癌以外之實體癌(solid cancer)(例如，大腸癌、非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer)等)。本發明亦以提供即使為該種 HER2 表現癌亦可確認到充分的治療效果之治療劑及治療方法作為主要課題。

[解決課題之手段]

【0015】本發明人等在前臨床試驗及臨床試驗中發現，下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物：

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)，

其對於對既存的抗 HER2 藥為抗性或難治性 HER2 表現癌顯示優異的抗腫瘤效果，且安全性亦優異。若根據此抗體-藥物結合物，即使為二次抗性癌亦可期待有效的治療。

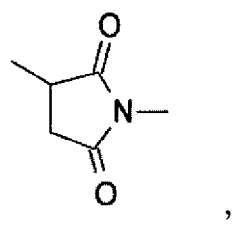
【0016】亦即，本發明提供以下之[1]～[144]。

[1]一種治療劑，其係對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的治療劑，其特徵在於含有由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物：

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)。

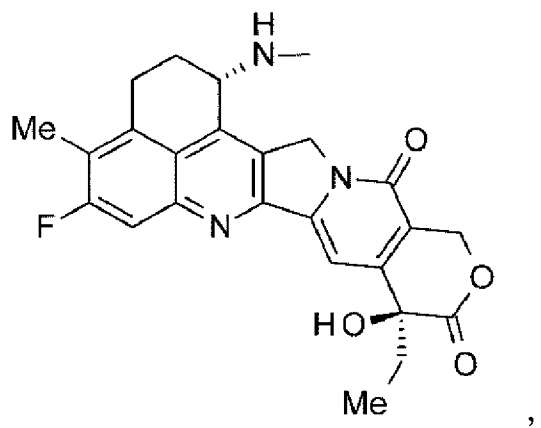
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



-GGFG-係表示 -Gly-Gly-Phe-Gly-之四肽殘基)。

[2]如 [1]所記載之治療劑，其中抗性或難治性係因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性。

[3]如 [1]所記載之治療劑，其中抗性或難治性並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性。

[4]如 [1]至 [3]中任一項所記載之治療劑，其中既存的抗 HER2 藥係選自包含曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及拉帕替尼之群組中之至少一者。

[5]如[1]至[3]中任一項所記載之治療劑，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛。

[6]如[1]至[3]中任一項所記載之治療劑，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗。

[7]如[1]至[6]中任一項所記載之治療劑，其係用於投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者。

[8]如[7]所記載之治療劑，其中既存的抗癌藥包含選自包含下列之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑(Oxaliplatin)、氟尿嘧啶、吉西他濱(Gemcitabine)、卡培他濱(Capecitabine)、紫杉醇、歐洲紫杉醇(Docetaxel)、阿黴素(Doxorubicin)、泛艾黴素(Epirubicin)、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西(Tegafur/Gimeracil/Oteracil)複方製劑、西妥昔單抗(Cetuximab)、帕尼單抗(Panitumumab)、貝伐單抗(Bevacizumab)、雷莫司單抗(Ramucirumab)、瑞格非尼(Regorafenib)、曲氟尿苷/替比拉西(Trifluridine/Tipiracil)複方製劑、吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、阿法替尼(Afatinib)、胺甲喋呤、及培美曲塞(Pemetrexed)。

[9]如[7]所記載之治療劑，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗依坦辛。

[10]如[7]所記載之治療劑，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗。

[11]如[7]所記載之治療劑，其中既存的抗癌藥包含愛萊諾迪肯。

[12]如[1]至[11]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍。

[13]如[1]至[11]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

[14]如[1]至[13]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[15]如[1]至[13]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[16]如[1]至[15]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 至 8mg/kg 的範圍。

[17]如[1]至[15]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg。

[18]如[1]至[15]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 6.4mg/kg。

[19]如[1]至[15]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 7.4mg/kg。

[20]如[1]至[15]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 8mg/kg。

[21]如[1]至[20]中任一項所記載之治療劑，其中抗體-藥物結合物係以三週一次の間隔進行投予。

[22]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於選自包含下列之群組中的至少一種癌的治療：乳癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾液腺癌、胃食道接合處腺癌(adenocarcinoma of the gastroesophageal junction)、膽管癌、佩吉特氏病(Paget's disease)、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤。

[23]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於乳癌的治療。

[24]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於胃癌的治療。

[25]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於胃癌及胃食道接合處腺癌的治療。

[26]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於大腸癌的治療。

[27]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於非小細胞肺癌的治療。

[28]如[1]至[21]中任一項所記載之治療劑，其係用於唾液腺癌的治療。

[29]如[1]至[28]中任一項所記載之治療劑，其中 HER2 表現癌係 HER2 過度表現的癌。

[30]如[29]所記載之治療劑，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 3+ 的癌。

[31]如[29]所記載之治療劑，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陽性的癌。

[32]如[1]至[28]中任一項所記載之治療劑，其中 HER2 表現癌為 HER2 低表現的癌。

[33]如[32]所記載之治療劑，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陰性的癌。

[34]如[32]所記載之治療劑，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 1+ 的癌。

[35]如[1]至[34]中任一項所記載之治療劑，其係用於無法手術或復發的癌的治疗。

[36]如[1]至[35]中任一項所記載之治療劑，其含有藥學上容許之製劑成分。

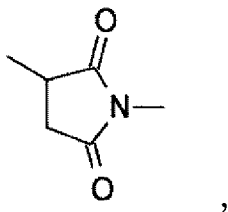
【0017】

[37]一種方法，其係將由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物，投予至需要治療對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的患者，藉此治療對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的方法：

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O) -
GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)。

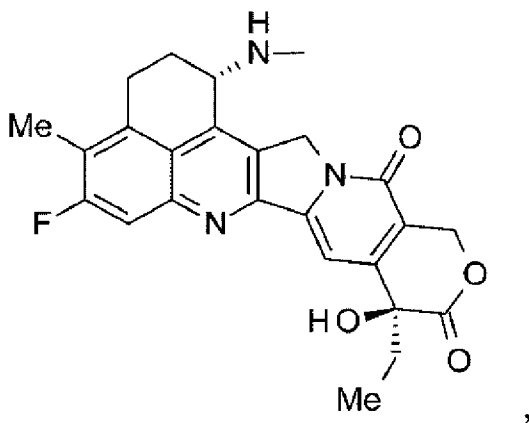
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在
1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵
結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成
為鍵結部位之基：



-GGFG-係表示 -Gly-Gly-Phe-Gly-之四肽殘基)。

[38]如 [37]所記載之方法，其中抗性或難治性係因
利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性。

[39]如 [37]所記載之方法，其中抗性或難治性並非
因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備
之抗性或難治性。

[40]如[37]至[39]中任一項所記載之方法，其中既存的抗 HER2 藥係選自包含曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、及拉帕替尼之群組中之至少一者。

[41]如[37]至[39]中任一項所記載之方法，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛。

[42]如[37]至[39]中任一項所記載之方法，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗。

[43]如[37]至[42]中任一項所記載之方法，其係用於對具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者進行。

[44]如[43]所記載之方法，其中既存的抗癌藥包含選自包含下列之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

[45]如[43]所記載之方法，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗依坦辛。

[46]如[43]所記載之方法，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗。

[47]如[43]所記載之方法，其中既存的抗癌藥包含愛萊諾迪肯。

[48]如[37]至[47]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍。

[49]如[37]至[47]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

[50]如[37]至[49]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[51]如[37]至[49]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[52]如[37]至[51]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 至 8mg/kg 的範圍。

[53]如[37]至[51]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg。

[54]如[37]至[51]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 6.4mg/kg。

[55]如[37]至[51]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 7.4mg/kg。

[56]如[37]至[51]中任一項所記載之方法，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 8mg/kg。

[57]如[37]至[56]中任一項所記載之方法，其將抗體-藥物結合物以三週一次的間隔進行投予。

[58]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於選自包含下列之群組中的至少一種癌的治療：乳癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾液腺癌、胃食道接合處腺癌、膽管癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤。

[59]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於乳癌的治療。

[60]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於胃癌的治療。

[61]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於胃癌及胃食道接合處腺癌的治療。

[62]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於大腸癌的治療。

[63]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於非小細胞肺癌的治療。

[64]如[37]至[57]中任一項所記載之方法，其係用於唾液腺癌的治療。

[65]如[37]至[64]中任一項所記載之方法，其中HER2表現癌係HER2過度表現的癌。

[66]如[65]所記載之方法，其中HER2過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而HER2的表現被判定為3+的癌。

[67]如[65]所記載之方法，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陽性的癌。

[68]如[37]至[64]中任一項所記載之方法，其中 HER2 表現癌係 HER2 低表現的癌。

[69]如[68]所記載之方法，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陰性的癌。

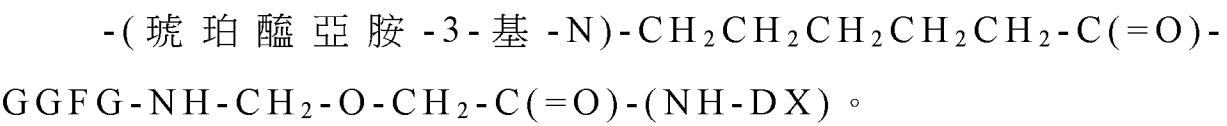
[70]如[68]所記載之方法，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 1+的癌。

[71]如[37]至[70]中任一項所記載之方法，其係用於無法手術或復發的癌的治療。

[72]如[37]至[71]中任一項所記載之方法，其係將抗體-藥物結合物與藥學上容許之製劑成分一起投予。

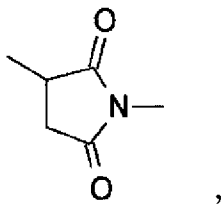
【0018】

[73]一種抗體-藥物結合物，其係由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成，且用於作為對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的治療藥之用途：



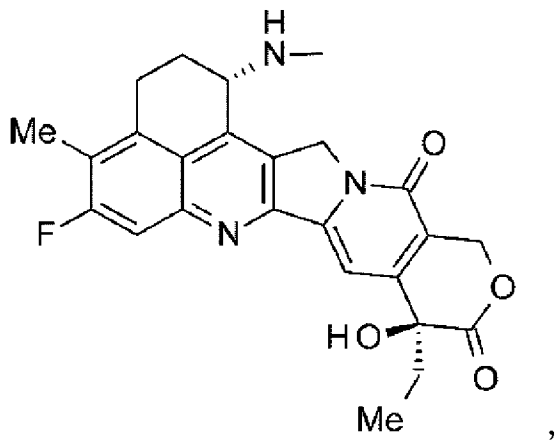
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



-GGFG-係表示 -Gly-Gly-Phe-Gly-之四肽殘基)。

[74]如 [73]所記載之抗體-藥物結合物，其中抗性或難治性係因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性。

[75]如 [73]所記載之抗體-藥物結合物，其中抗性或難治性並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性。

[76]如 [73]至 [75]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗 HER2 藥係選自包含曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、及拉帕替尼之群組中之至少一者。

[77]如 [73]至 [75]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛。

[78]如[73]至[75]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗。

[79]如[73]至[78]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者。

[80]如[79]所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗癌藥包含選自包含下列之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

[81]如[79]所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗依坦辛。

[82]如[79]所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗。

[83]如[79]所記載之抗體-藥物結合物，其中既存的抗癌藥包含愛萊諾迪肯。

[84]如[73]至[83]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍。

[85]如[73]至[83]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

[86]如[73]至[85]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[87]如[73]至[85]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[88]如[73]至[87]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 至 8mg/kg 的範圍。

[89]如[73]至[87]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg。

[90]如[73]至[87]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 6.4mg/kg。

[91]如[73]至[87]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 7.4mg/kg。

[92]如[73]至[87]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為8mg/kg。

[93]如[73]至[92]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中抗體-藥物結合物係以三週一次的間隔進行投予。

[94]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於選自包含下列之群組中的至少一種癌的治療：乳癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾液腺癌、胃食道接合處腺癌、膽管癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤。

[95]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於乳癌的治療。

[96]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於胃癌的治療。

[97]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於胃癌及胃食道接合處腺癌的治療。

[98]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於大腸癌的治療。

[99]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於非小細胞肺癌的治療。

[100]如[73]至[93]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於唾液腺癌的治療。

[101]如[73]至[100]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係HER2表現癌係HER2過度表現的癌。

[102]如[101]所記載之抗體-藥物結合物，其中HER2過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而HER2的表現被判定為3+的癌。

[103]如[101]所記載之抗體-藥物結合物，其中HER2過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而HER2的表現被判定為2+，且藉由原位雜交法而HER2的表現被判定為陽性的癌。

[104]如[73]至[100]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其中HER2表現癌係HER2低表現的癌。

[105]如[104]所記載之抗體-藥物結合物，其中HER2低表現的癌係藉由免疫組織化學法而HER2的表現被判定為2+，且藉由原位雜交法而HER2的表現被判定為陰性的癌。

[106]如[104]所記載之抗體-藥物結合物，其中HER2低表現的癌係藉由免疫組織化學法而HER2的表現被判定為1+的癌。

[107]如[73]至[106]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係用於無法手術或復發的癌的治療。

[108]如[73]至[107]中任一項所記載之抗體-藥物結合物，其係與藥學上容許之製劑成分一起投予。

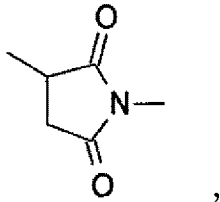
【0019】

[109]一種由下式所示之連接物及藥物與抗HER2抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物的用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於治療對既存的抗HER2藥具抗性或難治性之HER2表現癌：

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)。

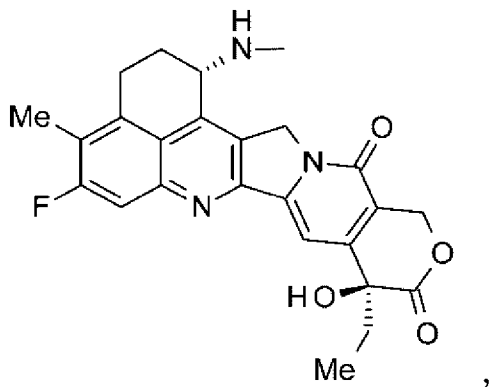
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



-GGFG-係表示 -Gly-Gly-Phe-Gly- 之四肽殘基)。

[110]如 [109]所記載之用途，其中抗性或難治性係因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性。

[111]如 [109]所記載之用途，其中抗性或難治性並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性。

[112]如[109]至[111]中任一項所記載之用途，其中既存的抗 HER2 藥係選自包含曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、及拉帕替尼之群組中之至少一者。

[113]如[109]至[111]中任一項所記載之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛。

[114]如[109]至[111]中任一項所記載之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗。

[115]如[109]至[114]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者。

[116]如[115]所記載之用途，其中既存的抗癌藥包含選自包含下列之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

[117]如[115]所記載之用途，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗依坦辛。

[118]如[115]所記載之用途，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗。

[119]如[115]所記載之用途，其中既存的抗癌藥包含愛萊諾迪肯。

[120]如[109]至[119]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍。

[121]如[109]至[119]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

[122]如[109]至[121]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[123]如[109]至[121]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：包含序列識別號 1 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

[124]如[109]至[123]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 至 8mg/kg 的範圍。

[125]如[109]至[123]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg。

[126]如[109]至[123]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 6.4mg/kg。

[127]如[109]至[123]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 7.4mg/kg。

[128]如[109]至[123]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 8mg/kg。

[129]如[109]至[128]中任一項所記載之用途，其中抗體-藥物結合物係以三週一次の間隔進行投予。

[130]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於選自包含下列之群組中的至少一種癌的治療：乳癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾液腺癌、胃食道接合處腺癌、膽管癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤。

[131]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於乳癌的治療。

[132]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於胃癌的治療。

[133]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於胃癌及胃食道接合處腺癌的治療。

[134]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於大腸癌的治療。

[135]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於非小細胞肺癌的治療。

[136]如[109]至[129]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於唾液腺癌的治療。

[137]如[109]至[136]中任一項所記載之用途，其中 HER2 表現癌係 HER2 過度表現的癌。

[138]如[137]所記載之用途，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 3+ 的癌。

[139]如[137]所記載之用途，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陽性的癌。

[140]如[109]至[136]中任一項所記載之用途，其中 HER2 表現癌係 HER2 低表現的癌。

[141]如[140]所記載之用途，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陰性的癌。

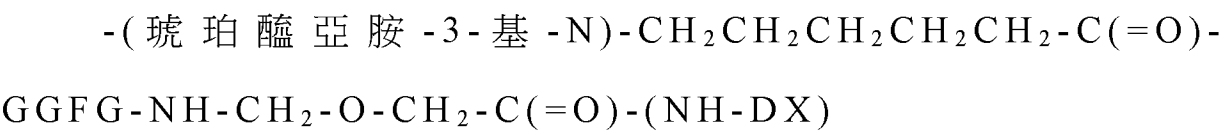
[142]如[140]所記載之用途，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 1+ 的癌。

[143]如[109]至[142]中任一項所記載之用途，其係用於醫藥的製造，此醫藥係用於無法手術或復發的癌的治疗。

[144]如[109]至[143]中任一項所記載之用途，其中醫藥包含藥學上容許之製劑成分。

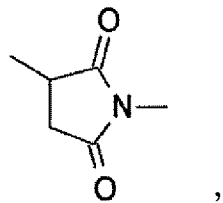
【0020】又，本發明亦可如以下般表示。

〔1〕一種由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物、其鹽、或該等之水合物的用途，其係用於抗性癌的治疗。



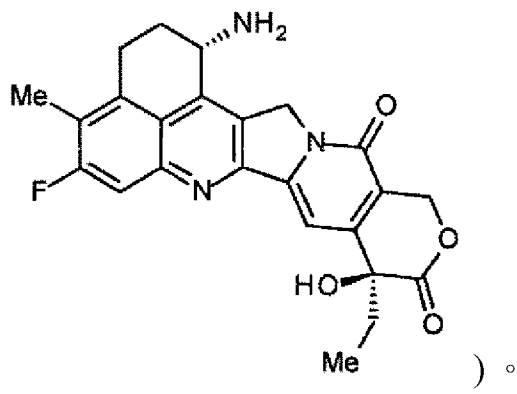
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



【0021】〔 2 〕如〔 1 〕所記載之用途，其中抗性癌係二次抗性癌。

〔 3 〕如〔 2 〕所記載之用途，其中二次抗性係因投予包含抗 HER2 抗體之抗體-藥物結合物所致之二次抗性。

〔 4 〕如〔 2 〕或〔 3 〕所記載之用途，其中二次抗性係因投予為抗 HER2 抗體-藥物結合物之 T-DM1 而獲得之二次抗性。

〔 5 〕 如 〔 2 〕 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 二 次 抗 性 係 因 投 予 抗 HER2 抗 體 所 致 之 二 次 抗 性 。

〔 6 〕 如 〔 1 〕 至 〔 5 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 2 至 8 個 的 範 圍 。

〔 7 〕 如 〔 1 〕 至 〔 5 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 3 至 8 個 的 範 圍 。

〔 8 〕 如 〔 1 〕 至 〔 5 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 7 至 8 個 的 範 圍 。

〔 9 〕 如 〔 1 〕 至 〔 5 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 7.5 至 8 個 的 範 圍 。

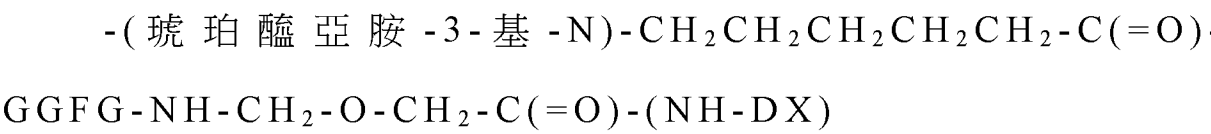
〔 10 〕 如 〔 1 〕 至 〔 9 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 的 投 予 量 為 0.8mg/kg 至 8mg/kg 的 範 圍 。

〔 11 〕 如 〔 1 〕 至 〔 10 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 的 投 予 係 三 週 進 行 一 次 。

〔 12 〕 如 〔 1 〕 至 〔 11 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 用 途 ， 其 中 抗 性 癌 為 肺 癌 、 尿 道 上 皮 癌 (urothelial carcinoma)、 大 腸 癌 、 前 列 腺 癌 、 卵 巢 癌 、 胰 癌 、 乳 癌 、 膀 胱 癌 、 胃 癌 、 胃 腸 道 基 質 腫 瘤 (gastrointestinal stromal tumor)、 子 宮 頸 癌 、 食 道 癌 、 鱗 狀 上 皮 癌 (squamous carcinoma)、 腹 膜 癌 、 肝 臟 癌 、 肝 細 胞 癌 、

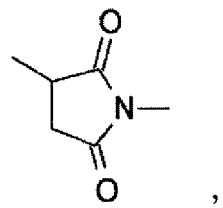
結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、子宮癌、唾液腺癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、或肉瘤。

【0022】〔 13 〕一種抗性癌的治療用醫藥組成物，其將由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物、其鹽、或該等之水合物作為活性成分，且含有藥學上容許之製劑成分。



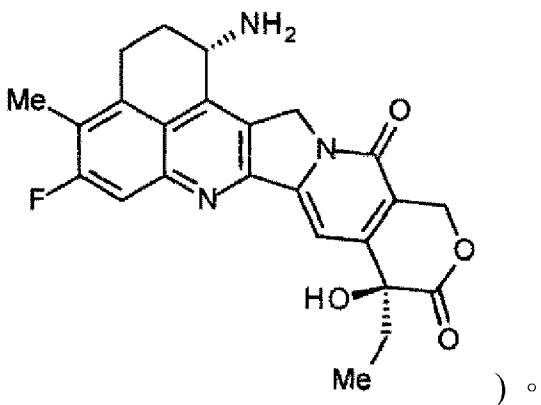
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



〔 14 〕 如 〔 13 〕 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 抗 性 癌 為 二 次 抗 性 癌 。

〔 15 〕 如 〔 13 〕 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 二 次 抗 性 係 因 投 予 包 含 抗 HER2 抗 體 之 抗 體 - 藥 物 結 合 物 所 致 之 二 次 抗 性 。

〔 16 〕 如 〔 14 〕 或 〔 15 〕 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 二 次 抗 性 係 因 投 予 為 抗 HER2 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 T-DM1 而 獲 得 之 二 次 抗 性 。

〔 17 〕 如 〔 14 〕 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 二 次 抗 性 係 因 投 予 抗 HER2 抗 體 所 致 之 二 次 抗 性 。

〔 18 〕 如 〔 13 〕 至 〔 17 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 2 至 8 個 的 範 圍 。

〔 19 〕 如 〔 13 〕 至 〔 17 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 3 至 8 個 的 範 圍 。

〔 20 〕 如 〔 13 〕 至 〔 17 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 7 至 8 個 的 範 圍 。

〔 21 〕 如 〔 13 〕 至 〔 17 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 之 每 一 抗 體 的 藥 物 - 連 接 物 結 構 的 平 均 鍵 結 數 為 7.5 至 8 個 的 範 圍 。

〔 22 〕 如 〔 13 〕 至 〔 21 〕 中 任 一 項 所 記 載 之 治 療 用 醫 藥 組 成 物 ， 其 中 抗 體 - 藥 物 結 合 物 的 投 予 量 為 0.8mg/kg 至 8mg/kg 的 範 圍 。

〔 23 〕 如 〔 13 〕 至 〔 21 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其係三週投予一次。

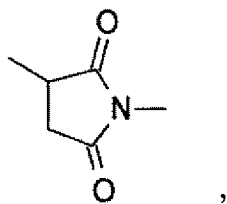
〔 24 〕 如 〔 13 〕 至 〔 23 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗性癌係肺癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、乳癌、膀胱癌、胃癌、胃腸道基質腫瘤、子宮頸癌、食道癌、鱗狀上皮癌、腹膜癌、肝臟癌、肝細胞癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、子宮癌、唾液腺癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、或肉瘤。

【0023】〔 25 〕 一種抗性癌的治療方法，其特徵在於投予由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物、其鹽、或該等之水合物。

- (琥珀醯亞胺 -3-基 -N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)

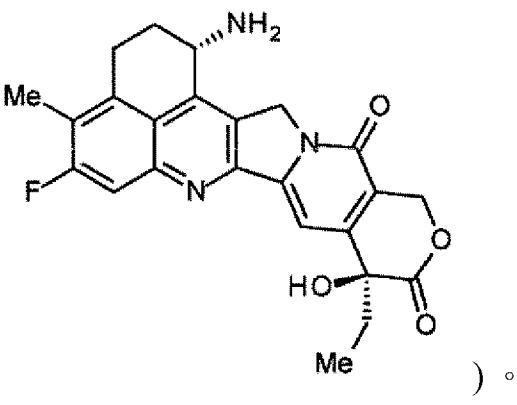
(式中，

- (琥珀醯亞胺 -3-基 -N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



[26] 如 [25] 所記載之治療方法，其中抗性癌係二次抗性癌。

[27] 如 [26] 所記載之治療方法，其中二次抗性係因投予包含抗 HER2 抗體之抗體-藥物結合物所致之二次抗性。

[28] 如 [26] 或 [27] 所記載之治療方法，其中二次抗性係因投予為抗 HER2 抗體-藥物結合物之 T-DM1 而獲得之二次抗性。

[29] 如 [26] 所記載之治療方法，其中二次抗性係因投予抗 HER2 抗體所致之二次抗性。

[30] 如 [25] 至 [29] 中任一項所記載之治療方法，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 2 至 8 個的範圍。

[31] 如 [25] 至 [29] 中任一項所記載之治療方法，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 3 至 8 個的範圍。

[32] 如 [25] 至 [29] 中任一項所記載之治療方法，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍。

〔 33 〕 如 〔 25 〕 至 〔 29 〕 中任一項所記載之治療方法，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

〔 34 〕 如 〔 25 〕 至 〔 33 〕 中任一項所記載之治療方法，其中抗體-藥物結合物的投予量為 0.8mg/kg 至 8mg/kg 的範圍。

〔 35 〕 如 〔 25 〕 至 〔 34 〕 中任一項所記載之治療方法，其中抗體-藥物結合物的投予係三週進行一次。

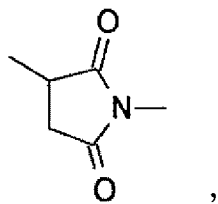
〔 36 〕 如 〔 25 〕 至 〔 35 〕 中任一項所記載之治療方法，其中抗性癌係肺癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、乳癌、膀胱癌、胃癌、胃腸道基質腫瘤、子宮頸癌、食道癌、鱗狀上皮癌、腹膜癌、肝臟癌、肝細胞癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、子宮癌、唾液腺癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、或肉瘤。

【0024】〔 37 〕 一種治療用醫藥組成物，其將由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物、其鹽、或該等之水合物作為活性成分，且含有藥學上容許之製劑成分，並適用於對抗癌藥顯示抗性之癌症患者。

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)

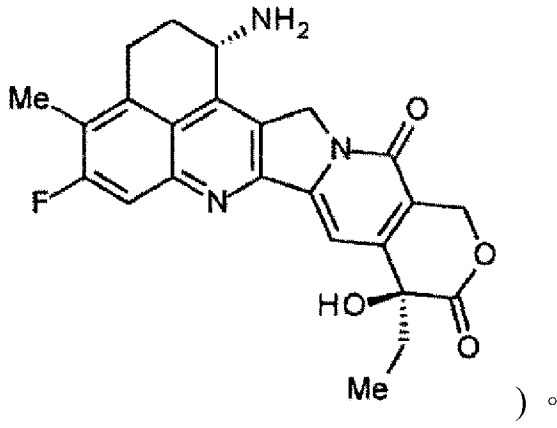
(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



〔 38 〕 如〔 37 〕所記載之治療用醫藥組成物，其適用於具有利用抗癌藥之治療史的癌症患者。

〔 39 〕 如〔 37 〕或〔 38 〕所記載之治療用醫藥組成物，其可取代其他抗癌藥而使用、或者與其他抗癌藥組合而使用。

〔 40 〕 如〔 37 〕至〔 39 〕中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中對抗癌藥之抗性係二次抗性。

〔 41 〕 如〔 37 〕至〔 40 〕中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗癌藥係包含抗 HER2 抗體之抗體-藥物結合物。

〔 42 〕 如〔 41 〕 所記載之治療用醫藥組成物，其中抗癌藥係曲妥珠單抗依坦辛(T-DM1)。

〔 43 〕 如〔 37 〕 至〔 40 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗癌藥係抗 HER2 抗體。

〔 44 〕 如〔 37 〕 至〔 43 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 2 至 8 個的範圍。

〔 45 〕 如〔 37 〕 至〔 43 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 3 至 8 個的範圍。

〔 46 〕 如〔 37 〕 至〔 43 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍。

〔 47 〕 如〔 37 〕 至〔 43 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

〔 48 〕 如〔 37 〕 至〔 47 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗體-藥物結合物的投予量為 0.8mg/kg 至 8mg/kg 的範圍。

〔 49 〕 如〔 37 〕 至〔 48 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其係三週投予一次。

〔 50 〕 如〔 37 〕 至〔 49 〕 中任一項所記載之治療用醫藥組成物，其中抗性癌係肺癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、乳癌、膀胱癌、胃癌、胃腸道基質腫瘤、子宮頸癌、食道癌、鱗狀上皮癌、腹

膜癌、肝臟癌、肝細胞癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、子宮癌、唾液腺癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、或肉瘤。

[發明之效果]

【0025】本發明所使用之含有抗體-藥物結合物的治療劑，其對於對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌顯示優異的抗腫瘤效果，且即使為二次抗性癌亦顯示高的抗腫瘤效果。又，因安全性亦優異，故可提供有效的治療方法。

【圖式簡單說明】

【0026】

圖 1 表示人源化抗 HER2 單株抗體重鏈之胺基酸序列(序列識別號 1)。

圖 2 表示人源化抗 HER2 單株抗體輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 2)。

圖 3 係表示利用抗體-藥物結合物(1)或 T-DM1 之對於 HER2 陽性人類乳癌 ST1616B/TDR 腫瘤皮下移植裸鼠的抗腫瘤效果之圖，其中此 HER2 陽性人類乳癌 ST1616B/TDR 腫瘤皮下移植裸鼠已對 T-DM1 進行二次抗性化。圖中，橫軸表示自初次投予起的日數，縱軸表示腫瘤體積。

圖 4 係表示利用抗體-藥物結合物(1)或 T-DM1 之對於 HER2 陽性人類乳癌 ST1360B/TDR 腫瘤皮下移植裸鼠之抗腫瘤效果的圖，其中此 HER2 陽性人類乳癌

ST1360B/TDR 腫瘤皮下移植裸鼠已對 T-DM1 進行二次抗性化。圖中，橫軸表示自初次投予起的日數，縱軸表示腫瘤體積。

圖 5 係表示抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中的藥物動力之圖。

圖 6 係表示關於抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中之安全性與可容許性之圖。

圖 7 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中之有效性，表示 ORR(客觀反應率(Objective Response Rate))及 DCR(疾病控制率(Disease Control Rate))之圖。

圖 8 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中之有效性，表示最大腫瘤縮小率(%)之圖。

圖 9 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中之有效性，表示治療期間・效果之圖。

圖 10 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中之有效性，表示最大腫瘤縮小率(%)之圖。

圖 11 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中對於乳癌的有效性，表示腫瘤縮小率(%)的時間歷程(time course)之圖。

圖 12 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中對於胃癌的有效性，表示腫瘤縮小率(%)的時間歷程之圖。

圖 13 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中對於 HER2 表現實體癌(排除乳癌及胃癌)的有效性，表示最大腫瘤縮小率(%)之圖。圖中，「C」表示大腸癌的定群(cohort)，「L」表示非小細胞肺癌的定群，「S」表示

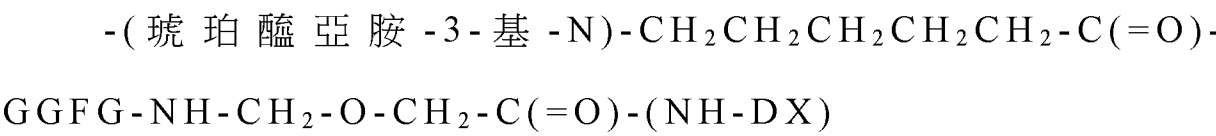
唾液腺癌的定群，「P」表示佩吉特氏病的定群，「Ch」表示膽管癌的定群，「E」表示食道癌的定群。又，圖中「※」表示正在進行治療中者。

圖 14 係針對抗體-藥物結合物(1)之臨床試驗中對於 HER2 表現實體癌(排除乳癌及胃癌)的有效性，表示腫瘤縮小率(%)的時間歷程之圖。圖中，「Colorectal」表示大腸癌的定群，「NSCLC」表示非小細胞肺癌的定群，「Salivary」表示唾液腺癌的定群，「Other」表示其他癌的定群。

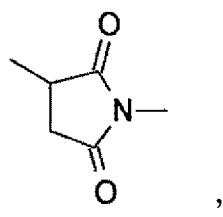
【實施方式】
[實施發明之形態]

【0027】以下針對用於實施本發明之較佳形態，一邊參照圖式一邊進行說明。此外，以下所說明之實施形態係表示本發明之代表性實施形態之一例者，本發明的範圍並不因此受到限縮解釋。

【0028】在本發明中所使用之抗體-藥物結合物係由下式所示之連接物及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗 HER2 抗體-藥物結合物。

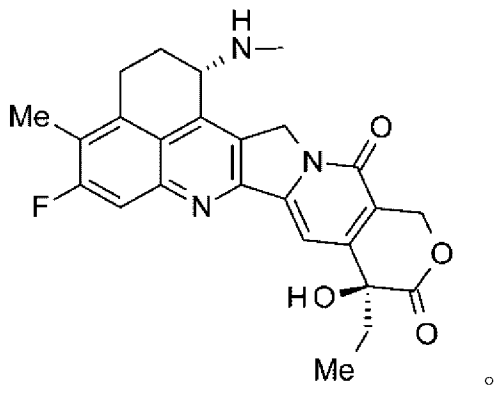


式中，-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結。

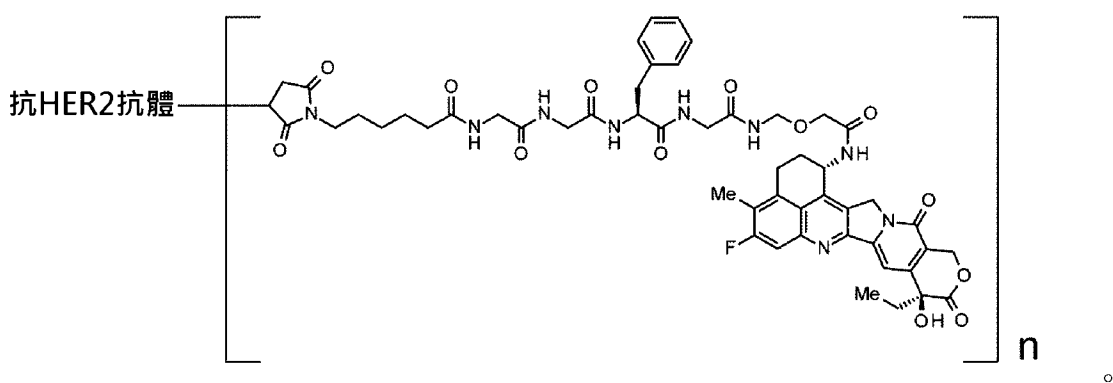
-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



又，-GGFG-係表示-Gly-Gly-Phe-Gly-之四肽殘基。

在本說明書中，將抗體-藥物結合物中包含連接物及藥物之部分結構稱作「藥物-連接物結構」。此藥物-連接物結構係與抗體之鏈間的雙硫鍵部位(二處的重鏈-重鏈間、及二處的重鏈-輕鏈間)中所產生之硫醇基(換言之，半胱胺酸殘基的硫原子)進行鍵結。

本發明中所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物亦可由下式所示之結構表示：



於此，藥物-連接物結構係藉由硫醚鍵而與抗 HER2 抗體進行鍵結。又， n 與所謂的 DAR(Drug-to-Antibody Ratio，藥物對抗體的比例)為同義，表示藥物對抗體 1 分子之鍵結數。DAR 係平均值，亦即，係作為平均藥物鍵結數而被特定、標記之數值。在本發明之抗體-藥物結合物之情形中， n 只要為 2 至 8 即可，較佳為 3 至 8，更佳為 7 至 8，再佳為 7.5 至 8，可適宜地使用 n 約為 8 者。

以下針對本發明所使用之抗體-藥物結合物詳細地說明。

【0029】

[抗體]

本發明中所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物所使用之抗 HER2 抗體，可源自任一物種，但較佳可例示人類、大鼠、小鼠、及兔。在抗體係源自人類以外的物種之情形中，較佳為使用周知之技術進行嵌合化或人源化。本發明之抗體可為多株抗體，亦可為單株抗體，但以單株抗體為佳。

抗 HER2 抗體係可將腫瘤細胞作為標的之抗體，亦即具備可辨識腫瘤細胞之特性、可與腫瘤細胞結合之特性、被攝入腫瘤細胞內而內化(Internalization)之特性、以及對於腫瘤細胞之殺細胞活性，且可經由連接物而使具有抗腫瘤活性之化合物鍵結以作為抗體-藥物結合物。

抗體對腫瘤細胞之結合性可使用流動式細胞測量術進行確認。抗體之往腫瘤細胞內的攝入可使用以下進行確認：(1)使用與治療抗體鍵結之二級抗體(secondary antibody)(螢光標示)，並藉由螢光顯微鏡將被攝入細胞內之抗體加以可視化之分析(Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761)；(2)使用與治療抗體鍵結之二級抗體(螢光標示)，而量測被攝入細胞內之螢光量之分析(Molecular Biology of the Cell Vol. 15, 5268-5282, December 2004)；或(3)使用與治療抗體鍵結之免疫毒素，若被攝入細胞內便會釋放毒素而抑制細胞增殖之 Mab-ZAP 分析(Bio Techniques 28: 162-165, January 2000)。作為免疫毒素，亦可使用白喉毒素的觸媒區與蛋白質 G(Protein G)之重組複合蛋白質。

抗體之抗腫瘤活性，在活體外可藉由量測細胞增殖之抑制活性而確認。例如，可將過度表現抗體之標的蛋白質的癌細胞株進行培養，以各種濃度將抗體添加至培養系統中，並量測對於灶(focus)形成、群落(colony)形成以及團塊(spheroid)增殖之抑制活性。在活體內(in vivo)，例如可藉由將抗體投予至已移植有高表現標的蛋白質之腫瘤細胞株的裸鼠，並量測癌細胞的變化，而確認抗腫瘤活性。

抗體-藥物結合物因鍵結有發揮抗腫瘤效果之化合物，故雖較佳為抗體本身具有抗腫瘤效果，但並非必需。由使抗腫瘤性化合物之細胞毒性在腫瘤細胞中特異性・選擇性地發揮之目的而言，重要且較佳的是抗體具有進行內化而移動至腫瘤細胞內之性質。

【0030】抗 HER2 抗體可藉由眾所周知之手段而取得。例如，可藉由使用在此領域中所通常實施之方法，將作為抗原之多肽對動物進行免疫，將在活體內所產生之抗體加以採取、精製而獲得。抗原的來源並不限定為人類，亦可將源自小鼠、大鼠等之人類以外的動物之抗原對動物進行免疫。在此情形中，藉由試驗所取得之結合至異種抗原的抗體與人類抗原之交叉反應性，而可挑選可適用於人類疾病的抗體。

又，亦可藉由依照眾所周知的方法(例如，Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p.495-497; Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p.365-367, Plenum Press, N. Y. (1980))，使產生抗抗原的抗體之抗體產生細胞與骨髓瘤細胞進行融合，而建立融合瘤，獲得單株抗體。

此外，抗原係可藉由基因操作而使編碼抗原蛋白質之基因在宿主細胞中產生而獲得。具體而言，只要製作可表現抗原基因之載體，將其導入宿主細胞而使該基因表現，並將所表現之抗原進行精製即可。亦可藉由使用下述方法而取得抗體：將利用上述基因操作之抗原表現細胞或表現抗原之細胞株對動物進行免疫之方法。

【0031】本發明可使用之抗 HER2 抗體並未特別限制，但例如，期望為具有以下特性者。

(1)一種抗 HER2 抗體，其特徵為具有以下特性；

(a) 與 HER2 特異性結合。

(b) 具有藉由與 HER2 結合而內化至 HER2 表現細胞之活性。

(2)如上述(1)所記載之抗體，其結合至 HER2 之細胞外域(extracellular domain)。

(3)如上述(1)或(2)所記載之抗體，其為單株抗體。

(4)如上述(1)至(3)中任一項所記載之抗體，其具有抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性及/或補體依賴性細胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)活性。

(5)如上述(1)至(4)中任一項所記載之抗體，其為小鼠單株抗體、嵌合單株抗體、或人源化單株抗體。

(6)如上述(1)至(5)中任一項所記載之抗體，其為包含下列重鏈及輕鏈而成之人源化單株抗體：包含序列識別號 1 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

(7)如上述(1)至(6)中任一項所記載之抗體，其重鏈羧基末端之離胺酸殘基缺失。

(8)如上述(7)所記載之抗體，其係包含下列重鏈及輕鏈而成：包含序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

(9)一種抗體，其係藉由包含以下步驟之該抗體的製造方法而獲得：培養宿主細胞之步驟，該宿主細胞係藉由含有編碼如上述(1)至(8)中任一項所記載之抗體之多核苷酸的表現載體而進行轉形；以及，自該步驟所得之培養物採取目標抗體之步驟。

【0032】以下針對本發明中所使用之抗 HER2 抗體進行說明。

本說明書中，「癌」與「腫瘤」係用於相同意義。

本說明書中，在所謂「基因」一詞中，不僅包含 DNA，亦包含其 mRNA、cDNA 及其 cRNA。

本說明書中，所謂「多核苷酸」一詞，係以與核酸相同的意義使用，亦包含 DNA、RNA、探針、寡核苷酸、及引子。

本說明書中，係無區別地使用「多肽」、「蛋白質」、「蛋白」。

本說明書中，「細胞」中亦包含動物個體內的細胞、培養細胞。

本說明書中，所謂「HER2」一詞，係以與 HER2 蛋白相同的意義使用。

本說明書中，所謂抗 HER2 抗體，並未特別限制，但可舉出帕妥珠單抗(國際公開 01/00245 號)、曲妥珠單抗(美國專利第 5821337 號)等，但以曲妥珠單抗為佳。但是，只要為與 HER2 特異性結合的抗 HER2 抗體，較佳為具有藉由與 HER2 結合而內化至 HER2 表現細胞之活性的抗 HER2 抗體，則不限於此。

本說明書中，「曲妥珠單抗」有時亦被稱作賀癌平(HERCEPTIN)(註冊商標)、huMAb4D5-8、rhuMAb4D5-8，其係包含下列重鏈及輕鏈而成之人源化抗體：包含序列識別號 1(圖 1)中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列之重鏈；及包含序列識別號 2(圖 2)中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列之輕鏈。

本說明書中，所謂「特異性結合」一詞，意指不是非特異性吸附之結合。作為結合是否為特異性的判定基準，可舉出例如解離常數(以下為「 K_d 」)。較佳的抗體之對於 HER2 蛋白之 K_d 值為 $1 \times 10^{-5}M$ 以下、 $5 \times 10^{-6}M$ 以下、 $2 \times 10^{-6}M$ 以下、或 $1 \times 10^{-6}M$ 以下；更佳為 $5 \times 10^{-7}M$ 以下、 $2 \times 10^{-7}M$ 以下、或 $1 \times 10^{-7}M$ 以下；再佳為 $5 \times 10^{-8}M$ 以下、 $2 \times 10^{-8}M$ 以下、或 $1 \times 10^{-8}M$ 以下；最佳為 $5 \times 10^{-9}M$ 以下、 $2 \times 10^{-9}M$ 以下、或 $1 \times 10^{-9}M$ 以下。HER2 蛋白與抗體之結合可使用表面電漿子共振 (Surface Plasmon Resonance) 法、酵素結合免疫吸附分析 (ELISA) 法、放射免疫分析 (RIA) 法等眾所周知的方法進行量測。

本說明書中所謂「CDR」係意指互補性決定區 (CDR: Complementarity determining region)。已知抗體分子之重鏈及輕鏈中分別有三處的 CDR。CDR 亦被稱作高度可變區 (hypervariable domain)，位在抗體之重鏈及輕鏈的可變區內，為一級結構的變異性特別高的部位，在重鏈及輕鏈之多肽鏈的一級結構上各自分離在三個地方。在本說明書中，關於抗體之 CDR，將重鏈之 CDR 自重鏈胺基酸序列之胺基末端側起標記為 CDRH1、CDRH2、CDRH3，將輕鏈之 CDR 自輕鏈胺基酸序列之胺基末端側起標記為 CDRL1、CDRL2、CDRL3。此等部位在立體結構上互相接近，並決定對於所結合之抗原的特異性。

本發明中，所謂「在嚴苛的條件下進行雜交」，係指在市售的雜交溶液 ExpressHyb Hybridization Solution

(Clontech 公司製)中，於 68℃進行雜交；或者指在下述條件或其為同等的條件下進行雜交：藉由使用固定有 DNA 之過濾器，在 0.7-1.0M 的 NaCl 存在下，於 68℃進行雜交後，使用 0.1-2 倍濃度之 SSC 溶液(所謂 1 倍濃度 SSC，係包含 150mM NaCl、15mM 檸檬酸鈉)，於 68℃進行清洗而可進行鑑定(identification)之條件。

【0033】

1. HER2

HER2 係被鑑定為第二型人類表皮生長因子受體相關癌基因之代表性生長因子受體型的癌基因產物之一，且係具有分子量 185kDa 之酪胺酸激酶域(tyrosine kinase domain)的跨膜型受體蛋白。已知為包含 HER1(EGFR，ErbB-1)、HER2(neu，ErbB-2)、HER3(ErbB-3)、HER4(ErbB-4)之 EGFR 家族之一，且藉由形成同型、或與為其他 EGFR 之 HER1、HER3、或 HER4 之異型二聚體，細胞內酪胺酸殘基被自磷酸化而進行活化，藉此在正常細胞及腫瘤細胞中，在細胞的增殖・分化・生存上扮演重要的角色。

本發明所使用之 HER2 蛋白，可自人類、非人類哺乳動物(大鼠、小鼠等)之 HER2 表現細胞直接進行精製而使用；或可製備該細胞之細胞膜部分(fraction)而使用；又，可藉由在活體外合成 HER2、或藉由利用基因操作在宿主細胞中產生 HER2 而獲得。基因操作，具體而言，在送入可表現 HER2 cDNA 之載體後，在包含轉錄與轉譯所必要的酵素、基質及能量物質之溶液中進行

合成；或者將其他原核生物、或真核生物之宿主細胞進行轉形而使 HER2 表現，藉此可獲得該蛋白質。又，亦可將利用前述基因操作之 HER2 表現細胞、或表現 HER2 之細胞株作為 HER2 蛋白使用。

HER2 之 DNA 序列及胺基酸序列已被公開在公共資料庫上，可藉由例如 M11730(Genbank)、NP_004439.2(NCBI)等之登錄編號而參照。

又，HER2 亦包含以下蛋白質：包含上述 HER2 之胺基酸序列中有一或數個的胺基酸取代、缺失及/或附加之胺基酸序列，且具有與該蛋白質為同等之生物活性的蛋白質。

人類 HER2 蛋白係由以下所構成：由 N 端 22 個胺基酸殘基構成之訊號序列、由 630 個胺基酸殘基構成之細胞外域、由 23 個胺基酸殘基構成之跨膜域、由 580 個胺基酸殘基構成之細胞內域。

【0034】

2. 抗 HER2 抗體之製造

本發明之抗 HER2 之抗體，例如可藉由依照此領域所通常實施之方法，將選自 HER2 或 HER2 之胺基酸序列的任意多肽對動物進行免疫，將活體內所產生之抗體加以採取、精製而獲得。作為抗原之 HER2 的生物種並不限定於人類，亦可將源自小鼠、大鼠等之人類以外的動物之 HER2、大鼠 p185neu 等對動物進行免疫。在此情形中，藉由試驗所取得之結合至異種 HER2 的抗體與人類 HER2 之交叉反應性，而可挑選可適用於人類疾病的抗體。

又，亦可依照眾所周知的方法(例如，Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p.495-497；Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p.365-367, Plenum Press, N. Y. (1980))，藉由使產生抗 HER2 之抗體的抗體產生細胞與骨髓瘤細胞進行融合，而建立融合瘤，獲得單株抗體。

此外，作為抗原之 HER2，可藉由利用基因操作而使 HER2 基因在宿主細胞中表現而得。

具體而言，只要製作可表現 HER2 基因之載體，將其導入宿主細胞而使該基因表現，並將所表現之 HER2 進行精製即可。

又，亦可將利用上述基因操作之 HER2 表現細胞、或表現 HER2 之細胞株作為 HER2 蛋白使用。抗 HER2 抗體可藉由眾所周知的手段而取得。以下，具體地說明抗 HER2 之抗體的取得方法。

【0035】

(1) 抗原之製備

作為用於製作抗 HER2 抗體之抗原，可舉出 HER2、或包含其至少 6 個連續之部分胺基酸序列之多肽、或者對此等附加任意胺基酸序列或載體蛋白(carrier)而成之衍生物。

HER2 可自人類的腫瘤組織或腫瘤細胞直接進行精製而使用，又，可藉由在活體外合成 HER2、或藉由利用基因操作而在宿主細胞中產生 HER2 而獲得。

基因操作，具體而言，在送入可表現 HER2 之 cDNA 之載體後，在包含轉錄與轉譯所必要的酵素、基

質及能量物質之溶液中進行合成；或者將其他原核生物、或真核生物之宿主細胞進行轉形而使 HER2 表現，藉此可獲得抗原。

又，使為膜蛋白質之 HER2 的細胞外域與抗體的恆定區連結而成之融合蛋白質在適當的宿主・載體系統中表現，藉此亦可獲得作為分泌蛋白質之抗原。

HER2 之 cDNA，可藉由例如將表現 HER2 之 cDNA 的 cDNA 庫(cDNA library)作為模板，使用特異性增幅 HER2 cDNA 之引子，進行聚合酶連鎖反應(PCR；參照 Saiki, R. K., et al., Science (1988) 239, p.487-489)之所謂 PCR 法而取得。

作為多肽的活體外(in vitro)合成，可舉出例如 Roche Diagnostics 公司製之快速轉譯系統(Rapid Translation System, RTS)，但不限定於此。

作為原核細胞的宿主，可舉出例如大腸桿菌(Escherichia coli)、枯草桿菌(Bacillus subtilis)等。為了使目標基因在此等宿主細胞內進行轉形，係藉由包含源自可與宿主適合之物種的複製原(replicon)，亦即複製起點，與調節序列之質體載體，而將宿主細胞進行轉形。又，作為載體，較佳為具有可對轉形細胞賦予表型(表現型)的選擇性之序列者。

真核細胞的宿主細胞中，包含脊椎動物、昆蟲、酵母等細胞，作為脊椎動物細胞，常使用例如為猴的細胞之 COS 細胞(Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p.175-182，ATCC CRL-1650；ATCC：美國菌種保存中心(American

Type Culture Collection))、小鼠纖維母細胞 NIH3T3(ATCC No. CRL-1658)、中國倉鼠卵巢細胞(CHO 細胞，ATCC CCL-61)之二氫葉酸還原酵素缺損株 (Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, p.4126-4220)等，但不限定於此等。

如上述般進行而獲得之轉形體可依照此領域所通常實施之方法而進行培養，藉由該培養而在細胞內或細胞外產生目標多肽。

作為該培養所使用之培養基，可因應所採用之宿主細胞而適當選擇慣用之各種培養基，若為大腸桿菌，則例如可在 LB 培養基中因應需要添加安比西林 (ampicillin)等之抗生素或 IPMG 而使用。

藉由上述培養而在轉形體之細胞內或細胞外所產生之重組蛋白質，可藉由利用該蛋白質之物理性質、化學性質等之各種眾所周知的分離操作法而進行分離・精製。

作為該方法，具體而言可例示例如利用通常的蛋白質沉澱劑之處理、超過濾、分子篩層析法(凝膠過濾)、吸附層析法、離子交換層析法、親和力層析法等各種液體層析法、透析法、此等之組合等。

又，藉由將所表現之重組蛋白質與由 6 殘基構成之組胺酸標籤(histidine tag)連接，可利用鎳親和力管柱而有效率地進行精製。或者，藉由將所表現之重組蛋白質與 IgG 之 Fc 區域連接，可利用蛋白質 A(Protein A)管柱而有效率地進行精製。

藉由組合上述方法，可容易地以高產率、高純度而大量製造作為目標的多肽。

亦可將上述所述之轉形體本身作為抗原使用。又，亦可將表現 HER2 之細胞株作為抗原使用。作為此種細胞株，可舉出人類乳癌株 SK-BR-3、BT-474、KPL-4、或 JIMT-1、人類胃癌株 NCI-N87、及人類卵巢癌株 SK-OV-3，但只要表現 HER2，則不限定於此等細胞株。

【0036】

(2) 抗 HER2 單株抗體之製造

作為與 HER2 特異性結合之抗體的例，可舉出與 HER2 特異性結合之單株抗體，其取得方法係如以下所記載。

在製造單株抗體時，一般需要如下述之操作步驟。
亦即，

(a)作為抗原而使用之活體高分子之精製、或抗原表現細胞之製備

(b)將抗原注射至動物而進行免疫後，採取血液並檢驗其抗體價，以決定摘出脾臟的時期，然後製備抗體產生細胞的步驟

(c)骨髓瘤細胞(以下稱作「骨髓瘤」)之製備

(d)抗體產生細胞與骨髓瘤之細胞融合

(e)產生作為目標的抗體之融合瘤群的挑選

(f)至單一細胞殖株(cell clone)的分割(選殖)

(g)依據情形，用於大量製造單株抗體之融合瘤的培養、或經移植融合瘤之動物的飼育

(h)如此所製造之單株抗體的生理活性、及其結合特異性之探討、或作為標示試藥的特性之檢驗等。

以下，依循上述步驟詳述單株抗體的製作方法，但該抗體的製作方法並不限於此，例如亦可使用脾細胞以外之抗體產生細胞及骨髓瘤。

【0037】

(a)抗原之精製

作為抗原，可使用以如前述之方法所製備之 HER2 或其一部分。

又，作為抗原亦可使用：藉由 HER2 表現重組體細胞所製備之膜部分、或 HER2 表現重組體細胞本身、以及使用當業者所周知之方法進行化學合成而成之本發明相關蛋白質的部分肽。

再者，亦可使用 HER2 表現細胞株作為抗原。

【0038】

(b)抗體產生細胞之製備

將步驟(a)所得之抗原、與弗氏(Freund's)完全或不完全佐劑、或者如鉀礬之助劑進行混合，並作為免疫原以對實驗動物進行免疫。除此之外，亦有將抗原表現細胞作為免疫原以對實驗動物進行免疫之方法。實驗動物係可無障礙地使用眾所周知的融合瘤製作法所使用之動物。具體而言，可使用例如小鼠、大鼠、山羊、綿羊、牛、馬等。惟，由與所摘出之抗體產生細胞進行融合之骨髓瘤細胞的取得容易性等觀點而言，以將小鼠或大鼠作為被免疫動物為佳。

又，對於實際使用之小鼠及大鼠的品系並未特別限制，在小鼠之情形中，可使用例如各品系 A、AKR、BALB/c、BDP、BA、CE、C3H、57BL、C57BL、C57L、DBA、FL、HTH、HT1、LP、NZB、NZW、RF、R III、SJL、SWR、WB、129 等，又在大鼠之情形中，可使用例如 Wistar、Low、Lewis、Sprague、Dawley、ACI、BN、Fischer 等。

此等小鼠及大鼠可由例如 CLEA Japan 股份有限公司、Charles River Laboratories Japan 股份有限公司等實驗動物飼育販售業者而取得。

作為被免疫動物，若斟酌與後述骨髓瘤細胞之融合適合性，則小鼠係以 BALB/c 品系為特佳，大鼠係以 Wistar 及 Low 品系為特佳。

又，亦較佳為使用考慮抗原在人類與小鼠之同源性，而去除自體抗體以降低活體機制之小鼠，亦即自體免疫疾病小鼠。

此外，此等小鼠或大鼠之免疫時的週齡較佳為 5～12 週齡，再佳為 6～8 週齡。

藉由 HER2 或其之重組體而將動物進行免疫，可使用例如 Weir, D. M., Handbook of Experimental Immunology Vol. I. II. III., Blackwell Scientific Publications, Oxford (1987); Kabat, E. A. and Mayer, M. M., Experimental Immunochemistry, Charles C Thomas Publisher Springfield, Illinois (1964) 等所詳細記載之眾所周知的方法。

在此等免疫法之中，若具體表示本發明中適宜之方法，則例如以下所述。

亦即，首先將為抗原之膜蛋白質部分、或表現抗原之細胞投予至動物的皮內或腹腔內。惟，為了提高免疫效率，以併用兩者為佳，若在前半進行皮內投予，且在後半或僅在最後一次進行腹腔內投予，則特別可提高免疫效率。

抗原的投予時程，係依據被免疫動物的種類、個體差異等而異，但一般而言，以抗原投予次數 3～6 次且投予間隔 2～6 週為佳，以投予次數 3～4 次且投予間隔 2～4 週為更佳。

又，抗原的投予量係依據動物的種類、個體差異等而異，但一般而言設定為 0.05～5mg，較佳為設定為 0.1～0.5mg 左右。

追加免疫係在如以上之抗原投予的 1～6 週後進行，較佳為在 1～4 週後進行，再佳為在 1～3 週後進行。在免疫原為細胞之情形中，使用 1×10^6 至 1×10^7 個細胞。

此外，進行追加免疫之際的抗原投予量係依據動物的種類、大小等而異，但一般而言，例如在小鼠之情形中，設定為 0.05～5mg，較佳設定為 0.1～0.5mg，再佳設定為 0.1～0.2mg 左右。在免疫原為細胞之情形中，使用 1×10^6 至 1×10^7 個細胞。

自上述追加免疫起 1～10 日後，較佳為 2～5 日後，再佳為 2～3 日後，自被免疫動物無菌地取出包含抗體

產生細胞之脾臟細胞或淋巴球。若在此時量測抗體價，並將抗體價變得充分高的動物作為抗體產生細胞的供給源，則可提高後續操作的效率。

作為於此所使之抗體價的量測法，可舉出例如 RIA 法或 ELISA 法，但不限於此等方法。本發明中之抗體價的量測，例如若根據 ELISA 法，則可藉由以下所記載之各種程序而進行。

首先，使經精製或部分精製之抗原吸附在 ELISA 用 96 孔盤等之固相表面，再藉由與抗原無關之蛋白質，例如牛血清白蛋白(BSA)來覆蓋未吸附抗原之固相表面，清洗該表面後，與作為一級抗體(primary antibody)而經連續稀釋之試料(例如小鼠血清)進行接觸，使試料中的抗體與上述抗原結合。

進一步添加作為二級抗體之經酵素標示之抗小鼠抗體之抗體，使其與小鼠抗體結合，在清洗後，添加該酵素的基質，量測因基於基質分解的呈色所致之吸光度的變化等，藉此算出抗體價。

來自被免疫動物之脾臟細胞或淋巴球之抗體產生細胞的分離，係可依照眾所周知的方法(例如，Kohler et al., Nature (1975) 256, p.495 ; Kohler et al., Eur. J. Immunol. (1977) 6, p.511 ; Milstein et al., Nature (1977) ,266, p.550 ; Walsh, Nature, (1977) 266, p.495)而進行。例如，在脾臟細胞之情形中，可採用以下的一般方法：將脾臟切碎，以不鏽鋼篩網過濾細胞後，使其懸浮於伊格爾最低必需培養基(Eagle's minimum essential medium, MEM)，而分離抗體產生細胞。

【0039】

(c)骨髓瘤細胞(以下稱作「骨髓瘤」)之製備

細胞融合所使用之骨髓瘤細胞並未特別限制，可適當選自眾所周知的細胞株而使用。惟，考慮到自融合細胞選擇融合瘤之際的便利性，較佳為使用其選擇手續已確立之 HGPRT(Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase，次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶)缺損株。

亦即，源自小鼠之 X63-Ag8(X63)、NS1-ANS/1(NS1)、P3X63-Ag8.U1(P3U1)、X63-Ag8.653(X63.653)、SP2/0-Ag14(SP2/0)、MPC11-45.6TG1.7(45.6TG)、FO、S149/5XXO、BU.1等；源自大鼠之 210.RSY3.Ag.1.2.3(Y3)等；源自人類之 U266AR(SKO-007)、GM1500、GTG-A12(GM1500)、UC729-6、LICR-LOW-HMy2(HMy2)、8226AR/NIP4-1(NP41)等。此等 HGPRT 缺損株可例如自 ATCC 等取得。

此等細胞株係以適當的培養基，例如 8-氮鳥嘌呤培養基(對於已在 RPMI-1640 培養基中添加麩醯胺酸、2-巰乙醇、建它黴素(gentamicin)、及胎牛血清(以下稱作「FBS」)之培養基，添加 8-氮鳥嘌呤而成之培養基)、伊思考夫改良杜爾貝可培養基(Iscove's Modified Dulbecco's Medium；以下稱作「IMDM」)、或杜爾貝可改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle Medium；以下稱作「DMEM」)進行繼代培養，但細胞融合之 3 至 4 日前以正常培養基(例如，包含 10% FCS 之 ASF104 培養基(Ajinomoto 股份有限公司製))進行繼代培養，在融合當天確保 2×10^7 以上之細胞數。

【0040】

(d)細胞融合

抗體產生細胞與骨髓瘤細胞之融合，可依照眾所周知之方法 (Weir, D. M., Handbook of Experimental Immunology Vol. I. II .III., Blackwell Scientific Publications, Oxford (1987); Kabat, E. A. and Mayer, M. M., Experimental Immunochemistry, Charles C Thomas Publisher Springfield, Illinois (1964)等)，在不使細胞的生存率極度降低之程度的條件下適當實施。

作為此種方法，例如可使用在聚乙二醇等高濃度聚合物溶液中將抗體產生細胞與骨髓瘤細胞進行混合之化學性方法、利用電刺激之物理性方法等。其中，若表示上述化學性方法的具體例則如下所述。

亦即，在使用聚乙二醇作為高濃度聚合物溶液之情形中，係在分子量 1500～6000，較佳為 2000～4000 之聚乙二醇溶液中，於 30～40℃，較佳為 35～38℃之溫度，將抗體產生細胞與骨髓瘤細胞混合 1～10 分鐘，較佳為混合 5～8 分鐘。

【0041】

(e)融合瘤群的選擇

藉由上述細胞融合所得之融合瘤的選擇方法並未特別限制，但通常使用 HAT(次黃嘌呤・胺喋呤・胸苷)選擇法 (Kohler et al., Nature (1975) 256, p.495; Milstein et al., Nature (1977) 266, p.550)。

此方法在以下情形中有效：使用在胺喋呤中無法生存之 HGPRT 缺損株的骨髓瘤細胞來獲得融合瘤之情形。亦即，藉由以 HAT 培養基培養未融合細胞及融合瘤，而可選擇性地僅使對胺喋呤具耐受性之融合瘤殘存，且使其增殖。

【0042】

(f)至單一細胞植株(cell clone)的分割(選殖)

作為融合瘤的選殖法，可使用例如甲基纖維素法、軟瓊脂糖法、有限稀釋法(limiting dilution assay)等眾所周知的方法(例如參照 Barbara, B. M. and Stanley, M. S.: Selected Methods in Cellular Immunology, W. H. Freeman and Company, San Francisco (1980))。此等方法中，特佳為甲基纖維素法等之三維培養法。例如，將藉由細胞融合所形成之融合瘤群懸浮於 ClonaCell-HY Selection Medium D(StemCell Technologies 公司製 # 03804)等甲基纖維素培養基而培養，回收所形成之融合瘤群落，藉此可取得單植株融合瘤。培養所回收之各融合瘤群落，將在所得之融合瘤培養上清液中為穩定且可確認抗體價者，選擇作為 HER2 單株抗體產生融合瘤株。

【0043】

(g)利用融合瘤的培養之單株抗體的製備

如此所選擇之融合瘤，藉由將其進行培養，而可效率佳地獲得單株抗體，但期望在培養前先篩選會產生作為目標的單株抗體之融合瘤。

在此篩選中，可採用其本身已知的方法。

本發明中之抗體價的量測，可例如藉由上述(b)之項目所說明之 ELISA 法而進行。

藉由以上方法所得之融合瘤，可在液態氮中或 -80℃以下的冷凍庫中以凍結狀態進行保存。

結束選殖之融合瘤，係將培養基從 HT 培養基更換成正常培養基而進行培養。

大量培養係藉由使用大型培養瓶之旋轉培養、或藉由攪拌培養(*spinner culture*)而進行。自此大量培養中之上清液，使用凝膠過濾等當業者所周知的方法進行精製，藉此可獲得與本發明之蛋白質特異性結合之單株抗體。

又，在同品系的小鼠(例如，上述的 BALB/c)、或 Nu/Nu 小鼠的腹腔內注射融合瘤，並使該融合瘤增殖，藉此可獲得包含大量本發明之單株抗體之腹水。

在投予至腹腔內之情形中，若在事前(3~7 日前)投予 2,6,10,14-四甲基十五烷(2,6,10,14-tetramethylpentadecane；姥鯨烷(*pristane*))等礦物油，則可獲得更多量的腹水。

例如，在與融合瘤為同品系之小鼠的腹腔內預先注射免疫抑制劑，使 T 細胞不活化後，於 20 日後，使 $10^6 \sim 10^7$ 個融合瘤・殖株細胞懸浮於不含血清之培養基中(0.5ml)並投予至腹腔內，通常腹部會膨脹，在腹水累積後自小鼠採取腹水。藉此方法，相較於在培養液中，可獲得濃度為約 100 倍以上的單株抗體。

藉由上述方法所得之單株抗體，可藉由例如 Weir, D. M.: Handbook of Experimental Immunology, Vol. I, II, III, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1978)所記載之方法進行精製。

如此所得之單株抗體，對於 HER2 具有高抗原特異性。作為本發明之單株抗體，並未特別限制，但可舉出小鼠單株抗體 4D5(ATCC CRL 10463)。

【0044】

(h)單株抗體之檢驗

如此所得之單株抗體的同型(isotype)及亞型(subclass)的確定可如以下般進行。

首先，作為鑑定法，可舉出歐氏擴散(Ouchterlony)法、ELISA法、或RIA法。

歐氏擴散法雖簡便，但在單株抗體的濃度低之情形中，必須進行濃縮操作。

另一方面，在使用ELISA法或RIA法之情形中，使培養上清液直接與抗原吸附固相進行反應，再者，進一步使用對應於各種免疫球蛋白同型、亞型之抗體作為二級抗體，藉此可鑑定單株抗體之同型、亞型。

又，作為更簡便的方法，亦可利用市售之鑑定用的套組(kit)(例如，Mouse Typer Kit；Bio-Rad公司製)等。

再者，蛋白質的定量，可藉由斐林-洛瑞(Folin-Lowry)法)、及由280nm下之吸光度($1.4(OD_{280}) = \text{免疫球蛋白 } 1\text{mg/ml}$)進行計算之方法而進行。

再者，在再次實施(2)之(a)至(h)的步驟而另外獨立取得單株抗體之情形中，亦可取得具有與(g)之步驟所得之抗 HER2 抗體為同等的細胞毒性活性之抗體。作為此種抗體的一例，可舉出結合至與由(g)之步驟所得之抗 HER2 抗體為同一表位(epitope)之抗體。新製作之單株抗體只要結合至前述抗 HER2 抗體所結合之部分肽或部分立體結構，則可判定該單株抗體係結合至同一表位。又，藉由確認相對於前述抗 HER2 抗體之對 HER2 之結合，該單株抗體係進行競合(亦即，該單株抗體妨礙前述抗 HER2 抗體與 HER2 之結合)，即使未確定具體的表位之序列或結構，亦可判定該單株抗體與抗 HER2 抗體結合至同一表位。在確認表位為同一之情形下，強烈期待該單株抗體具有與前述抗 HER2 抗體為同等之抗原結合能力或生物活性。

【0045】

(3) 其他抗體

本發明之抗體中，除了上述抗 HER2 之單株抗體以外，以使對於人類之異種抗原性降低等作為目的，亦可包含經人為改變之基因重組型抗體，例如嵌合(Chimeric)抗體、人源化(Humanized)抗體、人類抗體等。此等抗體可使用既知之方法進行製造。

作為嵌合抗體，可舉出抗體的可變區與恆定區互為異種之抗體，例如將源自小鼠或大鼠之抗體的可變區與源自人類的恆定區進行接合而成之嵌合抗體(參照 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 81, 6851-6855, (1984))。作為

本發明之嵌合抗體，並未特別限制，但可舉出包含人類 IgG1 或 IgG2 的重鏈恆定區之嵌合抗體 4D5。

作為人源化抗體，可舉出：僅將異種抗體的互補性決定區(CDR；complementarity determining region)併入源自人類之抗體而成之抗體(參照 Nature (1986) 321, p.522-525)；藉由 CDR 移植法，除了異種抗體之 CDR 的序列以外，亦將異種抗體之一部分的架構(framework)之胺基酸殘基移植至人類抗體而成之抗體(國際公開第 90/07861 號)；使用基因轉換突變誘發(gene conversion mutagenesis)策略而進行人源化而成之抗體(美國專利第 5821337 號)。

【0046】此外，本說明書中之「數個」，意指 1 至 10 個、1 至 9 個、1 至 8 個、1 至 7 個、1 至 6 個、1 至 5 個、1 至 4 個、1 至 3 個、或者 1 或 2 個。

【0047】又，作為本說明書中之胺基酸的取代，係以保留式胺基酸取代(conservative amino acid substitution)為佳。所謂保留式胺基酸取代，係在與胺基酸側鏈相關之胺基酸群組內所產生之取代。較佳的胺基酸群組係如下：酸性群組=天冬胺酸、麩胺酸；鹼性群組=離胺酸、精胺酸、組胺酸；非極性群組=丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸；及非帶電極性家族=甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸。其他較佳的胺基酸群組係如下：脂肪族羥基群組=絲胺酸及蘇胺酸；含有醯胺之群組=天冬醯胺酸及麩醯胺酸；脂肪族

群組=丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；以及芳族群組=苯基丙胺酸、色胺酸及酪胺酸。此胺基酸取代係以在不使具有原本胺基酸序列之物質的特性降低的範圍內進行為佳。

【0048】將與上述重鏈胺基酸序列及輕鏈胺基酸序列表現高同源性的序列加以組合，藉此可選擇具有與上述各抗體同等之生物活性的抗體。此種同源性，一般而言為 80%以上之同源性，較佳為 90%以上之同源性，更佳為 95%以上的同源性，最佳為 99%以上之同源性。又，即使藉由將重鏈或輕鏈之胺基酸序列中有 1 至數個胺基酸殘基取代、缺失或附加之胺基酸序列加以組合，亦可選擇具有與上述各抗體同等之生物活性的抗體。此外，本說明書中之「同源性」係以與「相同性」相同的意義使用。

【0049】二種類之胺基酸序列間的同源性，可藉由使用 Blast algorithm version 2.2.2(Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaeffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402)之預設參數(default parameter)而確定。Blast algorithm 亦可藉由於網際網路存取 www.ncbi.nlm.nih.gov/blast 而使用。

【0050】作為本發明之抗體，更可舉出與 HER2 結合之人類抗體。所謂抗 HER2 人類抗體，意指僅具有源自

人類之胺基酸序列的抗 HER2 抗體。抗 HER2 人類抗體可藉由使用下述小鼠之方法取得：具有人類染色體片段之人類抗體產生小鼠，其中該人類染色體片段包含人類抗體之重鏈與輕鏈的基因(參照 Tomizuka, K. et al., *Nature Genetics* (1997) 16, p.133-143；Kuroiwa, Y. et. al., *Nucl. Acids Res.* (1998) 26, p.3447-3448；Yoshida, H. et. al., *Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects* vol. 10, p.69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999；Tomizuka, K. et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2000) 97, p.722-727 等)。

【0051】此種人類抗體產生小鼠，具體而言，係作為內在性免疫球蛋白重鏈及輕鏈的基因座被破壞，取而代之地經由酵母人工染色體(Yeast artificial chromosome, YAC)載體等而導入人類免疫球蛋白重鏈及輕鏈的基因座而成之基因重組動物，可藉由基因剔除動物及基因轉殖動物的製作及使此等動物彼此交配而作出。

又，利用基因重組技術，藉由分別編碼此種人類抗體之重鏈及輕鏈之 cDNA 將真核細胞進行轉形，較佳為藉由包含該 cDNA 之載體將真核細胞進行轉形，並培養產生基因重組人類單株抗體之轉形細胞，藉此亦可自培養上清液中獲得此抗體。

於此，作為宿主，可使用例如真核細胞，較佳為 CHO 細胞、淋巴球、骨髓瘤等哺乳動物細胞。

【0052】又，亦已知從人類抗體庫挑選之源自噬菌體顯示 (phage display) 之取得人類抗體的方法 (參照 Wormstone, I. M. et. al, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. (2002) 43 (7), p.2301-2308 ; Carmen, S. et. al., *Briefings in Functional Genomics and Proteomics* (2002), 1 (2), p.189-203 ; Siriwardena, D. et. al., *Ophthalmology* (2002) 10 9(3), p.427-431 等)。

例如，可使用噬菌體顯示法，其係將人類抗體的可變區作為單股抗體 (scFv) 且表現在噬菌體表面，並選擇與抗原結合之噬菌體 (*Nature Biotechnology* (2005), 23, (9), p.1105-1116)。

將藉由與抗原結合所選擇之噬菌體的基因進行剖析，藉此可確定編碼與抗原結合之人類抗體的可變區之 DNA 序列。

若得知與抗原結合之 scFv 的 DNA 序列，則藉由製作具有該序列之表現載體且導入至適當的宿主以使其表現，而可取得人類抗體 (國際公開第 92/01047 號、國際公開第 92/20791 號、國際公開第 93/06213 號、國際公開第 93/11236 號、國際公開第 93/19172 號、國際公開第 95/01438 號、國際公開第 95/15388 號；*Annu. Rev. Immunol* (1994) 12, p.433-455；*Nature Biotechnology* (2005) 23 (9), p.1105-1116)。

【0053】作為比較抗體性質時的其他指標之一例，可舉出抗體的穩定性。示差掃描熱量法 (DSC) 係可快速又正確的量測成為蛋白的相對性結構穩定性之適合指標的

熱變性中點(T_m)之設備。使用 DSC 量測 T_m 值，並比較其值，藉此可比較熱穩定性的差異。抗體的保存穩定性已知係顯示出與抗體的熱穩定性有某程度的相關(Lori Burton, et. al., *Pharmaceutical Development and Technology* (2007) 12, p.265-273)，可將熱穩定性作為指標而選出較佳的抗體。作為用於選出抗體之其他指標，可舉出在適當宿主細胞中之產量高、及在水溶液中的凝集性低。例如，產量最高的抗體不一定顯示最高的熱穩定性，故必須基於以上所述之指標進行綜合判斷，而選出最適合投予至人類的抗體。

【0054】本發明所使用之抗體中亦包含抗體的修飾體。所謂該修飾體，意指對本發明之抗體施以化學性或生物學性修飾而成者。在化學性修飾體中，包含具有對胺基酸骨架之化學部分的結合、對 N-鍵或 O-鍵碳水化合物鏈之化學部分的結合之化學修飾體等。在生物學性修飾體中，包含經轉譯後修飾(例如，N-鍵或 O-鍵型糖鏈的附加、N 端或 C 端的加工、脫醯胺化、天冬胺酸的異構化、甲硫胺酸的氧化等)者、藉由使用原核生物宿主細胞使其表現而 N 端附加甲硫胺酸殘基者等。又，為了可偵測或分離本發明之抗體或抗原而被標示者，例如，酵素標示體、螢光標示體、親和力標示體亦包含在此修飾體的意義中。此種本發明之抗體的修飾體，在抗體的穩定性及血中滯留性的改善、抗原性的減低、抗體或抗原的偵測或分離等中是有用的。

【0055】又，藉由調節與本發明中所使用之抗體結合的糖鏈修飾(醣苷化、去海藻糖化等)，而可增強抗體依賴性細胞毒性活性。作為抗體的糖鏈修飾之調節技術，已知有國際公開第 99/54342 號、國際公開第 00/61739 號、國際公開第 02/31140 號等，但不限定於此等。本發明之抗體中亦包含該糖鏈修飾經調節之抗體。

在將抗體基因暫時分離後導入適當宿主而製作抗體之情形中，可使用適當宿主與表現載體之組合。作為抗體基因的具體例，可舉出將編碼本說明書所記載之抗體的重鏈序列之基因及編碼輕鏈序列之基因組合而成者。在將宿主細胞進行轉形之際，重鏈序列基因與輕鏈序列基因可插入相同的表現載體，又亦可插入各別的表現載體。

使用真核細胞作為宿主之情形中，可使用動物細胞、植物細胞、真核微生物。尤其，作為動物細胞，可舉出哺乳類細胞，例如，為猴的細胞之 COS 細胞 (Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p.175-182, ATCC CRL-1650)、小鼠纖維母細胞 NIH3T3(ATCC No. CRL-1658)、中國倉鼠卵巢細胞(CHO 細胞, ATCC CCL-61)之二氫葉酸還原酵素缺損株 (Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (1980) 77, p.4126-4220)。

使用原核細胞之情形，可舉出例如大腸桿菌、枯草桿菌。

對於此等細胞，藉由轉形而導入作為目標之抗體基因，在活體外培養經轉形的細胞，藉此可獲得抗體。在

該培養中，有產量依據抗體的序列而異之情形，可從具有同等結合活性之抗體中，以產量作為指標，而挑選作為醫藥之生產為容易者。因此，本發明之抗體中亦包含藉由下述抗體的製造方法所得之抗體，該抗體的製造方法之特徵係包含：培養上述經轉形之宿主細胞的步驟；及從該步驟所得之培養物採取目標抗體或該抗體的功能性片段的步驟。

【0056】此外，哺乳類培養細胞所生產之抗體，已知其重鏈之羧基末端的離胺酸殘基缺失 (Journal of Chromatography A, 705: 129-134 (1995))，又，已知相同重鏈羧基末端的甘胺酸、離胺酸的 2 胺基酸殘基缺失，新位於羧基末端之脯胺酸殘基被醯胺化 (Analytical Biochemistry, 360: 75-83(2007))。但是，此等重鏈序列之缺失及修飾並不影響抗體之抗原結合能力及效應功能 (effector function)(補體的活化、抗體依賴型細胞毒性 (antibody-dependent cellular cytotoxicity)作用等)。因此，本發明之抗體中亦包含接受該修飾之抗體及該抗體的功能性片段，且亦包含在重鏈羧基末端有 1 或 2 的胺基酸缺失之缺失體、及經醯胺化之該缺失體(例如，羧基末端部位之脯胺酸殘基經醯胺化之重鏈)等。但是，只要保有抗原結合能力及效應功能，則本發明之抗體的重鏈之羧基末端的缺失體不限定於上述種類。構成本發明之抗體的二條重鏈，可為選自包含完整長度及上述之缺失體之群組的重鏈之任一種，亦可為組合任二種者。各缺失體的量比係會受到產生本發明之抗體的哺乳類培

養細胞的種類及培養條件所影響，但本發明之抗體，較佳可舉出二條重鏈雙方之羧基末端的一個胺基酸殘基缺失者。

【0057】作為本發明中所使用之抗體的同型，可舉出例如 IgG(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)等，但較佳可舉出 IgG1 或 IgG2。

【0058】作為抗體的生物活性，一般而言可舉出抗原結合活性、藉由與抗原結合而內化至表現該抗原之細胞的活性、中和抗原活性的活性、增加抗原活性的活性、抗體依賴性細胞毒性 (antibody-dependent cell cytotoxicity, ADCC) 活性、補體依賴性細胞毒性 (complement dependent cytotoxicity, CDC) 活性及抗體依賴性細胞吞噬作用 (antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP)，但本發明之抗體具有的生物活性係對於 HER2 之結合活性，較佳為藉由與 HER2 結合而內化至 HER2 表現細胞之活性。再者，本發明之抗體除了細胞內化活性以外，亦可一併具有 ADCC 活性、CDC 活性及/或 ADCP 活性。

【0059】所得之抗體可精製至均一。抗體的分離、精製只要使用通常蛋白質所使用之分離、精製方法即可。例如，只要將管柱層析法、過濾器過濾、超過濾、鹽析、透析、調製用聚丙烯醯胺凝膠電泳、等電點電泳等加以適當選擇、組合，則可分離、精製抗體 (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak et al. eds., Cold Spring

Harbor Laboratory Press (1996)；Antibodies: A Laboratory Manual. Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988))，但不限定於此等。

作為層析法，可舉出親和力層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、凝膠過濾層析法、逆相層析法、吸附層析法等。

此等層析法可使用 HPLC 或 FPLC 等液相層析法而進行。

作為親和力層析法所使用之管柱，可舉出蛋白質 A 管柱、蛋白質 G 管柱。例如，作為使用蛋白質 A 管柱之管柱，可舉出 Hyper D, POROS, Sepharose F. F. (Pharmacia 股份有限公司)等。

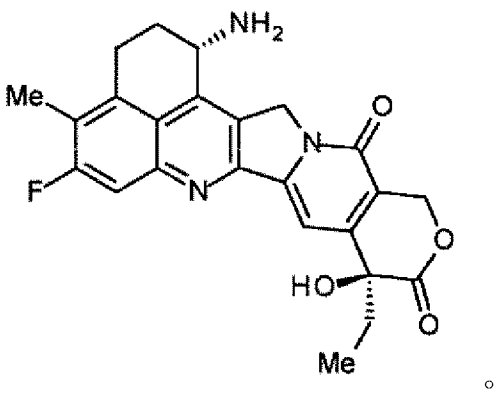
又，亦可使用經固定化抗原之支撐體(carrier)，並利用對抗原的結合性而精製抗體。

【0060】

[抗腫瘤性化合物]

針對本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物所結合之抗腫瘤性化合物進行描述。此抗腫瘤性化合物係為喜樹鹼衍生物之依喜替康(IUPAC 名：(1S,9S)-1-胺基-9-乙基-5-氟-1,2,3,9,12,15-六氫-9-羥基-4-甲基-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(亦可表示成化學名：(1S,9S)-1-胺基-9-乙基-5-氟-2,3-二氫-9-羥基-4-甲基-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-10,13(9H,15H)-二酮))。依喜替康係下式所示之化合物：

【0061】

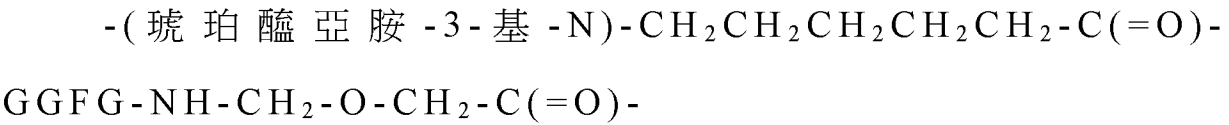


【0062】依喜替康因具有喜樹鹼結構，故已知在酸性水介質中(例如 pH3 左右)，平衡偏向形成內酯環的結構(閉環體)，另一方面，在鹼性水介質中(例如 pH10 左右)，平衡偏向內酯環開環的結構(開環體)。經導入對應於此種閉環結構及開環結構之依喜替康殘基的抗體-藥物結合物，理所當然皆包含在本發明所使用之抗體-藥物結合物的範圍。

【0063】

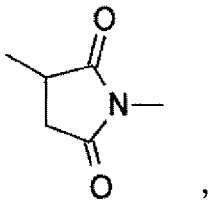
[連接物結構]

針對本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物中使抗腫瘤性化合物與抗 HER2 抗體結合之連接物結構進行敘述。該連接物可由下式表示：



(式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



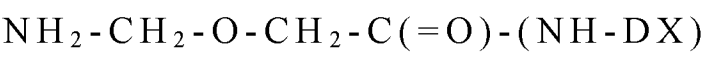
在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-GGFG-係表示 -Gly-Gly-Phe-Gly- 之四肽殘基)。

【0064】

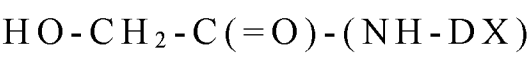
[腫瘤細胞內所釋放之化合物]

本發明中所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物，係在移動至腫瘤細胞內後，連接物部分被剪切，式：



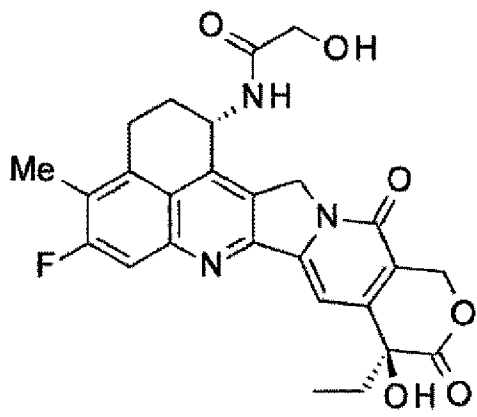
所示之結構的藥物衍生物可游離。

已確認上述藥物衍生物之同分子內所具有的胺縮醛結構因不穩定，故進一步自體分解，而式：



所示之化合物會游離。

上述化合物可由下式表示：



(以下，於本發明中有時亦稱作「化合物 1」)。

【0065】化合物 1 被認為係本發明所使用之抗體-藥物結合物所具有之抗腫瘤活性的本體，並已確認具有拓模異構酶 I 抑制作用 (Ogitani Y. et al., Clinical Cancer

Research, 2016, Oct 15; 22 (20): 5097-5108, Epub 2016 Mar 29)。

此外，本發明所使用之抗體-藥物結合物亦已知具有旁觀者效應(bystander effect)(Ogitani Y. et al., *Cancer Science* (2016) 107, 1039-1046)。此旁觀者效應係藉由在本發明所使用之抗體-藥物結合物內化至 HER2 表現癌細胞後，所釋放之化合物 1 對於不表現 HER2 之附近的癌細胞亦造成抗腫瘤效果而發揮。

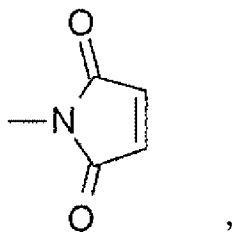
【0066】

[製造方法]

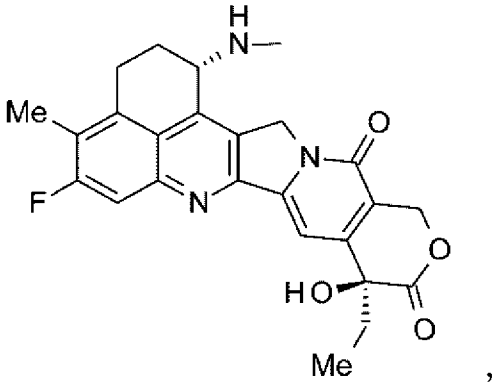
本發明所使用之抗體-藥物結合物可藉由使具有硫醇基(或亦稱硫氫基(sulfhydryl))之抗 HER2 抗體與下述化合物(以下，在本發明中亦稱作「化合物 2」)反應而製造：

(順丁烯二醯亞胺-N-基)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)

(式中，(順丁烯二醯亞胺-N-基)-係下式所示之氮原子為結合部位之基：



-(NH-DX)係下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



-GGFG-表示 -Gly-Gly-Phe-Gly-之四肽殘基)。

【0067】化合物 2 可參考國際公開第 2015/115091 號之實施例 26、32、及 33 所記載之製造方法等而製造。化合物 2 可藉由所謂 N-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-[(2-{[(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羥基-4-甲基-10,13-二側氧基-2,3,9,10,13,15-六氫-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-1-基]胺基}-2-側氧乙氧基)甲基]甘胺醯胺(N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]glycylglycyl-L-phenylalanyl-N-[(2-{[(1S,9S)-9-ethyl-5-fluoro-9-hydroxy-4-methyl-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-yl]amino}-2-oxo-ethoxy)methyl]glycinamide)之化學名而表示。

【0068】具有硫氫基之抗 HER2 抗體可藉由當業者周知的方法而得(Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp.56-136, pp.456-493, Academic Press (1996))。例如可舉出將參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽(tris(2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride, TCEP)等還原劑

與抗 HER2 抗體進行作用而還原抗體內鉸鏈(hinge)部的雙硫鍵以使硫氫基生成；等方法，但不限定於此等。

具體而言，將作為還原劑的 TCEP，以相對於每一個抗體內鉸鏈部二硫化物為 0.3 至 3 莫耳當量使用，在包含螯合劑之緩衝液中，與抗 HER2 抗體進行反應，藉此可獲得抗體內鉸鏈部二硫化物被部分或完全還原之抗 HER2 抗體。作為螯合劑，可舉出例如伸乙二胺四乙酸(EDTA)、二伸乙三胺五乙酸(DTPA)等。只要以 1mM 至 20mM 的濃度使用此等即可。作為緩衝液，可使用磷酸鈉、硼酸鈉、乙酸鈉溶液等。具體而言，於 4℃至 37℃使抗 HER2 抗體與 TCEP 反應 1 至 4 小時，藉此可獲得部分或完全還原之具有硫氫基的抗 HER2 抗體。

於此，實施使硫氫基加成至藥物-連接物部分之反應，藉此可利用硫醚鍵使藥物-連接物部分鍵結。

每 1 個具有硫氫基之抗 HER2 抗體，使用 2 至 20 莫耳當量之化合物 2，而可製造每 1 個抗 HER2 抗體鍵結有 2 個至 8 個的藥物之抗體-藥物結合物(1)。具體而言，只要在包含具有硫氫基之抗 HER2 抗體的緩衝液中，添加溶解有化合物 2 之溶液並使其反應即可。於此，作為緩衝液，只要使用乙酸鈉溶液、磷酸鈉、硼酸鈉等即可。反應時之 pH 為 5 至 9，較佳只要在 pH7 左右進行反應即可。作為使化合物 2 溶解之溶劑，可使用二甲亞砜(DMSO)、二甲基甲醯胺(DMF)、二甲基乙醯胺(DMA)、N-甲基-2-吡啶酮(NMP)等有機溶劑。

只要將 1 至 20%v/v 之溶解有化合物 2 之有機溶劑溶液添加至包含具有硫氫基之抗 HER2 抗體的緩衝液並進行反應即可。反應溫度係 0 至 37°C，較佳為 10 至 25°C，反應時間為 0.5 至 2 小時。可將未反應的化合物 2 之反應性藉由含有硫醇之試藥而使其失活，藉此結束反應。含有硫醇之試藥係例如半胱胺酸或 N-乙醯基-L-半胱胺酸(NAC)。更具體而言，相對於所使用之化合物 2，添加 1 至 2 莫耳當量之 NAC，在室溫培養 10 至 30 分鐘，藉此可結束反應。

所製造之抗體-藥物結合物，可藉由以下的共通操作，進行濃縮、緩衝液交換、精製、及量測每一分子抗體之抗體濃度、藥物平均鍵結數，進行抗體-藥物結合物的鑑定。

【0069】

共通操作 A：抗體或抗體-藥物結合物水溶液之濃縮

在 Amicon Ultra(50,000 MWCO，Millipore Co.)的容器內置入抗體或抗體-藥物結合物溶液，以使用離心機(Allegra X-15R，Beckman Coulter, Inc.)之離心操作(以 2000G 至 3800G 離心 5 至 20 分鐘)，濃縮抗體或抗體-藥物結合物溶液。

【0070】

共通操作 B：抗體之濃度量測

使用 UV 量測器(Nanodrop 1000，Thermo Fisher Scientific Inc.)，依照製造商規定的方法，進行抗體濃度的量測。此時，依據抗體使用不同的 280nm 吸光係數($1.3\text{mLmg}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 至 $1.8\text{mLmg}^{-1}\text{cm}^{-1}$)。

【0071】

共通操作 C-1：抗體之緩衝液交換

將使用 Sephadex G-25 支撐體之 NAP-25 管柱 (Cat. No. 17-0852-02, GE Healthcare Japan Corporation), 依照製造商規定之方法, 以包含氯化鈉 (137mM) 及伸乙二胺四乙酸 (EDTA, 5mM) 之磷酸緩衝液 (10mM, pH6.0; 在本說明書中稱作 PBS6.0/EDTA) 進行平衡化。對於一根 NAP-25 管柱裝入 2.5mL 之抗體水溶液後, 分離取得以 PBS6.0/EDTA 3.5mL 所沖提之部分 (fraction) (3.5mL)。將此部分藉由共通操作 A 進行濃縮, 使用共通操作 B 進行抗體濃度的量測後, 使用 PBS6.0/EDTA 將抗體濃度調整至 10mg/mL。

共通操作 C-2：抗體之緩衝液交換

將使用 Sephadex G-25 支撐體之 NAP-25 管柱 (Cat. No. 17-0852-02, GE Healthcare Japan Corporation), 依照製造商規定的方法, 以包含氯化鈉 (50mM) 及 EDTA (2mM) 之磷酸緩衝液 (50mM, pH6.5; 在本說明書中稱作 PBS6.5/EDTA) 進行平衡化。對於一根 NAP-25 管柱裝入 2.5mL 之抗體水溶液後, 分離取得以 PBS6.5/EDTA 3.5mL 所沖提之部分 (3.5mL)。將此部分藉由共通操作 A 進行濃縮, 使用共通操作 B 進行抗體濃度的量測後, 使用 PBS6.5/EDTA 將抗體濃度調整至 20mg/mL。

【0072】

共通操作 D：抗體-藥物結合物之精製

以市售之磷酸緩衝液 (PBS7.4, Cat. No. 10010-023, Invitrogen)、包含氯化鈉 (137mM) 之磷酸鈉緩衝液 (10mM, pH6.0; 在本說明書中稱作 PBS6.0) 或包含山梨醇 (5%) 之乙酸緩衝液 (10mM, pH5.5; 在本說明書中稱作 ABS) 中任一緩衝液, 將 NAP-25 管柱進行平衡化。在此 NAP-25 管柱中裝入抗體-藥物結合物反應水溶液 (約 1.5mL), 以製造商規定的量之緩衝液進行沖提, 藉此分離取得抗體部分。重複共計 2 至 3 次之將此分離取得的部分再度裝入 NAP-25 管柱, 以緩衝液進行沖提之凝膠過濾精製操作, 藉此獲得去除未鍵結之藥物連接物、低分子化合物 (參 (2-羧乙基) 膦鹽酸鹽 (TCEP)、N-乙醯基-L-半胱胺酸 (NAC)、二甲亞碸) 之抗體-藥物結合物。

【0073】

共通操作 E: 抗體-藥物結合物中之抗體濃度及每一分子抗體之藥物平均鍵結數的量測 (1)

抗體-藥物結合物中之鍵結藥物濃度係可藉由在量測抗體-藥物結合物水溶液之 280nm 及 370nm 的二波長下之 UV 吸光度後, 進行下述的計算而算出。

因某波長下之全吸光度係等於系統內所存在之全部的吸收化學種之吸光度的和 (吸光度的加成性), 故若假設在抗體與藥物之結合前後, 抗體及藥物之莫耳吸光係數無變化, 則抗體-藥物結合物中之抗體濃度及藥物濃度係以下述關係式表示。

$$A_{280} = A_{D, 280} + A_{A, 280} = \epsilon_{D, 280} C_D + \epsilon_{A, 280} C_A \quad \text{式 (I)}$$

$$A_{370} = A_{D, 370} + A_{A, 370} = \epsilon_{D, 370} C_D + \epsilon_{A, 370} C_A \quad \text{式 (II)}$$

於此， A_{280} 表示 280nm 下之抗體-藥物結合物水溶液的吸光度， A_{370} 表示 370nm 下之抗體-藥物結合物水溶液的吸光度， $A_{A, 280}$ 表示 280nm 下之抗體的吸光度， $A_{A, 370}$ 表示 370nm 下之抗體的吸光度， $A_{D, 280}$ 表示 280nm 下之結合物前驅物的吸光度， $A_{D, 370}$ 表示 370nm 下之結合物前驅物的吸光度， $\epsilon_{A, 280}$ 表示 280nm 下之抗體的莫耳吸光係數， $\epsilon_{A, 370}$ 表示 370nm 下之抗體的莫耳吸光係數， $\epsilon_{D, 280}$ 表示 280nm 下之結合物前驅物的莫耳吸光係數， $\epsilon_{D, 370}$ 表示 370nm 下之結合物前驅物的莫耳吸光係數， C_A 表示抗體-藥物結合物中之抗體濃度， C_D 表示抗體-藥物結合物中之藥物濃度。

於此， $\epsilon_{A, 280}$ 、 $\epsilon_{A, 370}$ 、 $\epsilon_{D, 280}$ 、 $\epsilon_{D, 370}$ 可使用事前所準備之值(計算估計值或由化合物的 UV 量測所得之實測值)。例如， $\epsilon_{A, 280}$ 係可由抗體的胺基酸序列，藉由既知的計算方法(Protein Science, 1995, vol. 4, 2411-2423)而估計。 $\epsilon_{A, 370}$ 通常為零。在製造例中，曲妥珠單抗的莫耳吸光係數係使用 $\epsilon_{A, 280}=215400$ (計算估計值)及 $\epsilon_{A, 370}=0$ 。 $\epsilon_{D, 280}$ 及 $\epsilon_{D, 370}$ 係可藉由量測溶解有某莫耳濃度之所使用之結合物前驅物的溶液之吸光度，並利用朗伯-比爾定律(Lambert-Beer's law)(吸光度=莫耳濃度×莫耳吸光係數×樣品槽(cell)光路徑長)而得。製造例中之藥物連接物的莫耳吸光係數，只要沒有特別限制，係使用 $\epsilon_{D, 280}=5000$ (實測平均值)、 $\epsilon_{D, 370}=19000$ (實測平均值)。量測抗體-藥物結合物水溶液之 A_{280} 及 A_{370} ，將此等值代入式(I)及(II)並解聯立方程式，藉此可求得 C_A 及

C_D 。再者，將 C_D 除以 C_A ，藉此可求得每一抗體之藥物平均鍵結數。

【0074】

共通操作 F：抗體-藥物結合物中之每一分子抗體之藥物平均鍵結數的量測(2)

抗體-藥物結合物中之每一分子抗體之藥物平均鍵結數，除了前述共通操作 E 以外，藉由使用以下方法之高效液相層析法(HPLC)分析亦可求得。

[F-1. HPLC 分析用樣本之調製(抗體-藥物結合物之還原)]

將抗體-藥物結合物溶液(約 1mg/mL，60 μ L)與二硫蘇糖醇(dithiothreitol，DTT)水溶液(100mM，15 μ L)進行混合。將混合物在 37 $^{\circ}$ C 培養 30 分鐘，藉此將抗體-藥物結合物之 L 鏈及 H 鏈間的雙硫鍵經剪切的樣本用於 HPLC 分析。

[F-2. HPLC 分析]

藉由下述量測條件進行 HPLC 分析。

HPLC 系統：Agilent 1290 HPLC 系統(Agilent Technologies)

偵測器：紫外吸光度計(量測波長：280nm)

管柱：PLRP-S(2.1 $\times$ 50mm、8 μ m、1000Å；Agilent Technologies，P/N PL1912-1802)

管柱溫度：80 $^{\circ}$ C

移動相 A：0.04%三氟乙酸(TFA)水溶液

移動相 B：包含 0.04%TFA 之乙腈溶液

梯度程式 (gradient program)： 29%-36%(0 分 -12.5 分)、 36%-42%(12.5-15 分)、 42%-29%(15 分 -15.1 分)、 29%-29%(15.1 分 -25 分)

樣本注入量： 15μL

[F-3.數據剖析]

〔 F-3-1 〕 相對於未鍵結藥物之抗體的 L 鏈(L₀)及 H 鏈(H₀)，鍵結有藥物之 L 鏈(鍵結一個藥物之 L 鏈： L₁)及 H 鏈(鍵結一個藥物之 H 鏈： H₁，鍵結二個藥物之藥物之 H 鏈： H₂，鍵結三個藥物之 H 鏈： H₃)，其疏水性係與所鍵結之藥物的數量呈比例地增加且滯留時間變長，故以 L₀、 L₁、 H₀、 H₁、 H₂、 H₃ 的順序被沖提。藉由與 L₀ 及 H₀ 的滯留時間作比較，而可將偵測峰分配成 L₀、 L₁、 H₀、 H₁、 H₂、 H₃ 之任一者。

〔 F-3-2 〕 藥物連接物會吸收 UV，故因應於藥物連接物的鍵結數，使用 L 鏈、H 鏈及藥物連接物的莫耳吸光係數，依照下式而進行峰面積值的補正。

【0075】

L 鏈峰面積補正值 (L_i)

$$= \text{峰面積} \times \frac{\text{L 鏈的莫耳吸光係數}}{\text{L 鏈的莫耳吸光係數} + \text{結合藥物數} \times \text{藥物連結物的莫耳吸光係數}}$$

【0076】

H 鏈峰面積補正值 (H_i)

$$= \text{峰面積} \times \frac{\text{H 鏈的莫耳吸光係數}}{\text{H 鏈的莫耳吸光係數} + \text{結合藥物數} \times \text{藥物連結物的莫耳吸光係數}}$$

【0077】於此，各抗體中之 L 鏈及 H 鏈的莫耳吸光係數 (280nm) 係可藉由既知之計算方法 (ProteinScience, 1995, vol. 4, 2411-2423)，而使用由各抗體的 L 鏈及 H 鏈的胺基酸序列所估計之值。曲妥珠單抗之情形中，依照其胺基酸序列，作為 L 鏈的莫耳吸光係數，使用 26150 作為估計值，作為 H 鏈的莫耳吸光係數，使用 81290 作為估計值。又，藥物連接物的莫耳吸光係數 (280nm) 係使用下述化合物的實測的莫耳吸光係數 (280nm)：將各藥物連接物以巯乙醇或 N-乙醯基半胱胺酸進行反應，將順丁烯二醯亞胺基轉換成琥珀醯亞胺硫醚 (succinimide thioether) 之化合物。

[F-3-3] 依照下式計算各鏈峰面積相對於峰面積補正值合計之比 (%)。

【0078】

$$\text{L 鏈峰面積比} = \frac{A_{Li}}{A_{L0} + A_{L1}} \times 100$$

$$\text{H 鏈峰面積比} = \frac{A_{Hi}}{A_{H0} + A_{H1} + A_{H2} + A_{H3}} \times 100$$

A_{Li} , A_{Hi} : L_i , H_i 各別的峰面積補正值

【0079】[F-3-4] 依照下式計算抗體-藥物結合物中之每一分子抗體之藥物平均鏈結數。

藥物平均鏈結數 = $(L_0 \text{ 峰面積比} \times 0 + L_1 \text{ 峰面積比} \times 1 + H_0 \text{ 峰面積比} \times 0 + H_1 \text{ 峰面積比} \times 1 + H_2 \text{ 峰面積比} \times 2 + H_3 \text{ 峰面積比} \times 3) / 100 \times 2$

【0080】本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物，藉由放置在大氣中、或者藉由進行再結晶或精製操作，有吸收水分或附著有吸著水等而成為水合物之情形，本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物亦包含此種含水之化合物或鹽。

又，本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物中，亦包含以各種放射性或非放射性同位素所標示之化合物。構成本發明之抗體-藥物結合物的原子之 1 個以上中，可以非天然比例含有原子同位素。作為原子同位素，可舉出例如氘 (^2H)、氚 (^3H)、碘-125 (^{125}I)、或碳-14 (^{14}C) 等。又，本發明化合物可藉由例如氚 (^3H)、碘-125 (^{125}I)、或碳-14 (^{14}C) 等放射性同位素進行放射性標示。經放射性標示之化合物，係有用於作為治療或預防劑；研究試藥，例如分析試藥；及診斷劑，例如活體內影像診斷劑。本發明所使用之抗體-藥物結合物之全部的同位素異變異體 (isotopic variants) 不論是否具有放射性，皆包含在本發明的範圍中。

【0081】

[醫藥]

本發明的治療劑係以含有本發明所使用之抗體-藥物結合物為特徵。又，本發明的治療方法係以將本發明所使用之抗體-藥物結合物投予至患者為特徵。此等可使用作為對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的治疗劑及治療方法。

【0082】本發明中所謂的「抗性」或「難治性」，係表示對於利用抗癌劑之治療為無反應之性質，亦可表現成「無反應性」、「不反應性」，又，因係無反應而無法防止腫瘤的增殖，故亦可表現成「不耐性」。

本發明之「抗性或難治性」可為「因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性」，亦可為「並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性」。

此外，在本發明中，所謂「HER2 表現癌」，係表示包含在細胞表面表現 HER2 蛋白之癌細胞的癌及/或腫瘤。

本發明中所謂「既存的抗 HER2 藥」，係表示排除本發明之抗體-藥物結合物，在臨床上所使用之將 HER2 作為標的之藥劑，較佳係表示在標準治療中所使用之抗 HER2 藥。「既存的抗 HER2 藥」只要為滿足上述要件者則無特別限定，但較佳為選自包含曲妥珠單抗依坦辛 (Trastuzumab Emtansine, T-DM1)、曲妥珠單抗 (Trastuzumab)、帕妥珠單抗 (Pertuzumab)、及拉帕替尼 (Lapatinib) 之群組之至少一種，更佳為曲妥珠單抗依坦辛或曲妥珠單抗，再佳為曲妥珠單抗依坦辛。

【0083】本發明的治療劑及治療方法，可適合使用於對具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者進行投予。

在本發明中，所謂「既存的抗癌藥」，係表示排除本發明所使用之抗體-藥物結合物，在臨床上所使用之抗癌藥。「既存的抗癌藥」只要為滿足上述要件者則無

特別限定，但較佳為含有選自包含下列之群組的至少一種：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯 (Irinotecan, CPT-11)、順鉑 (Cisplatin)、卡鉑 (Carboplatin)、奧沙利鉑 (Oxaliplatin)、氟尿嘧啶 (Fluorouracil, 5-FU)、吉西他濱 (Gemcitabine)、卡培他濱 (Capecitabine)、紫杉醇 (Paclitaxel)、歐洲紫杉醇 (Docetaxel)、阿黴素 (Doxorubicin)、泛艾黴素 (Epirubicin)、環磷醯胺 (Cyclophosphamide)、絲裂黴素 C (Mitomycin C)、喃氟啶 (Tegafur)/吉美拉西 (Gimeracil)/奧特拉西 (Oteracil) 複方製劑、西妥昔單抗 (Cetuximab)、帕尼單抗 (Panitumumab)、貝伐單抗 (Bevacizumab)、雷莫司單抗 (Ramucirumab)、瑞格非尼 (Regorafenib)、曲氟尿苷 (Trifluridine)/替比拉西 (Tipiracil) 複方製劑、吉非替尼 (Gefitinib)、厄洛替尼 (Erlotinib)、阿法替尼 (Afatinib)、胺甲喋呤 (Methotrexate)、及培美曲塞 (Pemetrexed)。

在治療乳癌之情形中，「既存的抗癌藥」係較佳為含有選自包含曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、氟尿嘧啶、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、及胺甲喋呤之群組的至少一種，更佳為含有曲妥珠單抗依坦辛或曲妥珠單抗，再佳為含有曲妥珠單抗依坦辛。

在治療胃癌之情形中，「既存的抗癌藥」係較佳為含有選自包含曲妥珠單抗、愛萊諾迪肯、順鉑、氟尿嘧

啖、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、及絲裂黴素 C 之群組的至少一種，更佳為含有曲妥珠單抗及/或愛萊諾迪肯，再佳為含有曲妥珠單抗。

在治療大腸癌的治療之情形中，「既存的抗癌藥」係較佳為含有選自包含愛萊諾迪肯、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、及曲氟尿苷/替比拉西複方製劑之群組的至少一種，更佳為含有愛萊諾迪肯。

在治療非小細胞肺癌之情形中，「既存的抗癌藥」係較佳為含有選自包含愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、吉西他濱、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、及培美曲塞之群組的至少一種。

【0084】本發明的治療劑及治療方法係較佳為特徵在於本發明所使用之抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg(表示體重每 1kg 之投予量為 5.4mg。以下相同)至 8mg/kg 的範圍，更佳為 5.4mg/kg、6.4mg/kg、7.4mg/kg、或 8mg/kg，再佳為 5.4mg/kg、或 6.4mg/kg。

本發明的治療劑及治療方法係較佳為特徵在於以三週一次の間隔投予本發明所使用之抗體-藥物結合物。

【0085】本發明的治療劑及治療方法可較佳地使用於選自包含乳癌、胃癌(有時亦稱作胃腺癌)、大腸癌(有時亦稱作結腸直腸癌，包含結腸癌及直腸癌)、非小細胞肺癌、食道癌、唾腺癌、胃食道接合處腺癌、膽管癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤之群組的至少一種癌的治疗，可更佳地使用於選自包含乳癌、胃

癌、大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾腺癌、胃食道接合處腺癌、膽管癌、及佩吉特氏病之群組的至少一種癌的治療，可再佳地使用於乳癌、胃癌、大腸癌、或非小細胞肺癌的治療。

此外，對於乳癌，已確認有利用為既存的抗 HER2 藥之曲妥珠單抗依坦辛及曲妥珠單抗之治療。又，對於胃癌及胃食道接合處腺癌，亦確認有利用為既存的抗 HER2 藥之曲妥珠單抗之治療。因此，在將本發明的治療劑用於選自包含乳癌、胃癌、及胃食道接合處腺癌之群組的至少一種癌的治療之情形中，「抗性或難治性」係較佳為「因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性」。

另一方面，對於大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾腺癌、膽管癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤，未確立利用既存的抗 HER2 藥之有效的治療方法。因此，在將本發明的治療劑及治療方法使用於選自包含大腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、唾腺癌、膽管癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、及子宮癌肉瘤之群組的至少一種癌的治療之情形中，「抗性或難治性」較佳為「並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性」。

【0086】本發明的治療劑及治療方法，只要為 HER2 表現癌，則可使用在 HER2 過度表現的癌，亦可使用在 HER2 低表現的癌。

在本發明中所謂「HER2 過度表現的癌」，只要為當業者所認識之 HER2 過度表現的癌者則無特別限制，但較佳可舉出藉由免疫組織化學法(IHC)而 HER2 的表現被判定為 3+的癌；或藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法(ISH)而 HER2 的表現被判定為陽性的癌。此外，在本發明之原位雜交法中，包含螢光原位雜交法(FISH)與雙色原位雜交法(dual color in situ hybridization)(DISH)。

在本發明中所謂「HER2 低表現的癌」，只要為當業者所認識之 HER2 低表現的癌者則無特別限制，但較佳可舉出藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陰性的癌；或藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 1+的癌。

利用免疫組織化學法之 HER2 表現度的判定方法、利用原位雜交法之 HER2 表現的陽性或陰性的判定方法，只要為當業者所認識者則無特別限制，但可舉出例如 HER2 檢查指南 乳癌篇 第四版(乳癌 HER2 檢查病理部會作成)。

【0087】本發明的治療劑及治療方法較佳可使用於無法手術或復發的癌的治療。

本發明的治療劑及治療方法可含有藥學上容許之製劑成分而使用。

本發明的治療劑，換言之，亦可作為將本發明所使用之抗體-藥物結合物、其鹽、或該等之水合物作為活

性成分，且含有藥學上容許之製劑成分之抗性癌的治療用醫藥組成物而使用。

【0088】本發明的治療用醫藥組成物，對於對既存的抗癌藥顯示抗性之癌(亦即抗性癌)、尤其是已獲得對既存的抗癌藥之抗性的癌(亦即二次抗性癌)，顯示優異的抗腫瘤活性。因此，本發明的治療用醫藥組成物，在癌症患者中，適用於對既存的抗癌藥顯示抗性之患者群(具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者)且發揮顯著的抗腫瘤效果。

「既存的抗癌藥」的定義，係如前所述，但較佳為曲妥珠單抗依坦辛(T-DM1)等包含抗 HER2 抗體之抗體-藥物結合物；或者曲妥珠單抗、或帕妥珠單抗等之抗 HER2 抗體本身。

本發明的治療用醫藥組成物係取代此等既存的抗癌藥、或與此等既存的抗癌藥組合而投予至癌症患者，藉此對於對此等既存的抗癌藥已獲得抗性之癌亦顯示高治療效果。

【0089】本發明的治療用醫藥組成物，較佳為以本發明所使用之抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 0.8mg/kg 至 8mg/kg 的範圍作為特徵，更佳為以 5.4mg/kg、6.4mg/kg、7.4mg/kg、或 8mg/kg 作為特徵，再佳為以 5.4mg/kg、或 6.4mg/kg 作為特徵。

本發明的治療用醫藥組成物之投予間隔可為一週一次(q1w)、二週一次(q2w)、三週一次(q3w)、或四週一次(q4w)，但較佳為三週一次。

【0090】本發明的治療用醫藥組成物較佳為可使用於抗性癌為肺癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、乳癌、膀胱癌、胃癌、胃腸道基質腫瘤、子宮頸癌、食道癌、鱗狀上皮癌、腹膜癌、肝臟癌、肝細胞癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、子宮癌、唾腺癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、或肉瘤之情形，更佳為可使用於抗性癌為乳癌、胃癌、大腸癌、或非小細胞肺癌之情形，再佳為可使用於抗性癌為乳癌或胃癌之情形。

【0091】本發明的治療劑及治療用醫藥組成物可使癌細胞的成長遲緩、抑制增殖、甚至破壞癌細胞。藉由此等作用，在癌症患者中，可緩解因癌所致之症狀、改善生活品質(quality of life)(QOL)、維持癌症患者生命而達成治療效果。即使在不至於破壞癌細胞之情形中，亦可藉由抑制、控制癌細胞的增殖而在癌症患者中達成更高的 QOL 並且達成更長期的存活。

除了在此種藥物療法中藥物單獨的使用以外，亦可在佐劑療法中作為與其他療法組合之藥劑而使用，可與外科手術、放射線療法、激素療法(hormonotherapy)等組合。再者，亦可使用作為前導性(neoadjuvant)療法中之藥物療法的藥劑。

除了如以上般之治療的使用以外，亦可期待壓制細微的轉移癌細胞的增殖、甚至進行破壞等預防效果。尤其，在原發性癌細胞中確認到 HER2 的表現時，藉由投

予本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物，可期待抑制、預防癌轉移的效果。例如，可期待抑制並破壞在轉移過程中存在於體液中之癌細胞的效果；對於剛著床於任一組織後之細微的癌細胞的抑制、破壞等效果。因此，尤其可期待在以外科方式去除癌後之癌轉移的抑制、預防效果。

本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物除了適用作為對患者之全身療法以外，亦可適用於局部癌組織而期待治療效果。

【0092】本發明的治療劑及治療用醫藥組成物係較佳為可對哺乳動物投予，但更佳為可對人類投予。

【0093】本發明的治療劑及治療用醫藥組成物可包含一種以上的藥學上容許之製劑成分而進行投予。藥學上容許之製劑成分，可因應本發明所使用之抗體-藥物結合物的投予量及投予濃度，適當選自此領域中通常使用之製劑添加物或其他而應用。藥學上容許之製劑成分，具代表性的是包含一種以上的藥學的載劑(carrier)(例如，經滅菌的液體)。於此液體中，包含例如水及油(石油、源自動物、源自植物、或源自合成的油)。油可為例如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油等。在本發明的治療劑及治療用醫藥組成物係進行靜脈內投予之情形中，水係更具代表性的載劑。食鹽水溶液、以及葡萄糖(dextrose)水溶液及甘油水溶液亦可作為液體載劑，尤其是可使用於注射用溶液。適當的藥學的賦形劑，可適當選自此領域所眾所周知者。藥學上容許之製劑成分，

只要符合所欲者，亦可包含微量的濕潤劑或乳化劑、或 pH 緩衝化劑。藥學上容許之製劑成分的適當例，係記載於 E. W. Martin 所著之「Remington's Pharmaceutical Sciences」。其配方係對應於投予的態樣。

【0094】多種的遞輸系統為眾所周知，可使用於投予本發明的治療劑及治療用醫藥組成物。作為導入方法，可舉出皮內、肌肉內、腹腔內、靜脈內、及皮下的路徑，但不限定於此等。投予係可為利用例如注入或全劑量注射(bolus injection)者。特定的較佳實施形態中，本發明的治療劑及治療用醫藥組成物的投予係利用注入者。非經口的投予係較佳的投予路徑。

【0095】在代表的實施形態中，本發明的治療劑及治療用醫藥組成物，係依照習慣的程序進行配方，以作為適合對人類之靜脈內投予的組成物。具代表性之用於靜脈內投予的組成物，係滅菌之等張性水性緩衝液中的溶液。在必要的情形中，本發明的治療劑及治療用醫藥組成物亦可更包含助溶劑及用於緩和注射部位之疼痛的局部麻醉劑(例如，利多卡因(lignocaine))。一般而言，上述成分係作為例如密封於顯示活性劑之量的安瓿或小包(sachet)等且經封口的容器中之乾燥冷凍乾燥粉末或無水的濃縮物，而以個別地、或在單位劑型中一起進行混合之任一種方式供予。在藉由注入而投予本發明的治療劑及治療用醫藥組成物之形態之情形中，其可例如藉由包含滅菌之製藥等級的水或食鹽水之注入瓶而進行投藥。在藉由注射而投予本發明的治療劑及治療用醫藥組

成物之情形中，能以例如可在投予前混合上述成分之方式，提供注射用滅菌水或食鹽水的安瓿。

【0096】本發明的治療劑及治療用醫藥組成物，可為僅包含本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物的醫藥組成物，亦可為包含本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物及至少一種除此之外的癌治療劑的組成物。本發明所使用之抗 HER2 抗體-藥物結合物，亦可與既存的抗癌藥一起投予，藉此可使抗癌效果增強。以此種目的所使用之既存的抗癌藥，可與本發明之抗體-藥物結合物同時、分別、或連續投予至個體，亦可改變各自的投予間隔而進行投予。「既存的抗癌藥」之定義係如前述。

【0097】本發明的治療劑及治療用醫藥組成物，作為具有所選擇之組成與必要之純度的製劑，可進行製劑化而作為冷凍乾燥製劑或液狀製劑。在進行製劑化而作為冷凍乾燥製劑之際，亦可為包含此領域中所使用之適當製劑添加物的製劑。又，在液劑亦同樣，可進行製劑化而作為包含此領域中所使用之各種製劑添加物的液狀製劑。

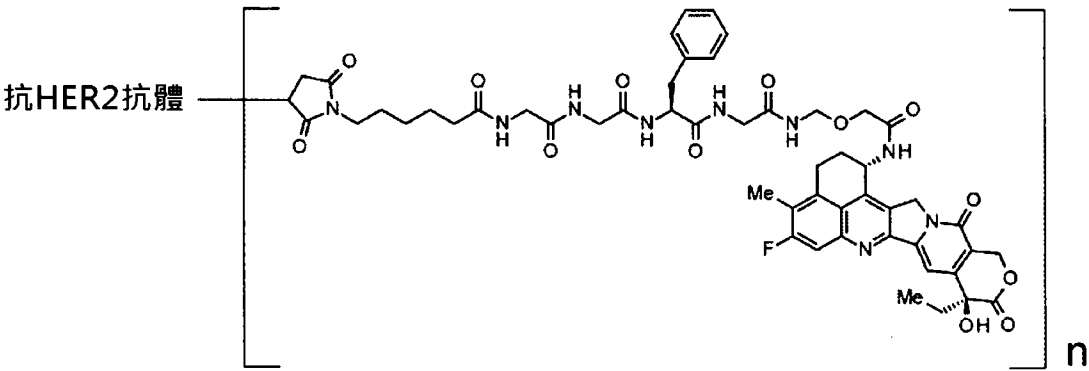
[實施例]

【0098】藉由以下所示之例而具體說明本發明，但本發明並不限定於此等。又，此等在任何意義中皆不被限定地解釋。

【0099】

[製造例：抗體-藥物結合物的製備]

依照專利文獻 8(國際公開第 2015/115091 號)所記載之製造方法，製造下述式所示之抗體-藥物結合物(以下，稱作「抗體-藥物結合物(1)」或「ADC(1)」)。



於此，藥物-連接物結構係藉由硫醚鍵而與抗體鍵結，n 為 7 至 8 的範圍。

【0100】

[評價例 1：抗腫瘤試驗]

小鼠：將 6-12 週齡的雌免疫缺乏 Crl:Nu (Ncr)-Foxn1^{Nu} 小鼠(Charles River 公司)供予實驗。

量測・計算式：以電子式數位卡尺(electronic digital caliper)，一週二次，量測腫瘤的長徑及短徑，計算腫瘤體積(mm³)。將計算式顯示於下。

腫瘤體積(mm³)=0.52×長徑(mm)×[短徑(mm)]²

使用抗體-藥物結合物(1)：DAR=7.6 者。以溶劑(10mM 組胺酸，10% 鹼糖，0.02% 聚山梨醇酯 20，pH 5.5)，稀釋抗體-藥物結合物(1)。曲妥珠單抗依坦辛(T-DM1)係以生理食鹽水進行稀釋。將抗體-藥物結合物(1)的稀釋液或 T-DM1 的稀釋液以 10mL/kg 投予至小鼠的尾靜脈內。

【0101】T-DM1 治療後，將從已抗性化之 HER2 陽性乳癌患者所摘出之腫瘤，移植至雌免疫缺乏小鼠，藉此進行複數次的繼代培養。之後，對小鼠持續投予 T-DM1，藉此獲得 ST1616B/TDR 及 ST1360B/TDR，ST1616B/TDR 及 ST1360B/TDR 係已獲得對 T-DM1 之高抗性的腫瘤。ST1616B/TDR 係源自將 T-DM1 繼續投予 13 個月之患者的腫瘤，ST1360B/TDR 係源自將 T-DM1 繼續投予 3 個月之患者的腫瘤。此等腫瘤皆為 HER2 過度表現(利用免疫組織化學染色(IHC)之判定為 3+)。

【0102】將實性瘤(solid tumor)的腫瘤片皮下移植到雌免疫缺乏小鼠的體側部，在腫瘤體積到達約 200mm^3 的時間點，實施隨機分組。將分組日設為第 0 日(Day 0)，以 3mg/kg 或 10mg/kg 的用量，將抗體-藥物結合物(1)於 Day 0 進行尾靜脈投予。T-DM1 係以 10mg/kg 的用量在 Day 0、7、14、21 進行尾靜脈內投予。作為對照組，係設定僅投予用於稀釋抗體-藥物結合物(1)之溶劑的組。

【0103】將結果顯示於圖 3 或圖 4。對於 ST1616B/TDR 腫瘤及 ST1360B/TDR 腫瘤，T-DM1 的投予並未抑制腫瘤的增殖。另一方面，抗體-藥物結合物(1)在 3mg/kg 及 10mg/kg 之任一投予中皆顯著抑制腫瘤的增殖。在全部的藥劑投予組中，未觀察到小鼠的體重減少。

由以上得知，抗體-藥物結合物(1)對於已對 T-DM1 獲得抗性之腫瘤(亦即，二次抗性癌)，具有顯著的抗腫瘤活性。又，亦得知安全性亦優異。

【0104】

[評價例 2：臨床試驗]

抗體-藥物結合物係對於癌基因表現腫瘤細胞的效率佳且具有特異性藥物遞輸效果之被看好的醫藥。抗體-藥物結合物(1)係具有新穎的拓撲異構酶 I 抑制劑且將 HER2 作為標靶(target)之抗體-藥物結合物(表 1)。臨床試驗所使用之抗體-藥物結合物(1)的 DAR 在 7~8 的範圍，係接近 8 之值。由前臨床數據已證明 HER2 靶向(targeting)係非常地特異性。在前臨床模式中，抗體-藥物結合物(1)顯示遠大於曲妥珠單抗依坦辛(T-DM1)之廣大的抗腫瘤光譜，且顯示對於 T-DM1 抗性及 HER2 低表現腫瘤之效果。

【0105】用量漸增部分(部分 1)試驗及擴展用量部分(部分 2)試驗係對於 HER2 陽性之乳癌、胃癌、以及與此等不同之 HER2 表現實體癌，以如下述之內容，於第一期(Phase 1)中進行中。

【0106】[表 1]

	ADC(1)	T-DM1
抗體	抗 HER2 單株抗體	曲妥珠單抗(Tmab)
藥物	拓撲異構酶 I 抑制劑(Dxd)	微管蛋白抑制劑(DM1)
DAR*	7-8	3.5

* DAR：平均之藥物對抗體的比例(Average drug-to-antibody Ratio)

【0107】

試驗計畫：

開放式(open-label)、第一期(Phase 1)用量漸增試驗。

藉由遵循 EWOC 原則之 mCRM 法而求取最大耐受劑量(maximum tolerated dose, MTD)。

直到觀察到無法容忍之毒性或病態的惡化為止，以三週一次靜脈內投予抗體-藥物結合物(1)。

劑量限制性毒性(dose-limiting toxicity, DLT)係在第一週期(Cycle 1)(Day 1-21)中求得。

【0108】

部分 1 試驗：用量漸增試驗(於日本實施)

乳癌或胃腺癌/胃食道接合處腺癌

受驗者數設定為至少 18，假定 16%之受驗者(亦即受驗者之 1/6)係 HER2 表現(IHC 2+、3+)。

【0109】

部分 2 試驗：用量擴展試驗(於日、美實施)

部分 2a：受驗者數 40，HER2 過度表現、具有 T-DM1 治療史之乳癌。

部分 2b：受驗者數 40，HER2 過度表現、具有曲妥珠單抗治療史之胃腺癌/胃食道接合處腺癌。

部分 2c：受驗者數 20，HER2 低表現、乳癌。

部分 2d：受驗者數 20，排除乳癌或胃腺癌之 HER2 表現實體癌。

【0110】

主要目標：

抗體-藥物結合物(1)之安全性與可容許性的評價。

求取抗體-藥物結合物(1)之最大耐受劑量、及第二期臨床試驗推薦用量。

次要目標及觀察的目標：

抗體-藥物結合物(1)之藥物動力的評價。

抗體-藥物結合物(1)之有效性的評價。

客觀反應率(Objective Response Rate，ORR；完全反應(complete response)(CR) + 部分反應(partial response)(PR))。

疾病控制率(Disease Control Rate，DCR；CR+PR+穩定(SD))。

發揮功效期間、SD 期間、反應時間、無惡化存活期(Progression Free Survival)。

人類抗人源化抗體對於抗體-藥物結合物(1)之評價。

【0111】

試驗結果

部分 1 試驗：用量漸增試驗(於日本實施)

(1)受驗者之剖析

受驗者的狀況係如表 2 所示。

【0112】[表 2]

受驗者詳細資料			HER2 狀況	
登錄受驗者/處置受驗者	23/22		IHC	
			0	1 (5%)
			1+	3 (14%)
			2+	3 (14%)
年齡中位數 (範圍)	66(38-79)		3+	15 (68%)
過往化學療法數	5(1-11)		FISH	
			未放大(Non-amplified)	2 (9%)
			放大(Amplified)	2 (9%)
			未檢驗(Not examined)	18 (82%)
腫瘤類型			過往化學療法	
			抗 HER2 療法	18 (82%)
			曲妥珠單抗	18 (82%)
			帕妥珠單抗	5 (23%)
乳癌	16 (73%)		拉帕替尼	4 (18%)
			T-DM1	13 (59%)
胃癌	5 (23%)			
胃食道接合處腺癌	1 (5%)			

【0113】

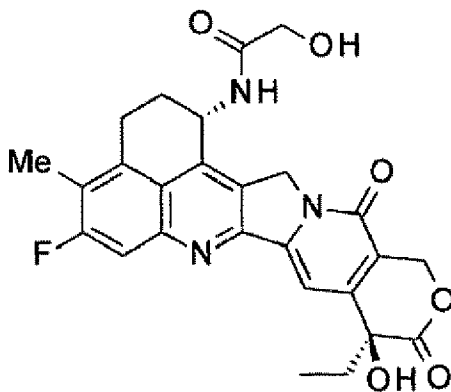
(2)藥物動力

抗體-藥物結合物(1)係以 0.8mg/kg、1.6mg/kg、3.2mg/kg、5.4mg/kg、6.4mg/kg、8mg/kg 之任一投予量，以三週一次(q3w)進行投予。將由此等投予所量測之抗體-藥物結合物(1)的藥物動力顯示於圖 5。

抗體-藥物結合物(1)的曝露在 3.2mg/kg 以上的用量係高於投予量比以上， $T_{1/2}$ 在 3.2mg/kg 以上的用量係延長的。

圖中記載為「化合物 1」之化合物的 $T_{1/2}$ 因翻轉(flip-flop)現象而與抗體-藥物結合物(1)類似(未表示數據)。此外，化合物 1 具有以下結構。

【0114】



週期 1 中之抗體-藥物結合物(1)在投予 6.4mg/kg 下之 C_{min} (10700ng/mL)的中位數係超過基於前臨床之活性成分濃度全體之目標曝露(4260ng/ml)，幾乎與 T-DM1 上市用量之 3.6mg/kg 相同。此外，抗體-藥物結合物(1)之目標投予量為 5.0mg/kg。

【0115】

(3) 安全性與可容許性

將安全性與可容許性之結果顯示於圖 6。

在 0.8mg ~ 8mg/kg 的定群中未達到 MTD。

在任一用量濃度中，皆未達到劑量限制性毒性、等級 4、心毒性(cardiotoxicity)。

最常被觀察到的不良事件(AEs)為低至中程度的消化器官、及血液學的事件。

7 件之等級 3 的不良事件(低鉀血症(1)、貧血(1)、嗜中性球數減少(1)、淋巴球數減少(2)、鹼性磷酸酶增加(1)、膽管炎(1))係在 22 名之受驗者中的 4 名中發生(18%)。

週期 2 以後，6.4mg/kg(n=4/6)與 8.0mg/kg(n=2/3)的定群中，有 6 名的受驗者因不良事件而將投予量減量，但並未達到投予中止。

【0116】

(4) 有效性

將有效性顯示於圖 7、8、9。

在包含 12 名之 T-DM1 已治療例與 5 名之 HER2 低表現受驗者的 20 名可評價受驗者中，達成 ORR 35%(7 PRs)、DCR 90%(圖 8、9)。

抗體-藥物結合物(1)在對於包含 T-DM1 之標準治療為不反應或不耐之乳癌患者中，達成 ORR 42%、DCR 92%(圖 7)。此外，前治療中之 T-DM1 的治療效果為 ORR 18%、DCR 64%，相較於利用 T-DM1 之治療，抗體-藥物結合物(1)以更高的比例發揮功效。

達成 PR(Partial Response，部分反應)之病例中之 1 名在登錄時為 IHC1+(圖 8)。

達成 PR 之病例的大部分為 5.4 mg/kg 以上的用量 (圖 8、9)。

【0117】

部分 2 試驗：用量擴展試驗(於日、美實施)

(1)受驗者的剖析

部分 2 試驗之各定群中之受驗者數、及抗體-藥物結合物(1)之投予量係如表 3 所示。任一定群皆以三週一次の間隔投予抗體-藥物結合物(1)。

【0118】[表 3]

	受驗者數	投予量	
部分 2a	43/100	5.4mg/kg 6.4mg/kg	HER2 過度表現 具 T-DM1 治療史之乳癌
部分 2b	41/40	5.4mg/kg 6.4mg/kg	HER2 過度表現 具曲妥珠單抗治療史之胃癌
部分 2c	10/20	6.4mg/kg	HER2 低表現 乳癌
部分 2d	25/20	6.4mg/kg	排除乳癌及胃癌之 HER2 表現實體癌

【0119】

(2)有效性

(2-1)

關於部分 2 試驗全體中之有效性，圖 10 表示最大腫瘤縮小率(%)。圖中，「乳癌 HER2 陽性(Breast cancer HER2 Positive)」表示 HER2 過度表現之乳癌的定群，「乳癌 HER2 低(Breast cancer HER2 Low)」表示 HER2 低表現之乳癌的定群，「胃癌 HER2 陽性(Gastric cancer HER2 Positive)」表示 HER2 過度表現之胃癌的定

群，「胃癌 HER2 低(Gastric cancer HER2 Low)」表示 HER2 低表現之胃癌的定群，「其他(Others)」表示排除乳癌及胃癌之 HER2 表現實體癌。判明抗體-藥物結合物(1)在任一癌種中皆顯示優異的腫瘤縮小效果，並且不論 HER2 係過度表現或低表現，皆顯示優異的腫瘤縮小效果。

【0120】

(2-2)

關於抗體-藥物結合物(1)對於乳癌之有效性，圖 11 中表示腫瘤縮小率(%)的時間歷程。圖中，「乳癌 HER2 陽性(Breast cancer HER2 Positive)」表示 HER2 過度表現之乳癌的定群，「乳癌 HER2 低(Breast cancer HER2 Low)」表示 HER2 低表現之乳癌的定群。又，關於抗體-藥物結合物(1)對於胃癌之有效性，圖 12 中表示腫瘤縮小率(%)的時間歷程。圖中，「胃癌 HER2 陽性(Gastric cancer HER2 Positive)」表示 HER2 過度表現之胃癌的定群，「胃癌 HER2 低(Gastric cancer HER2 Low)」表示 HER2 低表現之胃癌的定群。判明抗體-藥物結合物(1)在任一癌種中皆顯示優異的腫瘤縮小效果，並且不論 HER2 係過度表現或低表現，皆顯示優異的腫瘤縮小維持效果。

【0121】

(2-3)

關於部分 2 試驗中之有效性，將 ORR(客觀反應率(Objective Response Rate))及 DCR(疾病控制率(Disease

Control Rate))顯示於表 4。抗體-藥物結合物(1)係在全部的定群中顯示高 ORR 及 DCR。尤其，在具有利用曲妥珠單抗依坦辛(T-DM1)之治療史的乳癌患者、具有利用併用曲妥珠單抗依坦辛與帕妥珠單抗之治療史的乳癌患者、及具有利用愛萊諾迪肯(CPT-11)之治療史的胃癌患者中，顯示高 ORR 及 DCR。

【0122】[表 4]

	ORR(受驗者數)	DCR(受驗者數)
全體	40.2% (39/97)	91.8% (89/97)
乳癌	42.2% (19/45)	97.8% (44/45)
乳癌(具 T-DM1 治療史)	45.7% (16/35)	100.0% (35/35)
乳癌(具 T-DM1+帕妥珠單抗治療史)	46.7% (14/30)	100.0% (30/30)
胃癌	44.4% (16/36)	88.9% (32/36)
胃癌(具 CPT-11 治療史)	44.4% (8/18)	94.4% (17/18)

【0123】

(2-4)

部分 2d 試驗(排除乳癌及胃癌之 HER2 表現實體癌的受驗者中，包含：

大腸癌(11 名)、非小細胞肺癌(5 名)、唾腺癌(4 名)、佩吉特氏病(2 名)、食道癌(1 名)、及膽管癌(1 名)的患者。

在可評價的患者 12 名中，達成 ORR 33%、DCR 91%。在大腸癌中，5 名中之 2 名達成 PR。在唾腺癌中，4 名中之 2 名達成 PR。

(2-5)

將部分 2d 試驗之結果顯示於表 5。抗體-藥物結合物(1)，在可評價之患者 22 名中，以部分 2d 試驗全體計，達成 ORR 31.8%、DCR 81.8%。其中，在大腸癌的定群中，達成 ORR 20.0%、DCR 80.0%，在非小細胞肺癌的定群中，達成 ORR 20.0%、DCR 60.0%，在唾腺癌的定群中，達成 ORR 75.0%、DCR 100.0%，在其他癌(佩吉特氏病、食道癌、及膽管癌)的定群中，達成 ORR 33.3%、DCR 100.0%。

[表 5]

	ORR(受驗者數)	DCR(受驗者數)
部分 2d 試驗全體	31.8% (7/22)	81.8% (18/22)
大腸癌	20.0% (2/10)	80.0% (8/10)
非小細胞肺癌	20.0% (1/5)	60.0% (3/5)
唾液腺癌	75.0% (3/4)	100.0% (4/4)
其他 (佩吉特氏病、食道癌、及膽管癌)	33.3% (1/3)	100.0% (3/3)

又，關於部分 2d 試驗中之抗體-藥物結合物(1)的有效性，圖 13 中表示最大腫瘤縮小率(%)(圖中，「C」表示大腸癌的定群，「L」表示非小細胞肺癌的定群，「S」表示唾腺癌的定群，「P」表示佩吉特氏病的定群，「Ch」表示膽管癌的定群，「E」表示食道癌的定群。圖中「※」表示治療進行中者)。

再者，圖 14 中表示腫瘤縮小率(%)的時間歷程(圖中，「Colorectal」表示大腸癌的定群，「NSCLC」表示非小細胞肺癌的定群，「Salivary」表示唾腺癌的定群，「Other」表示其他癌的定群)。

判明抗體-藥物結合物(1)在任一癌種中皆顯示優異的腫瘤縮小效果，並且不論 HER2 係過度表現或低表現，皆顯示優異的腫瘤縮小效果。

【0124】

(3)安全性與可容許性

將安全性與可容許性的結果顯示於表 6。最常被觀察到的不良事件(AEs)為噁心、食欲減少、嘔吐等消化器官系統毒性。但是，判明等級 3 以上之不良事件少。又，亦觀察到血小板數減少、嗜中性球數減少等骨髓抑制，但關於此等，亦判明等級 3 以上之不良事件少。

【0125】[表 6]

	等級 1 (%)	等級 2 (%)	等級 3 (%)	等級 4 (%)	全部 (%)
血小板數減少	13.5	9.0	8.3	3.8	34.6
貧血	3.0	12.0	14.3	1.5	30.8
嗜中性球數減少	0.8	9.8	12.0	3.0	25.6
白血球數減少	0.8	12.8	9.0	1.5	24.1
噁心	51.9	13.5	1.5	0.0	66.9
食欲減少	33.8	20.3	3.8	0.0	57.9
嘔吐	31.6	3.8	1.5	0.0	36.8
下痢	19.5	5.3	0.8	0.0	25.6
便秘	18.8	3.0	0.0	0.0	21.8
掉髮	21.1	6.0	0.0	0.0	27.1
倦怠感	18.0	4.5	0.8	0.0	24.1

【0126】

總 結

抗體-藥物結合物(1)在部分 1 試驗(用量漸增試驗)中未達到 MTD，顯示高可容許性。

20 名之可評價的受驗者中，抗體-藥物結合物(1)達成 35%之 ORR 與 90%之 DCR。

抗體-藥物結合物(1)在 T-DM1 已治療之乳癌患者中，係顯示高於前治療之 T-DM1 的反應率。

部分 2 試驗(用量擴展試驗)中，抗體-藥物結合物(1)係以 5.4mg/kg 及 6.4mg/kg 的投予量且以三週一次的間隔進行投予。判明抗體-藥物結合物(1)在任一癌種中皆顯示優異的抗腫瘤效果，並且不論 HER2 係過度表現或低表現，皆顯示優異的抗腫瘤效果。又，判明確認到等級 3 以上之不良事件少，而顯示優異的安全性。

【0127】由上所示，抗體-藥物結合物(1)即使對於因利用抗癌藥之前治療而獲得抗性之癌，亦具有優異的抗癌作用。作為此種前治療，可舉出抗 HER2 療法(利用既存的抗 HER2 藥之治療、或利用既存的抗 HER2 藥與除此以外之抗癌藥的組合等之治療)。作為抗 HER2 療法，可舉出投予曲妥珠單抗、及帕妥珠單抗等抗體；或投予為抗 HER2 抗體-藥物結合物之 T-DM1 等。此等前治療中所使用之抗 HER2 藥，必須藉由在投予前的檢查而確認作為治療對象之癌為 HER2 陽性(亦即 HER2 過度表現)。因此，就辨識 HER2 且發揮功效之作用機制的觀點而言，係可期待對該癌種之效果而進行投予者。然而，在繼續投予此等抗 HER2 藥後，即使一度確認到如同期待的抗癌作用，亦會觀察到因某些機制而成為抗癌作用變得無法確認之病態。在此種狀況中，即使係變得無法觀察到前治療之抗 HER2 藥投予的效果之癌，本發明所

使用之抗體-藥物結合物(1)亦可確認到優異抗癌作用。亦即，即使係已投予既存的抗 HER2 藥作為前治療而獲得抗性之癌(二次抗性癌)，抗體-藥物結合物(1)亦可確認到顯示優異抗癌作用。

又，在臨床試驗中證實，抗體-藥物結合物(1)即使對於 HER2 低表現之癌、乳癌及胃癌以外之實體癌(例如，大腸癌、非小細胞肺癌、唾腺癌、佩吉特氏病、食道癌、及膽管癌等)亦顯示優異的治療效果。此等癌不論是否表現 HER2，皆係在起初便未觀察到既存的抗 HER2 藥之治療效果的癌(換言之，具有並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係本身已具備之對既存的抗 HER2 藥之抗性或難治性之 HER2 表現癌)。

由上所示，含有本發明所使用之抗體-藥物結合物的治療劑及治療用醫藥組成物、以及以投予本發明之抗體-藥物結合物作為特徵之治療方法，對於對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的治療為優異的。

[序列表非關鍵詞文字]

【0128】

序列識別號 1：人源化抗 HER2 單株抗體重鏈的胺基酸序列

序列識別號 2：人源化抗 HER2 單株抗體輕鏈的胺基酸序列

【符號說明】

無。

序列表

<110> 第一三共股份有限公司 (Daiichi Sankyo Company, Limited)

<120> 抗HER2抗體-藥物結合物之用途

<130> PD20-9018W0

<140> TW111125911

<141> 2017-10-06

<150> JP2016-199341

<151> 2016-10-07

<150> JP2017-097589

<151> 2017-05-16

<150> JP2017-172814

<151> 2017-09-08

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 曲妥珠單抗 (Trastuzumab) 之重鏈的胺基酸序列

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 2
<211> 214

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 曲妥珠單抗之輕鏈的胺基酸序列

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 3
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 3

Asp Gly Gly Phe
1

<210> 4
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 4

Glu Gly Gly Phe
1

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 5

Gly Gly Phe Gly
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 6

Ser Gly Gly Phe
1

<210> 7
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 7

Lys Gly Gly Phe
1

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 8

Asp Gly Gly Phe Gly
1 5

<210> 9
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 9

Gly Gly Phe Gly Gly
1 5

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 10

Asp Asp Gly Gly Phe Gly
1 5

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

<400> 11

Lys Asp Gly Gly Phe Gly
1 5

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Lp的胺基酸序列

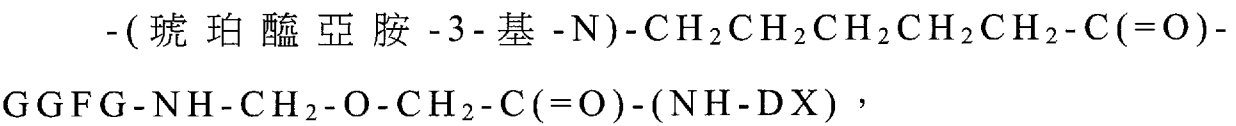
<400> 12

Gly Gly Phe Gly Gly Gly Phe
1 5

【發明申請專利範圍】

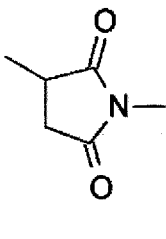
【請求項 1】一種抗體-藥物結合物之用途，其係用於製造用以治療對既存的抗 HER2 藥具抗性或難治性之 HER2 表現癌的醫藥，其特徵在於：

抗體-藥物結合物係由下式所示之連接物(linker)及藥物與抗 HER2 抗體所鍵結而成之抗體-藥物結合物；且抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 至 8mg/kg 的範圍；



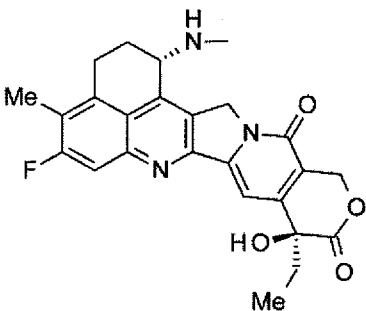
式中，

-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-係下式所示之結構：



在其之 3 位藉由硫醚鍵與抗 HER2 抗體鍵結，且在 1 位的氮原子上與包含其之連接物結構內的亞甲基鍵結，

-(NH-DX)係表示下式所示之 1 位的胺基之氮原子成為鍵結部位之基：



-GGFG-係表示 -Gly-Gly-Phe-Gly-之四肽殘基；

其中既存的抗 HER2 藥係選自由曲妥珠單抗依坦辛 (Trastuzumab Emtansine)、曲妥珠單抗 (Trastuzumab)、帕妥珠單抗 (Pertuzumab)及拉帕替尼 (Lapatinib)組成之群組中之至少一者；

其中 HER2 表現癌係選自由下列組成之群組中的至少一種癌：乳癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer)、食道癌、唾液腺癌、胃食道接合處腺癌 (adenocarcinoma of the gastroesophageal junction)、膽管癌及佩吉特氏病 (Paget's disease)。

【請求項 2】如請求項 1 之用途，其中抗性或難治性係因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性。

【請求項 3】如請求項 1 之用途，其中抗性或難治性並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性。

【請求項 4】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛。

【請求項 5】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗。

【請求項 6】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中將醫藥投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者。

【請求項 7】如請求項 6 之用途，其中既存的抗癌藥包含選自由下列組成之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯(Irinotecan)、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑(Oxaliplatin)、氟尿嘧啶、吉西他濱(Gemcitabine)、卡培他濱(Capecitabine)、紫杉醇、歐洲紫杉醇(Docetaxel)、阿黴素(Doxorubicin)、泛艾黴素(Epirubicin)、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶 / 吉美拉西 / 奧特拉西(Tegafur/Gimeracil/Oteracil)複方製劑、西妥昔單抗(Cetuximab)、帕尼單抗(Panitumumab)、貝伐單抗(Bevacizumab)、雷莫司單抗(Ramucirumab)、瑞格非尼(Regorafenib)、曲氟尿苷 / 替比拉西(Trifluridine/Tipiracil)複方製劑、吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、阿法替尼(Afatinib)、胺甲喋呤、及培美曲塞(Pemetrexed)。

【請求項 8】如請求項 6 之用途，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗依坦辛。

【請求項 9】如請求項 6 之用途，其中既存的抗癌藥包含曲妥珠單抗。

【請求項 10】如請求項 6 之用途，其中既存的抗癌藥包含愛萊諾迪肯。

【請求項 11】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵

結數為 7 至 8 個的範圍。

【請求項 12】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍。

【請求項 13】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列組成之重鏈；及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列組成之輕鏈。

【請求項 14】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：由序列識別號 1 所記載之胺基酸序列組成之重鏈；及由序列識別號 2 所記載之胺基酸序列組成之輕鏈。

【請求項 15】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg。

【請求項 16】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 6.4mg/kg。

【請求項 17】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 7.4mg/kg。

【請求項 18】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 8mg/kg。

【請求項 19】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中抗體-藥物結合物係以三週一次的間隔進行投予。

【請求項 20】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中

HER2 表現癌係乳癌。

【請求項 21】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係胃癌。

【請求項 22】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係胃癌或胃食道接合處腺癌。

【請求項 23】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係大腸癌。

【請求項 24】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係非小細胞肺癌。

【請求項 25】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係唾液腺癌。

【請求項 26】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係 HER2 過度表現的癌。

【請求項 27】如請求項 26 之用途，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 3+ 的癌。

【請求項 28】如請求項 26 之用途，其中 HER2 過度表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陽性的癌。

【請求項 29】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌為 HER2 低表現的癌。

【請求項 30】如請求項 29 之用途，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 2+，且藉由原位雜交法而 HER2 的表現被判定為陰性的

癌。

【請求項 31】如請求項 29 之用途，其中 HER2 低表現的癌係藉由免疫組織化學法而 HER2 的表現被判定為 1+ 的癌。

【請求項 32】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中 HER2 表現癌係無法手術或復發的癌。

【請求項 33】如請求項 1 至 3 中任一項之用途，其中醫藥含有藥學上容許之製劑成分。

【請求項 34】如請求項 1 之用途，其中抗性或難治性係因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性；既存的抗 HER2 藥係選自由曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及拉帕替尼組成之群組中之至少一者；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍；抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列組成之重鏈；及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列組成之輕鏈；抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 或 6.4mg/kg；抗體-藥物結合物係以三週一次的間隔進行投予。

【請求項 35】如請求項 34 之用途，其中將醫藥投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者；且既存的抗癌藥包含選自由下列組成之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、

卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

【請求項 36】如請求項 1 之用途，其中抗性或難治性係因利用既存的抗 HER2 藥之治療而獲得之抗性或難治性；既存的抗 HER2 藥係選自由曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及拉帕替尼組成之群組中之至少一者；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍；抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：由序列識別號 1 所記載之胺基酸序列組成之重鏈；及由序列識別號 2 所記載之胺基酸序列組成之輕鏈；抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 或 6.4mg/kg；抗體-藥物結合物係以三週一次的間隔進行投予。

【請求項 37】如請求項 36 之用途，其中將醫藥投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者；且既存的抗癌藥包含選自由下列組成之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替

尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

【請求項 38】如請求項 1 之用途，其中抗性或難治性並非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性；既存的抗 HER2 藥係選自由曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及拉帕替尼組成之群組中之至少一者；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍；抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載之胺基酸序列組成之重鏈；及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載之胺基酸序列組成之輕鏈；抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 或 6.4mg/kg；抗體-藥物結合物係以三週一次的間隔進行投予。

【請求項 39】如請求項 38 之用途，其中將醫藥投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者；且既存的抗癌藥包含選自由下列組成之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

【請求項 40】如請求項 1 之用途，其中抗性或難治性並

非因利用既存的抗 HER2 藥之治療所致，而係原本已具備之抗性或難治性；既存的抗 HER2 藥係選自由曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及拉帕替尼組成之群組中之至少一者；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7 至 8 個的範圍；抗體-藥物結合物中之抗 HER2 抗體係包含下列重鏈及輕鏈而成之抗體：由序列識別號 1 所記載之胺基酸序列組成之重鏈；及由序列識別號 2 所記載之胺基酸序列組成之輕鏈；抗體-藥物結合物之每一次的投予量為 5.4mg/kg 或 6.4mg/kg；抗體-藥物結合物係以三週一次的間隔進行投予。

【請求項 41】如請求項 40 之用途，其中將醫藥投予至具有利用既存的抗癌藥之治療史的患者；且既存的抗癌藥包含選自由下列組成之群組的至少一者：曲妥珠單抗依坦辛、曲妥珠單抗、帕妥珠單抗、拉帕替尼、愛萊諾迪肯、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、氟尿嘧啶、吉西他濱、卡培他濱、紫杉醇、歐洲紫杉醇、阿黴素、泛艾黴素、環磷醯胺、絲裂黴素 C、喃氟啶/吉美拉西/奧特拉西複方製劑、西妥昔單抗、帕尼單抗、貝伐單抗、雷莫司單抗、瑞格非尼、曲氟尿苷/替比拉西複方製劑、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、胺甲喋呤、及培美曲塞。

【請求項 42】如請求項 34 至 41 中任一項之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍；且 HER2 表現癌係乳癌。

【請求項 43】如請求項 34 至 41 中任一項之用途，既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍；且 HER2 表現癌係乳癌。

【請求項 44】如請求項 34 至 41 中任一項之用途，既存的抗 HER2 藥係帕妥珠單抗；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍；且 HER2 表現癌係乳癌。

【請求項 45】如請求項 34 至 41 中任一項之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗依坦辛；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍；且 HER2 表現癌係胃癌或胃食道接合處腺癌。

【請求項 46】如請求項 34 至 41 中任一項之用途，其中既存的抗 HER2 藥係曲妥珠單抗；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍；且 HER2 表現癌係胃癌或胃食道接合處腺癌。

【請求項 47】如請求項 34 至 41 中任一項之用途，其中既存的抗 HER2 藥係帕妥珠單抗；抗體-藥物結合物之每一抗體的藥物-連接物結構的平均鍵結數為 7.5 至 8 個的範圍；且 HER2 表現癌係胃癌或胃食道接合處腺癌。

【發明圖式】

序列識別號 1：人源化抗HER2單株抗體重鏈的胺基酸序列

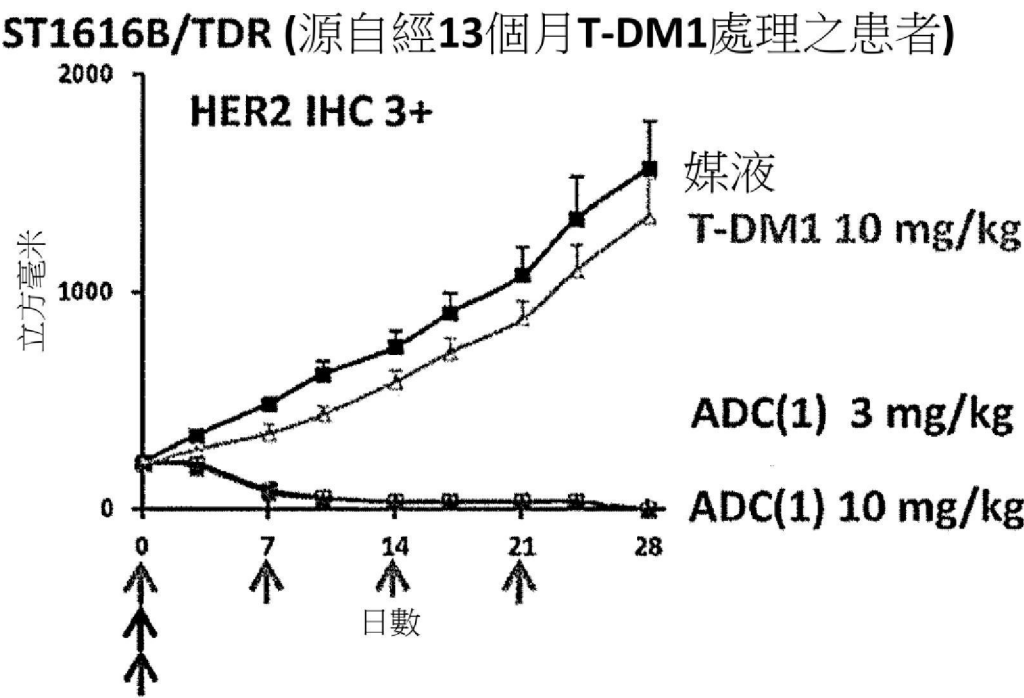
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSV
KGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

【圖 1】

序列識別號 2：人源化抗HER2單株抗體輕鏈的胺基酸序列

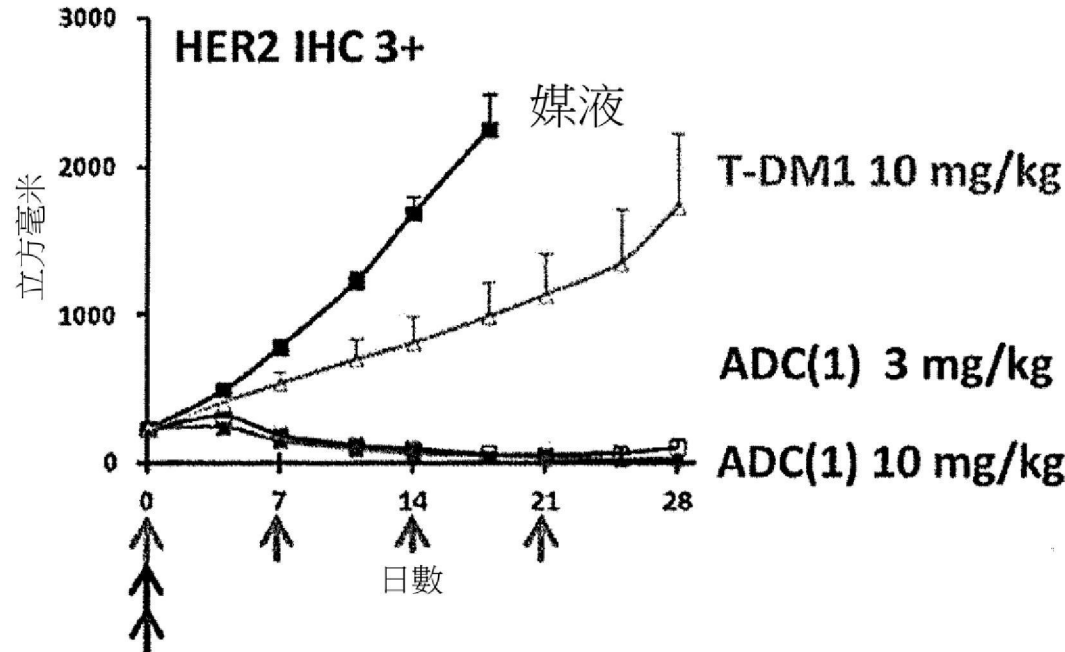
DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSG
SRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【圖 2】

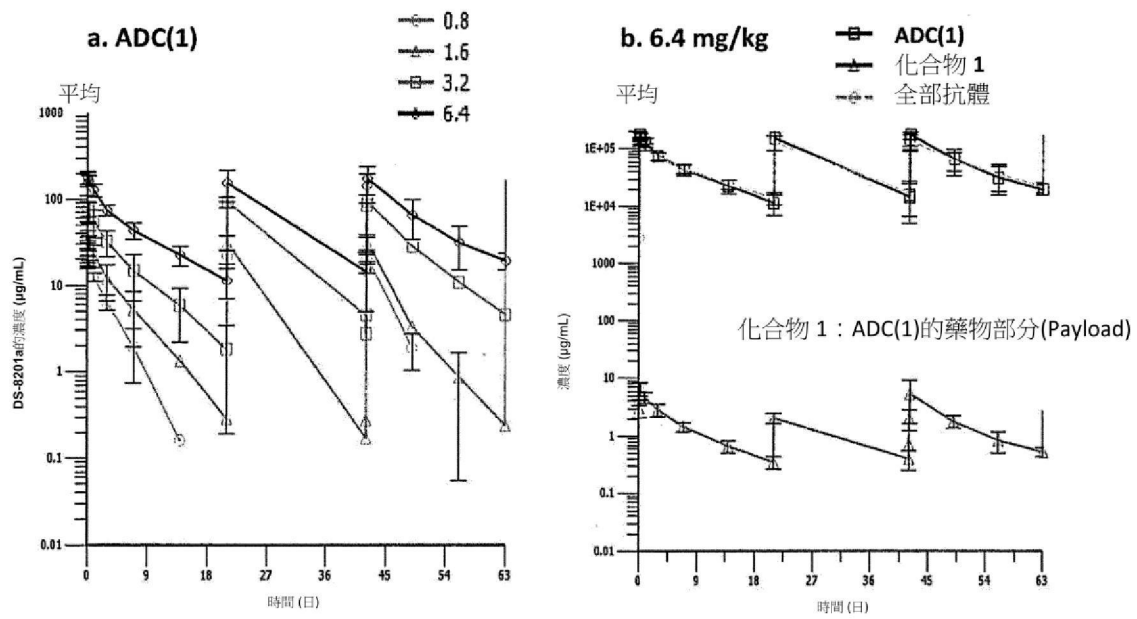


【圖 3】

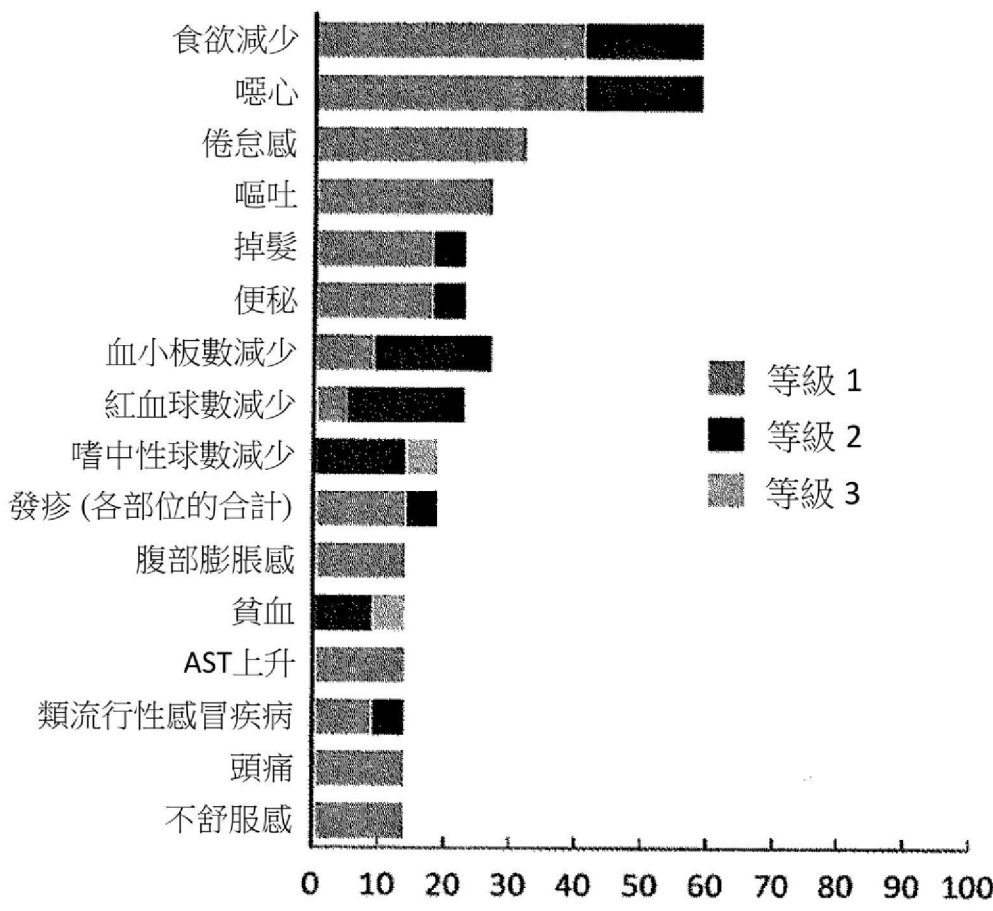
ST1360B/TDR (源自經3個月T-DM1處理之患者)



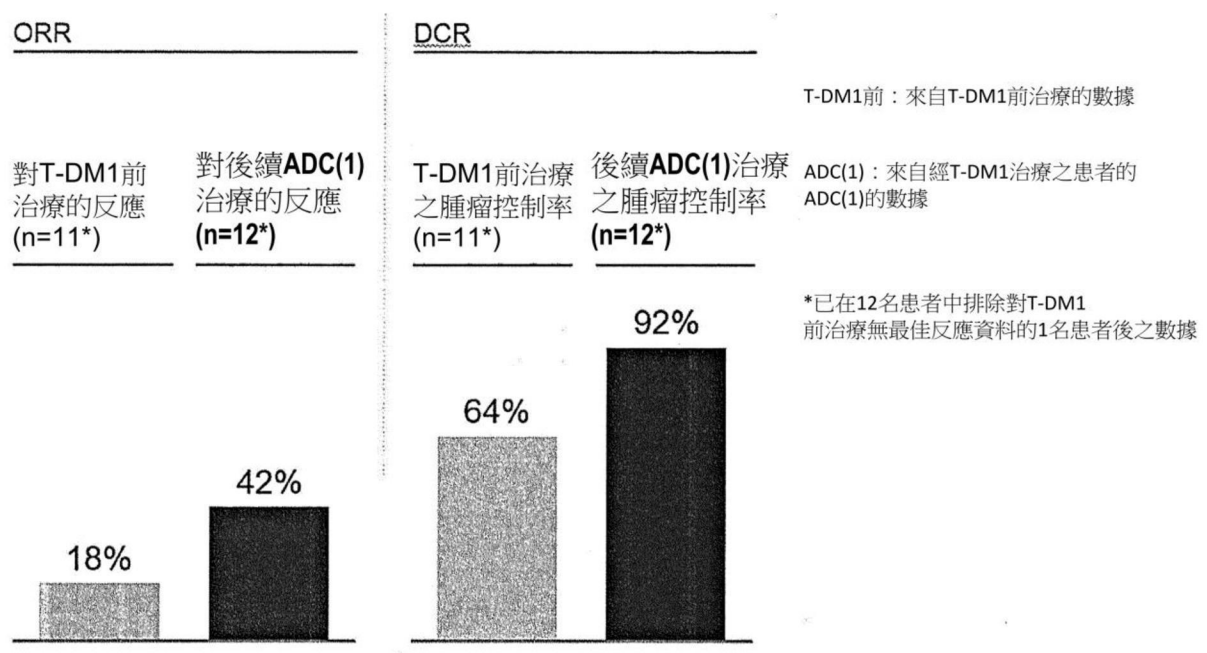
【圖 4】



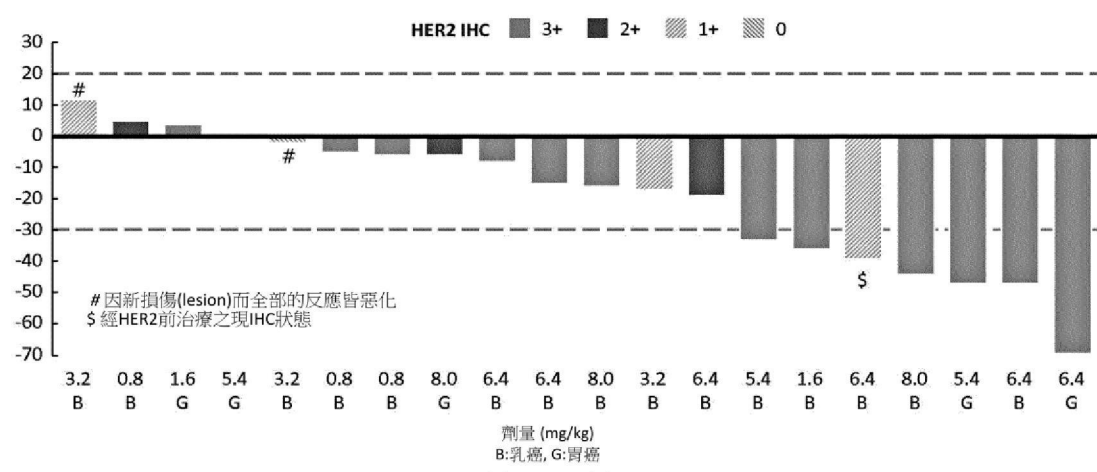
【圖 5】



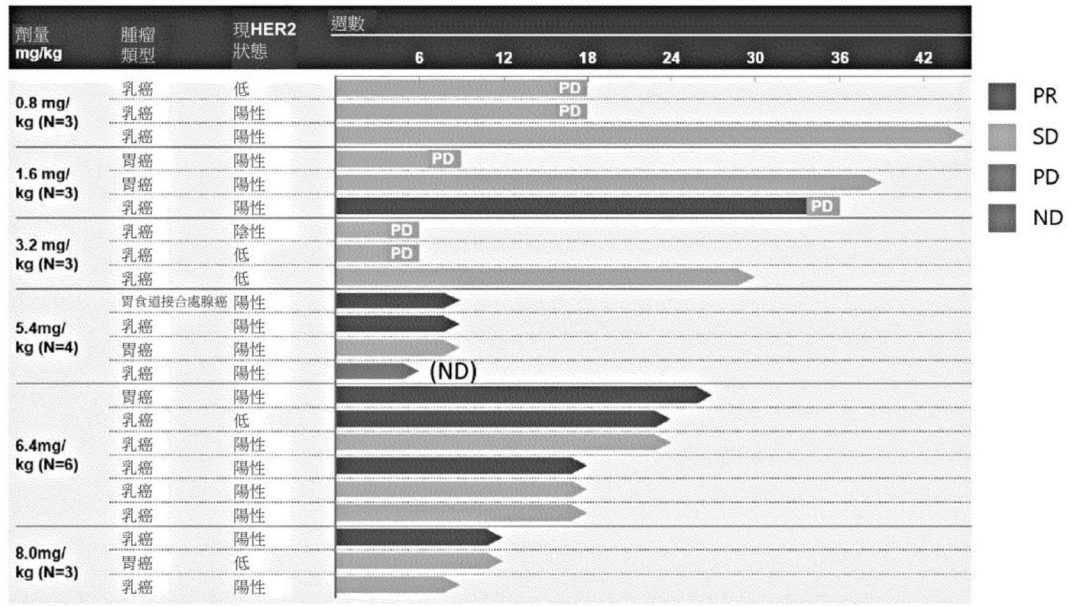
【圖 6】



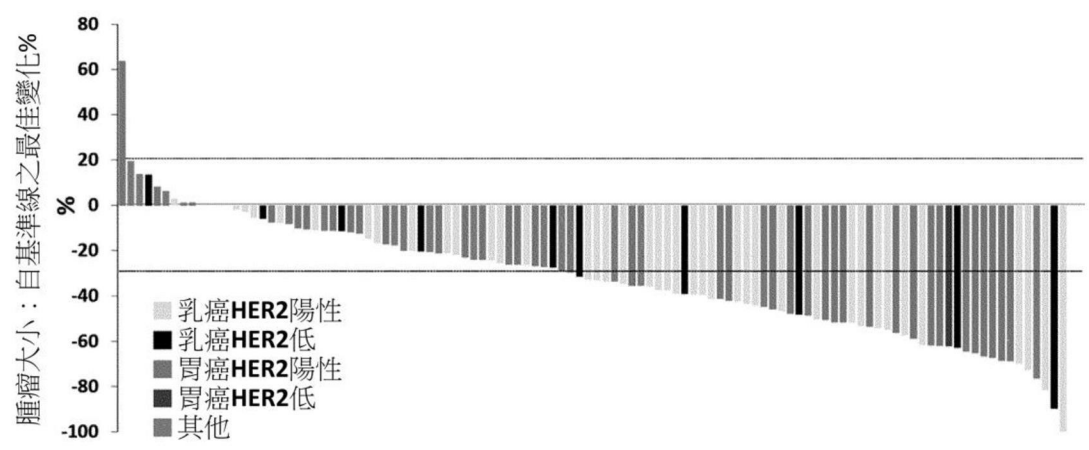
【圖 7】



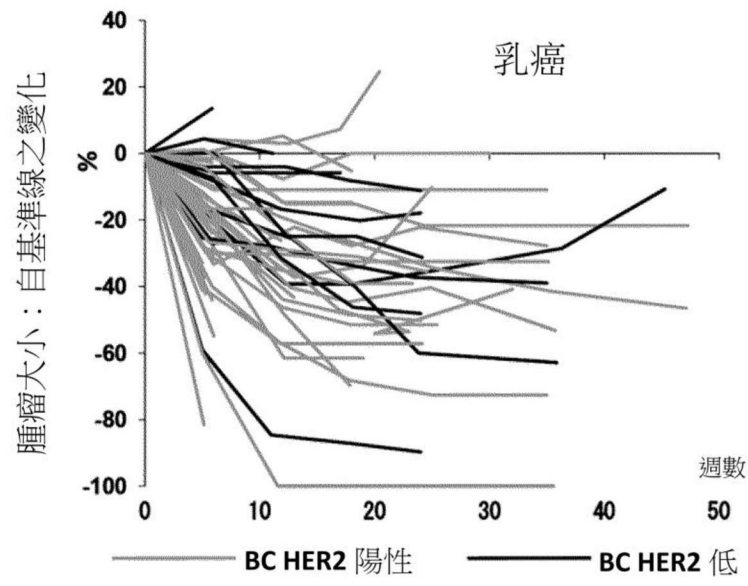
【圖 8】



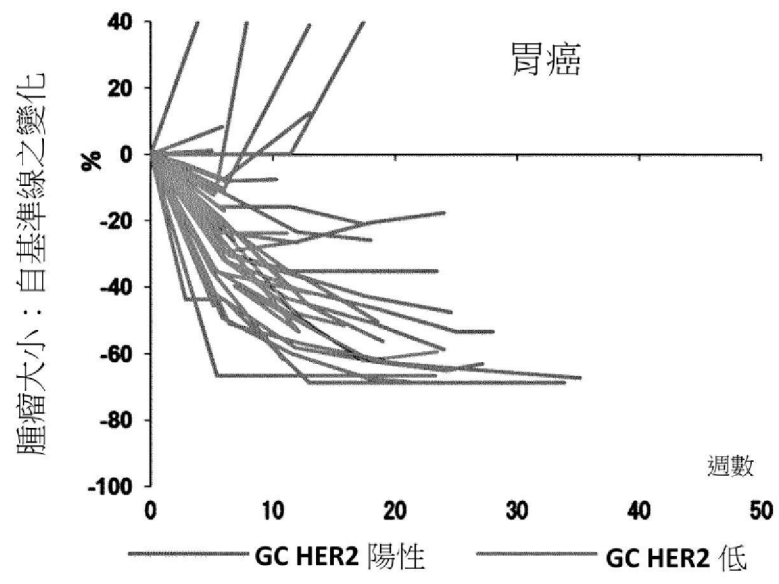
【圖 9】



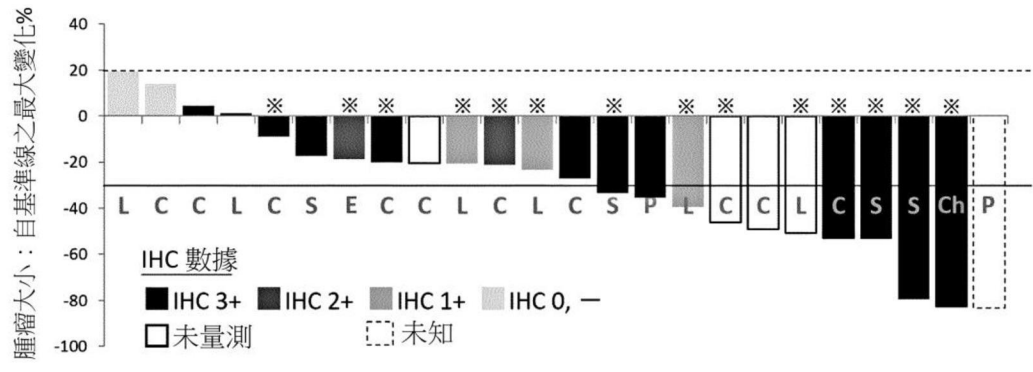
【圖 10】



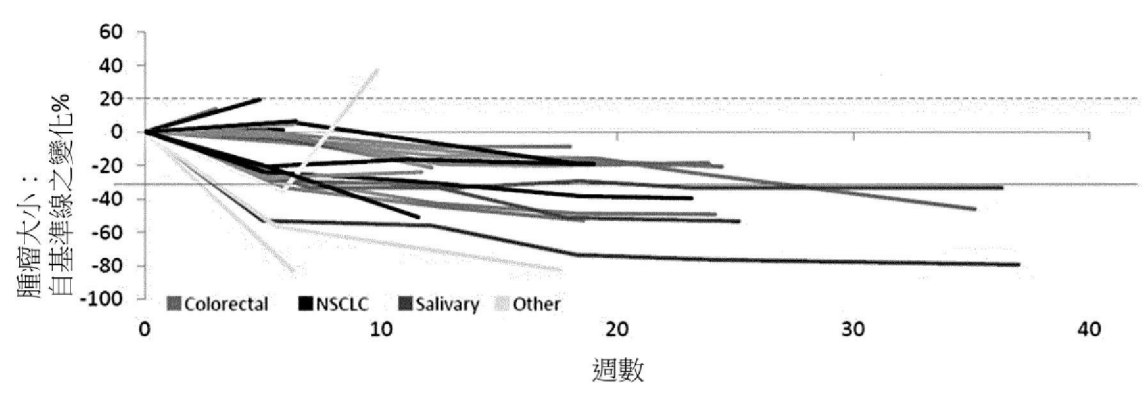
【圖 11】



【圖 12】



【圖 13】



【圖 14】