

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-527962

(P2023-527962A)

(43)公表日 令和5年7月3日(2023.7.3)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	4 C 0 7 6
A 6 1 K 39/395(2006.01)	A 6 1 K 39/395	D 4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/4745(2006.01)	A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全98頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2022-567119(P2022-567119)	(71)出願人	522428139
(86)(22)出願日	令和3年4月30日(2021.4.30)		レヴィーナ (スジョウ) バイオファーマカンパニー, リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和4年12月20日(2022.12.20)		中華人民共和国 2 1 5 1 2 3 ジアンスー, スジョウ, エスアイピー, シンフー ストリート ナンバー 2 1 8, ビー8-3 0 1
(86)国際出願番号	PCT/US2021/030198	(71)出願人	522428140
(87)国際公開番号	WO2021/225892		シャンハイ エスクジェン バイオテクノロジー カンパニー, リミテッド
(87)国際公開日	令和3年11月11日(2021.11.11)		中華人民共和国 2 0 0 1 2 0 シャンハイ, ブドン, ツァイルン ロード 7 8 1, スイート 7 1 0
(31)優先権主張番号	PCT/CN2020/088565	(74)代理人	100078282
(32)優先日	令和2年5月3日(2020.5.3)		弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		最終頁に続く
(31)優先権主張番号	PCT/CN2021/086849		
(32)優先日	令和3年4月13日(2021.4.13)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA)		
	最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 抗TROP2抗体を含む抗体薬物複合体(ADC)、かかるADCを含む組成物、ならびにそれらを作製および使用する方法

(57)【要約】

本開示は、抗Trop2抗体を含む抗体薬物複合体(ADC)に関する。本明細書では、そのようなADCを含む組成物、ならびにその製造方法および使用方法が提供される。本開示は、有効性に十分なオンターゲット放出を可能にしながら、例えば、癌細胞からのSN-38の望ましくない放出を緩和するADC中のリンカーを使用することによって、SN-38を含む抗Trop2 ADCによる処置後の安全性を改善し、および／または有害事象の頻度を減少させることを企図する技術思想を開示する。

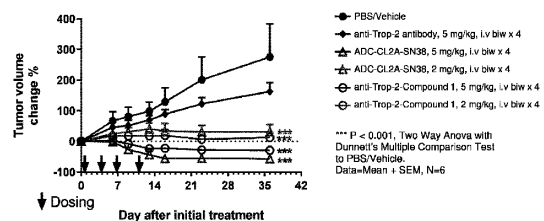


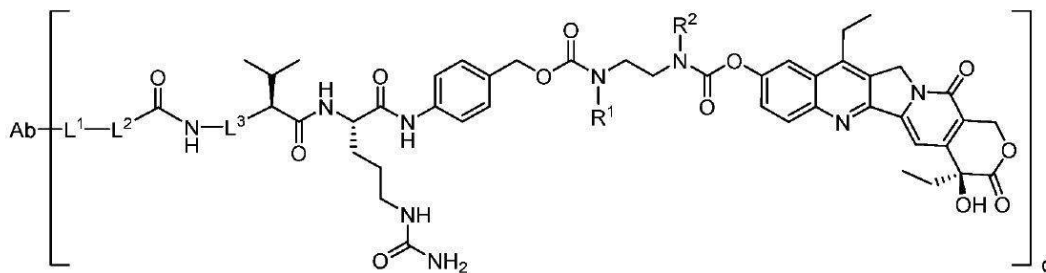
Fig. 6A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) :

【化 7 0】



(I)

10

またはその薬学的に許容され得る塩である抗体薬物複合体 (ADC) であって、式中、

Ab が抗 Trop2 抗体であり、

q が 1 から 20 の範囲の値であり、

L¹ が抗 Trop2 抗体に結合したリンカーであり、

L² が $-(CH_2)_p-$ であって、式中、p が 4、5、6、7、または 8 であり、

L³ が結合またはポリオキシエチレン系二価リンカーであり、

R¹ および R² が、それぞれ独立して、C₁~6 アルキルである、ADC。

20

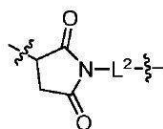
【請求項 2】

L¹ が、前記抗 Trop2 抗体の硫黄に結合したリンカーである、請求項 1 に記載の ADC。

【請求項 3】

$-L^1-L^2-$ が

【化 7 1】



30

である、請求項 1 または 2 に記載の ADC。

【請求項 4】

q が、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20、1 から 10 の範囲の値、または 6 から 8 の範囲の値である、請求項 1~3 のいずれか一項に記載の ADC。

【請求項 5】

p が、4、5、または 6、好ましくは 5 である、請求項 1~4 のいずれか一項に記載の ADC。

40

【請求項 6】

L³ が結合である、請求項 1~5 のいずれか一項に記載の ADC。

【請求項 7】

L³ がポリオキシエチレン系二価リンカーである、請求項 1~5 のいずれか一項に記載の ADC。

【請求項 8】

R¹ が C₁~4 アルキルまたは C₁~3 アルキルである、請求項 1~7 のいずれか一項に記載の ADC。

【請求項 9】

R¹ がメチルまたはエチルである、請求項 8 に記載の ADC。

50

【請求項 10】

R^2 が $C_1 \sim 4$ アルキルまたは $C_1 \sim 3$ アルキルである、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の ADC。

【請求項 11】

R^2 がメチルまたはエチルである、請求項 10 に記載の ADC。

【請求項 12】

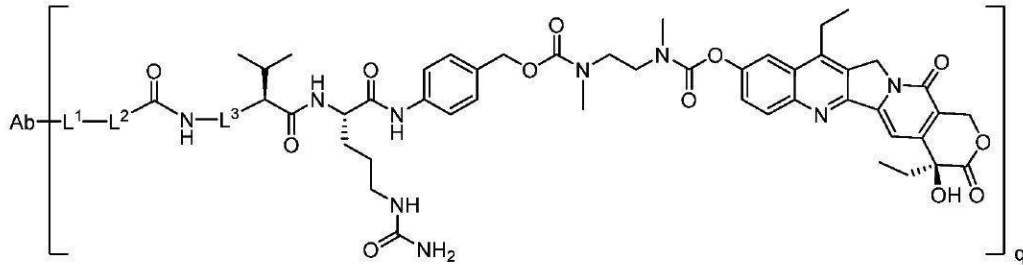
R^1 および R^2 が同一である、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の ADC。

【請求項 13】

前記 ADC が、以下の式 (IIa)、(IIb)、(IIc)、(II Ia)、(II Ib) もしくは (II Ic)：

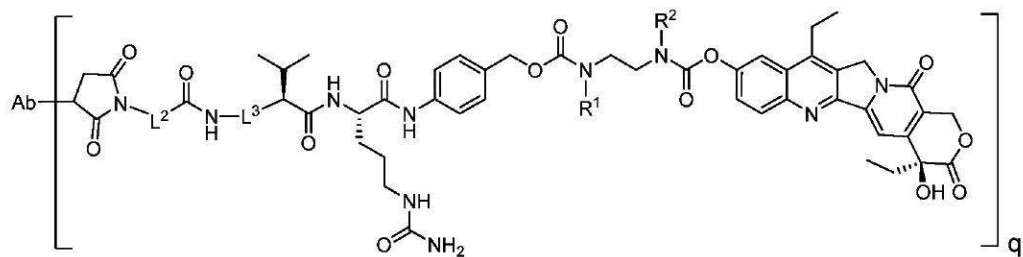
10

【化 72】



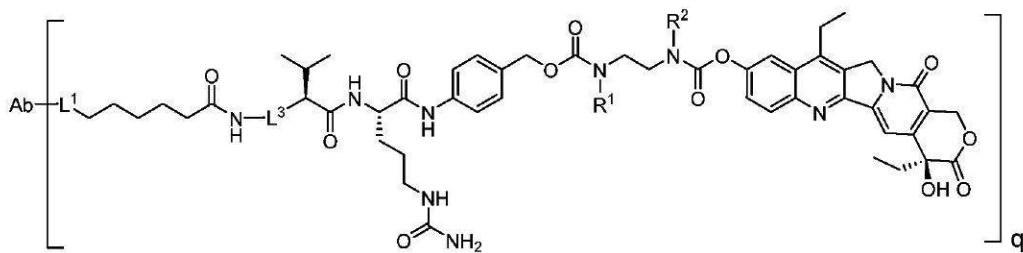
(IIa),

20



(IIb),

30

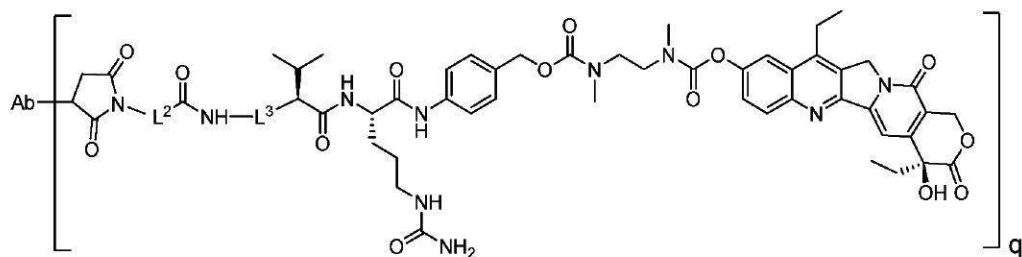


(IIc),

40

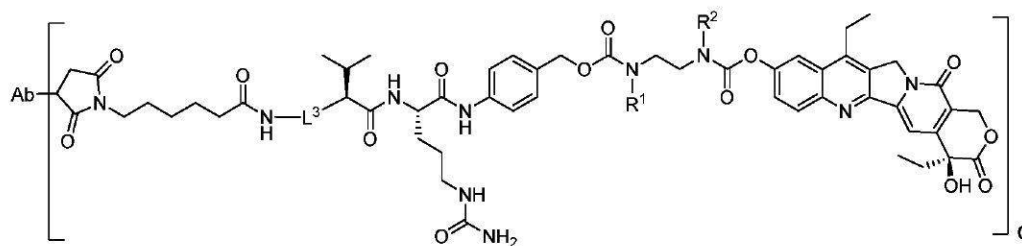
50

【化 7 3】



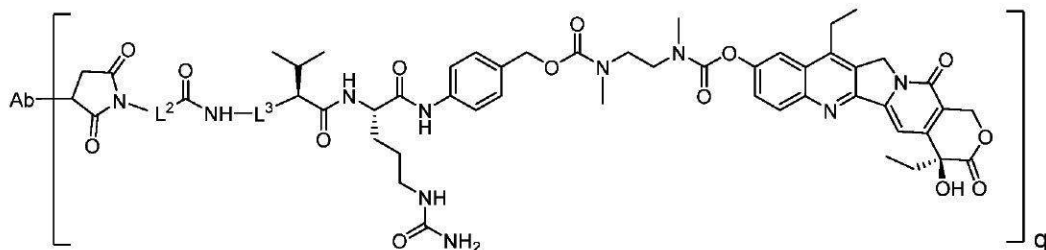
(IIIa),

10



(IIIb),

20



(IIIc)

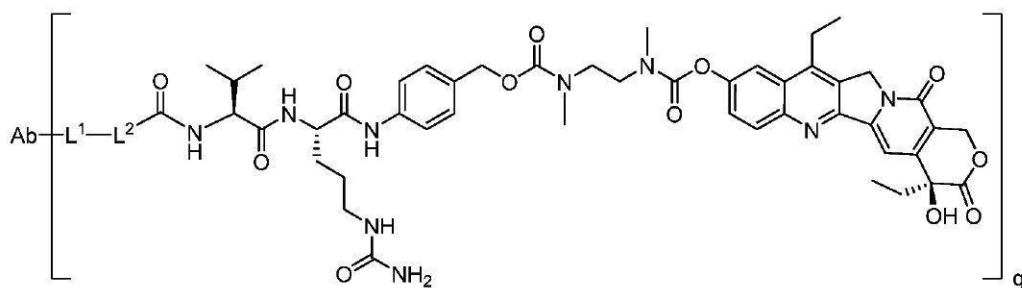
またはその薬学的に許容され得る塩である、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の A D C。

30

【請求項 1 4】

前記 A D C が、以下の式 (II a - 1)、(II b - 1)、(II c - 1)、(III a - 1)、(III b - 1)、もしくは (III c - 1)：

【化 7 4】

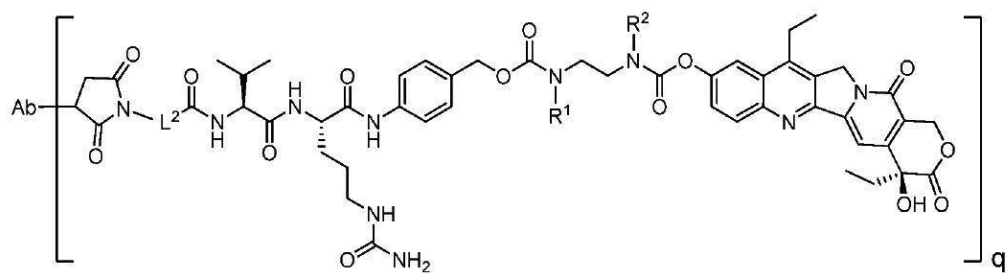


(IIa-1),

40

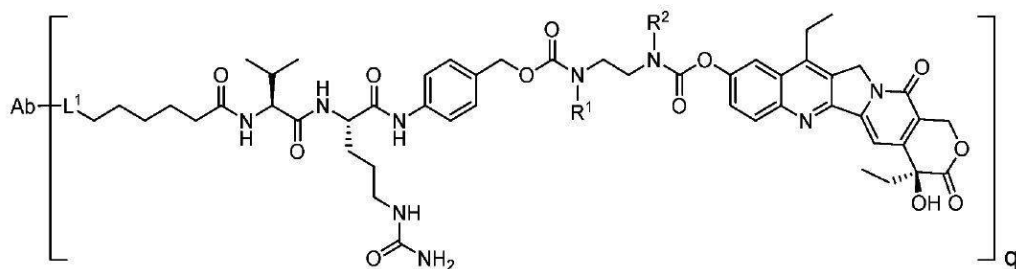
50

【化 7 5】



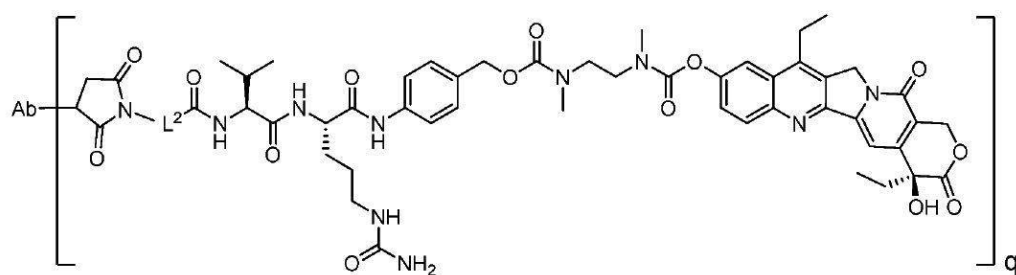
(IIb-1),

10



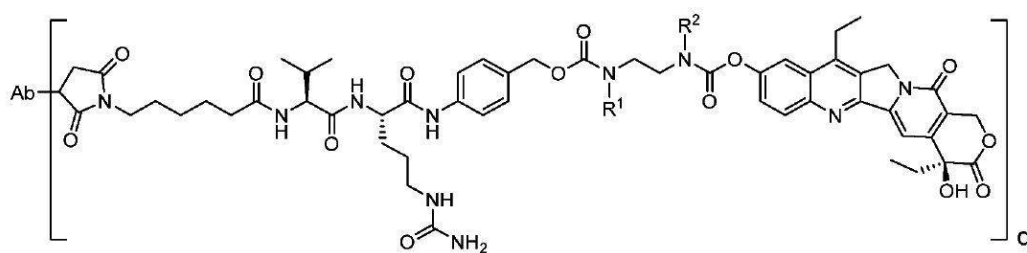
(IIc-1),

20



(IIIa-1),

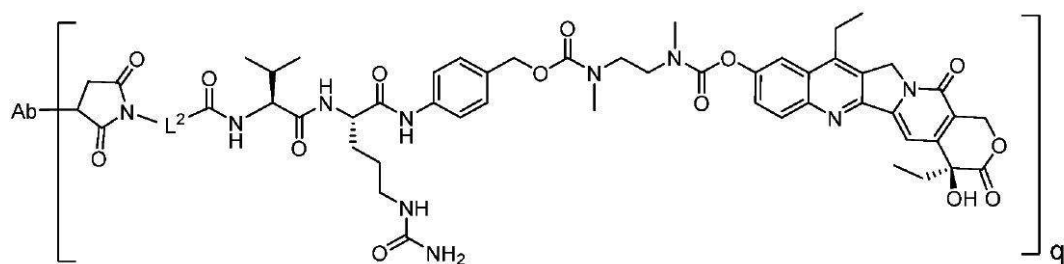
30



(IIIb-1),

40

【化 7 6】



(IIIc-1)

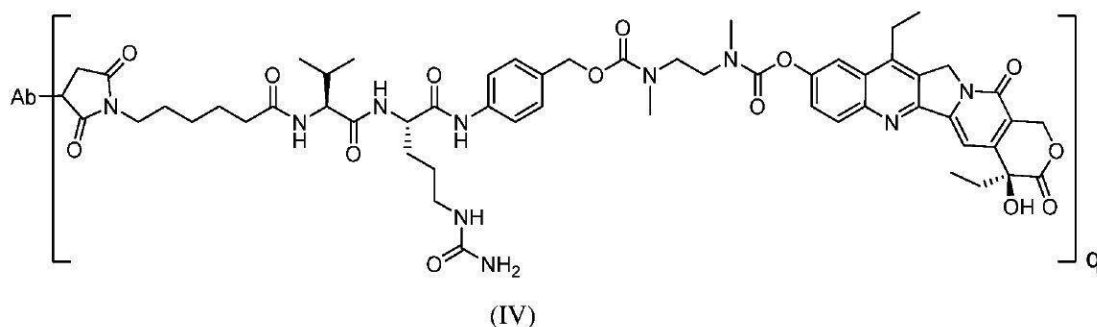
またはその薬学的に許容され得る塩である、請求項 1 3 に記載の A D C。

50

【請求項 15】

前記ADCが、式(IV)：

【化77】



10

またはその薬学的に許容され得る塩である、請求項1に記載のADC。

【請求項 16】

前記抗Trop2抗体が、配列番号1の配列を含むVL HVR1、配列番号2の配列を含むVL HVR2、配列番号3の配列を含むVL HVR3、配列番号4の配列を含むVH HVR1、配列番号5の配列を含むVH HVR2、および配列番号6の配列を含むVH HVR3を含む、請求項1～315のいずれか一項に記載のADC。

【請求項 17】

前記抗Trop2抗体が、配列番号7と少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する配列を有するVL、配列番号8と少なくとも95%、96%、97%、98%もしくは99%の同一性を有する配列を有するVH、配列番号7の配列を有するVL、および／または配列番号8の配列を有するVHを含む、請求項1～16のいずれか一項に記載のADC。

20

【請求項 18】

前記抗Trop2抗体がカッパ軽鎖および／またはIgG抗体を含み、必要に応じて前記抗Trop2抗体がIgG1抗体である、請求項1～17のいずれか一項に記載のADC。

【請求項 19】

前記抗Trop2抗体がヒトTrop2に結合し、必要に応じて前記ヒトTrop2が配列番号9のアミノ酸配列を有する、請求項1～18のいずれか一項に記載のADC。

30

【請求項 20】

治療における使用のための、必要に応じてTrop2発現癌の処置における使用のための、請求項1～19のいずれか一項に記載のADC。

【請求項 21】

対象のTrop2発現癌を処置する方法であって、Trop2発現癌の処置を必要とする対象に請求項1～19のいずれか一項に記載のADCを投与することを含む方法。

【請求項 22】

薬剤の製造のための、必要に応じてTrop2発現癌を処置するための薬剤の製造のための、請求項1～19のいずれか一項に記載のADCの使用。

40

【請求項 23】

前記Trop2発現癌が上皮細胞由来癌であり、必要に応じて前記Trop2発現癌が癌腫である、請求項20、21、または22のいずれか一項に記載の使用のためのADC、方法、または使用。

【請求項 24】

前記癌腫が、基底細胞癌、扁平上皮癌、腎細胞癌、非浸潤性乳管癌、浸潤性乳管癌、または腺癌である、請求項23に記載の使用のためのADC、方法、または使用。

【請求項 25】

前記Trop2発現癌が固形腫瘍を含む、請求項23または24に記載の使用のための

50

A D C、方法、または使用。

【請求項 2 6】

前記 T r o p 2 発現癌が転移性および／または再発性癌である、請求項 2 3 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の使用のための A D C、方法、または使用。

【請求項 2 7】

前記 T r o p 2 発現癌が、膵臓癌、胃癌、乳癌、黒色腫、腎臓癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、前立腺癌、尿路上皮癌、神経膠芽腫、肺癌、子宮頸癌、食道癌、または卵巣癌である、請求項 2 0 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の使用のための A D C、方法、または使用。

【請求項 2 8】

前記 T r o p 2 発現癌が、膵臓癌、胃癌または乳癌であり、必要に応じて前記癌が転移性である、請求項 2 7 に記載の使用のための A D C、方法、または使用。

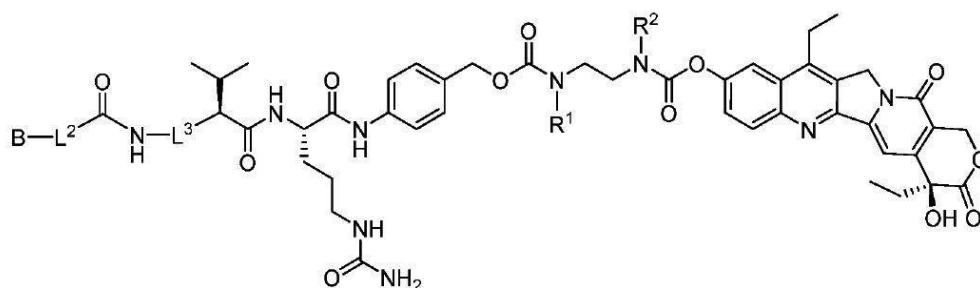
10

【請求項 2 9】

前記 T r o p 2 発現癌がトリプルネガティブ乳癌であり、必要に応じて前記癌が転移性である、請求項 2 8 に記載の使用のための A D C、方法、または使用。

【請求項 3 0】

請求項 1 に記載の A D C を調製する方法であって、抗 T r o p 2 抗体を式 (P - I) :
【化 7 8】



20

(P-I)

またはその薬学的に許容され得る塩の分子と反応させることを含み、式中、
B が前記抗 T r o p 2 抗体と結合を形成することができる反応性部分であり、
L ² が - (C H ₂) _p - であって、式中、 p が 4、5、6、7、または 8 であり、
L ³ が結合またはポリオキシエチレン系二価リンカーであり、
R ¹ および R ² が、それぞれ独立して、C ₁ ~ 6 アルキルである、方法。

30

【請求項 3 1】

B が、前記抗 T r o p 2 抗体のスルフヒドリルと結合を形成することができる反応性部分である、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

B が N - マレイミドである、請求項 3 0 または 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記 A D C が、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の A D C である、請求項 3 0 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 3 4】

p が 4、5、または 6、好ましくは 5 である、請求項 3 0 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

R ¹ が C ₁ ~ 4 アルキルまたは C ₁ ~ 3 アルキルである、請求項 3 0 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

R ¹ がメチルまたはエチルである、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

R ² が C ₁ ~ 4 アルキルまたは C ₁ ~ 3 アルキルである、請求項 3 0 ~ 3 6 のいずれか

50

一項に記載の方法。

【請求項 38】

R^2 がメチルまたはエチルである、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

R^1 および R^2 が同一である、請求項 30 ～ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

L^3 が結合である、請求項 30 ～ 39 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

L^3 がポリオキシエチレン系二価リンカーである、請求項 30 ～ 39 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 42】

前記分子が、以下の式 (P-III a)、(P-III b)、(P-III c)、(P-II I a)、(P-II I I b)、または (P-II I I c) :

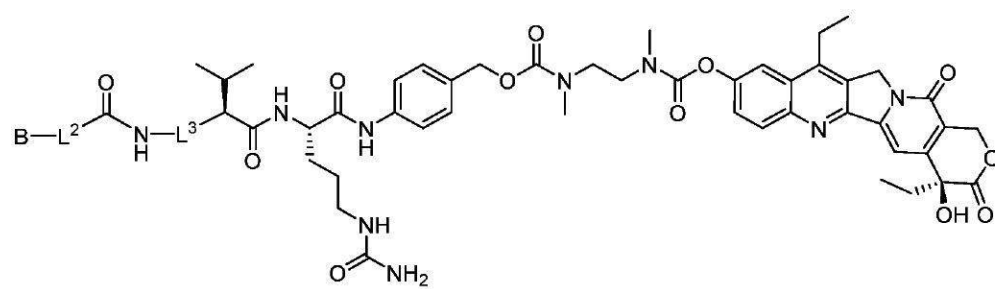
20

30

40

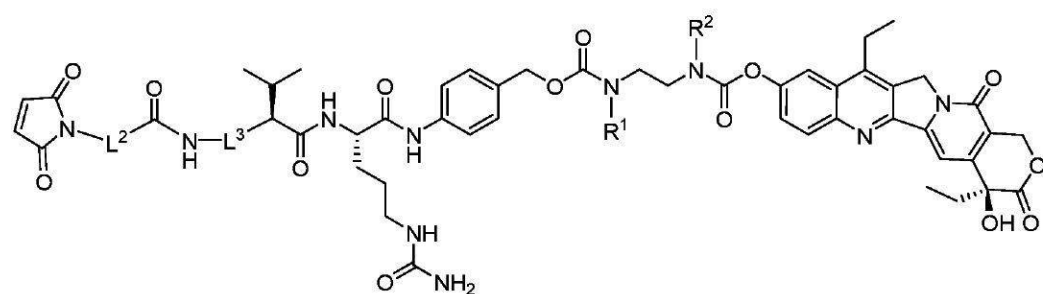
50

【化 7 9】



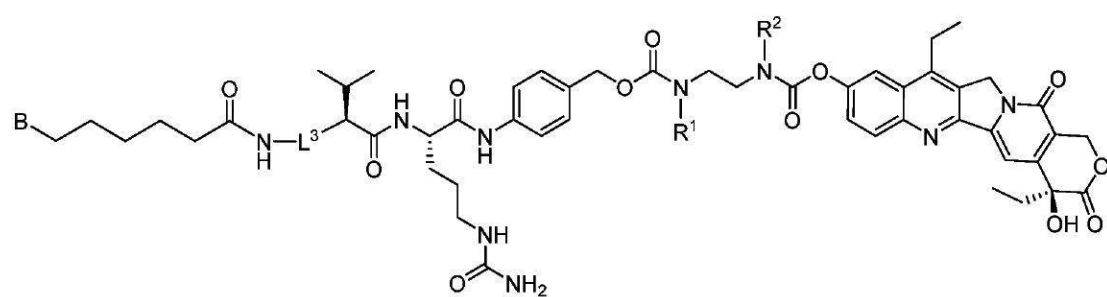
(P-IIa),

10



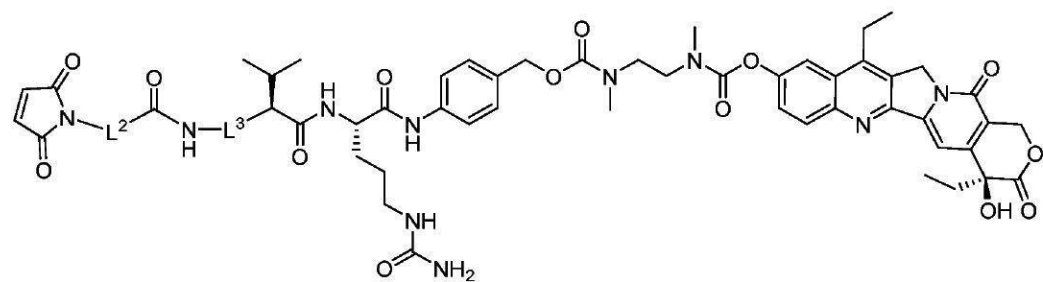
(P-IIb),

20



(P-IIc),

30

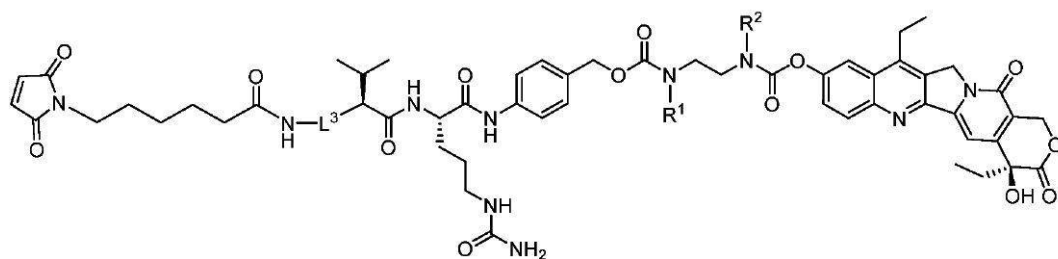


40

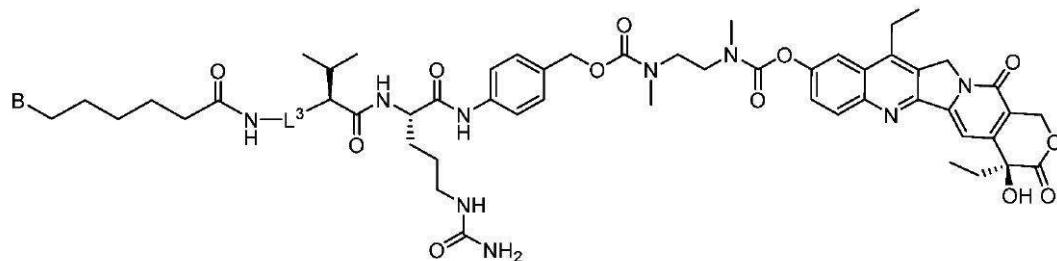
50

【化 8 0】

(P-IIIa),



(P-IIIb),



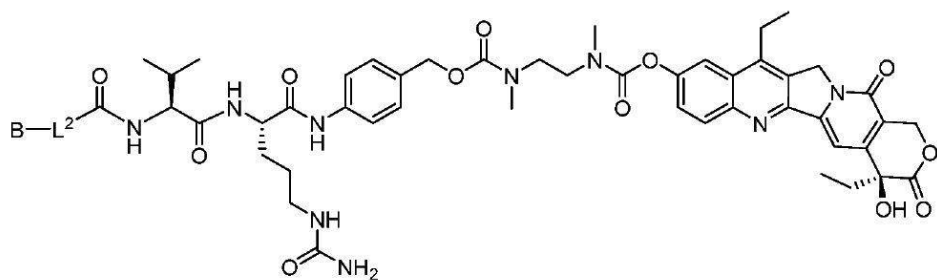
(P-IIIc)

またはその薬学的に許容され得る塩である、請求項 30～41 のいずれか一項に記載の方法。

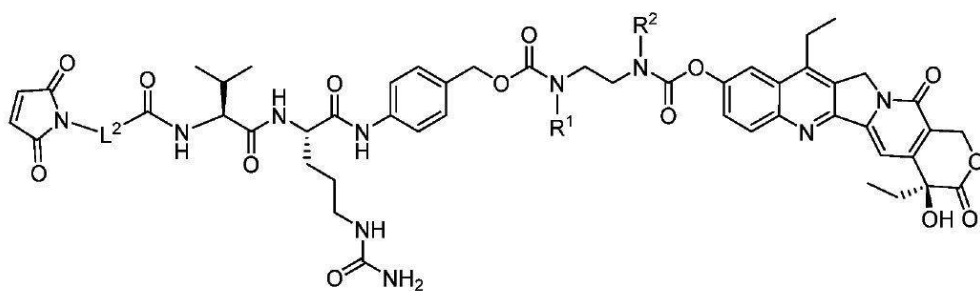
【請求項 43】

前記分子が、以下の式 (P-IIa-1)、(P-IIb-1)、(P-IIc-1)、(P-IIId-1)、(P-IIIf-1)、または (P-IIIg-1)：

【化 8 1】



(P-IIa-1),



(P-IIb-1),

10

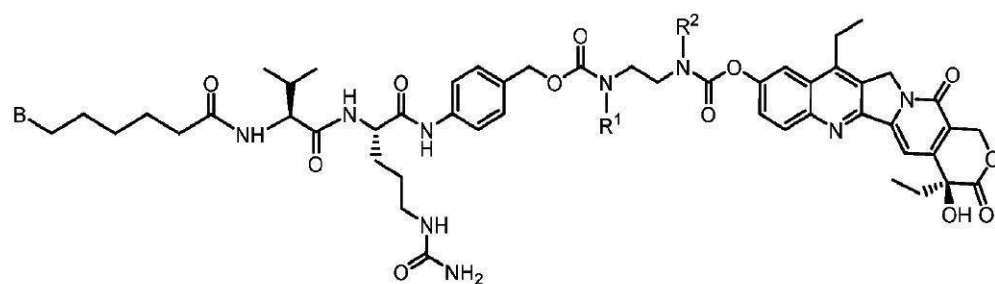
20

30

40

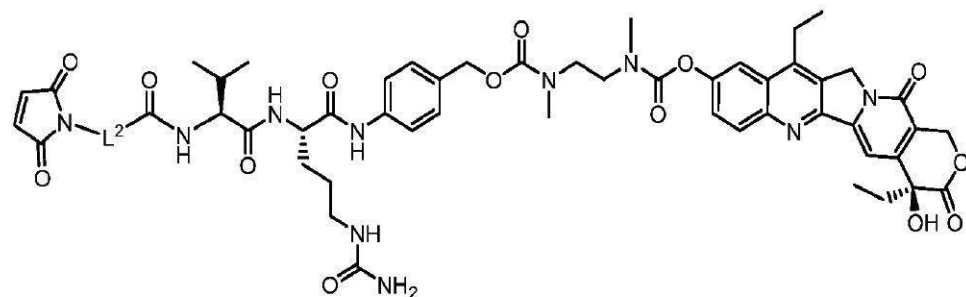
50

【化 8 2】



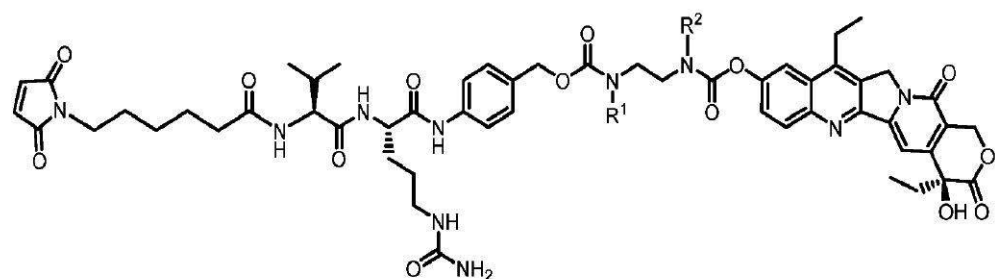
(P-IIc-1),

10



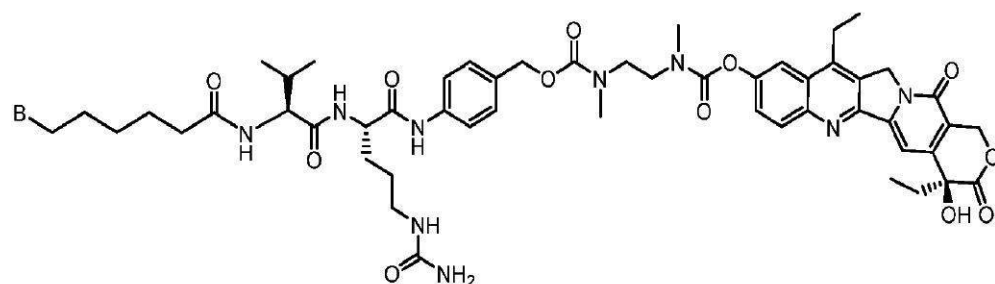
(P-IIIa-1),

20



(P-IIIb-1),

30



(P-IIIc-1)

またはその薬学的に許容され得る塩である、請求項 4 2 に記載の方法。

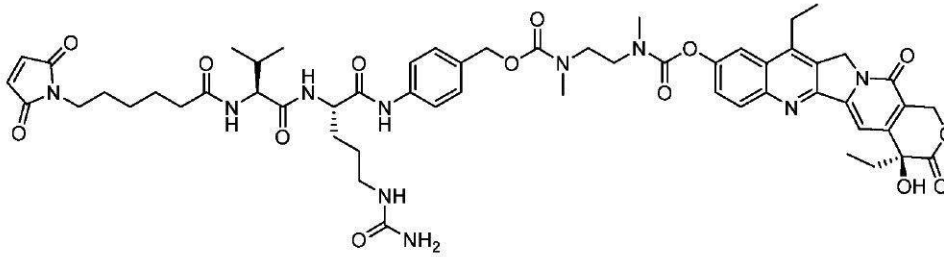
40

【請求項 4 4】

前記分子が、式 (P - I V) :

50

【化 8 3】



(P-IV)

10

またはその薬学的に許容され得る塩である、請求項 43 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

（関連出願への相互参照）

本出願は、2020年5月3日に提出された国際出願第PCT/CN2020/088565号および2021年4月13日に提出された国際出願第PCT/CN2021/086849号の優先権に基づく主張し、これらの各々の開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0002】

序論および要旨

本開示は、抗Trop2抗体を含む抗体薬物複合体（ADC）ならびにそれらを作製および使用する方法に関する。

【0003】

ADCは、癌細胞などの特定の細胞に対して薬物をターゲティングすることができ、ひいては、単独で使用した場合に非常に毒性が高い薬物の送達を可能にする。SN-38（7-エチル-10-ヒドロキシカンプトテシン）は、トポイソメラーゼI阻害剤であるイリノテカン（CPT-11）の有効成分であるカンプトテシンである。SN-38および抗Trop2抗体を含むADCを開発する努力がなされてきた。Trop2（栄養膜細胞表面抗原、上皮糖タンパク質-1またはEGP-1とも呼ばれる）は、多くの上皮癌によって高度に発現される糖タンパク質である。SN-38およびTrop2に関するさらなる背景については、例えば、Oceanら、Cancer 123:3843-54（2017）およびそこに引用されている参考文献を参照されたい。

30

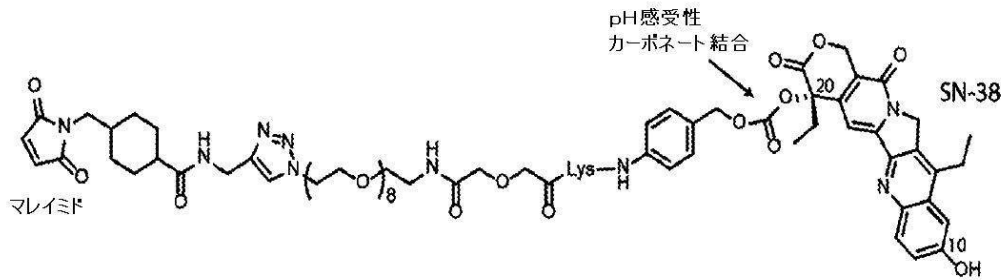
【0004】

良好な安全性プロファイルを維持しながら有効なSN-38を含む抗Trop2 ADCを提供することは困難であった。例えば、上記のOceanらは、IMMU-132（サシツズマブ・ゴビテカン、ADC-CL2A-SN38とも呼ばれる）ADCを用いた臨床試験を報告している。ADCは「有望な全奏効」を提供するものとして特徴付けられたが、有害事象の頻度が高かった（それぞれ、8mg/kgの用量を投与された81人の患者のうち80人、および10mg/kgの用量を投与された97人の患者のうち89人（Oceanらの表2および添付の本文を参照されたい））。特に、ADC-CL2A-SN38中のリンカーは、「SN-38が血清中の複合体から約1日の半減期で解離する」ことを可能にすると報告されており、このことが、高い有害事象頻度を説明し、またはその一因となっている可能性がある。Govindanら、Mol Cancer Ther 12:968-978（2013）を参照のこと。CL2A-SN38リンカー-薬物部分の化学構造を以下に示す（抗体にコンジュゲートするために使用される反応性マレイミド形態として示す）。

40

50

【化 1】



10

SN-38、ADC-CL2E-SN38を含む別のADCは、pH感受性カーボネート結合の代わりにカルバメート含有リンカーを使用し、ADC-CL2A-SN38とは異なるSN38への結合点を有する。CL2Eリンカーとのコンジュゲートは、87.5日の血清半減期を有すると報告されたが、「インビボでの有効性の低下」も示し、「安定性の低いCL2A結合SN-38よりも劣っている」と考えられていた。Govindanら、p. 972および977を参照のこと。

【0005】

有効性に十分なオンターゲット放出を可能にしながら、癌細胞からのSN-38の望ましくない放出を緩和するADC中のリンカーを使用することによって、SN-38を含む抗Trop2 ADCによる処置後の安全性を改善し、および／または有害事象の頻度を減少させることが本明細書で企図される。

20

【0006】

したがって、本開示は、リンカー部分を介してSN-38にコンジュゲートした抗Trop2抗体を含む式(I)のADCを提供する。式(I)のADC化合物は、特定の他のSN-38 ADCよりも安定性が高く、より良好な毒性データを提供することができる。本明細書に記載されるADC化合物の改善された活性は、標的Trop2発現細胞におけるSN-38の選択的放出を可能にする、式(I)のリンカー部分に起因する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のADCは、ADC-CL2A-SN38よりも高い安定性（例えば、中性pH、例えば、実施例B3の例示的な条件で、またはインビボ、例えば、実施例B4の例示的な条件で）、および／またはADC-CL2E-SN38よりも高いインビボ有効性を示す。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のADCは、ADC-CL2A-SN38と比較して改善された安全性（例えば、有害事象の頻度の低下）、および／またはADC-CL2E-SN38より大きいインビボ有効性を示す。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のADCは、ADC-CL2A-SN38よりも高い安定性（例えば、中性pH、例えば、実施例B3の例示的な条件で、またはインビボ、例えば、実施例B4の例示的な条件で）、およびADC-CL2A-SN38と比較して改善された安全性（例えば、有害事象の頻度の低下）を示し、ADC-CL2E-SN38よりも高いインビボ有効性をさらに示し得る。

30

【0007】

以下の実施形態が包含される。

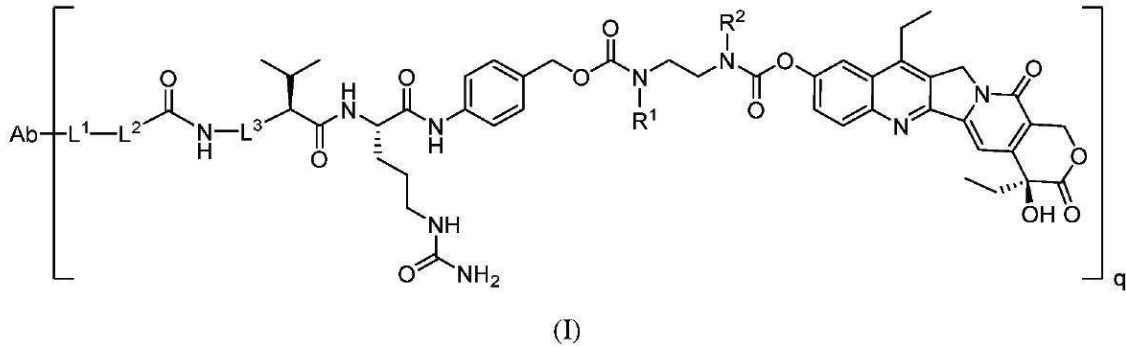
40

【0008】

実施形態1は、式(I)の抗体薬物複合体、

50

【化 2】



10

またはその薬学的に許容され得る塩であり、式中、

Ab は、抗 T r o p 2 抗体であり、

q は、1 から 2 0 の範囲の値であり、

L¹ は、抗 T r o p 2 抗体に結合したリンカーであり、

L² は、- (C H₂)_p - であり、p は 4、5、6、7、または 8 であり、

L³ は、結合またはポリオキシエチレン系二価リンカーであり、

R¹ および R² は、それぞれ独立して、C₁ ~ 6 アルキルである。

【0009】

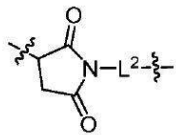
実施形態 2 は、L¹ が抗 T r o p 2 抗体の硫黄に結合したリンカーである、実施形態 1 の ADC である。

20

【0010】

実施形態 3 は、- L¹ - L² - が

【化 3】



である実施形態 1 または 2 の ADC である。

30

【0011】

実施形態 4 は、q が 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 である、実施形態 1 ~ 3 のいずれか 1 つの ADC である。

【0012】

実施形態 5 は、q が 1 から 10 の範囲の値である、実施形態 1 ~ 3 のいずれか 1 つの ADC である。

【0013】

実施形態 6 は、q が 6 ~ 8 の範囲の値である、実施形態 5 の ADC である。

【0014】

実施形態 7 は、p が 4、5、または 6 である、実施形態 1 ~ 6 のいずれか 1 つの ADC である。

40

【0015】

実施形態 8 は、p が 5 である、実施形態 7 の ADC である。

【0016】

実施形態 9 は、L³ が結合である、実施形態 1 ~ 8 のいずれか 1 つの ADC である。

【0017】

実施形態 10 は、L³ がポリオキシエチレン系二価リンカーである、実施形態 1 ~ 8 のいずれか 1 つの ADC である。

【0018】

50

実施形態 11 は、 R^1 が $C_1 \sim 4$ アルキルである、実施形態 1 ～ 10 のいずれか 1 つの ADC である。

【0019】

実施形態 12 は、 R^1 が $C_1 \sim 3$ アルキルである、実施形態 11 の ADC である。

【0020】

実施形態 13 は、 R^1 がメチルである、実施形態 12 の ADC である。

【0021】

実施形態 14 は、 R^1 がエチルである、実施形態 12 の ADC である。

【0022】

実施形態 15 は、 R^2 が $C_1 \sim 4$ アルキルである、実施形態 1 ～ 14 のいずれか 1 つの ADC である。

10

【0023】

実施形態 16 は、 R^2 が $C_1 \sim 3$ アルキルである、実施形態 15 の ADC である。

【0024】

実施形態 17 は、 R^2 がメチルである、実施形態 16 の ADC である。

【0025】

実施形態 18 は、 R^2 がエチルである、実施形態 16 の ADC である。

【0026】

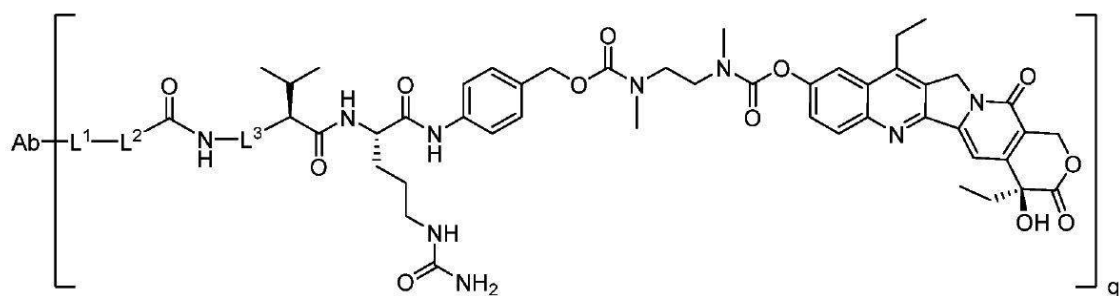
実施形態 19 は、 R^1 および R^2 が同一である、実施形態 1 ～ 18 のいずれか 1 つの ADC である。

20

【0027】

実施形態 20 は、実施形態 1 ～ 13 および 15 ～ 17 のいずれか 1 つの ADC であり、ADC は、式 (IIa) :

【化 4】



(IIa)

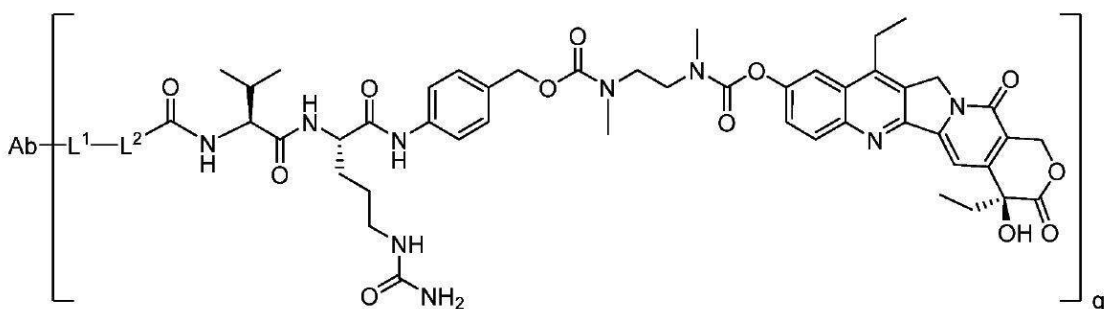
30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0028】

実施形態 21 は、実施形態 20 の ADC であり、ADC は、式 (IIa-1) :

【化 5】



(IIa-1)

40

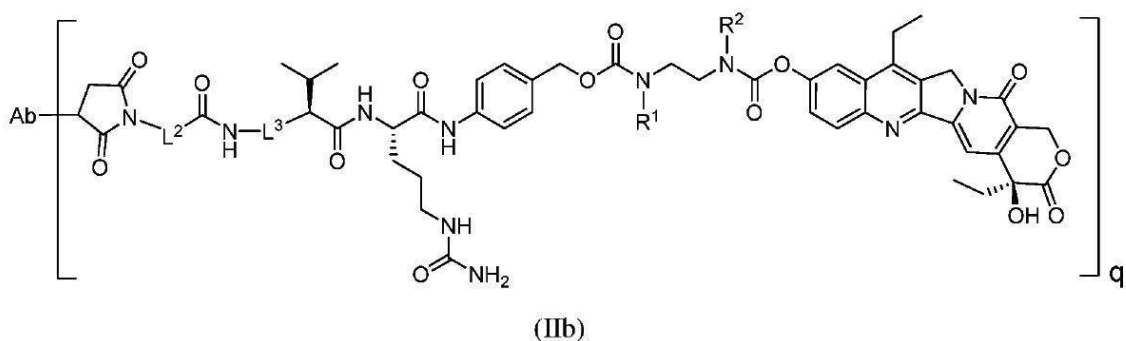
またはその薬学的に許容され得る塩である。

50

【0029】

実施形態22は、実施形態1～19のいずれか1つのADCであり、ADCは、式（I Ib）：

【化6】



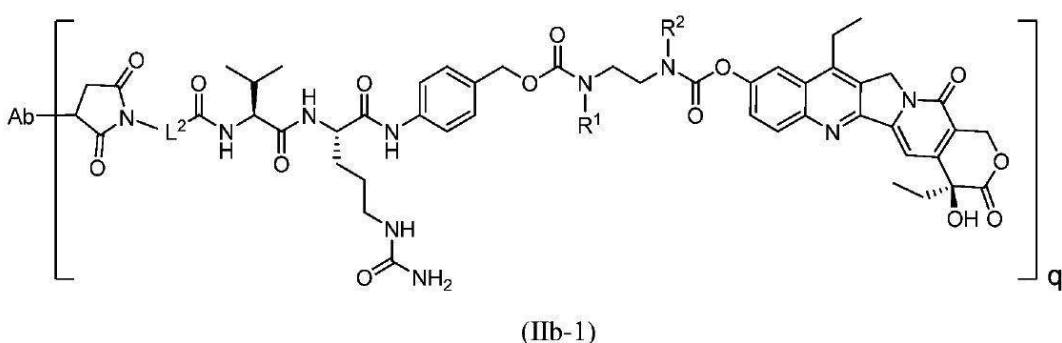
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0030】

実施形態23は、実施形態22のADCであり、ADCは、式（IIb-1）：

【化7】



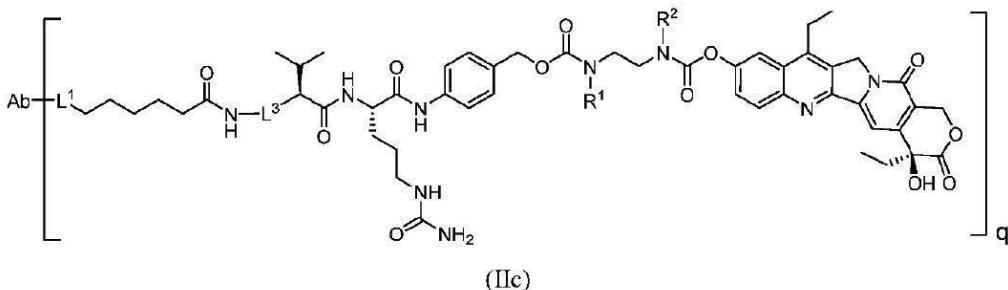
20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0031】

実施形態24は、実施形態1～19のいずれか1つのADCであり、ADCは、式（I Ic）：

【化8】



40

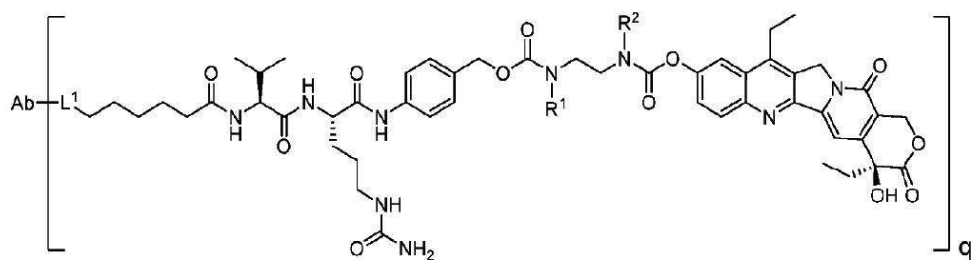
またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0032】

実施形態25は、実施形態24のADCであり、ADCは、式（IIc-1）：

50

【化 9】



(IIc-1)

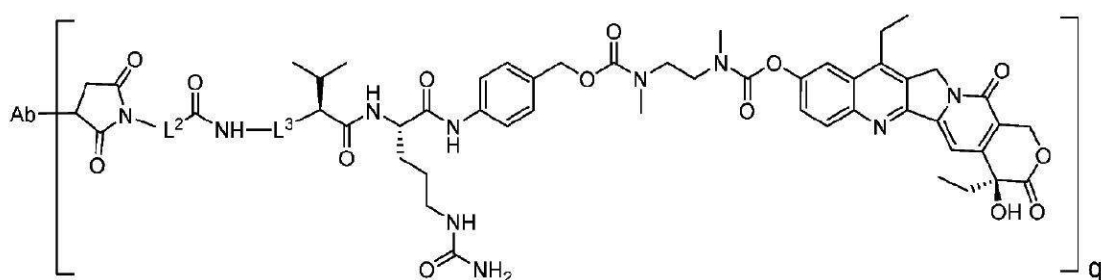
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0033】

実施形態26は、実施形態20のADCであり、ADCは、式(IIIa)：

【化10】



(IIIa)

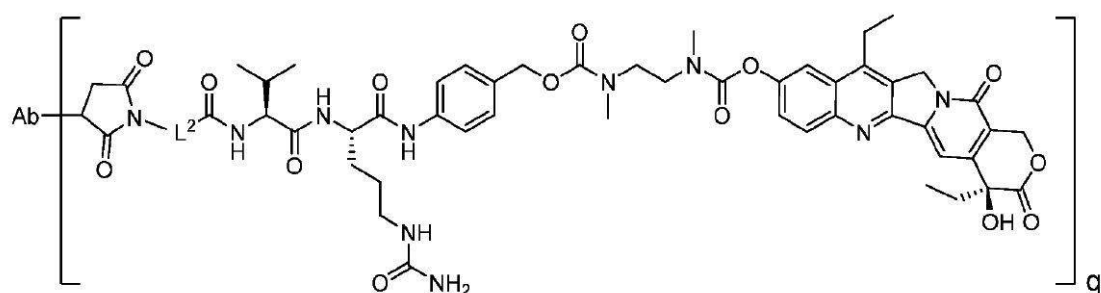
20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0034】

実施形態27は、実施形態26のADCであり、ADCは、式(IIIa-1)：

【化11】



(IIIa-1)

30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

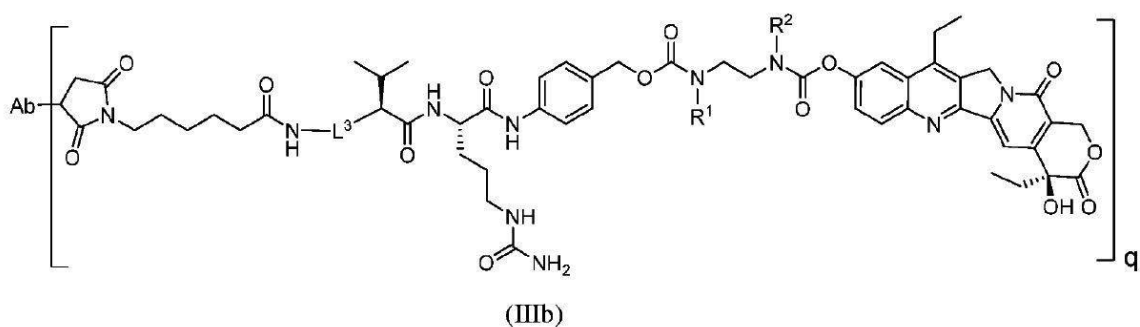
【0035】

実施形態28は、実施形態22のADCであり、ADCは、式(IIIb)：

40

50

【化 1 2】



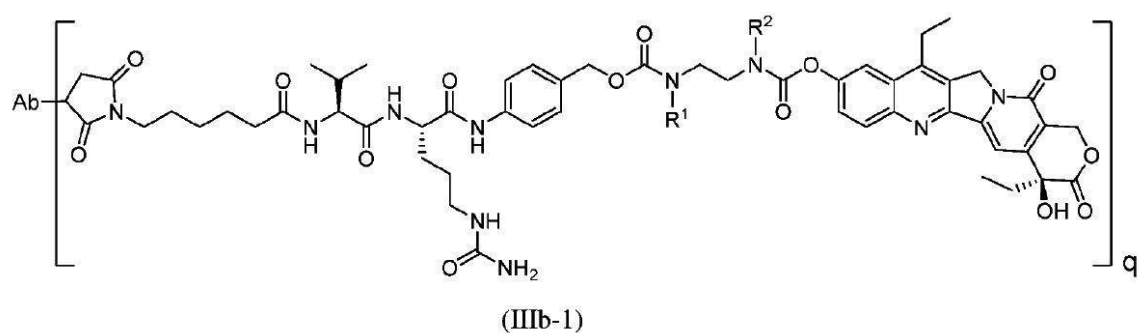
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0036】

実施形態 29 は、実施形態 28 の ADC であり、ADC は式 (IIIb-1) :

【化 1 3】



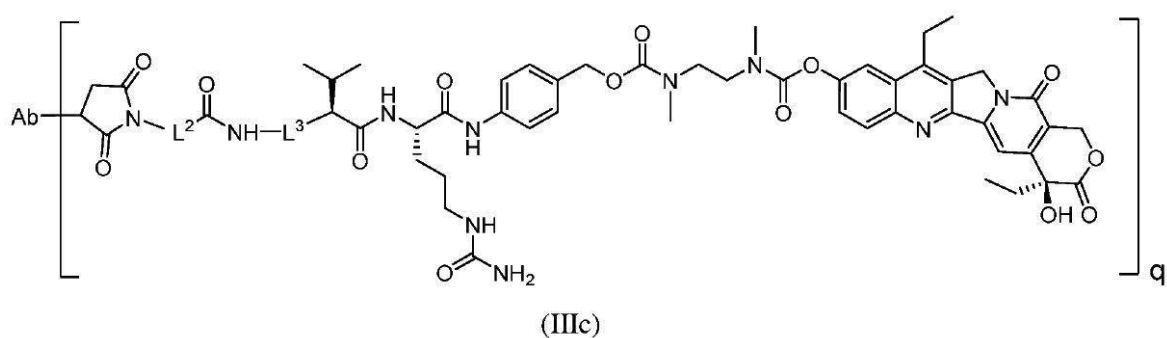
20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0037】

実施形態 30 は、実施形態 22 の ADC であり、ADC は、式 (IIIc) :

【化 1 4】



30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

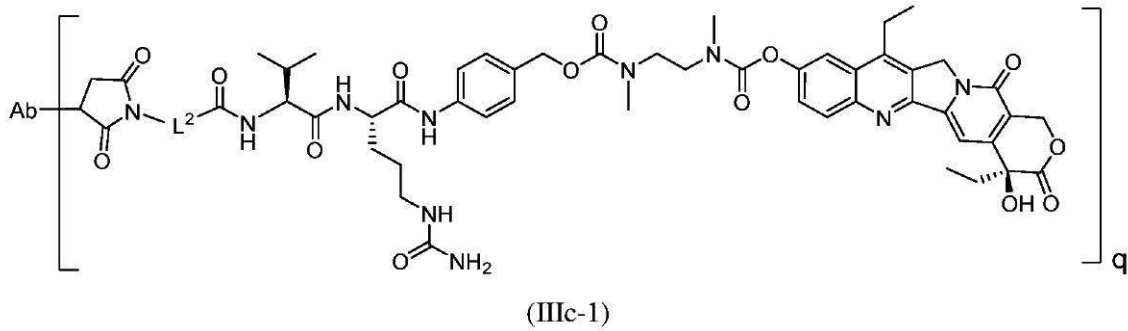
40

【0038】

実施形態 31 は、実施形態 30 の ADC であり、ADC は、式 (IIIc-1) :

50

【化 1 5】



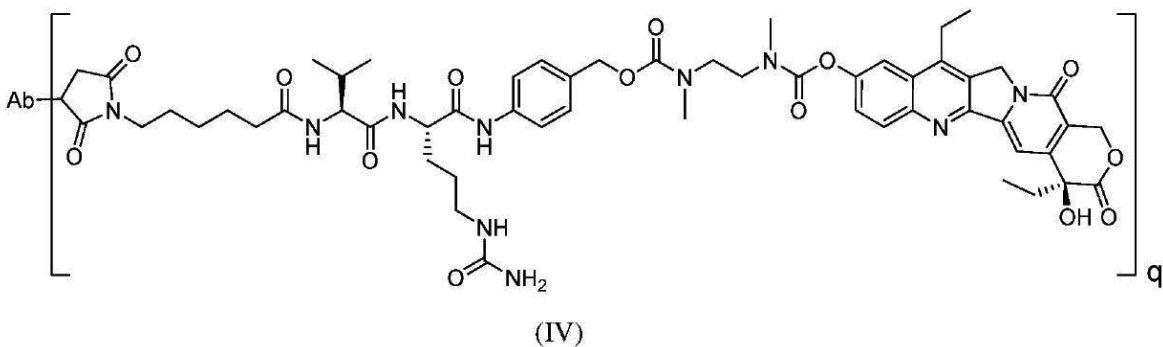
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0039】

実施形態32は、実施形態1のADCであり、ADCは、式(IV)：

【化 1 6】



20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0040】

実施形態33は、実施形態1～32のいずれか1つのADCであり、ここで、抗Trop2抗体は、配列番号1の配列を含むVL HVR1、配列番号2の配列を含むVL HVR2、配列番号3の配列を含むVL HVR3、配列番号4の配列を含むVH HVR1、配列番号5の配列を含むVH HVR2、および配列番号6の配列を含むVH HVR3を含む。

30

【0041】

実施形態34は、実施形態1～33のいずれか1つのADCであり、ここで、抗Trop2抗体は、配列番号7と少なくとも95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を有するVLを含む。

【0042】

実施形態35は、実施形態1～34のいずれか1つのADCであり、ここで、抗Trop2抗体は、配列番号8と少なくとも95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する配列を有するVHを含む。

40

【0043】

実施形態36は、実施形態1～35のいずれか1つのADCであり、ここで、抗Trop2抗体は、配列番号7の配列を有するVLを含む。

【0044】

実施形態37は、実施形態1～36のいずれか1つのADCであり、ここで、抗Trop2抗体は、配列番号8の配列を有するVHを含む。

【0045】

実施形態38は、実施形態1～37のいずれか1つのADCであり、ここで、抗Trop2抗体はカップ軽鎖を含む。

【0046】

50

実施形態 39 は、実施形態 1 ～ 38 のいずれか 1 つの ADC である。ここで、抗 Trop 2 抗体は Ig G 抗体であり、必要に応じて抗 Trop 2 抗体は Ig G 1 抗体である。

【0047】

実施形態 40 は、実施形態 1 ～ 39 のいずれか 1 つの ADC であり、ここで、抗 Trop 2 抗体は、ヒト Trop 2 に結合し、必要に応じてヒト Trop 2 が配列番号 9 のアミノ酸配列を有する。

【0048】

実施形態 41 は、治療に使用するための、実施形態 1 ～ 40 のいずれか 1 つの ADC である。

【0049】

実施形態 42 は、Trop 2 発現癌の処置に使用するための実施形態 41 の ADC である。

【0050】

実施形態 43 は、実施形態 1 ～ 40 のいずれか 1 つの ADC を、それを必要とする対象に投与することを含む、対象における Trop 2 発現癌を処置する方法である。

【0051】

実施形態 44 は、薬剤を製造するための実施形態 1 ～ 40 のいずれか 1 つの ADC の使用である。

【0052】

実施形態 45 は、Trop 2 発現癌を処置するための薬剤を製造するための実施形態 1 ～ 40 のいずれか 1 つの ADC の使用である。

【0053】

実施形態 46 は、実施形態 42、43 または 45 のいずれか 1 つの使用、方法または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は上皮細胞由来癌である。

【0054】

実施形態 47 は、実施形態 46 の使用、方法または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は癌腫である。

【0055】

実施形態 48 は、実施形態 47 の使用、方法、または使用のための ADC であり、ここで、癌腫は、基底細胞癌、扁平上皮癌、腎細胞癌、非浸潤性乳管癌、浸潤性乳管癌、または腺癌である。

【0056】

実施形態 49 は、実施形態 46 ～ 48 のいずれか 1 つの使用、方法または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は固形腫瘍を含む。

【0057】

実施形態 50 は、実施形態 46 ～ 49 のいずれか 1 つの使用、方法または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は転移性である。

【0058】

実施形態 51 は、実施形態 46 ～ 50 のいずれか 1 つの使用、方法または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は再発癌である。

【0059】

実施形態 52 は、実施形態 42、43、および 45 ～ 51 のいずれか 1 つの使用、方法、または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は、膵臓癌、胃癌、乳癌、黒色腫、腎臓癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、前立腺癌、尿路上皮癌、神経膠芽腫、肺癌、子宮頸癌、食道癌、または卵巣癌である。

【0060】

実施形態 53 は、実施形態 52 の使用、方法または使用のための ADC であり、ここで、Trop 2 発現癌は膵臓癌である。

【0061】

実施形態 54 は、実施形態 52 の使用、方法または使用のための ADC であり、ここで

10

20

30

40

50

、Trop2 発現癌は胃癌である。

【0062】

実施形態55は、実施形態52の使用、方法または使用のためのADCであり、ここで、Trop2 発現癌は乳癌である。

【0063】

実施形態56は、実施形態55の使用、方法または使用のためのADCであり、ここで、Trop2 発現癌がトリプルネガティブ乳癌である。

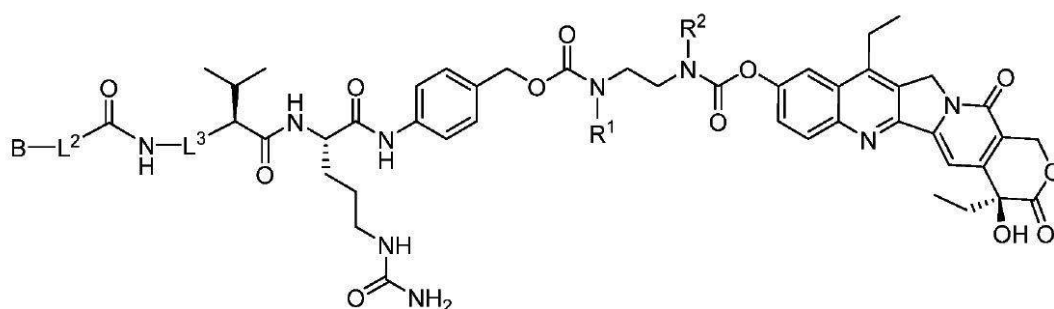
【0064】

実施形態57は、実施形態52～56のいずれか1つの使用、方法または使用のためのADCであり、ここで、癌は転移性である。

【0065】

実施形態58は、実施形態1のADCを調製する方法であって、抗Trop2抗体を式(P-I)：

【化17】



(P-I)

またはその薬学的に許容され得る塩の分子と反応させることを含み、

Bは、抗Trop2抗体と結合を形成することができる反応性部分であり、

L²は、-(CH₂)_p-であり、pは4、5、6、7、または8であり、

L³は、結合またはポリオキシエチレン系二価リンカーであり、

R¹およびR²は、それぞれ独立して、C₁～6アルキルである。

【0066】

実施形態59は、Bが抗Trop2抗体のスルフィドリルと結合を形成することができる反応性部分である、実施形態58の方法である。

【0067】

実施形態60は、BがN-マレイミドである、実施形態58または59の方法である。

【0068】

実施形態61は、ADCが実施形態1～40のいずれか1つのADCである、実施形態58～60のいずれか1つの方法である。

【0069】

実施形態62は、pが4、5、または6である、実施形態58～61のいずれか1つの方法である。

【0070】

実施形態63は、pが5である、実施形態62の方法である。

【0071】

実施形態64は、R¹がC₁～4アルキルである、実施形態58～63のいずれか1つの方法である。

【0072】

実施形態65は、R¹がC₁～3アルキルである、実施形態64の方法である。

【0073】

実施形態66は、R¹がメチルである、実施形態65の方法である。

【 0 0 7 4 】

実施形態 67 は、 R^1 がエチルである、実施形態 65 の方法である。

【 0 0 7 5 】

実施形態 68 は、 R^2 が $C_1 \sim 4$ アルキルである、実施形態 58 ~ 67 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 0 7 6 】

実施形態 69 は、 R^2 が $C_1 \sim 3$ アルキルである、実施形態 68 の方法である。

【 0 0 7 7 】

実施形態 70 は、 R^2 がメチルである、実施形態 69 の方法である。

【 0 0 7 8 】

実施形態 71 は、 R^2 がエチルである、実施形態 69 の方法である。

【 0 0 7 9 】

実施形態 72 は、 R^1 および R^2 が同一である、実施形態 58 ～ 71 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 0 8 0 】

実施形態 73 は、 L^3 が結合である、実施形態 58 ~ 72 のいずれか 1 つの方法である

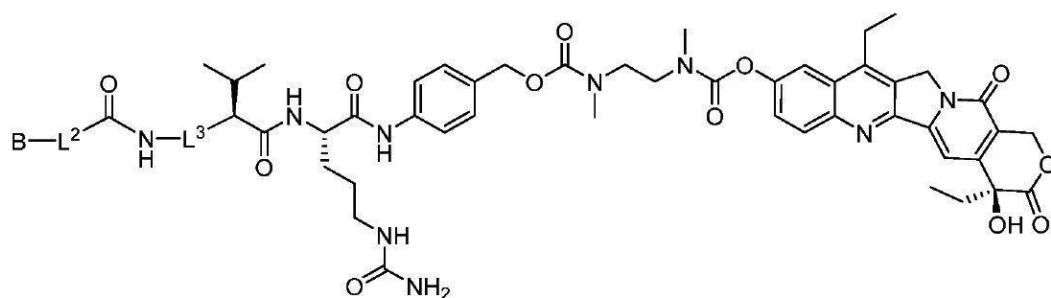
【 0 0 8 1 】

実施形態 74 は、 L^3 がポリオキシエチレン系二価リンカーである、実施形態 58 ~ 72 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 0 8 2 】

実施形態 75 は、分子が式 (P - I I a) :

【化 1 8】



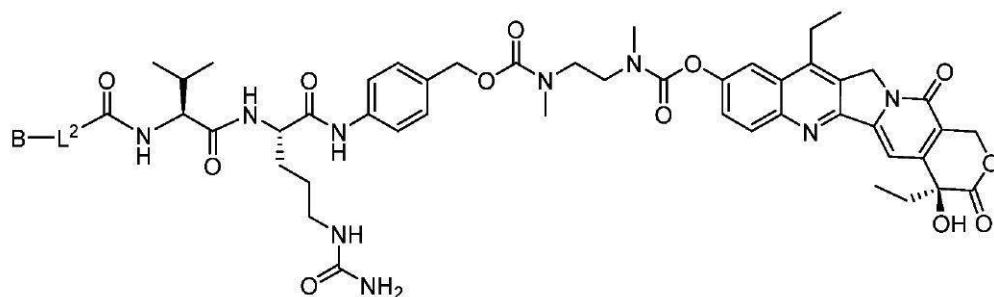
(P-IIa)

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 58 ~ 66、68 ~ 70、73、および 74 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 0 8 3 】

実施形態 76 は、分子が式 (P-I I a-1) :

【化 19】



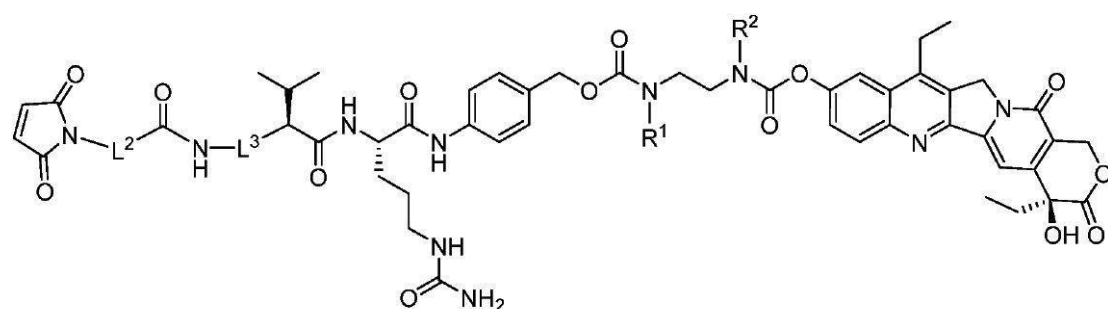
(P-Па-1)

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 75 の方法である。

【 0 0 8 4 】

実施形態 77 は、分子が式 (P - I I b) :

【 化 2 0 】



(P-IIb)

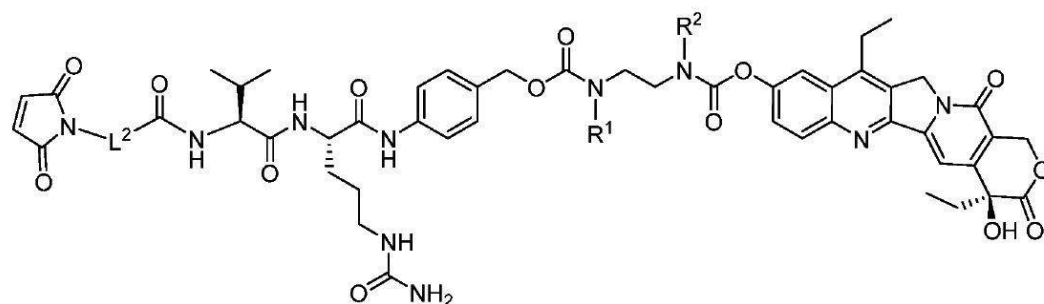
10

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 58 ~ 74 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 0 8 5 】

実施形態 78 は、分子が式 (P - I I b - 1) :

【 化 2 1 】



(P-IIb-1)

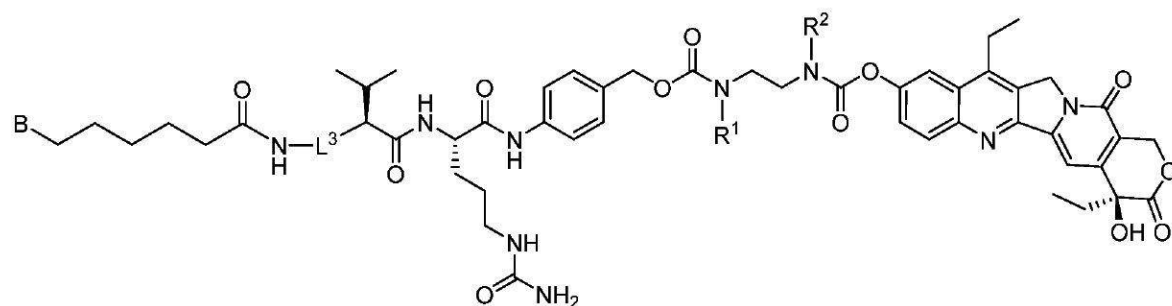
20

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 77 の方法である。

【 0 0 8 6 】

実施形態 79 は、分子が式 (P - I I c) :

【 化 2 2 】



(P-IIc)

40

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 58 ~ 74 のいずれか 1 つの方法である。

【 0 0 8 7 】

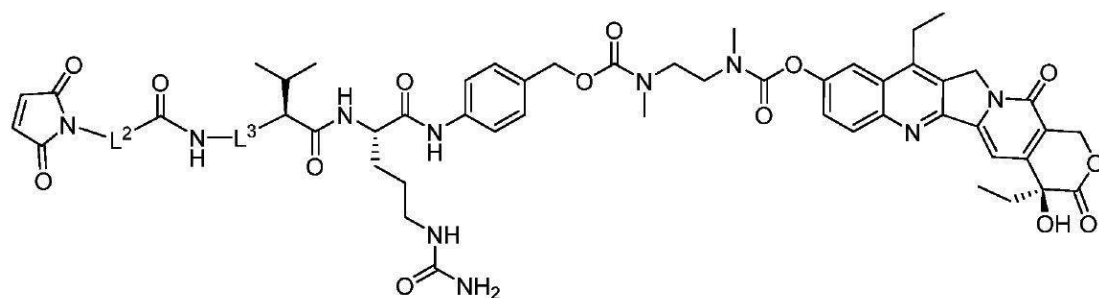
実施形態 80 は、分子が式 (P - I I c - 1) :

50

CCCCCCCC(=O)NC(C)C(=O)N[C@@H](CCNC(=O)N)C(=O)Nc1ccc(COC(=O)N(R1)CN(R2)C(=O)Oc3ccc4c5c6c7c8c9c10c3c11c12c13c14c15c16c17c18c19c20c21c22c23c24c25c26c27c28c29c30c31c32c33c34c35c36c37c38c39c40c41c42c43c44c45c46c47c48c49c50c51c52c53c54c55c56c57c58c59c60c61c62c63c64c65c66c67c68c69c70c71c72c73c74c75c76c77c78c79c80c81c82c83c84c85c86c87c88c89c90c91c92c93c94c95c96c97c98c99c100c101c102c103c104c105c106c107c108c109c110c111c112c113c114c115c116c117c118c119c120c121c122c123c124c125c126c127c128c129c130c131c132c133c134c135c136c137c138c139c140c141c142c143c144c145c146c147c148c149c150c151c152c153c154c155c156c157c158c159c160c161c162c163c164c165c166c167c168c169c170c171c172c173c174c175c176c177c178c179c180c181c182c183c184c185c186c187c188c189c190c191c192c193c194c195c196c197c198c199c200c201c202c203c204c205c206c207c208c209c210c211c212c213c214c215c216c217c218c219c220c221c222c223c224c225c226c227c228c229c230c231c232c233c234c235c236c237c238c239c240c241c242c243c244c245c246c247c248c249c250c251c252c253c254c255c256c257c258c259c260c261c262c263c264c265c266c267c268c269c270c271c272c273c274c275c276c277c278c279c280c281c282c283c284c285c286c287c288c289c290c291c292c293c294c295c296c297c298c299c300c301c302c303c304c305c306c307c308c309c310c311c312c313c314c315c316c317c318c319c320c321c322c323c324c325c326c327c328c329c330c331c332c333c334c335c336c337c338c339c340c341c342c343c344c345c346c347c348c349c350c351c352c353c354c355c356c357c358c359c360c361c362c363c364c365c366c367c368c369c370c371c372c373c374c375c376c377c378c379c380c381c382c383c384c385c386c387c388c389c390c391c392c393c394c395c396c397c398c399c400c401c402c403c404c405c406c407c408c409c410c411c412c413c414c415c416c417c418c419c420c421c422c423c424c425c426c427c428c429c430c431c432c433c434c435c436c437c438c439c440c441c442c443c444c445c446c447c448c449c450c451c452c453c454c455c456c457c458c459c460c461c462c463c464c465c466c467c468c469c470c471c472c473c474c475c476c477c478c479c480c481c482c483c484c485c486c487c488c489c490c491c492c493c494c495c496c497c498c499c500c501c502c503c504c505c506c507c508c509c510c511c512c513c514c515c516c517c518c519c520c521c522c523c524c525c526c527c528c529c530c531c532c533c534c535c536c537c538c539c540c541c542c543c544c545c546c547c548c549c550c551c552c553c554c555c556c557c558c559c560c561c562c563c564c565c566c567c568c569c570c571c572c573c574c575c576c577c578c579c580c581c582c583c584c585c586c587c588c589c590c591c592c593c594c595c596c597c598c599c600c601c602c603c604c605c606c607c608c609c610c611c612c613c614c615c616c617c618c619c620c621c622c623c624c625c626c627c628c629c630c631c632c633c634c635c636c637c638c639c640c641c642c643c644c645c646c647c648c649c650c651c652c653c654c655c656c657c658c659c660c661c662c663c664c665c666c667c668c669c670c671c672c673c674c675c676c677c678c679c680c681c682c683c684c685c686c687c688c689c690c691c692c693c694c695c696c697c698c699c700c701c702c703c704c705c706c707c708c709c710c711c712c713c714c715c716c717c718c719c720c721c722c723c724c725c726c727c728c729c730c731c732c733c734c735c736c737c738c739c740c741c742c743c744c745c746c747c748c749c750c751c752c753c754c755c756c757c758c759c760c761c762c763c764c765c766c767c768c769c770c771c772c773c774c775c776c777c778c779c780c781c782c783c784c785c786c787c788c789c790c791c792c793c794c795c796c797c798c799c800c801c802c803c804c805c806c807c808c809c810c811c812c813c814c815c816c817c818c819c820c821c822c823c824c825c826c827c828c829c830c831c832c833c834c835c836c837c838c839c840c841c842c843c844c845c846c847c848c849c850c851c852c853c854c855c856c857c858c859c860c861c862c863c864c865c866c867c868c869c870c871c872c873c874c875c876c877c878c879c880c881c882c883c884c885c886c887c888c889c890c891c892c893c894c895c896c897c898c899c900c901c902c903c904c905c906c907c908c909c910c911c912c913c914c915c916c917c918c919c920c921c922c923c924c925c926c927c928c929c930c931c932c933c934c935c936c937c938c939c940c941c942c943c944c945c946c947c948c949c950c951c952c953c954c955c956c957c958c959c960c961c962c963c964c965c966c967c968c969c970c971c972c973c974c975c976c977c978c979c980c981c982c983c984c985c986c987c988c989c990c991c992c993c994c995c996c997c998c999)O=C(NC(C)C(=O)N[C@@H](CCNC(=O)N)C(=O)Nc1ccc(COC(=O)N(R1)CN(R2)C(=O)Oc3ccc4c5c6c7c8c9c10c3c11c12c13c14c15c16c17c18c19c20c21c22c23c24c25c26c27c28c29c30c31c32c33c34c35c36c3

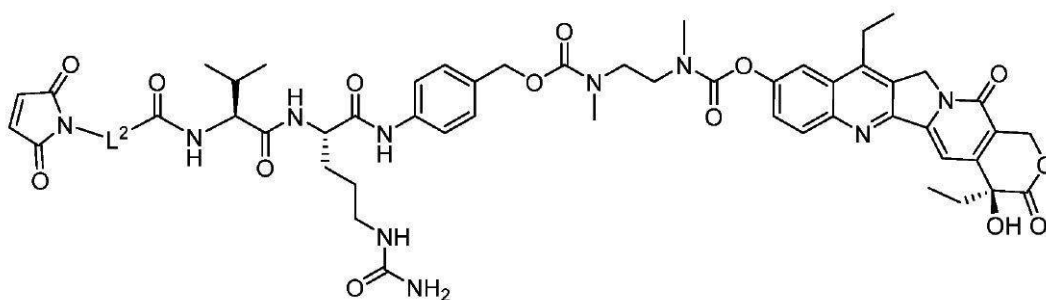
10

【化 2 4】



20

【化 2 5】

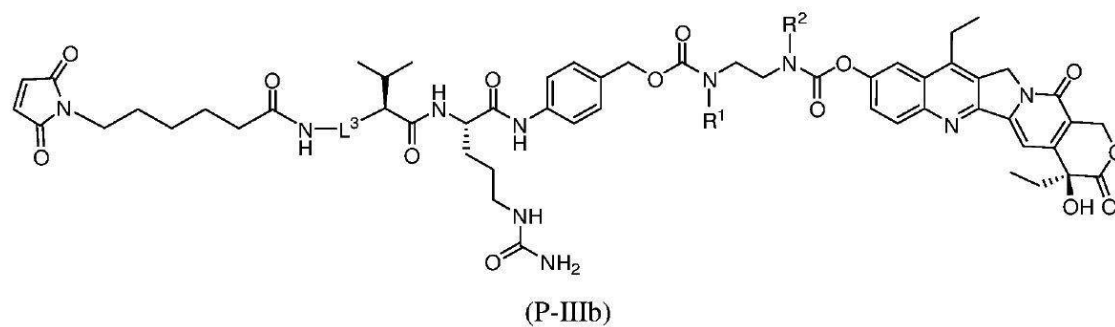


30

実施形態 83 は、分子が式 (P-IIIb) :

40

【化 2 6】



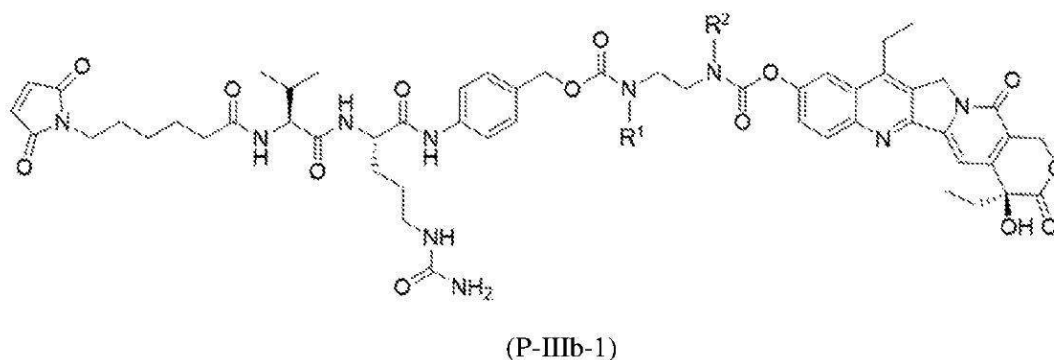
10

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 58～74 のいずれか 1 つの方法である。

【0091】

実施形態 84 は、分子が式 (P-IIIb-1) :

【化 2 7】



20

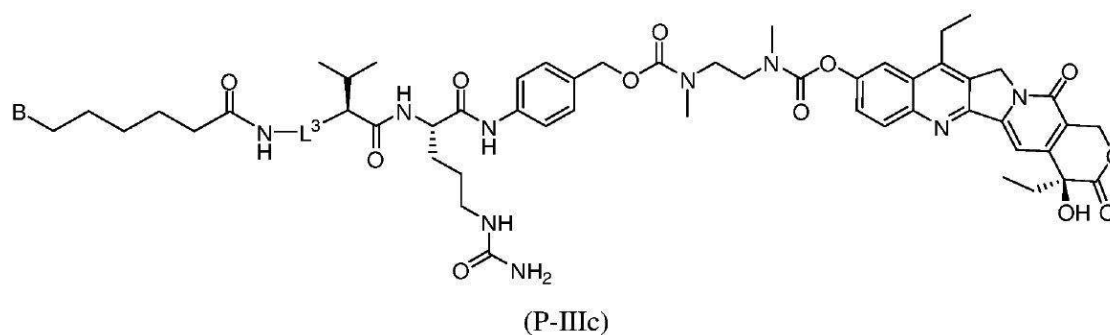
またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 83 の方法である。

【0092】

実施形態 85 は、分子が式 (P-IIIc) :

30

【化 2 8】



40

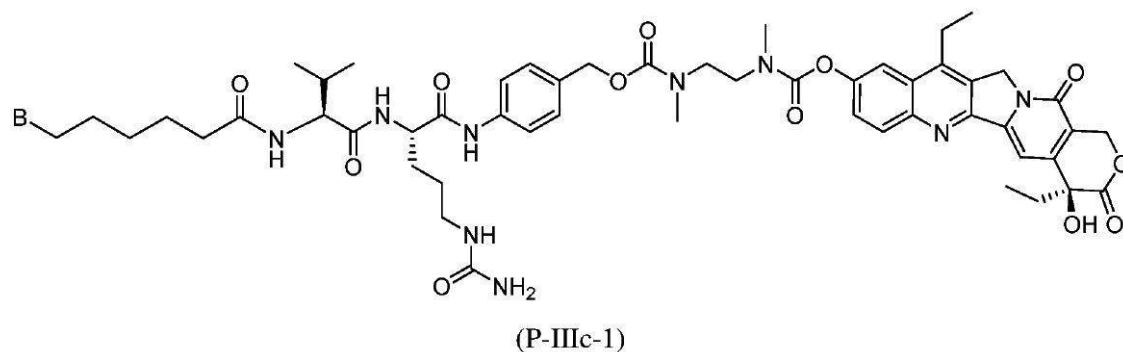
またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 75 の方法である。

【0093】

実施形態 86 は、分子が式 (P-IIIc-1) :

50

【化 2 9】



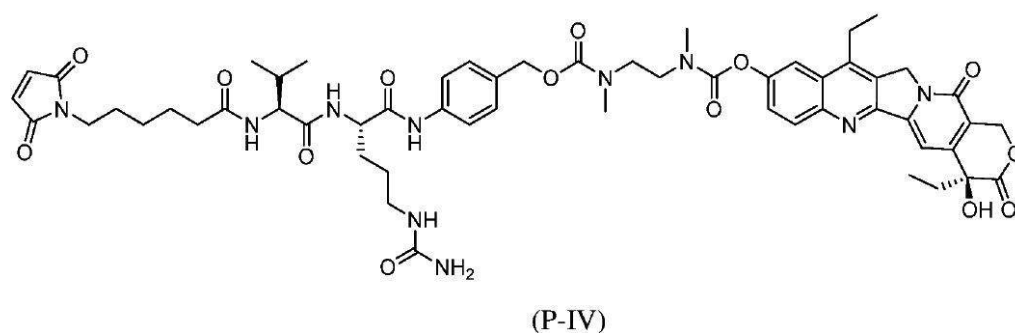
10

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 85 の方法である。

【0094】

実施形態 87 は、分子が式 (P-IV) :

【化 30】



20

またはその薬学的に許容され得る塩である、実施形態 58 の方法である。

図面の説明文

【図面の簡単な説明】

【0095】

【図 1-1】図 1 は、A) BxPC-3 (Trop2+) 細胞、B) MDA-MB-468 (Trop2+) 細胞、C) L-540 (Trop2-) 細胞を使用した抗 Trop2-化合物 1 (三角で示す) および抗 Trop2-化合物 2 (丸で示す) のインビトロ有効性試験の結果を示す。

30

【図 1-2】同上。

【0096】

【図 2-1】図 2 は、A) BxPC-3 (Trop2+) 細胞、B) MDA-MB-468 (Trop2+) 細胞、C) L-540 (Trop2-) 細胞を使用した抗 Trop2-化合物 1 (三角で示す) および抗 Trop2-化合物 3 (四角で示す) のインビトロ有効性試験の結果を示す。

40

【図 2-2】同上。

【0097】

【図 3-1】図 3 は、A) BxPC-3 (Trop2+) 細胞、B) MDA-MB-468 (Trop2+) 細胞、C) L-540 (Trop2-) 細胞を使用した抗 Trop2-化合物 1 (三角で示す) および抗 Trop2-化合物 4 (丸で示す) のインビトロ有効性試験の結果を示す。

【図 3-2】同上。

【0098】

【図 4-1】図 4 は、A) BxPC-3 (Trop2+) 細胞、B) MDA-MB-468 (Trop2+) 細胞、C) L-540 (Trop2-) 細胞を使用した抗 Trop2-化合物 1 (三角で示す) および抗 Trop2-化合物 5 (四角で示す) のインビトロ有

50

効性試験の結果を示す。

【図4-2】同上。

【0099】

【図5-1】図5は、A) BxPC-3 (Trop2+) 細胞、B) MDA-MB-468 (Trop2+) 細胞、C) L-540 (Trop2-) 細胞を使用した抗Trop2-化合物1 (三角で示す) および抗Trop2-化合物6 (四角で示す) のインビトロ有効性試験の結果を示す。

【図5-2】同上。

【0100】

【図6-1】図6Aは、抗Trop2-化合物1 (2mg/kgを灰色の白丸で示し、5mg/kgを黒い白丸で示す) およびADC-CL2A-SN38 (2mg/kgを灰色の中空三角形で示し、5mg/kgを黒い中空三角形で示す) のヌードマウスにおけるMDA-MB-468異種移植片におけるインビボ有効性研究の結果を示す。PBS/ビヒクル (黒丸で示す) および抗Trop2抗体のみ (5mg/kg、実線のひし形で示す) を対照として使用した。*** $P < 0.001$ 、PBS/ビヒクルに対するDunnettの多重比較検定による二元配置ANOVA、データ=平均+SEM、 $N = 6$ 。図6Bは、抗Trop2-化合物1 (3mg/kgを白いひし形で示し、10mg/kgを白丸で示す) およびADC-CL2A-SN38 (3mg/kgを灰色の中空三角形 (上下逆) で示し、10mg/kgを黒い中空三角形で示す) のインビボ有効性試験の結果を示す。PBS/ビヒクル (黒丸で示す) および抗Trop2抗体のみ (3mg/kgを灰色の実線の三角形で示し、10mg/kgを黒色の実線の三角形で示す) を対照として使用した。*** $P < 0.001$ 、抗体対照に対するDunnettの多重比較検定による二元配置ANOVA、データ=平均+SEM、 $N = 6 \sim 8$ 。データは、抗Trop2-化合物1がヌードマウスにおいてMDA-MB-468異種移植片腫瘍成長を有意に阻害したことを示している。

10

20

【図6-2】同上。

【0101】

【図7】図7は、抗Trop2-化合物1 (5mg/kg白いひし形で示し、15mg/kgを白丸で示す) およびADC-CL2A-SN38 (5mg/kgを灰色の中空三角形 (上下逆) で示し、15mg/kgを黒い中空三角形で示す) のヌードマウスにおけるNCI-N87異種移植片におけるインビボ有効性試験の結果を示す。PBS/ビヒクル (黒丸で示す) および抗Trop2抗体のみ (5mg/kgを灰色の中実三角形 (上下逆) で示し、15mg/kgを黒い実線の三角形で示す) を対照として使用した。* $P < 0.05$ 、*** $P < 0.001$ 、PBS/ビヒクルに対するDunnettの多重比較検定による二元配置ANOVA、データ=平均+SEM、 $N = 8$ 。データは、抗Trop2-化合物1がヌードマウスにおいてNCI-N87異種移植片腫瘍成長を有意に阻害したことを示している。

30

【0102】

【図8】図8は、抗Trop2-化合物1 (3mg/kgを白いひし形で示し、10mg/kgを白丸で示し、25mg/kgを中空三角形 (上下逆) で示し、ADC-CL2A-SN38 (10mg/kgを中空三角形で示す) のヌードマウスにおけるBxPC3異種移植片におけるインビボ有効性研究の結果を示す。PBS/ビヒクル (黒丸で示す) および抗Trop2抗体のみ (10mg/kgを実線のひし形で示す) を対照として使用した。*** $P < 0.001$ 、** $P < 0.01$ PBS/ビヒクルに対するDunnettの多重比較検定による二元配置ANOVA、データ=平均+SEM、 $N = 6$ 。このデータは、抗Trop2-化合物1がヌードマウスにおいてBxPC3異種移植片腫瘍成長を有意に阻害したことを示している。

40

【0103】

【図9】図9は、168時間の時間経過にわたるPBS中のADC-CL2A-SN38および抗Trop2-化合物1の安定性試験の結果を示す。遊離薬物放出の検出を370

50

nmでモニターした。データは、抗Trop2-化合物1がこの時間経過にわたって有意な量の遊離化合物1を放出せず、ADC-CL2A-SN38よりもかなり安定であることを示している。

【0104】

【図10】図10は、Swiss Websterマウスを用いた血漿安定性試験を示す。500時間の時間経過にわたる、非コンジュゲート抗Trop2の濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (丸で示す)、ADC抗Trop2-化合物1 (四角で示す) およびADC抗Trop2-化合物1 (三角で示す) の総抗体含量は、抗Trop2-化合物1が安定であり、ADCから薬物を有意に放出しないことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0105】

詳細な説明

本明細書は、本開示の例示的な実施形態および用途を説明する。ただし、本開示は、これらの例示的な実施形態および用途、または例示的な実施形態および用途が運用する、またはそれらが本明細書で説明される方法に限定されない。「または」という用語は、文脈上別段の指示がない限り、包括的な意味で、すなわち「および/または」と同等に使用される。本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」、ならびに任意の単語の任意の単数形の使用は、1つの指示対象に明示的かつ明確に限定されない限り、複数の指示対象を含むことに留意されたい。本明細書で使用される場合、「備える (comprise)」、「含む (include)」という用語、およびそれらの文法的変形は、非限定的であることを意図しており、そのため、リスト内の項目の記載は、記載された項目に置換または追加され得る他の同様の項目を排除しない。本明細書におけるセクションの分割は、読者の便宜のために設けられているに過ぎず、説明された要素のいかなる組み合わせを限定するものではない。参照により組み込まれる資料と本明細書で提供される明示的に記載された内容との間に矛盾または矛盾がある場合、明示的に記載された内容が優先する。

定義

【0106】

「親和性」とは、分子の単一の結合部位 (例えば、抗体) とその結合パートナー (例えば、抗原) との間の非共有結合相互作用の総和の強さを指す。特に明記しない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、結合対のメンバー (例えば、抗体および抗原) 間の1:1相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数 (K_d) によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当技術分野で公知の一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な実例となる例示的な実施形態を以下に記載する。

【0107】

「親和性成熟」抗体は、変化を有しない親抗体と比較して、1またはそれを超える超可変領域 (HVR) に1またはそれを超えるそのような変化を有する抗体を指し、そのような変化は、抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらす。

【0108】

「抗Trop2抗体」および「Trop2に結合する抗体」という用語は、抗体がTrop2を標的とする形で治療剤として有用であるように十分な親和性でTrop2に結合することができる抗体を指す。一実施形態では、無関係の非Trop2タンパク質への抗Trop2抗体の結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ (RIA) によって測定した場合に、Trop2への抗体の結合の約10%未満である。特定の実施形態では、Trop2に結合する抗体が、 $1\mu\text{M}$ 以下、 100nM 以下、 10nM 以下、 5nM 以下、 4nM 以下、 3nM 以下、 2nM 以下、 1nM 以下、 0.1nM 以下、 0.01nM 以下または 0.001nM 以下 (例えば、 10^{-8}M またはそれ未満、例えば、 10^{-8}M から 10^{-13}M 、例えば 10^{-9}M から 10^{-13}M) の解離定数 (K_d) を有する。特定

10

20

30

40

50

の実施形態では、抗 T r o p 2 抗体が、異なる種由来の T r o p 2 間で保存されている T r o p 2 のエピトープに結合する。

【0109】

「抗体」という用語は、本明細書では最も広い意味で使用され、所望の抗原結合活性を示す限り、限定するものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、および抗体フラグメントなどの様々な抗体構造を包含する。

【0110】

「抗体フラグメント」は、インタクトな抗体の一部を含み、インタクトな抗体が結合する抗原に結合する、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体フラグメントの例としては、F v、F a b、F a b'、F a b'-S H、F (a b')₂、ダイアボディ、線状抗体、一本鎖抗体分子（例えば s c F v）、および抗体フラグメントから形成された多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0111】

「癌」および「癌性」という用語は、典型的には調節されていない細胞の成長／増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すかまたは表す。癌の例としては、黒色腫、癌腫、リンパ腫（例えば、ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫）、芽細胞腫、肉腫および白血病が挙げられるが、これらに限定されない。特定の非限定的な例としては、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、神経膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、尿路上皮癌、食道癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌、白血病および他のリンパ増殖性障害、ならびに様々な種類の頭頸部癌が挙げられる。

【0112】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖および／または軽鎖の一部が特定の供給源または種に由来し、重鎖および／または軽鎖の残りが異なる供給源または種に由来する抗体を指す。

【0113】

抗体の「クラス」は、その重鎖が有する定常ドメインまたは定常領域のタイプを指す。抗体には5つの主要なクラス、すなわち、I g A、I g D、I g E、I g G および I g M があり、これらのうちのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、I g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g A₁ および I g A₂ にさらに分割され得る。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ α、δ、ε、γ および μ と呼ばれる。

【0114】

本明細書で使用される「細胞毒」という用語は、細胞機能を阻害もしくは防止し、かつ／または細胞死もしくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞毒としては、放射性同位体（例えば、²¹¹A t、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶R e、¹⁸⁸R e、¹⁵³S m、²¹²B i、³²P、²¹²P b および L u の放射性同位体）、化学療法剤または薬物（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシン C、クロラムブシル、ダウノルビシンまたは他の挿入剤）、成長阻害剤、核酸分解酵素などの酵素およびそのフラグメント、抗生物質、毒素、例えば、細菌、真菌、植物または動物起源の小分子毒素または酵素的に活性な毒素（それらのフラグメントおよび／または変異体を含む）、および以下に開示される様々な抗腫瘍剤または抗癌剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0115】

「化学療法剤」は、癌の処置に有用な化学化合物である。化学療法剤の例としては、チオテパおよびシクロホスファミド（C Y T O X A N（登録商標））などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファンなどのアルキルスルホネート

10

20

30

40

50

;

ベンゾドパ、カルボコン、メトレドパ、ウレドパなどのアジリジン類；

アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、およびトリメチロメラミンなどのエチレンイミンおよびメチルアメラミン；

アセトゲニン（特にブラタシンおよびブラタシノン）；

デルター 9 - テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、マリノール（登録商標））；

ベータラパコン；

ラパコール；

コルヒチン；

ベツリン酸；

カンプトテシン（合成類似体トポテカン（HYCAMTIN（登録商標）、CPT-11（イリノテカン、CAMPTOSAR（登録商標））、アセチルカンプトテシン、スコボレクチン、および 9 - アミノカンプトテシンなど）；

ブリオスタチン；

カリスタチン；

CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類似体など）；

;

ポドフィロトキシン；

ポドフィリン酸；

テニボシド；

クリプトフィシン（特にクリプトフィシン 1 およびクリプトフィシン 8）；

ドラスタチン；

デュオカルマイシン（合成類似体、KW-2189 および CB1-TM1 など）；

エレウテロビン；

パンクラチスタチン；

サルコジクチン；

スポンジスタチン；

クロラムブシル、クロルナファジン、クロロフォスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード類；

カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソ尿素；

エンジン抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシガンマ 1 I およびカリケアマイシンオメガ I 1（例えば、Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994) を参照されたい）；

ダイネマイシン A などのダイネマイシン；

エスペラマイシン；

ならびに、ネオカルジノスタチンクロモフォアおよび関連する色素タンパク質エンジンアンチビオティッククロモフォア）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、プレオマイシン、アクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトレビシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ドキシソルピシン（モルホリノードキシソルピシン、シアノモルホリノードキシソルピシン、2 - ピロリジン - ドキシソルピシンおよびデオキシドキシソルピシンを含む）、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン C などのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン

10

20

30

40

50

- 、ウベニメックス、ジノスタチン、ゼビシンなどの抗生物質；
- メトトレキサート、5-フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗剤；
- デノブテリン、メトトレキサート、プテロブテリン、トリメトレキセートなどの葉酸類似体；
- フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；
- アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；
- カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン
- 、テストラクトンなどのアンドロゲン；
- アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナリン；
- フロリン酸などの葉酸補充剤；
- アセグラトン；
- アルドホスファミドグリコシド；
- アミノレブリン酸；
- エニルラシル；
- アムサクリン；
- ベストラブシル；
- ビスアントレン；
- エダトラキサート；
- デフォファミン；
- デメコルシン；
- ジアジコン；
- エルホルニチン；
- 酢酸エリブチニウム；
- エボチロン；
- トグルシド；
- 硝酸ガリウム；
- ヒドロキシ尿素；
- レンチナン；
- ロニダイニン；
- メイタンシンおよびアンサミトシンなどのメイタンシノイド；
- ミトグアゾン；
- ミトキサントロン；
- モピダンモル；
- ニトレリン；
- ペントスタチン；
- フェナメット；
- ピラルピシン；
- ロソキサントロン；
- 2-エチルヒドラジド；
- プロカルバジン；
- PSK（登録商標）多糖複合体（JHS Natural Products、ユージーン、オレゴン州）；
- ラゾキサン；
- リゾキシン；
- シゾフィラン；
- スピロゲルマニウム；
- テヌアゾン酸；

10

20

30

40

50

トリアジコン；
 2，2'，2''-トリクロロトリエチルアミン；
 トリコテセン（特に、T-2毒素、ベラクリンA、ロリジンAおよびアングジン）；
 ウレタン；
 ビンデシン（ELDISEINE（登録商標）、FILDSEIN（登録商標））；
 ダカルバジン；
 マンノムスチン；
 ミトブロニトール；
 ミトラクトール；
 ピボプロマン；
 ガシトシン；
 アラビノシド（「Ara-C」）；
 チオテパ；
 タキソイド、例えば、パクリタキセル（TAXOL（登録商標）、Bristol-Myers Squibb Oncology、プリンストン、ニュージャージー州）、ABRAXANETMクレモフォルを含まない、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤（American Pharmaceutical Partners、シャンバーグ、イリノイ州）、およびドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、Rhône-Poulenc Rorer、アントニー、フランス）；
 クロランブシル；
 ゲムシタピン（GEMZAR（登録商標））；
 6-チオグアニン；
 メルカプトプリン；
 メトトレキサート；
 シスプラチンおよびカルボプラチンなどの白金類似体；
 ビンブラスチン（VELBAN（登録商標））；
 白金；
 エトポシド（VP-16）；
 イホスファミド；
 ミトキサントロン；
 ビンクリスチン（ONCOVIN（登録商標））；
 オキサリプラチン；
 ロイコボピン；
 ビノレルビン（NAVELBINE（登録商標））；
 ノバントロン；
 エダトレキセート；
 ダウノマイシン；
 アミノプテリン；
 イバンドロネート；
 トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；
 ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；
 レチノイン酸などのレチノイド；
 カペシタビン（XELODA（登録商標））；
 上記のいずれかの薬学的に許容され得る塩、酸または誘導体；
 ならびに、上記の2またはそれを超える組み合わせ、例えば、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよびプレドニゾロンの併用療法の略語であるCHOP；
 シクロホスファミド、ビンクリスチンおよびプレドニゾロンの併用療法の略語であるCVP；および
 5-FUおよびロイコボリンと組み合わせたオキサリプラチン（ELOXATINTM）による処置レジメンの略語であるFOLFOX、が挙げられる。

【0116】

「エフェクター機能」とは、抗体アイソタイプによって異なる、抗体のFc領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合および補体依存性細胞傷害(CDC)、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、食作用、細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体)の下方制御、およびB細胞活性化が挙げられる。

【0117】

薬剤、例えば、医薬製剤の「有効量」は、所望の治療的または予防的結果を達成するのに有効な量(それを達成するのに必要な投与量および期間)を指す。

【0118】

「エピトープ」という用語は、抗体が結合する抗原分子上の特定の部位を指す。

【0119】

本明細書における「Fc領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Fc領域および変異体Fc領域を含む。一実施形態では、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226またはPro230から重鎖のカルボキシル末端まで延在する。ただし、Fc領域のC末端リジン(Lys447)は存在する場合と存在しない場合がある。本明細書において別段の指定がない限り、Fc領域または定常領域におけるアミノ酸残基のナンバリングは、Kabataら、Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されているように、EUインデックスとも呼ばれるEUNanbaringシステムに従う。

【0120】

「フレームワーク」または「FR」は、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に、4つのFRドメイン、すなわち、FR1、FR2、FR3、およびFR4からなる。したがって、HVR配列およびFR配列は、一般に、VH(またはVL)の配列、すなわち、FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4で現れる。

【0121】

「完全長抗体」、「インタクト抗体」および「全抗体」という用語は、本明細書では、自然抗体の構造と実質的に同様の構造を有する抗体、または本明細書で定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体を指すために互換的に使用される。

【0122】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」および「宿主細胞培養物」という用語は、外因性核酸が導入されている細胞(そのような細胞の子孫を含む)を指すために互換的に使用される。宿主細胞には、「形質転換体」および「形質転換細胞」が含まれ、これらには、初代形質転換細胞および継代数を問わずそれに由来する子孫が含まれる。子孫は、親細胞と核酸含有量が完全に同一ではなく、突然変異を含有する場合がある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異子孫が本明細書に含まれる。

【0123】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生される、またはヒト抗体レパートリーもしくは他のヒト抗体コード配列を利用する非ヒト供給源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する抗体である。ヒト抗体のこの定義は、厳密に言うところ、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。

【0124】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に存在するアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンVLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列のサブ

10

20

30

40

50

グループに由来する。一般に、その配列のサブグループは、Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3にあるようなサブグループである。一実施形態では、VLについて、サブグループは、上記のKabatらにあるようなサブグループカッパIである。一実施形態では、VHについて、サブグループは、上記のKabatらにあるようなサブグループIIIである。

【0125】

「ヒト化」抗体は、非ヒトHVR由来のアミノ酸残基およびヒトFR由来のアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。特定の実施形態では、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインのうち実質的にすべてを含み、HVR（例えば、CDR）のすべてまたは実質的にすべてが非ヒト抗体のそれに対応し、FRのすべてまたは実質的にすべてがヒト抗体のそれに対応する。ヒト化抗体は、必要に応じて、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含み得る。抗体、例えば、非ヒト抗体の「ヒト化形態」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【0126】

本明細書で使用される「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列が超可変であり、かつ／または構造的に明確なループ（「超可変ループ」）を形成する抗体可変ドメインの各領域を指す。一般に、天然の4本鎖抗体は6つのHVRを含み、VHに3つ（H1、H2、H3）、VLに3つ（L1、L2、L3）含む。HVRは一般に、超可変ループおよび／または「相補性決定領域」（CDR）由来のアミノ酸残基を含み、後者は配列可変性が最も高く、かつ／または抗原認識に関与している。例示的な超可変ループは、アミノ酸残基26～32（L1）、50～52（L2）、91～96（L3）、26～32（H1）、53～55（H2）、および96～101（H3）に存在する。（Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)）。例示的なCDR（CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3）は、L1のアミノ酸残基24～34、L2のアミノ酸残基50～56、L3のアミノ酸残基89～97、H1のアミノ酸残基31～35B、H2のアミノ酸残基50～65、およびH3のアミノ酸残基95～102に存在する。（Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)）。VH中のCDR1を除いて、CDRは一般に、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。CDRはまた、抗原と接触する残基である「特異性決定残基」または「SDR」を含む。SDRは、略語として-CDRまたはa-CDRと呼ばれる、CDRの領域内に含まれる。例示的なa-CDR（a-CDR-L1、a-CDR-L2、a-CDR-L3、a-CDR-H1、a-CDR-H2およびa-CDR-H3）は、L1のアミノ酸残基31～34、L2のアミノ酸残基50～55、L3のアミノ酸残基89～96、H1のアミノ酸残基31～35B、H2のアミノ酸残基50～58およびH3のアミノ酸残基95～102に存在する。（Almagro and Franss on, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照されたい）。別段示されない限り、本明細書では、可変ドメイン中のHVR残基および他の残基（例えばFR残基）は、上記のKabatらに従ってナンバリングされる。

【0127】

「抗体薬物複合体」または「ADC」は、1またはそれを超える異種分子にコンジュゲートされた抗体であり、限定するものではないが、細胞毒を含む。

【0128】

「個体」または「対象」は哺乳動物である。哺乳動物としては、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌおよびウマ）、霊長類（例えば、ヒトおよび非ヒト霊長類、例えば、サル）、ウサギ、およびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）が挙げられるが、これ

らに限定されない。特定の実施形態では、個体または対象は、ヒトである。特定の実施形態では、対象は、成人、青年、小児、または乳児である。いくつかの実施形態では、「個体」または「患者」という用語が使用され、この用語は「対象」と交換可能であることが意図される。

【0129】

本明細書で使用される「Trop2」という用語は、特に明記しない限り、霊長類（例えば、ヒト、カニクイザル（cyno））およびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物供給源由来の任意の天然Trop2を指す。この用語は、「完全長」の未処理Trop2、ならびに細胞内での処理から生じる任意の形態のTrop2を包含する。この用語はまた、Trop2の天然に存在する変異体、例えば、スプライス変異体、対立遺伝子変異体およびアイソフォームを包含する。例示的なヒトTrop2タンパク質のアミノ酸配列を配列番号9に示す。

10

【0130】

用語「Trop2発現癌」は、その表面にTrop2を発現する細胞を含む癌を指す。

【0131】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、換言すれば、集団を構成する個々の抗体は、例えば、天然に存在する変異を含有するか、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に生じる可能性のある変異体抗体（そのような変異体は一般に少量しか存在しない）を除いて、同一であり、かつ／または同じエピトープに結合する。典型的には異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。したがって、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体集団から得られる抗体の特徴を示し、特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定するものではないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、およびヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法などの様々な技術によって作製することができ、そのような方法およびモノクローナル抗体を作製するための他の例示的な方法は本明細書に記載されている。

20

【0132】

「自然抗体」は、様々な構造を有する天然に存在する免疫グロブリン分子を指す。例えば、自然IgG抗体は、ジスルフィド結合した2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖で構成された約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。各重鎖は、N末端からC末端に向かって、可変重鎖ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）と、それに続く3つの定常ドメイン（CH1、CH2、CH3）とを有する。同様に、各軽鎖は、N末端からC末端に向かって、可変軽鎖ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）と、それに続く定常軽鎖（CL）ドメインとを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）およびラムダ（λ）と呼ばれる2つのタイプのうちの1つに割り当てられ得る。

30

【0133】

「添付文書」という用語は、通例、治療用製品の市販パッケージに含まれる説明書であって、そのような治療用製品の使用に関する適応症、用法、用量、投与、併用療法、禁忌および／または警告に関する情報を含む説明書を指すために使用される。

40

【0134】

参照ポリペプチド配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列をアラインメントし、最大の配列同一性パーセントを達成するように必要に応じてギャップを導入した後の、参照ポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、例えば、NeedlemanおよびWunschのグローバルホモロジーアライメントアルゴリズム（J. Mol. Biol. 48:443, 1970）によ

50

って、SmithおよびWatermanの局所相同性アルゴリズム (Add. APL Math. 2: 482, 1981) などの適切なアルゴリズムを実装する公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当技術分野の技能の範囲内にある様々な方法で達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインメントするための適切なパラメータを決定することができる。本明細書で使用される「配列同一性パーセント」または「[配列] 同一性パーセント (%)」は、2つの配列間の局所アラインメントの長さによって定義される比較ウィンドウによって2つの最適に局所的にアラインメントした配列を比較することによって決定される。(これは、相同性のパーセンテージまたは「相同性パーセント (%)」とも考えられ得る。) 比較ウィンドウ内のアミノ酸配列は、2つの配列の最適なアラインメントのために、参照配列と比較して付加または欠失 (例えば、ギャップまたはオーバーハング) を含み得る。2つの配列間の局所アラインメントは、アラインメントを行うために使用されるアルゴリズムに依存する基準に従って十分に類似していると見なされる各配列のセグメントのみを含む。同一性パーセントは、同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が両方の配列に存在する位置の数を求めることによって、一致した位置の数を得、一致した位置の数を比較ウィンドウ内の位置の総数で除算し、その結果に100を掛けることによって計算される。例えば、GAPおよびBESTFITを使用して、比較のために同定された2つの配列の最適なアラインメントを決定することができる。通常、ギャップ重みには5.00、ギャップ重み長には0.30のデフォルト値が使用される。

10

20

【0135】

「医薬製剤」という用語は、そこに含まれる活性成分の生物学的活性が有効であることを可能にするような形態の、製剤が投与される対象にとって許容できないほど毒性である追加の成分を含まない調製物を指す。

【0136】

「薬学的に許容され得る担体」は、対象に対して非毒性である、医薬製剤中の活性成分以外の成分を指す。薬学的に許容され得る担体としては、緩衝剤、賦形剤、安定剤または保存剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0137】

「薬学的に許容され得る塩」は、薬学的に許容され得る塩を指す。本明細書に記載される化合物は、薬学的に許容され得る塩として投与され得る。

30

【0138】

本明細書で使用される場合、「処置」(および「処置する」または「処置すること」などのその文法的変形)は、処置されている個体の自然経過を変化させようと試みる臨床的介入を指し、予防のためにまたは臨床病理の過程において行うことができる。処置の望ましい効果としては、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の予防、疾患進行速度の低下、疾患状態の改善または緩和、および寛解または予後の改善が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のADCを使用して、疾患の発症を遅延させるか、または疾患の進行を遅延させる。

40

【0139】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗原への抗体の結合に関与する抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。自然抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン(それぞれVHおよびVL)は、一般に類似の構造を有し、各ドメインは、4つの保存されたフレームワーク領域(FR)および3つの超可変領域(HVR)を含む。(例えばKind et al. Kuby Immunology, 6th ed. W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい)。単一のVHまたはVLドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体は、抗原に結合する抗体からVHまたはVLドメインを使用して単離され、相補的なVLまたはVHドメインのライブラリーをそれぞれスクリーニングすることがで

50

きる。例えば、Portolano et al., J. Immunol. 150: 880-887 (1993); Clarksonら、Nature 352: 624~628 (1991)を参照されたい。

【0140】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、それが連結されている別の核酸を増殖させることができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、ならびにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている核酸の発現を指示することができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼ばれる。

【0141】

本明細書で使用される「C₁~6アルキル」という用語は、1から6個の炭素原子を有する直鎖または分岐の飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な直鎖C₁~6アルキル基としては、メチル、エチル、n-プロピル、n-ブチル、n-ペンチルおよびn-ヘキシルが挙げられ、代表的な分岐C₁~6アルキル基としては、限定するものではないが、イソプロピル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、イソペンチル、2-メチルブチルが挙げられ、代表的な不飽和C₁~6アルキル基としては、限定するものではないが、ビニル、アリル、1-ブテニル、2-ブテニル、イソブチレニル、1-ペンテニル、-2-ペンテニル、-3-メチル-1-ブテニル、-2-メチル-2-ブテニル、-2,3-ジメチル-2-ブテニル、1-ヘキシル、2-ヘキシル、3-ヘキシル、アセチレニル、プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-メチル-1-ブチニルが挙げられる。具体的に示されない限り、C₁~6アルキルは非置換基を指すと理解される。

【0142】

本明細書で使用される「C₁~4アルキル」という用語は、1から4個の炭素原子を有する直鎖または分岐の飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「C₁~4アルキル」基としては、メチル、エチル、n-プロピル、n-ブチルが挙げられ、代表的な分岐C₁~4アルキル基としては、限定するものではないが、イソプロピル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチルが挙げられ、代表的な不飽和C₁~4アルキル基としては、限定するものではないが、ビニル、アリル、1-ブテニル、2-ブテニルおよびイソブチレニルが挙げられる。具体的に示されない限り、C₁~4アルキルは非置換基を指すと理解される。

【0143】

「リンカー」は、抗体を薬物部分に共有結合させる共有結合または原子鎖を含む化学部分を指す。様々な実施形態では、リンカーは二価ラジカルを含む。様々な実施形態では、リンカーは、1またはそれを超えるアミノ酸残基を含み得る。

【0144】

「保護基」という用語は、化合物上の他の官能基を反応させながら特定の官能基をブロックまたは保護するために一般的に用いられる置換基を指す。例えば、「アミノ保護基」は、化合物中のアミノ官能基をブロックまたは保護するアミノ基に結合した置換基である。適切なアミノ保護基としては、アセチル、トリフルオロアセチル、t-ブトキシカルボニル (BOC)、ベンジルオキシカルボニル (CBZ) および9-フルオレニルメチレンオキシカルボニル (Fmoc) が挙げられるが、これらに限定されない。保護基およびその使用の一般的な説明については、T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991またはその新版を参照されたい。

【0145】

本明細書で使用される場合、「実質的に」および他のその文法的形態は、意図された目的のために機能するのに十分であることを意味する。したがって、「実質的に」という用語は、絶対的または完全な状態、寸法、測定値、結果などからの、当業者が想定するであろう、ただし全体的な性能にそれほど影響しないような、小さい、わずかな変動を考慮に

10

20

30

40

50

入れたものである。数値、またはパラメータ、または、数値として表すことのできる特性に関して使用される場合、「実質的に」とは、10%以内を意味する。

概要

【0146】

抗体薬物複合体（ADC）は、腫瘍への薬物部分の標的化送達、およびいくつかの実施形態では、その中の細胞内蓄積を可能にし、非複合薬物の全身投与は、正常細胞に対して許容できないレベルの毒性をもたらし得る（Polakis P. (2005) *Current Opinion in Pharmacology* 5:382-387）。ADCは、強力な細胞傷害性薬物を抗原発現腫瘍細胞に標的化することによって抗体と細胞傷害性薬物の両方の特性を組み合わせ（Teicher, B. A. (2009) *Current Cancer Drug Targets* 9:982-1004）、それによって、有効性を最大化し、オフターゲット毒性を最小化することで治療指数を増大させる、標的化化学療法分子である（Carter, P. J. and Senter P. D. (2008) *The Cancer Jour.* 14 (3):154-169; Chari, R. V. (2008) *Acc. Chem. Res.* 41:98-107。

10

【0147】

本開示は、リンカー部分を介して薬物部分SN-38にコンジュゲートされた抗Trop2抗体を含むADCを提供する。抗Trop2抗体は、Trop2発現癌細胞に結合し、癌細胞へのADCの選択的取り込みを可能にすることができる。いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるADCは、SN-38を抗Trop2抗体に結合体化するために異なるリンカーが使用される他のADCに関連する毒性を回避しながら、有効量のSN-38を腫瘍組織に選択的に送達するために使用される。本明細書に記載のADC化合物には、抗癌活性を有するものが含まれる。

20

【0148】

一態様では、抗Trop2抗体を含む抗体薬物複合体（ADC）が本明細書で提供される。別の態様では、抗Trop2抗体を含むADCを調製する方法が本明細書で提供される。併せて、本明細書に開示されるADCを使用して、Trop2発現癌などの癌を処置する方法も本明細書で提供される。

I. 組成物

抗体薬物複合体

30

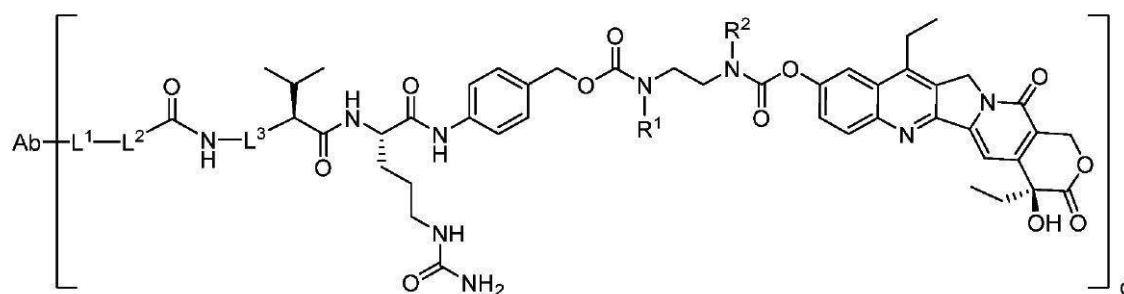
【0149】

一態様では、抗Trop2抗体（Ab）と、薬物部分SN-38と、抗Trop2抗体をSN-38に共有結合させるリンカー部分とを含む抗体薬物複合体（ADC）が本明細書で提供される。

【0150】

いくつかの実施形態では、ADCは、式（I）：

【化31】



40

(I)

またはその薬学的に許容され得る塩であり、式中、

Abは、抗Trop2抗体であり、

qは、1から20の範囲の値であり、

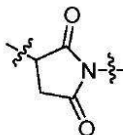
50

L^1 は、抗 T r o p 2 抗体に結合したリンカーであり、
 L^2 は、 $-(CH_2)_p-$ であり、 p は 4、5、6、7、または 8 であり、
 L^3 は、結合またはポリオキシエチレン系二価リンカーであり、
 R^1 および R^2 は、それぞれ独立して、 $C_{1\sim6}$ アルキルである。

【0151】

いくつかの実施形態では、 L^1 は、抗 T r o p 2 抗体の硫黄に結合したリンカーである。
 いくつかの実施形態では、 L^1 は

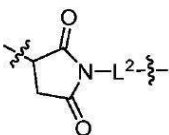
【化32】



10

である。いくつかの実施形態では、 $-L^1-L^2-$ は

【化33】



20

である。

【0152】

いくつかの実施形態では、 q は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 または 20 である。いくつかの実施形態では、 q は、1 から 10 の範囲の値である。いくつかの実施形態では、 q は、6 から 8 の範囲の値である。いくつかの実施形態では、 q は、6 から 7 の範囲の値である。いくつかの実施形態では、 q は、7 から 8 の範囲の値である。いくつかの実施形態では、 q は、6、7 または 8 である。いくつかの実施形態では、 q は、6 である。いくつかの実施形態では、 q は、7 である。いくつかの実施形態では、 q は、8 である。

【0153】

いくつかの実施形態では、 p は、4、5 または 6 である。いくつかの実施形態では、 p は、4 である。いくつかの実施形態では、 p は、5 である。いくつかの実施形態では、 p は、6 である。いくつかの実施形態では、 p は、7 または 8 である。いくつかの実施形態では、 p は、7 である。いくつかの実施形態では、 p は、8 である。

【0154】

いくつかの実施形態では、 L^3 は、結合である。他の実施形態では、 L^3 は、ポリオキシエチレン系二価リンカーである。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分およびアルキレン部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分およびアリーレン部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アルキレン部分およびアリーレン部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アルキレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アリーレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、最大で 24 個の $-(CH_2CH_2O)-$ 単位を含む。

40

【0155】

50

いくつかの実施形態では、 R^1 は、 $C_1 \sim 4$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、 $C_1 \sim 3$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、メチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、エチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、プロピル、例えば、*n*-プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はブチル、例えば、*n*-ブチルまたは*tert*-ブチルである。他の実施形態では、 R^1 は、ペンチルまたはヘキシルである。

【0156】

いくつかの実施形態では、 R^2 は、 $C_1 \sim 4$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、 $C_1 \sim 3$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、メチルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、エチルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、プロピル、例えば、*n*-プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、ブチル、例えば、*n*-ブチルまたは*tert*-ブチルである。他の実施形態では、 R^2 は、ペンチルまたはヘキシルである。

10

【0157】

いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、同一である。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれメチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれエチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれブチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれペンチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれヘキシルである。

20

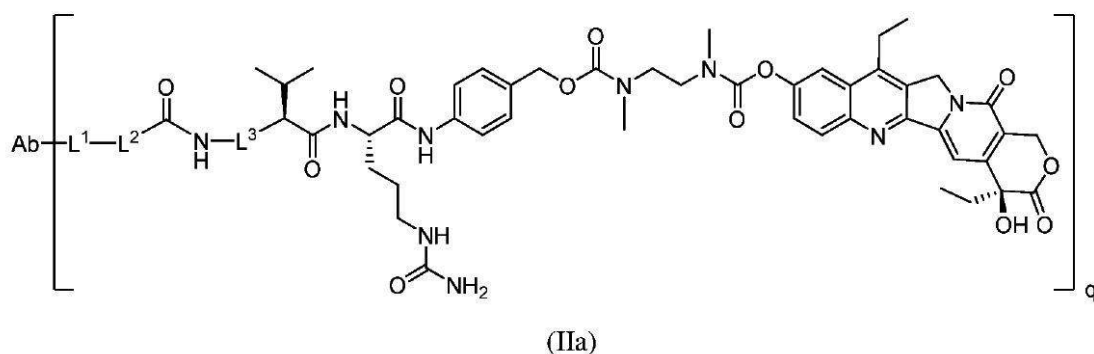
【0158】

いくつかの実施形態では、 R^1 と R^2 は異なる。いくつかの実施形態では、 R^1 はメチルであり、 R^2 はエチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はエチルであり、 R^2 はメチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はメチルであり、 R^2 は $C_2 \sim 6$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は $C_2 \sim 6$ アルキルであり、 R^2 はメチルである。

【0159】

いくつかの実施形態では、ADCは、式(IIa)：

【化34】

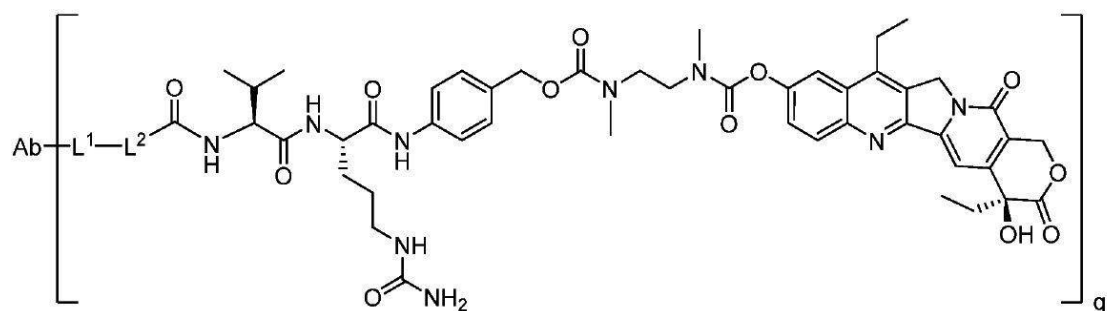


30

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、ADCは、式(IIa-1)：

40

【化 3 5】



(IIa-1)

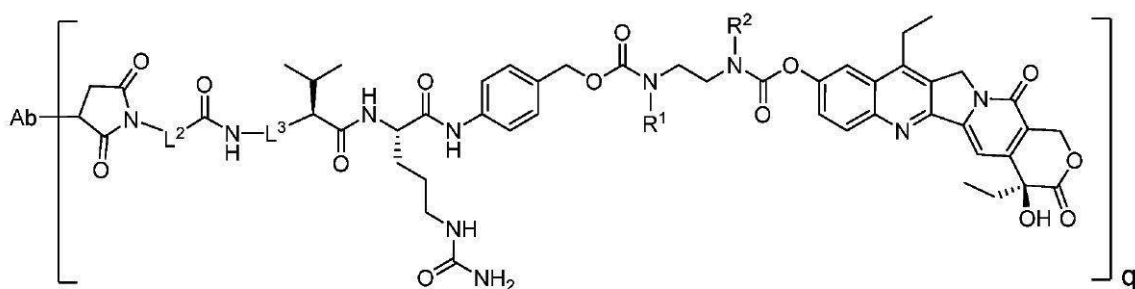
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0160】

いくつかの実施形態では、ADCは、式(IIb)：

【化 3 6】

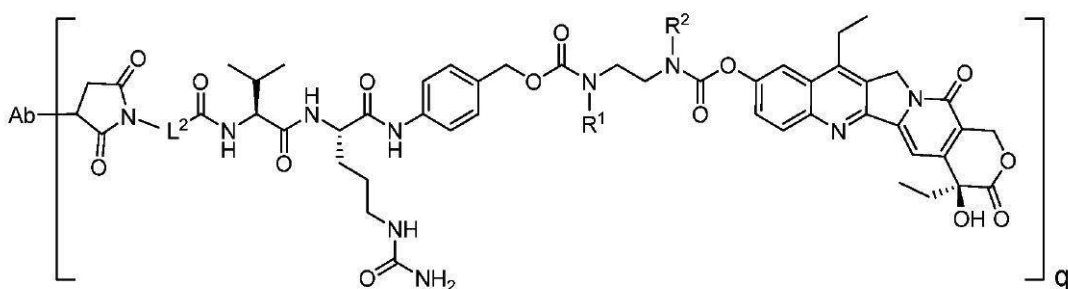


(IIb)

20

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、ADCは式(IIb-1)：

【化 3 7】



(IIb-1)

30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

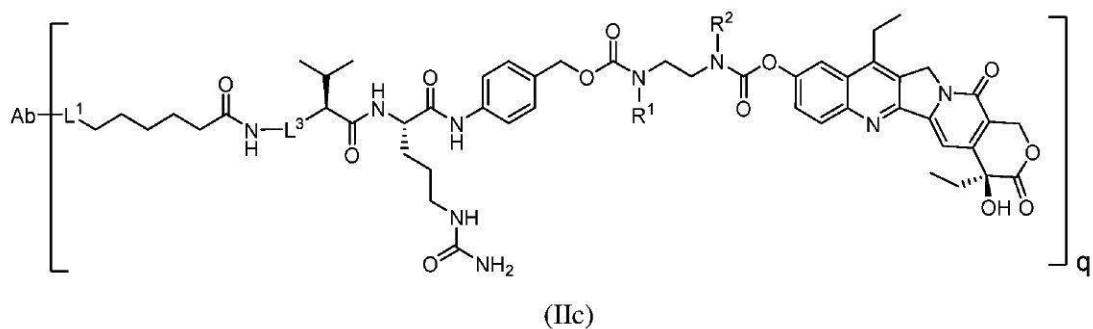
【0161】

いくつかの実施形態では、ADCは、式(IIc)：

40

50

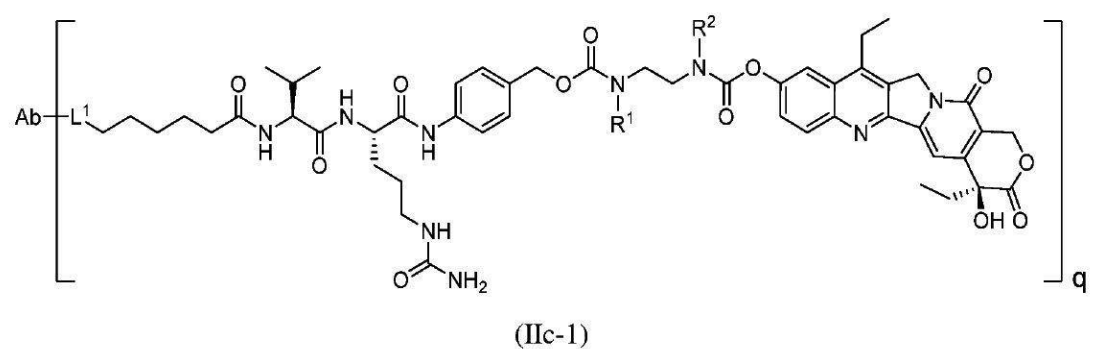
【化 3 8】



10

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、ADC は式 (IIc-1) :

【化 3 9】



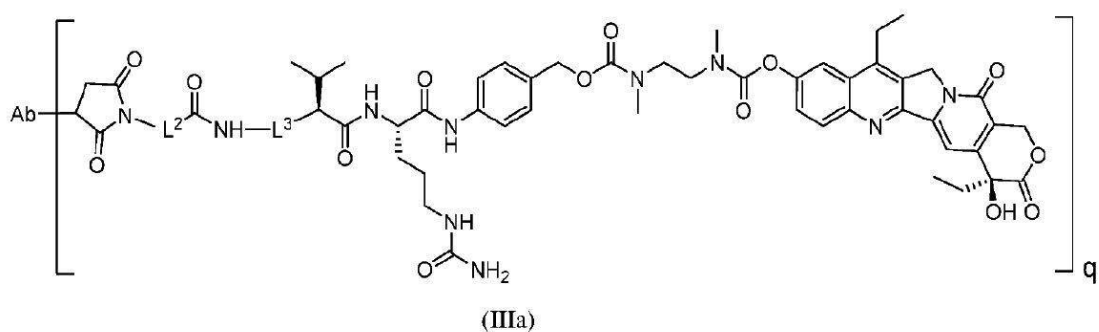
20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0162】

いくつかの実施形態では、ADC は、式 (IIIa) :

【化 4 0】



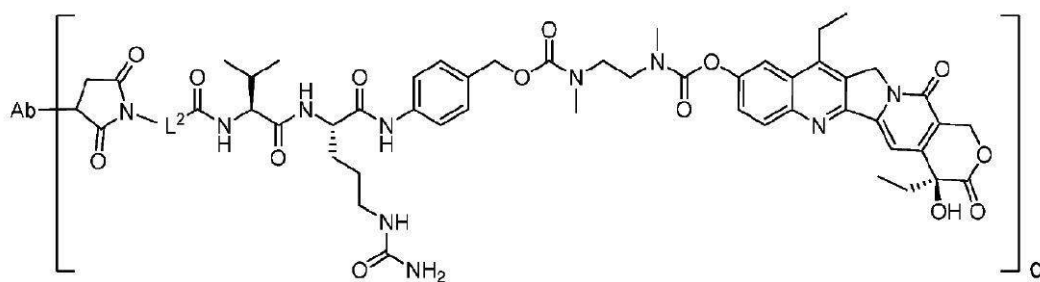
30

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、ADC は式 (IIIa-1) :

40

50

【化 4 1】



(IIIa-1)

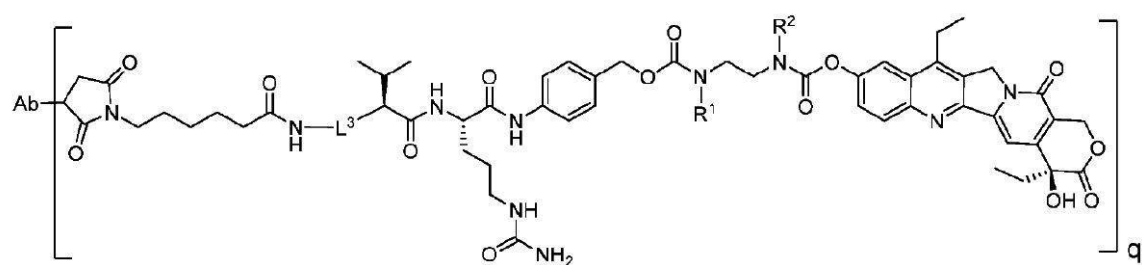
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0163】

いくつかの実施形態では、ADCは、式(IIIb)：

【化 4 2】

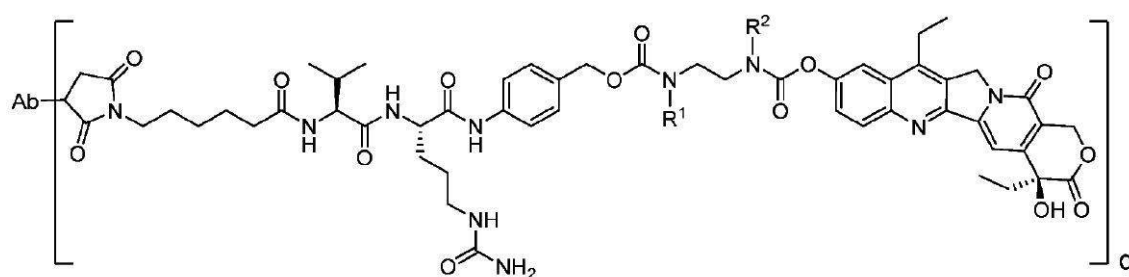


(IIIb)

20

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、L3は結合であり、ADCは式(IIIb-1)：

【化 4 3】



(IIIb-1)

30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

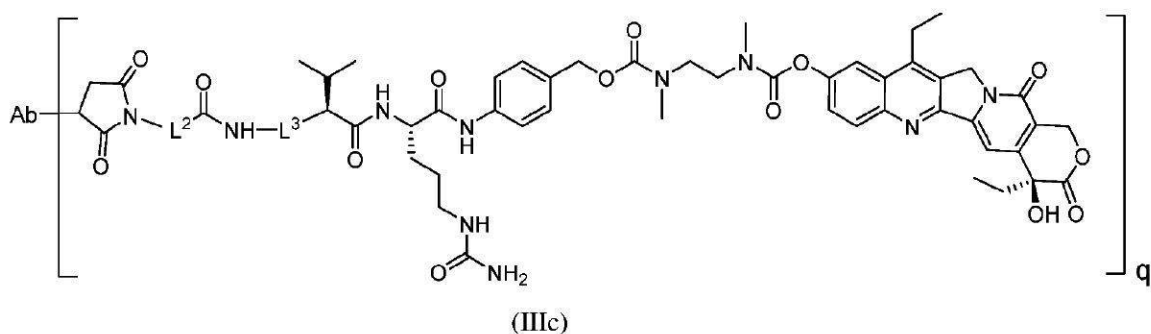
【0164】

いくつかの実施形態では、ADCは、式(IIIc)：

40

50

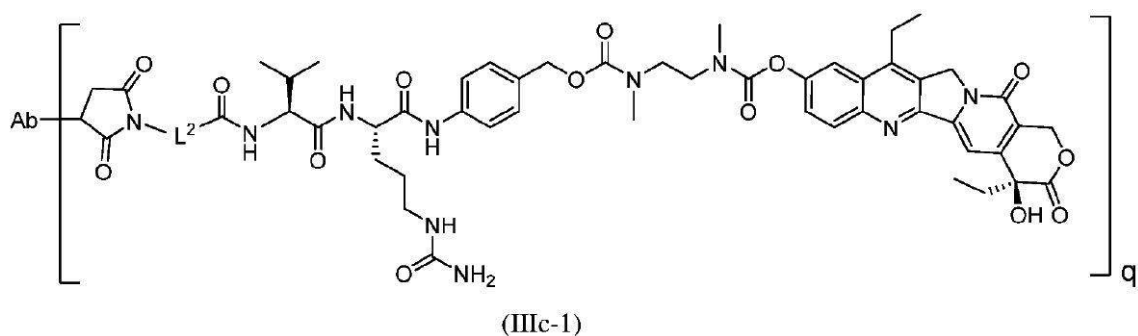
【化 4 4】



10

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、ADCは式(IIIc-1)：

【化 4 5】



20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0165】

本明細書の記載においては、ある部分についてのあらゆる説明、変形、実施形態または態様は、他の部分についてのあらゆる説明、変形、実施形態または態様と、複数の記載のありとあらゆる組み合わせが具体的かつ個別に列挙されているのと同じように組み合わせられてもよいことが理解される。例えば、式(I)の L^1 に関して本明細書で提供されるすべての説明、変形、実施形態、または態様は、 L^2 、 L^3 、 p 、 R^1 、 R^2 、 Ab 、および q のすべての説明、変形、実施形態、または態様と、あらゆる組み合わせが具体的かつ個別に列挙されているのと同じように組み合わせられてもよい。併せて、式(I)のすべての説明、変形、実施形態または態様は、該当する場合、本明細書に詳述されている他の式に等しく適用され、ありとあらゆる説明、変形、実施形態または態様が式について別々かつ個別に列挙されているのと同じように等しく説明されていることも理解される。例えば、式(I)の全ての説明、変形、実施形態、または態様は、該当する場合、式(IIa)、(IIa-1)、(IIb)、(IIb-1)、(IIc)、(IIc-1)、(IIIa)、(IIIa-1)、(IIIb)、(IIIb-1)、(IIIc)、および(IIIc-1)などの本明細書に詳述される式のいずれにも等しく適用され、全ての説明、変形、実施形態、または態様が全ての式についてそれぞれ別々かつ個別に列挙されているのと同じように等しく説明されている。

30

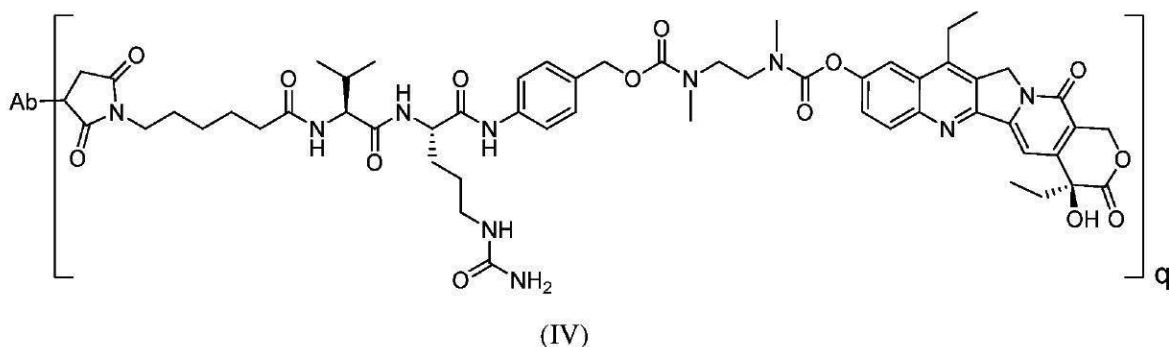
40

【0166】

一実施形態では、ADCは、式(IV)：

50

【化 4 6】



10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

薬物負荷

【0167】

薬物負荷は、 q 、すなわち、式 (I) の分子中の抗 T r o p 2 抗体 1 つ当たりの薬物部分（すなわち、S N - 3 8）の平均数およびその変形によって表される。薬物負荷は、抗体当たり 1 から 2 0 個の薬物部分の範囲であり得る。式 (I) の A D C、およびその任意の実施形態、変形例または態様は、1 から 2 0 の範囲の薬物部分とコンジュゲートした抗体の集合を含む。コンジュゲーション反応から得られた A D C の調製物中の抗体 1 つ当たりの薬物部分の平均数は、質量分析、E L I S A アッセイおよび H P L C などの従来の手段によってキャラクタライズすることができる。併せて、 q に関する A D C の定量的分布を求めることもできる。いくつかの例では、A D C からの q が特定の値である均質な A D C の、他の薬物負荷を伴う分離、精製およびキャラクタライゼーションは、逆相 H P L C または電気泳動などの手段によって達成され得る。

20

【0168】

いくつかの A D C では、 q は抗体上の結合部位の数によって制限され得る。例えば、本明細書に記載の特定の例示的な実施形態にあるように、その結合がシステインチオールである場合、抗体は、ただ 1 つのまたはいくつかのシステインチオール基を有し得え、あるいはリンカーが結合し得るただ 1 つのまたはいくつかの十分に反応性のチオール基を有し得る。特定の実施形態では、A D C に対する平均薬物負荷は、1 から約 1 0、または約 6 から約 8 の範囲である。

30

【0169】

特定の実施形態では、コンジュゲーション反応中に抗体にコンジュゲートされる薬物部分は理論上の最大値よりも少ない。抗体は、例えば、薬物-リンカー中間体またはリンカー-試薬と反応しないリジン残基を含み得る。一般に、抗体は、薬物部分に連結され得る多くの遊離および反応性システインチオール基を含有せず、実際、抗体中のほとんどのシステインチオール残基はジスルフィド架橋として存在する。特定の実施形態では、抗体は、反応性システインチオール基を生成するために、部分的または完全な還元条件下で、ジチオスレイトール (D T T) またはトリカルボニルエチルホスフィン (T C E P) などの還元剤で還元され得る。特定の実施形態では、抗体を変性条件に供して、リジンまたはシステインなどの反応性求核基を露呈させる。A D C の負荷（薬物／抗体比または「d a r」）は、様々な方法で、例えば、(i) 抗体と比較してモル過剰の薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬を制限すること、(i i) コンジュゲーション反応時間または温度を制限すること、および (i i i) システインチオール修飾のための部分的または制限的な還元条件、によって制御され得る。

40

【0170】

2 以上の求核基が薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬と反応する場合、得られる生成物は、抗体に結合した 1 またはそれを超える薬物部分の分布を有する A D C 化合物の混合物であることが理解されるべきである。抗体 1 つ当たりの薬物の平均数は、その混合物から、抗体に特異的かつ薬物に特異的な二重 E L I S A 抗体アッセイによって算出され

50

得る。個々のADC分子は、質量分析によって混合物中で同定され、HPLC、例えば、疎水性相互作用クロマトグラフィーによって分離され得る（例えば、McDonaghら（2006）Prot. Engr. Design&Selection 19（7）：299-307、Hamblettら（2004）Clin. Cancer Res. 10：7063-7070、Hamblett, K. J., ら“Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate,” Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004、Alley, S. C., ら. “Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates,” Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004を参照されたい）。特定の実施形態では、単一の負荷値を有する均一なADCは、電気泳動またはクロマトグラフィーによってコンジュゲーション混合物から単離され得る。

10

抗Trop2抗体

20

i. 例示的な抗体および抗体配列

【0171】

いくつかの実施形態では、ADCは、Trop2に結合する抗体を含む。Trop2は、Trop2発現のベースラインレベルとは無関係に、多くのがん型において上方制御されることが報告されている。本明細書に記載のADC化合物は、抗Trop2抗体を含む。

【0172】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体はシステインを含む。いくつかの実施形態では、抗Trop2抗体は、システイン残基の硫黄を介して薬物に結合する。例示的な抗Trop2抗体としては、米国特許第7,238,785号に開示されているあらゆるhRS7抗体またはその変形が挙げられる。

30

【0173】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるADCは、（a）配列番号1の配列を含むVL HVR1、（b）配列番号2の配列を含むVL HVR2、（c）配列番号3の配列を含むVL HVR3、（d）配列番号4の配列を含むVH HVR1、（e）配列番号5の配列を含むVH HVR2、および（f）配列番号6の配列を含むVH HVR3から選択される少なくとも1、2、3、4、5、または6つのHVRを含む抗Trop2抗体を含む。いくつかの実施形態では、ADCは、（a）配列番号1の配列を含むVL HVR1、（b）配列番号2の配列を含むVL HVR2、（c）配列番号3の配列を含むVL HVR3、（d）配列番号4の配列を含むVH HVR1、（e）配列番号5の配列を含むVH HVR2、および（f）配列番号6の配列を含むVH HVR3から選択される少なくとも1つのHVRを含む抗Trop2抗体を含む。いくつかの実施形態では、ADCは、（a）配列番号1の配列を含むVL HVR1（b）配列番号2の配列を含むVL HVR2、（c）配列番号3の配列を含むVL HVR3、（d）配列番号4の配列を含むVH HVR1、（e）配列番号5の配列を含むVH HVR2、および（f）配列番号6の配列を含むVH HVR3から選択される少なくとも2つのHVRを含む抗Trop2抗体を含む。いくつかの実施形態では、ADCは、（a）配列番号1の配列を含むVL HVR1（b）配列番号2の配列を含むVL HVR2、（c）配列番号3の配列を含むVL HVR3、（d）配列番号4の配列を含むVH HVR1、（e）配列番号5の配列を含むVH HVR2、および（f）配列番号6の配列を含むVH

40

50

10

10

20

30

40

50

では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 3 の配列を含む V L H V R 3 を含む。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 4 の配列を含む V H H V R 1 を含む。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 5 の配列を含む V H H V R 2 を含む。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 6 の配列を含む V H H V R 3 を含む。

【0176】

いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 7 と少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を有する V L を含む。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 7 の配列を有する V L を含む。特定の実施形態では、配列番号 7 と少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % の同一性を有する V L 配列が、参照配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を含むが、その配列を含む抗 T r o p 2 抗体は、T r o p 2 に結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号 7 において合計 1 から 10 個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の実施形態では、配列番号 7 において合計 1 から 5 個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の実施形態では、置換、挿入または欠失は、H V R の外側の領域（すなわち、F R）において生じる。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 7 の V L 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

10

【0177】

いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 8 と少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する配列を有する V H を含む。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 8 の配列を有する V H を含む。特定の実施形態では、配列番号 8 と少なくとも 95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % の同一性を有する V H 配列が、参照配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を含むが、その配列を含む抗 T r o p 2 抗体は、T r o p 2 に結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号 8 において合計 1 から 10 個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の実施形態では、配列番号 8 において合計 1 から 5 個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の実施形態では、置換、挿入または欠失は、H V R の外側の領域（すなわち、F R）において生じる。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、配列番号 8 の V H 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

20

30

【0178】

いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体はカップパ軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は I g G 抗体である。いくつかの態様では、抗 T r o p 2 抗体は I g G 1 抗体である。

【0179】

いくつかの実施形態では、抗 T r o p 2 抗体はヒト T r o p 2 に結合する。いくつかの実施形態では、ヒト T r o p 2 は、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する。

【0180】

上記の実施形態のいずれかにおいて、抗 T r o p 2 抗体はヒト化されている。一実施形態では、抗 T r o p 2 抗体は、上記の実施形態のいずれかの H V R を含み、ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。特定の実施形態では、ヒトアクセプターフレームワークは、ヒト V L カップ 1 (V L K I) フレームワークおよび／または V H フレームワーク V H I E I である。いくつかの実施形態では、ヒト化抗 T r o p 2 抗体は、(a) 配列番号 1 の配列を含む V L H V R 1、(b) 配列番号 2 の配列を含む V L H V R 2、(c) 配列番号 3 の配列を含む V L H V R 3、(d) 配列番号 4 の配列を含む V H H V R 1、(e) 配列番号 5 の配列を含む V H H V R 2、および (f) 配列番号 6 の配列を含む V H H V R 3 を含む。

40

【0181】

50

いくつかの実施形態では、抗Trop2抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体などのモノクローナル抗体である。一実施形態では、抗Trop2抗体は、抗体フラグメント、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、またはF(ab')₂フラグメントである。別の実施形態では、抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、IgG1抗体または本明細書で定義される他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

ii. 抗体親和性

【0182】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、10 nM以下、または5 nM以下、または4 nM以下、または3 nM以下、または2 nM以下の親和性でヒトTrop2に結合する。いくつかの実施形態では、抗Trop2抗体は、0.0001 nM以上、または0.001 nM以上、または0.01 nM以上の親和性でヒトTrop2に結合する。当業者に公知の標準的なアッセイを使用して、結合親和性を調べることができる。例えば、抗Trop2抗体が「10 nM以下、または5 nM以下、または4 nM以下、または3 nM以下、または2 nM以下の親和性で結合する」かどうかは、非線形カーブフィッティングプログラム（例えば、Munsonら、Anal Biochem, 107:220-239, 1980を参照されたい）を利用する標準的なスキャッチャード解析を使用して調べることができる。

【0183】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、1 μM以下、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下、0.1 nM以下、0.01 nM以下または0.001 nM以下の解離定数（K_d）を有し、必要に応じて、10⁻¹³ M以上である（例えば、10⁻⁸ Mまたはそれ未満、例えば、10⁻⁸ Mから10⁻¹³ Mから、例えば、10⁻⁹ Mから10⁻¹³ M）。

【0184】

いくつかの実施形態では、K_dは、下記のアッセイによって記載される、目的とする抗体のFabバージョンおよびその抗原を用いて行われる放射性標識抗原結合アッセイ（RIA）によって測定される。抗原に対するFabの溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定系列の存在下、最小濃度の（¹²⁵I）標識抗原でFabを平衡化し、次いで結合抗原を抗Fab抗体被覆プレートで捕捉することによって測定される（例えば、Chenら、J. Mol. Biol. 293:865-881（1999）を参照されたい）。アッセイの条件を確立するために、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）を、50 mMの炭酸ナトリウム（pH 9.6）中5 μg/mlの捕捉抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コーティングし、続いてPBS中2%（w/v）ウシ血清アルブミンを用いて室温（約23℃）で2から5時間ブロックする。非吸着プレート（Nunc No. 269620）において、100 pMまたは26 pMの [¹²⁵I] 抗原を（例えば、Prestaら、Cancer Res. 57:4593-4599（1997）における抗VEGF抗体Fab-12の評価と一致する）目的のFabの段階希釈物と混合する。次いで、目的のFabを一晩インキュベートする。ただし、平衡に達することを確実にするために、インキュベーションをより長い期間（例えば、最大約65時間）継続することができる。その後、混合物を室温でのインキュベーション（例えば、1時間）のために捕捉プレートに移す。次いで、溶液を除去し、プレートをPBS中の0.1%ポリソルベート20（TWEEN（登録商標）-20）で8回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μL/ウェルのシンチラント（MICROSCINT-20（商標、Packard））を添加し、プレートをTOPCOUNT（商標）ガンマカウンター（Packard）で10分間カウントする。最大結合の20%以下を与える各Fabの濃度を、競合結合アッセイにおける使用のために選択する。

【0185】

別の実施形態によれば、K_dは、BIACORE（登録商標）-2000またはBIACORE（登録商標）-3000（BIAcore, Inc.、ピスカタウェイ、ニュージャージー州）を用いる表面プラズモン共鳴アッセイを使用し、約10レスポンスユニッ

10

20

30

40

50

ト (RU) の固定化抗原 CM5 チップを用いて 25℃ で測定する。端的に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ (CM5、BIA CORE Inc.) を、供給元の指示に従って、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩 (EDC) および N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) で活性化する。抗原を 10 mM の酢酸ナトリウム (pH 4.8) で 5 µg/mL (約 0.2 µM) に希釈した後、5 µL/分の流速で注入して、約 10 レスポンスユニット (RU) のカップリングされたタンパク質を得る。抗原の注入に続いて、1 M のエタノールアミンを注入して未反応基をブロックする。動態測定のために、Fab の 2 倍段階希釈物 (0.78 nM から 500 nM) を、0.05% ポリソルベート 20 (TWEEN (登録商標)-20) 界面活性剤 (PBST) を含む PBS 中に 25℃ で約 25 µL/分の流速で注入する。会合速度 (kon) および解離速度 (koff) は、単純な 1 対 1 ラングミュア結合モデル (BIA CORE (登録商標) 評価ソフトウェアバージョン 3.2) を使用して、会合および解離のセンサーグラムを同時にフィッティングすることによって算出する。平衡解離定数 (Kd) は、比 koff/kon として算出する。例えば、Chen ら、J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999) を参照されたい。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによるオンレートが $106 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を超える場合、オンレートは、増加する抗原濃度の存在下、攪拌キュベットを備えたストップフロー・アドバンスト分光光度計 (Aviv Instruments) または 8000 シリーズ SLM-AMINCO (商標) 分光光度計 (Thermo Spectronic) などの分光計で測定される、PBS (pH 7.2) 中の 20 nM の抗抗原抗体 (Fab 形態) の 25℃ における蛍光発光強度 (励起 = 295 nm、発光 = 340 nm、16 nm バンドパス) の増加または減少を測定する蛍光消光技術を使用することによって求めることができる。

iii. 抗体フラグメント

【0186】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗 Trop 2 抗体は抗体フラグメントである。抗体フラグメントとしては、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)₂、Fv および scFv フラグメント、ならびに以下に記載される他のフラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。特定の抗体フラグメントの総説については、Hudson ら、Nat. Med. 9: 129-134 (2003) を参照されたい。scFv フラグメントの総説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994) を参照されたく、併せて、国際公開第 93/16185 号、米国特許第 5,571,894 号および同第 5,587,458 号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有する Fab および F(ab')₂ フラグメントの議論については、米国特許第 5,869,046 号を参照されたい。

【0187】

ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る 2 つの抗原結合部位を有する抗体フラグメントである。例えば、欧州特許第 404,097 号、国際公開第 1993/01161 号、Hudson ら、Nat. Med. 9: 129-134 (2003)、および Hollinger ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993) を参照されたい。トリアボディおよびテトラボディもまた、Hudson ら、Nat. Med. 9: 129-134 (2003) に記載されている。

【0188】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部もしくは一部または軽鎖可変ドメインの全部もしくは一部を含む抗体フラグメントである。特定の実施形態では、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体 (Domanthis, Inc.、ウォルサム、マサチューセッツ州、例えば、米国特許第 6,248,516 号を参照されたい) である。

【0189】

抗体フラグメントは、本明細書に記載されるように、限定するものではないが、インタクト抗体のタンパク質分解消化ならびに組換え宿主細胞（例えば、大腸菌またはファージ）による産生などの様々な技術によって作製することができる。

i v. キメラ抗体およびヒト化抗体

【0190】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体はキメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号、およびMorrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルなどの非ヒト霊長類に由来する可変領域）およびヒト定常領域を含む。さらなる例では、キメラ抗体は、親抗体のクラスまたはサブクラスから変更された「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、その抗原結合フラグメントが含まれる。

【0191】

特定の実施形態では、キメラ抗体はヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低下させるためにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば、CDR（またはその一部）が非ヒト抗体に由来し、FR（またはその一部）がヒト抗体配列に由来する1またはそれを超える可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、必要に応じて、ヒト定常領域の少なくとも一部を含むこともある。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体中のいくつかのFR残基は、例えば、抗体の特異性または親和性を回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

【0192】

ヒト化抗体およびその作製方法は、例えば、Almagro and Franssón, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)に概説されており、例えば、Riechmannら、Nature 332:323-329 (1988)、Queenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)、米国特許第5,821,337号、同第7,527,791号、同第6,982,321号および同第7,087,409号、Kashmiriら、Methods 36:25-34 (2005) SDR (a-CDR) グラフト化を記載)、Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)（「リサーフェシング」を記載）、Dall'Acquaら、Methods 36:43-60 (2005)（「FRシャッフリング」を記載）、ならびに、Osbourneら、Methods 36:61-68 (2005)およびKlimkaら、Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)（FRシャッフリングに対する「ガイド選択」アプローチを記載）にさらに記載されている。

【0193】

ヒト化のために使用され得るヒトフレームワーク領域としては、限定するものではないが、「ベストフィット」法を使用して選択されたフレームワーク領域（例えば、Simsら、J. Immunol. 151:2296 (1993)を参照されたい）、軽鎖可変領域または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、CarterらProc. Natl. Acad. Sci. 米国、89:4285 (1992)、およびPrestaら、J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照されたい）、ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖系列フレームワーク領域（例えば、Almagro and Franssón, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照されたい）、および、FRライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Bacaら、J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997)およびRosokら、J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)を参照されたい）が挙げられる。

v. ヒト抗体

【0194】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体はヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を使用して産生することができる。ヒト抗体は、一般に、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74 (2001)、およびLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)に記載されている。

【0195】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答して、インタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製され得る。そのような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、染色体外に存在するか、または動物の染色体にランダムに組み込まれた、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部を含む。そのようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)を参照されたい。併せて、例えば、XENOMOUSE (商標) 技術を記載している米国特許第6,075,181号および同第6,150,584号、HuMab (登録商標) 技術を記載している米国特許第5,770,429号、K-MOUSE (登録商標) 技術を記載している米国特許第7,041,870号、およびVelociMouse (登録商標) 技術を記載している米国特許出願公開第2007/0061900号も参照されたい。そのような動物によって生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによってさらに改変され得る。

【0196】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体を産生するためのヒト骨髄腫およびマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984)、Brodeurら、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)、およびBoernerら、J. Immunol., 147:86 (1991)を参照されたい)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を用いて生成されたヒト抗体もまた、Liら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)に記載されている。さらなる方法としては、例えば、米国特許第7,189,826号 (ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載) およびNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (ヒト-ヒトハイブリドーマを記載) に記載されている方法が挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術 (トリオーマ技術) はまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) およびVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)に記載されている。

【0197】

ヒト抗体はまた、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成され得る。次いで、そのような可変ドメイン配列を所望のヒト定常ドメインと組み合わせることができる。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための方法を以下に記載する。

vi. ライブラリー由来抗体

【0198】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、抗体ライブラリーに由来する。抗体は、所望の1または複数の活性を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリーを作製し、所望の結合特性を有する抗体についてそのようなライブラリーをスクリーニングするための様々な方法が当技術分野で公知である。そのような方法は、例えば、Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brienら、ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に概説されており、さらに、例えば、McCaffertyら、Nature 348:552-554、Clacksonら、Nature 352:624-628 (1991)、Marksら、J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992)、Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)、Sidhuら、J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004)、Leeら、J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004)、Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004)、およびLeeら、J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)に記載されている。

10

【0199】

特定のファージディスプレイ法では、VHおよびVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローン化され、ファージライブラリーでランダムに組み換えられ、その後、Winterら、Ann. Rev. Immunol., 12:433-455 (1994)に記載されているように、抗原結合ファージについてスクリーニングされる。ファージは、典型的には、抗体フラグメントを一本鎖Fv(scFv)フラグメントまたはFabフラグメントのいずれかとして提示する。免疫化された供給源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要なしに免疫原に対する高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffithsら、EMBOJ, 12:725-734 (1993)に記載されているように、免疫化することなく、ナイーブレパートリーをクローニングして(例えば、ヒト由来)、広範囲の非自己抗原および自己抗原に対する単一の抗体源を提供することができる。最後に、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388 (1992)に説明されているように、幹細胞から再編成されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して、高可変CDR3領域をコードし、インビトロで再編成を達成することによって、ナイーブライブラリーを合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリーを記載する特許公報としては、例えば、米国特許第5,750,373号、ならびに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号および同第2009/0002360号が挙げられる。

20

30

【0200】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体または抗体フラグメントは、本明細書ではヒト抗体またはヒト抗体フラグメントと見なされる。

40

vii. 多重特異性抗体

【0201】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。特定の実施形態では、結合特異性の一方がTrop2に対するものであり、他方が任意の他の抗原に対するものである。特定の実施形態では、二重特異性抗体は、Trop2の2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体はまた、細胞毒をTrop2を発現する細胞に局在化させるために使用され

50

得る。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体フラグメントとして調製することができる。

【0202】

多重特異性抗体を作製する方法としては、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組換え共発現 (Milstein and Cuelllo, Nature 305: 537 (1983) を参照されたい)、国際公開第93/08829号、および Trauneckerら、EMBOJ. 10: 3655 (1991)、および「ノブ・イン・ホール」技術 (例えば、米国特許第5,731,168号を参照されたい) が挙げられるが、これらに限定されない。多重特異性抗体はまた、抗体Fc-ヘテロ二量体分子を作製するための静電ステアリング効果を操作することによって (国際公開第2009/089004号)、2またはそれを超える抗体またはフラグメントを架橋することによって (例えば、米国特許第4,676,980号、および Brennanら、Science, 229: 81 (1985) を参照されたい)、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生することによって (例えば、Kostelnyら、J. Immunol., 148 (5): 1547-1553 (1992) を参照されたい)、「ダイアボディ」技術を使用して二重特異性抗体フラグメントを作製することによって (例えば、Hollingerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993) を参照されたい)、そして、一本鎖Fv (sFv) 二量体を使用することによって (例えば、Gruberら、J. Immunol., 152: 5368 (1994) を参照されたい)、さらに、例えば、Tuttlら J. Immunol. 147: 60 (1991) に記載されているように、三重特異性抗体を調製することによって、作製し得る。

【0203】

「オクトパス抗体」などの、3またはそれを超える機能的抗原結合部位を有する操作された抗体も本明細書に含まれる (例えば、米国特許出願公開第2006/0025576号を参照されたい)。

【0204】

本明細書の抗体またはフラグメントはまた、Trop2ならびに別の異なる抗原 (例えば、米国特許出願公開第2008/0069820号を参照されたい) に結合する抗原結合部位を含む「二重作用性FAb」または「DAF」を含む。

viii. 抗体変異体

【0205】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性および／または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって調製され得る。そのような修飾としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基の欠失および／または挿入および／または置換が挙げられる。最終構築物が所望の特徴、例えば、抗原結合を有する限り、最終構築物に到達するように、欠失、挿入および置換の任意の組み合わせを行うことができる。

a) 置換、挿入および欠失変異体

【0206】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、1またはそれを超えるアミノ酸置換を有する。置換突然変異誘発のための関心部位としては、HVRおよびFRが挙げられる。保存的置換を「好ましい置換」という見出しの下で表1に示す。より実質的な変化を「例示的な置換」という見出しの下で表1に示し、アミノ酸側鎖クラスを参照して以下にさらに記載する。アミノ酸置換を目的の抗体に導入し、所望の活性、例えば、保持された／改善された抗原結合、低下した免疫原性、または改善されたADCCもしくはCDCについてスクリーニングすることができる。

表1 例示的なアミノ酸置換

10

20

30

40

50

【表 1】

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

アミノ酸は、以下の一般的な側鎖特性に従って分類され得る。

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln
- (3) 酸性：Asp、Glu
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg
- (5) 鎖の配向に影響を及ぼす残基：Gly、Pro
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【0207】

置換変異体の1つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の1またはそれを超える超可変領域残基を置換することを含む。一般に、さらなる実験のために選択された得られた変異体は、親抗体と比較して特定の生物学的特性（例えば、親和性の増加、免疫原性の低下）に改変（例えば、改良）を有し、かつ／または親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持する。例示的な置換変異体は親和性成熟抗体であり、ファージディスプレイに基づく親和性成熟技術、例えば、本明細書に記載される技術を使用して簡便に生成することができる。端的に言えば、1またはそれを超えるHVR残基を変異させ、変異体抗体をファージ上に提示し、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）について

スクリーニングする。

【0208】

例えば、抗体親和性を改善するために、HVRを改変（例えば、置換）してもよい。そのような改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を受けるコドン（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照されたい）、および／またはSDR（a-CDR）によってコードされる残基において行われ得、得られた変異体VHまたはVLは結合親和性について試験される。二次ライブラリーの構築および二次ライブラリーからの再選択による親和性成熟は、例えば、Hoogenboomら、Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brienら、ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様性は、様々な方法（例えば、エラープローンPCR、鎖シャッフリング、またはオリゴヌクレオチド特異的突然変異誘発）のうちのいずれかによって成熟のために選択された可変遺伝子に導入される。次いで、二次ライブラリーが作成される。次いで、そのライブラリーをスクリーニングして、所望の親和性を有する任意の抗体変異体を同定する。多様性を導入する別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、一度に4～6個の残基）をランダム化するHVR指向アプローチを含む。抗原結合に関与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発またはモデリングを使用して特異的に同定され得る。特にCDR-H3およびCDR-L3がしばしば標的とされる。

10

20

【0209】

特定の実施形態では、置換、挿入または欠失は、そのような変化が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、1またはそれを超えるHVR内で起こり得る。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的変化（例えば、本明細書で提供される保存的置換）をHVRにおいて行うことができる。そのような変更は、HVR「ホットスポット」またはSDRの外部であってもよい。先に提示された変異体VHおよびVL配列の特定の実施形態では、各HVRは変化していないか、または1、2もしくは3個以下のアミノ酸置換を含む。

【0210】

突然変異誘発の標的となり得る抗体の残基または領域を同定するための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085に記載されているように「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、抗体と抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを調べるために、標的残基（例えば、arg、asp、his、lys、およびgluなどの荷電残基）の残基または群が同定され、中性または負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）で置き換えられる。さらなる置換を、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸位置に導入することができる。別法として、または、加えて、抗原-抗体複合体の結晶構造を使用して、抗体と抗原との間の接触点を特定する。そのような接触残基および隣接残基は、置換の候補として標的化または排除され得る。変異体をスクリーニングして、所望の特性を含むかどうかを調べることができる。

30

40

【0211】

アミノ酸配列挿入には、1つの残基から100またはそれを超える残基を含有するポリペプチドに及ぶ長さのアミノ末端および／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入変異体としては、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えばADEPT用）またはポリペプチドに対する抗体のN末端またはC末端への融合が含まれる。

b) グリコシル化変異体

【0212】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、抗体がグリコシル化

50

される程度を増加または減少させるように変更される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1またはそれを超えるグリコシル化部位が作成または除去されるようにアミノ酸配列を変更することによって都合よく達成され得る。

【0213】

抗体がFc領域を含む場合、それに結合した炭水化物は変化し得る。哺乳動物細胞によって産生される自然抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN結合によって一般に結合している分岐型の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wrightら、TIBTECH15:26-32(1997)を参照されたい。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトースおよびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」のGlcNAcに結合したフコースを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体中のオリゴ糖の修飾は、特定の改善された特性を有する抗体変異体を作製するために行われ得る。

【0214】

一実施形態では、Fc領域に（直接的または間接的に）結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体変異体が提供される。例えば、そのような抗体中のフコースの量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、または20%から40%であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI-TOF質量分析によって測定した場合のAsn297に結合した全ての糖鎖（例えば、複合、ハイブリッドおよび高マンノース構造）の合計に対する、Asn297における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって求める。Asn297は、Fc領域の約297位（Fc領域残基のEu番号付け）に位置するアスパラギン残基を指すが、Asn297はまた、抗体におけるわずかな配列変異に起因して、位置297の約±3アミノ酸上流または下流に、すなわち、位置294と位置300との間に位置する場合がある。そのようなフコシル化変異体は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号（Presta, L.）、米国特許出願公開第2004/0093621号（協和発酵工業（株））を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異体に関連する刊行物の例としては、米国特許出願公開第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国特許出願公開第2003/0115614号、米国特許出願公開第2002/0164328号、米国特許出願公開第2004/0093621号、米国特許出願公開第2004/0132140号、米国特許出願公開第2004/0110704号、米国特許出願公開第2004/0110282号、米国特許出願公開第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazakiら、J. Mol. Biol. 336:1239-1249(2004)、Yamane-Ohnukiら、Biotech. Bioeng. 87:614(2004)が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損したLec13CHO細胞（Ripkaら、Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545(1986)）、米国特許出願公開第2003/0157108号、Presta, L.、および国際公開第2004/056312号、Adamsら、特に実施例11）、および、ノックアウト細胞株、例えば、アルファ-1,6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞（例えば、Yamane-Ohnukiら、Biotech. Bioeng. 87:614(2004)、Kanda, Y.ら、Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688(2006)、および国際公開第2003/085107号）が挙げられる。

【0215】

抗体変異体は、さらに、例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二等分されている二等分オリゴ糖を伴って提供される。そのような抗体変異

体は、フコシル化が減少し、かつ／またはADCC機能が改善し得る。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号(Jean-Mairetら)、米国特許第6,602,684号(Umanaら)、および米国特許出願公開第2005/0123546号(Umanaら)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖中に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体変異体も提供される。そのような抗体変異体は、改善されたCDC機能を有し得る。そのような抗体変異体は、例えば、国際公開第1997/30087号(Patelら)、国際公開第1998/58964号(Raju, S.)、および国際公開第1999/22764号(Raju, S.)に記載されている。

c) Fc領域変異体

10

【0216】

特定の実施形態では、1またはそれを超えるアミノ酸修飾を本明細書で提供される抗Trop2抗体のFc領域に導入し、それによってFc領域変異体を生成することができる。Fc領域変異体は、1またはそれを超えるアミノ酸位置にアミノ酸修飾(例えば、置換)を含むヒトFc領域配列(例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4 Fc領域)を含み得る。

【0217】

特定の実施形態では、本発明は、すべてではないがいくつかのエフェクター機能を有する抗体変異体を企図し、これにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、特定のエフェクター機能(補体およびADCCなど)が不要または有害である用途にとって望ましい候補となる。インビトロおよび／またはインビボ細胞傷害性アッセイを行ってCDCおよび／またはADCC活性の減少／枯渇を確認することができる。例えば、Fc受容体(FcR)結合アッセイを実施して、抗体がFcγR結合を欠く(したがって、おそらくはADCC活性を欠く)が、FcRn結合能を保持することを確実にすることができる。ADCCを媒介するための初代細胞であるNK細胞はFcγRIIのみを発現するのに対して、単球はFcγRI、FcγRIIおよびFcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991)の464頁の表3にまとめられている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号(例えば、Hellstrom, I.ら、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063(1986)を参照されたい)およびHellstrom, Iら、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502(1985)、ならびに、同第5,821,337号(Bruggemann, M.ら、J. Exp. Med. 166:1351-1361(1987)を参照されたい)に記載されている。別法として、非放射性アッセイ法を使用してもよい(例えば、フローサイトメトリーのためのACTI(商標)非放射性細胞傷害性アッセイ(Cell Technology, Inc.、マウンテンビュー、カリフォルニア州、およびCytoTox 96(登録商標)非放射性細胞傷害性アッセイ(Promega、マディソン、ウィスコンシン州)を参照されたい。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が挙げられる。別法として、または、加えて、目的とする分子のADCC活を、インビボにおいて、例えば、Clynesら、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656(1998)などに開示されている動物モデルにおいて評価することができる。抗体がC1qに結合することができず、それゆえにCDC活性を欠くことを確認するために、C1q結合アッセイを行うこともできる。例えば、国際公開第2006/029879号および国際公開第2005/100402号のC1qおよびC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを実施することができる(例えば、Gazzano-Santoroら、Immunol. Methods 202:163(1996)、Cragg, M. S.ら、Blood 101:1045-1052(2003)、および、Cragg, M. S. and M. J. Gle

20

30

40

50

nnie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照されたい)。FcRn結合およびインビボクリアランス／半減期の決定も、当技術分野で公知の方法を用いて行うことができる(例えば、Petkova, S. B.ら、Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769(2006)を参照されたい)。

【0218】

エフェクター機能が低下した抗体としては、Fc領域残基238、265、269、270、297、327および329のうちの1またはそれを超えるものが置換された抗体が挙げられる(米国特許第6,737,056号)。そのようなFc変異体としては、残基265および残基297がアラニンに置換されたいわゆる「DANA」Fc変異体(米国特許第7,332,581号)などの、アミノ酸位置265、269、270、297および327のうちの2またはそれを超える位置での置換を有するFc変異体が挙げられる。

10

【0219】

FcRへの結合が改善または減少した特定の抗体変異体が記載されている。(例えば、米国特許第6,737,056号、国際公開第2004/056312号、およびShieldsら、J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604(2001)を参照されたい)。

【0220】

半減期が延長され、母体IgGの胎児への移行を担う新生児型Fc受容体(FcRn)への結合が改善された抗体(Guyerら、J. Immunol. 117:587(1976)およびKimら、J. Immunol. 24:249(1994))は、米国特許出願公開第2005/0014934号(Hintonら)に記載されている。これらの抗体は、Fc領域とFcRnとの結合を改善する1またはそれを超える置換を有するFc領域を含む。そのようなFc変異体としては、Fc領域残基238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424または434のうちの1またはそれを超える残基における置換を有する変異体、例えば、Fc領域残基434の置換を有する変異体(米国特許第7,371,826号)が挙げられる。

20

【0221】

併せて、Duncan&Winter, Nature 322:738-40(1988)、米国特許第5,648,260号、米国特許第5,624,821号、およびFc領域変異体の他の例に関する国際公開第94/29351号を参照されたい。

30

ix. 抗体誘導体

【0222】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗Trop2抗体は、当技術分野で公知であり容易に入手可能な追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾され得る。抗体の誘導体化に適した部分としては、水溶性ポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール(PEG)、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸(ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか)、およびデキストランまたはポリ(n-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセロール)、ポリビニルアルコール、ならびに、それらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性のために、製造において利点を有し得る。このポリマーは、任意の分子量であってもよく、分岐していても分岐していなくてもよい。抗体に結合するポリマーの数は様々であり得、2つ以上のポリマーが結合する場合、それらは同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／また

40

50

は種類は、限定するものではないが、改善される抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が定義された条件下で治療に使用されるかどうかなどの考慮事項に基づいて決定することができる。

x. 組換え方法および組成物

【0223】

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているような、組換え方法および組成物を使用して産生され得る。当業者は、抗体発現のための好適な宿主細胞に精通しているであろう。例示的な宿主細胞としては、真核細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ球系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）が挙げられる。

10

【0224】

抗Trop2抗体の組換え産生のために、例えば、上記のような抗体をコードする核酸を単離し、宿主細胞におけるさらなるクローニングおよび／または発現のために1またはそれを超えるベクターに挿入する。そのような核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離し、配列決定し得る。

【0225】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に適した宿主細胞としては、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞が挙げられる。例えば、抗体は、特にグリコシル化およびFcエフェクター機能が必要でない場合、細菌において産生され得る。細菌における抗体フラグメントおよびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号および同第5,840,523号を参照されたい。（併せて、大腸菌における抗体フラグメントの発現を記載しているCharlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo編、Humana Press、トトワ、ニュージャージー州、2003)、pp. 245-254も参照されたい）。発現後、抗体は、細菌細胞ペーストから可溶性画分に単離され得、さらに精製され得る。

20

【0226】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物は、グリコシル化経路が「ヒト化」された真菌および酵母株などの、抗体をコードするベクターのための適切なクローニングまたは発現宿主であり、部分的または完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす。Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)、および、Lira, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)を参照されたい。

30

【0227】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物および脊椎動物）に由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物細胞および昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞、特にスポドプテラ・フルギペルダ（*Spodoptera frugiperda*）細胞のトランスフェクションに関連して使用され得る多数のバキュロウイルス株が同定されている。

40

【0228】

植物細胞培養物を宿主として利用することもできる。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号および同第6,417,429号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES（商標）技術が記載されている）を参照されたい。

【0229】

脊椎動物細胞も宿主として使用され得る。例えば、懸濁状態で成長するように適合された哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40（COS-7）によって形質転換されたサル腎臓CV1株、ヒト胎児腎臓系統（293、または、例えば、Grahamら、J. Gen Virol. 36:59 (1977)に記

50

載されている293細胞)、ベビーハムスター腎臓細胞(BHK)、マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251(1980)に記載されているTM4細胞)、サル腎臓細胞(CV1)、アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞(HELA)、イヌ腎臓細胞(MDCK、バッファローラット肝細胞(BRL3A)、ヒト肺細胞(W138)、ヒト肝細胞(HepG2)、マウス乳腺腫瘍(MMT060562)、例えば、Matherら、Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68(1982)に記載されているTRI細胞、MRC5細胞、およびFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR-CHO細胞(Urlaubら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980))をなどのチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、および骨髄腫細胞株、例えば、Y0、NS0およびSp2/0が挙げられる。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology、第248巻(B. K. C. Lo編、Humana Press、トトワ、ニュージャージー州)、255~268頁(2003)を参照されたい。

10

xi. アッセイ

【0230】

本明細書に記載の抗Trop2抗体は、当技術分野で公知の様々なアッセイによって、それらの物理的／化学的特性および／または生物学的活性について同定、スクリーニング、またはキャラクタライズすることができる。

20

【0231】

一態様では、抗体を、例えば、ELISA、BIACore(登録商標)、FACSまたはウエスタンブロットなどの公知の方法によって、その抗原結合活性について試験する。

【0232】

別の態様では、競合アッセイを使用して、Trop2への結合について本明細書に記載の抗体のいずれかと競合する抗体を同定することができる。特定の実施形態では、そのような競合抗体は、本明細書に記載される抗体が結合するのと同じエピトープ(例えば、線状エピトープまたは立体配座エピトープ)に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法は、Morris(1996) "Epitope Mapping Protocols" in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press、トトワ、ニュージャージー州)に示されている。

30

【0233】

例示的な競合アッセイでは、固定化されたTrop2を、Trop2に結合する第1の標識抗体と、Trop2への結合について第1の抗体と競合する能力について試験されている第2の非標識抗体とを含む溶液中でインキュベートする。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在し得る。対照として、固定化Trop2を、第1の標識抗体を含むが第2の非標識抗体を含まない溶液中でインキュベートする。Trop2への第1の抗体の結合を許容する条件下でのインキュベーション後、過剰の未結合抗体を除去し、固定化されたTrop2に関連する標識の量を測定する。固定化されたTrop2に関連する標識の量が対照試料と比較して試験試料において実質的に減少している場合、それは、第2の抗体がTrop2への結合について第1の抗体と競合していることを示す。特定の実施形態では、固定化されたTrop2は、細胞の表面上に、またはその表面上にTrop2を発現する細胞から得られる膜調製物中に存在する。Harlow and Lane(1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch14 (Cold Spring Harbor Laboratory、コールド スプリングハーバー、ニューヨーク州)を参照されたい。

40

II. 抗体薬物複合体を調製する方法

【0234】

50

式 (I) の A D C は、有機化学反応、条件、および当業者に公知の試薬を使用するいくつかの経路、すなわち、(1) 抗体の求核基と二価リンカー試薬 (L) とを共有結合を介して反応させて A b - L を形成した後、薬物部分 (すなわち、S N - 38 部分) と反応させること、および、(2) 薬物部分 D (すなわち、S N - 38 部分) の求核基と二価リンカー試薬 (L) とを共有結合を介して反応させて D - L を形成した後、抗体の求核基と反応させること、によって調製することができる。後者の経路を介して A D C を調製するための例示的な方法は、米国特許第 7, 498, 298 号に記載されている。

【0235】

抗体上の求核基としては、(i) N 末端アミン基、(ii) 側鎖アミン基、例えば、リジン、(iii) 側鎖チオール基、例えば、システイン、および (iv) 抗体がグリコシル化されている糖ヒドロキシル基またはアミノ基が挙げられるが、これらに限定されない。アミン基、チオール基、およびヒドロキシル基は求核性であり、(i) N H S エステル、H O B t エステル、ハロホルメート、および酸ハロゲン化物などの活性エステル、(ii) ハロアセトアミドなどのハロゲン化アルキルおよびハロゲン化ベンジル、および (iii) アルデヒド基、ケトン基、カルボキシル基およびマレイミド基、などのリンカー部分およびリンカー試薬上の求電子基と共有結合を形成するように反応することができる。N H S エステルに加えて、細胞表面リジンへのコンジュゲーションに使用される官能基としては、非限定的な例として、ペンタフルオロフェニル、テトラフルオロフェニル、テトラフルオロベンゼンスルホネート、ニトロフェニル、イソシアネート、イソチオシアネートおよびスルホニルクロリドが挙げられる。

【0236】

特定の抗体は、還元性鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、抗体が完全にまたは部分的に還元されるように、D T T (ジチオスレイトール) またはトリカルボニルエチルホスフィン (T C E P) などの還元剤での処置によってリンカー試薬とのコンジュゲーションに対して反応性にされ得る。したがって、各システイン架橋は、理論的には、2つの反応性チオール求核試薬を形成する。例えば、リジン残基を 2-イミノチオラン (T r a u t の試薬) と反応させてアミンをチオールに変換することによるリジン残基の修飾を介して、追加の求核基を抗体に導入することができる。反応性チオール基はまた、1、2、3、4 またはそれを超えるシステイン残基を導入することによって (例えば、1 またはそれを超える非天然システインアミノ酸残基を含む変異体抗体を調製することによって) 抗体に導入され得る。反応性チオールと反応することができる官能基の非限定的な例としては、マレイミド、ピリジルジチオ、ブロモアセチル、ヨードアセチル、ブロモベンジル、ヨードベンジルおよび 4- (シアノエチニル) ベンゾイルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0237】

本明細書に記載される A D C はまた、抗体上の求電子基、例えば、アルデヒド基またはケトンカルボニル基と、リンカー試薬または薬物上の求核基との反応によって生成され得る。リンカー試薬上の有用な求核基としては、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレートおよびアリールヒドラジドが挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、抗体は、リンカー試薬または薬物上の求核置換基と反応することができる求電子部分を導入するように修飾される。別の実施形態では、グリコシル化抗体の糖は、例えば、過ヨウ素酸塩酸化試薬で酸化されて、リンカー試薬または薬物部分のアミン基と反応し得るアルデヒドまたはケトン基を形成し得る。得られたイミンシッフ塩基は、安定な結合を形成し得るか、または、例えば、水素化ホウ素試薬によって還元されて安定なアミン結合を形成し得る。一実施形態では、グリコシル化抗体の炭水化物部分とガラクトースオキシダーゼまたはメタ過ヨウ素酸ナトリウムのいずれかとの反応は、薬物上の適切な基と反応することができる抗体中のカルボニル (アルデヒドおよびケトン) 基をもたらし得る (H e r m a n s o n、バイオコンジュゲート技術)。別の実施形態では、N 末端セリンまたはトレオニン残基を含有する抗体は、メタ過ヨウ素酸ナトリウムと反応し、第 1 のアミノ酸の代わりにアルデヒドを産生すること

ができる (Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3: 138~146、および米国特許第5362852号)。そのようなアルデヒドは、薬物部分またはリンカー求核剤と反応させることができる。

【0238】

薬物部分上の例示的な求核基としては、反応してリンカー部分上の求電子基と共有結合を形成することができる、アミン基、チオール基、ヒドロキシル基、ヒドラジド基、オキシム基、ヒドラジン基、チオセミカルバゾン基、ヒドラジンカルボキシレート基、およびアリールヒドラジド基が挙げられ、(i) NHSエステル、HOBtエステル、ハロホルメート、および酸ハライドなどの活性エステル、(ii) ハロアセトアミドなどのハロゲン化アルキルおよびハロゲン化ベンジル、ならびに、(iii) アルデヒド基、ケトン基、カルボキシル基およびマレイミド基が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0239】

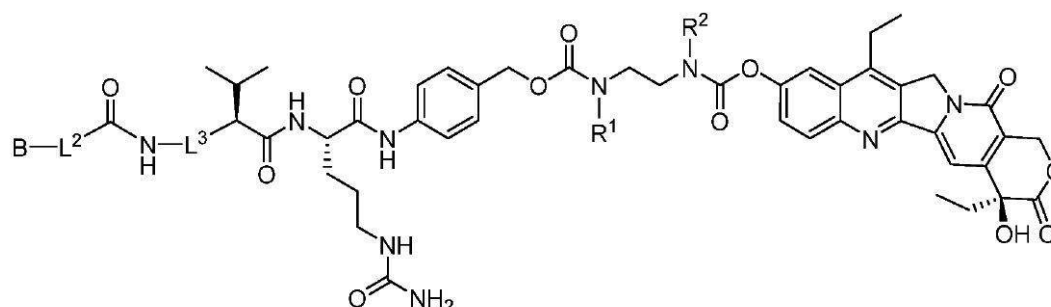
さらに別の実施形態では、抗体は、抗体-受容体コンジュゲートを患者に投与する腫瘍プレタargeティングにおける利用のために「受容体」(ストレプトアビジンなど)にコンジュゲートされ得、続いて、清澄剤を使用して未結合コンジュゲートが血行から除去され、次いで、細胞毒(例えば、薬物または放射性ヌクレオチド)にコンジュゲートされた「リガンド」(例えば、アビジン)が投与される。

【0240】

一態様では、式(I)のADCは、抗Trop2抗体(Ab)を式(P-I)：

【化47】

20



(P-I)

30

またはその薬学的に許容され得る塩の分子と反応させることを含み、

Bは、抗Trop2抗体と結合を形成することができる反応性部分であり、

L²は、-(CH₂)_p-であり、pは4、5、6、7、または8であり、

L³は、結合またはポリオキシエチレン系二価リンカーであり、

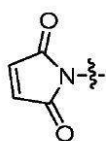
R¹およびR²は、それぞれ独立して、C₁~6アルキルである。

【0241】

いくつかの実施形態では、Bは、抗Trop2抗体のスルフヒドリルと結合を形成することができる反応性部分である。いくつかの実施形態では、Bは、N-マレイミドである。いくつかの実施形態では、Bは

40

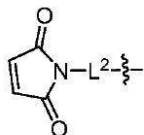
【化48】



である。いくつかの実施形態では、B-L²-は

50

【化 4 9】



である。

【0242】

いくつかの実施形態では、 p は、4、5 または 6 である。いくつかの実施形態では、 p は、4 である。いくつかの実施形態では、 p は、5 である。いくつかの実施形態では、 p は、6 である。いくつかの実施形態では、 p は、7 または 8 である。いくつかの実施形態では、 p は、7 である。いくつかの実施形態では、 p は、8 である。

10

【0243】

いくつかの実施形態では、 L^3 は、結合である。他の実施形態では、 L^3 は、

ポリオキシエチレン系二価リンカーである。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分およびアルキレン部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分およびアリーレン部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アルキレン部分およびアリーレン部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アルキレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アリーレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、ポリオキシエチレン部分、アルキレン部分、アリーレン部分およびアミド部分を含む。いくつかの実施形態では、ポリオキシエチレン系二価リンカーは、最大で 24 個の $-(CH_2CH_2O)-$ 単位を含む。

20

【0244】

いくつかの実施形態では、 R^1 は、 $C_1 \sim 4$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、 $C_1 \sim 3$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、メチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、エチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は、プロピル、例えば、 n -プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はブチル、例えば、 n -ブチルまたは $tert$ -ブチルである。他の実施形態では、 R^1 は、ペンチルまたはヘキシルである。

30

【0245】

いくつかの実施形態では、 R^2 は、 $C_1 \sim 4$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、 $C_1 \sim 3$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、メチルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、エチルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、プロピル、例えば、 n -プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^2 は、ブチル、例えば、 n -ブチルまたは $tert$ -ブチルである。他の実施形態では、 R^2 は、ペンチルまたはヘキシルである。

40

【0246】

いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、同一である。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれメチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれエチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれブチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれペンチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれヘキシルである。

【0247】

50

【 0 2 4 8 】

【化 5 0】



(P-IIa)

【化 5 1】



(P-IIa-1)

30

【 0 2 4 9 】

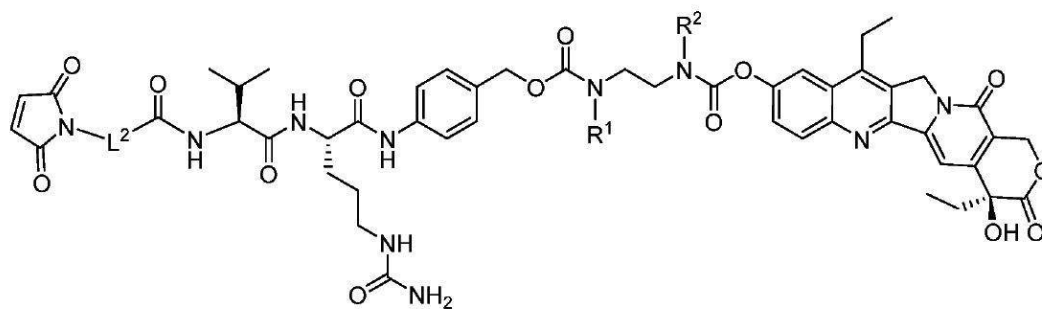
【化 5 2】



(P-IIb)

50

【化 5 3】



(P-IIb-1)

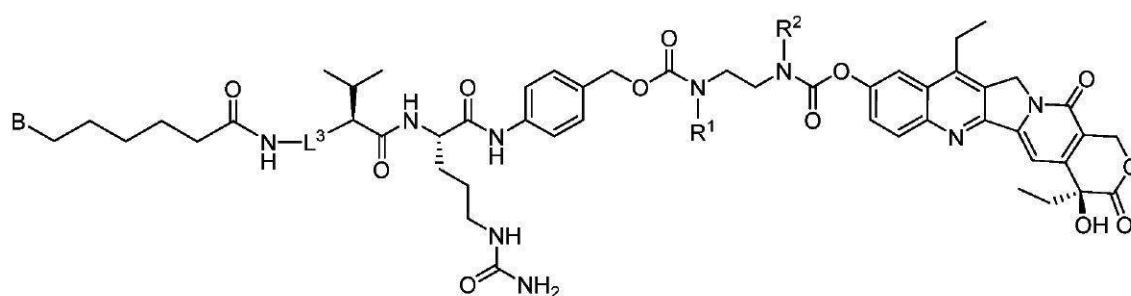
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0250】

いくつかの実施形態では、分子は、式 (P-IIc) :

【化 5 4】

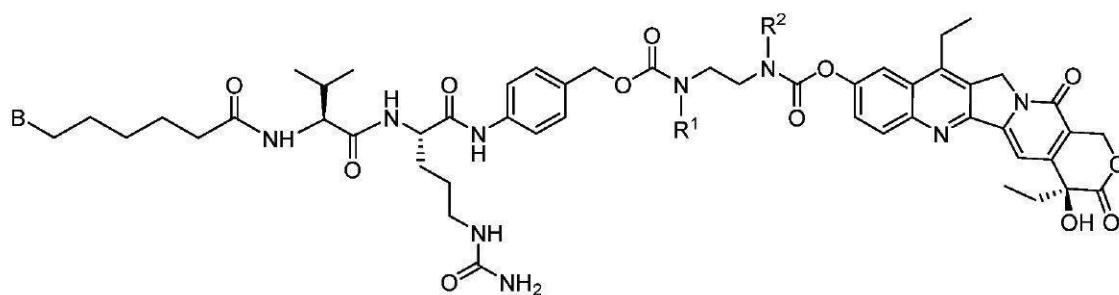


(P-IIc)

20

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、L³は結合であり、分子は式 (P-IIc-1) :

【化 5 5】



(P-IIc-1)

30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

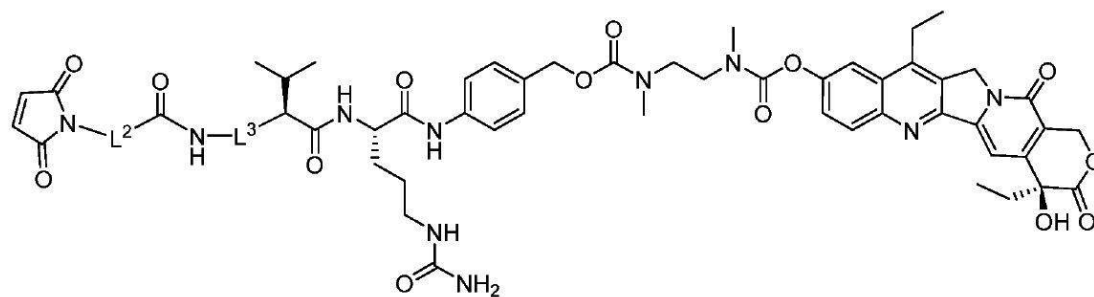
【0251】

いくつかの実施形態では、分子は、式 (P-IIIIa) :

40

50

【化 5 6】

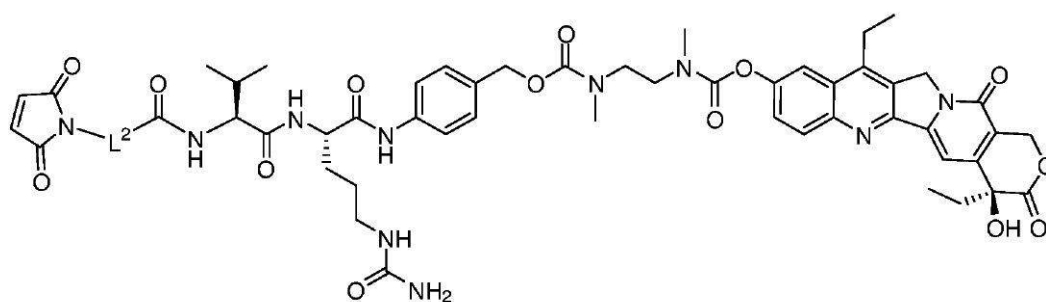


(P-IIIa)

10

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、分子は式 (P-IIIa-1) :

【化 5 7】



(P-IIIa-1)

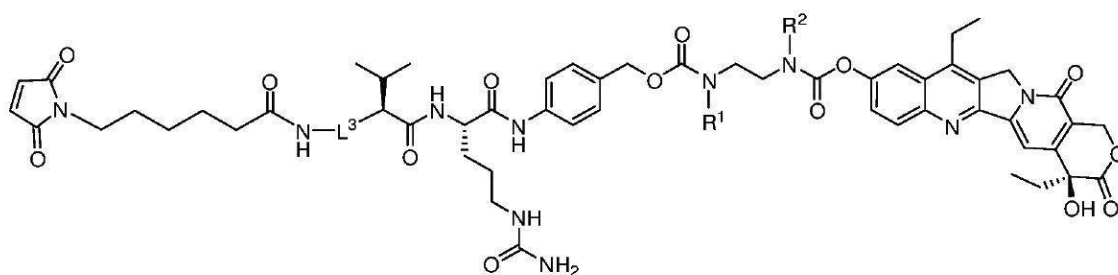
20

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0 2 5 2】

いくつかの実施形態では、分子は、式 (P-IIIb) :

【化 5 8】



(P-IIIb)

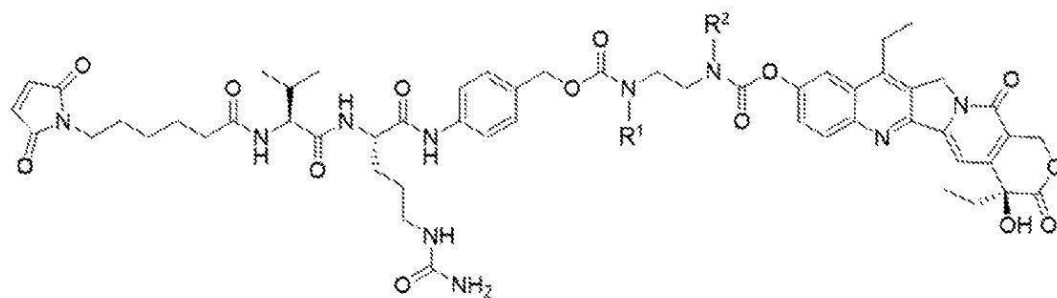
30

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、 L^3 は結合であり、分子は式 (P-IIIb-1) :

40

50

【化 5 9】



(P-IIIb-1)

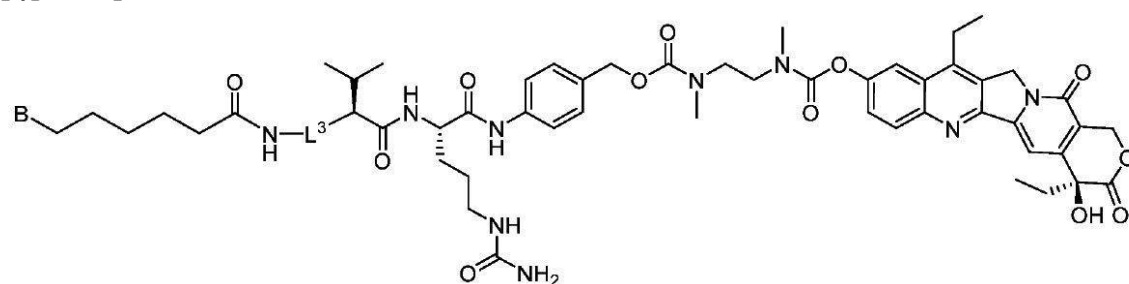
10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0253】

いくつかの実施形態では、分子は、式 (P-IIIc) :

【化 6 0】

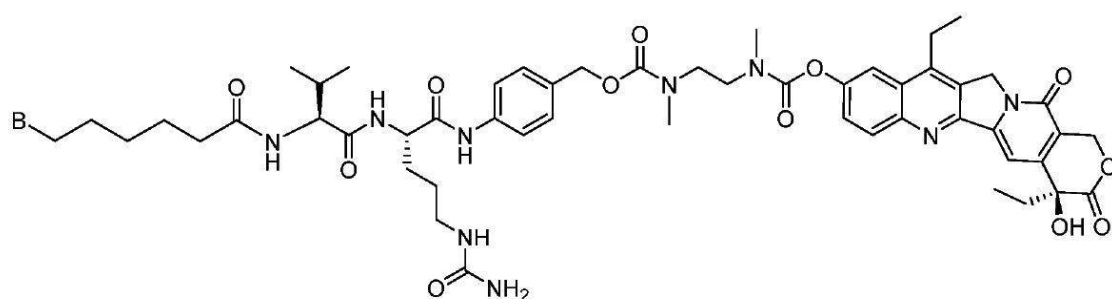


(P-IIIc)

20

またはその薬学的に許容され得る塩である。一変形例では、L³は結合であり、分子は式 (P-IIIc-1) :

【化 6 1】



(P-IIIc-1)

30

またはその薬学的に許容され得る塩である。

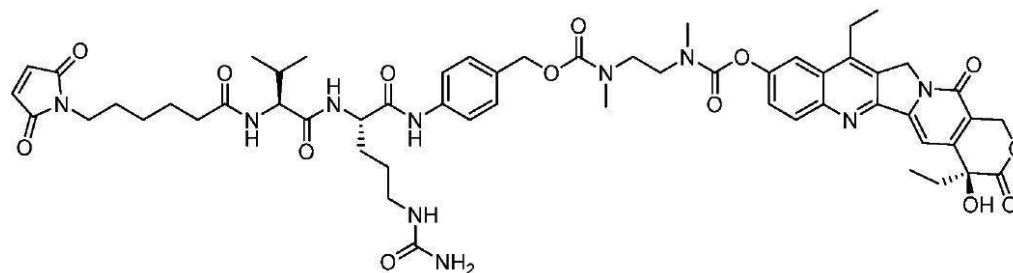
【0254】

いくつかの実施形態では、分子は、式 (P-IV) :

40

50

【化 6 2】



(P-IV)

10

またはその薬学的に許容され得る塩である。

【0255】

上記の調製方法において、ある部分についてのあらゆる説明、変形、実施形態または態様は、他の部分についてのあらゆる説明、変形、実施形態または態様と、複数の記載のありとあらゆる組み合わせが具体的かつ個別に列挙されているのと同じように組み合わせられてもよいことが理解される。例えば、式 (P-I) の L^2 に関して本明細書で提供されるすべての説明、変形、実施形態、または態様は、 L^3 、 p 、 R^1 、 R^2 、および B のすべての説明、変形、実施形態、または態様と、あらゆる組み合わせが具体的かつ個別に列挙されているのと同じように組み合わせられてもよい。併せて、式 (P-I) のすべての説明、変形、実施形態または態様は、該当する場合、本明細書に詳述されている他の式に等しく適用され、ありとあらゆる説明、変形、実施形態または態様が式について別々かつ個別に列挙されているのと同じように等しく説明されていることも理解される。例えば、式 (P-I) の全ての説明、変形、実施形態、または態様は、該当する場合、式 (P-II a)、(P-II a-1)、(P-II b)、(P-II b-1)、(P-II c)、(P-II c-1)、(P-II I a)、(P-II I a-1)、(P-II I b)、(P-II I b-1)、(P-II I c)、および (P-II I c-1) などの本明細書に詳述される式のいずれにも等しく適用され、全ての説明、変形、実施形態、または態様が全ての式についてそれぞれ別々かつ個別に列挙されているのと同じように等しく説明されている。

20

30

II I. 医薬製剤

【0256】

本明細書に記載の ADC の医薬製剤は、所望の純度を有するそのような ADC を、凍結乾燥製剤または水溶液の形態の 1 またはそれを超える任意の医薬的に許容され得る担体 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) と混合することによって調製される。薬学的に許容され得る担体は、一般に、使用される投与量および濃度でレシピエントに対して非毒性であり、かかる担体としては、緩衝液 (例えば、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸)、酸化防止剤 (アスコルビン酸およびメチオニンなど)、防腐剤 (例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール、アルキルパラベン (例えば、メチルまたはプロピルパラベン)、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール; および m -クレゾール)、(約 10 残基未満の) 低分子量ポリペプチド、タンパク質 (例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン)、親水性ポリマー (例えば、ポリビニルピロリドン)、アミノ酸 (例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リジン)、グルコース、マンノース、またはデキストリンなどの単糖類、二糖類、および他の炭水化物、キレート剤 (例えば、EDTA)、糖 (例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール)、塩形成対イオン (例えば、ナトリウム)、金属錯体 (例えば、Zn-タンパク質複合体)、および/または、非イオン性界面活性剤 (例えば、ポリエ

40

50

チレングリコール（PEG）が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書における例示的な薬学的に許容され得る担体としては、さらに、間質性薬物分散剤、例えば、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（sHASEGP）、例えば、ヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質、例えば、rHuPH20（ハイレネックス（登録商標）、Baxter International, Inc.）が挙げられる。rHuPH20などの特定の例示的なsHASEGPおよび使用方法は、米国特許出願公開第2005/0260186号および同第2006/0104968号に記載されている。一態様では、sHASEGPは、1またはそれを超える追加のグリコサミノグリカナーゼ、例えば、コンドロイチナーゼと組み合わせられる。

【0257】

例示的な凍結乾燥ADC製剤は、米国特許第6,267,958号に記載されている。水性ADC製剤としては、米国特許第6,171,586号および国際公開第2006/044908号に記載されている製剤が含まれ、後者の製剤はヒスチジン-酢酸緩衝液を含む。

【0258】

本明細書で提供される製剤はまた、処置される特定の適応症に必要な2つ以上の活性成分、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有する活性成分を含有し得る。

【0259】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術、または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン-マイクロカプセルおよびポリ-（メチルメタクリレート）マイクロカプセルの中に、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）の形で、またはマクロエマルジョンの形で封入され得る。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。

【0260】

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性調製物の適切な例としては、ADCを含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは成形物、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの形態である。

【0261】

インビボ投与に使用される製剤は、一般に無菌である。滅菌は、例えば、滅菌濾過膜による濾過によって容易に達成され得る。

IV. 治療方法および組成物

【0262】

本明細書で提供されるADCのいずれも、方法、例えば、治療方法において使用され得る。

【0263】

一態様では、本明細書で提供されるADCは、Trop2発現細胞の増殖を阻害する方法で使用され、この方法は、細胞の表面上のADCの抗Trop2抗体の結合を許容する条件下で細胞をADCに曝露し、それにより細胞の増殖を阻害することを含む。特定の実施形態では、その方法は、インビトロまたはインビボ方法である。いくつかの態様では、細胞はB細胞である。いくつかの態様では、細胞は、リンパ腫細胞または白血病細胞などの新生物B細胞である。

【0264】

インビトロでの細胞増殖の阻害を、Promega（マディソン、ウィスコンシン州）から市販されているCellTiter-Glo（商標）発光細胞生存率アッセイを用いてアッセイすることができる。そのアッセイは、代謝的に活性な細胞の指標である、存在するATPの定量に基づいて、培養中の生存細胞の数を決定する。Crouchら（1993）J. Immunol. Meth. 160:81-88、米国特許第6602677

10

20

30

40

50

号を参照されたい。このアッセイは96または384ウェルフォーマットで実施することができ、自動ハイスループットスクリーニング（HTS）に適したものになっている。Creerら（1995）Anti Cancer Drugs 6：398－404を参照されたい。アッセイ手順は、単一の試薬（CellTiter-Glo（登録商標）Reagent）を培養細胞に直接添加することを含む。その結果、細胞が溶解し、ルシフェラーゼ反応による発光シグナルが発生する。発光シグナルは、存在するATPの量に比例し、これは培養中に存在する生細胞の数に正比例する。データは、ルミノメータまたはCCDカメラ撮像装置によって記録することができる。発光出力は、相対発光量（RLU）として表される。

【0265】

別の態様では、薬剤として使用するためのADCが提供される。さらなる態様では、処置方法で使用するためのADCが提供される。特定の実施形態では、癌の処置に使用するためのADCが提供される。いくつかの実施形態では、癌は、Trop2の過剰発現に関連する。特定の実施形態では、Trop2発現癌を有する個体を処置する方法で使用するためのADCであって、有効量のADCを個体に投与することを含む方法が本明細書で提供される。そのような一実施形態では、本方法は、例えば、以下に記載されるように、有効量の少なくとも1つのさらなる治療剤を個体に投与することをさらに含む。

【0266】

さらなる態様では、本開示は、薬剤の製造または調製におけるADCの使用を提供する。一実施形態では、本薬剤は、Trop2発現癌の処置用である。さらなる実施形態では、本薬剤は、Trop2発現癌を処置する方法で使用するのためのものであり、本方法は、Trop2発現癌を有する個体に有効量の薬剤を投与することを含む。そのような一実施形態では、本方法は、例えば、以下に記載されるように、有効量の少なくとも1つのさらなる治療剤を個体に投与することをさらに含む。

【0267】

さらなる態様では、本発明は、Trop2発現癌を処置する方法を提供する。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は上皮細胞由来癌である。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は癌腫である。いくつかの態様では、癌腫は、基底細胞癌、扁平上皮癌、腎細胞癌、非浸潤性乳管癌、浸潤性乳管癌、または腺癌である。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は固形腫瘍を含む。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は転移性である。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は再発癌である。

【0268】

いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は、膵臓癌、胃癌、乳癌、黒色腫、腎臓癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、前立腺癌、尿路上皮癌、神経膠芽腫、肺癌、子宮頸癌、食道癌、または卵巣癌である。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は膵臓癌である。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は胃癌である。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は乳癌である。いくつかの実施形態では、乳癌はトリプルネガティブ乳癌である。これらの実施形態のいずれにおいても、癌は転移性癌であり得る。特定の実施形態では、癌は再発癌である。

【0269】

いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は、「0」より大きい抗Trop2免疫組織化学（IHC）またはin situハイブリダイゼーション（ISH）のスコアを受ける癌であり、これは腫瘍細胞の90%超において非常に弱いまたは染色がないことに相当する。別の実施形態では、Trop2発現癌は、1+、2+または3+レベルでTrop2を発現し、ここで、1+は新生物細胞の50%超における弱い染色に相当し、2+は新生物細胞の50%超における中程度の染色に相当し、3+は新生物細胞の50%超における強い染色に相当する。いくつかの実施形態では、Trop2発現癌は、Trop2 mRNAを検出する逆転写酵素PCR（RT-PCR）アッセイに従ってTrop2を発現する癌である。いくつかの実施形態では、RT-PCRは定量的RT-PCRである。

【0270】

いくつかの実施形態では、T r o p 2 発現癌を有する個体を処置する方法であって、T r o p 2 発現癌が第1の治療薬に耐性である方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の本明細書に記載のA D Cを個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、T r o p 2 発現癌は、膵臓癌、胃癌、トリプルネガティブ乳癌などの乳癌、子宮頸癌、食道癌、または卵巣癌から選択される。いくつかの実施形態では、第1の治療薬は、S N - 3 8 以外の第1の細胞毒を含む。いくつかの実施形態では、第1の治療薬は、T r o p 2 以外の抗原に結合する第1の抗体を含む。いくつかの実施形態では、第1の治療薬は、T r o p 2 以外の抗原に結合する第1の抗体および第1の細胞毒を含む第1のA D Cである。

【0271】

上記実施形態のいずれかに係る「個体」は、ヒトであってもよい。

【0272】

さらなる態様では、例えば、上記の治療方法のいずれかで使用するための、本明細書で提供されるA D Cのいずれかを含む医薬製剤が本明細書で提供される。一実施形態では、医薬製剤は、本明細書で提供されるA D Cのいずれかおよび薬学的に許容され得る担体を含む。別の実施形態では、医薬製剤は、本明細書で提供される任意のA D Cおよび少なくとも1つのさらなる治療剤を含む。

【0273】

本明細書に記載のA D Cは、単独で、または治療において他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本明細書に記載のA D Cを、少なくとも1つのさらなる治療剤と同時に投与することができる。いくつかの態様では、限定するものではないが、放射線療法および／または骨髄および末梢血移植、および／または細胞毒などの他の治療レジメンをA D Cの投与と組み合わせることができる。いくつかの態様では、細胞毒は、例えば、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン、アドリアマイシン、ドキソルビシン、ビンクリスチン（O n c o v i n（商標）、プレドニゾロン、C H O P（シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよびプレドニゾロンの組み合わせ）、またはC V P（シクロホスファミド、ビンクリスチンおよびプレドニゾロンの組み合わせ）などの薬剤または薬剤の組み合わせである。

【0274】

上記のそのような併用療法は、併用投与（2またはそれを超える治療剤が同じまたは別個の製剤に含まれる場合）および別個の投与を包含し、その場合、A D Cの投与は、さらなる治療薬および／またはアジュバントの投与の前に、それと同時に、かつ／またはその後に行うことができる。本明細書に記載のA D Cは、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

【0275】

本明細書に記載のA D C（および任意のさらなる治療剤）は、非経口、肺内および鼻腔内、ならびに局所処置のために所望される場合は、病巣内投与など、任意の適切な手段によって投与することができる。非経口投与には、筋肉内投与、静脈内投与、動脈内投与、腹腔内投与または皮下投与が含まれる。投与は、一つには投与が短時間であるか常習的であるかによって、任意の適切な経路、例えば、注射、例えば、静脈内または皮下注射によるものであり得る。本明細書では、限定するものではないが、様々な時点にわたる単回または複数回投与、ボーラス投与、およびパルス注入などの様々な投与スケジュールが企図される。本開示のA D Cは、優れた医療行為と調和する様式で製剤化され、投与され、投与され得る。これに関連して考慮すべき因子としては、処置される特定の障害、処置される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュール、および医療従事者に知られている他の因子が挙げられる。A D Cは、その必要はないが、必要に応じて問題の障害を予防または処置するために現在使用されている1またはそれを超える薬剤とともに製剤化される。そのような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在するA D Cの量、障害または処置の種類、および上記の他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投与量および投与経路で、または本明

10

20

30

40

50

細書に記載される投与量の約1から99%で、または任意の投与量で、適切であると経験的／臨床的に確認された任意の経路によって使用される。

【0276】

疾患の予防または処置のために、本明細書に記載のADCの適切な投与量（単独でまたは1もしくはそれを超える他の追加の治療剤と組み合わせて使用される場合）は、処置される疾患の種類、ADCの種類、疾患の重症度および経過、ADCが予防目的で投与されるか処置目的で投与されるか、以前の治療、患者の病歴およびADCに対する応答、ならびに主治医の裁量に依存する。ADCは、一度にまたは一連の処置を通して患者に適切に投与される。疾患の種類および重症度に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ から $15\text{mg}/\text{kg}$ （例えば、 $0.1\text{mg}/\text{kg}\sim 10\text{mg}/\text{kg}$ ）のADCを、例えば、1またはそれを超える別個の投与によるか、または連続注入によるかにかかわらず、患者への投与のための初期候補投与量とすることができる。1つの典型的な1日投与量は、上記の因子に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ から $100\text{mg}/\text{kg}$ またはそれを超える範囲であり得る。数日間またはそれより長い反復投与の場合、症状に応じて、処置は一般に、疾患症状の所望の抑制が起こるまで持続される。ADCの一つの例示的な投与量は、約 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ から約 $10\text{mg}/\text{kg}$ の範囲であり得る。したがって、約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ または $10\text{mg}/\text{kg}$ （またはそれらの任意の組み合わせ）の1またはそれを超える用量を患者に投与することができる。そのような用量は、断続的に、例えば、毎週または3週間ごとに（例えば、患者に約2～約20回、または、例えば、約6回の用量の抗体を投与するように）投与し得る。最初のより高い負荷用量を投与し、続いて1またはそれを超えるより低い用量を投与することができる。ただし、他の投与レジメンが有用である場合がある。この治療の進行は、従来の技術およびアッセイによって容易にモニタリングされる。

V. 製品

【0277】

さらなる態様では、上記障害の処置、予防および／または診断に有用な物質を含む製品が本明細書で提供される。本製品は、容器と、容器の上のまたは容器に関連付けられたラベルまたは添付文書とを含む。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成されていてもよい。容器は、組成物を単独で、または障害を処置、予防および／または診断するのに有効な別の組成物と組み合わせて保持し、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内溶液バッグまたは皮下注射針によって穿刺可能なストッパーを有するバイアルであり得る）。その組成物中の少なくとも1つの活性剤は、本明細書に記載のADCである。ラベルまたは添付文書は、その組成物が選択された症状を処置するために使用されることを示す。さらに、本製品は、（a）組成物が入った第1の容器であって、当該組成物が本明細書に記載のADCを含む、第1の容器と、（b）組成物が入った第2の容器であって、当該組成物がさらなる細胞毒または他の治療剤を含む、第2の容器と、を含み得る。本発明のこの実施形態における製品は、本組成物が特定の症状を処置するために使用され得ることを示す添付文書をさらに含み得る。代替的または追加的に、本製品は、静菌性注射用水（BWFI）、リン酸緩衝生理食塩水、リンゲル液またはデキストロス溶液などの薬学的に許容され得る緩衝液を含む第2の（または第3の）容器をさらに含んでいてもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、およびシリンジなどの、商業的観点やユーザの観点から望ましい他の材料をさらに含んでいてもよい。

【0278】

この説明および例示的な実施形態は、限定として解釈されるべきではない。本明細書および添付の特許請求の範囲においては、別段の指示がない限り、量、パーセンテージ、または割合を表すすべての数字、ならびに、本明細書および特許請求の範囲で使用される他の数値は、それらがまだそのように修正されていない限り、すべての場合において「約」という用語によって修正されていると理解されるべきである。「約」は、記載された主題

の特性に実質的に影響を及ぼさない、例えば10%、5%、2%、または1%以内の変動の程度を示す。したがって、反対のことが示されない限り、以下の明細書および添付の特許請求の範囲に記載される数値パラメータは、得ようとする所望の特性に応じて変化し得る近似値である。少なくとも、特許請求の範囲に対する均等論の適用を制限する試みとしてではなく、各数値パラメータは、報告された有効数字の数に照らして、通常の丸め方を適用することによって少なくとも解釈されるべきである。

【実施例】

【0279】

実施例

以下の実施例は、特定の開示された実施形態を説明するために提供され、いかなる形であれ、本開示の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【0280】

実施例に記載される化学反応は、本開示のいくつかの他の化合物を調製するために容易に適合させることができ、本開示の化合物を調製するための代替方法は、本開示の範囲内であると見なされる。例えば、本開示による例示されていない化合物の合成は、当業者にとって明らかな変更によって、例えば、記載された試薬以外の当技術分野で公知の他の適切な試薬を利用することによって、または反応条件、試薬、および出発材料の経路変更を行うことによって、首尾よく行うことができる。あるいは、本明細書に開示されるかまたは当技術分野で公知の他の反応が、本開示の他の化合物を調製するための適用性を有すると理解されるであろう。

【0281】

以下の略語は、本出願に関連し得る。

略語

B O CまたはB o c : t e r t -ブトキシカルボニル

D C M : 塩化メチレン

D I E A : ジイソプロピルエチルアミン

D M F : N , N' -ジメチルホルムアミド

D M S O : ジメチルスルホキシド

F B S : ウシ胎児血清

F m o c : 9-フルオレニルメトキシカルボニル

F m o c - A A N - P A B - P N P : 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル-アラニル-アラニル-アスパラギニル-(4-アミノベンジル)-(4-ニトロフェニル)カーボネート

F m o c - A l a - P A B - P N P : 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル-アラニル-(4-アミノベンジル)-(4-ニトロフェニル)カーボネート

h : 時間

H I C : 疎水性相互作用クロマトグラフィー

H M W : 高分子量

H P L C : 高速液体クロマトグラフィー

L C / M S : 液体クロマトグラフィー-質量分析

L C - M S / M S : タンデム質量分析を用いた液体クロマトグラフィー

L L O Q : 定量下限

mまたはm i n : 分

M a l - C 6 - O H : 6-マレイミドカプロン酸

M a l - C 6 - V A - P A B - P N P : 6-マレイミドカプロイル-バリニル-アラニル-(4-アミノベンジル)-(4-ニトロフェニル)カーボネート

P A B : p-アミノベンジル

P B S : リン酸緩衝生理食塩水

P G : プロピレングリコール

(P N P)₂ C O : ビス(4-ニトロフェニル)カーボネート

PyAOP：（７－アザベンゾトリアゾール－１－イルオキシ）トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート

RP-HPLC：逆相HPLC

SEC：サイズ排除クロマトグラフィー

TCEP：トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン

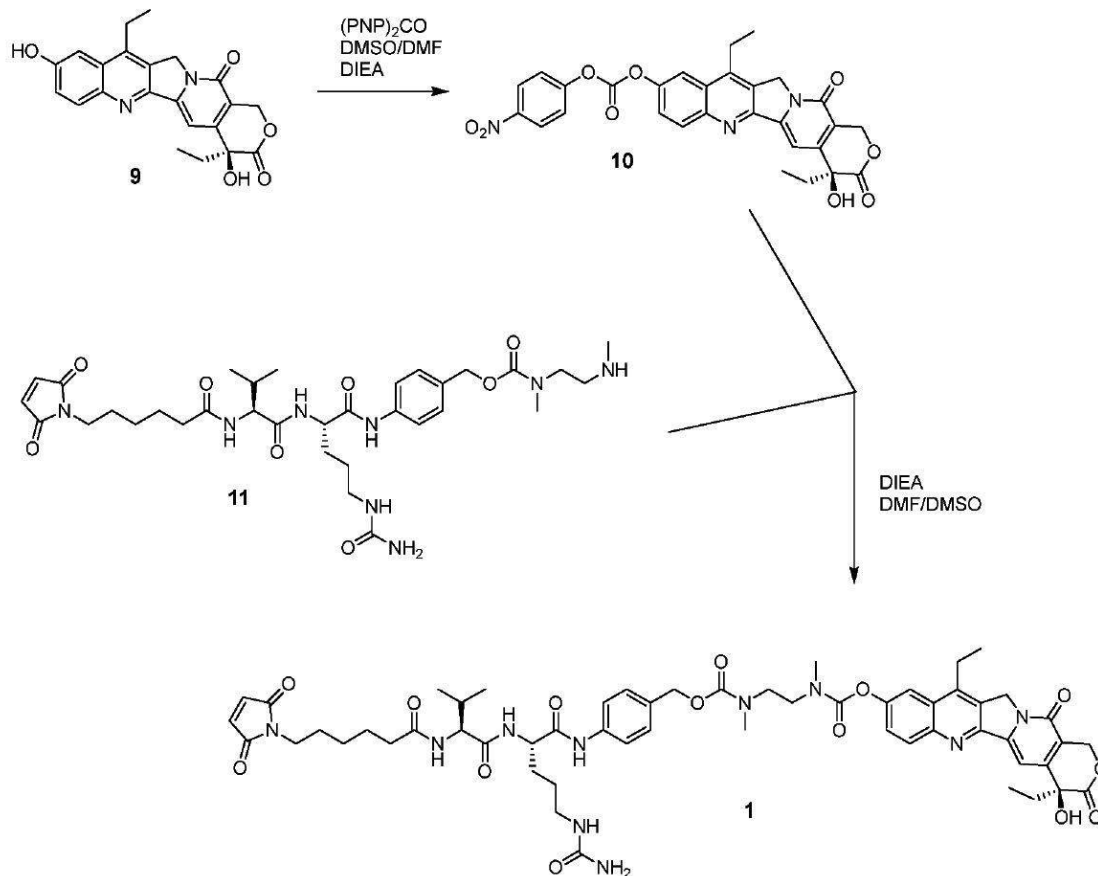
TFA：トリフルオロ酢酸

THF：テトラヒドロフラン

合成例

実施例 S 1：化合物 1 の合成

【化 6 3】



【0282】

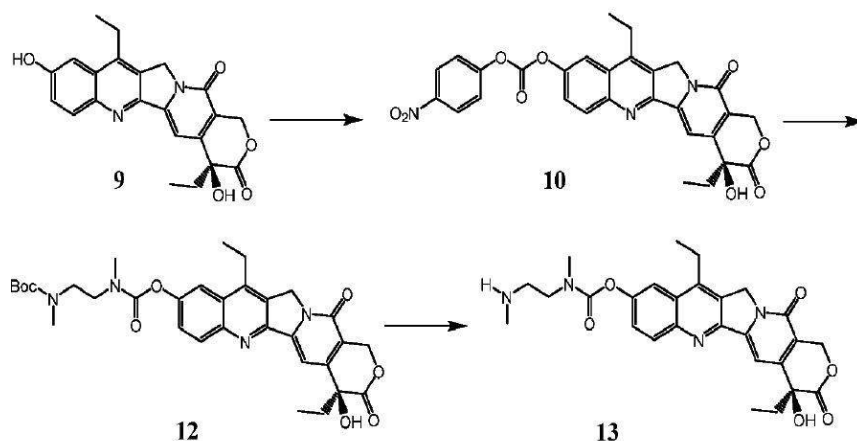
化合物 9（Sigma-Aldrich カタログ No. H0165-50MG、392 mg、1 mmol）を DMSO（3 mL）および DMF（3 mL）の混合物に溶解し、続いて DMF（3 mL）に（PNP）₂CO（912 mg、3 mmol）を溶解した溶液を添加した。得られた混合物を氷浴中で冷却した。次に、DIEA（174 μL、1 mmol）を添加し、反応混合物を 15 分間攪拌した。反応混合物を 200 mL のジエチルエーテルに添加した。得られた沈殿物を回収し、エーテル（100 mL）で洗浄し、乾燥させて 10（333 mg、60％）を得た。

【0283】

DMSO（1 mL）に 10（55.7 mg、0.1 mmol）を溶解した溶液に対して、DMF（2 mL）中の 11（米国特許第 9,814,784 号に記載の手順に従って合成した）（TFA 塩、80 mg、0.1 mmol）を添加した。次に、DIEA（35 μL、0.2 mmol）を添加し、得られた反応混合物を 30 分間攪拌した。得られた物質の精製を HPLC（水中 0.1％ TFA／アセトニトリル）によって行い、集めた画分を凍結乾燥して 1（84.6 mg、77％）を得た。

実施例 S 2：化合物 13 の合成

【化 6 4】



10

【0284】

DMF (10 mL) に、9 (534 mg、1.36 mmol) およびビス(4-ニトロフェニル)カーボネート(900 mg、2.96 mmol)を混合した混合物に、DIEA (0.237 mL、1.36 mmol)を添加した。得られた反応混合物を、9が消費されるまで室温で撹拌した。反応をLC/MSによってモニタリングした。次に、N-Boc-N',N'-ジメチルエチレンジアミン(640 mg、3.40 mmol)を添加した後、DIEA (0.525 mL、3.00 mmol)を添加した。得られた混合物を室温で2時間撹拌した。分取HPLCにより化合物12を得た(400 mg)。

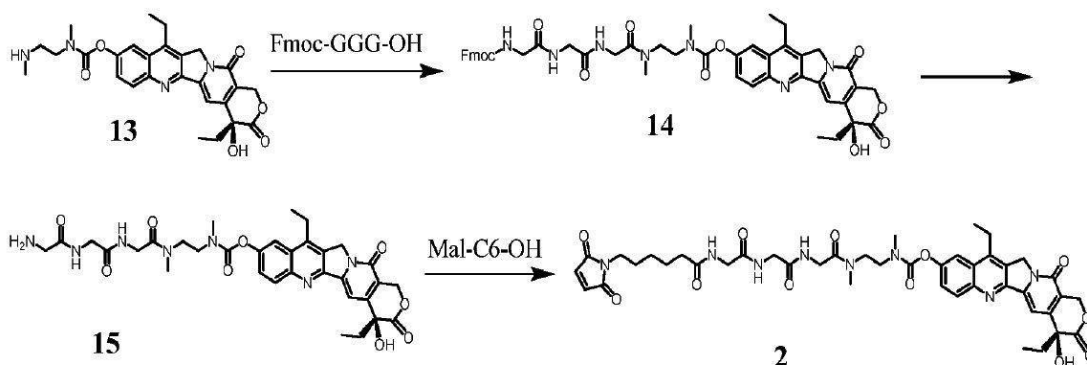
20

【0285】

化合物12をDCM (5 mL) 中25% TFAで1時間処理した。溶媒を真空下で除去し、粗13をさらに精製することなく使用した。

実施例S3：化合物2の合成

【化 6 5】



30

【0286】

DMF (2 mL) に、13 (31 mg、0.042 mmol)、Fmoc-GGG-OH (17.4 mg、0.042 mmol) およびPyAOP (22 mg、0.126 mmol)を混合した混合物に、DIEA (25 μ L、1.36 mmol)を添加した。得られた反応混合物を、13が消費されるまで室温で撹拌した。反応をLC/MSによってモニタリングした。次に、ピペリジン(200 μ L)を添加し、得られた混合物を室温で15分間撹拌した。分取HPLCにより化合物15を得た(25 mg)。

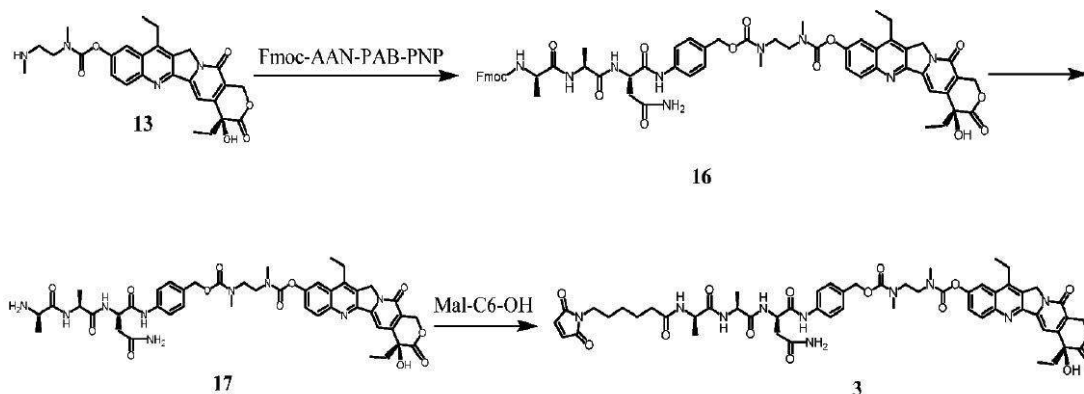
40

【0287】

DMF (2 mL) に、15 (25 mg、0.028 mmol)、Mal-C6-OH (6.7 mg、0.028 mmol) およびPyAOP (15 mg、0.028 mmol)を混合した混合物に、DIEA (15 μ L、0.084 mmol)を添加した。得られた混合物を室温で1時間撹拌した。化合物2を分取HPLCによって得た。

50

実施例 S 4 : 化合物 3 の合成
【化 6 6】



10

20

30

40

50

【0288】

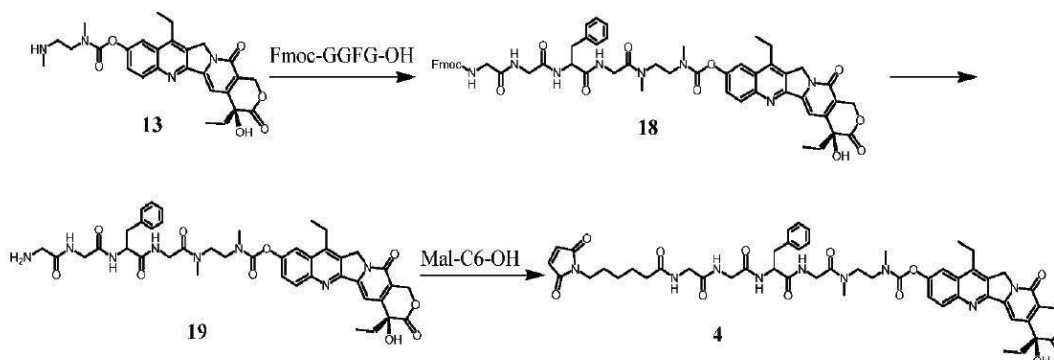
DMF (1 mL) に、13 (31 mg、0.042 mmol) および Fmoc-AAN-PAB-PNP (31 mg、0.042 mmol) を混合した混合物に、DIEA (15 μ L、0.084 mmol) を添加した。得られた反応混合物を室温で一晩攪拌した後、ピペリジン (50 μ L) を添加した。得られた混合物を室温で15分間攪拌した。分取 HPLC により化合物 17 を得た (16 mg)。

【0289】

DMF (2 mL) に、17 (16 mg、0.014 mmol)、Mal-C6-OH (4.6 mg、0.022 mmol) および PyAOP (11.4 mg、0.022 mmol) を混合した混合物に、DIEA (16 μ L、0.088 mmol) を添加した。得られた混合物を室温で1時間攪拌した。化合物 3 を分取 HPLC によって得た。

実施例 S 5 : 化合物 4 の合成

【化 6 7】

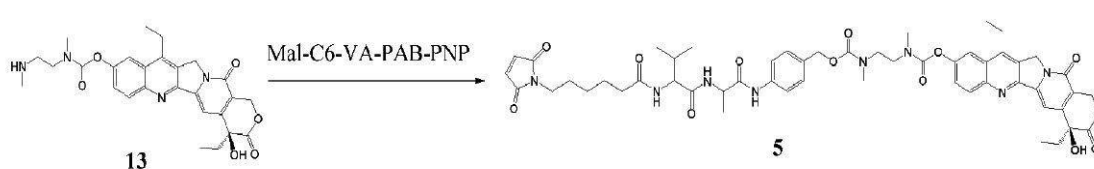


【0290】

化合物 4 (10 mg、20%) を、2 (実施例 S 3) の調製について概説した合成に従って、上記スキームに具体的に示したように合成した。

実施例 S 6 : 化合物 5 の合成

【化 6 8】

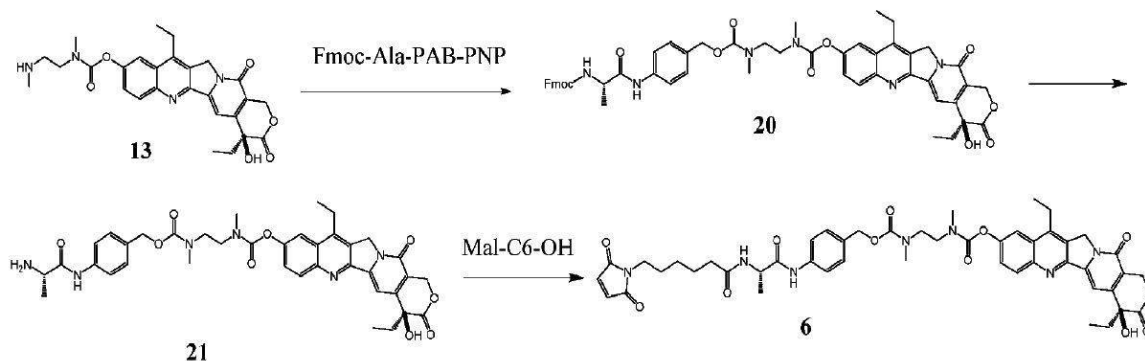


【0291】

化合物 5 (8 mg、25%) を、Mal-C6-VA-PAB-PNP を使用して、3 の調製について概説した合成 (実施例 S4) に従って、上記スキームに具体的に示すように合成した。

実施例 S7: 化合物 6 の合成

【化 69】



10

【0292】

化合物 6 (12 mg、23%) を、Fmoc-Ala-PAB-PNP を使用して、3 の調製について概説した合成 (実施例 S4) に従って、上記スキームに具体的に示すように合成した。

20

実施例 S8: 抗体薬物複合体 (ADC) 抗 Trop2-化合物 1 の調製

【0293】

本実施例で用いた抗 Trop2 抗体は、米国特許第 7,238,785 号に記載の hRS7 抗体の抗体配列を有する。アフィニティー精製した抗 Trop2 抗体を、3~10 mg/mL の濃度の EDTA (4 mM) を含むリン酸ナトリウム緩衝液 (50 mM、pH 7.0~7.2) に緩衝液交換した。この抗体ストックの一部に、最大で 20 倍モル過剰の新たに調製した TCEP (10 mM) の水溶液を添加した。得られた混合物を 4~8℃で一晩インキュベートした。過剰な TCEP をゲル濾過クロマトグラフィーまたは数回の遠心濾過によって除去した。回収され、還元された抗体の UV-VIS 定量化に続いて、十分な遊離チオール対抗体 (SH/Ab) モル比を確認した。端的に言えば、リン酸ナトリウム (50 mM、pH 7.0~7.2、4 mM EDTA) に 5,5'-ジチオビス-(2-ニトロ安息香酸) を溶解して新たに調製した溶液の 1 mM アリコート、等体積の精製抗体溶液と混合した。得られた 412 nm での吸光度を測定し、 $14,150 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ の吸光係数を用いて還元システイン含有量を求めた。得られた SH/Ab は約 8 と測定され、鎖間システインチオール残基の完全な減少を示した。

30

【0294】

抗 Trop2 抗体への化合物 1 のコンジュゲーションを開始するために、まず 5 mM の濃度の 3:2 アセトニトリル/水混合物に 1 を溶解した。次いで、プロピレングリコール (PG) を還元し精製した抗 Trop2 抗体のアリコートに添加して、最終濃度 10~30% (v/v) の PG を得た後、新たに調製した 12~15 倍モル過剰の 1 の溶液を添加した。十分に混合し、周囲温度で 1.5 時間以上インキュベートした後、粗コンジュゲーション反応を HIC-HPLC で分析して、280 nm の波長検出での反応完了 (出発抗体ピークの消失) を確認した。次いで、PBS で平衡化した Superdex 200 pg カラム (GE Healthcare) を備えた AKTA システムを使用するゲル濾過クロマトグラフィーによって、ADC 抗 Trop2-化合物 1 の精製を行った。6~8 の薬物対抗体比 (DAR) を、UV-VIS および HIC-HPLC に基づいて算出した。得られた精製サンプルの HIC-HPLC はさらに、1% 未満 (未検出) の出発抗体材料を示す。併せて、分析 SEC-HPLC を使用して、低パーセント (5% 未満) の HMW 凝集体の裏付けを求めた。最終的なキャラクタライゼーションの後、滅菌トレハロースおよび Tween (登録商標)-80 の水溶液のアリコートを PBS 中の精製 ADC 抗 Tr

40

50

o p 2-化合物 1 に添加して、6 %トレハロース／0.02 % Tween (登録商標) - 80 / 94 % PBS (v / v / v) の最終組成物を得た。次いで、これらの混合物を液体窒素中で急速凍結し、さらなる使用まで-80℃で保存した。

実施例 S 9 : 抗 Trop 2-化合物 2、抗 Trop 2-化合物 3、抗 Trop 2-化合物 4、抗 Trop 2-化合物 5、抗 Trop 2-化合物 6 および ADC-CL2A-SN 38 の抗体薬物複合体 (ADC) の調製

【0295】

さらなる ADC 抗 Trop 2-化合物 2、抗 Trop 2-化合物 3、抗 Trop 2-化合物 4、抗 Trop 2-化合物 5 および抗 Trop 2-化合物 6 を、1 の代わりにそれぞれ 2、3、4、5 または 6 を使用して実施例 S 8 に概説されるように調製した。比較の ADC 分子 ADC-CL2A-SN 38 を、1 の代わりに (J. Med. Chem., 2008, 51, 6916-6926 に概説される手順に従って調製された) SN 38 部分を使用して、実施例 S 8 に概説されるように調製した。

10

生物学的実施例

実施例 B 1 : 抗体薬物複合体 (ADC) である、抗 Trop 2-化合物 2、抗 Trop 2-化合物 3、抗 Trop 2-化合物 4、抗 Trop 2-化合物 5 および抗 Trop 2-化合物 6 のインビトロ有効性

【0296】

ADC、抗 Trop 2-化合物 1、抗 Trop 2-化合物 2、抗 Trop 2-化合物 3、抗 Trop 2-化合物 4、抗 Trop 2-化合物 5 および抗 Trop 2-化合物 6 のインビトロ有効性を、以下の細胞株、すなわち、BxPC-3 (膵臓癌)、MDA-MB-468 (乳腺/乳癌) および L-540 (ホジキンリンパ腫) を使用して評価した。インビトロアッセイを以下のように行った。細胞を 12.5 μ L / ウェルの 384 ウェル白色透明底プレート (1 細胞株当たり 2 プレート) にプレーティングし (MDA-MB-468 および BxPC-3 については 375 細胞 / ウェル、L-540 については 2,500 細胞 / ウェル)、37℃で 2~4 時間維持した。次に、未使用のウェルのみに 25 μ L の培地を添加した。別途、作業溶液を最終濃度の 2 倍に調製した。12.5 μ L のそれぞれの作業溶液を添加することによって細胞を処理し、細胞を 37℃で 120 時間維持した。次いで、細胞生存率を CTG (Cell Titer-Glo (登録商標) 発光細胞生存率アッセイ、Promega) によって測定した。

20

30

【0297】

抗 Trop 2-化合物 1、抗 Trop 2-化合物 2、抗 Trop 2-化合物 3、抗 Trop 2-化合物 4、抗 Trop 2-化合物 5 および抗 Trop 2-化合物 6 の細胞生存率を図 1~図 5 に示す。このデータは、試験した ADC がインビトロ有効性を有し、EC₅₀ 値が約 46 から 340 nM の範囲であることを示している。

実施例 B 2 : 抗体薬物複合体 (ADC) 抗 Trop 2-化合物 1 および ADC-CL2A-SN 38 のインビボ有効性

腫瘍細胞接種および腫瘍の定着

【0298】

ヒト腫瘍細胞株 MDA-MB-468 (トリプルネガティブ乳癌)、NCI-N87 (胃癌) および BxPC-3 (膵臓癌) を培養し、10 % FBS RPMI 1640 培地で増殖させた。これらの細胞を 0.05 % トリプシンで回収した。次に、各腫瘍細胞株 (合計 0.1 mL、PBS と Matrigel の 1 : 1 比) の 5 × 10⁶ 細胞を各マウス (Charles River が提供する Nu / Nu マウスの 6 週齢雌) の右上わき腹に皮下注射した。接種の 5~7 日後に開始し、腫瘍体積が約 100~250 mm³ に達するまで週に 1~2 回、デジタルキャリパーを使用した腫瘍体積測定によって腫瘍増殖をモニタリングした。

40

処置

【0299】

腫瘍を所望の体積に段階分けしたら、動物を無作為化し、非常に大きいまたは小さい腫

50

瘍を有するマウスを処分した。マウスを、対照群または1群当たり6～8匹の動物を含む処置群に無作為に割り当てた。次いで、マウスをPBS／ビヒクル、抗Trop2抗体、またはADC化合物抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38のいずれかで処置した。処理は、合計4つの処置について、それぞれ0.2mLの体積で、週に2回、2、3、5、10、15、および25mg/kgの投与量の異なる組み合わせで尾静脈注射によって行った。

腫瘍成長測定

【0300】

腫瘍増殖応答を週に1回または2回モニタリングした。全実験期間を通して週に1回または2回、デジタルキャリパーを使用することによって腫瘍体積を測定した。体積は、以下の式を使用して算出した。

$$\text{体積 (mm}^3\text{)} = [\text{長さ (mm)} \times \text{幅 (mm)}^2] / 2$$

TGI% (腫瘍増殖阻害の割合) は、以下の式を使用して算出した。

$$\text{TGI\%} = \{1 - [\text{TVt d} - \text{TVt 0}] / \text{CVt d} - \text{CVt 0}\} \times 100$$

式中、

TV = 処置群の腫瘍体積、

CV = 対照群の腫瘍体積、

td = 初期処置後の日数、および

t0 = 処置0日目

腫瘍負荷がIACUCプロトコルの限界 (2000mm³) に達したとき、または所定の時間までに、マウスをCO₂窒息によって殺した。

結果

MDA－MB－468異種移植片

【0301】

ADC、抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38の有効性を、異なる用量レジメンを用いた2つの実験において、ヌードマウスのMDA－MB－468 s.c異種移植片において評価した。1つの研究では、ADC、抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38の処置を、PBS／ビヒクルおよび抗CD38抗体のみの対照 (5mg/kg) と比較して、2および5mg/kg i.v biw×4で行った (図6A)。抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38はいずれも、MDA－MB－468腫瘍成長の非常に強力で用量依存的な阻害を示した。5mg/kgでは、抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38のいずれもがMDA－MB－468腫瘍成長を完全に阻害し、腫瘍サイズをそれぞれ28.8%および56.6%減少させた。2mg/kgの低用量処置では、ADC抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38のいずれもが依然として腫瘍増殖の強い阻害を示し、初期処置の36日後まで、それぞれ、95.4%および88.6%のTGIを維持した。

【0302】

第2の実験では、3および10mg/kg、i.v biw×4の用量レジメンを試験した。この場合もまた、3および10mg/kgの抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38のいずれの処置においても、それぞれ90～100%のTGIおよび腫瘍サイズの減少によって、強い阻害が明らかであった (図6B)。この実験では、阻害効果は最初の処置の約100日後まで持続した。このデータは、ADC抗Trop2－化合物1が、ヌードマウスにおいてMDA－MB－468異種移植片腫瘍成長を有意に阻害したことを示している。

NCI－N87異種移植片

【0303】

ADC抗Trop2－化合物1およびADC－CL2A－SN38の有効性を、PBS／ビヒクルおよび抗Trop2抗体単独の対照 (図7) と比較して、5および15mg/kg i.v biw×4の用量レジメンを用いてヌードマウスにおけるNCI－N87 s.c異種移植片において評価した。このデータは、抗Trop2－化合物1とADC－

10

20

30

40

50

C L 2 A - S N 3 8 のいずれもが用量依存的に腫瘍増殖を阻害することを示している。15 mg / k g では、抗 T r o p 2 - 化合物 1 および A D C - C L 2 A - S N 3 8 は、初期処置後 2 2 日目にそれぞれ 6 6 . 6 % および 9 9 . 7 % の T G I をもって腫瘍増殖を有意に阻害した。5 mg / k g では、抗 T r o p 2 - 化合物 1 および A D C - C L 2 A - S N 3 8 のいずれもが、N C I - N 8 7 異種移植モデルにおいて約 4 5 . 0 % の有意でない腫瘍増殖阻害を示した。データは、抗 T r o p 2 - 化合物 1 がヌードマウスにおいて N C I - N 8 7 異種移植片腫瘍成長を有意に阻害したことを示している。

B x P C 3 異種移植片

【 0 3 0 4 】

抗 T r o p 2 - 化合物 1 の有効性を、A D C - C L 2 A - S N 3 8 (1 0 m g / k g) 、 P B S / ビヒクル、および抗 T r o p 2 抗体単独 (1 0 m g / k g) と比較して、3、10、および 2 5 m g / k g i . v b i w x 4 の用量レジメンを用いてヌードマウスの B x P C 3 s . c 異種移植片において評価した (図 8) 。抗 T r o p 2 - 化合物 1 の 3 つの投与量はすべて、初期処置後 2 1 日目に 8 5 ~ 1 0 0 % の T G I によって腫瘍増殖を有意に阻害した。抗 T r o p 2 - 化合物 1 の処置の用量応答は、B x P C 3 異種移植モデルでは観察されなかった。このデータは、抗 T r o p 2 - 化合物 1 がヌードマウスにおいて B x P C 3 異種移植片腫瘍成長を有意に阻害したことを示している。

【 0 3 0 5 】

上記の異種移植片研究の腫瘍成長阻害 (T G I) を表 2 に示す。

表 2 異種移植腫瘍モデルにおける A D C の腫瘍成長阻害 (T G I)

【 表 2 】

ADC	試験用量 (i.v. biw x 4)	異種移植腫瘍モデルにおけるTGI%		
		MDA-MB-468	NCI-N87	BxPC3
ADC-CL2A-SN38	15 mg/kg	n/a	*99.7% (22日目)	n/a
	10 mg/kg	*100% (77日目)	n/a	*85.4% (14日目)
	5 mg/kg	*100% (36日目)	45.1% (22日目)	n/a
	3 mg/kg	*87.3% (77日目)	n/a	n/a
	2 mg/kg	*88.6% (36日目)	n/a	n/a
抗Trop2- 化合物1	25 mg/kg	n/a	n/a	*86.4% (14日目)
	15 mg/kg	n/a	*66.6% (22日目)	n/a
	10 mg/kg	*100% (77日目)	n/a	*89.4% (14日目)
	5 mg/kg	*100% (36日目)	42.5% (22日目)	n/a
	3 mg/kg	*100% (77日目)	n/a	*82.6% (14日目)
	2 mg/kg	*95.4% (36日目)	n/a	n/a

$T G I \% = \{ 1 - [T V t d - T V t 0] / C V t d - C V t 0 \} \times 1 0 0$

T V = 処置群の腫瘍体積、C V = 対照群の腫瘍体積、

t d = 初期処置後の日数、t 0 = 処置 0 日目

* P < 0 . 0 5 、ビヒクル / P B S との D u n n e t t e の多重比較による一方向または双方向 A n o v a

実施例 B 3 : A D C 抗 T r o p 2 - 化合物 1 のインビトロ安定性

【 0 3 0 6 】

A D C - C L 2 A - S N 3 8 についての高分子量 (H M W) 凝集体および切断 / 放出された薬物-リンカーフラグメントの両方の存在を、中性リン酸緩衝液および 1 5 % イソプロパノールを含有する定組成溶離条件下で分析 S E C (東ソー T S K g e l G 3 0 0 0 S W - X l カラム) を使用して経時的にモニタリングした。試料を 2 8 0 n m の吸光度 (タ

ンパク質および薬物－リンカーの検出用) および 370 nm (薬物含有種のみを検出) の両方でモニタリングした。初期時点は、精製中の主ピーク溶出後 1 時間未満として定義され、日常的な最終処理に必要な時間を含む。最終処理工程はすべて室温で行われ、2 mg/mL 超への部分濃縮 (遠心限外濾過による)、滅菌濾過、および 6 % トレハロース / PBS への最終 ADC 希釈を含む。初期時点の後、ADC 混合物を 4 °C で 24 時間保存した後、室温で (光から保護して) さらに 144 時間 (6 日間) インキュベートした。抗 Trop2－化合物 1 の SEC 分析およびモニタリングを、ADC－CL2A－SN38 と並行して、かつ同一の様式で行った。このデータは、抗 Trop2－化合物 1 が、タンパク質凝集および自発的薬物放出の両方に関して ADC－CL2A－SN38 よりも有意に安定であることを示している (図 9)。安定性試験の結果を表 3 にまとめる。

10

表 3 ADC の安定性データ

【表 3】

インキュベーション 時間 (hr)	ADC-CL2A-SN38		抗Trop2－化合物1	
	HMW 凝集物% (280 nm)	遊離薬物放出% (370 nm)	HMW 凝集物% (280 nm)	遊離薬物放出% (370 nm)
<1	1.9	0.0	0.0	1.0
24	2.3	0.9	0.7	0.8
96	4.7	17.0	1.1	0.8
168	5.3	33.5	1.1	0.9

20

実施例 B 4 : ADC 抗 Trop2－化合物 1 のインビボ安定性

【0307】

血清中の ADC 抗 Trop2－化合物 1 のインビボ安定性を、Swiss Webster マウスを用いて 21 日間、14 の時点で評価した。端的に言えば、抗 Trop2－化合物 1 を 10 mg/mL で i.v. 投与した。全血試料 (約 150 μL) を、それぞれ 5 分、30 分、1 時間、5 時間、24 時間、48 時間、72 時間、96 時間、120 時間、168 時間、240 時間、336 時間、408 時間、および 504 時間に後眼窩静脈叢を通して採取した。各時点につき 3 匹のマウスを用いて実験を 3 連で行った (n=3)。次いで、血清を採取し、血液試料を 4 °C で 40 分間静置した後、8000 rpm で 10 分間遠心分離することによって -80 °C で保存した。

30

【0308】

抗 Trop2－化合物 1 の血漿安定性を非コンジュゲート抗 Trop2 と比較した。コンジュゲート化抗 Trop2－化合物 1 の量は、ADC 抗 Trop2－化合物 1 の総抗体の量と厳密に一致することが見出され、これは、SN-38 が ADC から血漿中に有意に放出されなかったことを示す (図 10)。したがって、抗 Trop2－化合物 1 は血漿中で安定である。

40

実施例 B 5 : 抗体薬物複合体 (ADC) 抗 Trop2－化合物 1 および ADC－CL2A－SN38 の薬物動態 / 薬力学

【0309】

この実験の目的は、カニクイザルへの反復静脈内注入後の ADC 抗 Trop2－化合物 1 および ADC－CL2A－SN38 の薬物動態パラメータを評価することであった。

【0310】

実験計画合計 12 匹のカニクイザル (*Macaca fascicularis*) をこの実験に使用した。カニクイザル (雄 6 匹、雌 6 匹) を 3 群に分けた。各群は 2 匹の雌および 2 匹の雄を有した。第 1 群は ADC－CL2A－SN38 で処置し、第 2 群および第 3 群は抗 Trop2 化合物 1 で処置した。ADC の反復静脈内注入を 1 日目および 4 日目

50

に投与した。ADCを60mg/kg（薬物濃度：6mg/mL）の用量で投与した。以下のように動物から血液試料を採取した。第1群および第2群－1日目（ADC投与前）、4日目（ADC投与前）、4日目のADC投与後5分、30分、2時間、4時間、8時間、24時間、48時間、72時間、120時間、および168時間、第3群－1日目（ADC投与前）、4日目（ADC投与前）、4日目のADC投与後5分、30分、2時間、4時間、8時間、24時間、48時間、72時間、120時間、168時間、240時間および336時間。

【0311】

各時点で後肢または前肢の静脈から約0.8mLの血液の試料を採取した。各血液試料を室温で分離ゲルおよび凝固剤を含むサンプルチューブに移し、2時間以内に遠心分離した（1500g、室温、10分）。遠心分離した血清を新しい遠心管に移し、-70℃未満で保存した。

10

【0312】

全抗体濃度は、検出抗体（LLOQ：19.5ng/mL）としてヤギ抗ヒトIgG Fc交差吸着二次抗体－HRPと共にヒトTROP2/TACSTD2タンパク質（His Tag）抗原を使用して求めた。抗SN38抗体とヤギ抗ヒトIgGサル抗体（LLOQ：19.5ng/mL）との組み合わせを用いて、ADC－CL2A－SN38のコンジュゲート抗体濃度を測定した。抗SN38抗体とヤギ抗ヒトIgGサル抗体（LLOQ：19.5ng/mL）との組み合わせを用いて、ADC抗Trop2－化合物1のコンジュゲート抗体の濃度を求めた。遊離または非結合SN－38を、LC－MS/MS（LLOQ：0.200ng/mL）を使用して定量的に測定した。

20

【0313】

データは、Watson LIMS v. 7.5 SP1（Thermo Science Inc.）ソフトウェアを使用して処理した。試料濃度は、分析バッチ標準曲線のフィッティングから得られた方程式に基づいて、Watsonの計算モジュールを使用して算出した。WinNonLin v 5.2.1（Pharsight Inc.）ソフトウェアを使用して、薬物代謝パラメータを分析した（Noncompartmental Analysis）。

【0314】

結果総抗体、コンジュゲート抗体および遊離SN－38の量を以下の表4にまとめる。このデータは、カニクイザルへのADC－CL2A－SN38の投与が有意な量の遊離SN－38（すなわち、非結合薬物）の放出をもたらす一方で、ADC抗Trop2－化合物1からは少量の遊離SN－38しか放出されないことを示している。

30

表4 血液試料中の総抗体、コンジュゲート抗体および遊離SN－38

40

50

【表 4】

日	時間	ADC-CL2A-SN38 (n=4)*			抗Trop2-化合物1 (n=8)*		
		総抗体 ($\mu\text{g/mL}$)	コンジュゲート抗体 ($\mu\text{g/mL}$)	SN-38 ($\mu\text{g/mL}$)	総抗体 ($\mu\text{g/mL}$)	コンジュゲート抗体 ($\mu\text{g/mL}$)	SN-38 ($\mu\text{g/mL}$)
1	0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
4	0	486 $\pm$ 39.6	115 $\pm$ 76.7	216 $\pm$ 70.1	74.9 $\pm$ 28.3	49.9 $\pm$ 19.1	BQL
4	5 m	1930 $\pm$ 370	1610 $\pm$ 156	2145 $\pm$ 186.3	1810 $\pm$ 145	1480 $\pm$ 313	3.4 $\pm$ 0.9
4	30 m	1720 $\pm$ 193	1520 $\pm$ 243	1930 $\pm$ 331.3	1610 $\pm$ 112	1320 $\pm$ 266	3.8 $\pm$ 1.7
4	2 h	1820 $\pm$ 392	1590 $\pm$ 257	1710 $\pm$ 340.9	1330 $\pm$ 106	1110 $\pm$ 198	9.3 $\pm$ 5.4
4	4 h	1470 $\pm$ 190	1560 $\pm$ 296	1668 $\pm$ 443.7	1040 $\pm$ 77.8	893 $\pm$ 119	10.0 $\pm$ 3.8
4	8 h	1340 $\pm$ 161	1540 $\pm$ 340	1388 $\pm$ 252.6	770 $\pm$ 63.6	690 $\pm$ 119	15.2 $\pm$ 9.4
4	24 h	1100 $\pm$ 62.9	1360 $\pm$ 334	771 $\pm$ 146.2	330 $\pm$ 73.6	274 $\pm$ 61.2	1.3 $\pm$ 0.5
4	48 h	972 $\pm$ 105	566 $\pm$ 171	566 $\pm$ 79.9	182 $\pm$ 66.6	148 $\pm$ 38.7	0.3 $\pm$ 0.1
4	72 h	810 $\pm$ 91.0	148 $\pm$ 52.7	142 $\pm$ 92.1	130 $\pm$ 44.5	96.1 $\pm$ 41.4	0.2 $\pm$ 0.0
4	120 h	487 $\pm$ 22.3	8.96 $\pm$ 3.99	12 $\pm$ 2.9	64.9 $\pm$ 30.6	53.1 $\pm$ 23.4	BQL
4	168 h	209 $\pm$ 178	1.40 $\pm$ 0.447	2 $\pm$ 0.3	41.4 $\pm$ 20.6	26.3 $\pm$ 10.4	BQL
4	240h	N.A.	N.A.	N.A.	20.8 $\pm$ 13.1	10.1 $\pm$ 8.81	BQL
4	336 h	N.A.	N.A.	N.A.	6.72 $\pm$ 6.23	2.22(0.218~9.48) ^{&}	BQL
4	408 h	N.A.	N.A.	N.A.	0.401(0.0212~7.10) ^{&}	0.219(BQL~2.52) ^{&}	BQL
4	504 h	N.A.	N.A.	N.A.	BQL(BQL~2.49) ^{&}	BQL(BQL~1.30) ^{&}	BQL

*データを平均±標準偏差として示す。BQL=定量限界未満、N. A. =該当なし／測定せず。
中央値として示される、100%より大きい[&]C. V. % (変動係数)。

【0315】

ADC-CL2A-SN38 ADCおよび抗Trop2-化合物1をカニクイザルに投与した後の総抗体、コンジュゲート抗体、および遊離SN-38の薬物動態パラメータをまとめたものを表5に示す。

表5 ADCの薬物動態パラメータ

10

20

30

40

50

【表 5】

PK パラメータ	ユニット	ADC-CL2A-SN38			抗Trop2-化合物1		
		総抗体	コンジュゲート抗体	SN-38	総抗体	コンジュゲート抗体	SN-38
K_{el}	1/hr	0.0137 ± 0.00851	0.0508 ± 0.00332	0.0438 ± 0.00769	0.0154 ± 0.00383	0.0178 ± 0.00650	0.0607 ± 0.0348
$t_{1/2}$	hr	62.1 ± 25.8	13.7 ± 0.854	16.2 ± 2.53	47.1 ± 10.2	43.2 ± 13.9	16.1 ± 10.8
$T_{max}^{\#}$	hr	$0.0833 \sim 2$	$0.0833 \sim 8$	2.63 ± 1.70	0.0833	0.0833	6.75 ± 2.38
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	2010 ± 332	1690 ± 277	2018 ± 295^a	1810 ± 145	1480 ± 313	15.7 ± 7.82^a
$AUC_{(0-168)}$	$\text{hr}^* \mu\text{g/mL}$	122000 ± 6850	71100 ± 17200	57935 ± 12326^a	34900 ± 7110	28800 ± 5700	235 ± 122^a
$AUC_{(0-504)}$	$\text{hr}^* \mu\text{g/mL}$	N.A.	N.A.	N.A.	39700 ± 9710	34600 ± 2080	243 ± 89.7^a
$AUC_{(0-\text{inf})}$	$\text{hr}^* \mu\text{g/mL}$	151000 ± 18500	71200 ± 17300	58039 ± 12432^a	38400 ± 9270	30800 ± 6580	246 ± 98.3^a
$AUC_{(t-\text{inf})}$	%	18.3 ± 13.3	0.103 ± 0.115	0.159 ± 0.133	3.64 ± 4.11	3.06 ± 3.74	3.31 ± 3.24
V_d	mL/kg	34.5 ± 11.7	17.4 ± 4.33	N.A.	108 ± 19.7	124 ± 43.3	N.A.
CL	mL/hr/kg	0.401 ± 0.0553	0.876 ± 0.184	N.A.	1.64 ± 0.361	2.04 ± 0.527	N.A.
MRT_{inf}	hr	93.5 ± 27.8	26.4 ± 1.43	N.A.	53.6 ± 13.3	47.4 ± 12.2	N.A.

N. A. = 該当せず

値の範囲によって示される

a SN-38の単位は $\text{hr}^* \text{ng/mL}$ である

10

20

30

40

考察

【0316】

カニクイザルに 60 mg/kg の ADC-CL2A-SN38 を静脈内投与した後、総抗体およびコンジュゲート抗体のピーク濃度 (C_{max}) は、同一用量で投与した抗Trop2-化合物1のピーク濃度よりわずかに高かった。さらに、総抗体およびコンジュゲート抗体の曝露レベル (AUC) は、抗Trop2-化合物1よりもADC-CL2A-SN38の方が有意に高かった。

【0317】

遊離SN-38の放出は、抗Trop2-化合物1からよりもADC-CL2A-SN

50

38からの方が有意に高かった。具体的には、ADC-CL2A-SN38からの遊離SN-38の放出は、抗Trop2-化合物1から得られた対応するピーク濃度 (C_{max}) よりも約129倍大きいピーク濃度をもたらし、抗Trop2-化合物1から得られた対応するAUCパラメータよりも約247倍大きいAUC値をもたらした。さらに、ADC-CL2A-SN38の総抗体の半減期 ($t_{1/2}$) は、抗Trop2-化合物1の半減期よりもわずかに長い、遊離SN-38の急速な放出により、ADC-CL2A-SN38コンジュゲート抗体の半減期は、抗Trop2-化合物1コンジュゲート抗体の半減期よりも有意に短い。抗Trop2-化合物1の総抗体およびコンジュゲート抗体の半減期は、約40時間と同程度である。さらに、ADC-CL2A-SN38についての総抗体対コンジュゲート抗体のAUC ($0 \sim inf$) 比は2.1であるのに対して、抗Trop2-化合物1についての対応する値は1.2である。

10

【0318】

合わせて、このデータは、抗Trop2-化合物1がADC-CL2A-SN38よりも大きいインビボ安定性を有し、遊離SN-38をより少なく放出することを示す。SN-38の解離は、SN-38ベースのADCで処置された対象における高い有害事象頻度に関連するため、抗Trop2-化合物1は、ADC-CL2A-SN38と比較して改善された安全性を提供する。

実施例B6：抗体薬物複合体 (ADC) 抗Trop2-化合物1およびADC-CL2A-SN38の毒性試験

【0319】

この実験の目的は、カニクイザルへの反復静脈内注入後のADC抗Trop2-化合物1およびADC-CL2A-SN38の毒性プロファイルを評価することであった。

20

実験計画

【0320】

合計12匹のカニクイザル (*Macaca fascicularis*) をこの実験に使用した。カニクイザルを動物の体重に応じて無作為に3群 (4匹/群、雄および雌) に分けた。

【0321】

ADCの反復静脈内注入を1日目および4日目に投与した。ADCを60mg/kgの用量で投与した。

30

【0322】

第1群の動物を1日目および4日目にADC-CL2A-SN38で処置した。第2群および第3群の動物を1日目および4日目に抗Trop2-化合物1で処置した。ADCを、10mL/kgの投与容量およびおよそ0.33mL/分/kgの投与速度を用いて動物に静脈内投与した。第1群および第2群の動物を、最終ADC処置の1週間後 (12日目) に安楽死させた。第3群の動物を、最終ADC処置の4週間後 (30日目) に安楽死させた。実験中、臨床所見、体重、体温、心電図、血球数、凝固機能、血液生化学、一般的な解剖学的構造、組織病理、およびトキシコキネティックスを調べた。

結果

【0323】

死亡/瀕死 実験中、ADC-CL2A-SN38で処置した1匹の雄動物が11日目に死亡したことが分かった。死亡した動物の一般的な解剖学的構造は、小さい胸腺を示し、組織病理学的検査は、胸腺のびまん性皮質および髄様細胞の数の減少 (一般的な解剖学的構造の結果と一致する) および脾臓白髄多巣性細胞の数のわずかな減少を示した。死亡した動物は、8日目および9日目に少量の黄色軟便を有することが臨床的に観察され、9日目にエネルギー不足、臥位、自発活動の低下、および青ざめた頬を示した。抗Trop2-化合物1で処置した動物のいずれも死亡せず、瀕死状態に見受けられなかった。

40

【0324】

臨床観察 実験中、ADC-CL2A-SN38で処置した動物群は、7日目から黄色軟便、青ざめた頬および歯肉、歯肉の出血などの異常な臨床症状を示し始めた。抗Tro

50

p 2－化合物 1 で処置した動物群は、7 日目から、青ざめた歯肉および頬、出血した歯肉、並びに生殖器腫脹の異常な臨床兆候を示し始めた。

【0325】

体重 処置前（－3 日目）と比較して、第 1 群の ADC－CL2A－SN38 で処置した 1 匹の雄動物は、その体重の約 9.2 % を減少させ（7 日目）、1 匹の雌動物は、その体重の約 9.9 % を減少させた（7 日目）。抗 Trop 2－化合物 1 で処置した動物は、有意な異常な体重変化を示さなかった。

【0326】

体温および心電図 実験中、ADC－CL2A－SN38 または抗 Trop 2－化合物 1 のいずれかで処置した動物はいずれも、体温または心電図パラメータおよび波形の有意な異常な変化を示さなかった。

10

【0327】

血球数 処置前（－2 日目）と比較して、ADC－CL2A－SN38 で処置した動物は、白血球、好中球、リンパ球および単球の減少を示した。これらの細胞は、抗 Trop 2－化合物 1 で処置した雄および雌動物においては有意に減少しなかった。処置前（－2 日目）と比較して、ADC－CL2A－SN38 で処置した動物は、赤血球、ヘモグロビン、および赤血球比容積の減少を示した（5 日目および／または 12 日目）。これらの細胞は、抗 Trop 2－化合物 1 で処置した雄および雌動物においては有意に減少しなかった。これらの細胞数の変化は、骨髓阻害に関連し得る。処置前（－2 日目）と比較して、ADC－CL2A－SN38 で処置した 2 匹の雌動物の血小板数は増加した（105.7 % および 44.6 %、12 日目）。

20

【0328】

凝固機能 処置前（－2 日目）と比較して、ADC－CL2A－SN38 で処置した動物では 12 日目にフィブリノーゲンの量が増加した。抗 Trop 2－化合物 1 で処置した動物ではフィブリノーゲン量も増加し、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）も増加した。

【0329】

血液生化学 処置前（－2 日目）と比較して、ADC－CL2A－SN38 または抗 Trop 2－化合物 1 で処置した動物は、2 日目および 5 日目に総ビリルビン（TBil）の増加を示し、12 日目にアルブミンの減少を示した。

30

【0330】

一般的小および組織学的病理検査 ADC－CL2A－SN38 で処置した 3 匹の動物の処置終了時の安楽死（12 日目）によって、動物が小さい胸腺を有することがわかり、これは、胸腺における皮質細胞数の軽度から中程度の減少およびミエリン細胞数の減少についての顕微鏡観察結果に対応する。胸腺の一般的な病変は、その病変の発生率および程度が高いため、ADC－CL2A－SN38 に関連している可能性が高い。抗 Trop 2－化合物 1 で処置した 2 匹の雌動物の処置終了時の安楽死（12 日目）および抗 Trop 2－化合物 1 で処置した 1 匹の雄動物の処置終了時の安楽死（30 日目）によって、胸腺の皮質びまん性細胞がわずかに減少していることがわかった。そのような病変は、カニクイザルにおいて背景病変として一般に観察され、病変の程度は比較的軽度であったので、それは抗 Trop 2－化合物 1 に関係があるかもしれないし、関係がないかもしれない。

40

考察

【0331】

カニクイザルへの 60 mg / kg の用量の ADC－CL2A－SN38 の反復静脈内注入は、動物の死をもたらし得る。主な毒性作用は、(i) 体重減少、(ii) 白血球、好中球、リンパ球、単球、赤血球、ヘモグロビン、HCT、網およびアルブミンの減少、ならびに (iii) 血小板、フィブリノーゲンおよび総ビリルビンの増加、である。毒性の主な標的器官は胸腺および脾臓である。対照的に、抗 Trop 2－化合物 1 の投与は、有意に少ない毒性作用しかもたらさない。したがって、抗 Trop 2－化合物 1 は、ADC－CL2A－SN38 よりも毒性に関して改善を提供する（すなわち、毒性が低い）。

50

【0332】

前述の発明は、理解を明確にするために例示および例としてある程度詳細に説明してきたが、それらの説明および例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書で引用されるすべての特許および科学文献の開示は、参照によりその全体が本明細書に明示的に組み込まれる。

配列表

【表6】

配列番号	説明	配列
1	抗Trop2抗体 VL HVR1	KASQDVSIAVA
2	抗Trop2抗体 VL HVR2	SASYRYT
3	抗Trop2抗体 VL HVR3	QQHYITPLT
4	抗Trop2抗体 VH HVR1	NYGMN
5	抗Trop2抗体 VH HVR2	WINTYTGEPTYTDDFKG
6	抗Trop2抗体 VH HVR3	GGFGSSYWYFDV
7	抗Trop2抗体 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIKR
8	抗Trop2抗体 VH	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPT TYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWYFV
9	例示的なヒトTrop2配列 (UniProt受託番号P09758)	MARGPGLAPPPLRLPLLLLLVLAAVTGHTAAQDNCTCPTNKMTVCSPDGGPGGRQCRAI GSGMAVDCSTLTSTKCLLLKARMSAPKNARTLVRPSEHALVDNDGLYDPDCDPEGRFKA RQCNQTSVCWCVNSVGVRRTDKGDLRLCDELVRTHHILIDLRHRPTAGAFNHSDLDA ELRRLFRERYRLHPKFVAHVHYEQPTIQIELRQNTSQKAAGDVIDGAAYYFERDIKG ESLFGQGRGGLDLVRGEPLQVERTLIYYLDEIPPKEFSMKRLTAGLIAVIVVVVALVA GMAVLVITNRRKSGKYKKVEIKELGELRKEPSL

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1 - 1】

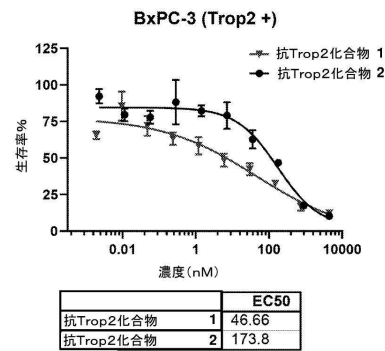


Fig. 1A

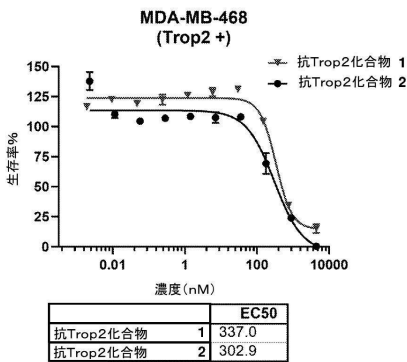


Fig. 1B

【図 1 - 2】

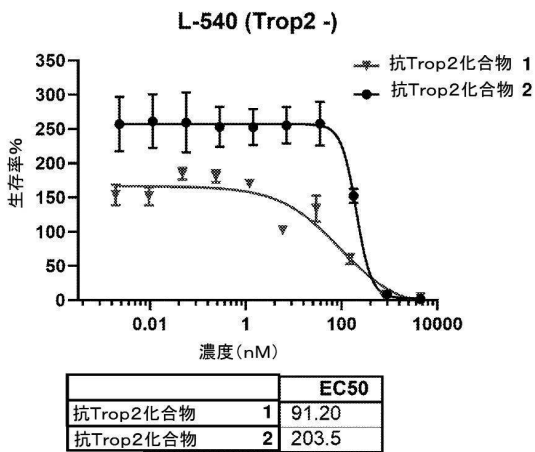


Fig. 1C

【図 2 - 1】

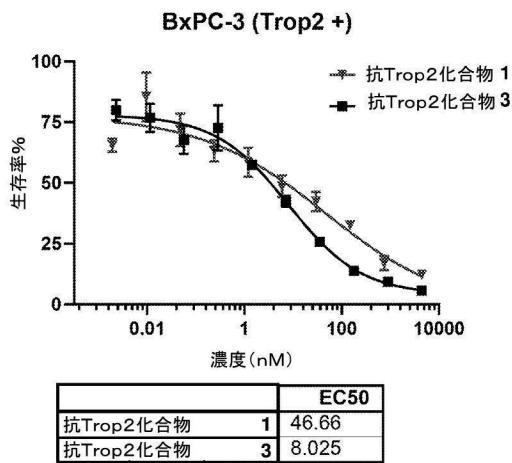


Fig. 2A

【図 2 - 2】

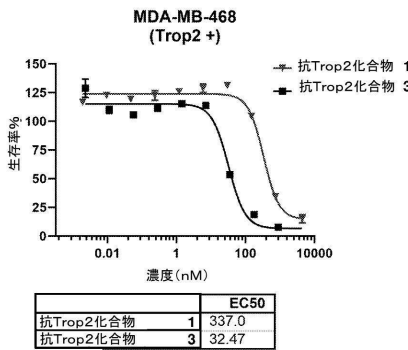


Fig. 2B

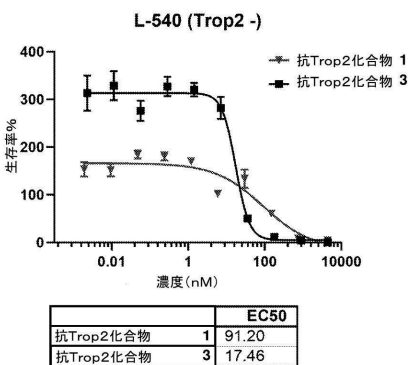


Fig. 2C

【図 3 - 1】

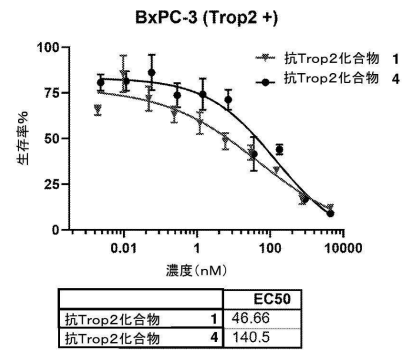


Fig. 3A

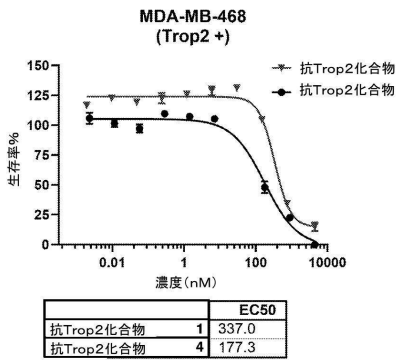


Fig. 3B

【図 3 - 2】

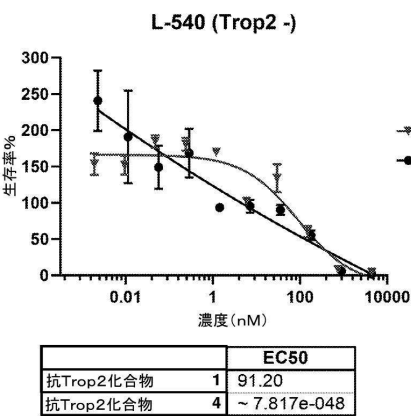


Fig. 3C

【図 4 - 1】

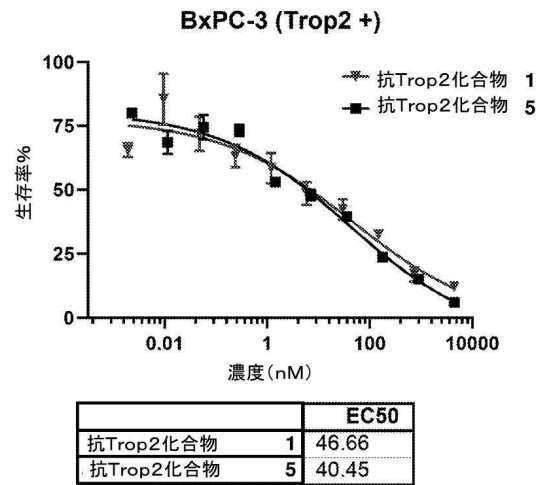


Fig. 4A

【図 4 - 2】

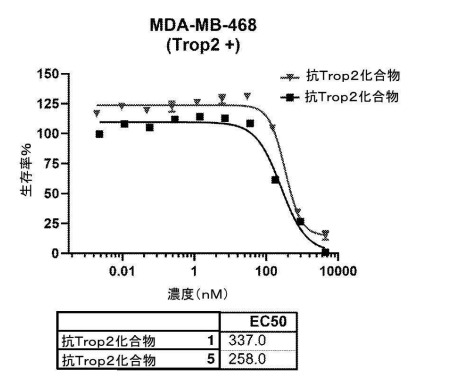


Fig. 4B

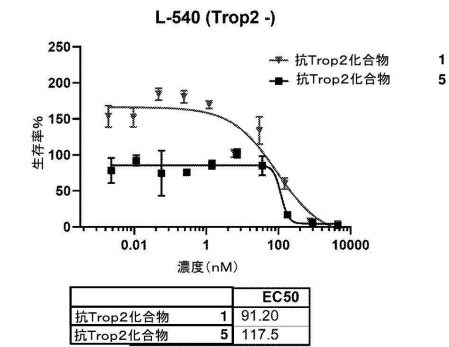


Fig. 4C

10

20

30

40

50

【図 5 - 1】

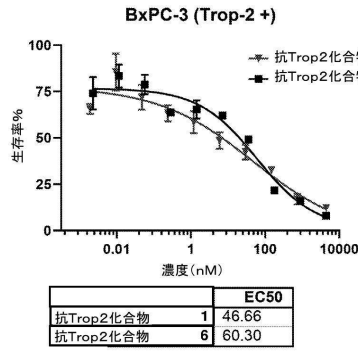


Fig. 5A

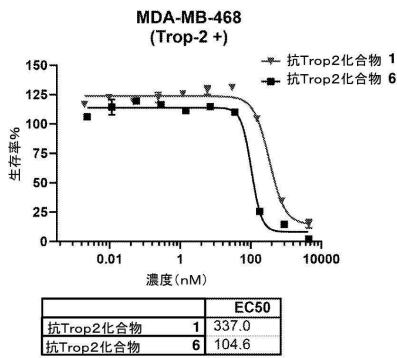


Fig. 5B

【図 5 - 2】

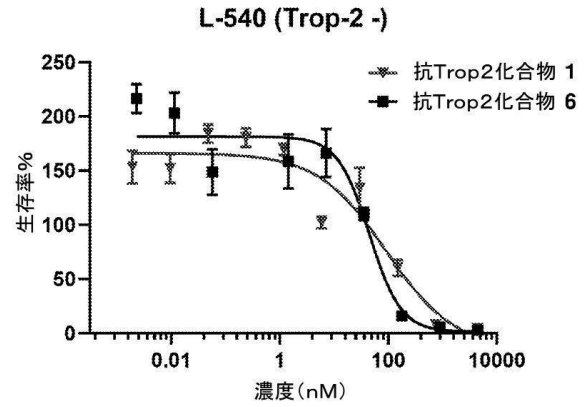


Fig. 5C

【図 6 - 1】

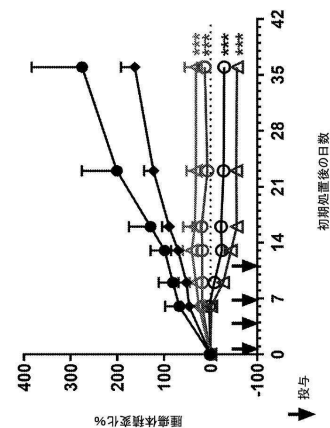
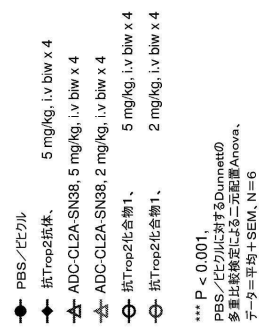


Fig. 6A

【図 6 - 2】

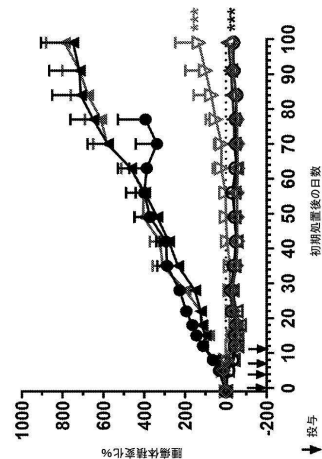
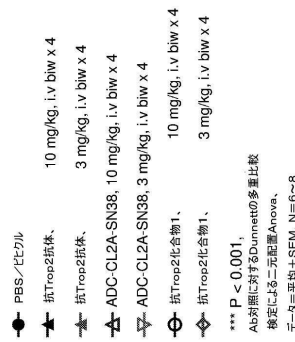


Fig. 6B

10

20

30

40

50

【図 7】

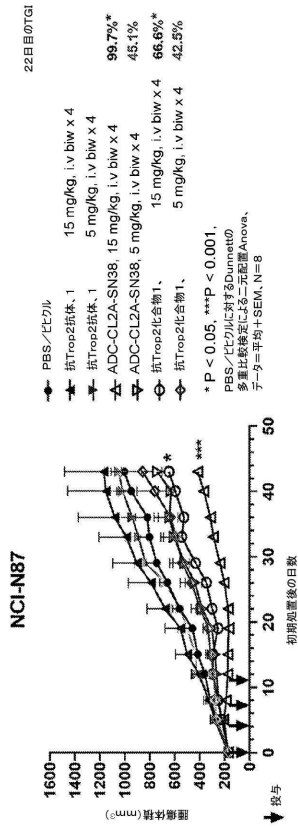


Fig. 7

【図 8】

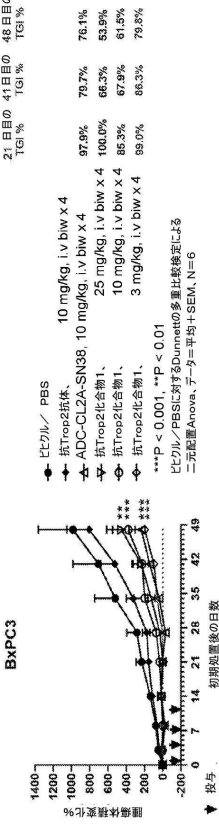


Fig. 8

【図 9】

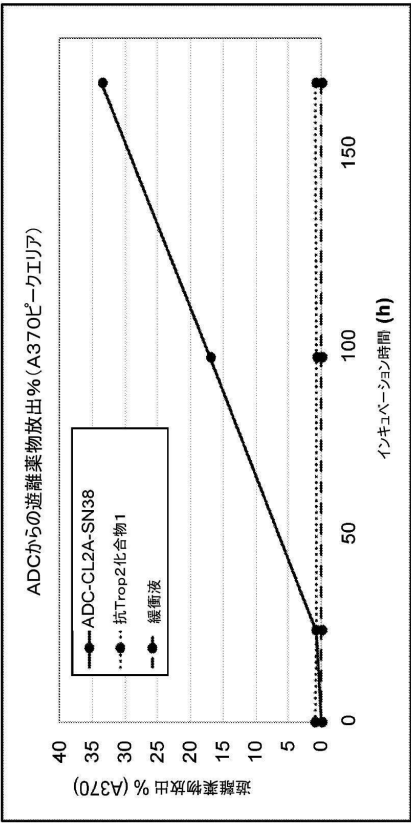


Fig. 9

【図 10】

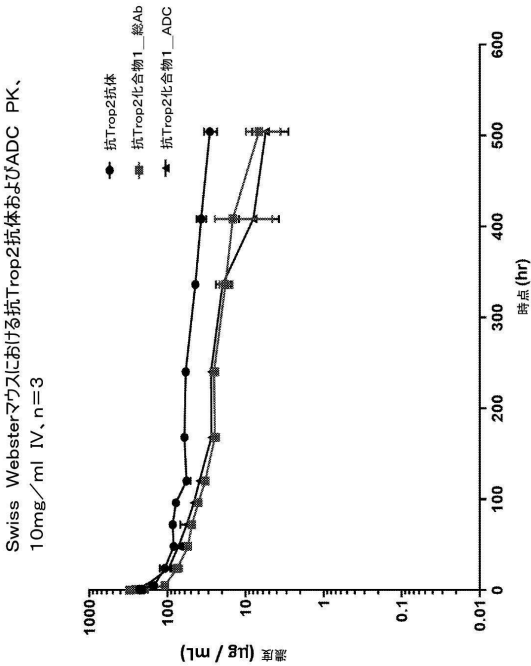


Fig. 10

10

20

30

40

50

【配列表】

2023527962000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/030198

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/68 A61P35/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DEONARAIN M P: "Preparation of drug conjugates and biological materials and their therapeutic uses", W02016046574 A1, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 1-8, XP055820787,	1,2,4-43
Y	abstract	1-44
X	-& WO 2016/046574 A1 (ANTIKOR BIOPHARMA LTD [GB]) 31 March 2016 (2016-03-31)	1,2,4-43
Y	abstract page 28, paragraph 2 claim 26 examples 55,78,79 compounds 139-141 figures 103,104	1-44
	----- -/-	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
5 July 2021		14/07/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Eberhard, Michael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/030198

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIU J: "Preparation of anti-human c-met antibodies and immunoconjugates with cytotoxic agents for treatment of c-Met-associated disease or cancer", W02016165580 A1, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 1-2, XP055820785,	1-44
Y	abstract -& W0 2016/165580 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO [CN] ET AL.) 20 October 2016 (2016-10-20) abstract compounds ADC-11 -----	1-44

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/030198

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/030198

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016046574	A1	31-03-2016	AU 2015323539 A1 06-04-2017
			CA 2999384 A1 31-03-2016
			CN 106999605 A 01-08-2017
			EP 3197501 A1 02-08-2017
			JP 2018502047 A 25-01-2018
			JP 2021063124 A 22-04-2021
			US 2017360951 A1 21-12-2017
			WO 2016046574 A1 31-03-2016

WO 2016165580	A1	20-10-2016	NONE

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 15/14 (2006.01)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)

A 6 1 P 35/04
A 6 1 P 15/14
C 0 7 K 16/28
C 1 2 N 15/13

Z N A

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ジュー, トン

中華人民共和国 2 1 5 1 2 3 ジアンスー, スジョウ, エスアイピー, シンフー ストリート
ナンバー 2 1 8, ビー8-3 0 1

(72)発明者 カサノフ, アリシェル ビー.

中華人民共和国 2 1 5 1 2 3 ジアンスー, スジョウ, エスアイピー, シンフー ストリート
ナンバー 2 1 8, ビー8-3 0 1

(72)発明者 リー, ファイ

中華人民共和国 2 1 5 1 2 3 ジアンスー, スジョウ, エスアイピー, シンフー ストリート
ナンバー 2 1 8, ビー8-3 0 1

(72)発明者 グオ, マオジュン

中華人民共和国 2 1 5 1 2 3 ジアンスー, スジョウ, エスアイピー, シンフー ストリート
ナンバー 2 1 8, ビー8-3 0 1

(72)発明者 リー, ハイホン

中華人民共和国 2 1 5 1 2 3 ジアンスー, スジョウ, エスアイピー, シンフー ストリート
ナンバー 2 1 8, ビー8-3 0 1

(72)発明者 シュー, チュアンイン

中華人民共和国 2 0 0 1 2 0 シャンハイ, プドン, ツァイルン ロード 7 8 1, スイート 7 1 0

(72)発明者 ヘ, フェン

中華人民共和国 2 0 0 1 2 0 シャンハイ, プドン, ツァイルン ロード 7 8 1, スイート 7 1 0

(72)発明者 ジョウ, チン

中華人民共和国 2 0 0 1 2 0 シャンハイ, プドン, ツァイルン ロード 7 8 1, スイート 7 1 0

F ターム (参考) 4C076 AA11 BB11 BB13 BB16 CC17 CC27 CC41 EE59

4C085 AA13 AA14 AA21 BB42 CC23 EE01 EE03 GG01 GG02 GG04

4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 MA17 MA66 NA10 NA14 ZA81

ZB26 ZC75

4H045 AA10 AA20 AA30 BA51 CA40 DA76 EA20