

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-514287
(P2025-514287A)

(43)公表日 令和7年5月2日(2025.5.2)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	E	4 C 0 7 6
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 4
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02		4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04		4 C 0 8 6
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全79頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-563535(P2024-563535)	(71)出願人	596115687
(86)(22)出願日	令和5年4月27日(2023.4.27)		ザ チルドレンズ メディカル センター
(85)翻訳文提出日	令和6年12月27日(2024.12.27)		コーポレーション
(86)国際出願番号	PCT/US2023/066283		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(87)国際公開番号	WO2023/212632		2 1 1 5, ボストン, シャタック・ス
(87)国際公開日	令和5年11月2日(2023.11.2)		トリート 5 5
(31)優先権主張番号	20220100349	(71)出願人	501484851
(32)優先日	令和4年4月27日(2022.4.27)		ケンブリッジ・エンタープライズ・リミ
(33)優先権主張国・地域又は機関	ギリシャ(GR)		テッド
			C A M B R I D G E E N T E R P R I
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ		S E L I M I T E D
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),		英国シービー2・1ティエヌ、ケンブリ
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(		ッジシャー、ケンブリッジ、トリニティ
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,		・レイン、ジ・オールド・スクールズ
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV	(74)代理人	110003971
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗ヌクレオフォスミン1抗体と抗体の抱合体の併用治療

(57)【要約】

本明細書に提供されるのは、ヌクレオフォスミン1(NP M1)に特異的な抗体(これらは細胞の表面上に位置付けられたヌクレオフォスミン1へ結合することが可能である)、ならびにかかる抗体を含む抗体-薬物抱合体(ADC)である。また本明細書に提供されるのは、対象へ、本明細書に記載のNPM1結合抗体または抗体抱合体と化学治療用薬物とを投与することによって、NPM1ががん細胞の表面上に発現されているがんを処置する方法もある。

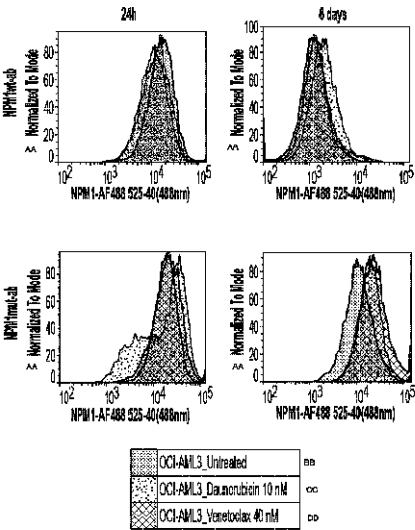


FIG. 9C

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヌクレオフォスミン1(NPM1)を発現するがんを処置する方法であって、方法が、これを必要とする対象へ、NPM1へ結合する有効量の抗体と、化学治療用薬物とを投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

NPM1を発現するがんを処置する方法であって、方法が、これを必要とする対象へ、NPM1へ結合する有効量の抗体を投与することを含み、ここで対象が、化学治療用薬物の処置を受けているか、または受けたことがある、前記方法。

【請求項 3】

NPM1を発現するがんを処置する方法であって、方法が、これを必要とする対象へ、有効量の化学治療用薬物を投与することを含み、ここで対象が、NPM1へ結合する抗体での処置を受けているか、または受けたことがある、前記方法。

【請求項 4】

抗体が、次：

アミノ酸配列NIFVH(配列番号1)を含む重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)1、アミノ酸配列KIDPANDNTKFAPNFQG(配列番号2)を含むHC CDR2、およびアミノ酸配列DSSGYDAVDY(配列番号3)を含むHC CDR3を含む重鎖可変領域；ならびに

アミノ酸配列RASESVITYLA(配列番号9)を含む軽鎖(LC)CDR1、アミノ酸配列NAKTLTE(配列番号10)を含むLC CDR2、およびアミノ酸配列QHGYGTPYT(配列番号11)を含むLC CDR3を含む軽鎖可変領域を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

重鎖可変領域が、配列番号28に記述されるアミノ酸配列を含むか、および/または軽鎖可変領域が、配列番号29に記述されるアミノ酸配列を含む、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

抗体が、次：

アミノ酸配列SYAMS(配列番号15)を含む重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)1、アミノ酸配列AISGSGGSTYYADSVKG(配列番号16)を含むHC CDR2、およびアミノ酸配列WRNNAFDY(配列番号17)を含むHC CDR3を含む重鎖可変領域；ならびに

アミノ酸配列QGDSLRSYYAS(配列番号22)を含む軽鎖(LC)CDR1、アミノ酸配列GKNRPS(配列番号23)を含むLC CDR2、およびアミノ酸配列NSSPRLKHRVV(配列番号24)を含むLC CDR3を含む軽鎖可変領域を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

重鎖可変領域が、配列番号30に記述されるアミノ酸配列を含むか、および/または軽鎖において可変領域が、配列番号31に記述されるアミノ酸配列を含む、請求項6に記載の方法。

【請求項 8】

抗体が、完全長抗体またはその抗原結合性フラグメントである、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

抗体が、免疫グロブリンG(IgG)、免疫グロブリンA(IgA)、免疫グロブリンD(IgD)、免疫グロブリンE(IgE)、および免疫グロブリンM(IgM)から選択される完全長抗体である、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

抗体が、IgGである、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

抗体が、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Igモノマー、Fdフラグメント、scFv、scAb、dAb、Fv、アフィボディ、ダイアボディ、単ドメイン重鎖抗体、および

10

20

30

40

50

単一ドメイン軽鎖抗体から選択される抗原結合性フラグメントである、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

抗体が、ヒト抗体またはヒト化抗体である、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

抗体が、重鎖定常領域をさらに含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

重鎖定常領域が、配列番号32に記述されるアミノ酸配列を含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

抗体が、軽鎖定常領域をさらに含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

軽鎖定常領域が、配列番号33または配列番号34に記述されるアミノ酸配列を含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

抗体が、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖および/または配列番号37のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項13～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

抗体が、配列番号36のアミノ酸配列を含む重鎖および/または配列番号38のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項13～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

抗体が、配列番号44のアミノ酸配列を含む重鎖および/または配列番号45のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項13～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

抗体が、野生型NPM1へ優先的に結合する、請求項4、5および8～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

抗体が、突然変異体NPM1へ優先的に結合する、請求項6～16および18～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

抗体が、薬剤へ抱合されている、請求項1～21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

薬剤が、薬物である、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

薬物が、アウリスタチンE、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、アクチノマイシン、アクチノマイシンX2、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アエロプリシニン、アルドキソルピシン、アグロケリン、アンサトリエニン、アンサマイトシンP-3、アフジコリン、アポトリジン、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、バフィロマイシンA1、バフィロマイシンB1、バフィロマイシンB2、バフィロマイシンC1、バフィロマイシンC2、バフィロマイシンD、バフィロマイシンE、カリケアミシン、カンパテシン、ケトシン、ケトグロボシン、クラミドシン、シネルピンB、クラドリピン、コルヒチン、コンプレタスタチンA1、コンプレタスタチンA4、コルジセピン、クリプトフィシン、ククルビタシンB、ククルビタシンE、クルブリン、シクロパミン、シクロホスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デシタピン、デキサメタゾン、ドラスタチン10、ドラスタチン15、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンDM、ドキソルピシン、エングレリンA、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エトポシド、フルダラビン、フマギリン、ゲルダナマイシン、タネスピマイシン(17-AAG)、グルコピエリシ

10

20

30

40

50

ジンA、グラミシジンA、ヘルボキシジエン、9-ヒドロキシエリプチシン、ヒドロキシ尿素、ハイグロリジン、ハイポテマイシン、イダルピシン、イリマキノン、イサトロポロンA、イソフィスツラリン-3、イキサベピロン、JW55、ラクタシスチン、ルイソールA、メイタンシノール、メルタンシン(DM1)、メイタンシンDM3、ラブタンシン(DM4)、メイタンシノイドAP-3、メケルカルマイシンA、メンサカルシン、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、マイクロコリンB、マイクロシスチンLR、ミトキサントロン、ムスコトキシシンA、ミオセベリン、マイトキシシンB、ネララビン、ネモルピシン、ノクオリンA、オキラクトマイシン、オリゴマイシンA、オリゴマイシンB、パクリタキセル、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、テセタキセル、ファラシジン、ファロイジン、フィトスフィンゴシン、ピエリシジンA、ピロネチン、ポドフィロトキシシン、ポリケトマイシン、プレドニゾン、プソイドラリン酸B、シューロチンA、プワイナフィシンF、ピロロベンゾジアゼピン、キナルドペプチン、ラケルマイシン、レベッカマイシン、Ro 5-3335、サフラシンB、サンドラマイシン、サンギナリン、サポリン、シネフンギン、タルトプリン、テロメスタチン、6-チオグアニン、チオコルヒチン、トリトキシシン、トリポリンA、トリプトリド、ツバスタチンA、チューブリシンA、チューブリシンM、チューブリシンIM-1、チューブリシンIM-2、チューブリシンIM-3、ベネトクラクス、およびピンクリスチンからなる群から選択される、請求項23に記載の方法。

10

【請求項25】

薬物が、サポリン、ダウノルピシン、ベネトクラクス、またはアザシチジンである、請求項24に記載の方法。

20

【請求項26】

抗体および薬物が、リンカーを介して抱合されている、請求項22～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

リンカーが、切断可能なリンカーである、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

リンカーが、pH感受性リンカー、グルタチオン感受性リンカー、またはプロテアーゼにより切断可能なリンカーである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

切断可能なリンカーが、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノアート(SPP)、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)ブタノアート(SPDB)、スルホ-SPDB、バリン-シトルリン(Val-cit)、アセチルブチラート、CL2A、マレイミドカプロイル(MC)、およびMal-EBE-Malからなる群から選択される、請求項27または28に記載の方法。

30

【請求項30】

リンカーが、切断不能なリンカーである、請求項26に記載の方法。

【請求項31】

切断不能なリンカーが、N-スクシニミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート(SMCC)およびマレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシラート(MCC)、MC-VC-PABからなる群から選択される、請求項30に記載の方法。

40

【請求項32】

抗体対薬物の比率が、1:1と1:10との間である、請求項23～31のいずれか一項に記載の方法。

【請求項33】

抗体対薬剤の比率が、1:4である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

薬剤が、放射性同位体である、請求項22に記載の方法。

【請求項35】

放射性同位体が、ヨウ素-131、レニウム-188、イットリウム-90、ビスマス-213、およびアクチニウム-225からなる群から選択される、請求項34に記載の方法。

50

【請求項 36】

NPM1発現がんが、NPM1ががん細胞の表面上に発現されているがんである、請求項1～35のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

NPM1発現がんが、化学治療用薬物の投与または化学治療用薬物での処置の結果として、NPM1ががん細胞の表面上に発現されたがんである、請求項1～36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

NPM1発現がんが、野生型NPM1および/または突然変異体NPM1ががん細胞の表面上に発現されているがんである、請求項36または37に記載の方法。

10

【請求項 39】

がんが、血液がん、肺がん、乳がん、脳がん、消化管がん、肝臓がん、腎臓がん、膀胱がん、膵臓がん、卵巣がん、精巣がん、前立腺がん、子宮内膜がん、筋肉のがん、骨がん、神経内分泌がん、結合組織がん、頭部もしくは頸部のがん、または皮膚がんからなる群から選択される、固形がんあるいは液性がんである、請求項1～38のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

がんが、急性骨髄性白血病(AML)、急性前骨髄性白血病(APL)、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、および骨髄異形成症候群(MDS)からなる群から選択される、請求項1～39のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 41】

がんが、転移性がんである、請求項1～40のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

がんが、治療関連がんまたは二次性悪性腫瘍である、請求項1～41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

がんが、治療関連AML(t-AML)、または非ホジキンリンパ腫の二次性悪性腫瘍である、請求項42に記載の方法。

【請求項 44】

化学治療用薬物が、アウリスタチンE、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、アクチノマイシン、アクチノマイシンX2、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アエロプリシニン、アルドキソルビシン、アグロケリン、アンサトリエニン、アンサマイトシンP-3、アフィジコリン、アポブトリジン、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、バフィロマイシンA1、バフィロマイシンB1、バフィロマイシンB2、バフィロマイシンC1、バフィロマイシンC2、バフィロマイシンD、バフィロマイシンE、カリケアミシン、カンパテシン、ケトシン、ケトグロボシン、クラミドシン、シネルビンB、クラドリピン、コルヒチン、コンブレタスタチンA1、コンブレタスタチンA4、コルジセピン、クリプトフィシン、ククルビタシンB、ククルビタシンE、クルブリン、シクロパミン、シクロホスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタビン、デキサメタゾン、ドラスタチン10、ドラスタチン15、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンDM、ドキソルビシン、エングレリンA、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エトポシド、フルダラビン、フマギリン、ゲルダナマイシン、タネスピマイシン(17-AAG)、グルコピエリシジンA、グラミシジンA、ヘルボキシジエン、9-ヒドロキシエリプチシン、ヒドロキシ尿素、ハイグロリジン、ハイポテマイシン、イダルビシン、イリマキノン、イサロポロンA、イソフィスツラリン-3、イキサベピロン、JW55、ラクタシスチン、ルイソールA、メイタンシノール、メルタンシン(DM1)、メイタンシンDM3、ラブタンシン(DM4)、メイタンシノイドAP-3、メケルカルマイシンA、メンサカルシン、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、マイクロコリンB、マイクロシスチンLR、ミトキサントロ

30

40

50

ン、ムスコトキシシンA、ミオセベリン、マイトキシシンB、ネララビン、ネモルピシン、ノクオリンA、オキラクトマイシン、オリゴマイシンA、オリゴマイシンB、パクリタキセル、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、テセタキセル、ファラシジン、ファロイジン、フィトスフィンゴシン、ピエリシジンA、ピロネチン、ポドフィロトキシシン、ポリケトマイシン、プレドニゾン、プソイドラリン酸B、シューロチンA、プワイナフィシンF、ピロロベンゾジアゼピン、キナルドペプチン、ラケルマイシン、レベッカマイシン、Ro 5-3335、サフラシンB、サンドラマイシン、サンギナリン、サポリン、シネフンギン、タルトプリン、テロメスタチン、6-チオグアニン、チオコルヒチン、トリトキシシン、トリポリンA、トリプトリド、ツバスタチンA、チューブリシンA、チューブリシンM、チューブリシンIM-1、チューブリシンIM-2、チューブリシンIM-3、ベネトクラクス、およびピンクリスチンからなる群から選択される、請求項1〜43のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項45】

化学治療用薬物が、サポリン、ダウノルピシン、ベネトクラクス、またはアザシチジンである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

化学治療用薬物が、がんが耐性をもつ化学治療用薬物である、請求項1〜45のいずれか一項に記載の方法。

【請求項47】

投与が、全身的または局部的に生じる、請求項1〜46のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項48】

投与が、経口的にまたは注射を介し生じる、請求項47に記載の方法。

【請求項49】

注射が、静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射、または腫瘍内注射である、請求項48に記載の方法。

【請求項50】

投与が、1日当たり1度と、6ヶ月当たり1度との間で生じる、請求項1〜49のいずれか一項に記載の方法。

【請求項51】

対象が、哺乳動物である、請求項1〜50のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項52】

対象が、ヒトである、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

投与が、抗体単独の投与と比較したとき、抗体と対象のNPM1発現がん細胞との間の増大した結合をもたらす、請求項1〜52のいずれか一項に記載の方法。

【請求項54】

投与が、抗体単独の投与と比較したとき、対象のNPM1発現がん細胞の低減された成長をもたらす、請求項1〜53のいずれか一項に記載の方法。

【請求項55】

投与が、抗体単独の投与と比較したとき、対象のNPM1発現がん細胞の増加した細胞死をもたらす、請求項1〜54のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項56】

ヌクレオフォスミン1(NPM1)を発現するがんを処置することにおける使用のための組成物であって、処置が、組成物を、これを必要とする対象へ投与することを含み、ここで組成物が、NPM1へ結合する抗体または抗体抱合体と、化学治療用薬物とを含む、前記組成物。

【請求項57】

ヌクレオフォスミン1(NPM1)を発現するがんを処置することにおける使用のための組成物であって、処置が、組成物を、これを必要とする対象へ投与することを含み、ここで組成物が、NPM1へ結合する抗体または抗体抱合体を含み、およびここで対象が、化学

50

治療用薬物での処置を受けているか、または受けたことがある、前記組成物。

【請求項58】

ヌクレオフォスミン1(NPM1)を発現するがんを処置することにおける使用のための組成物であって、処置が、組成物を、これを必要とする対象へ投与することを含み、ここで組成物が、化学治療用薬物を含み、およびここで対象が、NPM1へ結合する抗体もしくは抗体抱合体での処置を受けているか、または受けたことがある、前記組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2022年4月27日に出願された「ANTI-NUCLEOPHOSMIN 1 ANTIBODY AND ANTIBODY CONJUGATE COMBINATION THERAPIES」と題する、ギリシャ国出願第20220100349号に対する優先権の利益を主張するものであって、その内容はその全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子配列表の参照

電子配列表(C123370245WO00-SEQ-VLJ.xml;サイズ:47,000バイト;作成日:2023年4月21日)の内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

ヌクレオフォスミン1(NPM1)は、典型的には細胞の核およびサイトゾルに在るタンパク質である。しかしながら、急性骨髄性白血病(AML)などのあるがんにおいて、NPM1は、細胞表面に誤局在化され得る。いくつかのがんはまた、NPM1cと称される突然変異体NPM1の翻訳へ繋がるNPM1の突然変異によっても特徴付けられ、それは野生型NPM1よりいっそう多い分量で細胞表面に誤って局在化されている。NPM1c突然変異は、AMLをもつ患者(patient)の相当な亜集団において存在する。

【発明の概要】

【0004】

発明の概要

本開示は、ヌクレオフォスミン1(NPM1)へ特異的に結合する抗体の同定に基づく。これらの抗体は、がん細胞を包含する細胞の表面上に位置付けられた野生型(WT)および/または突然変異体のNPM1を標的化することが可能であり、かつWTおよび/または突然変異体のNPM1が細胞表面発現された細胞へ結合するのに、および任意に前記細胞に対して細胞毒性ペイロードを標的化させるのに有用である。これらの抗体、またはこれらの抗体に由来する抗体-薬物抱合体(ADC)の有効性は、化学治療用薬物(chemotherapeutic drugs)の先の投与、同時投与、および/またはそれに続く投与によって増強されてもよい。

【0005】

結果的に、本開示のいくつかの側面は、NPM1を発現するがんを処置する方法に関し、前記方法は、これを必要とする対象へ、NPM1へ結合する有効量の抗体またはADCと化学治療用薬物とを投与することを含む(comprising)。

【0006】

いくつかの側面において、本開示は、NPM1を発現するがんを処置する方法に関し、前記方法は、これを必要とする対象へ、NPM1へ結合する有効量の抗体またはADCを投与することを含み、ここで対象は、化学治療用薬物での処置を受けているか、または受けたことがある。

【0007】

いくつかの側面において、本開示は、NPM1を発現するがんを処置する方法に関し、前記方法は、これを必要とする対象へ、有効量の化学治療用薬物を投与することを含み、

10

20

30

40

50

ここで対象は、NPM1へ結合する抗体もしくはADCでの処置を受けているか、または受けたことがある。

【0008】

いくつかの態様において、抗体は、WT NPM1へ結合する。いくつかの態様において、抗体は、アミノ酸配列NIFVH(配列番号1)を含む重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)1、アミノ酸配列KIDPANDNTKFAPNFQG(配列番号2)を含むHC CDR2、およびアミノ酸配列DSSGYDAVDY(配列番号3)を含むHC CDR3を含む重鎖可変領域、ならびにアミノ酸配列RASESVYTYLA(配列番号9)を含む軽鎖(LC)CDR1、アミノ酸配列NAKTLTE(配列番号10)を含むLC CDR2、およびアミノ酸配列QHGYGTPYT(配列番号11)を含むLC CDR3を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、重鎖可変領域は、配列番号28に記述される(set forth in)アミノ酸配列を含むか、および/または軽鎖可変領域は、配列番号29に記述されるアミノ酸配列を含む。

10

【0009】

いくつかの態様において、抗体は、突然変異体NPM1へ結合する。いくつかの態様において、抗体は、アミノ酸配列SYAMS(配列番号15)を含む重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)1、アミノ酸配列AISGSGGSTYYADSVKG(配列番号16)を含むHC CDR2、およびアミノ酸配列WRNNAFDY(配列番号17)を含むHC CDR3を含む重鎖可変領域、ならびにアミノ酸配列QGDSLRSYYAS(配列番号22)を含む軽鎖(LC)CDR1、アミノ酸配列GKNNRPS(配列番号23)を含むLC CDR2、およびアミノ酸配列NSSPRLKHRVV(配列番号24)を含むLC CDR3を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、重鎖可変領域は、配列番号30に記述されるアミノ酸配列を含むか、および/または軽鎖において可変領域は、配列番号31に記述されるアミノ酸配列を含む。

20

【0010】

いくつかの態様において、抗体は、完全長抗体またはその抗原結合性フラグメントである。

いくつかの態様において、抗体は、免疫グロブリンG(IgG)、免疫グロブリンA(IgA)、免疫グロブリンD(IgD)、免疫グロブリンE(IgE)、および免疫グロブリンM(IgM)から選択される完全長抗体である。いくつかの態様において、抗体は、IgGである。

【0011】

いくつかの態様において、抗体は、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Igモノマー、Fdフラグメント、scFv、scAb、dAb、Fv、アフィボディ、ダイアボディ、単ドメイン重鎖抗体、および単ドメイン軽鎖抗体から選択される抗原結合性フラグメントである。

30

【0012】

いくつかの態様において、抗体は、ヒト抗体またはヒト化抗体である。

いくつかの態様において、抗体は、重鎖定常領域をさらに含む。いくつかの態様において、重鎖定常領域は、配列番号32または配列番号46に記述されるアミノ酸配列を含む。

【0013】

いくつかの態様において、抗体は、軽鎖定常領域をさらに含む。いくつかの態様において、軽鎖定常領域は、配列番号33、配列番号34、または配列番号47に記述されるアミノ酸配列を含む。

40

【0014】

いくつかの態様において、抗体は、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖および/または配列番号37のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号36のアミノ酸配列を含む重鎖および/または配列番号38のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの態様において、抗体は、配列番号44のアミノ酸配列を含む重鎖および/または配列番号45のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0015】

いくつかの態様において、抗体は、野生型NPM1へ優先的に結合する。いくつかの態様において、抗体は、突然変異体NPM1へ優先的に結合する。いくつかの態様において

50

、抗体は、野生型NPM1と突然変異体NPM1との両方へ結合する。

いくつかの態様において、抗体は、薬剤へ抱合されている。

【0016】

いくつかの態様において、薬剤は、薬物である。いくつかの態様において、薬物は、アウリスタチンE、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、アクチノマイシン、アクチノマイシンX2、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アエロプリシニン、アルドキシソルピシン、アグロケリン、アンサトリエニン、アンサマイトシンP-3、アフィジコリン、アポトリジン、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、バフィロマイシンA1、バフィロマイシンB1、バフィロマイシンB2、バフィロマイシンC1、バフィロマイシンC2、バフィロマイシンD、バフィロマイシンE、カリケアミシン、カンパテシン、ケトシン、ケトグロボシン、クラミドシン、シネルピンB、クラドリピン、コルヒチン、コンプレタスタチンA1、コンプレタスタチンA4、コルジセピン、クリプトフィシン、ククルビタシンB、ククルビタシンE、クルブリン、シクロパミン、シクロホスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタビン、デキサメタゾン、ドラスタチン10、ドラスタチン15、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンDM、ドキソルビシン、エングレリンA、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エトポシド、フルダラビン、フマギリン、ゲルダナマイシン、タネスピマイシン(17-AAG)、グルコピエリシジンA、グラミシジンA、ヘルボキシジエン、9-ヒドロキシエリブチシン、ヒドロキシ尿素、ハイグロリジン、ハイポテマイシン、イダルビシン、イリマキノン、イサトロポロンA、イソフィスツラリン-3、イキサベピロン、JW55、ラクタシスチン、ルイソールA、メイタンシノール、メルタンシン(DM1)、メイタンシンDM3、ラブタンシン(DM4)、メイタンシノイドAP-3、メケルカルマイシンA、メンサカルシン、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、マイクロコリンB、マイクロシスチンLR、ミトキサントロン、ムスコトキシシンA、ミオセベリン、マイトキシシンB、ネララビン、ネモルビシン、ノクオリンA、オキラクトマイシン、オリゴマイシンA、オリゴマイシンB、バクリタキセル、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、テセタキセル、ファラシジン、ファロイジン、フィトスフィンゴシン、ピエリシジンA、ピロネチン、ポドフィロトキシシン、ポリケトマイシン、ブレドニゾン、ブソイドラリン酸B、シューロチンA、ブワイナフィシンF、ピロロベンゾジアゼピン、キナルドペプチン、ラケルマイシン、レベッカマイシン、Ro 5-3335、サフラシンB、サンドラマイシン、サンギナリン、サポリン、シネフンギン、タルトブリン、テロメスタチン、6-チオグアニン、チオコルヒチン、トリトキシシン、トリポリンA、トリプトリド、ツバスタチンA、チューブリシンA、チューブリシンM、チューブリシンIM-1、チューブリシンIM-2、チューブリシンIM-3、ベネトクラクス、およびピンクリスチンからなる群から選択される。いくつかの態様において、薬物は、サポリン、ダウノルビシン、またはベネトクラクスである。

【0017】

いくつかの態様において、抗体および薬物は、リンカーを介して抱合されている。

いくつかの態様において、リンカーは、切断可能なリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、pH感受性リンカー、グルタチオン感受性リンカー、またはプロテアーゼにより切断可能なリンカーである。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、N-スクシニミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノアート(SPP)、N-スクシニイミジル3-(2-ピリジルジチオ)ブタノアート(SPDB)、スルホ-SPDB、バリン-シトルリン(Val-cit)、アセチルブチラート、CL2A、マレイミドカプロイル(MC)、およびMal-EBE-Malからなる群から選択される。

【0018】

いくつかの態様において、リンカーは、切断不能なリンカーである。いくつかの態様において、切断不能なリンカーは、N-スクシニミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート(SMCC)およびマレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキ

10

20

30

40

50

シラート(MCC)、MC-VC-PABからなる群から選択される。

【0019】

いくつかの態様において、抗体対薬物の比率は、1:1と1:10との間である。いくつかの態様において、抗体対薬剤の比率は、1:4である。

いくつかの態様において、薬剤は、放射性同位体(radioisotope)である。いくつかの態様において、放射性同位体は、ヨウ素-131、レニウム-188、イットリウム-90、ビスマス-213、およびアクチニウム-225からなる群から選択される。

【0020】

いくつかの態様において、NPM1を発現するがんは、NPM1が、がん細胞の表面上に発現されているがんである。いくつかの態様において、NPM1を発現するがんは、化学治療用薬物の投与または化学治療用薬物での処置の結果として、NPM1ががん細胞の表面上に発現されたがんである。いくつかの態様において、NPM1を発現するがんは、野生型NPM1および/または突然変異体NPM1が、がん細胞の表面上に発現されているがんである。

【0021】

いくつかの態様において、がんは、血液がん、肺がん、乳がん、脳がん、消化管がん、肝臓がん、腎臓がん、膀胱がん、膵臓がん、卵巣がん、精巣がん、前立腺がん、子宮内膜がん、筋肉のがん、骨がん、神経内分泌がん、結合組織がん、頭部もしくは頸部のがん(head or neck cancer)、または皮膚がんからなる群から選択される、固形がんあるいは液性がんである。いくつかの態様において、がんは、急性骨髄性白血病(AML)、急性前骨髄性白血病(APL)、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、および骨髄異形成症候群(MDS)からなる群から選択される。いくつかの態様において、がんは、転移性がんである。いくつかの態様において、がんは、治療関連がんまたは二次性悪性腫瘍である。いくつかの態様において、がんは、治療関連AML(t-AML)、または非ホジキンリンパ腫の二次性悪性腫瘍である。

【0022】

いくつかの態様において、化学治療用薬物は、アウリスタチンE、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、アクチノマイシン、アクチノマイシンX2、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アエロプリシニン、アルドキソルビシン、アグロケリン、アンサトリエニン、アンサマイトシンP-3、アフジコリン、アポブトリジン、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、バフィロマイシンA1、バフィロマイシンB1、バフィロマイシンB2、バフィロマイシンC1、バフィロマイシンC2、バフィロマイシンD、バフィロマイシンE、カリケアミシン、カンパテシン、ケトシン、ケトグロボシン、クラミドシン、シネルビンB、クラドリビン、コルヒチン、コンブレタスタチンA1、コンブレタスタチンA4、コルジセピン、クリプトフィシン、ククルビタシンB、ククルビタシンE、クルブリン、シクロパミン、シクロホスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタピン、デキサメタゾン、ドラスタチン10、ドラスタチン15、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンDM、ドキソルビシン、エングレリンA、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エトポシド、フルダラビン、フマギリン、ゲルダナマイシン、タネスピマイシン(17-AAG)、グルコピエリシジンA、グラミシジンA、ヘルボキシジエン、9-ヒドロキシエリプチシン、ヒドロキシル尿素、ハイグロリジン、ハイポテマイシン、イダルビシン、イリマキノン、イサトロポロンA、イソフィスツラリン-3、イキサベピロン、JW55、ラクタシスチン、ルイソールA、メイタンシノール、メルタンシン(DM1)、メイタンシンDM3、ラブタンシン(DM4)、メイタンシノイドAP-3、メケルカルマイシンA、メンサカルシン、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、マイクロコリンB、マイクロシスチンLR、ミトキサントロン、ムスコトキシシンA、ミオセベリン、マイトキシシンB、ネララビン、ネモルビシン、ノクオリンA、オキラクトマイシン、オリゴマイシンA、オリゴマイシンB、パクリタキセル、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、テセタキ

10

20

30

40

50

セル、ファラシジン、ファロイジン、フィトスフィンゴシン、ピエリシジンA、ピロネチン、ポドフィロトキシン、ポリケトマイシン、プレドニゾン、プソイドラリン酸B、シューロチンA、プワイナフィシンF、ピロロベンゾジアゼピン、キナルドペプチン、ラケルマイシン、レベッカマイシン、Ro 5-3335、サフラシンB、サンドラマイシン、サンギナリン、サポリン、シネフンギン、タルトブリン、テロメスタチン、6-チオグアニン、チオコルヒチン、トリトキシン、トリポリンA、トリプトリド、ツバスタチンA、チューブリシンA、チューブリシンM、チューブリシンIM-1、チューブリシンIM-2、チューブリシンIM-3、ベネトクラクス、およびピンクリスチンからなる群から選択される。いくつかの態様において、化学治療用薬物は、サポリン、ダウノルビシン、ベネトクラクス、またはアザシチジンである。

10

【0023】

いくつかの態様において、化学治療用薬物は、がんが耐性をもつ化学治療用薬物である。

いくつかの態様において、投与は、全身的にまたは局部的に生じる。いくつかの態様において、投与は、注射を介して生じる。いくつかの態様において、注射は、静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射、または腫瘍内注射である。いくつかの態様において、投与は、経口的に生じる。

【0024】

いくつかの態様において、投与は、1度より多く生じる。いくつかの態様において、投与は、1日当たり1度と6ヶ月当たり1度との間に生じる。

20

いくつかの態様において、対象は、哺乳動物である。いくつかの態様において、対象は、ヒトである。

【0025】

いくつかの態様において、投与は、抗体単独の投与と比較したとき、抗体と対象のNPM1発現がん細胞との間の増大した結合をもたらす。

いくつかの態様において、投与は、抗体単独の投与と比較したとき、対象のNPM1発現がん細胞の低減された成長をもたらす。

いくつかの態様において、投与は、抗体単独の投与と比較したとき、対象のNPM1発現がん細胞の増加した細胞死をもたらす。

【0026】

本開示の他の側面は、細胞表面ヌクレオフォスミン1(NPM1)を発現する細胞に関連する疾患を処置するための方法に関し、方法は、これを必要とする対象へ、有効量のNPM1へ結合する本明細書に記載される抗体または抱合体を投与することを含む。

30

【0027】

本開示の他の側面は、NPM1を発現するがんを処置することにおける使用のための組成物に関し、処置は、組成物を、これを必要とする対象へ投与することを含み、ここで組成物は、NPM1へ結合する抗体または抗体抱合体と化学治療用薬物とを含む。

【0028】

本開示の他の側面は、NPM1を発現するがんを処置することにおける使用のための組成物に関し、処置は、組成物を、これを必要とする対象へ投与することを含み、ここで組成物は、NPM1へ結合する抗体または抗体抱合体を含み、および対象は、化学治療用薬物での処置を受けているか、または受けたことがある。

40

【0029】

本開示の他の側面は、NPM1を発現するがんを処置することにおける使用のための組成物に関し、処置は、組成物を、これを必要とする対象へ投与することを含み、ここで組成物は、化学治療用薬物を含み、および対象は、NPM1へ結合する抗体もしくは抗体抱合体での処置を受けているか、または受けたことがある。

【図面の簡単な説明】

【0030】

図面の簡単な記載

50

添付の図面は、縮尺どおりに描かれることを意図していない。図面中、種々の図において説明される各々同一のまたは大体同一の構成要素は、同種の数字によって表される。明確さの目的から、どの構成要素も、図面ごとに標識されているわけではない。

図面中:

【0031】

【図1-1】図1A~1Eは、NPM1が、がん性細胞タイプの表面上に局在化させられていることを示す。図1Aは、様々なヒト白血病細胞株から収集されたサイトゾル画分および膜画分における、WTおよび突然変異体NPM1の免疫ブロッティングを示す。図1Bは、ヒト白血病細胞株におけるNPM1表面発現のFACS分析を示す。

【図1-2】図1Bは、ヒト白血病細胞株におけるNPM1表面発現のFACS分析を示す。図1Cおよび1Dは、マウスの骨髄(BM)細胞または末梢血(PB)細胞の表面上に発現されている相対的に低いレベルのNPM1を示す。

【図1-3】図1Cおよび1Dは、マウスの骨髄(BM)細胞または末梢血(PB)細胞の表面上に発現されている相対的に低いレベルのNPM1を示す。

【図1-4】図1Eは、NPM1が、健常ヒトBM細胞上には堅固に発現されていないことを示す、FACS分析を示す。FACS分析は、図2Aおよび図2Bに示される単離された抗NPM1抗体、ならびに商用の抗NPM1抗体(Santa Cruz Biotechnology anti-WT NPM1 # sc-32256)で行った。

【0032】

【図2】図2Aおよび2Bは抗NPM1抗体の調製を示す。図2Aは、WT NPM1へ結合する抗体の単離を示す。図2Bは、突然変異体NPM1へ結合する抗体の単離を示す。

【0033】

【図3-1】図3Aおよび3Bは、抗NPM1-ADCが、ヒトがん細胞に対して毒性であることを示す。図3Aは、OCI-AML3細胞に対するWT NPM1に特異的な抗体を含むADCの細胞毒性を示す。ストレプトアビジン-サポリンを、ビオチン化抗WT NPM1 IgGまたは抗マウスIgGのどちらかへ結合させ、その後複合体をOCI-AML3細胞へ加えて24時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を洗浄して細胞殺滅をFACSによって分析した。

【図3-2】図3Bは、48時間のインキュベーションでの、図3Aと同じものを示す。

【0034】

【図4-1】図4Aおよび4Bは、NPM1が、哺乳動物種間で高度に保存されていることを示す。図4Aは、ヒトとマウスとのNPM1アミノ酸配列(配列番号39~40)間の保存を図示するペアワイズアラインメントを示す。

【図4-2】図4Bは、ヒトとアカゲザルとのNPM1アミノ酸配列(配列番号39および41)間の保存を図示するペアワイズアラインメントを示す。

【0035】

【図5-1】図5A~5Cは、NPM1が、ヒトAML細胞株および一次マウスAML細胞の表面上に存在することを示す。図5Aは、ヒトOCI-AML3細胞およびMOLM13細胞の表面上に局在化されたNPM1に対する抗NPM1抗体(Merck/Sigma anti-B23 # B556)の結合を示す。NPM1への結合を、生細胞と固定された細胞との両方においてアッセイした。OCI-AML3細胞は、突然変異体NPM1を発現する一方、MOLM13細胞は、相対的により低い量のWT NPM1を発現する。

【図5-2】図5Bおよび図5Cは、固定された一次マウスMLL-AF4/FLT3^{ltd/+}細胞、MLL-AF9/FLT3^{ltd/+}細胞、MLL-ENL/FLT3^{ltd/+}細胞、およびNpm1c/FLT3^{ltd/+}AML細胞の表面上に局在化されたNPM1に対する抗NPM1抗体(Merck/Sigma anti-B23 # B0556)の結合を示す。

【図5-3】図5Bおよび図5Cは、固定された一次マウスMLL-AF4/FLT3^{ltd/+}細胞、MLL-AF9/FLT3^{ltd/+}細胞、MLL-ENL/FLT3^{ltd/+}細胞、およびNpm1c/FLT3^{ltd/+}AML細胞の表面上に局在化されたNPM1に対する抗NPM1抗体(Merck/Sigma anti-B23 # B0556)の結合を示す。

【0036】

【図6-1】図6A~6Fは、NPM1c(突然変異体NPM1)が、ヒト骨髓性白血病細胞株の表面上に存在することを示す。図6Aは、抗TY1タグ抗体(Diagenode TY1 # C15200054)が、TY1がタグ付けされたWT NPM1またはTY1がタグ付けされたNPM1cを発現するヒトK562骨髓性白血病細胞の表面に結合することを示す。

【図6-2】図6Bは、図6Aのデータを別々のパネルとして、TY1抗体および抗NPM1抗体(Merck/Sigma anti-B23 # B556)によって確実に結合された細胞のパーセンテージの定量化とともに示す。

【図6-3】図6Cは、細胞内および細胞表面のWTおよび突然変異体NPM1に対する抗NPM1抗体(Diagenode TY1 # C15200054;Merck/Sigma anti-B23 # B556)の結合を示す。その関係のある細胞は、空のTY1レンチウイルスベクター、TY1がタグ付けされたNPM1-野生型レンチウイルスベクター、またはTY1がタグ付けされたNPM1cレンチウイルスベクターを発現した。

【図6-4】図6Cは、細胞内および細胞表面のWTおよび突然変異体NPM1に対する抗NPM1抗体(Diagenode TY1 # C15200054;Merck/Sigma anti-B23 # B556)の結合を示す。その関係のある細胞は、空のTY1レンチウイルスベクター、TY1がタグ付けされたNPM1-野生型レンチウイルスベクター、またはTY1がタグ付けされたNPM1cレンチウイルスベクターを発現した。

【図6-5】図6Dは、抗NPM1抗体(Diagenode TY1 # C15200054;Merck/Sigma anti-B23 # B556)と細胞内のWTおよび突然変異体NPM1との間の結合を示す。その関係のある細胞は、空のTY1レンチウイルスベクター、TY1がタグ付けされたNPM1-野生型レンチウイルスベクター、またはTY1がタグ付けされたNPM1cレンチウイルスベクターを発現した。

【図6-6】図6Eは、抗NPM1抗体(Diagenode TY1 # C15200054;Merck/Sigma anti-B23 # B556)と、K562細胞またはMOLM13細胞(陰性対照)の表面上のWTおよび突然変異体NPM1との間の結合を示す。その関係のある細胞は、空のTY1レンチウイルスベクター、TY1がタグ付けされたNPM1-野生型レンチウイルスベクター、またはTY1がタグ付けされたNPM1cレンチウイルスベクターを発現した。図6Fは、抗NPM1抗体(Diagenode TY1 # C15200054;Merck/Sigma anti-B23 # B556)と、K562細胞またはMOLM13細胞(陰性対照)の表面上のWTおよび突然変異体NPM1との間の結合を図示する免疫蛍光を示す。その関係のある細胞は、空のTY1レンチウイルスベクター、TY1がタグ付けされたNPM1-野生型レンチウイルスベクター、またはTY1がタグ付けされたNPM1cレンチウイルスベクターを発現した。

【0037】

【図7-1】図7Aおよび7Bは、抗NPM1抗体が、一次マウスAML細胞の表面上のNPM1へ結合することを示す。図7Aは、単離されたWTおよび突然変異体抗NPM1抗体と、一次マウスMLL再配置(MLL-rearranged)(MLL-r)AML細胞の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。

【図7-2】図7Bは、単離されたWTおよび突然変異体の抗NPM1抗体と、一次マウスNPM1c AML細胞の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。

【0038】

【図8-1】図8A~8Dは、抗NPM1抗体が、マウスモデルに埋植されたヒトAML患者由来異種移植片(PDX)の表面上のNPM1へ結合することを示す。図8Aは、単離されたWTおよび突然変異体の抗NPM1抗体と、PDX-1細胞(MLL-r)の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。PDX-1細胞とは対照的に、宿主(マウス)骨髓細胞(下段パネル)は、相対的に低い結合を発揮する。

【図8-2】図8Aは、単離されたWTおよび突然変異体の抗NPM1抗体と、PDX-1細胞(MLL-r)の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。PDX-1細胞とは対照的に、宿主(マウス)骨髓細胞(下段パネル)は、相対的に低い結合を発揮する。

【図8-3】図8Bは、単離されたWTおよび突然変異体の抗NPM1抗体と、PDX-2(NP

10

20

30

40

50

M1c)細胞の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。

【図8-4】図8Cは、単離されたWTおよび突然変異体の抗NPM1抗体と、PDX-3(MLL-r、BCOR)細胞の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。

【図8-5】図8Dは、単離されたWTおよび突然変異体の抗NPM1抗体と、PDX-4(DNMT3A、N/KRAS)細胞の表面上に局在化されたNPM1との間の結合を示す。

【0039】

【図9-1】図9A~9Dは、AMLの処置のための化学治療薬(chemotherapeutics)と、細胞表面NPM1を標的化する抗体との間の相乗効果を示す。図9Aは、抗NPM1抗体(Merck/Sigma anti-B23 # B0556)と、10nMダウノルビシンまたは40nMベネトクラクスでの処置後の、とくに処置から8日後のベネトクラクス耐性AML細胞株OCI-AML3の表面上のNPM1との間の増加した結合を示す。

10

【図9-2】図9Bは、10nMダウノルビシンまたは40nMベネトクラクスでの処置から8日後の、図9Aに図示されたFACS分析の個々の反復を示す。

【図9-3】図9Cは、単離された抗NPM1抗体(図2Aおよび図2B)と、10nMダウノルビシンまたは40nMベネトクラクスでの処置後、とくに処置から8日後のOCI-AML3の表面上のNPM1との間の増大した結合を示す。

【図9-4】図9Dは、抗NPM1抗体((Merck/Sigma anti-B23 # B0556))または単離された抗NPM1抗体(図2Aおよび図2B)と、40nM 5-アザシチジン(5-Aza)で処置後のOCI-AML3の表面上のNPM1との間の増大した結合を示す。

20

【0040】

【図10】図10A~10Bは、細胞株OCI-AML3からのアイソタイプおよびNPM1の細胞内染色および細胞表面染色(図10A)、ならびに4細胞株からの生化学的分画(サイトゾル画分および膜画分)の変性タンパク質ゲルおよびウエスタンブロットティング(WB)を示す(図10B)。

【0041】

【図11-1】図11A~11Bは、抗NPM1抗体と培養されたヒト懸濁細胞株(図11A)および一次マウス細胞株(図11B)の生細胞染色からの結果を示す(AF647シグナル)。

【図11-2】図11A~11Bは、抗NPM1抗体と培養されたヒト懸濁細胞株(図11A)および一次マウス細胞株(図11B)の生細胞染色からの結果を示す(AF647シグナル)。

【図11-3】図11A~11Bは、抗NPM1抗体と培養されたヒト懸濁細胞株(図11A)および一次マウス細胞株(図11B)の生細胞染色からの結果を示す(AF647シグナル)。

30

【0042】

【図12】図12A~12Bは、細胞非透過性のビオチン化試薬での細胞表面ビオチン化後の細胞のウエスタンブロットを示す。ウエスタンブロットは、これらの細胞の膜画分中のNPM1を検出し、かつNPM1 IPは、膜ライセート(lysate)からより堅固にNPM1を濃縮することができる(図12A)。これらの画分(細胞表面に曝されたタンパク質)からのビオチンシグナルの検査は、NPM1 IPにおいて単一バンドの単離を実証し(図12B)、このことは完全長NPM1が生細胞の表面へ曝されていることを示す。

【0043】

【図13-1】図13A~13Bは、HL-60およびOCI-AML3(図13A)と接着細胞株PANC1(図13B)との両方の細胞表面を染色する抗NPM1の回折限界(DL)および超解像再構成(SR)である。細胞表面NPM1は、別個のクラスターとして見える。

40

【図13-2】図13A~13Bは、HL-60およびOCI-AML3(図13A)と接着細胞株PANC1(図13B)との両方の細胞表面を染色する抗NPM1の回折限界(DL)および超解像再構成(SR)である。細胞表面NPM1は、別個のクラスターとして見える。

【0044】

【図14】図14は、Ab2.2または市販のNPM1抗体のどちらかで染色された、生きているか(上段)または固定され透過処理された(下段)OCI-AML3細胞の蛍光イメージである。

【0045】

【図15-1】図15A~15Bは、Ab2.2で染色され、かつ造血系の様々なマーカーにつ

50

いてソートされ(sorted)ている3名の健常ドナーの骨髄試料を示す。Ab2.2は一部が、CD33+細胞へ結合するが、しかしながら、観察可能なCD34+(HSC)細胞への結合はない。

【図15-2】図15Bは、ウェスタンブロッティングによるタンパク質ライセート試料への、商用の抗NPM1抗体の結合ならびにAb2.2結合を示す。バンド形成パターンは同一である。

【0046】

【図16】図16は、12名のAML患者試料を記載する表である。

【0047】

【図17-1】図17A~17Bは、12名のAMLのフローサイトメトリー分析を示す。

【図17-2】図17A~17Bは、12名のAMLのフローサイトメトリー分析を示す。

【図17-3】図17A~17Bは、12名のAMLのフローサイトメトリー分析を示す。

【図17-4】図17A~17Bは、12名のAMLのフローサイトメトリー分析を示す。

【図17-5】図17A~17Bは、12名のAMLのフローサイトメトリー分析を示す。

【図17-6】図17A~17Bは、12名のAMLのフローサイトメトリー分析を示す。

【0048】

【図18】図18は、15名のAML患者から収集された試料を記載する表である。

【0049】

【図19-1】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-2】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-3】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-4】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-5】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-6】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-7】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-8】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-9】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

【図19-10】図19A~19Eは、15名のAML患者のフローサイトメトリー分析を示す。

。

【0050】

【図20-1】図20A~20Bは、Ab2.2の毒性をin vivoで如何にして査定したかを示す。図20Aは、実験プロトコルの概略図である。図20Bは、重量の結果と、WBC、PLT、およびHGBの血液試料分析からの結果とである。

【図20-2】図20Bは、重量の結果と、WBC、PLT、およびHGBの血液試料分析からの結果とである。

【図20-3】図20Bは、重量の結果と、WBC、PLT、およびHGBの血液試料分析からの結果とである。

【0051】

【図21-1】図21A~21Gは、Ab2.2処置の有効性をin vivoで如何にして査定したかを示す。図21Aは、実験設計の概略図である。図21Bは、このAMLモデルへの抗体結合を示す。

【図21-2】図21Cは、WBCカウントを示す。図21Dは、AMLアレルのqPCR分析からの結果である。

【図21-3】図21Eは、IgGおよびAb2.2で処置されたマウスの脾臓、ならびに脾臓の重量を示す。図21Fは、血液試料のHGB分析およびHCT分析の結果である。

【図21-4】図21Gは、生存アッセイからの結果を示す。

【0052】

【図22-1】図22A~22Cは、有効性を査定するために、マウスを如何にして、亜致死照射および一次マウスAML細胞の移植へ供したかを示す(有効性モデル2)。図22Aは、実験設計の概略図である。

【図22-2】図22Bは、抗体結合を示す。図22Cは、生存アッセイからの結果を示す。

【0053】

【図23-1】図23A~23Iは、Ab2.2での処置が、移植モデルにおいて腫瘍負荷を低減することを示す。図23Aは、実験設計の概略図を示す。図23Bは、IgGまたはAb2.2で処置されたマウスの脾臓、肺、および肝臓の重量である。

【図23-2】図23Cは、生存アッセイからの結果を示す。

【図23-3】図23D~23Eは、フローサイトメトリーの結果を示す。図23Fは、血液試料からのWBCカウントおよびPLTレベルである。

【図23-4】図23D~23Eは、フローサイトメトリーの結果を示す。図23Fは、血液試料からのWBCカウントおよびPLTレベルである。

【図23-5】図23Gは、WBCを経時的に示す。図23Hは、IgGまたはAb2.2で処置されたマウスにおける脾臓のイメージおよび脾臓の重量のグラフを示す。

10

【図23-6】図23Iは、BMおよびPBにおけるAML%を示す。

【0054】

【図24】図24A~24Bは、Ab2.2の腫瘍殺滅活性に係る免疫依存性;無傷の免疫系に対するそれを示す。図24Aは、実験設計を示す。図24Bは、Ab2.2またはIgGのどちらかで処置されたマウスの生存曲線を示す。

【0055】

【図25-1】図25A~25Cは、Ab2.2の固形腫瘍活性を示す。図25Aは、実験設計を示す。図25Bは、第10日および第13日の腫瘍体積を示す。

【図25-2】図25Cは、腫瘍体積を第7日から第13日まで経時的に示す。

20

【0056】

【図26-1】図26A~26Bは、亜致死照射およびAb2.2で処置された野生型の健常マウスが、Ab2.2処置の観察可能な効果を呈さなかったことを示す。図26Aは、実験設計を示す。

【図26-2】図26Bは、重量と、血液試料からのWBCカウント、HGB分析、およびPLT分析とを示す。

【図26-3】図26Bは、重量と、血液試料からのWBCカウント、HGB分析、およびPLT分析とを示す。

【0057】

【図27-1】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

30

【図27-2】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

【図27-3】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

【図27-4】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

40

【図27-5】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

【図27-6】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

【図27-7】図27A~27Oは、Ab2.2の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプのin vitroモデルを示す。

50

【図 27-8】図 27A~27D は、Ab2.2 の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプの *in vitro* モデルを示す。

【図 27-9】図 27A~27D は、Ab2.2 の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプの *in vitro* モデルを示す。

【図 27-10】図 27A~27D は、Ab2.2 の、ヒト腫瘍またはマウス腫瘍への結合能を査定するために、フローサイトメトリーを使用して分析された様々ながん細胞タイプの *in vitro* モデルを示す。

【0058】

【図 28】図 28 は、単一の Dmmt3a R882H 突然変異体細胞 (前白血病細胞) 上の Npm1c の高表面検出を示す。

【0059】

【図 29】図 29 は、NPM1 が如何にして、いくつかのモデルにおける ADC 標的としての役割を果たし得るかを示す。ADC で Ab2.2 の *in vitro* 活性を査定するために、OCI-AML3 細胞を、陰性対照、アイソタイプサポリン抱合体、または Ab2.2-サポリン抱合体で処置した。

【0060】

【図 30-1】図 30A~30C は、Ab2.2 が、ヒト AML 細胞株の移植モデルにおいて寿命を延長することを示す。図 30A は、実験設計の概略図である。

【図 30-2】図 30B は、フローサイトメトリーを使用して抗体結合を示す。図 30C は、生存アッセイの結果のグラフである。

【0061】

【図 31-1】図 31A~31C は、Ab2.2 が、ヒト AML-PDX 細胞株の移植モデルにおいて寿命を延長することを示す。図 31A は、実験設計の概略図である。図 31B は、フローサイトメトリーを使用して抗体結合を示す。

【図 31-2】図 31C は、生存アッセイの結果のグラフである。

【0062】

【図 32】図 32 は、OCI-AML3 細胞を如何にして、対照または低用量化学治療薬のどちらかの処置へ曝したかを示す。

【0063】

【図 33】図 33 は、低用量の化学治療用薬剤 (ダウノルビシン、ベネトクラクス) へ曝された非形質転換細胞タイプ (HPC7、HOXB8) の *in vitro* モデルを示す。細胞を、フローサイトメトリーを使用して 48 時間および 72 時間にわたり分析した。

【発明を実施するための形態】

【0064】

ある態様の詳細な記載

本開示の側面は、ヌクレオフォスミン 1 (NPM1) (また核小体リン酸化タンパク質 B23 またはヌマトリンとしても知られている) に特異的な抗体が、対象におけるある細胞タイプ (例として、がん細胞) に対して薬剤 (例として、化学治療用薬物、放射性同位体 (radio active isotopes)) を標的化させるために使用されてもよいという発見に基づく。理論によって拘束されることは望まないが、NPM1 は、典型的には一本鎖核酸および二本鎖核酸へ結合し、かつ細胞の核およびサイトゾルに存在する多機能タンパク質である。しかしながら、ある細胞タイプが、がん性形質転換などの細胞ストレスへ曝されたとき、多量の NPM1 は代わりに、細胞表面へ誤局在化されることもあり、前記細胞表面においてそれらは細胞外環境へ曝される。細胞膜に局在化される NPM1 の増加は、いずれかのタイプのがんにおいて生じ得るものの、それは、NPM1 をコードする遺伝子に生じる突然変異に起因する白血病 (例として、急性骨髄性白血病 (AML)) において殊更一般的である。この突然変異の結果として、多くの患者における白血病 (例として、AML) 細胞は、NPM1c と称される NPM1 の突然変異体バリエントを発現し始め、前記バリエントは核から細

10

20

30

40

50

胞質へと誤局在化され、そこでそれは細胞膜まで輸送され(trafficked)て細胞外環境へ曝される。NPM1cはまた、それがAMLにおける悪性の形質転換を推進するところ、がん細胞においてのみ生じることも知られている。原則として、野生型NPM1または突然変異体NPM1(NPM1c)に特異的である抗体または他の薬剤は、細胞毒性ペイロードへ抱合されてがん細胞を標的化するために使用され得る。その代わりに、NPM1特異抗体はそれ自体、細胞毒性ペイロードへの抱合がなくとも、がん細胞への結合の際に抗体依存性細胞毒性(ADCC)または抗体依存性細胞貪食(ADCP)を刺激するのに十分なこともある。しかしながら、NPM1に特異的な抗体は市販されている一方、生細胞の表面上の野生型および/または突然変異体NPM1へ有効に結合し得る抗体は欠如している。加えて、ほとんどの市販の抗NPM1抗体はポリクローナルであり、かつNPM1cへ結合する利用可能なモノクローナル抗体は目下一切ない。したがって、がん細胞を包含する細胞の表面上の野生型NPM1および突然変異体NPM1へ有効かつ特異的に結合することが可能な、新しい抗体を開発した。これらの抗体およびその分子抱合体(例として、抗体-薬物抱合体)は、それらの細胞表面上にNPM1を発現するがんを検出および処置するのに有用なこともあって、知られている有効な処置が一切ないがんをもつ対象を処置するために使用されてもよい。

10

【0065】

NPM1に結合する抗体

本開示は、NPM1、例えば野生型(WT)NPM1または突然変異体NPM1へ結合する抗体を提供する。かかる抗体は、突然変異体NPM1に比べWT NPM1に対してより高い親和性を有していてもよく、またはWT NPM1に比べ突然変異体NPM1に対してより高い親和性を有していてもよい。

20

【0066】

本明細書に使用されるとき、用語「抗体」は、たとえばタンパク質またはペプチドに限定されないが「抗原」と称される標的へ、抗原上の少なくとも1つの認識部位を通して、特異的に結合することが可能な免疫グロブリン分子を指す。本明細書に使用されるとき、用語「抗体」は、完全長免疫グロブリン分子(2つの重鎖および2つの軽鎖を有する免疫グロブリン、例としてモノクローナルまたはポリクローナルの完全長抗体)と、その抗原結合性フラグメント、たとえばこれらに限定されないが、キメラ抗体、ダイアボディ、直鎖抗体、ナノボディ、単鎖抗体、多重特異性抗体(例として、二重特異性抗体)、または抗原に対する特異的結合を保持する別の抗原結合性フラグメントとの両方を網羅する。「免疫グロブリン(Ig)」は、主に形質細胞によって産生される大きいY形状のタンパク質であって、これは外来物質(例として、細菌およびウイルスなどの病原体)を中和するために免疫系によって使用されている。「抗体フラグメント」は、いずれかの抗原結合性フラグメント(すなわち、「抗原結合部分」)またはその単鎖を包含する。いくつかの態様において、「抗体」は、ジスルフィド結合によって相互接続された少なくとも2つの重(H)鎖および2つの軽(L)鎖を含む糖タンパク質、またはその抗原結合性部分を指す。各重鎖は、重鎖可変領域(本明細書中、 V_H と略される)および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、3つのドメイン C_{H1} 、 C_{H2} 、および C_{H3} から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書中、 V_L と略される)および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン C_L から構成される。 V_H 領域および V_L 領域は、フレームワーク領域(FR)と称される、より保存された領域が散在した、相補性決定領域(CDR)と称される、超可変性の領域へとさらに細分され得る。各 V_H および V_L は、以下の順序:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で、アミノ末端からカルボキシ末端まで配置された3つのCDRおよび4つのFRでできている。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞(例として、エフェクター細胞)および古典的補体系の第1成分($C1q$)を包含する、宿主の組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介してもよい。いくつかの態様において、抗体は、免疫グロブリン(Ig)単量体である。抗体は、ポリクローナル抗体であっても、またはモノクローナル抗体であってもよい。

30

40

50

【0067】

いくつかの態様において、抗体は、2つの同一のL鎖および2つのH鎖でできているヘテロ四量体の糖タンパク質である(IgM抗体は、J鎖と呼ばれる追加のポリペプチドと併せて、5つの基本的なヘテロ四量体単位からなり、したがって10の抗原結合性部位を含有している一方、分泌されたIgA抗体は重合することで、J鎖と併せて2~5つの基本的な4鎖単位を含む多価集合体を形成し得る)。IgGのケースにおいて、4鎖単位は一般に、約150,000ダルトンである。各L鎖は、1つのジスルフィド共有結合によってH鎖へ連結されている一方、2つのH鎖は、H鎖アイソタイプに依存して1以上のジスルフィド結合によって互いへ連結されている。各H鎖およびL鎖はまた、規則的に間隔があいた鎖内ジスルフィド架橋も有する。各H鎖は、N末端にて可変ドメイン(V_H)を、これに続き α 鎖および γ 鎖の各々につき3つの定常ドメイン(C_H)、 μ および ϵ のアイソタイプにつき4つの C_H ドメインを有する。各L鎖は、N末端にて可変ドメイン(V_L)を、これに続きその他方末にて定常ドメイン(C_L)を有する。 V_L は、 V_H とアラインされ、かつ C_L は、重鎖の第1の定常ドメインとアラインされている。具体的なアミノ酸残基が、軽鎖と重鎖との可変ドメイン間の界面を形成するものと思われる。 V_H と V_L とのペアリングと一緒に、単一の抗原結合性部位を形成する。抗体の種々のクラスの非限定例の構造および特性につき、例としてBasic and Clinical Immunology, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, Conn., 1994, page 71 and Chapter 6(参照によって本明細書に組み込まれる)を見よ。いくつかの態様において、抗体は、IgGである。

10

20

【0068】

いずれかの脊椎動物種からのL鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、カッパおよびラムダと呼ばれる2つの明確に別個のタイプ的一方へ割り当てられ得る。それらの重鎖の定常ドメイン(C_H)のアミノ酸配列に依存して、免疫グロブリンは、種々のクラスまたはアイソタイプへ割り当てられ得る。免疫グロブリンには5つのクラス:IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMがあり、夫々 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ と指定される重鎖を有する。 γ クラスおよび α クラスはさらに、 C_H 配列および機能における相対的に小さな差異に基づいてサブクラスに分割されており、例としてヒトは、以下のサブクラス:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2を発現している。

【0069】

30

Vドメインは、抗原結合を媒介し、かつその具体的な抗原に対する具体的な抗体の特異性を定義する。しかしながら、可変性は、可変ドメインの110アミノ酸長さにわたって均等には分布していない。代わりに、V領域は、「超可変領域」と呼ばれる極端な可変性のあるより短い領域(これらは各々、9~12アミノ酸長である)によって分離された、15~30アミノ酸のフレームワーク領域(FR)と呼ばれる相対的に不変である一続きのもの(stretches)からなる。ネイティブな重鎖および軽鎖の可変ドメインは各々、大部分が β シート立体配置(configuration)を採る4つのFRを含み、かつ3つの超可変領域によって接続されており、前記領域は、 β シート構造を接続するループを形成し、いくつかのケースにおいては β シート構造の一部を形成する。各鎖中の超可変領域は、FRによって、ごく近接して一緒に留められており、他方の鎖からの超可変領域とともに抗体の抗原結合性部位の形成へ寄与する(例として、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)(参照により本明細書に組み込まれる)を見よ)。定常ドメインは、抗体を抗原へ結合することに直接的には関与しないが、抗体依存性細胞毒性(ADCC)および/または抗体依存性細胞貪食(ADCP)における抗体の加担など様々なエフェクター機能を呈する。

40

【0070】

いくつかの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体である、すなわち、集団を構成する(comprising)個々の抗体は、自然発生突然変異が少量存在し得る可能性を除けば同一で

50

ある。モノクローナル抗体は、高度に特異的であって、単一の抗原部位に対して向けられる。さらにまた、種々の決定基(エピトープ)に対して向かう種々の抗体を包含するポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して向かう。それらの特異性に加え、モノクローナル抗体は、それらが他の抗体によって汚染されずに合成され得るという点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、いずれか具体的な方法による抗体の産生を要するものと解釈されるべきではない。例えば、本発明に有用なモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256:495(1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ方法論によって調製されてもよく、または細菌、真核性動物、もしくは植物細胞において組換えDNA法を使用して作製されてもよい(例として、米国特許第4,816,567号明細書を見よ)。モノクローナル抗体はまた、例としてClackson et al., Nature, 352:624-628(1991)およびMarks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)(参照により本明細書に組み込まれる)に記載の技法を使用し、ファージ抗体ライブラリからも単離されてよい。

10

20

30

40

50

【0071】

本明細書に記載のモノクローナル抗体は、それらが所望の生物活性を呈する限り、「キメラ」抗体、ならびにかかる抗体のフラグメントを網羅するが、前記抗体において一部の重鎖および/または軽鎖は、具体的な種に由来するか、または具体的な抗体のクラスもしくはサブクラスに所属する抗体中の、対応する配列と同一または相同である一方、前記鎖(単数または複数)の残りは、別の種に由来するか、または別の抗体のクラスもしくはサブクラスに所属する抗体中の、対応する配列と同一または相同である(米国特許第4,816,567号明細書;およびMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984)を見よ)。本明細書中、着目したキメラ抗体は、霊長目の非ヒト動物(例として、旧世界ザル、類人猿等々)に由来する可変ドメイン抗原結合性配列、およびヒト定常領域配列を含む「霊長目動物化(primatized)」抗体を包含する。

【0072】

いくつかの態様において、抗体は、ポリクローナル抗体である。「ポリクローナル抗体」は、抗原の1より多くの免疫原性決定基と反応する種々の抗体分子の混合物である。ポリクローナル抗体は、哺乳動物の血液、分泌物、もしくは他の流体から、または卵から、単離あるいは精製されてもよい。ポリクローナル抗体もまた、組換えであってもよい。組換えポリクローナル抗体は、組換え技術の使用によって生成されるポリクローナル抗体である。組換えで生成されたポリクローナル抗体は大抵、高濃度の種々の抗体分子を含有し、これらのすべてまたは大多数(例として、80%超、85%超、90%超、95%超、99%超、またはこれより多く)は、1より多くのエピトープでできている抗原に対する所望の結合活性を発揮する。

【0073】

いくつかの態様において、抗体は、ヒトにおける(例として、治療法としての)使用のために「ヒト化」されている。非ヒト(例として、齧歯類の動物)抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小限の配列を含有するキメラ抗体である。ヒト化抗体は、ヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)であって、前記ヒト免疫グロブリン中、レシピエントの超可変領域からの残基は、所望の抗体特異性、親和性、および能力を有する、マウス、ラット、ウサギ、または霊長目の非ヒト動物などの非ヒト種(ドナー抗体)の超可変領域からの残基によって置き換えられている。いくつかの実例において、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域(FR)残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。さらにまた、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見出されない残基を含んでもよい。これらの修飾は、抗体性能をさらに改良するためになされる。一般に、ヒト化抗体は、超可変ループのすべてまたは実質的にすべてが、非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、かつFRのすべてまたは実質的にすべてが、ヒト免疫グロブリン配列のものである、少なくとも1つの、典型的には2つの、可変ドメインの実質的にすべてを含むであろう。またヒト化抗体は任意に、少なくとも、一部の免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的には一部のヒト免疫グロブリンも含むであろう。さらなる詳細につき、Jones et al

., Nature 321:522-525(1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329(1988); および Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596(1992)を見よ。

【0074】

本開示のいくつかの側面は、NPM1へ結合する抗体に関する。かかる抗体は、WT NPM1または突然変異体NPM1へ優先的に結合してもよい。用語「優先的に結合する」は、他の抗原より、頻繁に、高い率にて、長い持続時間にわたって、および/または具体的な抗原との大きな親和性で、生じる結合を指す。用語「優先的に結合する」および「特異的に結合する」は、互換的に使用されてもよい。用語「優先的に結合する」および「特異的に結合する」は、排他的な結合を必ずしも表示しない、すなわち、抗原へ優先的に結合する抗体は、1以上の追加の抗原へ結合してもよく、または結合しなくてもよい。いくつかの態様において、本明細書に記載の抗体は、特定の抗原の他の形態(バリエーション)へ結合してもよく、または結合しなくてもよい。いくつかの態様において、WT NPM1へ結合する抗体は、1以上のアミノ酸の挿入、欠失、または置換を含むNPM1のバリエーション(すなわち、突然変異体NPM1)へ結合してもよく、または結合しなくてもよく、1以上のアミノ酸の挿入、欠失、または置換を含むNPM1のバリエーション(すなわち、突然変異体NPM1)は、WT NPM1へ結合してもよく、または結合しなくてもよい。

10

【0075】

本明細書に使用されるとき、「野生型NPM1」または「WT NPM1」は、無傷の完全に機能的なNPM1について一般に認められている参照配列のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含むNPM1タンパク質を指す。例えば、WT NPM1は、WT NPM1をコードする遺伝子(NCBI参照配列:NG_016018.1)から発現されるNPM1アイソフォーム(例として、NCBI参照配列:NP_001341935.1)であってもよい。本明細書に使用されるとき、「突然変異体NPM1」は、WT NPM1配列と比べ、1以上のアミノ酸の挿入、欠失、または置換を含むアミノ酸配列を含むNPM1タンパク質を指す。例えば、突然変異体NPM1は、WT NPM1配列と比べ、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはより多くのアミノ酸の挿入、欠失、または置換を含んでいてもよい。突然変異体NPM1は、WT NPM1と比較して、低減された活性および/または変更された細胞内局在を有していてもよい。本明細書に記載のWT NPM1または突然変異体NPM1は、哺乳動物のWT NPM1であってもよく、または哺乳動物の突然変異体NPM1であってもよい。いくつかの態様において、本明細書に記載のWT NPM1または突然変異体NPM1は、ヒトWT NPM1またはヒト突然変異体NPM1である。

20

30

【0076】

いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、完全長抗体である。本明細書に記載の完全長抗体は、その重鎖定常領域のアミノ酸配列に基づき、いずれかの抗体クラスに属していてもよい。例えば、NPM1へ結合する完全長抗体は、免疫グロブリンG(IgG)、免疫グロブリンA(IgA)、免疫グロブリンD(IgD)、免疫グロブリンE(IgE)、および免疫グロブリンM(IgM)であってもよく、またはそのサブクラス(例として、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)であってもよい。いくつかの態様において、本明細書に記載の抗体は、抗原結合性フラグメントである。抗原結合性フラグメントは、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Igモノマー、Fdフラグメント、scFv、scAb、dAb、Fv、アフィボディ、ダイアボディ、単ドメイン重鎖抗体、および単ドメイン軽鎖抗体のフォーマットであってもよい。本明細書に記載の抗体は、マウス、ラット、ヒト、またはいずれかの他の起源に属していてもよい。いくつかの態様において、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗体またはヒト化抗体である。

40

【0077】

いくつかの態様において、NPM1(例として、WT NPM1または突然変異体NPM1)へ結合する抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、重鎖可変領域および軽鎖可変領域は各々、基質特異性を決定する、一連の相補性決定領域(CDR)配列を含む。CDR配列は、当該技術分野において一般に知られているいずれかの付番スキーム(例として、Kabat、Chothia、Contact、IGMT)を使用して決定されても

50

よい。

【0078】

いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、アミノ酸配列NIFVH(配列番号1)を含む重鎖CDR1、アミノ酸配列KIDPANDNTKFAPNFQG(配列番号2)を含むHC CDR2、およびアミノ酸配列DSSGYDAVDY(配列番号3)を含むHC CDR3を含む重鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、アミノ酸配列RASESVYTYLA(配列番号9)を含む軽鎖CDR1、アミノ酸配列NAKTLTE(配列番号10)を含むLC CDR2、およびアミノ酸配列QHGYGTPYT(配列番号11)を含むLC CDR3を含む軽鎖を含む。

【0079】

いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、アミノ酸配列SYAMS(配列番号15)を含む重鎖CDR1、アミノ酸配列AISGSGGSTYYADSVKG(配列番号16)を含むHC CDR2、およびアミノ酸配列WRNNAFDY(配列番号17)を含むHC CDR3を含む重鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、アミノ酸配列QGDSLRSYYAS(配列番号22)を含む軽鎖CDR1、アミノ酸配列GKNNRPS(配列番号23)を含むLC CDR2、およびアミノ酸配列NSSPRLKHRVV(配列番号24)を含むLC CDR3を含む軽鎖可変領域を含む。

【0080】

表1は、NPM1(WTおよび/または突然変異体NPM1)に特異的である例示の抗体(「Ab1」および「Ab2」)につき、重鎖および軽鎖のCDRのアミノ酸配列を提供する。当該技術分野において一般に知られているいずれかの付番スキーム(例として、Kabat、Chothia、Contact、IGMT)を使用して決定されるとおり、表1において提供されるのと同じ重鎖または軽鎖のCDR配列を有する抗体は、本開示の範囲内にある。

【0081】

表1: 抗NPM1抗体のCDR配列

10

20

30

40

50

【表 1】

CDR	Kabat	Chothia	Contact
CDR-H1 (Ab1)	NIFVH(配列番号 1)	GFNIKNI(配列番号 4)	KNIFVH(配列番号 6)
CDR-H2 (Ab1)	KIDPANDNTKFAPNFQG (配列番号 2)	DPANDN(配列番号 5)	WIGKIDPANDNTK(配列番号 7)
CDR-H3 (Ab1)	DSSGYDAVDY(配列番号 3)	DSSGYDAVDY(配列番号 3)	ASDSSGYDAVD(配列番号 8)
CDR-L1 (Ab1)	RASESVYTYLA(配列番号 9)	RASESVYTYLA(配列番号 9)	YTYLAWY(配列番号 12)
CDR-L2 (Ab1)	NAKITLITE(配列番号 10)	NAKITLITE(配列番号 10)	LLVYNAKITLT(配列番号 13)
CDR-L3 (Ab1)	QHGYGTPYT(配列番号 11)	QHGYGTPYT(配列番号 11)	QHGYGTPY(配列番号 14)
CDR-H1 (Ab2 および Ab2.2)	SYAMS(配列番号 15)	GFTFSSY(配列番号 18)	SSYAMS(配列番号 20)
CDR-H2 (Ab2 および Ab2.2)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 16)	SGSGGS(配列番号 19)	WVSAISGSGGSTY(配列番号 48)
CDR-H3 (Ab2 および Ab2.2)	WRNNAFDY(配列番号 17)	WRNNAFDY(配列番号 17)	AKWRNNAFD(配列番号 21)
CDR-L1 (Ab2 および Ab2.2)	QGDSLRSYYAS(配列番号 22)	QGDSLRSYYAS(配列番号 22)	SYYASWY(配列番号 25)
CDR-L2 (Ab2 および Ab2.2)	GKNNRPS(配列番号 23)	GKNNRPS(配列番号 23)	LVIYGKNNRP(配列番号 26)
CDR-L3 (Ab2 および Ab2.2)	NSSPRLKHRVV(配列番号 24)	NSSPRLKHRVV(配列番号 24)	NSSPRLKHRV(配列番号 27)

10

20

【0082】

いくつかの態様において、「Ab1」として表1に表示される1以上の重鎖および/または軽鎖のCDR配列を含む抗体は、WT NPM1へ結合する(例として、優先的に結合する)。いくつかの態様において、「Ab2」として表1に表示される1以上の重鎖および/または軽鎖のCDR配列を含む抗体は、突然変異体NPM1(NPM1c)へ結合する(例として、優先的に結合する)。いくつかの態様において、「Ab2.2」として表1に表示される1以上の重鎖および/または軽鎖のCDR配列を含む抗体は、突然変異体NPM1(NPM1c)へ結合する(例として、優先的に結合する)。

30

【0083】

いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、表2に提供される重鎖可変領域(V_H)配列および/または軽鎖可変領域(V_L)配列を含む。いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体はさらに、表2に提供される重鎖定常領域(C_H)配列および/または軽鎖可変領域(C_L)配列を含む。いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、表2に提供される重鎖配列および/または軽鎖配列を含む。

40

【0084】

表2: 抗NPM1抗体の重鎖配列および軽鎖配列

50

【表 2 - 1】

抗体領域	配列
V _H (Ab1)	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKIFVHWVKQRPEQGLEWIGKIDPANDNTK FAPNFQGKAAISADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIYYCASDSSGYDAVDYWGQGTSTVVS S(配列番号 28)
V _L (Ab1)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASESVYTYLAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKLTLEGVP SRFSGSGSGTQFSLRINSLQPEDFGSYQCQHHYGTIPYTFGSGTIKLEIK(配列番号 29)
V _H (Ab2 および Ab2.2)	EVQLLESGLLVQPGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWRNNAFDYWGQGTILVT VSS(配列番号 30)
V _L (Ab2 および Ab2.2)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASWYQQKPGQAPVLTGYGKNNRPSGIPD RFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSSPRLKHRVVFVGGGTIKLTVL(配列番号 31)
C _H (Ab1/Ab2)	AKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGP SVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEM TKKQVILTCMVIDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK(配列番号 32)
C _H (Ab2.2)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG PSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(配列番号 46)
C _L (Ab1)	RADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKNGVLNSWTDQ DSKDSITYSMSSITLTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTISPIVKSFNRNEC(配列番号 33)
C _L (Ab2)	GQPKSSPSVTLFPPSSELETNKATLVCTITDFYPGVVTVDWKVDGIPVTQGMETTQPSK QSNNKYMASSYLTLTARAWERHSSYSCQVTHEGHTVEKSLRADCS(配列番号 34)
C _L (Ab2.2)	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETITPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(配列番号 47)
重鎖(Ab1)	MYRMLQLSCIALSLALVTINSEVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKIFVHWVKQ RPEQGLEWIGKIDPANDNTKFAPNFQGKAAISADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIYYCASDS SGYDAVDYWGQGTSTVVSAAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWV FNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVILTCMVIDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSGYSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK(配列 番号 35)

【 0 0 8 5 】

【表 2 - 2】

重鎖(Ab2)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKWRNNAFDYWQQGILVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKN TEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK(配列 番号 36)
重鎖(Ab22)	MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKWRNNAFDYWQQGILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G(配列番号 44)
軽鎖(Ab1)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSDIQMTQSPASLSASVGETVITTCRASESVYTYLAWYQQK QGKSPQLLVYNAKTLTEGVPSRFSGSGSGTQFSLRINSLQPEDFGSYCYQHGYGTPYTFG SGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVL NSWTDQDSKSDSTYSMSSTLTLTCKDEYERHNSYTCEATHKSTSPIVKSFNRNEC(配列番 号 37)
軽鎖(Ab2)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKP GQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSSPRLKHRVVF GGGTKLTVLGQPKSSPSVTLFPPSSEELINKATLVCTITDFYPGVVTVVDWKVDGTPVTQ GMETTQPSKQSNNKYMASSYLTLTARAWERHSSYSCQVTHEGHTVEKSLSRADCS(配 列番号 38)
軽鎖(Ab22)	MSVPTQVLGLLLLWLTARCSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQK PGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSSPRLKHRVVF FGGTKLTVLGQPKAAPSIVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(配 列番号 45)

10

20

30

【0086】

いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、表1または表2に提供されるCDR、V_H、V_L、C_H、C_L、重鎖配列、または軽鎖配列と比べ、1以上の突然変異(例として、アミノ酸の挿入、欠失、または置換)を含んでいてもよい。いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、表1または表2に提供されるCDR、V_H、V_L、C_H、C_L、重鎖配列、または軽鎖配列と比べ、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれより多くの突然変異(例として、アミノ酸の挿入、欠失、または置換)を含んでいてもよい。いくつかの態様において、NPM1へ結合する抗体は、表1または表2に提供されるCDR、V_H、V_L、C_H、C_L、重鎖配列、または軽鎖配列と、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であってもよい。

40

【0087】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号1の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)(IMGT定義系に従う)、配列番号2の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)(Kabat定義系に従う)、配列番号3の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)(Kabat定義系に従う)、配列番号9の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)(Kabat定義系に従う)、配列番号10の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)(Kabat定義系に従う)、および配列番号11の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)(Kabat定義系に従う)を含む。

50

【0088】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号15の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)(Kabat定義系に従う)、配列番号16の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)(Kabat定義系に従う)、配列番号17の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)(Kabat定義系に従う)、配列番号22の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)(Kabat定義系に従う)、配列番号23の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)(Kabat定義系に従う)、および配列番号24の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)(Kabat定義系に従う)を含む。

【0089】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号4の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)(IMGT定義系に従う)、配列番号2の重鎖相補性決定領域5(CDR-H2)(Chothia定義系に従う)、配列番号3の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)(Chothia定義系に従う)、配列番号9の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)(Chothia定義系に従う)、配列番号10の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)(Chothia定義系に従う)、および配列番号11の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)(Chothia定義系に従う)を含む。

10

【0090】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号18の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)(Chothia定義系に従う)、配列番号19の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)(Chothia定義系に従う)、配列番号17の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)(Chothia定義系に従う)、配列番号22の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)(Chothia定義系に従う)、配列番号23の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)(Chothia定義系に従う)、および配列番号24の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)(Chothia定義系に従う)を含む。

20

【0091】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号6の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)(IMGT定義系に従う)、配列番号7の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)(Contact定義系に従う)、配列番号8の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)(Contact定義系に従う)、配列番号12の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)(Contact定義系に従う)、配列番号13の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)(Contact定義系に従う)、および配列番号14の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)(Contact定義系に従う)を含む。

【0092】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号20の重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)(Contact定義系に従う)、配列番号48の重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)(Contact定義系に従う)、配列番号21の重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)(Contact定義系に従う)、配列番号25の軽鎖相補性決定領域1(CDR-L1)(Contact定義系に従う)、配列番号26の軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)(Contact定義系に従う)、および配列番号27の軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)(Contact定義系に従う)を含む。

30

【0093】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号28のアミノ酸配列を含むVHと比較したとき、フレームワーク領域中に25以下のアミノ酸バリエーション(例として、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1以下のアミノ酸バリエーション)を含有する重鎖可変領域(VH)を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号29のアミノ酸配列を含むVLと比較したとき、フレームワーク領域中に25以下のアミノ酸バリエーション(例として、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1以下のアミノ酸バリエーション)を含有する軽鎖可変領域(VL)を含む。

40

【0094】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号30のアミノ酸配列を含むVHと比較したとき、フレームワーク領域中に25以下のアミノ酸バリエーション(例として、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1以下のアミノ酸バリエーション)を含有する重鎖可変領

50

域(VH)を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号31のアミノ酸配列を含むVLと比較したとき、フレームワーク領域中に25以下のアミノ酸バリエーション(例として、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1以下のアミノ酸バリエーション)を含有する軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0095】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、フレームワーク領域中、配列番号28のアミノ酸配列を含むVHと少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗体は、フレームワーク領域中、配列番号29のアミノ酸配列を含むVLと少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。

10

【0096】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、フレームワーク領域中、配列番号30のアミノ酸配列を含むVHと少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗体は、フレームワーク領域中、配列番号31のアミノ酸配列を含むVLと少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0097】

20

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号28のアミノ酸配列を含むVHを含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号29のアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0098】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号30のアミノ酸配列を含むVHを含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号31のアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0099】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号35のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号35のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号37のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号37のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

30

【0100】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号36のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号36のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号38のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号38のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

40

【0101】

50

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号44のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号44のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号45のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号45のアミノ酸配列と少なくとも75%(例として、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%)同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0102】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号37のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号37のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0103】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号36のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号36のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号38のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号38のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

20

【0104】

いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号44のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの態様において、本開示の抗体は、配列番号44のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号45のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。代替的にまたは加えて(例として、加えて)、本開示の抗体は、配列番号45のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0105】

抗NPM1抗体の調製

本明細書に記載のとおりNPM1に結合することが可能な抗体は、当該技術分野において知られているいずれかの方法によって作製され得る。例えば、Harlow and Lane,(1998)Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New Yorkを見よ。いくつかの例において、抗NPM1抗体は、組換え技術によって調製される。

30

【0106】

例えば、ハイブリドーマ細胞株は、本明細書に記載の抗体を発現するリンパ球および不死化骨髓腫細胞から、当該技術分野において広く知られている技法を使用して調製され得る(例として、Kohler and Milstein,(1975)Nature 256:495-497;またはBuck,et al.,(1982)In Vitro,18:377-381を見よ)。典型的には、ハイブリドーマの生成は、融合因子(fusogen)(例として、ポリエチレングリコールまたは電流)を使用し、骨髓腫細胞をリンパ球様細胞と融合させることで、所望の抗体を産生および分泌することが可能な不死化細胞株を産生することを伴う。ハイブリドーマは、当該技術分野において知られている条件下、培養培地中で培養されてもよい。

40

【0107】

その代わりに、本明細書に記載のとおり抗NPM1抗体の重鎖および軽鎖をコードする核酸は、当該技術分野において知られている組換え技術を使用し、1以上のベクター中へクローニングされ得るが、ここで各ヌクレオチド配列は、好適なプロモーター(例として、当該技術分野において知られているとおり、構成的または誘導性のプロモーター)へ作動可能に(operably)連結されている。ベクターは、発現ベクターであってもよいが、

50

前記ベクターから、抗NPM1抗体のポリペプチド配列が具体的な細胞タイプにおいて発現され得る。1以上の発現ベクターは、作動可能に(典型的には、プロモーター配列へ3'に)連結された遺伝子の発現を推進するための1以上のプロモーターを含む。重鎖および軽鎖をコードするヌクレオチド配列の各々は、種々のプロモーターへ作動可能に連結されていてもよい。代替的に、重鎖および軽鎖をコードするヌクレオチド配列は、(例として、同じ発現ベクター内の)同じプロモーターへ作動可能に連結されていてもよい。発現ベクター(単数または複数)および/またはプロモーター(単数または複数)の選択は、抗体を産生することにおける使用のための宿主細胞のタイプに依存する。必要とあれば、配列内リボソーム進入部位(IRES)が、組換え発現を増強するために重鎖と軽鎖とのコード配列間に挿入され得る。抗NPM1抗体をコードする発現ベクターは、当該技術分野において知られているいずれかの技法(例として、化学的トランスフェクション、ウイルストランスフェクション)を使用し、発現用の細胞中へ挿入されてもよい。細胞は、当該技術分野において知られている技法を使用して培養され得る細胞であってもよい。細胞は、異種抗体配列を発現することが可能ないずれかの細胞タイプ、例えば、*in vitro*で培養され得るヒト細胞、マウス細胞、ラット細胞、霊長目の非ヒト動物細胞、または昆虫細胞などであってもよい。かかる細胞を、抗体の発現に十分な条件下(例として、発現に十分な温度および成長培地の条件下)で培養した後、抗NPM1抗体は、培養培地(抗体が分泌される場合)またはリシス(lysis)の後の細胞のどちらかから単離されてもよい。細胞および/または培養培地から抗体を単離するための技法は、当該技術分野において一般に知られているが、典型的には親和性クロマトグラフィーを包含する。

10

20

【0108】

抗NPM1抗体抱合体

本開示はさらに、化学リンカーを通して薬剤へ連結されている本明細書に記載の抗NPM1抗体(例として、WT NPM1または突然変異体NPM1へ結合する抗体)を含む分子抱合体を提供する。

【0109】

いくつかの態様において、本明細書に記載の抱合体は、薬物へ連結されている抗NPM1抗体を含む。薬物へ抱合されている抗NPM1抗体を含む抱合体は、「ADC」と称されてもよい。いくつかの態様において、薬物は、小分子である。用語「小分子」は、天然に存在するかまたは人工的に(例として、化学合成を介して)創出されるかにかかわらず、相対的に低い分子量を有する分子を指す。典型的に、小分子は、有機化合物である(例として、それは炭素を含有する)。小分子は、複数の炭素-炭素結合、立体中心、および他の官能基(例として、アミン、ヒドロキシル、カルボニル、および複素環式の環等々)を含有してもよい。ある態様において、小分子の分子量は、約1,000g/mol以下、約900g/mol以下、約800g/mol以下、約700g/mol以下、約600g/mol以下、約500g/mol以下、約400g/mol以下、約300g/mol以下、約200g/mol以下、または約100g/mol以下である。ある態様において、小分子の分子量は、少なくとも約100g/mol、少なくとも約200g/mol、少なくとも約300g/mol、少なくとも約400g/mol、少なくとも約500g/mol、少なくとも約600g/mol、少なくとも約700g/mol、少なくとも約800g/mol、または少なくとも約900g/mol、または少なくとも約1,000g/molである。上の範囲の組み合わせ(例として、少なくとも約200g/molおよび約500g/mol以下)もまた、実行可能である。

30

40

【0110】

いくつかの態様において、薬物は、細胞毒性薬物(例として、細胞毒性小分子)である。いくつかの態様において、薬物は、細胞増殖抑制薬物(例として、細胞増殖抑制小分子)である。いくつかの態様において、薬物は、化学治療用薬物である。本明細書に記載のADCにおける使用に好適な薬物の非限定例は、アウリスタチンE、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、アクチノマイシン、アクチノマイシンX2、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アエロプリシニン、アルドキソルピシン、

50

アグロケリン、アンサトリエニン、アンサマイトシンP-3、アフィジコリン、アポブトリジン、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、バフィロマイシンA1、バフィロマイシンB1、バフィロマイシンB2、バフィロマイシンC1、バフィロマイシンC2、バフィロマイシンD、バフィロマイシンE、カリケアミシン、カンパテシン、ケトシン、ケトグロボシン、クラミドシン、シネルビンB、クラドリピン、コルヒチン、コンブレタスタチンA1、コンブレタスタチンA4、コルジセピン、クリプトフィシン、ククルビタシンB、ククルビタシンE、クルブリン、シクロパミン、シクロホスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタピン、デキサメタゾン、ドラスタチン10、ドラスタチン15、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンDM、ドキシソルビシン、エングレリンA、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エトポシド、フルダラビン、フマギリン、ゲルダナマイシン、タネスピマイシン(17-AAG)、グルコピエリシジンA、グラミシジンA、ヘルボキシジエン、9-ヒドロキシエリブチシン、ヒドロキシ尿素、ハイグロリジン、ハイポテマイシン、イダルビシン、イリマキノン、イサトロポロンA、イソフィスツラリン-3、イキサベピロン、JW55、ラクタシスチン、ルイソールA、メイタンシノール、メルタンシン(DM1)、メイタンシンDM3、ラブタンシン(DM4)、メイタンシノイドAP-3、メケルカルマイシンA、メンサカルシン、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、マイクロコリンB、マイクロシスチンLR、ミトキサントロン、ムスコトキシシンA、ミオセベリン、マイトキシシンB、ネララビン、ネモルビシン、ノクオリンA、オキラクトマイシン、オリゴマイシンA、オリゴマイシンB、パクリタキセル、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、テセタキセル、ファラシジン、ファロイジン、フィトスフィンゴシン、ピエリシジンA、ピロネチン、ポドフィロトキシシン、ポリケトマイシン、プレドニゾン、プソイドラリン酸B、シューロチンA、プワイナフィシンF、ピロロベンゾジアゼピン、キナルドペプチン、ラケルマイシン、レベッカマイシン、Ro 5-3335、サフラシンB、サンドラマイシン、サンギナリン、サボリン、シネフンギン、タルトプリン、テロメスタチン、6-チオグアニン、チオコルヒチン、トリトキシシン、トリポリンA、トリプトリド、ツバスタチンA、チューブリシンA、チューブリシンM、チューブリシンIM-1、チューブリシンIM-2、チューブリシンIM-3、ベネトクラクス、およびピンクリスチンを包含する。本明細書に記載のADCは、具体的な細胞タイプ(例として、がん細胞)に対して細胞毒性または細胞増殖抑制性であることが当該技術分野において知られている別の薬物(例として、化学治療用薬物)を含んでいてもよい。

10

20

30

【0111】

いくつかの態様において、本明細書に記載の抗NPM1抗体は、薬剤(例として、薬物)の1より多くの分子へ抱合されている、すなわち、抗体および薬剤は、1:1超の比率にて一緒に抱合されている。いくつかの態様において、抗体と薬剤との間の比率は、1:1と1:10との間である。いくつかの態様において、抗体と薬剤との間の比率は、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、または1:10である。

【0112】

いくつかの態様において、本明細書に記載の抗NPM1抗体は、当該技術分野において知られている化学リンカーを使用して薬剤へ抱合(連結)される。本明細書に使用されるとき、用語「抱合される」、「連結される」、および「付着される」は、2つの分子が、好ましくは共有結合を通してかまたは2つの実体間の結び付きの治療上もしくは診断上の利益が現実化されるのに十分な親和性で、結び付けられることを意味する。

40

【0113】

いくつかの態様において、リンカーは、切断可能なリンカーである。本明細書に使用されるとき、切断可能なリンカーは、抱合された部分を、刺激に応じて放出することが可能である。いくつかの態様において、刺激は、生理学的な刺激である。刺激の非限定例は、酵素の存在、酸性条件、塩基性条件、または還元条件を包含する。例えば、切断可能なリンカーは、ペプチドリンカー、β-グルクロニドリンカー、グルタチオン感受性リンカー(またはジスルフィドリンカー)、およびpH感受性リンカーを包含する。いくつかの態様に

50

において、pH感受性リンカーは、5.0と6.5との間のpHまたは4.5と5.0とのpHの間にて切断される。いくつかの態様において、pH感受性リンカーは、pHが7と7.5との間であるときには切断されない。いくつかの態様において、pH感受性リンカーは、pHが7.3と7.5との間であるときには切断されない。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、プロテアーゼ感受性リンカーである。切断可能なリンカーの例は、N-スクシニミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノアート(SPP)、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)ブタノアート(SPDB)、スルホ-SPDB、バリン-シトルリンジペプチド(Val-Cit)、アセチルブチラート、CL2A、マレイミドカプロイル(MC)、およびMal-EBE-Malを包含する。例として、Donaghy, mAbs. 2016 May-Jun; 8(4): 659-71(参照によって本明細書に組み込まれる)を見よ。

10

【0114】

いくつかの態様において、リンカーは、切断不能である。いくつかの態様において、切断不能なリンカーは、対象中の体循環内では切断されないリンカーである。いくつかの態様において、切断不能なリンカーは、プロテアーゼ切断に耐性があるリンカーである。切断不能なリンカーは、N-スクシニミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート(SMCC)、マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシラート(MCC)、およびMC-VC-PABを包含する。

本明細書に記載の抱合体のいずれも、当該技術分野において知られている方法を使用して合成されてもよい。例として、Yao et al., Int J Mol Sci. 2016 Feb 2; 17(2)を見よ。

【0115】

20

1つには、薬物(例として、化学治療用薬物)が、毒性があり、かつ細胞表面NPM1を発現する具体的な細胞タイプ(例として、NPM1発現がん細胞)に対して標的化され得るという理由から、薬物へ抱合された抗NPM1抗体を含むADCは、治療的に使用するのに有利である。薬物を抗NPM1抗体へ抱合することによって、ADCの毒性は、その遊離形態の薬物と比較して、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも99%まで低減されてもよい。

【0116】

いくつかの態様において、抗NPM1抗体が連結される薬剤は、放射性同位体である。いくつかの態様において、放射性同位体は、がんの処置に有用である放射性同位体(すなわち、治療用放射性同位体)、例えば、急性骨髄性白血病(AML)、急性前骨髄性白血病(APL)、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、または骨髄異形成症候群(MDS)の処置に有用である放射性同位体などである。がんの処置に有用な放射性同位体は、当該技術分野において周知であって、ヨウ素-131(^{131}I)、レニウム-188(^{188}Re)、イットリウム-90(^{90}Y)、ビスマス-213(^{213}Bi)、およびアクチニウム-225(^{225}Ac)を包含するが、これらに限定されない。放射性同位体が連結された抗体の例、およびかかる抗体を産生するための技法もまた、当該技術分野において周知である(例として、Rosenblat TL, et al. "Sequential cytarabine and alpha-particle immunotherapy with bismuth-213-lintuzumab (HuM195) for acute myeloid leukemia". Clin Cancer Res. 2010 Nov 1; 16(21): 5303-11を見よ、これは参照により本明細書に組み込まれる)。1つには、放射性同位体が、毒性があり、かつ細胞表面NPM1を発現する具体的な細胞タイプ(例として、NPM1発現がん細胞)に対して標的化され得るという理由から、放射性同位体を含む抗体は、治療的に使用するのに有利である。放射性同位体を抗NPM1抗体へ抱合させることによって、放射性同位体の毒性は、その遊離形態の放射性同位体と比較して、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも99%まで低減されてもよい。

30

40

【0117】

組成物

本開示はさらに、本明細書に提供されるNPM1へ結合する抗体(例として、WT NPM1

50

または突然変異体NPM1へ結合する抗体)を含む組成物を提供する。いくつかの態様において、医薬組成物は、薬学的に許容し得る担体をさらに含む。「薬学的に許容し得る」は、理に適う医学的判断の範囲内で、ベネフィット/リスクの合理的な比率に見合った、過度の毒性も刺激状態もアレルギー反応も他の問題または合併症もない、人間および動物の組織との接触における使用に好適な、それら化合物、材料、組成物、および/または剤形を指す。「薬学的に許容し得る担体」は、対象薬剤を、身体の一方向の器官もしくは部分から身体のもう一方の器官もしくは部分まで運搬または移送することに関与する、液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒、または封入材料などの、薬学的に許容し得る材料、組成物、またはビヒクルであってもよい。各担体は、製剤の他の成分と適合し、かつペイシエントの組織に対して傷害性がないという意味において「許容し得る」(例として、生理学的に適合する、滅菌される、生理学的なpHである等々)ものでなければならない。用語「担体」は、有機成分もしくは無機成分であって、天然または合成のものを表示するが、これと活性成分が組み合わせられるとその適用が容易になる。医薬組成物の構成要素はまた、本開示の分子と、および互いと、所望の薬学的有効性を実質的に損なうであろう相互作用が一切ないような様式で混じり合わせられることも可能である。薬学的に許容し得る担体としての役割を果たし得る材料のいくつかの例は、(1)糖、たとえばラクトース、グルコース、およびスクロース;(2)デンプン、たとえばコーンスターチおよびジャガイモデンプン;(3)セルロースおよびその誘導体、たとえばカルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、微結晶性セルロース、および酢酸セルロース;(4)粉末状トラガント;(5)麦芽;(6)ゼラチン;(7)平滑剤、たとえばステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびタルク;(8)賦形剤、たとえばカカオバターおよび坐薬ワックス;(9)油、たとえば落花生油、綿実油、紅花油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、および大豆油;(10)グリコール、たとえばプロピレングリコール;(11)ポリオール、たとえばグリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコール(PEG);(12)エステル、たとえば、オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル;(13)寒天;(14)緩衝剤、たとえば水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム;(15)アルギン酸;(16)パイロジェンフリー水;(17)等張生理食塩水;(18)リンガー溶液;(19)エチルアルコール;(20)pH緩衝溶液;(21)ポリエステル、ポリカーボネート、および/またはポリ酸無水物;(22)増量剤、たとえばポリペプチドおよびアミノ酸;(23)血清構成要素、たとえば血清アルブミン、HDL、およびLDL;(22)C2~C12アルコール、たとえばエタノール;ならびに(23)医薬製剤に採用される他の非毒性の相溶性のある物質を包含する。湿潤剤、着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、芳香剤、保存料、および抗酸化剤もまた、製剤中に存在し得る。

【0118】

医薬組成物は、便宜上単位剤形で提示されてもよく、薬学の技術分野において周知の方法のいずれかによって調製されてもよく。用語「単位用量」は、本開示の医薬組成物を参照して使用されるとき、対象への投与のための単位投薬量として好適な物理的に個別の単位を指し、各単位は、所望の治療効果を産生するよう算出された、予め決められた分量の活性材料を、要求される希釈剤;すなわち、担体またはビヒクルと結び付けて含有する。

【0119】

医薬組成物の製剤は、対象への投与ルートに依存してもよい。非経口投与、または腹腔内、腫瘍内、腫瘍周辺、病巣内、もしくは病巣周辺への投与に好適な注射可能な調製物は、例えば滅菌の注射可能な水性または油性の懸濁液を包含し、かつ知られている技術(known art)に従い好適な分散剤または湿潤剤と懸濁化剤とを使用して製剤化されてもよい。注射可能な調製物はまた、非毒性の非経口的に許容し得る希釈剤もしくは溶媒中の滅菌の注射可能な溶液、懸濁液、またはエマルジョン、例えば1,3プロパンジオールまたは1,3ブタンジオール中の溶液であってもよい。許容し得るビヒクルおよび溶媒のうち採用されてもよいのは、水、リンガー溶液(U.S.P.)、および等張塩化ナトリウム溶液である。加えて、滅菌の固定油も、溶媒または懸濁化媒体として従来採用されている。このため、合成モノ-またはジ-グリセリドを包含するいずれかの無菌性の固定油が採用されてもよい

。加えて、オレイン酸などの脂肪酸も、注射剤の調製における使用を見出される。注射可能な製剤は、例えば、細菌保持フィルター通しての濾過によって、あるいは使用に先立ち滅菌水もしくは他の滅菌の注射可能な媒体に溶解または分散され得る滅菌の固体組成物の形態で滅菌剤を組み込むことによって、滅菌され得る。

【0120】

経口投与に好適な組成物は、個別的単位、たとえばカプセル、錠剤、ロゼンジとして提示されてもよく、それら各々は、予め決められた量の抗炎症剤を含有する。他の組成物は、シロップ、エリキシル、またはエマルジョンなどの水性の液体または非水性の液体中の懸濁液を包含する。

【0121】

いくつかの態様において、本明細書に提供される組成物(例として、対象へ投与される医薬組成物)は、滅菌されていなければならない。無菌状態は、滅菌濾過膜(例として、0.2ミクロンの膜)を通した濾過によって容易に完遂される。代替的に、保存料が、微生物の成長または作用を防止する(prevent)ために使用され得る。様々な保存料が周知であり、例えばフェノールおよびアスコルビン酸を包含する。医薬組成物は、通常なら、凍結乾燥された形態で、またはそれが熱的変性および酸化的変性に対して高度に安定である場合には水性溶液として、保管されるであろう。調製物のpHは、典型的には約6から約8までであろうが、より高いまたはより低いpH値もまた、ある実例においては適切であり得る。

【0122】

抗NPM1抱合体の投与

本開示はさらに、本明細書に記載の抗NPM1抗体、本明細書に記載の抗NPM1抗体を含む抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)の対象への投与を提供する。いくつかの態様において、本明細書に記載の抗NPM1抗体、本明細書に記載の抗NPM1抗体を含む抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)を対象へ投与することによって、NPM1の細胞表面発現に関連する疾患(例として、NPM1発現がん)を処置するための方法が提供される。

【0123】

いくつかの側面において、本開示は、対象におけるNPM1発現がんを処置するための方法を提供するが、前記方法は、有効量の、本明細書に記載の抗NPM1抗体、本明細書に記載の薬剤(例として、薬物、放射性同位体)へ抱合された抗NPM1抗体を含む抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)を、これを必要とする対象へ投与することを含む。

【0124】

本明細書に使用されるとき、用語「投与する」、「投与すること」、または「投与」は、本明細書に記載の薬剤(例として、抗体、抱合体)またはその組成物(例として、医薬組成物)を、対象中もしくは対象上に埋植、吸収、摂取、注射、吸入すること、または別様に導入することを指す。本明細書に使用されるとき、用語「処置」、「処置する」、および「処置すること」は、対象における疾患(例として、がん)の重症度を低減する目的で、これを必要とする対象への、本明細書に記載の薬剤(例として、抗体、抱合体)もしくは(例として、医薬組成物)の適用または投与を指す。「これを必要とする対象」は、疾患、疾患の症状、または疾患に対する素因を有する個体を指す。疾患を処置するための方法は、対象における疾患、疾患の症状、もしくは疾患に対する素因を、矯正する(cure)、治療する(heal)、緩和する(alleviate)、軽減する(relieve)、変更する(alter)、治療する(remedy)、向上させる(ameliorate)、改善する(improve)、または影響を及ぼす(affect)意図をもって、本明細書に記載の薬剤(例として、抗体、抱合体)またはその組成物(例として、医薬組成物)を対象へ投与することを網羅してもよい。疾患を処置するための方法は、予防法(prophylaxis)を網羅してもよく、ここで薬剤は、例えば疾患を有することを知られてはいないが今後疾患を発症し得るかまたは発症するリスクがあり得る対象において、疾患の発症を予防する(preventing)目的で対象へ投与される。

10

20

30

40

50

【0125】

本明細書に使用されるとき、「治療的に有効な量」または「有効量」は、対象において所望の生物学的応答を誘発することで、例えば疾患(例として、がん)の1以上の症状を緩和するのに十分な薬剤(例として、本明細書に記載の抗体または抱合体)の量を指す。治療的に有効な量は、単独または1以上の他の薬剤との組み合わせのどちらかで、対象へ投与される量であってもよい。有効量は、当業者によって認識されたとおり、所望の生物学的エンドポイント、投与される薬剤の薬物動態、処置されている具体的な疾病または疾患、疾病または疾患の重症度、年齢(age)、体調、サイズ、性、および重量を包含する対象の個々のパラメータ、処置の持続時間、いずれか他の同時治療の性質、特定の投与ルート、ならびに決定することが医療関係者(health practitioner)の知識および見解内の同類因子などの因子に依存して、変動する。これら因子は当業者に周知であって、わずかな定型実験(routine experimentation)で対処され得る。使用されるべき、本明細書に記載の個々の薬剤(例として、本明細書に記載の抗体もしくは抱合体)またはそれらのいずれかの組み合わせの最大用量は、多くても、理に適う医学的判断に従って対象へ安全に投与され得る最も高い用量であるということが一般に好ましい。好ましくは、有効な用量は、対象へ安全に投与され得る最も高い用量よりも低い。しかしながら、対象または医療関係者が、処置の副作用などの処置のいずれかの潜在的リスクを和らげるために、より低い用量(例として、最小有効用量)を選択してもよいことは、当業者によって理解されるであろう。

10

【0126】

いくつかの態様において、正常体重の成体対象につき、約0.01mg/kgから1000mg/kgまで及ぶ用量の薬剤(例として、本明細書に記載の抗体または抱合体)が投与されてもよい。いくつかの態様において、用量は、1~200mgの間である。具体的な投薬量レジメン、すなわち、用量、タイミング、および繰り返しは、具体的な対象およびその対象の医療歴、ならびに薬剤の特性(薬剤の薬物動態など)および当該技術分野において周知である他の考慮すべき事柄に依存するであろう。

20

【0127】

疾患(例として、がん)を処置することは、疾患の発症もしくは進行を遅延させること、または疾患の重症度を低減させることを包含してもよい。疾患を処置することは、必ずしも根治の結果を要求するものではない。本明細書に使用されるとき、疾患の発症を「遅延させる」は、対象における疾患の進行を、先送りする(defer)、妨害する(hinder)、遅くする(slow)、遅らせる(retard)、安定させる(stabilize)、および/または延期する(postpone)ことを意味する。疾患の進行を遅延させることは、対象に生じている疾患の広がりを遅延または予防すること、例えば、対象に生じているがんの、がんによる影響がまだ及ぼされていない1以上の器官もしくは組織への転移を遅延または予防することなどを包含してもよい。この遅延は、疾患の履歴および/または処置されている個体に依存して、さまざまな長さの時間から成り得る。疾患の発症を遅延させるか、または疾患の発症を遅延させる方法は、かかる方法の不在と比較したとき、所与の時間枠における疾患の1以上の症状を発症する確率を低減させるか、および/または所与の時間枠における症状の程度を低減させる方法である。比較は、典型的には、統計的に有意な結果を与えるのに十分な数の対象を使用する臨床研究に基づく。

30

40

【0128】

疾患(例として、がん)の「発症」または「進行」は、対象における疾患の初期兆候および/または後に続いて起こる進行を指す。疾患の発症は、当該技術分野において周知のとおり標準的な臨床技法を使用して検出可能であり得、かつ査定され得る。しかしながら、発症はまた、検出不能なこともある進行も指す。本開示の目的上、発症または進行は、疾患の症状の発症または進行を指してもよい。用語「発症」は、疾患の発生(occurrence)、再発、および発症を包含する。本明細書に使用されるとき、疾患の「発症」または「発生」は、疾患の初期の発症、ならびに疾患の再発(すなわち、これまでに疾患を有していた対象における)を包含する。

50

【0129】

投与が企図される「対象」は、ヒト(すなわち、いずれかの年齢群の男性もしくは女性、例として小児対象(例として、幼児、子ども、もしくは青年期の若者)、または成人対象(例として、若年成人、中年成人、もしくは高齢成人))、あるいは非ヒト動物を指す。いくつかの態様において、非ヒト動物は、哺乳動物(例として、齧歯類の動物、例としてマウスもしくはラット)、霊長目の動物(例として、カニクイザルもしくは赤毛猿)、商業に関係のある哺乳動物(例として、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、もしくはイヌ)、または鳥(例として、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、もしくはシチメンチョウなどの、商業に関係のある鳥)である。非ヒト動物は、発生(development)のいずれかの段階にてオスであってもまたはメスであってもよく、かつ幼若動物であってもまたは成体動物であってもよい。非ヒト動物は、トランスジェニック動物であってもまたは遺伝子改変動物であってもよい。

10

【0130】

いくつかの態様において、対象は、伴侶動物(例として、ペットまたは介助動物)である。「伴侶動物」は、本明細書に使用されるとき、ペットおよび他の飼育動物を指す。伴侶動物の非限定例は、イヌおよびネコ;ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、およびニワトリなどの家畜類;ならびにマウス、ラット、モルモット、およびハムスターなどの他の動物を包含する。いくつかの態様において、対象は、研究動物である。研究動物の非限定例は、齧歯類の動物(例として、ラット、マウス、モルモット、およびハムスター)、ウサギ、または霊長目の非ヒト動物を包含する。

20

【0131】

いくつかの態様において、対象は、NPM1発現がんを有するか、それを有することが疑われているか、またはそのリスクがある。用語「NPM1発現がん」は、NPM1の発現(例として、非がん性細胞と比較したとき、NPM1の増強された発現)によって特徴付けられるがんを指し、これはさらに、例えば細胞表面上に存在するNPM1の増大などの、NPM1の細胞下局在の変化によって特徴付けられてもよい。NPM1発現がんは、WT NPM1および/または突然変異体NPM1を発現していてもよい。NPM1発現がんは、細胞表面上にWT NPM1および/または突然変異体NPM1を発現していてもよい。NPM1発現がんはまた、薬剤(例として、化学治療用薬物)の投与またはそれでの処置に応じてNPM1(例として、細胞表面WT NPM1および/または突然変異体NPM1)を発現する、NPM1の発現によって初期には特徴付けられないがんも指してもよい。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、固形(組織)または液性(生体液、例として血液)がんである。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、血液がん、肺がん、乳がん、脳がん、消化管がん、肝臓がん、腎臓がん、膀胱がん、脾臓がん、卵巣がん、精巣がん、前立腺がん、子宮内膜がん、筋肉のがん、骨がん、神経内分泌がん、結合組織がん、頭部もしくは頸部のがん、または皮膚がんから選択されるがんである。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、急性骨髄性白血病(AML)、急性前骨髄性白血病(APL)、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、および骨髄異形成症候群(MDS)である。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、転移性がんである。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、治療関連がんまたは二次性悪性腫瘍である。治療関連がんまたは二次性悪性腫瘍は、化学治療薬または放射性同位体での先の処置の結果として生じる、白血病、癌、またはリンパ腫などのがんであってもよい。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、治療関連AML(t-AML)、または非ホジキンリンパ腫の二次性悪性腫瘍である。

30

40

【0132】

いくつかの態様において、対象は、NPM1発現がんにつきこれまでに処置されたことがある。いくつかの態様において、対象は、1以上の処置(例として、1以上の化学治療用薬物での処置)に耐性があるNPM1発現がんを有する。NPM1発現がんは、処置(例として、1以上の化学治療用薬物での処置)に対して、処置ががんの細胞を有効に殺滅および/または不活性化し得ない場合に(例えば、処置の1以上の薬物の不活性化および/もしくは排出、または処置の1以上の下流効果の阻害をもたらすがんに生じている遺伝的および/

50

または非遺伝的(epigenetic)な変化に起因する)、とくに処置がこれまでにがんの細胞を殺滅および/または不活性化するのに有効であった場合に、耐性があると言われる。いくつかの態様において、1以上の処置(例として、1以上の化学治療用薬物での処置)に対して耐性があるNPM1発現がんは、先の処置(例として、1以上の化学治療用薬物での先の処置)の結果として、がん細胞の表面上にNPM1を発現するが、がんは前記先の処置に耐性があるか、またはそれに耐性をもつようになったがんである。いくつかの態様において、1以上の処置(例として、1以上の化学治療用薬物での処置)に対して耐性があるNPM1発現がんの表面上のNPM1のレベルは、先の処置(例として、1以上の化学治療用薬物での先の処置)の結果として増大されるが、がんは前記先の処置に耐性があるか、またはそれに耐性をもつようになったがんである。

10

【0133】

医学の技術分野における当業者に知られている従来の方法は、処置されるべき疾患(例として、がん)のタイプまたは疾患(例として、がん)の部位に依存して、抗体、抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)を対象へ投与するために使用され得る。抗体、抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、全身的に(すなわち、身体を通してすべて)、または局所的に(すなわち、身体中の1以上の特定の器官、組織、または場所へ)投与され得る。抗体、抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、いずれかの従来ルートを紹介して投与され、例として、経口的に、非経口的に、吸入スプレーによって、局所的に、経直腸的に、経鼻的に、口腔内に、腔内に、腹腔内に、または埋植されたりザーバを紹介して投与され得る。用語「非経口」は、本明細書に使用されるとき、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液嚢内、胸骨内(intrasternal)、腹腔内、髄腔内、病巣内、および頭蓋内への注射または注入技法を包含する。いくつかの態様において、抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、静脈内への注射または注入を紹介して投与される。加えて、抗体、抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、注射可能なデポー投与ルートを紹介し、たとえば1-、3-、または6-ヶ月のデポー注射可能なまたは生分解性の材料および方法を使用して、対象へ投与され得る。いくつかの態様において、抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、注射を紹介して投与される。いくつかの態様において、注射は、静脈内注射または腫瘍内注射である。

20

【0134】

いくつかの態様において、投与は、1度より多く生じる。いくつかの態様において、投与は、1日当たり1度、2日当たり1度、3日当たり1度、4日当たり1度、5日当たり1度、6日当たり1度、週当たり1度、2週間当たり1度、3週間当たり1度、1ヶ月当たり1度、2ヶ月当たり1度、3ヶ月当たり1度、4ヶ月当たり1度、6ヶ月当たり1度、7ヶ月当たり1度、8ヶ月当たり1度、9ヶ月当たり1度、10ヶ月当たり1度、11ヶ月当たり1度、または1年当たり1度生じる。

30

【0135】

いくつかの側面において、本開示は、対象におけるNPM1発現がんを処置するための方法を提供するが、前記方法は、これを必要とする対象へ、有効量の、本明細書に記載の抗NPM1抗体を含む組み合わせ、本明細書に記載の薬剤(例として、薬物、放射性同位体)へ抱合された抗NPM1抗体を含む抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)、および化学治療用薬物、またはその組成物(例として、医薬組成物)を投与することを含む。いくつかの態様において、企図される組み合わせは、本明細書に記載の抗体または抱合体と、本明細書に記載の単一の化学治療用薬物とを含む。いくつかの態様において、企図される組み合わせは、本明細書に記載の抗体または抱合体と、本明細書に記載の1より多くの化学治療用薬物とを含む。

40

【0136】

いくつかの態様において、その組み合わせが投与される対象は、NPM1発現がんを有するか、有することが疑われているか、またはそのリスクがある。NPM1発現がんは、WT NPM1および/または突然変異体NPM1を発現していてもよい。NPM1発現がんは、

50

がん細胞の表面上にWT NPM1および/または突然変異体NPM1を発現していてもよい。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、固形(組織)または液性(生体液、例として血液)がんである。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、血液がん、肺がん、乳がん、脳がん、消化管がん、肝臓がん、腎臓がん、膀胱がん、膵臓がん、卵巣がん、精巣がん、前立腺がん、子宮内膜がん、筋肉のがん、骨がん、神経内分泌がん、結合組織がん、頭部もしくは頸部のがん、または皮膚がんから選択されるがんである。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、急性骨髄性白血病(AML)、急性前骨髄性白血病(APL)、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、および骨髄異形成症候群(MDS)である。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、転移性がんである。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、治療関連がんまたは二次性悪性腫瘍である。いくつかの態様において、NPM1発現がんは、治療関連AML(t-AML)、または非ホジキンリンパ腫の二次性悪性腫瘍である。

10

【0137】

いくつかの態様において、その組み合わせが投与される対象は、NPM1発現がんにつきこれまでに処置されたことがある。いくつかの態様において、対象は、1以上の処置(例として、1以上の化学治療用薬物での処置)に耐性があるNPM1発現がんを有する。本明細書に例示されるとおり(例4を見よ)、化学治療用薬物(例えば、ダウノルビシン、ベネトクラクス、5-アザシチジン)でのがん細胞の処置は、がん細胞上および/またはがん細胞中(例として、白血病がん細胞、例として、AML上)のNPM1のレベルを増大させてもよい。理論によって拘束されることは望まないが、化学治療耐性がんを包含するがん細胞に、低用量の化学治療用薬物で事前投薬すると、がん細胞と本明細書に記載の抗体または抱合体との間の結合が強化(増強)される。このように抗体または抱合体による結合を強化することによって、がん細胞は、対象において処置するのがより容易になることもある。例えば、低用量の化学治療用薬物で処置されたことのあるがん細胞は、別の(すなわち、低用量の化学治療用薬物での処置がない)方法では(otherwise)可能であったろう用量より低い用量の抗体または抱合体の投与によって有効に処置されることもある。「低(い)用量」は、対象におけるがんを有効に処置するのにそのままでは不十分である化学治療用薬物の投薬量を指してもよい。

20

【0138】

原則として、当該技術分野において一般に知られているがんの処置用のいずれかの化学治療用薬物は、組み合わせの一部として対象へ投与されてもよい。いくつかの態様において、化学治療用薬物の対象への投与は、対象におけるがん細胞の表面上のWTおよび/または突然変異体NPM1のレベルの増大をもたらす。いくつかの態様において、有効量の化学治療用薬物の対象への投与は、対象におけるがん細胞の表面上のWTおよび/または突然変異体NPM1のレベルの増加を、最大で5%、最大で10%、最大で15%、最大で20%、最大で25%、最大で30%、最大で35%、最大で40%、最大で45%、最大で50%、最大で60%、最大で70%、最大で80%、最大で90%、最大で100%、最大で2倍、最大で3倍、最大で4倍、最大で5倍、最大で6倍、最大で7倍、最大で8倍、最大で9倍、または最大で10倍までもたらす。いくつかの態様において、有効量の化学治療用薬物の対象への投与は、対象における非がん性細胞の表面上のWTおよび/または突然変異体NPM1のレベルを増大させないか、あるいは対象における非がん性細胞の表面上のWTおよび/または突然変異体NPM1のレベルを、対象におけるがん細胞の表面上より少ない程度まで増大させる。

30

40

【0139】

組み合わせにおける使用に好適な化学治療用薬物の非限定例は、アウリスタチンE、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、アクチノマイシン、アクチノマイシンX2、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アエロプリシニン、アルドキシソルビシン、アグロケリン、アンサトリエニン、アンサマイトシンP-3、アフィジコリン、アポプトリジン、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、バフィロマイシンA1

50

、バフィロマイシンB1、バフィロマイシンB2、バフィロマイシンC1、バフィロマイシンC2、バフィロマイシンD、バフィロマイシンE、カリケアミシン、カンパテシン、ケトシン、ケトグロボシン、クラミドシン、シネルビンB、クラドリビン、コルヒチン、コンブレタスタチンA1、コンブレタスタチンA4、コルジセピン、クリプトフィシン、ククルビタシンB、ククルビタシンE、クルブリン、シクロパミン、シクロホスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタピン、デキサメタゾン、ドラスタチン10、ドラスタチン15、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンDM、ドキシソルビシン、エングレリンA、エポチロンA、エポチロンB、エポチロンC、エトポシド、フルダラビン、フマギリン、ゲルダナマイシン、タネスピマイシン(17-AAG)、グルコピエリシジンA、グラミシジンA、ヘルボキシジエン、9-ヒドロキシエリプチシン、ヒドロキシ尿素、ハイグロリジン、ハイポテマイシン、イダルビシン、イリマキノン、イサトロポロンA、イソフィスツラリン-3、イクサベピロン、JW55、ラクタシスチン、ルイソールA、メイタンシノール、メルタンシン(DM1)、メイタンシンDM3、ラブタンシン(DM4)、メイタンシノイドAP-3、メケルカルマイシンA、メンサカルシン、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、マイクロコリンB、マイクロシスチンLR、ミトキサントロン、ムスコトキシシンA、ミオセベリン、マイトキシシンB、ネララビン、ネモルビシン、ノクオリンA、オキラクトマイシン、オリゴマイシンA、オリゴマイシンB、パクリタキセル、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、テセタキセル、ファラシジン、ファロイジン、フィトスフィンゴシン、ピエリシジンA、ピロネチン、ポドフィロトキシシン、ポリケトマイシン、プレドニゾン、プソイドラリン酸B、シューロチンA、プワイナフィシンF、ピロロベンゾジアゼピン、キナルドペプチン、ラケルマイシン、レベッカマイシン、Ro 5-3335、サフラシンB、サンドラマイシン、サンギナリン、サポリン、シネフンギン、タルトプリン、テロメスタチン、6-チオグアニン、チオコルヒチン、トリトキシシン、トリポリンA、トリプトリド、ツバスタチンA、チューブリシンA、チューブリシンM、チューブリシンIM-1、チューブリシンIM-2、チューブリシンIM-3、ベネトクラクス、およびピンクリスチンを包含する。いくつかの態様において、組み合わせによって構成される(comprised by)化学治療用薬物は、サポリン、ダウノルビシン、ベネトクラクス、またはアザシチジンである。

10

20

30

40

50

【0140】

いくつかの態様において、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)と、組み合わせの化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)とは、対象へ同時に投与される、すなわち、対象へ同じ時刻にてまたは凡そ同じ時刻にて投与される。いくつかの態様において、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)と、組み合わせの化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)とは、対象へ連続して投与される、すなわち、対象へ異なる時刻にて投与される。いくつかの態様において、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、組み合わせの化学治療用薬物に先立ち投与される。いくつかの態様において、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)は、組み合わせの化学治療用薬物後に投与される。いくつかの態様において、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)と、組み合わせの化学治療用薬物とは、対象へ、1分間、2分間、3分間、4分間、5分間、10分間、15分間、30分間、45分間、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、12時間、18時間、1日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、1週間、2週間、3週間、1ヶ月間、2ヶ月間、3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、または6ヶ月間ずらして投与される。

【0141】

医学の技術分野における当業者に知られている従来の方法は、処置されるべき疾患(例として、がん)のタイプまたは疾患(例として、がん)の部位に依存して、組み合わせを対象へ投与するために使用され得る。組み合わせは、全身的に(すなわち、身体を通してすべて)、または局部的に(すなわち、身体中の1以上の特定の器官、組織、または場所へ)投与され得る。組み合わせはまた、いずれかの従来ルートを紹介しても投与され、例として

、経口的に、非経口的に、吸入スプレーによって、局所的に、経直腸的に、経鼻的に、口腔内に、腔内に、腹腔内に、または埋植されたりザーバを介しても投与され得る。用語「非経口」は、本明細書に使用されるとき、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液嚢内、胸骨内(intrasternal)、腹腔内、髄腔内、病巣内、および頭蓋内への注射または注入技法を包含する。いくつかの態様において、組み合わせの一部の1以上(例として、抗体または抱合体、化学治療用薬物)は、静脈内への注射または注入を介して投与される。加えて、組み合わせの一部の1以上(例として、抗体または抱合体、化学治療用薬物)は、注射可能なデポー投与ルートを紹介し、たとえば1-、3-、または6-ヶ月のデポー注射可能なまたは生分解性の材料および方法を使用して、対象へ投与されてもよい。いくつかの態様において、組み合わせの一部の1以上(例として、抗体または抱合体、化学治療用薬物)は、注射を介して投与される。いくつかの態様において、注射は、静脈内注射または腫瘍内注射である。いくつかの態様において、抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)と、化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)とは、対象へ同じ投与ルートを通して投与される。いくつかの態様において、抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)と、化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)とは、対象へ異なる投与ルートを通して投与される。

10

【0142】

いくつかの態様において、組み合わせは、1度より多く投与される。いくつかの態様において、組み合わせは、1日当たり1度、2日当たり1度、3日当たり1度、4日当たり1度、5日当たり1度、6日当たり1度、週当たり1度、2週間当たり1度、3週間当たり1度、1ヶ月当たり1度、2ヶ月当たり1度、3ヶ月当たり1度、4ヶ月当たり1度、6ヶ月当たり1度、7ヶ月当たり1度、8ヶ月当たり1度、9ヶ月当たり1度、10ヶ月当たり1度、11ヶ月当たり1度、または1年当たり1度投与される。

20

【0143】

いくつかの態様において、組み合わせが投与される「対象」は、ヒト、すなわち、いずれかの年齢群の男性もしくは女性、例として小児対象(例として、幼児、子ども、もしくは青年期の若者)、または成人対象(例として、若年成人、中年成人、もしくは高齢成人)、あるいは非ヒト動物を指す。いくつかの態様において、非ヒト動物は、哺乳動物(例として、齧歯類の動物、例としてマウスもしくはラット)、霊長目の動物(例として、カニクイザルもしくは赤毛猿)、商業に関係のある哺乳動物(例として、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、もしくはイヌ)、または鳥(例として、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、もしくはシチメンチョウなどの、商業に関係のある鳥)である。非ヒト動物は、発生(development)のいずれかの段階にてオスであってもまたはメスであってもよく、かつ幼若動物であってもまたは成体動物であってもよい。非ヒト動物は、トランスジェニック動物であってもまたは遺伝子改変動物であってもよい。

30

【0144】

いくつかの態様において、組み合わせが投与される対象は、伴侶動物(例として、ペットまたは介助動物)である。伴侶動物の非限定例は、イヌおよびネコ;ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、およびニワトリなどの家畜類;ならびにマウス、ラット、モルモット、およびハムスターなどの他の動物を包含する。いくつかの態様において、組み合わせが投与される対象は、研究動物である。研究動物の非限定例は、齧歯類の動物(例として、ラット、マウス、モルモット、およびハムスター)、ウサギ、または霊長目の非ヒト動物を包含する。

40

【0145】

いくつかの態様において、対象は、これまでに、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)も、組み合わせの化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)も、投与された(例として、それで処置された)ことがない。いくつかの態様において、対象は、これまでに、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)を投与され(例としてそれで処置され)、次いで、組み合わせの化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)を投与されたことがある。

50

いくつかの態様において、対象は、これまでに、組み合わせの化学治療用薬物またはその組成物(例として、医薬組成物)を投与され(例としてそれで処置され)、次いで、組み合わせの抗体、その抱合体、またはその組成物(例として、医薬組成物)を投与されたことがある。

【0146】

いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、本明細書に記載の化学治療用薬物の不在下で投与されたとき、本明細書に記載の等用量の抗体または抱合体によって実現されるであろうものより、対象において増強された生物学的応答を誘発する。いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、本明細書に記載の抗体または抱合体の不在下で投与されたとき、本明細書に記載の等用量の化学治療用薬物によって実現されるであろうものより、対象において増強された生物学的応答を誘発する。いくつかの態様において、本明細書に記載の抗体または抱合体を化学治療用薬物と組み合わせると、対象へ投与されたときの抗体または抱合体の効力が増強される。組み合わせの投与の結果として生じる、増強された生物学的応答は、これらに限定されないが、対象における疾患の1以上の症状を緩和すること、または対象における疾患の発病もしくは再発を有効に予防することを包含してもよい。

10

【0147】

いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、抗体または抱合体単独での投与と比較したとき、投与された組み合わせの抗体または抱合体と、対象のNPM1発現がん細胞との間の増大した結合をもたらす。本明細書に使用されるとき、「増大した結合」は、対象へ投与された抗体または抱合体の、対象のNPM1発現がん細胞へ結合する割合(例として、対象へ投与された抗体または抱合体の、対象のNPM1発現がん細胞の表面上のWTおよび/または突然変異体NPM1へ結合する割合)の増加を指す。いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、投与された組み合わせの抗体または抱合体と、対象のNPM1発現がん細胞との間の結合を、抗体または抱合体単独での投与と比較したとき、最大で5%、最大で10%、最大で15%、最大で20%、最大で25%、最大で30%、最大で35%、最大で40%、最大で45%、最大で50%、最大で60%、最大で70%、最大で80%、最大で90%、最大で100%、最大で2倍、最大で3倍、最大で4倍、最大で5倍、最大で6倍、最大で7倍、最大で8倍、最大で9倍、または最大で10倍まで増大させる。

20

30

【0148】

いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、組み合わせの抗体または抱合体単独での投与と比較したとき、対象のNPM1発現がん細胞の低減した成長をもたらす。本明細書に使用されるとき、「低減された成長」は、対象のNPM1発現がん細胞において生じる細胞分裂(有糸分裂)の速度の低減を指す。いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、対象のNPM1発現がん細胞の成長を、抗体または抱合体単独での投与と比較したとき、最大で5%、最大で10%、最大で15%、最大で20%、最大で25%、最大で30%、最大で35%、最大で40%、最大で45%、最大で50%、最大で60%、最大で70%、最大で80%、最大で90%、最大で100%、最大で2倍、最大で3倍、最大で4倍、最大で5倍、最大で6倍、最大で7倍、最大で8倍、最大で9倍、または最大で10倍まで低減させる。

40

【0149】

いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、組み合わせの抗体または抱合体単独での投与と比較したとき、対象のNPM1発現がん細胞の増加した細胞死をもたらす。本明細書に使用されるとき、「細胞死」は、細胞が生存するのを止めるいずれかの経路、たとえばこれらに限定されないがアポトーシス、オートファジー、壊死、およびエントローシスを介して、対象のNPM1発現がん細胞に生じている細胞死の率の増大を指す。いくつかの態様において、対象への組み合わせの投与は、対象のNPM1発現がん細胞の細胞死を、抗体または抱合体単独での投与と比較したとき、最大で5%、最大で10%、最大で15%、最大で20%、最大で25%、最大で30%、最大で35%、最大で40%、最

50

大で45%、最大で50%、最大で60%、最大で70%、最大で80%、最大で90%、最大で100%、最大で2倍、最大で3倍、最大で4倍、最大で5倍、最大で6倍、最大で7倍、最大で8倍、最大で9倍、または最大で10倍まで増大させる。

【0150】

当業者は、本明細書に記載の処置の方法がまた、細胞表面NPM1を発現する細胞に関連する他の疾患または障害、例えばWT NPM1もしくは突然変異体NPM1の細胞表面発現に関連する非がん性の疾患または障害、の処置にも好適であってもよいことを認識するであろう。

【0151】

例

例1 - NPM1はヒト白血病細胞の表面上に局在化させられる。

様々なヒト白血病細胞株を、ヌクレオフォスミン1(NPM1)の細胞表面発現につき評価した。手短に言えば、K562細胞、Kasumi細胞、OCI-AML2細胞、OCI-AML3細胞、MOLM13細胞、Jeko1細胞、Nalm6細胞、Jurkat細胞、およびSupT1細胞を、10%ウシ胎仔血清(FBS)および1%ペニシリン-ストレプトマイシン(Pen/Strep)で補充されたRPM1培地でin vitroで培養した。細胞膜およびサイトゾル画分を、確立された技法を使用して収集し(例として、Flynn et al., Cell. 2021; 184(12): 3109-3124.e22を見よ)、以下の商用の抗体で免疫プロットした: NPM1-WT (Santa Cruz Biotechnology # sc-32256)、NPM1-Mut (Thermo Scientific # PA1-46356)、ベータ-アクチン (Santa Cruz Biotechnology # sc-47778)、およびRPN1 (Santa Cruz Biotechnology # sc-48367)。NPM1の大多数は、各細胞タイプのサイトゾル中に局在化していたが、有意な分量の野生型(WT)および突然変異体(Mut)NPM1を、すべての細胞タイプの表面上で同定した(図1A)。生細胞のさらなる蛍光活性化細胞ソート(FACS)分析により、アッセイされた各細胞タイプの表面上のさまざまなレベルのNPM1が確認された。

【0152】

これらの結果は、WTおよび/または突然変異体NPM1に特異的である抗体が、細胞毒性ペイロードを、患者における(例えば、急性骨髄性白血病(AML)、非ホジキンリンパ腫、および骨髄異形成症候群(MDS)をもつ患者などにおける)NPM1発現がんまで運搬するために使用され得ることを示唆する。しかしながら、かかる処置戦略は、がん細胞の表面上に発現されるNPM1のレベルが、非がん細胞の表面上に、とくにがんが初期に由来した細胞の表面上に発現されるものより大きいことに依存する。したがって、末梢血(PB)細胞および骨髄(BM)細胞の表面上のNPM1のレベルを査定した。試験されたほとんどのマウスPB細胞およびBM細胞において、NPM1細胞表面発現は相対的に低かったが、突然変異体NPM1を発現する細胞においては増大していた(図1Cおよび1D)。これらの結果は、ヒトBM細胞のFACS分析によって確認され、前記分析においてWT NPM1に特異的な抗体は、ヒトBM細胞に有効には結合しなかった(図1E)。これらの結果は、NPM1に特異的な抗体が使用されることで、NPM1発現がんを有効に処置し得ることを強く示唆する。

【0153】

例2 - NPM1に特異的な複数の抗体の開発(Development)

NPM1に特異的な抗体が、NPM1発現がんを処置するために使用され得るという可能性をさらに査定するため、NPM1に特異的な新規抗体を生成した。NPM1に対する特異性を有する別個の抗体を生成した(「Ab1」および「Ab2」; 図2Aおよび2B)。

【0154】

単離された抗体が、がんの処置に有用であり得るか否かを査定するために、Ab1抗NPM1抗体を、抗体-薬物複合体に配置して、OCI-AML3細胞をin vitroで処置するために使用した。OCI-AML3細胞は、ヒト急性骨髄性白血病(AML)用のモデルである。手短に言えば、およそ150,000細胞を、10% FBSおよび1% Pen/StrepありのRPMI培地中で培養した。ストレプトアビジン-サポリン(Strep-ZAP)を、2.6 μg Strep-ZAP対1 μ

g IgGにて氷上で30分間ビオチン化抗体へ結合させた。Strep-ZAPは、ビオチン化Ab1抗NPM1抗体(図2A)またはビオチン化抗マウスアイソタイプ対照(Strep-ZAP-IgG)(Thermo Scientific # 31800)のどちらかへ結合した。結合後、Strep-ZAP-IgG複合体を細胞へ加え、細胞を37℃にて成長させるために24時間または48時間のどちらかの間そのままにした。各時点の後、細胞を回収してPBSで洗浄し、アポトーシスを検出するためのアネキシンVで染色し、かつDAPIでも染色することで、細胞が生残していたかどうかを検出した。染色後に、細胞を洗浄し、FACSによって分析した。インキュベーション後、OCI-AML3細胞の殺滅が、用量依存的な様式で観察され、最も高い用量にてより少ない生細胞が48時間後に観察された(図3Aおよび3B)。決定的なことに、細胞表面標的化を欠く同じ量のStrep-ZAP(Strep-ZAP-IgG試料)では、より少ないアポトーシスおよび細胞死が観察された。これらの結果から、細胞毒性薬物を、細胞表面NPM1を発現するがん細胞に対して標的化させるための抗NPM1抗体に基づくADCの実用性が確認される。

10

【0155】

これらの研究は、ヒト細胞株で行われたが、NPM1抗体は、NPM1の高い保存度に起因して、非ヒト細胞タイプの表面上の内在性NPM1を標的化するためにも使用され得るということに注目すべきである。注目すべきことに、WT NPM1のアミノ酸配列は、ヒトとマウスとの間でおおよそ95%同一であり(図4A)、ヒトと他の霊長目の動物との間で99%超同一である(図4B)。高い保存度はまた、抗NPM1抗体またはADCの効果を、例えばマウス細胞においてまたはマウスにおいて試験することによって得られる結果が、ヒト

20

【0156】

例3 - 抗体はヒトおよびマウスモデルの表面上のWTおよび突然変異体NPM1を検出するNPM1抗体が、がん細胞上のNPM1を標的化するために使用され得ることをさらに確立するため、様々なヒトおよびマウスのがん細胞の表面上のNPM1のレベルを、FACS分析を使用して探索した。いくつかの実例において、生細胞をアッセイすることで、細胞表面に局在化したNPM1が観察された。他の実例において、固定された細胞をアッセイすることで、細胞内レベルおよび細胞表面レベルのNPM1が観察された。有意なレベルのNPM1が、OCI-AML3生細胞の表面上に観察されたが、しかしながら、MOLM13細胞上には有意な分量でのNPM1が堅固には観察されなかった(図5A)。OCI-AML3細胞と同様、有意なレベルのNPM1が、様々な一次マウスAML細胞株の表面上に観察された(図5Bおよび5C)。非AML細胞株における細胞表面NPM1をさらに探索するため、骨髄性白血病用モデルであるヒトK562細胞をもまた査定した。これらの実験において、外来性NPM1は、TY1タグ付きで発現されたが、ここで外来性NPM1は、WT NPM1または突然変異体NPM1(NPM1c)どちらかである。TY1シグナルは、生細胞および固定された細胞のフローサイトメトリーを使用し、WT-NPM1-TY1またはNPM1c-TY1のどちらかを発現する細胞の表面上に存在することが見出され、これによりNPM1cタンパク質もまた、細胞表面上に提示され得ることが確認された(図6A~6E)。直交的免疫蛍光検出戦略により、TY1タグ付きNPM1分子の表面分布が確認される(図6F)。

30

【0157】

様々なマウスおよびヒトの白血病細胞株が、細胞表面WTおよび/または突然変異体NPM1を発現することを考慮し、単離された抗体がまた、これら細胞の表面へも結合し得るかどうかを続いて査定した。単離されたAb1抗NPM1(図2A)およびAb2抗NPM1(図2B)抗体は各々、FACS分析によって決定されたとおり、一次マウスMLL再配置AML細胞(図7A)および一次マウスNPM1c AML細胞(図7B)上の表面に局在化したNPM1へ結合することが可能であった。さらにまた、抗体は、宿主トマウス骨髄細胞へは結合せずに、マウスモデル中へ移植されたヒト患者由来異種移植(patient derived xenograft)(PDX)細胞上のNPM1へ結合した(図8A~8D)。これらの結果は、上のものと組み合わせると、これら抗NPM1抗体のどちらかを含むADCが、非がん性組織に対する毒性のリスクが低く、化学治療用薬剤を選択的にがん細胞へ向かわせるために使用され得るという追加の証

40

50

抛を提供する。これらの抗体はさらに、他の適用においても使用され得、例えば、抗体を代わりに造影剤と抱合させることによる診断用薬剤を包含し、これは翻って、患者においてがん細胞を位置付けて、かつその相対存在度を測定するために使用され得る。

【0158】

例4 - AMLの処置のための化学治療薬はNPM1の細胞表面レベルを増強する

次に、目下AMLの処置に承認されている化学治療薬の、細胞表面NPM1のレベルに対する効果を査定した。原則として、これらの薬物の対象への投与は、WTおよび/または突然変異体NPM1の細胞表面発現を変更し得るが、これは翻って、対象へ投与される抗NPM1抗体またはADCの有効性を調整するであろう。AMLの処置用の2つの化学治療薬、ダウノルビシンおよびベネトクラクスの、抗NPM1抗体(Merck/Sigma anti-B23 # B0556)のOCI-AML3細胞表面上のNPM1への結合に対する効果を査定した。驚くべきことに、抗体の細胞への結合は、10nMダウノルビシンまたは40nMベネトクラクスのどちらかでの処置から48時間後に増強された(図9A)。この効果は、処置後8日後に大幅に増強された(図9Aおよび図9B)。これらの結果と一致して、ダウノルビシンまたはベネトクラクスでの処置はまた、単離された抗WT NPM1抗体および上に記載の抗突然変異体NPM1抗体(図2Aおよび図2B)と、OCI-AML3細胞の表面上のNPM1との間の結合も増強した(図9C)。同じ効果が、OCI-AML3細胞を代替の化学治療薬5-アザシチジン(5-Aza;アザシチジン)(これもまた、骨髄異形成症候群(MDS)の処置のために使用される)で処置したときにも観察された(図9D)。注目すべきことに、単離された抗突然変異体NPM1とOCI-AML3細胞との間の結合は、5-Azaでの処置からたった24時間後に大幅に増強された。これらのデータは、様々な化学治療薬が、抗NPM1抗体の、がん細胞の表面への結合を、確実に増強することを指し示す。この効果に係る理由は直ちに明らかとはならないが、これらの薬物が、がん細胞における細胞ストレスのレベルを増大させ、これによりさらにNPM1が、核およびサイトゾルから細胞膜へシフトするようである。これらの結果は、併用治療が、あるがんの処置にとくに有用であり得ることを指し示しており、ここで化学治療薬は、がん細胞を殺滅する目的のみならず、抗NPM1抗体またはADC(これも対象へ共投与される)によって結合させるのに利用可能ながん細胞の表面上のNPM1のレベルを増大させるためにも、対象へ投与される。潜在的には、化学治療薬と抗NPM1抗体またはADCとは、対象へ同時に(例として、同じ組成物の一部として、もしくは別々の組成物として)、または処置の経過中の異なる時刻にて、投与され得る。

【0159】

例5: NPM1は細胞表面タンパク質である。

ヌクレオフォスミン1(NPM1)の細胞内局在を査定するため、共焦点イメージングをOCI-AML3(ヒト細胞株)に対して実施した。細胞内染色と細胞表面染色との両方を実施した。細胞内染色は、染色に先立ち細胞を固定および透過処理することによって実現した。それに比べ、細胞表面染色は、固定に先立ち細胞を染色することによって実施した。染色の結果は、NPM1が、細胞内部および細胞表面上の両方から見出されることを示す。細胞内部のNPM1は、核小体型であって、細胞表面上のNPM1は、クラスターを形成する(図10A)。生化学的分画が特異的であったかどうかを調査するため、ヘテロ核内リボ核タンパクU(HNRNPU)、核小体RNAヘリカーゼ2(DDX21)、ドリチル-ジホスホオリゴ糖タンパク質グリコシルトランスフェラーゼサブユニット1(RPN1)、およびRIOキナーゼ1(RIOK1)を包含する他のRNA結合タンパク質(RBP)を調査した。RBPを、293、A549、K562、およびAML3を包含する様々な細胞株のサイトゾル区画および膜区画において測定した。生化学的分画およびウェスタンブロット(WB)からの結果により、いくつかの他のRBPも、すべてが非常に豊富なサイトゾルタンパク質ではないが、様々な細胞の膜画分に見出されることが示される(図10B)。

【0160】

ヒト細胞上のNPM1の細胞表面発現を査定することに加え、一次マウス急性骨髄性白血病(AML)細胞もまた、生細胞フローサイトメトリーを使用して調査した。ヒトOCI-AML3細胞株のように、NPM1の細胞表面発現が、一次マウスAML細胞上から検出された

(図11A～11B)。

【0161】

またNPM1の細胞表面局在化を、ウェスタンブロットも使用して試験した。抗NPM1は、細胞膜画分から完全長NPM1を捕捉する(図12A)。細胞表面NHS-ビオチン化(表面タンパク質のみ)、これに続く膜画分からの抗NPM1 IPは、ビオチン化バンドをNPM1の分子量にて選択的に単離する(図12B)。

【0162】

さらに、細胞表面上にナノクラスターのNPM1の形成能を査定するため、超解像顕微鏡法を、HL-60(ヒト白血病細胞株)およびOCI-AML3細胞に対して実施した。超解像顕微鏡法は、120～150ナノメートル(nm)のクラスターを定義する。これらのNPM1クラスターは、HL-60とOCI-AML3との両方の細胞株の細胞表面上に存在した。クラスター化しかつ非ランダムな、NPM1マーカーのパターンは、高度に調節された細胞生物学プロセスを示唆する(図13A～13B)。PANC1細胞株(膵臓癌)に対して実施された超解像顕微鏡検査もまた、NPM1ががん細胞の表面上にナノクラスターを形成することを実証した(図13B)。

【0163】

細胞内および細胞表面の染色、生細胞フローサイトメトリー、およびウェスタンブロットの結果は、NPM1が、ヒトとマウスとの両細胞株において細胞表面タンパク質であることを実証する。加えて、超解像顕微鏡法は、細胞表面上NPM1が、急性骨髄性白血病、白血病、および膵臓癌を包含する様々なヒトがん細胞株上に規則的なナノクラスターを形成することを実証した。

【0164】

例6: Ab2.2抗体はNPM1を標的化する。

重鎖(Ab2.2)(配列番号44)および軽鎖(Ab2.2)(配列番号45)を有する抗体(下文には「Ab2.2」)を生成して、ヒトおよび非ヒトの細胞タイプの表面上のNPM1を標的化するために使用した。

【0165】

がん細胞(OCI-AML3細胞)の細胞表面上のNPM1へのAb2.2の結合能を、生細胞顕微鏡法と固定されて透過処理された細胞の顕微鏡法との両方を使用して試験した。Ab2.2を、市販のNPM1抗体と比較した。使用された市販のNPM1抗体は、Santa Cruz(SC)Anti-NPM1-AF647であった。生細胞顕微鏡法は、市販のNPM1抗体とmaAb2との両方が、表面の点(surface puncta)を染色することを示す。したがって、Ab2.2は細胞表面上、市販のNPM1抗体同様に働く(図14)。固定されて透過処理された細胞の顕微鏡法は、市販のNPM1抗体が、核小体および細胞質の染色をもたらすのに対し、Ab2.2抗体は、核小体およびより大きな細胞質の染色をもたらすことを示す。したがって、Ab2.2は、市販のNPM1抗体と比較して、突然変異体OCI-AML3細胞中より多くの細胞質NPM1を検出する(図14)。

【0166】

健常な非がん性の細胞の細胞表面上のNPM1へのAb2.2の結合能をまた、フローサイトメトリーを使用して試験した。Ab2.2結合について測定された細胞は、白血球(CD45+細胞)、骨髄性細胞(CD33+細胞)、および造血幹細胞(「HSC」;CD34+細胞)であった。ドナー1における細胞の3.78%のみが、CD34+およびAb2.2について二重陽性であった(ドナー2およびドナー3は3%未満を有した)。したがって、健常HSCへのAb2.2の結合は、ほとんど～まったく観察されなかった(図15A)。

【0167】

Ab2.2抗体を、ウェスタンブロットを使用してさらに検証し、市販の抗体と比較した。市販の抗体は、Santa Cruzから供給された(SC FC8791)。ライセートの2つの供給源であるWCEおよび粗製膜(Mem)を評価した。Ab2.2と市販の抗体とが両方とも、大体38kDaのバンドをもたらした。したがって、市販のとAb2.2とは、NPM1とほぼ同一のバンド形成パターンを示す(図15B)。

10

20

30

40

50

【0168】

例7: Ab2.2はがん細胞におけるNPM1をin vitroで標的化する。

Ab2.2が、がん細胞中のNPM1をin vitroで標的化するかどうかを決定するため、Dana-Farber Cancer Institute(DFCI)およびUnited Kingdom(UK)から採取された患者試料を使用した。細胞を、DFCIから12名の急性骨髄性白血病(AML)患者(図16)およびUKから15名のAML患者(図18)の骨髄から単離し、フローサイトメトリーを使用して分析した(図17A~17Bおよび図19A~19C)。結果は、Ab2.2が、AML骨髄芽球(図17A~17B、患者5)およびNPM1c AML骨髄(図19D~19E)へ強く結合することを示す。さらにまた、NPM1c芽球はCD34が低く(CD34-low)、これによりAb2.2によって高度に結合されるLSC集団の検査が可能になる。したがって、Ab2.2は、NPM1c患者の骨髄におけるLSCへ最も良好に結合する(図19D~19E)。DFCIからの結果は、Ab2.2が、芽球を、突然変異事情、病状、または先立つ処置についてはわからないが強く染色することを指し示す。UKからの結果は、Ab2.2が芽球を強く染色することを示す。また、LSCがCD34-であるNPM1c患者においてもAb2.2は強く染色し、したがって、Ab2.2は、白血病を惹起する細胞を標的化するであろう。

10

【0169】

例8: Ab2.2はマウスにおいて毒性を引き起こさない。

Ab2.2の毒性をin vivoで査定するため、野生型(WT;C57BL/6J)マウスに、Ab2.2の毎週の処置を受けさせた。群当たりのマウスは5匹であった。標的群は、IP注射によって2.5mg/kg、5mg/kg、または10mg/kgの用量にて投与されるAb2.2を受けた。対照群には5mg/kgのIgGを投与した(図20A)。週当たり1用量、計4用量を送達した。毎週の採血を、試料採取のため処置の第1日、7日、14日、20日、および27日(D)に実施した。D1、D7、D14、D20、およびD27にマウスを秤量し、試料を白血球(WBC)、血小板(PLT)、およびヘモグロビン(HGB)につき試験した。Ab2.2処置は、マウスにおいて観察可能な毒性をもたらさなかった(図20B)。

20

【0170】

例9: Ab2.2処置はAMLのマウスモデルにおいて生存を改善し、かつ健常マウスには影響を及ぼさない。

Ab2.2での処置の有効性を、種々のモデルを使用して査定した。有効性モデル1において、マウスを、亜致死照射、これに続く一次マウスAML細胞の移植へ供した。一次マウスAMLを受けたマウスに、Ab2.2の毎週の抗体処置を5mg/kgの用量にて投与した。投与はIP注射によって生じさせた。毎週採血を実施し、マウスの総体的な生存、骨髄(BM)および脾臓の分析、ならびに分子の表現型検査を実施した(図21A)。使用された一次マウス細胞はNPM1c/Flt3-ITD AMLであり、同系AMLマウスモデルを使用した。対照群には5mg/kg用量(IgG)を受けさせ、標的群には5mg/kg用量(Ab2.2)を受けさせた。3用量(週当たり1回)を投与した。抗体結合が観察された。総WBCカウントおよびqPCRからの結果は、Ab2.2処置マウスにおける低減された腫瘍負荷を実証する(図21B~21D)。また、脾臓重量、HGB、およびヘマトクリット(HCT)レベルも、Ab2.2が、AMLに起因して造血の欠陥を解消することを実証した(図21E~21F)。最終的に、Ab2.2処置は、マウスの総体的な生存を改善した(図21G)。生存研究は、毒性でもAML再発でもなくプロトコルに起因し、第100日にて終えた。

30

40

【0171】

有効性モデル2において、マウスを、亜致死照射、これに続く一次マウスAML細胞の移植へ供した。一次マウスAMLを受けているマウスに、Ab2.2の抗体処置を5mg/kgの用量にて毎週施した。投与はIP注射によって生じさせた。毎週採血を実施し、マウスの総体的な生存および分子の表現型検査を実施した(図22A)。移植のために使用された一次マウス細胞は、MLL-AF9/Flt3-ITD AMLであった。同系AMLマウスモデルを使用した。対照群には5mg/kg用量(IgG)を受けさせ、標的群には5mg/kg用量(Ab2.2)を受けさせた。Ab2.2の計4用量を投与した。抗体結合が、フローサイトメトリーを使用して観察された(図22B)。Ab2.2処置群の平均生存率は、IgG処置動物より有意に高かった(p=

50

0.0027)。生存は、Ab2.2処置マウスの約55日と比較して、IgG処置マウスでは約20日であった(図22C)。したがって、Ab2.2は、NPM1の表面レベルがより低いAMLモデルにおいて総体的な生存を改善する。さらに、これらの結果は、NPM1のいずれかの量の表面発現が、Ab2.2処置で生存利益へ繋がるであろうことを指し示す。

【0172】

初回用量のAb2.2処置から3日後に採取された脾臓試料、肺試料、および肝臓試料を、対照(IgG)群とAb2.2処置群との間で比較した。Ab2.2処置マウスの脾臓、肺、および肝臓はすべて、IgG処置マウス未満の重さであった(図23B)。これらの結果は、Ab2.2の単回用量が、腫瘍クリアランスを指し示す器官重量の堅固な低減をもたらすことを指し示す。

10

【0173】

また有効性モデル2を使用することで、二次レシピエントにおけるAb2.2のLSC標的化も査定した(図23A)。移植された一次マウス細胞はMLL-AF9/Flt3-ITD AMLであって、同系AMLマウスモデルを使用した。対照群には5mg/kg用量(IgG)を受けさせ、標的群には5mg/kg用量(Ab2.2)を受けさせた。Ab2.2の1用量を、二次レシピエントが移植を受ける前に投与した。対照群における二次レシピエントは、IgG処置マウスからの移植細胞を受けた。標的群は、Ab2.2処置されたマウスからの移植細胞を受けた。同数の細胞を移植し、生存アッセイ、フローサイトメトリー、生着の検査、およびLSC機能測定を実施した。生存アッセイの結果は、対照群の平均生存が、標的群の約50日と比較して、30日未満であったことを実証する(図23C)。Ab2.2処置マウスの延命は、より少数の幹細胞が、Ab2.2処置マウスに存在したことを実証する。フローサイトメトリー分析は、Ab2.2が、幹細胞区画を、バルク腫瘍(bulk tumor)よりごくわずかに良好に染色し(図23D)、MLL-AF9モデルが、表面上のNPM1の低発現を有する(図23E)ことを示した。WBCカウントはAb2.2処置マウスにおいて減少し、PLTは増大した(図23F)。WBCのさらなる経時的な分析は、WBCが、IgG処置と経時的に比較して、Ab2.2処置マウスにおいてより低いままであることを実証した(図23G)。Ab2.2処置二次レシピエントの脾臓は、IgG処置マウス未満の重さであった(図23H)。これらの結果は、Ab2.2処置が、腫瘍クリアランスを指し示す、器官重量の堅固な低減をもたらすことを指し示す。骨髓(BM)および末梢血(PB)を、AMLのパーセンテージ(%)について査定した。BMとPBとの両方において、Ab2.2処置群には、IgG対照と比較し、AML%の低減があった(図23I)。これらの結果は、Ab2.2が、1用量のみの後に腫瘍を標的化することを指し示す。

20

30

【0174】

亜致死の照射を受けた野生型マウスを、Ab2.2処置の効果について試験した。WT C57BL/6Jマウスを、亜致死の照射およびAb2.2の4回の処置へ供した。Ab2.2処置を、毎週IP注射を介して生じさせ、毎週採血を実施した。対照群は5mg/kgのIgGを受け、Ab2.2処置群は10mg/kgのAb2.2を受けた。規則的な血球カウント、動物の表現型検査、および有害/毒性効果の測定を実施した(図26A)。結果は、第1日(D)とD27との間に、IgG処置マウスとAb2.2処置マウスとの間の重量、WBCカウント、HGBレベル、またはPLTレベルに有意差は一切観察されなかったことを示す(図26B)。したがって、WTマウスは、Ab2.2処置の観察可能な効果を呈さない。

40

【0175】

例10: 生存に対するAb2.2の効果は免疫系に依存する。

免疫に媒介されるAb2.2の殺滅能を、有効性モデル3を使用して査定した。有効性モデル3において、一次マウスAML細胞の移植を受けているNSGマウスに毎週Ab2.2処置を与え、総体的な生存につき査定した(図24A)。移植された一次マウス細胞は、MLL-AF9/Flt3-ITD AMLであった。使用されたマウスモデルは、免疫無防備状態AMLマウスモデル(NSG)であった。対照群には5mg/kg用量(IgG)を受けさせ、標的群には5mg/kg用量(Ab2.2)を受けさせた。Ab2.2の計4用量を投与した。生存アッセイの結果は、対照群および標的群の平均の生存が、約30日であったことを実証する(図24B)。したがって、Ab2.2は、無傷の免疫系なしでは生存利益を提供しない。

50

【0176】

例11: Ab2.2処置は腫瘍体積をin vivoで低減する。

Ab2.2の固形腫瘍活性を、有効性モデル4を使用してin vivoで査定した。有効性モデル4において、移植を受けたマウスを、Ab2.2の毎週の処置へ供し、総体的な生存、腫瘍負荷の算出、および分子の表現型検査につき査定した(図25A)。移植された細胞は、MC38マウス結腸直腸腺癌からのものであった。同系マウスモデルを使用した。対照群は10mg/kg用量(IgG)を受け、標的群は10mg/kg用量(Ab2.2)を受けた。計3用量(週当たり1回)を投与した。腫瘍負荷の算出の結果は、第10日および第13日にAb2.2が、腫瘍体積を低減することを実証する(図25B~25C)。

【0177】

例12: 前がん性細胞上に存在するAb2.2。

DNMT3a突然変異は、血球減少を伴わないクローン性造血(CHIP)および前白血病と直接的に関連する。Ab2.2が、Dmt3a R882H突然変異体細胞上のNpm1cを検出し得るかどうかを試験するため、Dmmt3a^{R882H/-}およびDmmt3a^{R882H/-}/Npm1c細胞を、IgG対照またはAb2.2のどちらかで染色した。結果は、Dmmt3a R882H単一の突然変異体細胞上にさえNpm1cの表面検出が高いことを示す(図28)。

【0178】

例13: Ab2.2はin vitroでヒト腫瘍へ結合する。

ヒト腫瘍へのAb2.2の結合能を査定するため、様々なタイプのin vitroモデルを、フローサイトメトリーを使用して調査した。Ab2.2結合につき査定された腫瘍モデルは、マウス黒色腫、肺癌(ヒト)、喉頭癌、大腸(ヒトおよびマウス)、ユーイング肉腫(ヒト)、咽頭癌(ヒト)、膵臓がん(ヒト)、食道がん(ヒト)、骨肉腫(ヒト)、神経芽細胞腫(ヒト)、脳腫瘍(ヒト)、血液悪性腫瘍、線維肉腫、前立腺がん、および膵臓腺癌(マウス)であった(図27A~27O)。結果は、Ab2.2が、一連の多様なヒト腫瘍モデルへin vitroで結合することを示す。

【0179】

例14: Ab2.2-サポリンADCはin vitroで活性を呈する。

Ab2.2のin vitro活性をADCで査定するため、OCI-AML3細胞を、陰性対照、アイソタイプサポリン抱合体、またはAb2.2-サポリン抱合体のどれかで処置した。細胞を、24時間、48時間、および72時間にわたって処置した。μL当たりの生細胞数を、それらの時点にて査定した。72時間にて、生細胞数は、陰性対照と比較し、Ab2.2-サポリン抱合体処置細胞において約30%減少した(図29)。したがって、NPM1は、少なくともいくつかのモデルにおいてADC標的として働き得る。

【0180】

例15: Ab2.2処置は、ヒトAML細胞株を生着させたマウスの生存期間を延長する。

ヒトAML細胞株を異種移植したマウスモデルにおけるAb2.2の生存期間延長能を査定した。SCID CB17マウスに、OCI-AML3細胞(ヒトAML)の移植を受けさせた。次に、生着させたマウスに、Ab2.2(標的群)またはIgG(対照群)の処置を毎週受けさせた。標的群は、10mg/kg用量のAb2.2を受けた。マウスは、計4用量を受けた。マウスを、総体的な生存および分子の表現型検査につき査定した(図30A)。

【0181】

抗体結合を、フローサイトメトリーを使用して査定した(図30B)。生存アッセイの結果は、Ab2.2で処置された生着マウスの生存が、移植後40日間を超えて生存し、IgG処置マウスより有意に長いことを実証する($p=0.0015$)(図30C)。したがって、生存期間の延長は、ヒトAML細胞株を、かつAb2.2で処置されたナチュラルキラー(NK)細胞および補体を生着させたマウスにおいて観察される。

【0182】

例16: Ab2.2処置はヒトAML-PDX細胞株を生着させたマウスの生存期間を延長する。

ヒトAML-PDXを異種移植させたマウスモデルにおけるAb2.2の生存期間延長能を査定した。SCID CB17マウスに、PDX(MLL-R)細胞(ヒトAML-PDX)の移植を受けさせ

10

20

30

40

50

た。次に、生着させたマウスに、Ab2.2(標的群)またはIgG(対照群)の処置を毎週受けさせた。標的群は、10mg/kg用量のAb2.2を受けた。マウスは、計4用量を受けた。マウスを、総体的な生存および分子の表現型検査につき査定した(図31A)。

【0183】

抗体結合を、フローサイトメトリーを使用して査定した(図31B)。生存アッセイの結果は、Ab2.2で処置された生着マウスの生存が、移植後60日間を超えて生存することを実証し、これは、IgG処置マウスより有意に長い($p=0.0023$)(図31C)。したがって、生存期間の延長は、ヒトAML-PDX細胞株を、かつAb2.2で処置されたナチュラルキラー(NK)細胞および補体を生着させたマウスにおいて観察される。

【0184】

例17: 低用量化学治療薬(Low dose chemo)は細胞表面NPM1を誘導する。

低用量の化学治療用薬剤ダウノルビシンおよびベネトクラクスが、細胞表面NPM1を誘導するかどうかを決定するため、OCI-AML3細胞を、対照または低用量の化学治療処置へ曝した。OCI-AML3細胞は、BLC2iに耐性がある。ダウノルビシンを10ナノモル(nM)に投与し、ベネトクラクスを40nMにて投与した。ダウノルビシンの投与により、細胞表面上のNPM1が48時間にて増大し、より高い発現が少なくとも9日間維持された。ベネトクラクスと、個別に5-アザとの投与により、NPM1が48時間にて増大し、より高い発現が少なくとも7日間維持された(図32)。これらの結果は、低用量の化学治療用薬剤が、AML細胞上に細胞表面NPM1を誘導し、Ab2.2が、承認薬物の安全性または有効性を増強することを示す。

【0185】

低用量の化学治療用薬剤ダウノルビシンおよびベネトクラクスの、非形質転換細胞上への細胞表面NPM1の誘導能を試験した。正常な造血前駆細胞株HPC7および正常な骨髄性前駆株HOXB8を、対照または低用量の化学治療処置のどちらかへ曝した。ダウノルビシンおよびベネトクラクスの用量を夫々、10ナノモル(nM)および40nMにて投与した。フローサイトメトリーによって測定された抗体結合の結果は、対照と比較し、低用量化学治療薬において何らの変化も示さない(図33)。したがって、低用量の化学治療用薬剤は、正常な非形質転換細胞上にNPM1の発現を誘導しない。

【0186】

均等物および範囲

当業者は、本明細書に記載の態様の多くの均等物を認識するか、または常法の実験作業程度を使用して確認することができるであろう。本開示の範囲は上の記載に限定されることを意図されず、むしろ添付のクレームに記述されるとおりである。

【0187】

「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」などの冠詞は、反対に指し示されないかまたは文脈から別様に明白でない限り、1つまたは1つよりも多くを意味し得る。反対に指し示されないかまたは文脈から別様に明白でない限り、1つの群の2以上の構成員の間に「または」を包含するクレームまたは記載は、群構成員の1つ、1つよりも多く、または全てが存在する場合には、満たされていると見なされる。2以上の群構成員の間に「または」を包含する群の開示は、群の厳密に1つの構成員が存在する態様、群の1つよりも多くの構成員が存在する態様、および群構成員の全てが存在する態様を提供する。簡潔にするために、これらの態様は本明細書で個々にもれなく書かれてはいないが、これらの態様の各々は本明細書において提供され、具体的にクレームまたはディスクレームされ得るということは理解されるであろう。

【0188】

本開示は、クレームの1以上からのまたは明細書の1以上の該当する部分からの1以上の限定、要素、節、または記述用語(descriptive term)が別のクレームに導入される全ての変形、組み合わせ、および順列を網羅するということが理解されるべきである。例えば、別の請求項に従属するクレームは、同じ元のクレームに従属するいずれかの他のクレームに見出される限定の1以上を包含するように改変され得る。その上、クレームが組

10

20

30

40

50

成物を記載するところでは、別様に指し示されないか、または矛盾もしくは不一致が生まれるであろうということが当業者に明白でない限り、本明細書に開示される作製するもしくは使用する方法のいずれかに従って、または適宜当該技術分野において知られている方法に従って、組成物を作製するまたは使用する方法が包含されるということは理解されるべきである。

【0189】

要素がリストとして、例としてマーカッシュ群形式で提示されるところでは、要素のあらゆる可能な下位群もまた開示されるということと、いずれかの要素または要素の下位群が群から除去され得るということが理解されるべきである。用語「含む」は開放的であることを意図され、追加の要素またはステップの包含を許可するということもまた注意される。一般に、態様、製品、または方法が特定の要素、特色、またはステップを含むと称されるところでは、かかる要素、特色、またはステップからなるかまたは本質的にそれからなる態様、製品、または方法も提供されるということが理解されるべきである。簡潔にするために、これらの態様は本明細書で個々にもれなく書かれてはいないが、これらの態様の各々は本明細書において提供され、具体的にクレームまたはディスクレームされ得るということは理解されるであろう。

【0190】

範囲が与えられるところでは、エンドポイントが包含される。にその上、別様に指し示されないか、または文脈および/もしくは当業者の理解から別様に明白でない限り、範囲として表現される値は、文脈が明確に別様に指示しない限り、いくつかの態様において申し立てられた範囲内のいずれかの特定の値を、範囲の下限の単位の10分の1までとり得るということが理解されるべきである。簡潔にするために、各範囲における値は、本明細書において個々にもれなく書かれてはいないが、これらの値の各々は本明細書において提供され、具体的にクレームまたはディスクレームされ得るということは理解されるであろう。また、別様に指し示されないかまたは文脈および/もしくは当業者の理解から別様に明白でない限り、範囲として表現される値は、所与の範囲内のいずれかの部分範囲を採り得、ここで部分範囲のエンドポイントは、範囲の下限の単位の10分の1と同じ正確さの度で表現されるということが理解されるべきである。

【0191】

ウェブサイトが提供されるところでは、URLアドレスは非ブラウザ実行可能コードとして提供され、夫々のウェブアドレスのピリオドは括弧内にある。実際のウェブアドレスは括弧を含有しない。

【0192】

加えて、本開示のいずれかの特定の態様はクレームのいずれか1以上から明示的に除外され得るということは理解されるべきである。範囲が与えられているところでは、範囲内のいずれかの値は、クレームのいずれか1以上から明示的に除外され得る。本開示の組成物および/または方法のいずれかの態様、要素、特色、適用、または側面は、いずれか1以上のクレームから除外され得る。簡潔にするために、1以上の要素、特色、目的、または側面が除外される態様の全てが本明細書において明示的に記述されてはいない。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 - 1】

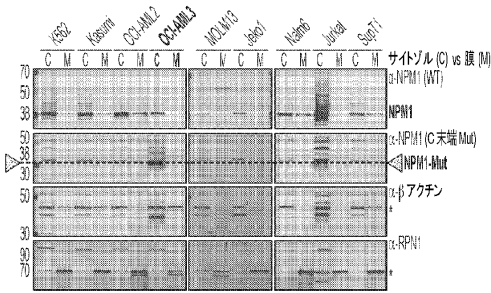


図1A

【図 1 - 2】

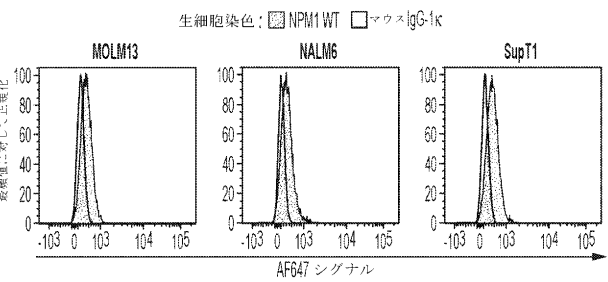


図 1B

続き

10

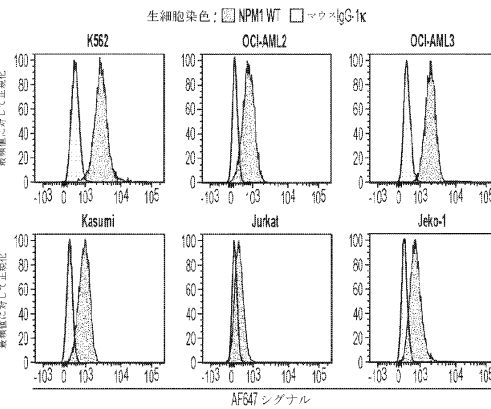


図 1B

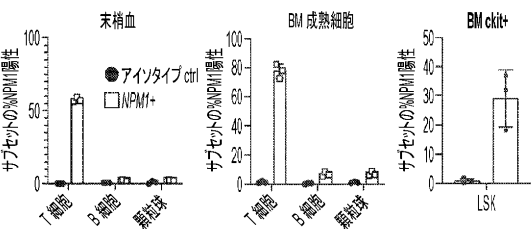


図1C

20

【図 1 - 3】

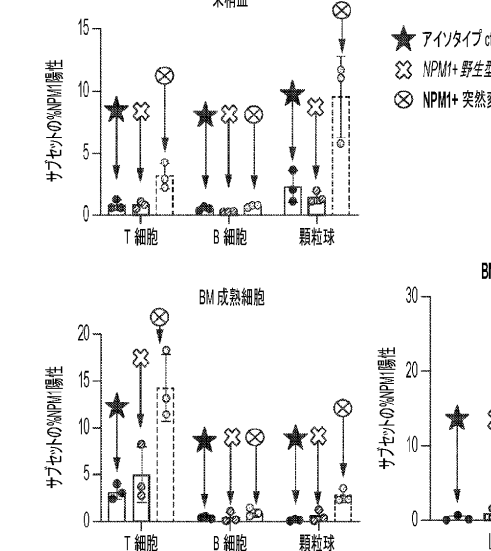


図1D

【図 1 - 4】

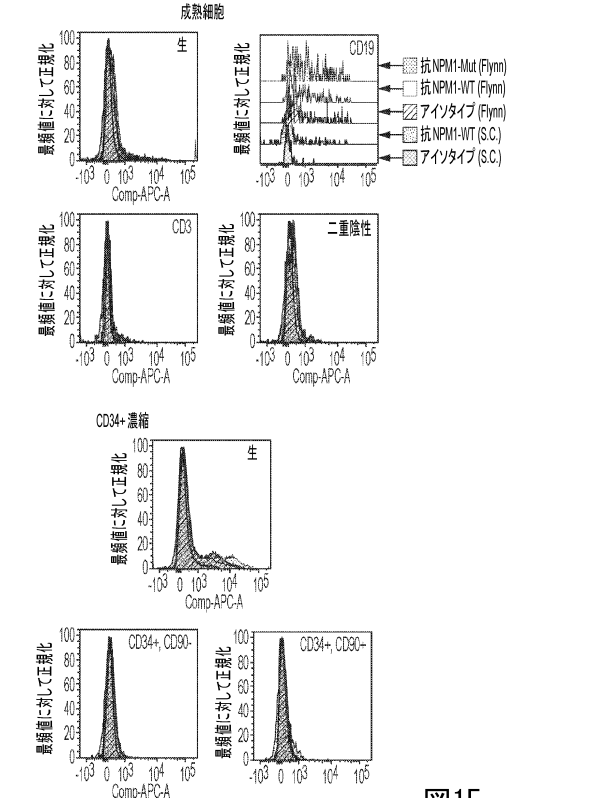


図1E

30

40

50

【図2】

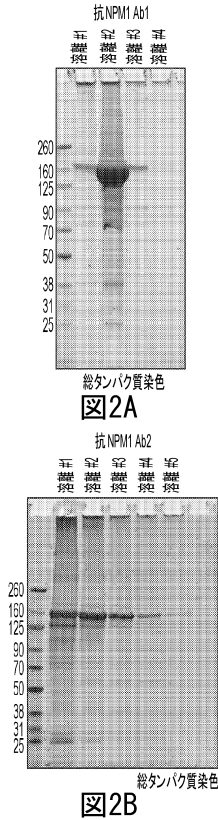


図2A

図2B

【図3-1】

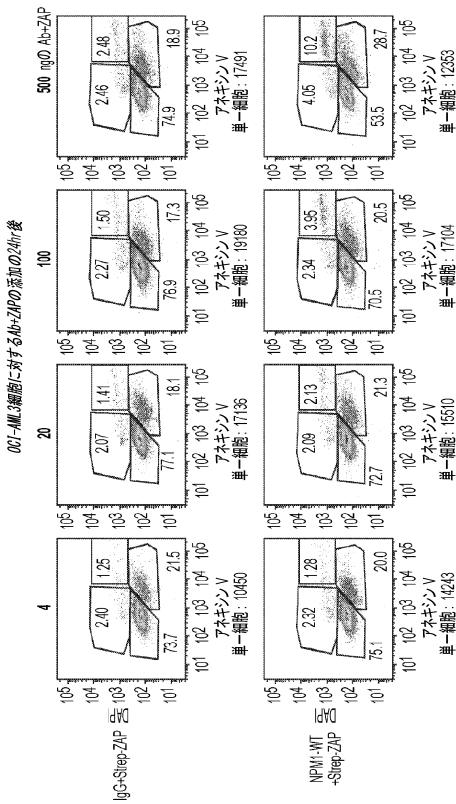


図3A

【図3-2】

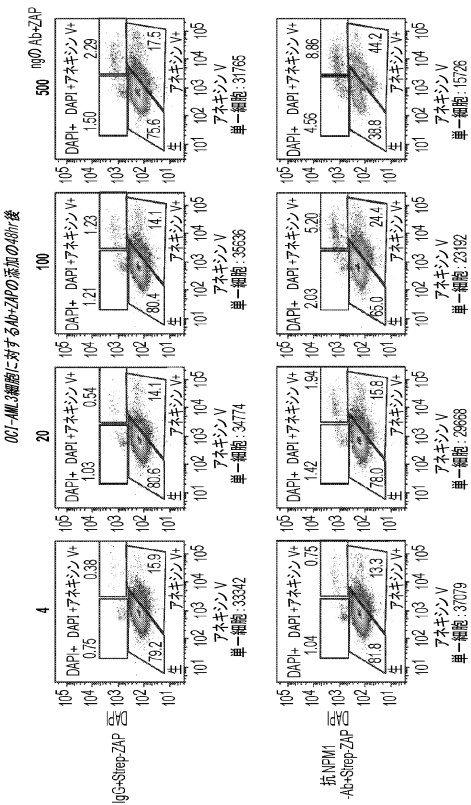


図3B

【図4-1】

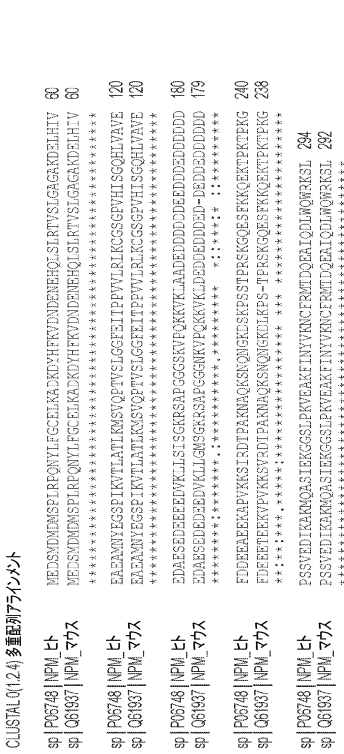


図4A

【図 4 - 2】

CUUSTAL01(24) 多重配列アラインメント

1) | F7ANU2 | F7ANU2 | MACMU | NEDSDMDMSLPFQNVILFGCELKADADHKYNDNENHGLSLRTVSLGAGAKELHIV | 60
sp | P06748 | NPIL_C1 | NEDSDMDSELPQNVILFGCELKADADHKYNDNENHGLSLRTVSLGAGAKELHIV | 60

1) | F7ANU2 | F7ANU2 | MACMU | EAGNNYEGSPVITLTIKRSVQPTVSLGGFEITPPVULKCGSGFVHLSGQLHVAVE | 120
sp | P06748 | NPIL_C1 | EAGNNYEGSPVITLTIKRSVQPTVSLGGFEITPPVULKCGSGFVHLSGQLHVAVE | 120

1) | F7ANU2 | F7ANU2 | MACMU | EDARSESEEDYKULSTSGRSAPGGGSKYPQKKYKLADEDEDDDDDDDDDDDDDD | 180
sp | P06748 | NPIL_C1 | EDARSESEEDYKULSTSGRSAPGGGSKYPQKKYKLADEDEDDDDDDDDDDDDDD | 180

1) | F7ANU2 | F7ANU2 | MACMU | FDDDEAGAEKAPVAKSLDTPAKNAQSNQNGKDSSESSTPSKGGGSFKQKQKPTKPKG | 240
sp | P06748 | NPIL_C1 | FDDDEAGAEKAPVAKSLDTPAKNAQSNQNGKDSSESSTPSKGGGSFKQKQKPTKPKG | 240

1) | F7ANU2 | F7ANU2 | MACMU | ESSVEDIKARQASTERKGGSIKPKVEAFITNYNCFRMTDQATQDQWRRKSL | 294
sp | P06748 | NPIL_C1 | ESSVEDIKARQASTERKGGSIKPKVEAFITNYNCFRMTDQATQDQWRRKSL | 294

バーセント同一性マトリックス - Clustal2 により作成

1: t | F7ANU2 | F7ANU2 | MACMU | 100.00 | 99.66
2: sp | P06748 | NPIL_C1 | 99.66 | 100.00

図 4B

【図 5 - 1】

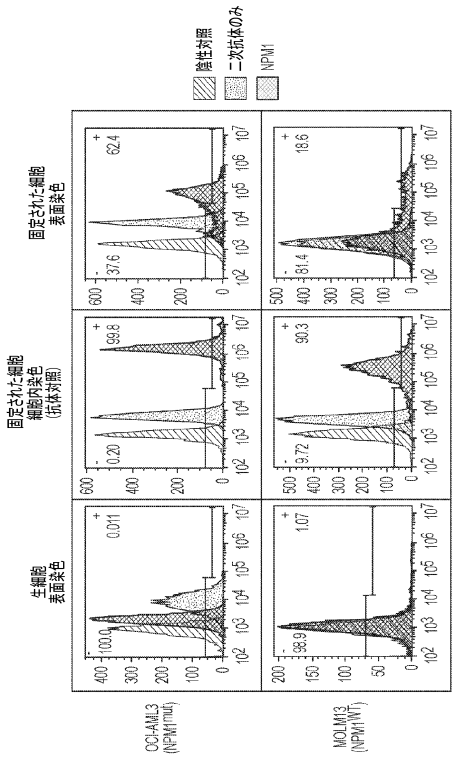


図 5A

【図 5 - 2】

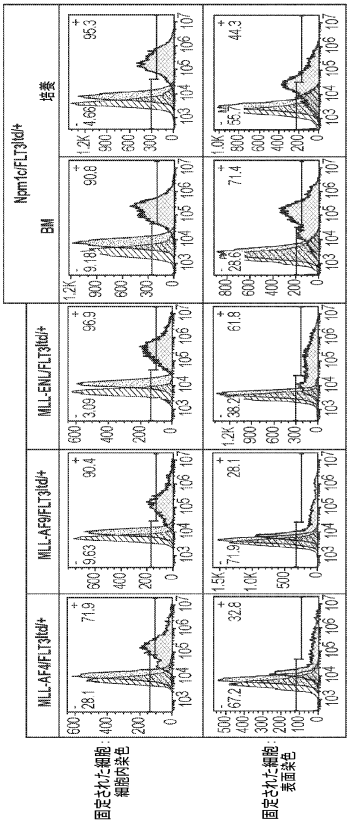


図 5B

【図 5 - 3】

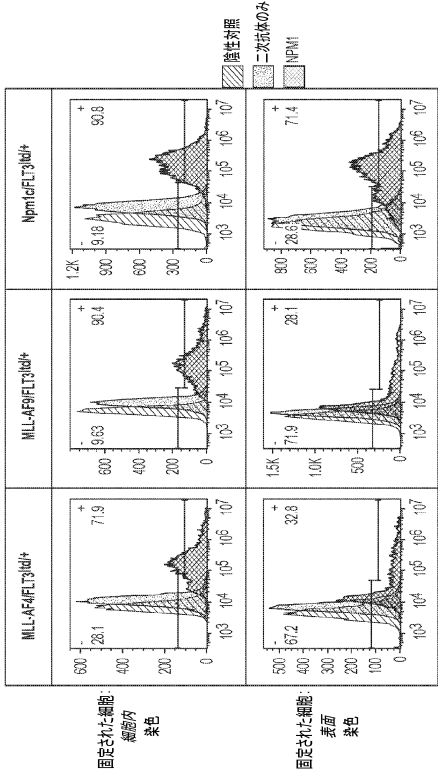


図 5C

10

20

30

40

50

【図 6 - 1】

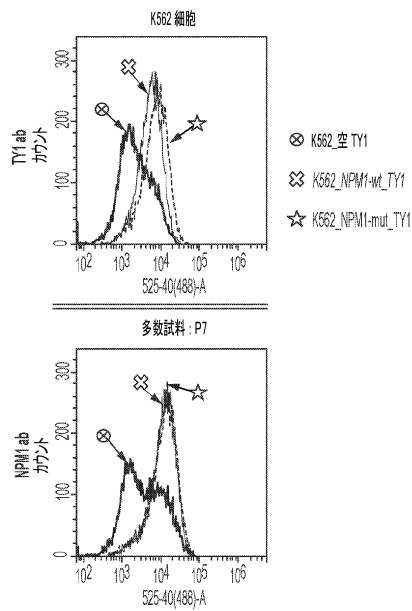


図6A

【図 6 - 2】

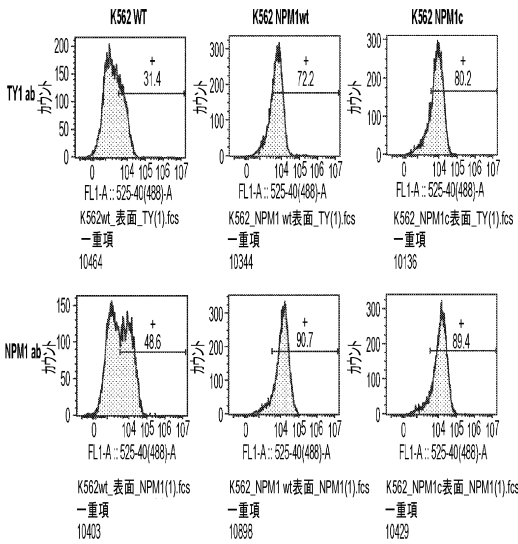
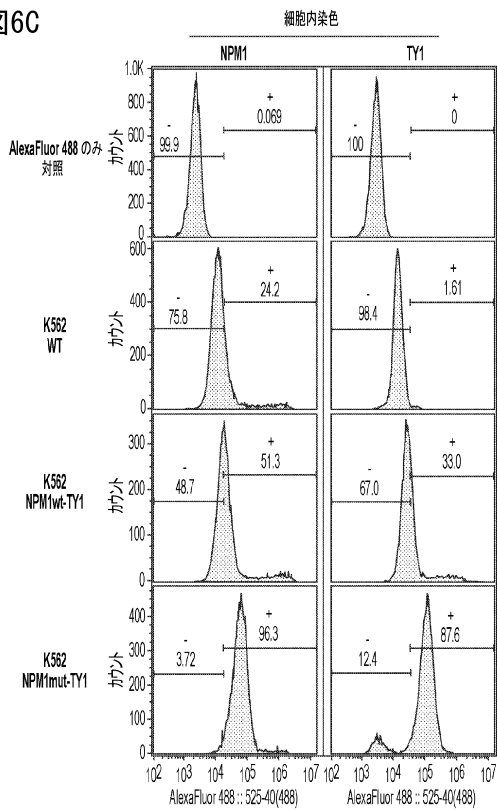


図6B

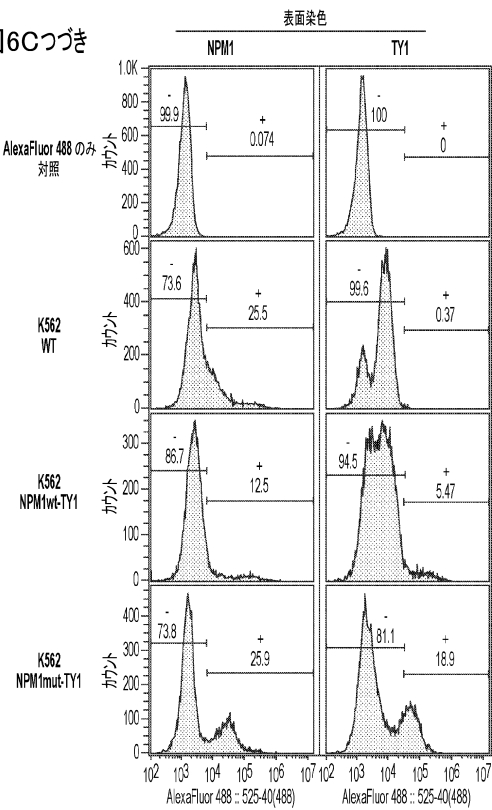
【図 6 - 3】

図6C



【図 6 - 4】

図6Cつづき



10

20

30

40

50

【図 6 - 5】

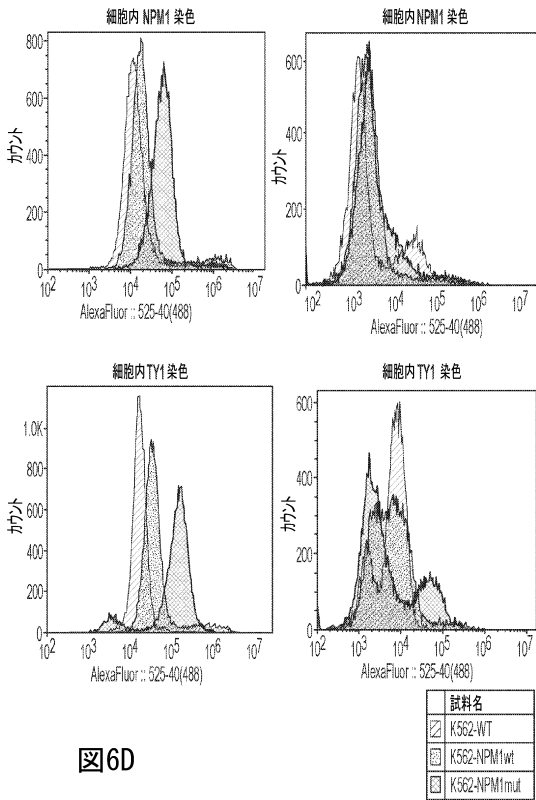


図6D

【図 6 - 6】

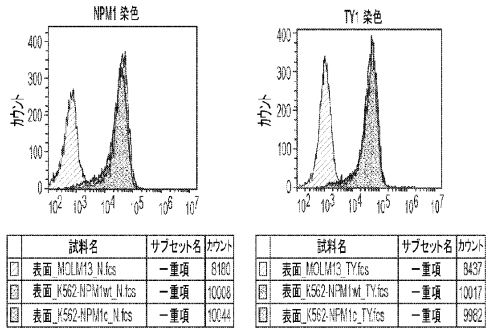


図6E

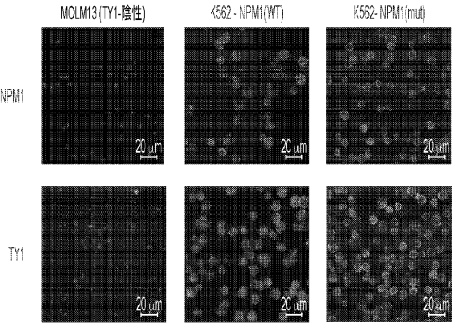


図6F

【図 7 - 1】

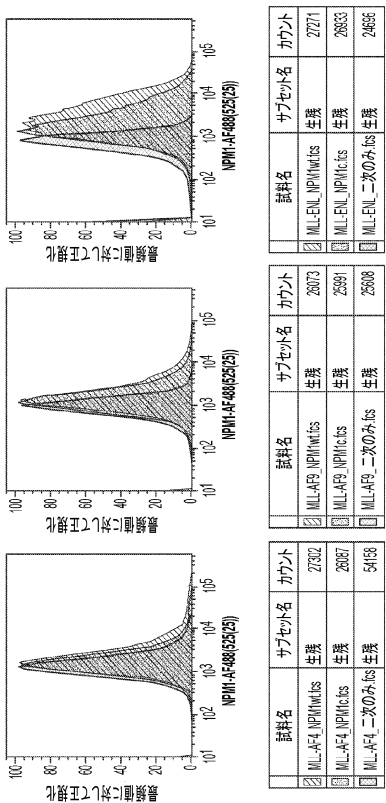


図 7A

【図 7 - 2】

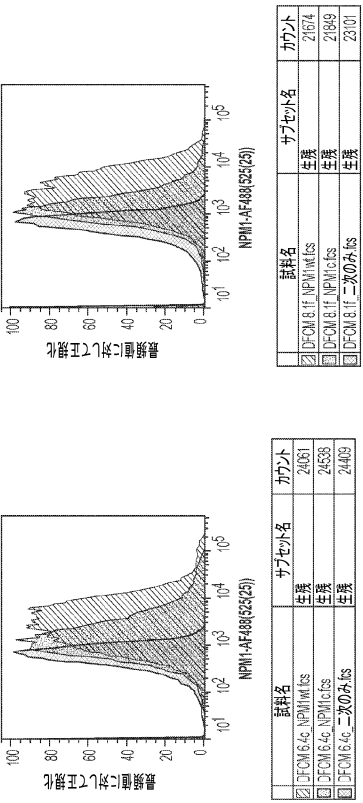


図 7B

10

20

30

40

50

【図 8 - 1】

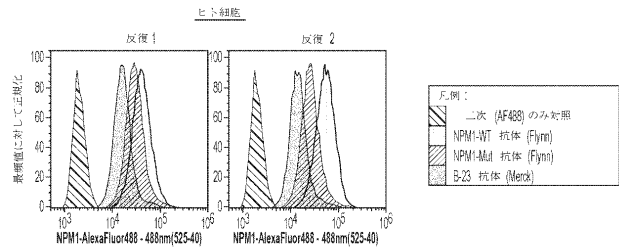


図 8A

【図 8 - 2】

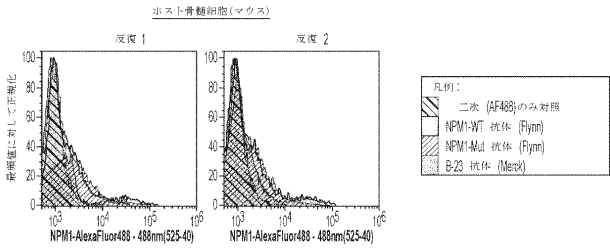


図 8A

続き

【図 8 - 3】

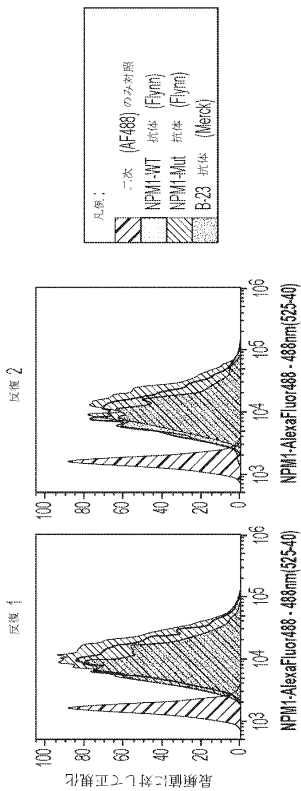


図 8B

【図 8 - 4】

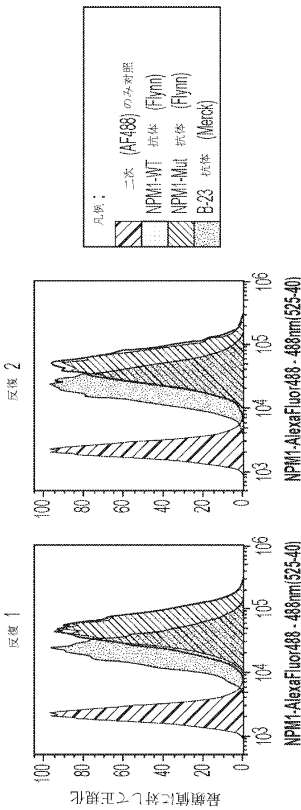


図 8C

10

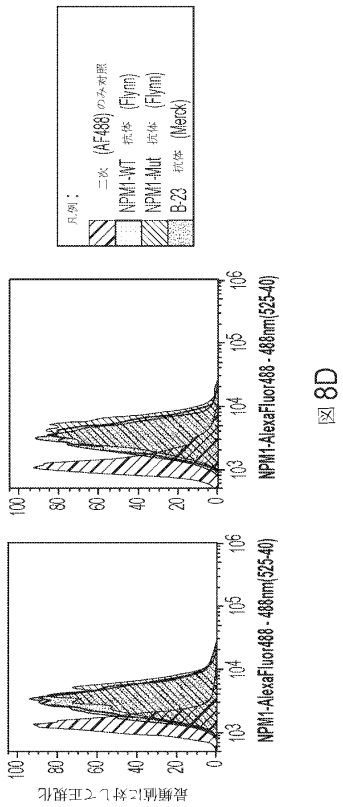
20

30

40

50

【図 8 - 5】



【図 9 - 1】

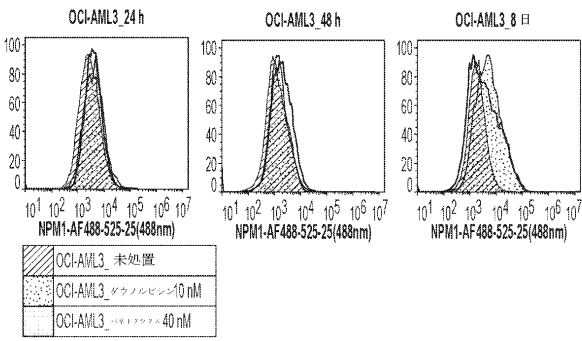


図 9A

10

20

【図 9 - 2】

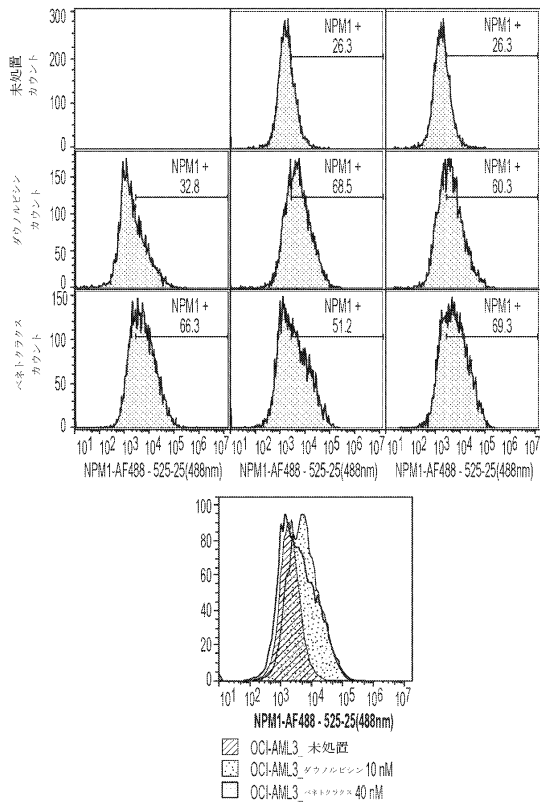


図 9B

【図 9 - 3】

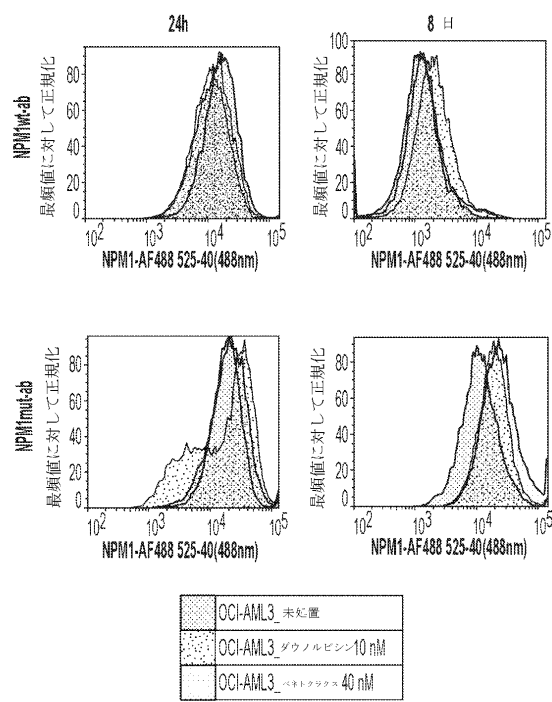


図 9C

30

40

50

【図 9 - 4】

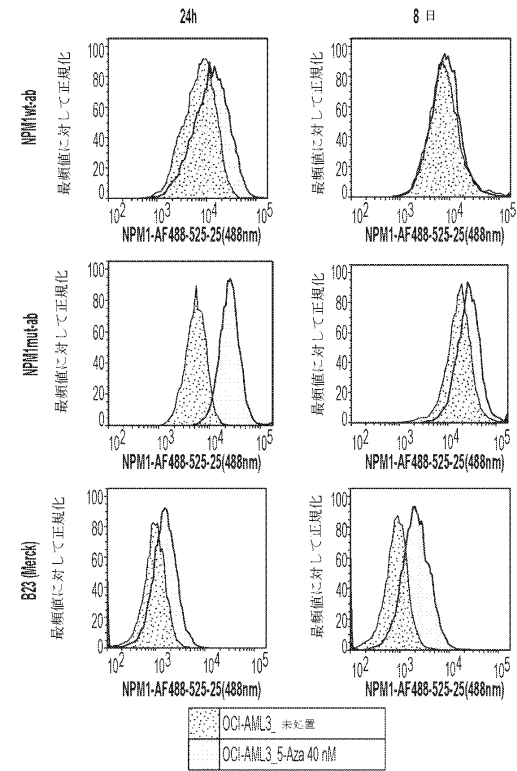


図 9D

【図 10】

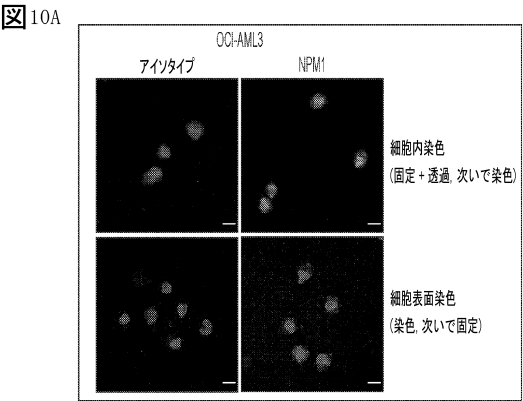


図 10A

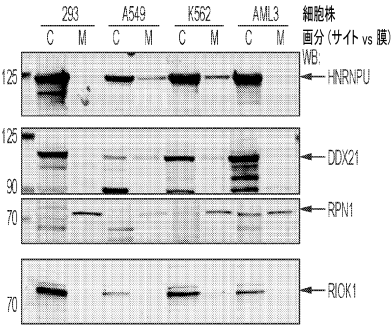


図 10B

【図 11 - 1】

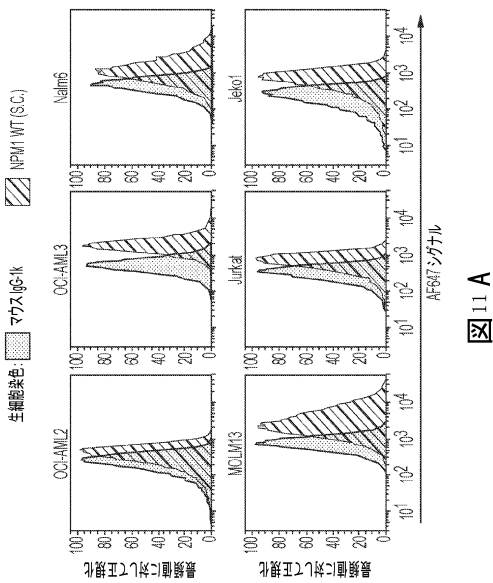


図 11 A

【図 11 - 2】

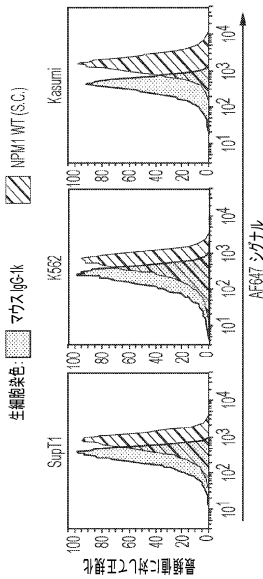
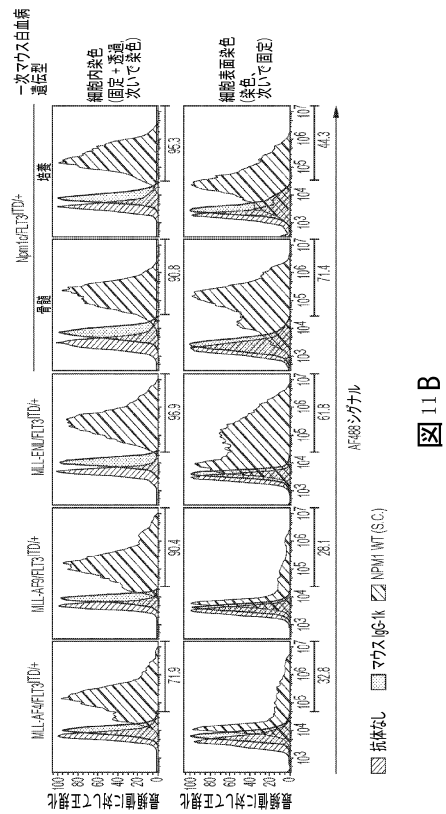


図 11 A つづき

【図 1 1 - 3】



【図 1 2】

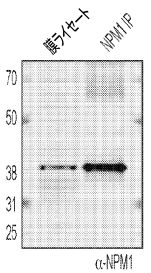


図 12 A

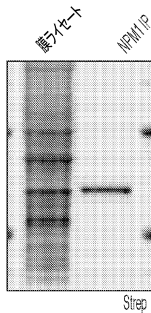


図 12 B

【図 1 3 - 1】

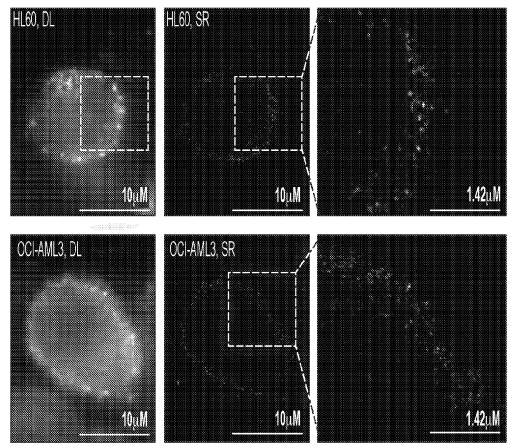


図 13 A

【図 1 3 - 2】

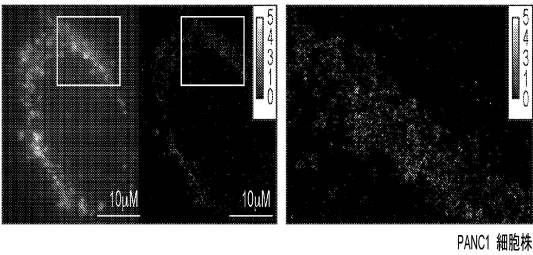


図 13 B

10

20

30

40

50

【 図 1 4 】

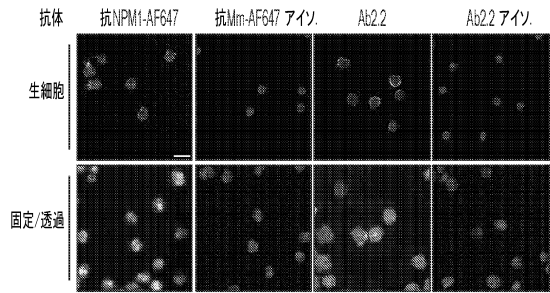


図 14

【 図 1 5 - 1 】

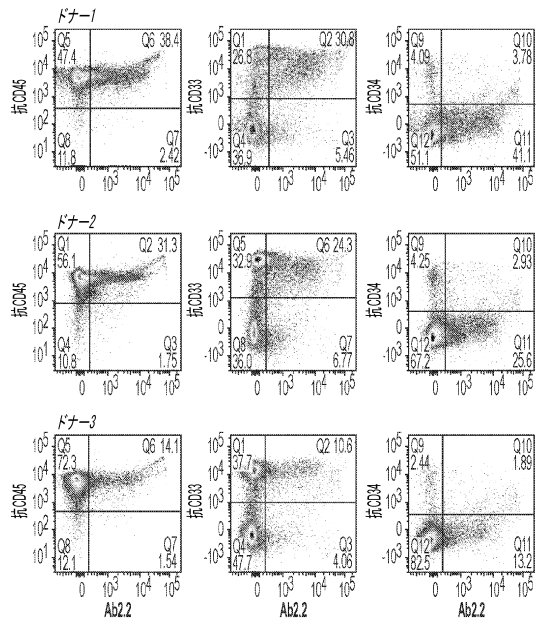
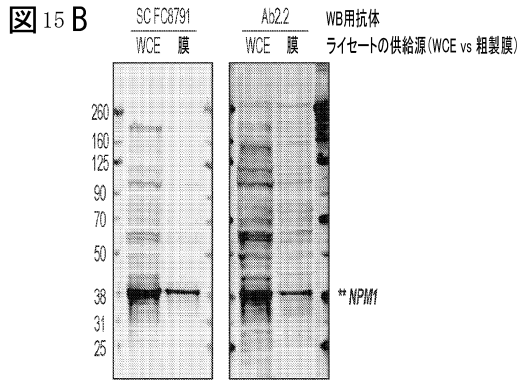


図 15 A

【 図 1 5 - 2 】



【 図 1 6 】

図 16

患者	生検の年	寸評	事情
1	2017	AMLに形質転換したMDS (細胞遺伝学に基づク); 生検前には以前の処置なし	死亡
2	2018	新たに診断されたAPL	生残
3	2018	AMLに形質転換したMDS (細胞遺伝学に基づク); 生検前には以前の処置なし	死亡と推定
4	2016	再燃したAML s/p 7+3, HIDAC, およびHSCT	死亡
5	2017	AMLに形質転換したTKIに対して抵抗性のCML	死亡
6	2017	AMLに形質転換したサポーティブケア中のMF	死亡
7	2017	処置に関係すると所感される新たなAMLを有する遠隔ケモによるCLL	死亡
8	2018	AMLに形質転換したaza中のMDS	生残
9	2019	CMMLに形質転換したAML; 無効のVyxeos後の生検	死亡
10	2015	新たに診断されたAML	生残
11	2016	複数の処置に対して抵抗性のAML; 次ラインに先立つ生検	死亡
12	2018	新たに診断されたAML	死亡

10

20

30

40

50

【図 17-1】

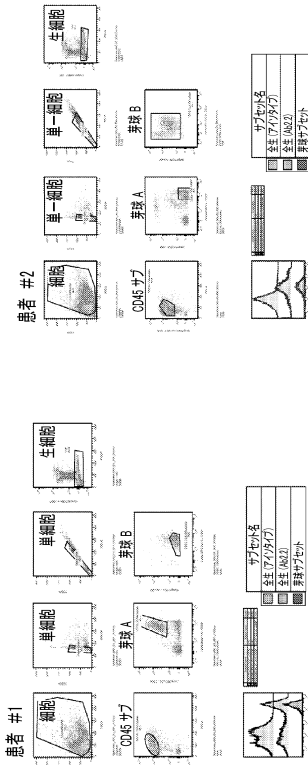


図 17A

【図 17-2】

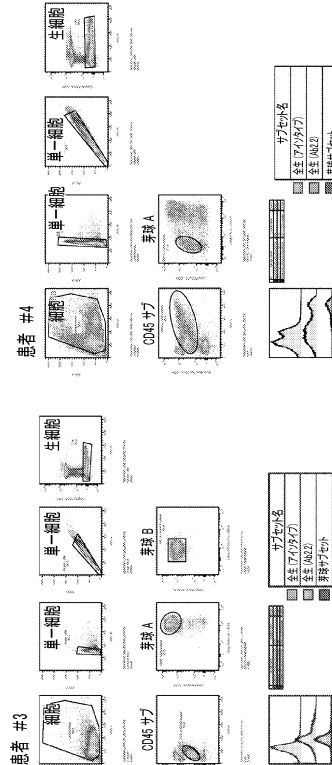


図 17A つづき

【図 17-3】

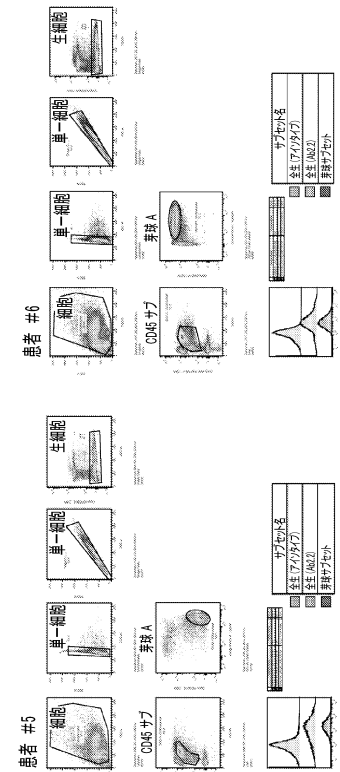


図 17A つづき

【図 17-4】

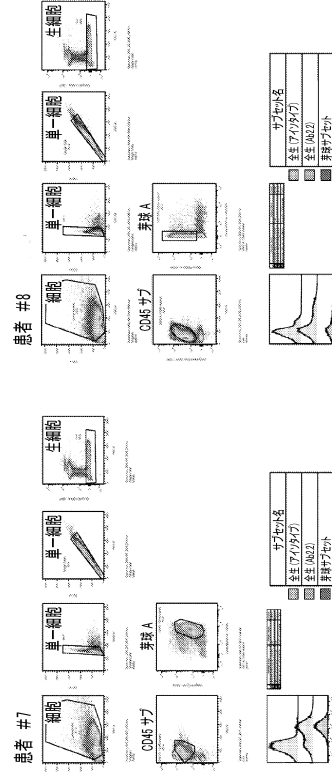


図 17B

10

20

30

40

50

【図 17 - 5】

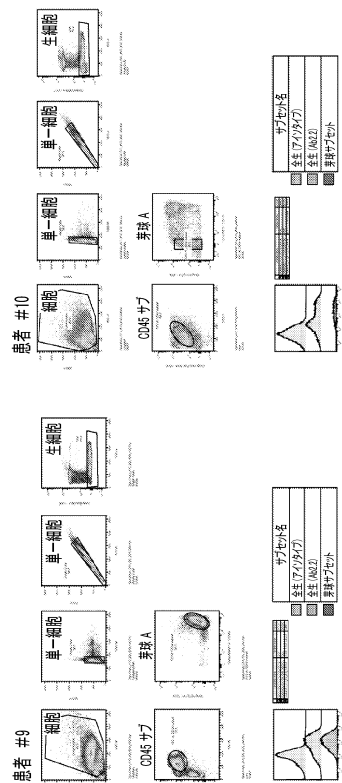


図 17 Bつづき

【図 17 - 6】

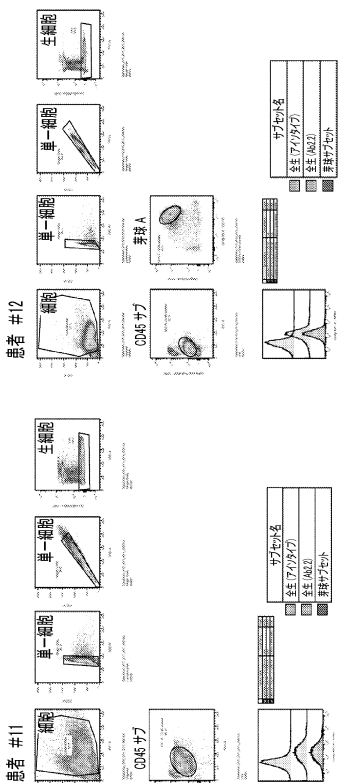


図 17 Bつづき

【図 18】

Pt#	NPM1	FLT3 ITD	FLT3 TKD	サブタイプ
1	検出されない	検出されない	検出されない	AMLに形質転換したCMML2 (CMMLについては与えられた処置なし)
2	検出されない	検出されない	検出されない	AML
3	検出された	検出されない	検出されない	AMMML
4	検出されない	検出されない	検出されない	AML
5	検出されない	検出された	検出されない	MDS-AML 形質転換
6	検出されない	検出されない	検出されない	MDSIに関する変化があるAML
7	検出されない	検出された	検出されない	成熟なしのAML
8	未試験	検出されない	検出されない	AML
9	検出された	検出されない	検出されない	MDSIに関する変化があるAML
10	未試験	検出されない	検出されない	急性単芽球性白血病
11	検出された	検出されない	検出されない	急性骨髄単球性白血病
12	検出された	検出された	検出されない	急性骨髄性白血病
13	未試験	検出された	検出された	AML MDSIに關係する変化
14	検出されない	検出された	検出されない	BPOCMの可能性 - 完全な結果は保留
15	検出された	検出された	検出されない	AML

図 18

【図 19 - 1】

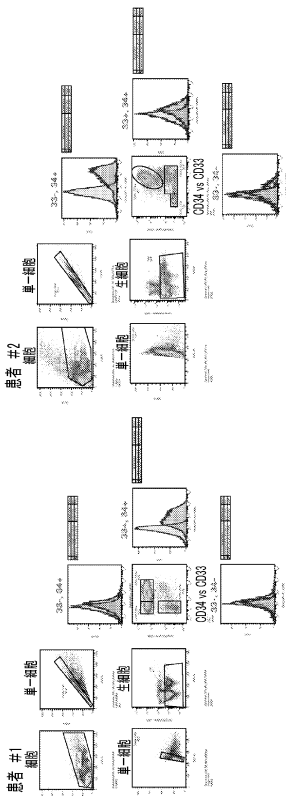


図 19 A

10

20

30

40

50

【図 19 - 2】

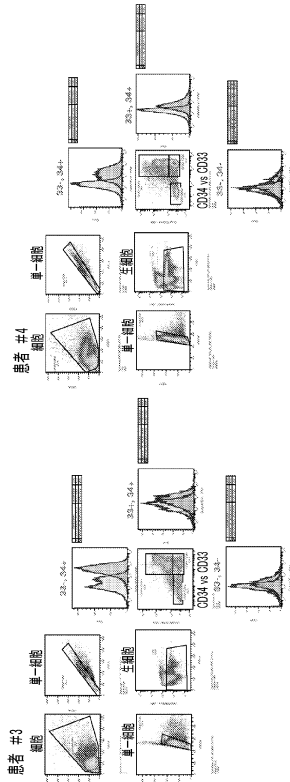


図 19 A つづき

【図 19 - 3】

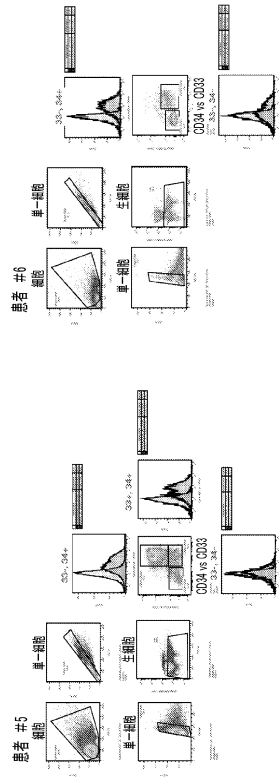


図 19 B

【図 19 - 4】

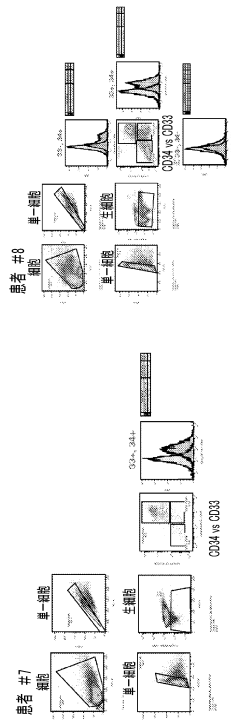


図 19 B つづき

【図 19 - 5】

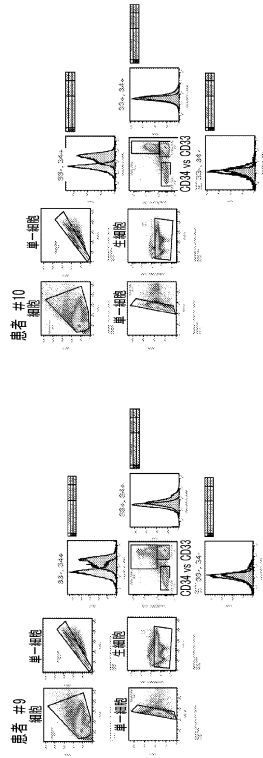


図 19 B つづき

10

20

30

40

50

【図 19 - 6】

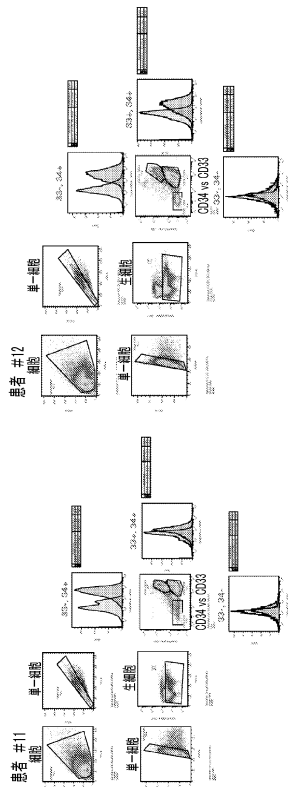


図 19B つづき

【図 19 - 7】

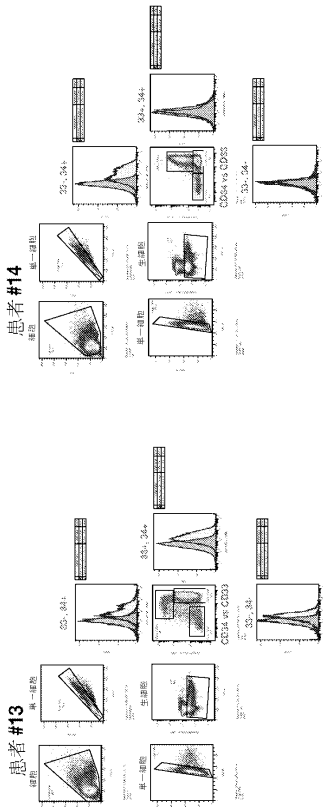


図 19C

【図 19 - 8】

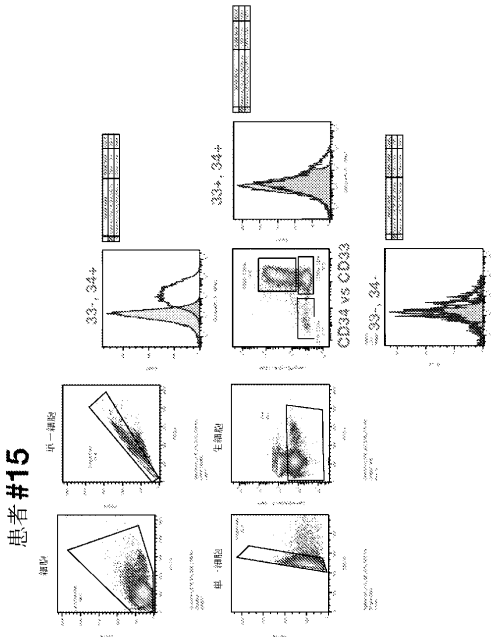


図 19C つづき

【図 19 - 9】

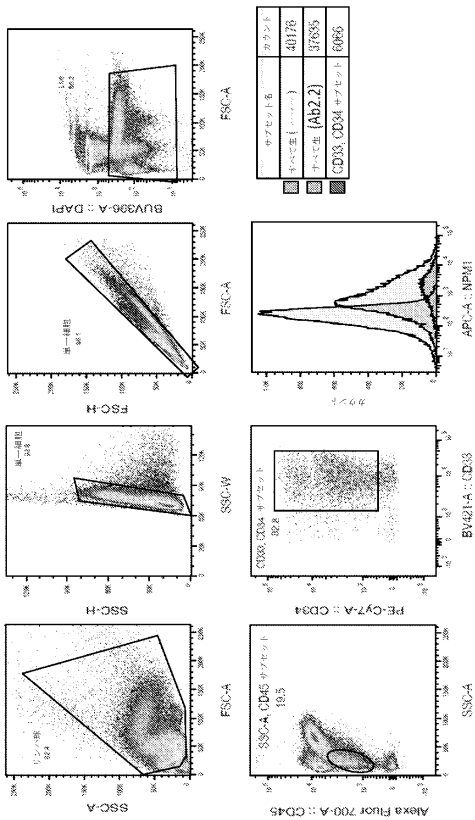


図 19D

10

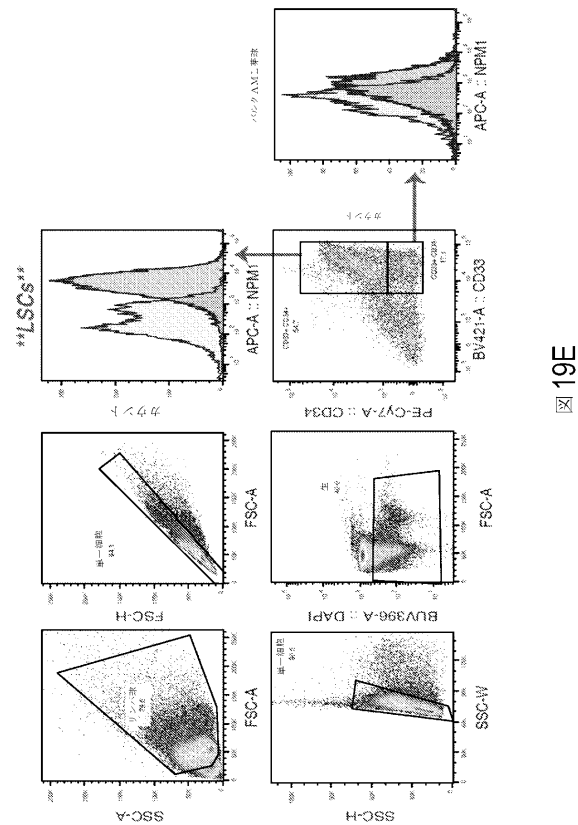
20

30

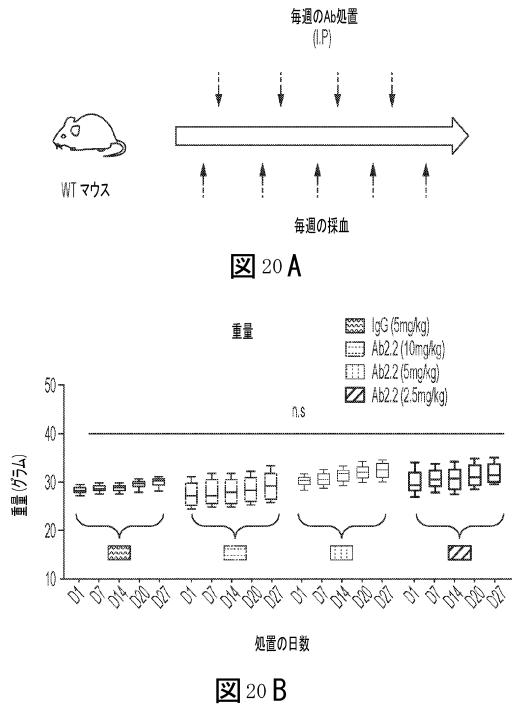
40

50

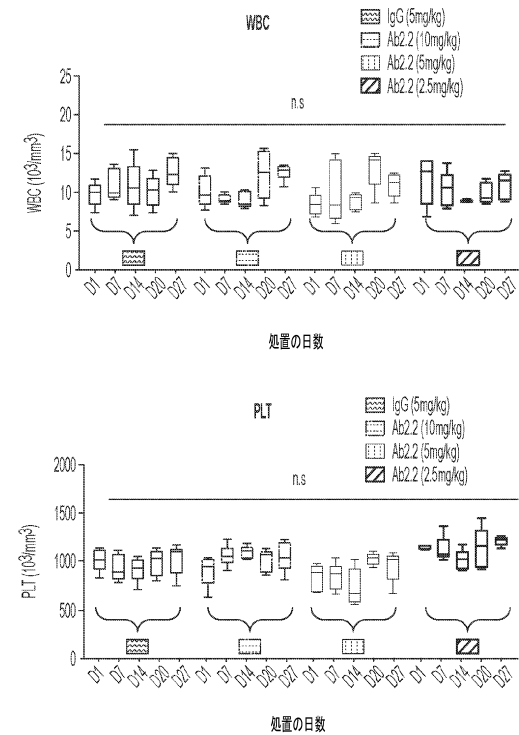
【図 19 - 10】



【図 20 - 1】



【図 20 - 2】



【図 20 - 3】

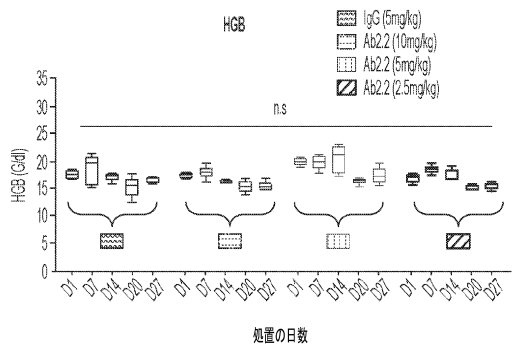


図 20 B つづき

図 20 B つづき

10

20

30

40

50

【図 2 1 - 1】

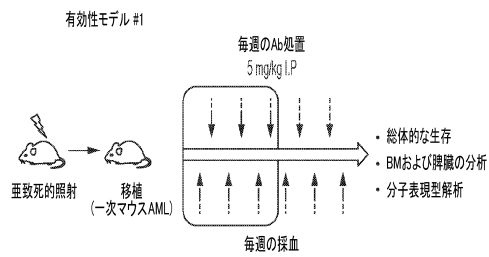


図 21 A

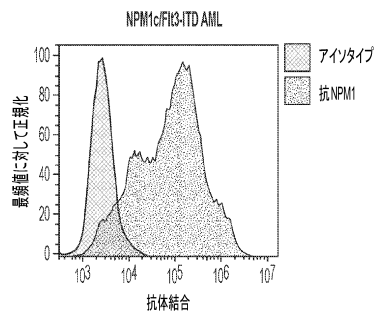


図 21 B

【図 2 1 - 2】

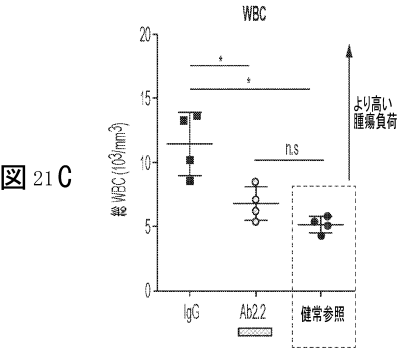
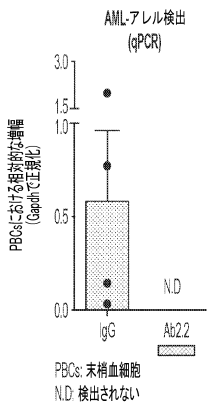


図 21 C

図 21 D



【図 2 1 - 3】

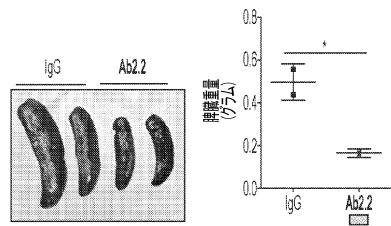


図 21 E

【図 2 1 - 4】

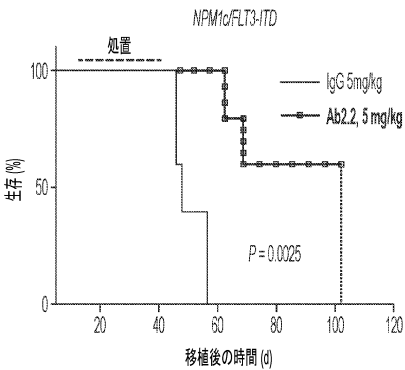


図 21 G

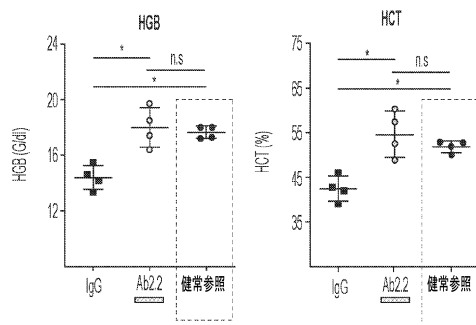


図 21 F

10

20

30

40

50

【図 2 2 - 1】

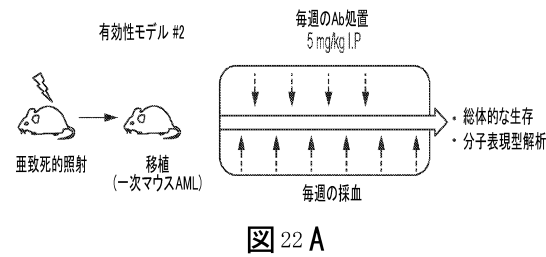


図 22 A

【図 2 2 - 2】

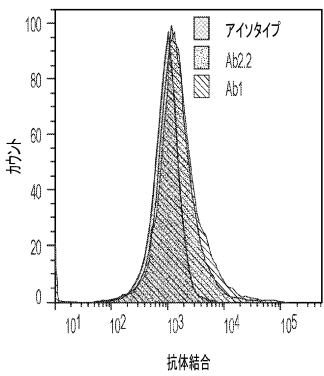


図 22 B

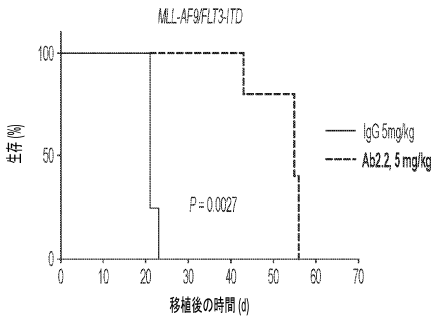


図 22 C

【図 2 3 - 1】

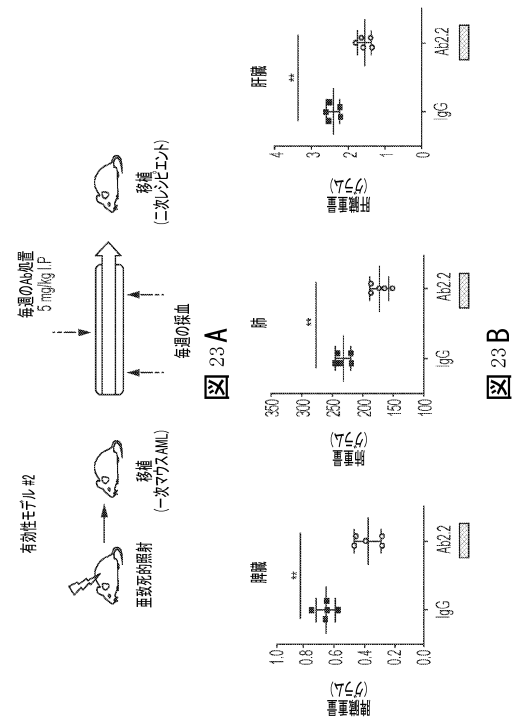


図 23 A

図 23 B

【図 2 3 - 2】

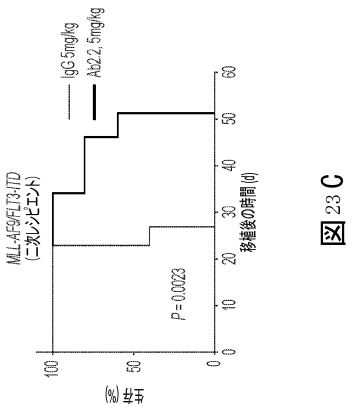


図 23 C

10

20

30

40

50

【図 2 3 - 3】

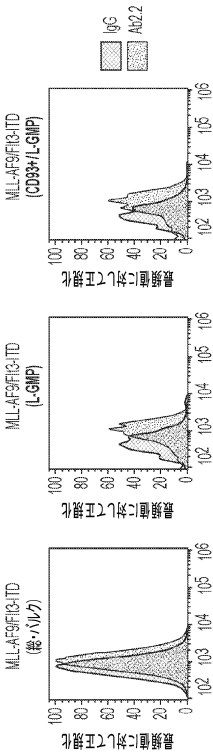


図 23 D

【図 2 3 - 4】

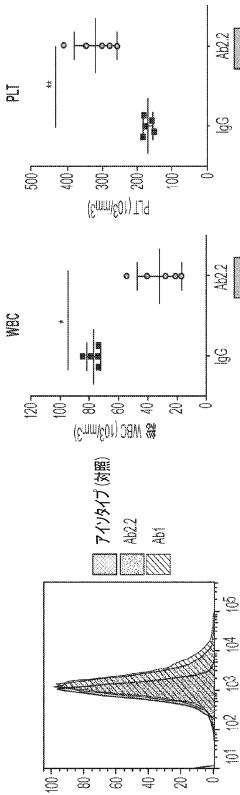


図 23 F

図 23 E

【図 2 3 - 5】

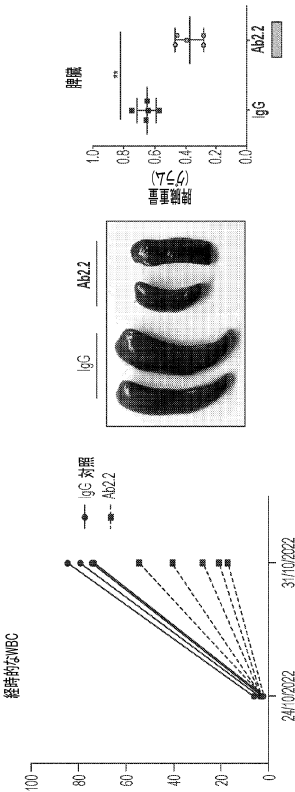


図 23 H

図 23 G

【図 2 3 - 6】

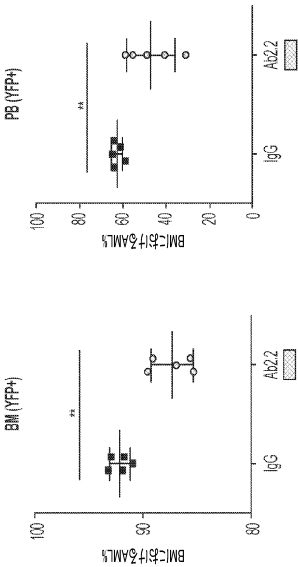


図 23 I

10

20

30

40

50

【図 2 4】

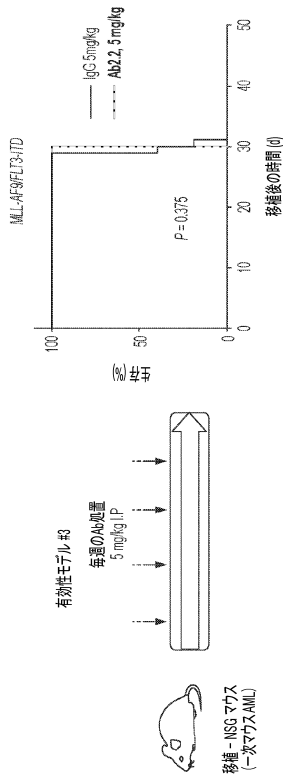


図 24 B

図 24 A

【図 2 5 - 1】

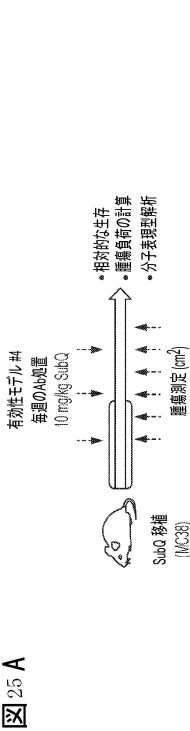


図 25 A

図 25 B

【図 2 5 - 2】

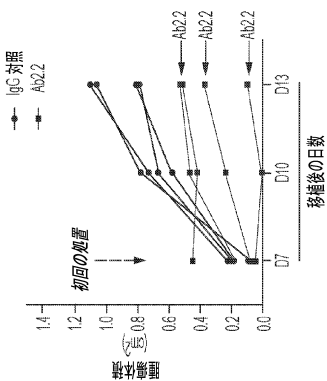


図 25 C

【図 2 6 - 1】

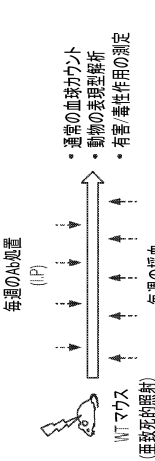


図 26 A

【図 26-2】

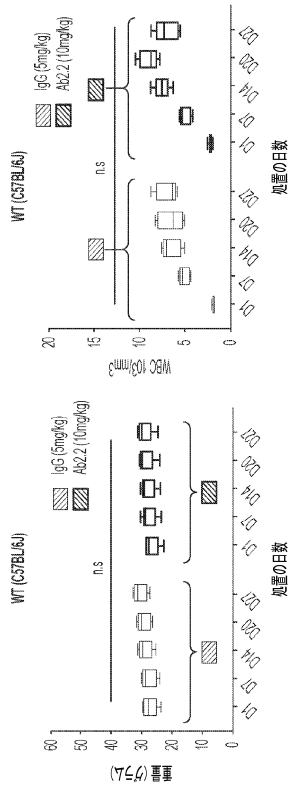


図 26 B

【図 26-3】

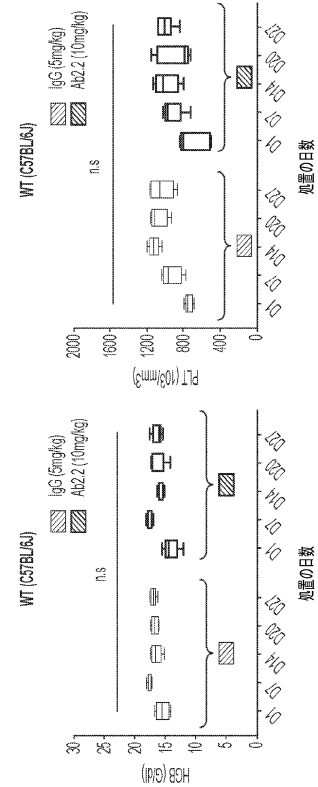


図 26 B つづき

【図 27-1】

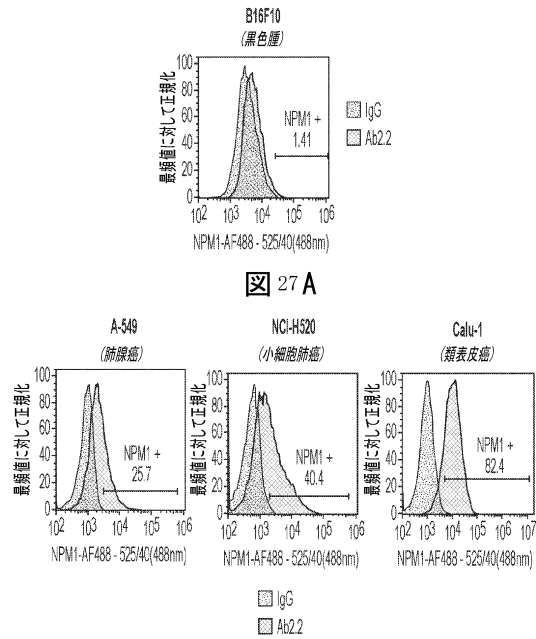


図 27 A

図 27 B

【図 27-2】

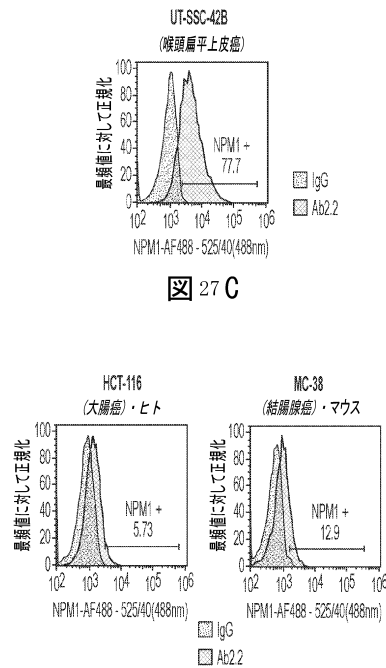


図 27 C

図 27 D

10

20

30

40

50

【図 27-3】

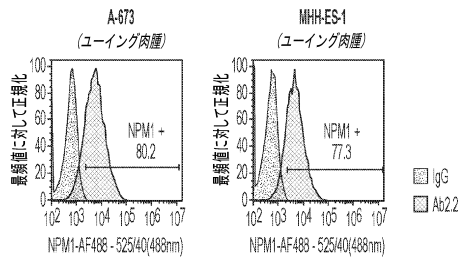


図 27 E

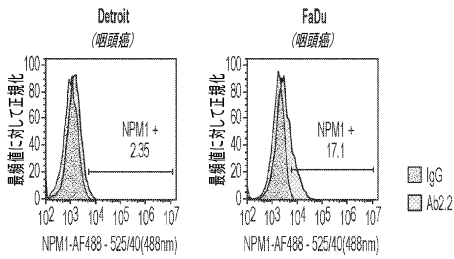


図 27 F

【図 27-4】

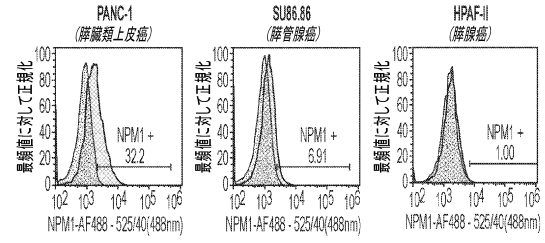
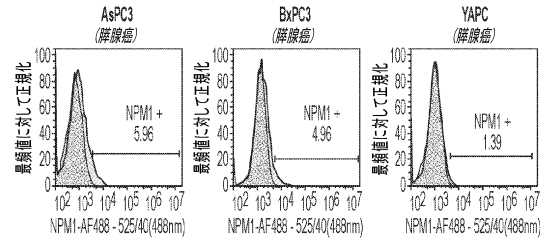


図 27 G

【図 27-5】

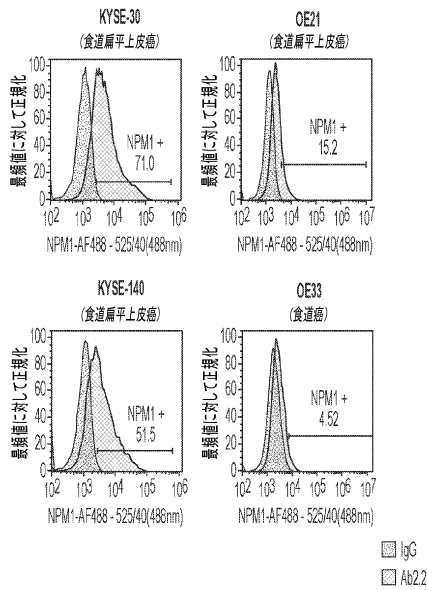


図 27 H

【図 27-6】

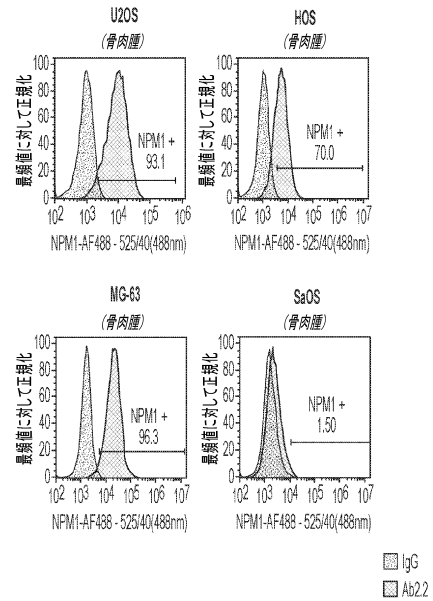


図 27 I

10

20

30

40

50

【図 27-7】

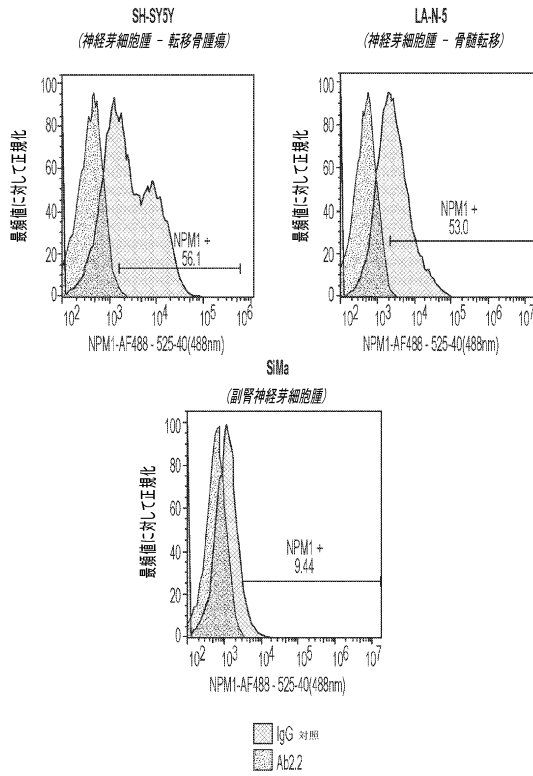


図 27 J

【図 27-8】

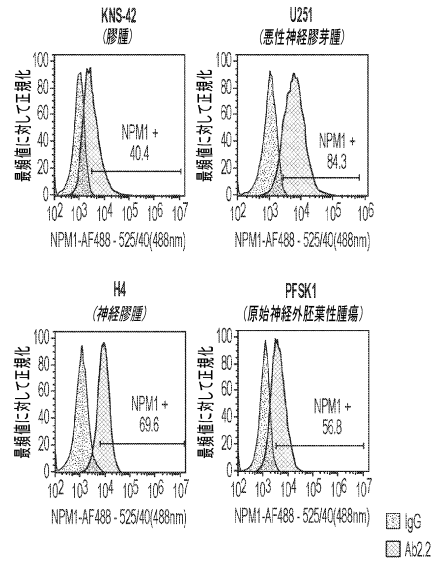


図 27 K

【図 27-9】

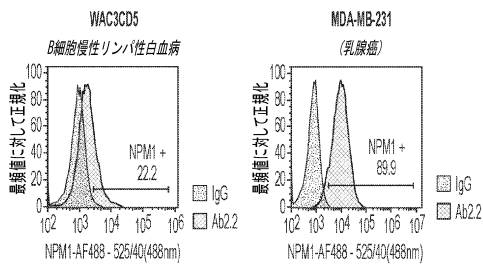


図 27 L

図 27 M

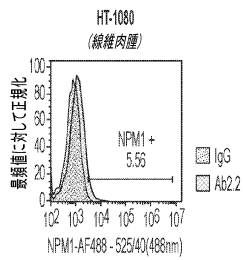


図 27 N

【図 27-10】

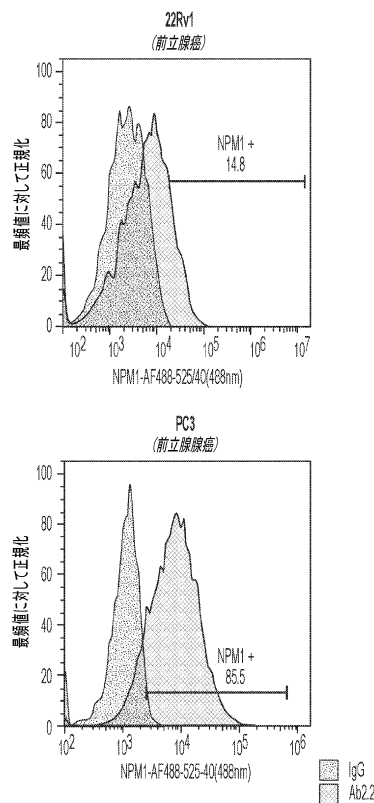


図 27 O

10

20

30

40

50

【図 2 8】

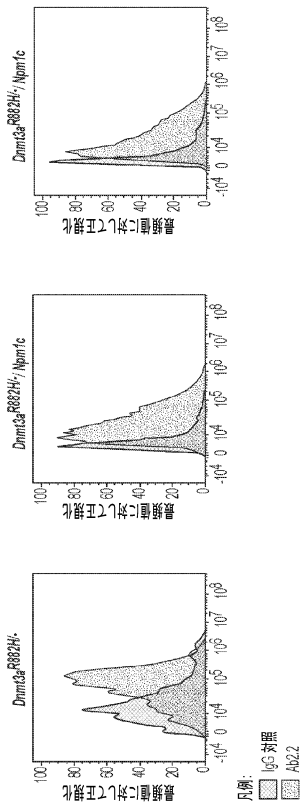


図 28

【図 2 9】

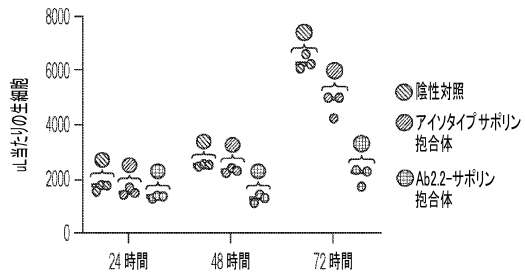


図 29

【図 3 0 - 1】

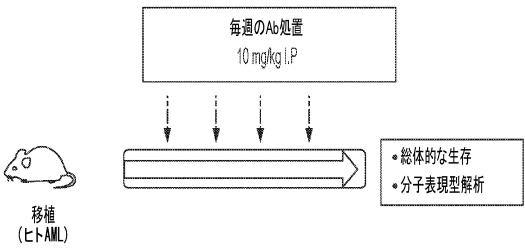


図 30 A

【図 3 0 - 2】

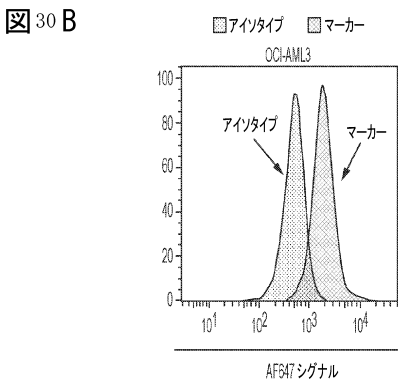
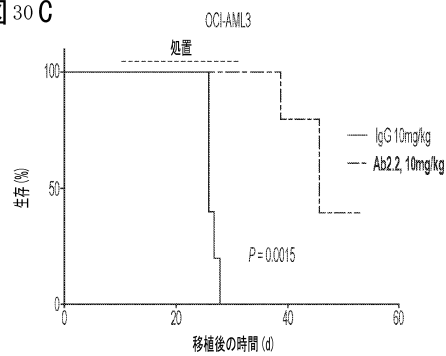


図 30 C



10

20

30

40

50

【図 3 1 - 1】

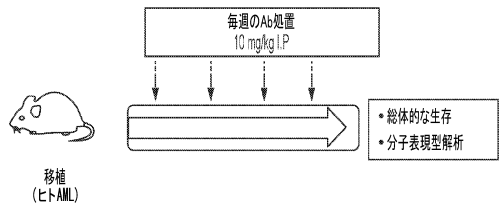


図 31 A

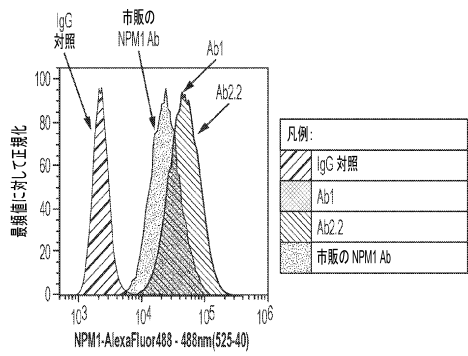


図 31 B

【図 3 1 - 2】

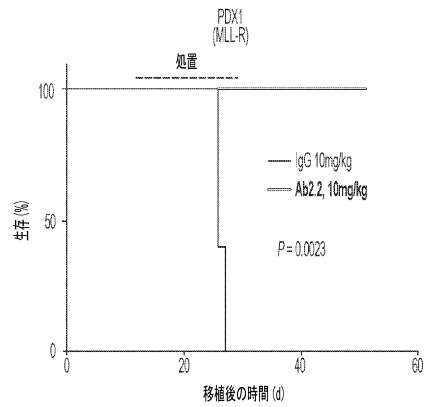


図 31 C

【図 3 2】

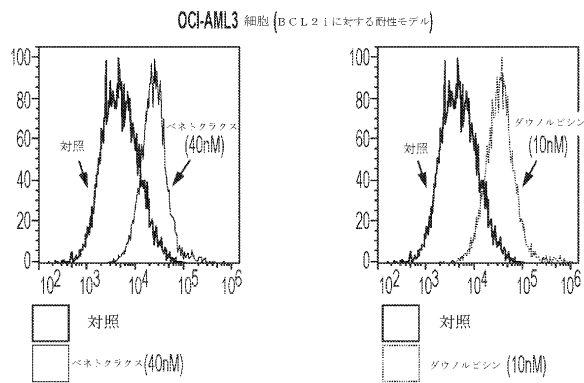


図 32

【図 3 3】

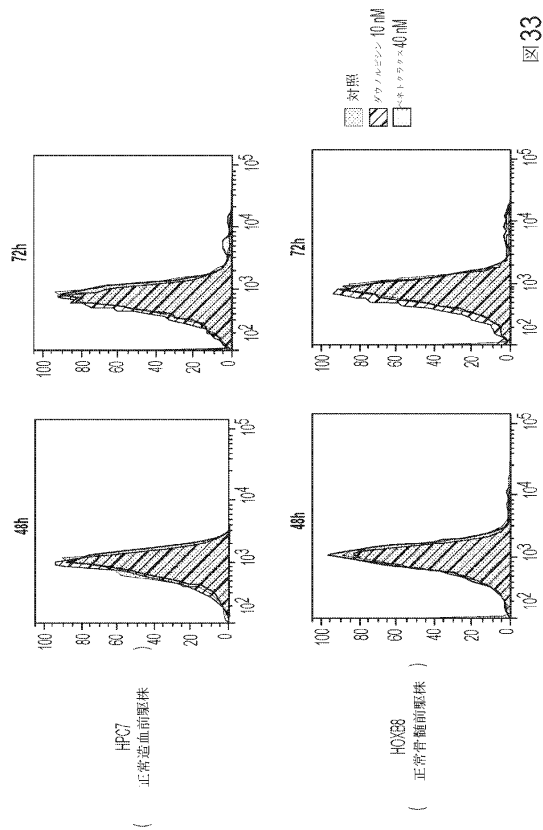


図 33

10

20

30

40

50

【配列表】

2025514287000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/66283

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. C07K 16/30; A61K 39/00; A61P 35/00 (2023.01) ADD. CPC - INV. C07K 16/30; A61K 39/0011; A61P 35/00 ADD. A61K 2039/505; C07K 2317/51; C07K 2317/515; C07K 2317/565; C12Q 2600/156 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — A A A A	US 2021/0283178 A1 (MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 16 September 2021; Abstract; claims 1 and 84; paragraphs: [0183] and [0369] REGSITER, A ET AL. "exported hypothetical protein [uncultured Eubacteriales bacterium]" page 1. GenPept entry (online). National Center for Biotechnology Information. Retrieved From The Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/SBV91433.1 >. 15 June 2017; [Retrieved on 27 July 2023] YEH, CH. "immunoglobulin heavy chain variable region, partial [Mus musculus]" pages 1-2. GenPept entry (online). National Center for Biotechnology Information. Retrieved From The Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AUV46960.1 >. 03 February 2018; [Retrieved on 27 July 2023] TURNER, JS ET AL. "immunoglobulin heavy chain junction region, partial [Homo sapiens]" page 1. GenPept entry (online). National Center for Biotechnology Information. Retrieved From The Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/MBB1682907.1 >. 01 September 2020; [Retrieved on 27 July 2023]	1-3, 56-58 — 4-5 4-5 4-5 4-5
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" 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 27 July 2023 (27.07.2023)		Date of mailing of the international search report SEP 26 2024
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/66283

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.

b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/66283

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 8-55
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-***-Please See Supplemental Page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Group I+, Claims 1-5 and 56-58, SEQ ID NO: 1 (HCDR1); SEQ ID NO: 2 (HCDR2); SEQ ID NO: 3 (HCDR3); SEQ ID NO: 9 (LCDR1); SEQ ID NO: 10 (LCDR2); SEQ ID NO: 11 (LCDR3); SEQ ID NO: 28 (HCVR) SEQ ID NO: 29 (LCVR).

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/66283

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

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

Group I+, Claims 1- 7, and 56-58, SEQ ID NO: 1 (HCDR1); SEQ ID NO: 2 (HCDR2); SEQ ID NO: 3 (HCDR3); SEQ ID NO: 9 (LCDR1); SEQ ID NO: 10 (LCDR2); SEQ ID NO: 11 (LCDR3); SEQ ID NO: 28 (HCVR); SEQ ID NO: 29 (LCVR) are directed to antibodies that bind nucleophosmin 1 (NPM1) and compositions for use in treating a disease associated with a cell expressing cell surface NPM1.

The antibody of Claims 1-5 , and 56-58, are believed to encompass the first named invention of Groups I+ and are the claims that will be searched to the extent that they comprise heavy chain CDR regions SEQ ID NO: 1 (first exemplary HCDR1); SEQ ID NO: 2 (first exemplary HCDR2); SEQ ID NO: 3 (first exemplary HCDR3); SEQ ID NO: 28 (first exemplary HCVR); and light chain CDR regions SEQ ID NO: 9 (first exemplary LCDR1); SEQ ID NO: 10 (first exemplary LCDR2); SEQ ID NO: 11 (first exemplary LCDR3); SEQ ID NO: 29 (first exemplary LCVR). This first named invention of Group I+ has been selected to encompass the first species of each of the genera found in claims 4 and 5, based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional antibody CDR, HCVR, and LCVR sequences, with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO:, such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), to be searched. Additional sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees.

Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be SEQ ID NO: 15 (HCDR1); SEQ ID NO: 16 (HCDR2); SEQ ID NO: 17 (HCDR3); SEQ ID NO: 22 (LCDR1); SEQ ID NO: 23 (LCDR2); SEQ ID NO: 24 (LCDR3); SEQ ID NO: 30 (HCVR); SEQ ID NO: 31 (LCVR).

No technical features are shared between the antibody sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: an antibody that binds to nucleophosmin 1 (NPM1), and a method for treating a disease associated with a cell expressing cell surface NPM1, the method comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of an antibody or a conjugate that binds to NPM1, these shared technical features are previously disclosed by US 2021/0283178 A1 of Massachusetts Institute of Technology (hereinafter "MIT").

MIT discloses an antibody that binds to nucleophosmin 1 (NPM1) (antibody or antigen binding fragment that specifically binds to an antigen comprising an NPM1c; abstract; claim 1); a method for treating a disease associated with a cell expressing cell surface nucleophosmin 1 (NPM1), the method comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of an antibody or a conjugate that binds to NPM1 (antibody or antigen binding fragment that specifically binds to an antigen comprising an NPM1c. Wherein NPM1c antibody is used for methods in treating cancer within subject; abstract; claims 1 and 84); a composition for use in treating a nucleophosmin 1 (NPM1)-expressing cancer, the treatment comprising administering the composition to a subject in need thereof, wherein the composition comprises an antibody or an antibody conjugate that binds to NPM1, and a chemotherapeutic drug (antibody or antigen binding fragment that specifically binds to an antigen comprising an NPM1c. Wherein NPM1c antibody is used for methods in treating cancer within subject. Further, wherein a chemotherapeutic drug is bound to antigen binding fragment; abstract; paragraph [0183]; claims 1 and 84); a composition for use in treating a nucleophosmin 1 (NPM1)-expressing cancer, the treatment comprising administering the composition to a subject in need thereof, wherein the composition comprises an antibody or an antibody conjugate that binds to NPM1, and wherein the subject is receiving or has received treatment with a chemotherapeutic drug (antibody or antigen binding fragment that specifically binds to an antigen comprising an NPM1c. Wherein NPM1c antibody is used for methods in treating cancer within subject. Further, wherein patient has undergone chemotherapy; abstract; paragraph [0368]; claims 1 and 84); a composition for use in treating a nucleophosmin 1 (NPM1)-expressing cancer, the treatment comprising administering the composition to a subject in need thereof, wherein the composition comprises a chemotherapeutic drug, and wherein the subject is receiving or has received treatment with an antibody or an antibody conjugate that binds to NPM1 (antibody or antigen binding fragment that specifically binds to an antigen comprising an NPM1c. Wherein NPM1c antibody is used for methods in treating cancer within subject. Further, wherein antigen binding fragment includes chemotherapeutic agent; abstract; paragraph [0183]; claims 1 and 84).

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

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 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	38/16 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	31/704 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y
A 6 1 K	31/496 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	31/706 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	51/10 (2006.01)	A 6 1 K	38/16	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 K	31/704	
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	A 6 1 K	31/496	
		A 6 1 K	31/706	
		A 6 1 K	51/10	1 0 0
		C 0 7 K	16/28	Z N A
		C 0 7 K	16/18	

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

弁理士法人葛和国際特許事務所

(72)発明者 ツェレピス, コンスタンティノス

グレート・ブリテン及び北部アイルランド連合王国 シービー 2 4 1 エーエス、ケンブリッジ、ヘ
ロン ロード 3 9

(72)発明者 フリン, ライアン, エー.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 4 5、ブルックライン、ステーション ストリート
5 5、アパートメント 1 エー

(72)発明者 ジョージ, ベンソン, エム.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 1 5、ボストン、ジャージー ストリート 1 1 1

F ターム (参考) 4C076 AA95 BB01 BB11 BB13 BB16 CC27 CC41 EE41 EE59 FF31
FF68

4C084 AA02 AA03 AA12 AA19 BA44 DA33 MA02 MA05 MA52 MA66
NA05 NA13 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC751

4C085 AA13 AA14 BB31 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB43
CC22 CC23

4C086 AA01 AA02 CB05 EA10 EA16 MA02 MA04 MA52 MA66 NA05
NA13 ZB26 ZB27 ZC75

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA71 BA72 DA76 EA20 FA50