

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-526584

(P2020-526584A)

(43) 公表日 令和2年8月31日 (2020.8.31)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/40 (2006.01)	C 0 7 K 16/40	4 C 0 7 6
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	4 C 0 8 4
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 C	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395 L	4 C 0 8 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 112 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-522279 (P2020-522279)	(71) 出願人	592054292
(86) (22) 出願日	平成30年6月26日 (2018.6.26)		ザ ロックフェラー ユニバーシティー
(85) 翻訳文提出日	令和2年2月27日 (2020.2.27)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 100
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/039445		21-6399, ニューヨーク, ヨークア
(87) 国際公開番号	W02019/005756		ベニュー 1230
(87) 国際公開日	平成31年1月3日 (2019.1.3)	(71) 出願人	520001017
(31) 優先権主張番号	62/525, 993		リジェニックス, インコーポレイテッド
(32) 優先日	平成29年6月28日 (2017.6.28)		アメリカ合衆国, ニューヨーク, ニューヨ
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ーク, イースト 67 ストリート 31
		(74) 代理人	110000671
			八田国際特許業務法人
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 抗MER TKアゴニスト抗体-薬物コンジュゲートおよびその使用

(57) 【要約】

本開示によれば、(i) Merチロシンキナーゼ (MER TK) (例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスMER TKの双方) に特異的に結合する抗体と、(ii) 前記抗体に直接共役されているか、またはリンカーを介して前記抗体に共役されている細胞毒性剤とを含む抗体薬物コンジュゲート、並びに、当該抗体薬物コンジュゲートを含み、当該抗体薬物コンジュゲートに含有される前記抗体が内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する組成物が提供される。本開示はまた、(i) MER TK に特異的に結合して内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する抗体と、(ii) 前記抗体に直接共役されているか、またはリンカーを介して前記抗体に共役されている細胞毒性剤とを含む抗体薬物コンジュゲートを投与することによりがんを治療する方法をも提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

(a) ヒト M e r チロシンキナーゼ (M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞のヒト M E R T K シグナル伝達を作動する抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 2】

前記抗体または抗原結合断片がマウス M E R T K にさらに特異的に結合する、請求項 1 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項 3】

前記抗体がヒト M E R T K の細胞外ドメインを特異的に認識し、前記細胞外ドメインが配列番号 58 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 または 2 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4】

前記抗体が、ヒト M E R T K への結合について G a s - 6 と競合する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

20

【請求項 6】

前記抗体が、2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7】

前記重鎖のそれぞれが、配列番号 1 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 6 の C D R 2、および配列番号 11 の C D R 3 を含む可変領域 (V H) を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 8】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 2 の C D R 1、配列番号 7 の C D R 2、および配列番号 12 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項 9】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 3 の C D R 1、配列番号 8 の C D R 2、および配列番号 11 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 10】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 4 の C D R 1、配列番号 9 の C D R 2、および配列番号 13 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項 11】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 5 の C D R 1、配列番号 10 の C D R 2、および配列番号 14 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 12】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 3 の C D R 1、配列番号 6 の C D R 2、および配列番号 11 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 13】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 25 の C D R 1、

50

配列番号 30 の C D R 2、および配列番号 35 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 14】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 26 の C D R 1、配列番号 31 の C D R 2、および配列番号 36 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 15】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 27 の C D R 1、配列番号 32 の C D R 2、および配列番号 35 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項 16】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 28 の C D R 1、配列番号 33 の C D R 2、および配列番号 37 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 17】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 29 の C D R 1、配列番号 34 の C D R 2、および配列番号 38 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 18】

前記重鎖のそれぞれが可変領域 (V H) を含み、前記 V H が配列番号 27 の C D R 1、配列番号 30 の C D R 2、および配列番号 35 の C D R 3 を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

20

【請求項 19】

前記軽鎖のそれぞれが、配列番号 15 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 19 の C D R 2、および配列番号 22 の C D R 3 を含む可変領域 (V L) を含む、請求項 6、7、9 または 12 のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 20】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 16 の C D R 1、配列番号 20 の C D R 2、および配列番号 23 の C D R 3 を含む、請求項 6 または 8 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項 21】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 17 の C D R 1、配列番号 21 の C D R 2、および配列番号 24 の C D R 3 を含む、請求項 6 または 10 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 22】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 18 の C D R 1、配列番号 20 の C D R 2、および配列番号 22 の C D R 3 を含む、請求項 6 または 11 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 23】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 39 の C D R 1、配列番号 43 の C D R 2、および配列番号 46 の C D R 3 を含む、請求項 6、13、15 または 18 のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項 24】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 40 の C D R 1、配列番号 44 の C D R 2、および配列番号 47 の C D R 3 を含む、請求項 6 または 14 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 25】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 41 の C D R 1、配列番号 45 の C D R 2、および配列番号 48 の C D R 3 を含む、請求項 6 または 16 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

50

【請求項 26】

前記軽鎖のそれぞれが可変領域 (V L) を含み、前記 V L が配列番号 42 の C D R 1、配列番号 44 の C D R 2、および配列番号 46 の C D R 3 を含む、請求項 6 または 18 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 27】

前記重鎖が、配列番号 49 を含む可変領域 (V H) を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 28】

前記軽鎖が、配列番号 50 を含む可変領域 (V L) を含む、請求項 6 または 27 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項 29】

前記重鎖が、配列番号 51 を含む可変領域 (V H) を含む、請求項 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 30】

前記軽鎖が、配列番号 52 を含む可変領域 (V L) を含む、請求項 6 または 29 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 31】

ヒト由来定常領域を含む、請求項 6 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 32】

前記重鎖の定常領域が、ガンマ 1、ガンマ 2、ガンマ 3、およびガンマ 4 からなる群から選択されるアイソタイプを有する、請求項 31 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

20

【請求項 33】

前記抗体またはその抗原結合断片がヒト化されている、請求項 1 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 34】

前記抗体が、約 3 ピコモラー (p M) ~ 約 400 p M の範囲の解離定数 (K_D) でヒト M E R T K に結合する、請求項 1 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 35】

前記抗体が、約 3 p M ~ 約 400 p M の範囲の K_D でマウス M E R T K に結合する、請求項 1 ~ 34 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項 36】

前記抗体または抗原結合断片が、乳癌細胞の存在下、インビトロで内皮細胞の遊走を阻害し、前記遊走がコントロール抗体で処理された内皮細胞と比較して 30 % 超阻害される、請求項 1 ~ 35 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 37】

前記抗体または抗原結合断片が、インビトロでヒト血管内皮細胞の M E R T K のリン酸化を促進する、請求項 1 ~ 36 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 38】

前記抗体または抗原結合断片が、インビトロで癌細胞上の M E R T K のリン酸化を促進しない、請求項 1 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項 39】

前記抗体または抗原結合断片が、インビボで腫瘍血管新生を阻害する、請求項 1 ~ 38 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 40】

前記抗体または抗原結合断片が、内皮細胞の非存在下、インビトロでのトランスウェル遊走アッセイにおいて多形膠芽腫細胞株 A 172 の遊走を阻害しない、請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 41】

50

前記抗体または抗原結合断片が、多形性膠芽腫細胞株 A 1 7 2 上の M E R T K の発現レベルを低下させない、請求項 1 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 2】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 1 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 6 の C D R 2、および配列番号 1 1 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項 4 3】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 2 の C D R 1、配列番号 7 の C D R 2、および配列番号 1 2 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 4】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 3 の C D R 1、配列番号 8 の C D R 2、および配列番号 1 1 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

20

【請求項 4 5】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 4 の C D R 1、配列番号 9 の C D R 2、および配列番号 1 3 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項 4 6】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 5 の C D R 1、配列番号 1 0 の C D R 2、および配列番号 1 4 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項 4 7】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 3 の C D R 1、配列番号 6 の C D R 2、および配列番号 1 1 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

50

【請求項 48】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 25 の C D R 1、配列番号 30 の C D R 2、および配列番号 35 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 49】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 26 の C D R 1、配列番号 31 の C D R 2、および配列番号 36 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 50】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 27 の C D R 1、配列番号 32 の C D R 2、および配列番号 35 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 51】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 28 の C D R 1、配列番号 33 の C D R 2、および配列番号 37 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 52】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 29 の C D R 1、配列番号 34 の C D R 2、および配列番号 38 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 53】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 27 の C D R 1、配列番号 30 の C D R 2、および配列番号 35 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 54】

(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 5 の C D R 1、配列番号 10 の C D

10

20

30

40

50

R 2、および配列番号 1 4 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、

(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

(c) 任意のリンカーと、

を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5 5】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 1 6 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 2 0 の C D R 2、および配列番号 2 3 の C D R 3 を含む、請求項 4 2、4 4 または 4 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項 5 6】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 1 7 の C D R 1、配列番号 2 1 の C D R 2、および配列番号 2 4 の C D R 3 を含む、請求項 4 5 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5 7】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 1 8 の C D R 1、配列番号 2 0 の C D R 2、および配列番号 2 2 の C D R 3 を含む、請求項 4 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5 8】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 3 9 の C D R 1、配列番号 4 3 の C D R 2、および配列番号 4 6 の C D R 3 を含む、請求項 4 8、5 0 または 5 3 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

20

【請求項 5 9】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 4 0 の C D R 1、配列番号 4 4 の C D R 2、および配列番号 4 7 の C D R 3 を含む、請求項 4 9 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 0】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 4 1 の C D R 1、配列番号 4 5 の C D R 2、および配列番号 4 8 の C D R 3 を含む、請求項 5 1 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項 6 1】

前記抗体または抗原結合断片が軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、前記 V L が配列番号 4 2 の C D R 1、配列番号 4 4 の C D R 2、および配列番号 4 6 の C D R 3 を含む、請求項 5 3 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 2】

前記抗体が免疫グロブリンであり、前記抗原結合断片が前記免疫グロブリンの一部である、請求項 4 2 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 3】

前記抗体が免疫グロブリンである、請求項 4 2 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項 6 4】

前記抗体または抗原結合断片がヒト化されている、請求項 4 2 ~ 6 3 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 5】

前記抗体または抗原結合断片がヒト由来定常領域を含む、請求項 4 2 ~ 6 3 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 6】

前記抗体がヒト化免疫グロブリンである、請求項 6 5 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 7】

50

前記抗体が二重特異性抗体である、請求項 1 ~ 4 および 4 2 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 8】

- (I) ヒト M E R T K に特異的に結合する免疫グロブリンである抗体部分と、
- (I I) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、
- (I I I) 任意のリンカーと、

を含み、

前記免疫グロブリンは、

(A) (i) 配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および (i i) 配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または、

(B) (i) 配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および (i i) 配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

を含み、

前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 9】

(I) (a) (i) 配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および (i i) 配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む第 1 の免疫グロブリン；並びに、

(b) (i) 配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および (i i) 配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む第 2 の免疫グロブリン；

からなる群から選択される参照抗体と M E R T K への結合について競合する抗体である抗体部分と、

- (I I) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、

- (I I I) 任意のリンカーと、

を含み、

前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 0】

前記抗体部分の前記薬物部分に対するモル比が 1 : 1 ~ 1 : 8 である、請求項 1 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 1】

前記抗体部分の前記薬物部分に対するモル比が 1 : 3 ~ 1 : 5 である、請求項 1 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 2】

前記リンカーを含み、前記リンカーが切断可能なリンカーである、請求項 1 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 3】

前記リンカーを含み、前記リンカーが切断不能なリンカーである、請求項 1 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 4】

前記細胞毒性剤が、小分子、ヌクレオチド、ペプチド、または非抗体タンパク質である、請求項 1 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 5】

前記細胞毒性剤が小分子である、請求項 1 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 6】

前記細胞毒性剤が、アウリスタチン、メイタンシノイド、ピロロベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン、カリケアマイシン、カンプトテシン類似体、デュオカルマイシン、チューブリン阻害剤、チューブリンまたはチューブリン類似体、アンベルスタチン 2 6 9、ドキソルビシン、抗生物質、アントラサイクリン、微小管阻害剤、スプライ

10

20

30

40

50

セオスタチン、またはタイランスタチンである、請求項 7 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 7】

前記細胞毒性剤がモノメチルアウリスタチン E (M M A E) またはモノメチルアウリスタチン F (M M A F) である、請求項 7 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 8】

前記細胞毒性剤が D M 1 または D M 4 である、請求項 7 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 9】

前記リンカーが存在しない、請求項 1 ~ 7 8 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法であって、

10

(a) 前記細胞毒性剤を前記抗体部分に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造し、(b) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することを含む、製造方法。

【請求項 8 0】

前記リンカーを含む、請求項 1 ~ 7 8 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法であって、

(a) 前記リンカーを前記抗体部分に直接共役させて、リンカー抗体部分を製造することと、(b) 前記リンカー抗体部分の前記リンカーを前記細胞毒性剤に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造することと、(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと、をこの順に含む、製造方法。

20

【請求項 8 1】

前記リンカーを含む、請求項 1 ~ 7 8 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法であって、

(a) 前記リンカーを前記細胞毒性剤に直接共役させて、リンカー細胞毒性剤部分を製造することと、(b) 前記リンカー細胞毒性剤部分の前記リンカーを前記抗体部分に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造することと、(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと、をこの順に含む、製造方法。

【請求項 8 2】

請求項 1 ~ 7 8 のいずれか 1 項に記載の抗体薬物コンジュゲートの治療的有効量、および薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

30

【請求項 8 3】

請求項 8 2 に記載の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記対象における癌の治療方法。

【請求項 8 4】

前記癌が、肺、乳房、骨、卵巣、胃、脾臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆道、結腸、直腸、子宮頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺または甲状腺の癌である、請求項 8 3 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記癌が、肉腫、扁平上皮癌、黒色腫、神経膠腫、膠芽腫、神経芽腫またはカボジ肉腫である、請求項 8 3 に記載の方法。

40

【請求項 8 6】

前記癌が乳癌である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記癌がトリプルネガティブ乳癌である、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記対象に他の治療薬を投与することをさらに含む、請求項 8 3 ~ 8 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記他の治療薬が前記癌を治療するためのものである、請求項 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 0】

50

前記他の治療薬が、乳癌の治療に使用される薬剤、黒色腫の治療に使用される薬剤、免疫療法、または血管新生阻害剤である、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

前記他の治療薬が、タモキシフェン、ラロキシフェン、パクリタキセル、シクロホスファミド、ドセタキセル、ビンブラスチン、フルオロウラシル、エベロリムス、トラスツズマブ、トラスツズマブ - エムタンシン、ペルツズマブ、およびラパチニブジトシレートからなる群から選択される、乳癌を治療するのに使用される薬剤である、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 92】

前記他の治療薬が、BRAF 阻害剤、MEK 阻害剤、およびダカルバジンからなる群から選択される、黒色腫を治療するのに使用される薬剤である、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 93】

前記他の治療薬が、CTLA-4 阻害剤、PD-1 阻害剤、または PD-L1 阻害剤である抗体である、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 94】

前記他の治療薬が、VEGF 阻害剤、VEGFR2 阻害剤、スニチニブ、およびソラフェニブからなる群から選択される血管新生阻害剤である、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 95】

前記対象がヒトである、請求項 83 ~ 94 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

この出願は、35 USC § 119(e) の下で、2017 年 6 月 28 日に出願された米国仮出願第 62/525,993 号の優先権を主張する。

【0002】

電子的に提出された配列表の参照

この出願は、2017 年 6 月 16 日に作成された 29 キロバイトのサイズの「Sequence Listing.txt」という名称のテキストファイルとして、この出願とともに提出された配列表を参照により組み込むものとする。

【0003】

1. 分野

本開示によれば、(i) Mer チロシンキナーゼ (MERTK) (例えば、ヒト MERTK、またはヒトおよびマウス MERTK の双方) に特異的に結合する抗体と、(ii) 前記抗体に直接共役されているか、またはリンカーを介して前記抗体に共役されている細胞毒性剤とを含む抗体薬物コンジュゲート、並びに、当該抗体薬物コンジュゲートを含み、当該抗体薬物コンジュゲートに含有される前記抗体が内皮細胞の MERTK シグナル伝達を作動する組成物が提供される。本開示はまた、(i) MERTK に特異的に結合して内皮細胞の MERTK シグナル伝達を作動する抗体と、(ii) 前記抗体に直接共役されているか、またはリンカーを介して前記抗体に共役されている細胞毒性剤とを含む抗体薬物コンジュゲートを投与することによりがんを治療する方法をも提供する。

【0004】

2. 背景

Mer チロシンキナーゼ (MERTK) (c-mer、MER、癌原遺伝子 c-Mer、受容体チロシンキナーゼ MerTK、チロシンプロテインキナーゼ Mer、STK キナーゼ、RP38、または MGC133349 と呼ばれる) は、受容体チロシンキナーゼの TAM ファミリーのメンバーであり、AXL および TYRO3 キナーゼも含む。MERTK は、リガンド、特に注目されるのは可溶性タンパク質である Gas-6 の結合による活性化を介して、細胞外空間からのシグナルを変換する。Gas-6 が MERTK に結合すると、その細胞内ドメインで MERTK の自己リン酸化が誘導され、下流のシグナル活

10

20

30

40

50

性化が起こる (Cumming s C T et al . , (2 0 1 3) Clin Can cer Res 1 9 : 5 2 7 5 - 5 2 8 0 ; Verma A et al . , (2 0 1 1) Mol Cancer Ther 1 0 : 1 7 6 3 - 1 7 7 3) 。

【 0 0 0 5 】

M E R T K 受容体は、膜結合型と可溶性の両方で存在している。細胞外ドメインは切断されて可溶性の細胞外ドメインを生成することができ、この可溶性の細胞外ドメインは、膜結合型 M E R T K に結合する可溶性 G a s - 6 リガンドの能力および / または利用可能性を低下させることにより、細胞上の M E R T K 受容体の活性化を負に調節するデコイ受容体として作用するとの仮説がある (S a t h e r S e t al . , (2 0 0 7) B l o o d 1 0 9 : 1 0 2 6 - 1 0 3 3) 。その結果、M E R T K は、癌の進行、血管新生、および転移に関連する 2 つの役割を有している。一方で、内皮細胞上の M E R T K の G a s - 6 活性化は、共培養システムにおける癌細胞による内皮細胞の動員を阻害する。内皮動員は、腫瘍の血管新生、腫瘍の成長、および転移を可能にする癌細胞の重要な特徴である。しかしながら、他方で、M E R T K は癌細胞において反対の役割を果たしており、その過剰発現は、おそらく切断された M E R T K を放出して可溶性の M E R T K 細胞外ドメインタンパク質をデコイ受容体として生成することにより、転移の増加をもたらす。したがって、腫瘍細胞は、デコイ受容体として作用する可溶性の形態の細胞外 M E R T K 受容体を分泌し、可溶性 G a s - 6 リガンドが内皮細胞上の M E R T K を活性化する能力 (および / または利用可能性) を低下させ、最終的に内皮動員、血管新生、および癌の進行を引き起こす (P n g K J et al . , (2 0 1 2) Nature 4 8 1 : 1 9 0 - 1 9 4) 。

【 0 0 0 6 】

歴史的に、癌の治療のため、M E R T K の活性化剤ではなく阻害剤を生成するための努力がなされてきた (例えば、抗癌化合物として開発された強力な小分子 M E R T K 阻害剤である、化合物 U N C 1 0 6 2) 。これは、M E R T K は癌遺伝子としてのみ機能すると考えられていたためである (L i u J et al . (2 0 1 3) Eur J Med Chem 6 5 : 8 3 - 9 3 ; Cumming s C T et al . (2 0 1 3) Clin Cancer Res 1 9 : 5 2 7 5 - 5 2 8 0 ; Verma A et al . (2 0 1 1) Mol Cancer Ther 1 0 : 1 7 6 3 - 1 7 7 3) 。癌細胞および内皮細胞における M E R T K の二重の役割を考えると、一般的に M E R T K の活性化をもたらす分子 (例えば、内皮細胞および癌細胞の両方) での治療により、内皮細胞の動員および転移が増加する可能性がある。ただし、癌細胞ではなく内皮細胞の M E R T K のシグナル伝達を活性化する化合物は、腫瘍の血管新生と転移の魅力的な治療薬になる可能性がある。

【 0 0 0 7 】

したがって、M E R T K に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗体を用いた治療の選択肢が必要とされている。

【 0 0 0 8 】

近年、抗体薬物コンジュゲート (A D C) は、最も急速に成長しているがん治療薬のクラスの一つとなっている (B e c k A et al . (2 0 1 7) Nat Rev Drug Discov 1 6 : 3 1 5 - 3 3 7 ; P e t e r s C and B r o w n S , (2 0 1 5) Biosci Rep 3 5 : art : e 0 0 2 2 5) 。

【 0 0 0 9 】

本明細書における参考文献の引用は、それが本開示に対する先行技術であるという承認として解釈されるべきではない。

【 発明の概要 】

【 0 0 1 0 】

3 . 概要

本発明は、(a) M E R T K (例えば、ヒト M E R T K 、またはヒトおよびマウス M E R T K の双方) に特異的に結合し、内皮細胞のヒト M E R T K シグナル伝達を作動する抗

体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b)それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c)任意のリンカーとを含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートを提供する。

【0011】

本発明の抗体薬物コンジュゲートの抗体部分であり得る、非限定かつ例示的な抗MERTK抗体またはその抗原結合断片を以下に記載する。

【0012】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、ヒトMERTKの細胞外ドメインを特異的に認識する。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、マウスMERTKの細胞外ドメインを特異的に認識する。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、MERTK(例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方)への結合についてGas-6と競合する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体または抗原結合断片はモノクローナルである。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである。

10

【0013】

特定の実施形態では、MERTK(例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

20

(a) NYGMN(配列番号1)のVH CDR1;および/または

(b) WINTYTGEPTYADDFKG(配列番号6)のVH CDR2;および/または

(c) KSTVVSR YFDV(配列番号11)のVH CDR3、を含む重鎖可変領域(VH)を含む。

【0014】

特定の実施形態では、MERTK(例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

30

(a) GYTFTNY(配列番号2)のVH CDR1;および/または

(b) (配列番号7)のVH CDR2;および/または

(c) STVVSR YFD(配列番号12)のVH CDR3、を含む重鎖可変領域(VH)を含む。

【0015】

特定の実施形態では、MERTK(例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

(a) GYTFTNYGMN(配列番号3)のVH CDR1;および/または

(b) WINTYTGEPT(配列番号8)のVH CDR2;および/または

40

(c) KSTVVSR YFDV(配列番号11)のVH CDR3、を含む重鎖可変領域(VH)を含む。

【0016】

特定の実施形態では、MERTK(例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

(a) TNYGMN(配列番号4)のVH CDR1;および/または

(b) WMGWINTYTGEPT(配列番号9)のVH CDR2;および/または

50

(c) ARKSTVVSR YFD(配列番号13)のVH CDR3、を含む重鎖可変領域(VH)を含む。

【 0 0 1 7 】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- （ a ） G Y T F T N Y G（配列番号 5）のV H C D R 1；および / または
- （ b ） I N T Y T G E P（配列番号 1 0）のV H C D R 2；および / または
- （ c ） A R K S T V V S R Y F D V（配列番号 1 4）のV H C D R 3、

を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【 0 0 1 8 】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- （ a ） G Y T F T N Y G M N（配列番号 3）のV H C D R 1；および / または
- （ b ） W I N T Y T G E P T Y A D D F K G（配列番号 6）のV H C D R 2；および / または
- （ c ） K S T V V S R Y F D V（配列番号 1 1）のV H C D R 3、

を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【 0 0 1 9 】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- （ a ） K A S Q D V G D A V T（配列番号 1 5）のV L C D R 1；および / または
- （ b ） W A S T R H T（配列番号 1 9）のV L C D R 2；および / または
- （ c ） Q Q Y R S Y P L T（配列番号 2 2）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 2 0 】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- （ a ） S Q D V G D A（配列番号 1 6）のV L C D R 1；および / または
- （ b ） W A S（配列番号 2 0）のV L C D R 2；および / または
- （ c ） Y R S Y P L（配列番号 2 3）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 2 1 】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- （ a ） G D A V T W C（配列番号 1 7）のV L C D R 1；および / または
- （ b ） L L I Y W A S T R H（配列番号 2 1）のV L C D R 2；および / または
- （ c ） Q Q Y R S Y P L（配列番号 2 4）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 2 2 】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を刺激する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- （ a ） Q D V G D A（配列番号 1 8）のV L C D R 1；および / または
- （ b ） W A S（配列番号 2 0）のV L C D R 2；および / または
- （ c ） Q Q Y R S Y P L T（配列番号 2 2）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 2 3 】

10

20

30

40

50

別の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

（a）DYSMH（配列番号25）のVH CDR1；および／または

（b）WINTDTGEPTYADDFKG（配列番号30）のVH CDR2；および／または

（c）WFGAMDY（配列番号35）のVH CDR3、
を含む重鎖可変領域（VH）を含む。

【0024】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

（a）NYTFTDY（配列番号26）のVH CDR1；および／または

（b）TDTG（配列番号31）のVH CDR2；および／または

（c）FGAMD（配列番号36）のVH CDR3、
を含む重鎖可変領域（VH）を含む。

【0025】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

（a）NYTFTDYSMH（配列番号27）のVH CDR1；および／または

（b）WINTDTGEPT（配列番号32）のVH CDR2；および／または

（c）WFGAMDY（配列番号35）のVH CDR3、
を含む重鎖可変領域（VH）を含む。

【0026】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

（a）TDYSMH（配列番号28）のVH CDR1；および／または

（b）WVGWINTDTGEPT（配列番号33）のVH CDR2；および／または

（c）ARWFGAMD（配列番号37）のVH CDR3、
を含む重鎖可変領域（VH）を含む。

【0027】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

（a）NYTFTDYS（配列番号29）のVH CDR1；および／または

（b）INTDTGEP（配列番号34）のVH CDR2；および／または

（c）ARWFGAMDY（配列番号38）のVH CDR3、
を含む重鎖可変領域（VH）を含む。

【0028】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は：

（a）NYTFTDYSMH（配列番号27）のVH CDR1；および／または

（b）WINTDTGEPTYADDFKG（配列番号30）のVH CDR2；および／または

（c）WFGAMDY（配列番号35）のVH CDR3、
を含む重鎖可変領域（VH）を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 9 】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（ a ） K A S Q D V T N V V A（配列番号 3 9）のV L C D R 1；および／または

（ b ） S A S Y R Y T（配列番号 4 3）のV L C D R 2；および／または

（ c ） Q Q Y Y R T P R T（配列番号 4 6）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 3 0 】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（ a ） S Q D V T N V（配列番号 4 0）のV L C D R 1；および／または

（ b ） S A S（配列番号 4 4）のV L C D R 2；および／または

（ c ） Y Y R T P R（配列番号 4 7）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 3 1 】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（ a ） T N V V A W Y（配列番号 4 1）のV L C D R 1；および／または

（ b ） L L I Y S A S Y R Y（配列番号 4 5）のV L C D R 2；および／または

（ c ） Q Q Y Y R T P R（配列番号 4 8）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 3 2 】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（ a ） Q D V T N V（配列番号 4 2）のV L C D R 1；および／または

（ b ） S A S（配列番号 4 4）のV L C D R 2；および／または

（ c ） Q Q Y Y R T P R T（配列番号 4 6）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【 0 0 3 3 】

特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、上記のV H C D Rのうちの1つ、2つ、または3つすべてを含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のV H C D R 1を含む。いくつかの実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のV H C D R 2を含む。特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のV H

C D R 3を含む。特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、抗体M 6のV H C D R 1、V H C D R 2、およびV H C D R 3（表1）を含む。特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、抗体M 1 9のV H C D R 1、V H C D R 2、およびV H C D R 3（表3）を含む。

【 0 0 3 4 】

特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、上記のV L C D Rのうちの1つ、2つ、または3つすべてを含む。特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のV L C D R 1を含む。いくつかの実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のV L C D R 2を含む。特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のV L C D R 3を含む。特定の実施形態では、抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、抗体M 6のV L C D R 1、V L C D R 2、およびV L C D R 3（表2

10

20

30

40

50

）を含む。特定の実施形態では、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、抗体M 19のVL CDR 1、VL CDR 2、およびVL CDR 3（表4）を含む。

【0035】

別の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- （a）NYGMN（配列番号1）のVH CDR 1；および／または
- （b）WINTYTGETTYADDFKG（配列番号6）のVH CDR 2；および／または
- （c）KSTVVSR YFDV（配列番号11）のVH CDR 3；および／または 10
- （d）KASQDVGD AVT（配列番号15）のVL CDR 1；および／または
- （e）WASTRHT（配列番号19）のVL CDR 2；および／または
- （f）QQYRSYPLT（配列番号22）のVL CDR 3。

【0036】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- （a）GYTFTNY（配列番号2）のVH CDR 1；および／または
- （b）（配列番号7）のVH CDR 2；および／または
- （c）STVVSR YFD（配列番号12）のVH CDR 3；および／または 20
- （d）SQDVGD AのVL（配列番号16）CDR 1；および／または
- （e）WAS（配列番号20）のVL CDR 2；および／または
- （f）YRSYPL（配列番号23）のVL CDR 3。

【0037】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- （a）GYTFTNYGMN（配列番号3）のVH CDR 1；および／または
- （b）WINTYTGETT（配列番号8）のVH CDR 2；および／または
- （c）KSTVVSR YFDV（配列番号11）のVH CDR 3；および／または 30
- （d）KASQDVGD AVT（配列番号15）のVL CDR 1；および／または
- （e）WASTRHT（配列番号19）のVL CDR 2；および／または
- （f）QQYRSYPLT（配列番号22）のVL CDR 3。

【0038】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- （a）TNYGMN（配列番号4）のVH CDR 1；および／または
- （b）WMGWINTYTGETT（配列番号9）のVH CDR 2；および／または
- （c）ARKSTVVSR YFD（配列番号13）のVH CDR 3；および／または 40
- （d）GD AVTWC（配列番号17）のVL CDR 1；および／または
- （e）LLIYWASTRH（配列番号21）のVL CDR 2；および／または
- （f）QQYRSYPL（配列番号24）のVL CDR 3。

【0039】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- （a）GYTFTNYG（配列番号5）のVH CDR 1；および／または
- （b）INTYTGETP（配列番号10）のVH CDR 2；および／または
- （c）ARKSTVVSR YFDV（配列番号14）のVH CDR 3；および／また 50

は

- (d) Q D V G D A (配列番号 18) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) W A S (配列番号 20) を含む V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 22) の V L C D R 3 。

【0040】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) G Y T F T N Y G M N (配列番号 3) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T Y T G E P T Y A D D F K G (配列番号 6) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) K S T V V S R Y F D V (配列番号 11) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) K A S Q D V G D A V T (配列番号 15) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) W A S T R H T (配列番号 19) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 22) の V L C D R 3 。

【0041】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) D Y S M H (配列番号 25) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G (配列番号 30) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) W F G A M D Y (配列番号 35) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) K A S Q D V T N V V A (配列番号 39) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) S A S Y R Y T (配列番号 43) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 46) の V L C D R 3 。

【0042】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) N Y T F T D Y (配列番号 26) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) T D T G (配列番号 31) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) F G A M D (配列番号 36) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) S Q D V T N V (配列番号 40) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) S A S (配列番号 44) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Y Y R T P R (配列番号 47) の V L C D R 3 。

【0043】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 27) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T D T G E P T (配列番号 32) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) W F G A M D Y (配列番号 35) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) K A S Q D V T N V V A (配列番号 39) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) S A S Y R Y T (配列番号 43) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 46) の V L C D R 3 。

【0044】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) T D Y S M H (配列番号 2 8) の V H C D R 1 ; および / または
(b) W V G W I N T D T G E P T (配列番号 3 3) の V H C D R 2 ; および / または
(c) A R W F G A M D (配列番号 3 7) の V H C D R 3 ; および / または
(d) T N V V A W Y (配列番号 4 1) の V L C D R 1 ; および / または
(e) L L I Y S A S Y R Y の (配列番号 4 5) V L C D R 2 ; および / または
(f) Q Q Y Y R T P R (配列番号 4 8) の V L C D R 3 。

【 0 0 4 5 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

10

- (a) N Y T F T D Y S (配列番号 2 9) の V H C D R 1 ; および / または
(b) I N T D T G E P (配列番号 3 4) の V H C D R 2 ; および / または
(c) A R W F G A M D Y (配列番号 3 8) の V H C D R 3 ; および / または
(d) Q D V T N V (配列番号 4 2) の V L C D R 1 ; および / または
(e) S A S (配列番号 4 4) の V L C D R 2 ; および / または
(f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 。

【 0 0 4 6 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

20

- (a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 2 7) の V H C D R 1 ; および / または
(b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G (配列番号 3 0) の V H C D R 2 ; および / または
(c) W F G A M D Y (配列番号 3 5) の V H C D R 3 ; および / または
(d) K A S Q D V T N V V A (配列番号 3 9) の V L C D R 1 ; および / または
(e) S A S Y R Y T (配列番号 4 3) の V L C D R 2 ; および / または
(f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 。

【 0 0 4 7 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域配列を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトとマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域配列を含む。

30

【 0 0 4 8 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域配列を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域配列を含む。

40

【 0 0 4 9 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、(b) 配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M

50

ＥＲＴＫの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を作動する抗体またはその断片は、（ａ）配列番号５１のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、（ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、を含む。

【００５０】

特定の実施形態では、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスＭＥＲＴＫの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体は、重鎖定常領域および／または軽鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、重鎖定常領域は、ＩｇＧ_１、ＩｇＧ_２、ＩｇＧ_３、ＩｇＧ_４、ＩｇＡ_１、およびＩｇＡ_２からなるヒト免疫グロブリンの群から選択される。特定の実施形態では、軽鎖定常領域は、ＩｇＧ およびＩｇＧ からなるヒト免疫グロブリンの群から選択される。いくつかの実施形態において、抗体は、１つまたは複数のヒトＦｃガンマ受容体に対する結合親和性が増加した定常領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、１つまたは複数のヒトＦｃガンマ受容体に対する結合親和性が低下した定常領域を含む。

【００５１】

別の実施形態では、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウス両方のＭＥＲＴＫ）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を作動する、抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載の抗体と同じＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトとマウスの両方のＭＥＲＴＫ）のエピトープに結合する抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片である。別の実施形態では、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウス両方のＭＥＲＴＫ）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を作動する抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片は、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスＭＥＲＴＫの両方）への結合について、本明細書に記載の抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片と競合する抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片である。別の特定の実施形態では、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスの両方のＭＥＲＴＫ）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を刺激する抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片は、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトとマウスの両方のＭＥＲＴＫ）への結合について、本明細書に記載の抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片と競合する第１の抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片であり、ここで、前記競合は、本明細書に記載の抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片の存在下での前記第１の抗ＭＥＲＴＫ抗体またはその抗原結合断片のＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスの両方のＭＥＲＴＫ）への結合の８０％超（例えば、８５％、９０％、９５％、９８％、または８０％～８５％、８０％～９０％、８５％～９０％、もしくは８５％～９５％）の低下として示される。

【００５２】

特定の実施形態では、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスの両方のＭＥＲＴＫ）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、マウス抗体またはキメラ抗体である。特定の実施形態において、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスの両方のＭＥＲＴＫ）に特異的に結合し、内皮細胞のＭＥＲＴＫシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体は、約３ｐＭ～約４００ｐＭの範囲のＫ_Dで、ＭＥＲＴＫ（例えば、ヒトＭＥＲＴＫ、またはヒトおよびマウスの両方のＭＥＲＴＫ）に結合する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は単離されている。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体はモノクローナル抗体である。

【００５３】

別の実施形態では、本明細書に記載される抗ＭＥＲＴＫ抗体の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域、または重鎖および／または軽鎖をコードする核酸分子が本明細書に記載される。特定の実施形態では、核酸分子は、配列番号５３または配列番号５５の核酸配列を含む重鎖可変領域をコードする。別の特定の実施形態では、核酸分子は、配列番号５

4 または配列番号 5 6 の核酸配列を含む軽鎖可変領域をコードする。特定の実施形態では、核酸分子は単離されている。

【0054】

特定の実施形態において、本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体の重鎖可変領域および / または軽鎖可変領域、または重鎖および / または軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含むベクター（例えば、単離されたベクター）が本明細書に記載される。特定の実施形態においては、上記ポリヌクレオチドまたはベクターを含む宿主細胞が本明細書に記載される。宿主細胞の例には、大腸菌、シュドモナス、バチルス、ストレプトミセス、酵母、C H O、Y B / 2 0、N S 0、P E R - C 6、H E K - 2 9 3 T、N I H - 3 T 3、H e L a、B H K、H e p G 2、S P 2 / 0、R 1 . 1、B - W、L - M、C O S 1、C O S 7、B S C 1、B S C 4 0、B M T 1 0 細胞、植物細胞、昆虫細胞、および組織培養中のヒト細胞がある。特定の実施形態においては、ポリヌクレオチドが発現され、抗体が産生されるように宿主細胞を培養することを含む、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方）に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片を製造する方法が本明細書に記載される。

10

【0055】

別の実施形態において、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書により提供される。医薬組成物は、癌の治療に使用されうる。

20

【0056】

特定の実施形態においては、対象に本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの有効量を投与することを含む、対象の癌を治療する方法が本明細書により提供される。別の実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、対象の癌を治療する方法が本明細書により提供される。特定の実施形態では、癌を治療する方法は、内皮細胞の遊走の阻害、血管新生の阻害、および / または腫瘍進行の阻害をもたらす。

【0057】

特定の実施形態では、本明細書により提供される方法によって治療される癌は、肺、乳房、骨、卵巣、胃、脾臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆道、結腸、直腸、子宮頸部、子宮の癌、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺または甲状腺の癌である。いくつかの実施形態において、治療される癌は、肉腫、扁平上皮癌、黒色腫、神経膠腫、膠芽腫、神経芽腫またはカボジ肉腫である。

30

【0058】

特定の実施形態では、本明細書で提供される方法により治療される癌は、乳癌である。特定の実施形態では、本明細書で提供される方法により治療される癌は、トリプルネガティブ乳癌である。

【0059】

特定の実施形態では、癌を治療する方法は、追加の治療薬を対象に投与することをさらに含む。本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたは本明細書に記載の医薬組成物と組み合わせて対象に投与することができる追加の治療薬の例は、以下のセクション 5 . 6 および 5 . 7 に記載されている。

40

【0060】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートと組み合わせて対象に投与される追加の治療薬は、乳癌の治療に使用される薬剤、黒色腫の治療に使用される薬剤、免疫療法、または血管新生阻害剤である。

【0061】

特定の実施形態において、追加の治療薬は、タモキシフェン、ラロキシフェン、パクリタキセル（タキソール（登録商標））、シクロホスファミド、ドセタキセル、ビンブラスチン、フルオロウラシル、エベロリムス、トラスツズマブ、トラスツズマブ - エムタンシン、ベルツズマブ、およびラパチニブジトリレートからなる群から選択される、乳癌の治

50

療に使用される薬剤である。

【0062】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、BRAF阻害薬、MEK阻害薬、およびダカルバジンからなる群から選択される黒色腫の治療に使用される薬剤である。

【0063】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、CTLA-4阻害剤、PD-1阻害剤、またはPD-L1阻害剤である抗体である。

【0064】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、VEGF阻害剤、VEGFR2阻害剤、スニチニブ、およびソラフェニブからなる群から選択される血管新生阻害剤である。

10

【0065】

特定の実施形態では、本明細書に記載の方法により治療される対象はヒトである。

【0066】

一形態では、(a)ヒトMerチロシンキナーゼ(MERTK)に特異的に結合し、内皮細胞のヒトMERTKシグナル伝達を作動する抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b)それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c)任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。

【0067】

前述の形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、マウスMERTKにさらに特異的に結合する。

20

【0068】

前述の形態/実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体はヒトMERTKの細胞外ドメインを特異的に認識し、当該細胞外ドメインは配列番号58のアミノ酸配列を含む。

【0069】

前述の形態/実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体は、ヒトMERTKへの結合についてGas-6と競合する。

【0070】

前述の形態/実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体はモノクローナル抗体である。

30

【0071】

前述の形態/実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体は、2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである。

【0072】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、重鎖のそれぞれは、配列番号1の相補性決定領域(CDR)1、配列番号：6のCDR2、および配列番号：11のCDR3を含む可変領域(VH)を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、軽鎖のそれぞれは、配列番号15の相補性決定領域(CDR)1、配列番号19のCDR2、および配列番号22のCDR3を含む可変領域(VL)を含む。

40

【0073】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、重鎖のそれぞれは可変領域(VH)を含み、当該VHは配列番号2のCDR1、配列番号7のCDR2、および配列番号12のCDR3を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、軽鎖のそれぞれは可変領域(VL)を含み、当該VLは配列番号16のCDR1、配列番号：20のCDR2、および配列番号：23のCDR3を含む。

【0074】

50

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号3のCDR1、配列番号8のCDR2、および配列番号11のCDR3を含む、そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号15の相補性決定領域（CDR）1、配列番号19のCDR2、および配列番号22のCDR3を含む。

【0075】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号4のCDR1、配列番号9のCDR2、および配列番号13のCDR3を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号17のCDR1、配列番号：21のCDR2、および配列番号：24のCDR3を含む。

10

【0076】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号5のCDR1、配列番号10のCDR2および配列番号14のCDR3を含む。このような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号18のCDR1、配列番号20のCDR2、および配列番号22のCDR3を含む。

20

【0077】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号3のCDR1、配列番号6のCDR2、および配列番号11のCDR3を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号15の相補性決定領域（CDR）1、配列番号19のCDR2、および配列番号22のCDR3を含む。

【0078】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、重鎖のそれぞれは可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号25のCDR1、配列番号30のCDR2、および配列番号35のCDR3を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号39のCDR1、配列番号43のCDR2、および配列番号46のCDR3を含む。

30

【0079】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号26のCDR1、配列番号31のCDR2、および配列番号36のCDR3を含む。このような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号40のCDR1、配列番号：44のCDR2、および配列番号：47のCDR3を含む。

40

【0080】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号27のCDR1、配列番号32のCDR2、および配列番号35のCDR3を含む、そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域（VL）を含み、当該VLは配列番号39のCDR1、配列番号43のCDR2、および配列番号46のCDR3を含む。

【0081】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域（VH）を含み、当該VHは配列番号28のC

50

D R 1、配列番号 3 3 の C D R 2、および配列番号 3 7 の C D R 3 を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 4 1 の C D R 1、配列番号 4 5 の C D R 2、および配列番号 4 8 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 2 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域 (V H) を含み、当該 V H は配列番号 2 9 の C D R 1、配列番号 3 4 の C D R 2、および配列番号 3 8 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 3 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各重鎖は可変領域 (V H) を含み、当該 V H は配列番号 2 7 の C D R 1、配列番号 3 0 の C D R 2、および配列番号 3 5 の C D R 3 を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 3 9 の C D R 1、配列番号 4 3 の C D R 2、および配列番号 4 6 の C D R 3 を含む。そのような特定の実施形態の別のさらなる実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 4 2 の C D R 1、配列番号 4 4 の C D R 2、および配列番号 4 6 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 4 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 1 5 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号： 1 9 の C D R 2、および配列番号： 2 2 の C D R 3 を含む可変領域 (V L) を含む。

【 0 0 8 5 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 1 6 の C D R 1、配列番号 2 0 の C D R 2、および配列番号 2 3 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 6 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 1 7 の C D R 1、配列番号 2 1 の C D R 2、および配列番号 2 4 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 7 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、V L は配列番号 1 8 の C D R 1、配列番号 2 0 の C D R 2、および配列番号 2 2 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 8 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 3 9 の C D R 1、配列番号 4 3 の C D R 2、および配列番号 4 6 の C D R 3 を含む。

【 0 0 8 9 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 4 0 の C D R 1、配列番号 4 4 の C D R 2、および配列番号 4 7 の C D R 3 を含む。

【 0 0 9 0 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 4 1 の C D R 1、配列番号 4 5 の C D R 2、および配列番号 4 8 の C D R 3 を含む。

【 0 0 9 1 】

抗体が 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、各軽鎖は可変領域 (V L) を含み、当該 V L は配列番号 4 2 の C D R 1、配列番号 4 4 の C D R 2、および配列番号 4 6 の C D R 3 を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 2 】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、重鎖は可変領域 (V H) を含み、これは配列番号 4 9 を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、軽鎖は配列番号 5 0 を含む可変領域 (V L) を含む。

【 0 0 9 3 】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、軽鎖は配列番号 5 0 を含む可変領域 (V L) を含む。

【 0 0 9 4 】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、重鎖は配列番号 5 1 を含む可変領域 (V H) を含む。そのような実施形態のさらなる一実施形態では、軽鎖は配列番号 5 2 を含む可変領域 (V L) を含む。

10

【 0 0 9 5 】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである実施形態の特定の実施形態では、軽鎖は配列番号 5 2 を含む可変領域 (V L) を含む。

【 0 0 9 6 】

抗体が2つの同一の軽鎖および2つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンである、先行する実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト由来定常領域を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、重鎖定常領域は、ガンマ 1、ガンマ 2、ガンマ 3、およびガンマ 4 からなる群から選択されるアイソタイプを有する。

20

【 0 0 9 7 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片はヒト化されている。

【 0 0 9 8 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体は、約 3 p M ~ 約 4 0 0 p M の範囲の解離定数 K_D でヒト M E R T K に結合する。

【 0 0 9 9 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体は、約 3 p M ~ 4 0 0 p M の範囲の K_D でマウス M E R T K に結合する。

30

【 0 1 0 0 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、乳癌細胞の存在下、インビトロで内皮細胞の遊走を阻害し、前記遊走はコントロール抗体で処理された内皮細胞と比較して 3 0 % 超阻害される。

【 0 1 0 1 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、インビトロでヒト血管内皮細胞の M E R T K のリン酸化を促進する。

【 0 1 0 2 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、インビトロで癌細胞上の M E R T K のリン酸化を促進しない。

40

【 0 1 0 3 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、インビボで腫瘍血管新生を阻害する。

【 0 1 0 4 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、内皮細胞の非存在下、インビトロでのトランスウェル遊走アッセイにおいて多形膠芽腫細胞株 A 1 7 2 の遊走を阻害しない。

【 0 1 0 5 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、

50

多形性膠芽腫細胞株 A 1 7 2 上の M E R T K の発現レベルを低下させない。

【 0 1 0 6 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 1 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 6 の C D R 2、および配列番号 1 1 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 1 5 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 1 9 の C D R 2、および配列番号 2 2 の C D R 3 を含む。

10

【 0 1 0 7 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 2 の C D R 1、配列番号 7 の C D R 2、および配列番号 1 2 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 1 6 の C D R 1、配列番号 2 0 の C D R 2、および配列番号 2 3 の C D R 3 を含む。

20

【 0 1 0 8 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 3 の C D R 1、配列番号 8 の C D R 2、および配列番号 1 1 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 1 5 の相補性決定領域 (C D R) 1、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む C D R 2、および配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む。

30

【 0 1 0 9 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 4 の C D R 1、配列番号 9 の C D R 2、および配列番号 1 3 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 1 7 の C D R 1、配列番号 2 1 の C D R 2、および配列番号 2 4 の C D R 3 を含む。

40

【 0 1 1 0 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 5 の C D R 1、配列番号 1 0 の C D R 2、および配列番号 1 4 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 1 8 の C D R 1、配列番号 2 0 の C D R 2、および配列番号 2 2 の C D R

50

3を含む。

【0111】

別の形態では、(a) ヒトMER TKに特異的に結合し、配列番号3のCDR1、配列番号6のCDR2、および配列番号11のCDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域(VL)をさらに含み、当該VLは配列番号15の相補性決定領域(CDR)1、配列番号19のアミノ酸配列を含むCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含むCDR3を含む。

10

【0112】

別の形態では、(a) ヒトMER TKに特異的に結合し、配列番号25のCDR1、配列番号30のCDR2、および配列番号35のCDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域(VL)をさらに含み、当該VLは配列番号39のCDR1、配列番号43のCDR2、および配列番号46のCDR3を含む。

20

【0113】

別の形態では、(a) ヒトMER TKに特異的に結合し、配列番号26のCDR1、配列番号31のCDR2、および配列番号36のCDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域(VL)をさらに含み、当該VLは配列番号40のCDR1、配列番号44のCDR2、および配列番号47のCDR3を含む。

30

【0114】

別の形態では、(a) ヒトMER TKに特異的に結合し、配列番号27のCDR1、配列番号32のCDR2、および配列番号35のCDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域(VL)をさらに含み、当該VLは配列番号39のCDR1、配列番号43のCDR2、および配列番号46のCDR3を含む。

40

【0115】

別の形態では、(a) ヒトMER TKに特異的に結合し、配列番号28のCDR1、配列番号33のCDR2、および配列番号37のCDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域(VL)をさらに含み、当該VLは配列番号41のCDR1、配列番号45のCDR2、および配列番号48のCD

50

R 3 を含む。

【 0 1 1 6 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 2 9 の C D R 1、配列番号 3 4 の C D R 2、および配列番号 3 8 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。

【 0 1 1 7 】

別の形態では、(a) ヒト M E R T K に特異的に結合し、配列番号 2 7 の C D R 1、配列番号 3 0 の C D R 2、および配列番号 3 5 の C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) を含む抗体またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。そのような形態の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 3 9 の C D R 1、配列番号 4 3 の C D R 2、および配列番号：4 6 の C D R 3 を含む。そのような形態の別の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は軽鎖可変領域 (V L) をさらに含み、当該 V L は配列番号 4 2 の C D R 1、配列番号 4 4 の C D R 2、および配列番号：4 6 の C D R 3 を含む。

【 0 1 1 8 】

前述の形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体は免疫グロブリンであり、抗原結合断片は免疫グロブリンの一部である。

【 0 1 1 9 】

前述の形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は免疫グロブリンである。

【 0 1 2 0 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片はヒト化されている。

【 0 1 2 1 】

前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト由来定常領域を含む。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト化免疫グロブリンである。

【 0 1 2 2 】

抗体がモノクローナル抗体または 2 つの同一の軽鎖および 2 つの同一の重鎖を含む免疫グロブリンではない、前述の形態 / 実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は二重特異性抗体である。

【 0 1 2 3 】

別の形態では、(A) ヒト M E R T K に特異的に結合する免疫グロブリンである抗体部分と、(B) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(C) 任意のリンカーと、を含み、前記免疫グロブリンは、(i) 配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および (i i) 配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。

【 0 1 2 4 】

別の形態では、(A) ヒト M E R T K に特異的に結合する免疫グロブリンである抗体部分と、(B) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(C) 任意のリンカーと、を含み、前記免疫グロブリンは、(i) 配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および (i i) 配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して

前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。

【0125】

別の態様では、(I) ヒトMERTKに特異的に結合する免疫グロブリンである抗体部分と、(II) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(III) 任意のリンカーと、を含み、前記免疫グロブリンは、(A) (i) 配列番号51のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および(ii) 配列番号52のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または、(B) (i) 配列番号49のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および(ii) 配列番号50のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。

10

【0126】

別の形態では、(I) (a) (i) 配列番号51のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および(ii) 配列番号52のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む第1の免疫グロブリン；並びに、(b) (i) 配列番号49のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および(ii) 配列番号50のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む第2の免疫グロブリン；からなる群から選択される参照抗体とMERTKへの結合について競合する抗体である抗体部分と、(II) それぞれが細胞毒性剤である1つまたは複数の薬物部分と、(III) 任意のリンカーと、を含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが本明細書により提供される。

20

【0127】

前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体部分の薬物部分に対するモル比が1:1~1:8である。

【0128】

前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体部分の薬物部分に対するモル比が1:3~1:5である。

【0129】

前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートはリンカーを含み、当該リンカーは切断可能なリンカーである。

【0130】

前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートはリンカーを含み、当該リンカーは切断不能なリンカーである。

30

【0131】

前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、細胞毒性剤は小分子、ヌクレオチド、ペプチド、または非抗体タンパク質である。このような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、細胞毒性剤は小分子である。

【0132】

前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、細胞毒性剤は、アウリスタチン、メイタンシノイド、ピロロベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン、カリケアマイシン、カンプトテシン類似体、デュオカルマイシン、チューブリン阻害剤、チューブリンまたはチューブリン類似体、アンベルスタチン269、ドキシソルピシン、抗生物質、アントラサイクリン、微小管阻害剤、スプライセオスタチン、またはタイランスタチンである。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、細胞毒性剤は、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)またはモノメチルアウリスタチンF(MMAF)である。そのような特定の実施形態の別のさらなる実施形態では、細胞毒性剤はDM1またはDM4である。

40

【0133】

別の形態では、リンカーが存在しない上述の形態／実施形態のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲートを製造する方法が本明細書により提供され、この方法は、(a) 前記細胞毒性剤を前記抗体部分に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造し、(b) 前

50

記抗体薬物コンジュゲートを精製することを含む。

【0134】

別の形態では、リンカーを含む、上述の形態／実施形態のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法が本明細書により提供され、この方法は、(a)前記リンカーを前記抗体部分に直接共役させて、リンカー抗体部分を製造することと、(b)前記リンカー抗体部分の前記リンカーを前記細胞毒性剤に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造することと、(c)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと、をこの順に含む。

【0135】

別の形態では、リンカーを含む、上述の形態／実施形態のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法が本明細書により提供され、この方法は、(a)前記リンカーを前記細胞毒性剤に直接共役させて、リンカー細胞毒性剤部分を製造することと、(b)前記リンカー細胞毒性剤部分の前記リンカーを前記抗体部分に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造することと、(c)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと、をこの順に含む。

10

【0136】

別の形態では、前述の形態／実施形態のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲートの治療有効量、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書により提供される。

【0137】

別の形態では、前述の形態に記載の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、前記対象における癌の治療方法が本明細書により提供される。

20

【0138】

癌を治療する方法の前述の形態の特定の実施形態では、癌は肺、乳房、骨、卵巣、胃、脾臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆道、結腸、直腸、子宮頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺または甲状腺の癌である。そのような特定の実施形態の特定の実施形態では、癌は乳癌である。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、癌はトリプルネガティブ乳癌である。

【0139】

癌を治療する方法の前述の形態の特定の実施形態では、癌は肉腫、扁平上皮癌、黒色腫、神経膠腫、神経膠芽腫、神経芽腫またはカボジ肉腫である。

30

【0140】

癌を治療する方法の前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、上記方法は、追加の治療薬を対象に投与することをさらに含む。

【0141】

上記方法が追加の治療薬を対象に投与することをさらに含む実施形態の特定の実施形態では、追加の治療薬は上記癌を治療するためのものである。

【0142】

追加の治療薬が前記癌を治療するためのものである実施形態の特定の実施形態では、当該追加の治療薬は、乳癌の治療に使用される薬剤、黒色腫の治療に使用される薬剤、免疫療法、または血管新生阻害剤である。そのような特定の実施形態のさらなる一実施形態では、追加の治療薬は、タモキシフェン、ラロキシフェン、パクリタキセル、シクロホスファミド、ドセタキセル、ビンブラスチン、フルオロウラシル、エベロリムス、トラスツズマブ、トラスツズマブ-エムタンシン、ペルツズマブ、およびラパチニブジトシレートからなる群から選択される、乳癌を治療するのに使用される薬剤である。そのような特定の実施形態の別のさらなる実施形態では、追加の治療薬は、BRAF阻害剤、MEK阻害剤、およびダカルバジンからなる群から選択される、黒色腫を治療するのに使用される薬剤である。そのような特定の実施形態の別のさらなる実施形態では、追加の治療薬は、CTLA-4阻害剤、PD-1阻害剤、またはPD-L1阻害剤である抗体である。そのような特定の実施形態の別のさらなる実施形態では、追加の治療薬は、VEGF阻害剤、VE

40

50

GFR2阻害剤、スニチニブ、およびソラフェニブからなる群から選択される血管新生阻害剤である。

【0143】

癌を治療する方法の前述の形態／実施形態のいずれかの特定の実施形態では、対象はヒトである。

【0144】

4．図面の簡単な説明

【図面の簡単な説明】

【0145】

【図1】図1Aおよび1B：MERTKの配列。A)抗体産生のためにマウスを免疫するのに使用される組換えMERTKペプチドの概略図。このペプチドは、MERTKの細胞外ドメイン(図1Bを参照)、短鎖連結ペプチド(IEGRMD)、およびヒトIgG₁の一部で構成されている。B)図1Aに記載の組換えMERTKペプチドで使用されるMERTKの部分を示す完全長ヒトMERTKの配列(配列番号57)(太字および下線付き配列；配列番号58)。

10

【図2】図2：MERTKモノクローナル抗体スクリーン。単一のハイブリドーマクローンから回収されたMERTK結合モノクローナル抗体の結合特性を特徴付けるのに使用される抗体捕獲ELISAアッセイからのデータを示す図。抗体クローンは、第1列でM1からM20まで任意に名付けられている。MERTK結合モノクローナル抗体のいくつかは、第2列の大きな(>3.5)OD値で示されるように、MERTKに対して高い親和性結合を示した。これらの抗体の一部は、第3列の低い(<2.5)ブロッキングOD値で示されるように、MERTKのGas-6への結合も中和した。

20

【図3】図3：MERTK結合抗体M19およびM6は内皮動員を阻害する。生理学的濃度のモノクローナル抗体M6またはM19のいずれかが、転移性乳癌細胞による内皮動員を有意に阻害できることを示す図。2.5×10⁴個のMDA-MB-231細胞を4重に播種した。5×10⁴個のHUVEC細胞の癌細胞へのトランスウェル遊走を、200ng/mLのコントロール抗体(IgG)またはスクリーニングから分離されたMERTK結合抗体の存在下で評価した。トランスウェルインサートを介して移動した細胞の画像を取得し、ImageJソフトウェアを使用して細胞をカウントした。N=4。内皮細胞の動員を著しく阻害するモノクローナル抗体(M6およびM19)は、それぞれ赤色および緑色で標識されている。エラーバーは平均の標準誤差を表す。

30

【図4】図4A、4Bおよび4C：MERTK結合抗体M19は内皮細胞上のMERTKを活性化する。A)HUVEC細胞を、FBSなし+M19なし、10%FBS+M19なし、10%FBS+25μg/mLのM19、またはFBSなし+25μg/mLのM19のいずれかで16時間処理し、活性化(リン酸化)されたMERTK(P-MERTK)およびMERTKとAKTとの合計レベルについてのウエスタンブロット分析を行った。示されているように、M19抗体による処理は、活性化されたMERTKのレベルを増加させた。B)M19抗体処理によるMERTK活性化の定量であり、図4Aのウエスタンブロットのデータに基づき、M19処理および未処理のHUVEC細胞から分離されたP-MERTKのMERTKに対するタンパク質発現レベルの比として算出した。C)HUVEC細胞については、P-MERTKのウエスタンブロット分析の前に、30分間、示されているようにM19抗体の濃度を増加させて処理した。M19治療の用量を増やすと、MERTKの活性化が増加することに注目すべきである。

40

【図5】図5Aおよび5B：MERTK結合抗体M6は内皮細胞上のMERTKを活性化する。A)HUVEC細胞を、活性化(リン酸化)MERTK(P-MERTK)およびMERTKの合計レベルのウエスタンブロット分析の16時間前に、FBSなし+M6なし、10%FBS+M6なし、10%FBS+25μg/mLのM6、またはFBSなし+25μg/mLのM6のいずれかで処理した。示されているように、M6抗体による処理は、活性化されたMERTKのレベルを増加させた。B)M6抗体処理によるMERTK活性化の定量であり、図5Aのウエスタンブロットデータに基づき、M6処理および未

50

処理 H U V E C 細胞から分離された P - M E R T K の M E R T K に対するタンパク質発現レベルの比として算出した。

【図 6】図 6 : M E R T K 結合抗体 M 1 9 は癌細胞上の M E R T K を活性化しない。L M 2 乳癌細胞を、F B S なし + M 1 9 抗体なし、10 % F B S + M 1 9 抗体なし、10 % F B S + 25 μ g / mL の M 1 9 抗体、または F B S なし + 25 μ g / mL の M 1 9 抗体のいずれかで 16 時間処理した後、活性化された M E R T K (P - M E R T K) および M E R T K の合計レベルについてのウエスタンブロット分析を行った。示されているように、M 1 9 抗体で処理した癌細胞では検出可能なレベルの P - M E R T K は誘導されなかった。

【図 7】図 7 : M 1 9 は高い親和性でヒト M E R T K に結合する。バイオレイヤー干渉法を使用した、ヒト M E R T K (h M e r) に対する M 1 9 の抗体結合動態 (M e r - M 1 9) を示す図。精製された M 1 9 を A M Q センサーに 1 μ g / mL の濃度でロードし、溶液中の検体に対する結合を試験した。すべての検体は、5 n M から合計 7 濃度の 2 倍希釈系列で調製した。動的フィットは、1 : 1 モデルを使用して計算し、各濃度についてのローカルフィットおよび全体的なグローバルフィットを行った。全体的なグローバルフィットにより計算されたヒト M E R T K への M 1 9 の結合の結合親和性 (K_D) は、326 ピコモルであった。

【図 8】図 8 : M 1 9 はマウス M E R T K に高い親和性で結合する。バイオレイヤー干渉法を使用した、マウス M E R T K (m s M e r) に対する M 1 9 の抗体結合動態 (M e r - M 1 9) を示す図。精製された M 1 9 を A M Q センサーに 1 μ g / mL の濃度でロードし、溶液中の検体に対する結合を試験した。すべての検体は、5 n M から合計 7 濃度の 2 倍希釈系列で調製した。動的フィットは、1 : 1 モデルを使用して計算し、各濃度についてのローカルフィットおよび全体的なグローバルフィットを行った。全体的に計算されたマウス M E R T K への M 1 9 結合のグローバルフィット結合親和性 (K_D) は、305 ピコモルであった。

【図 9】図 9 A および 9 B : M 1 9 による処置は、インビボでのトリプルネガティブ乳癌の原発腫瘍の増殖および転移を阻害する。A) 250 μ g のコントロール抗体 (I g G) または M 1 9 抗体のいずれかで隔週処置したマウスにおける 2000 M D A - M B - 231 または 5000 L m 1 a 1 乳癌細胞の乳腺脂肪体での腫瘍成長である。B) 250 μ g のコントロール抗体 (I g G) または M 1 9 抗体のいずれかで隔週処置したマウスにおける乳腺脂肪体に、L m 1 a 1 乳癌細胞を両側注射した。98 日後、肺を摘出し、H & E 染色のために処理し、転移性結節の数を数えた。N = 4。エラーバーは平均の標準誤差を表す。スチューデントの T 検定を使用して P 値を取得した (* p < 0.05)。

【図 10】図 10 : M 1 9 による処置は、インビボでの血管新生を阻害する。250 μ g のコントロール抗体 (I g G) または M 1 9 抗体で週に 2 回処置した、58 日間成長した乳腺の脂肪体における異種移植腫瘍を、D A P I および C D 31 で二重染色した。閾値 C D 31 シグナルを使用して、血管密度を定量化した。N = 4。エラーバーは平均の標準誤差を表す。スチューデントの T 検定を使用して P 値を取得した (* p < 0.05)。

【図 11】図 11 : M 6 は高い親和性で M E R T K に結合する。M 6 は、高い親和性でヒト M E R T K に結合する。バイオレイヤー干渉法を使用した、ヒト M E R T K (h M e r) に対する M 6 の抗体結合動態 (M e r - M 6) を示す図。精製された M 6 を A M Q センサーに 1 μ g / mL の濃度でロードし、溶液中の検体に対する結合を試験した。すべての検体は、5 n M から合計 7 濃度の 2 倍希釈系列で調製した。動的フィットは、1 : 1 モデルを使用して計算し、各濃度についてのローカルフィットおよび全体的なグローバルフィットを行った。全体的に計算された M 6 のヒト M E R T K への結合についての結合親和性 (K_D) は、4.6 ピコモルであった。

【図 12】図 12 : M 6 による処置は、インビボでのトリプルネガティブ乳癌の原発腫瘍成長を阻害する。250 μ g のコントロール抗体または M 6 抗体のいずれかで、隔週、21 日間処置したマウスにおける 2000 M D A - M B - 231 による乳腺の脂肪体での腫瘍成長である。N = 4。エラーバーは平均の標準誤差を表す。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0146】

5. 詳細な説明

本明細書によれば、(a) M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の双方) に特異的に結合し、内皮細胞のヒト M E R T K シグナル伝達を作用する抗 M E R T K 抗体 (例えば、モノクローナル抗体) またはその抗原結合断片である抗体部分と、(b) それぞれが細胞毒性剤である 1 つまたは複数の薬物部分と、(c) 任意のリンカーを含み、前記細胞毒性剤は、前記抗体部分に直接共役されているか、または、前記リンカーを介して前記抗体部分に共役されている、抗体薬物コンジュゲートが提供される。本開示で使用される「共役」という用語は、共有結合により結合していることを意味するものとし、これは直接または介在する共有結合構造を介して行うことができる。

10

【0147】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体 - 薬物コンジュゲートは、1 : 1 ~ 1 : 20 の薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 1 ~ 1 : 15 の薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 1 ~ 1 : 12 の薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 1 ~ 1 : 8 の薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。好ましい実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 3 ~ 1 : 5 の薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 3 である薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。別の特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 4 である薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。別の特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、1 : 5 である薬物部分に対する抗体部分のモル比を有する。

20

【0148】

薬物部分は、抗体部分の 1 つまたは複数の鎖に結合する。いくつかの実施形態において、薬物部分は、抗体部分の 1 つの鎖に結合する (例えば、抗体部分が s c F v である場合、または抗体部分が免疫グロブリン (四量体である) などの多鎖抗体もしくはその抗原結合断片である場合)。他の実施形態では、薬物部分は、抗体部分の 2 つ以上の鎖に結合する (抗体部分が免疫グロブリンなどの多鎖抗体またはその抗原結合断片である場合)。特定の実施形態では、薬物部分は、免疫グロブリンの 2 つの同一の鎖、例えば重鎖または軽鎖に結合している。他の実施形態では、薬物部分は、抗体部分のすべての鎖に結合している (抗体部分が免疫グロブリンなどの多鎖抗体またはその抗原結合断片である場合)。

30

【0149】

特定の実施形態では、薬物部分は、抗体の定常領域の 1 つまたは複数の部位に結合している。特定の実施形態では、薬物部分は、免疫グロブリンである抗体の F c 領域に結合している。

【0150】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) の細胞外ドメインを特異的に認識する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、ジャーカット細胞で発現される 185 キロダルトン (k D) の M E R T K グリコフォーム、単球細胞系 U 9 3 7 における 205 k D の M E R T K グリコフォーム、ヒト白血病細胞 (例えば、ヒト T 細胞急性リンパ芽球性白血病) で発現される 135 ~ 140 k D の M E R T K グリコフォーム、およびヒト白血病細胞 (例えば、ヒト T 細胞急性リンパ芽球性白血病) で発現される 170 ~ 190 k D の M E R T K グリコフォームに結合しない。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、癌細胞上の M E R T K の発現レベルを低下させない。特定の

40

50

実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、多形膠芽腫細胞株A 1 7 2上のMER TKの発現レベルを低下させない。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は単離されている。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号57のアミノ酸配列を含むヒトMER TKタンパク質に特異的に結合する。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号58のアミノ酸配列を含むヒトMER TKの細胞外領域に特異的に結合する。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号58に特異的に結合する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、MER TKに結合する2つの抗原結合部位を含む。特定の実施形態では、2つの抗原結合部位はMER TK上の同じエピトープに結合する。特定の実施形態では、2つの抗原結合部位は同一のCDRを含む。

10

【0151】

抗体としては、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え産生抗体、単一特異性抗体、多重特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、免疫グロブリン、合成抗体、2つの重鎖分子および2つの軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖モノマー、抗体重鎖モノマー、抗体軽鎖ダイマー、抗体重鎖ダイマー、抗体軽鎖-抗体重鎖ペア、イントラボディ、ヘテロコンジュゲート抗体、単一ドメイン抗体、一価抗体、単鎖抗体または単鎖Fv（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、および抗イデオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗抗Id抗体を含む）が挙げられる。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体はポリクローナル抗体である。好ましい実施形態では、本明細書に記載の抗体はモノクローナル抗体である。抗体は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAまたはIgY）、任意のクラス（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁またはIgA₂）、または任意のサブクラス（例えば、IgG_{2a}またはIgG_{2b}）でありうる。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、IgG抗体、またはそのクラスもしくはサブクラスである。特定の実施形態では、抗体はヒト化モノクローナル抗体である。別の特定の実施形態では、抗体はヒトモノクローナル抗体であり、好ましくは免疫グロブリンである。

20

【0152】

本明細書で使用する用語「抗原結合断片」、「抗原結合領域」、および同様の用語は、抗体分子に抗原に対する特異性を付与するアミノ酸残基を含む抗体分子の一部を指す（例えば、相補性決定領域（CDR））。抗原結合領域は、例えば、げっ歯類（例えば、マウス、ラットまたはハムスター）およびヒトなどの任意の動物種に由来することができる。例として、抗原結合断片には、Fab断片、F（ab'）₂断片、および上記の抗体のいずれかの抗原結合断片が含まれる。

30

【0153】

本明細書で使用される場合、「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は互換的に使用され、当技術分野で一般的である。可変領域は通常、抗体の一部、一般的には抗体間で配列が大きく異なり、特定の抗原に対する特定の抗体の結合および特異性に使用される軽鎖または重鎖の一部を指す。配列の可変性は、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる領域に集中しているが、可変ドメインのより高度に保存された領域はフレームワーク領域（FR）と呼ばれる。特定のメカニズムまたは理論に拘束されることを望まないが、軽鎖および重鎖のCDRが抗体と抗原との相互作用および特異性に主に関与すると考えられている。特定の実施形態では、可変領域はヒト可変領域である。特定の実施形態では、可変領域は、げっ歯類またはマウスのCDRおよびヒトフレームワーク領域（FR）を含む。特定の実施形態では、可変領域は霊長類（例えば、非ヒト霊長類）の可変領域である。特定の実施形態では、可変領域は、げっ歯類またはマウスのCDRおよび霊長類（例えば、非ヒト霊長類）のフレームワーク領域（FR）を含む。

40

【0154】

50

CDRは、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、および Exemplary の定義を含む、当技術分野におけるさまざまな方法で定義される。Kabat の定義は配列の変異性に基づいており、CDR 領域を予測するために最も一般的に使用される定義である (Kabat, Elvin A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest. Bethesda: National Institutes of Health, 1983)。Chothia の定義は、構造ループ領域の位置に基づいている (Chothia et al., (1987) J Mol Biol 196:901-917)。Kabat の定義と Chothia の定義との妥協案である AbM の定義は、Oxford Molecular Group (bioinf.org.uk/abs) によって作成された抗体構造モデリングのためのプログラムの統合パッケージである (Martin AC R et al., (1989) PNAS 86:9268-9272)。Contact の定義は、利用可能な複雑な結晶構造の分析に基づいている (bioinf.org.uk/abs) (MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 5:732-745 を参照)。IMGT の定義は IMGT からのもので (「IMGT (登録商標)、国際 Immunogenetics 情報システム (登録商標) Web サイト imgt.org、創設者およびディレクター: Marie-Paule Lefranc、モンペリエ、フランス)。Exemplary の定義は AbM と Kabat との組み合わせである (Presta et al., (1997) Cancer Res 57:4593-4599)。

10

20

【0155】

本明細書には、上記のような抗 MERTK 抗体およびその抗原結合断片をコードする相補的 DNA (cDNA) などの単離された核酸 (ポリヌクレオチド) も記載されている。細胞毒性剤がペプチドもしくはタンパク質である場合、または細胞毒性剤およびリンカー (存在する場合) がペプチドまたはタンパク質である場合、抗体薬物コンジュゲートをコードする核酸も提供される。本明細書にさらに記載されるのは、そのような抗 MERTK 抗体もしくはその抗原結合断片または抗体薬物コンジュゲートをコードする核酸 (ポリヌクレオチド) を含むベクター (例えば、発現ベクター) および細胞 (例えば、宿主細胞) である。本明細書には、そのような抗体または抗体薬物コンジュゲートを製造する方法も記載されている。

30

【0156】

他の形態では、本明細書によれば、(i) 抗 MERTK 抗体またはその抗原結合断片、および (ii) 抗 MERTK 抗体もしくはその抗原結合断片に直接結合しているか、または、リンカーを介して抗 MERTK 抗体もしくはその抗原結合断片に結合している細胞毒性剤を含む抗体薬物コンジュゲートの製造方法が提供される。

【0157】

他の形態では、本明細書によれば、(i) 抗 MERTK 抗体またはその抗原結合断片、および (ii) 抗 MERTK 抗体もしくはその抗原結合断片に直接結合しているか、または、リンカーを介して抗 MERTK 抗体もしくはその抗原結合断片に結合している細胞毒性剤を含む抗体薬物コンジュゲートの有効量を対象に投与することを含む、対象における癌の治療方法が提供される。関連する組成物 (例えば、医薬組成物) およびキットも提供される。

40

【0158】

5.1 抗体部分

本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートの抗体部分であり得る非限定的かつ例示的な抗 MERTK 抗体またはその抗原結合断片を、以下に提示する。

【0159】

5.1.1 配列およびバリエーション

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 MERTK 抗体またはその抗原結合断片は、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、または Exemplary

50

aryにより定義される、表1または表3の抗体のVH CDR1を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、またはExemplaryにより定義される、表1または表3の抗体のVH CDR2を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、またはExemplaryにより定義される、表1または表3の抗体のVH CDR3を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3の抗体のVH CDRのうちの1つ、2つ、または3つすべて（例えば、表1の第1行のVH CDR、抗体M6のKabat VH CDRのすべて）を含む。

10

【0160】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、またはExemplaryにより定義される、表2または表4の抗体のVL CDR1を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、またはExemplaryにより定義される、表2または表4の抗体のVL CDR2を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、Kabat、Chothia、AbM、Contact、IMGT、またはExemplaryにより定義される、表2または表4の抗体のVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4の抗体のVL CDRのうちの1つ、2つ、または3つすべて（例えば、表1の第1行のVH CDR、抗体M6のすべてのKabat VH CDR）を含む。

20

【0161】

【表1】

表1. 抗体M6 VH CDRアミノ酸配列

定義	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
Kabat	NYGMN (配列番号1)	WINTYTGEPTYADD FKG (配列番号6)	KSTVVSRYFDV (配列番号11)
Chothia	GYTFTNY (配列番号2)	TYTG (配列番号7)	STVVSRYFD (配列番号12)
AbM	GYTFTNYGMN (配列番号3)	WINTYTGEPT (配列番号8)	KSTVVSRYFDV (配列番号11)
Contact	TNYGMN (配列番号4)	WMGWINTYTGEPT (配列番号9)	ARKSTVVSRYFD (配列番号13)
IMGT	GYTFTNYG (配列番号5)	INTYTGEP (配列番号10)	ARKSTVVSRYFD V (配列番号14)
Exemplary	GYTFTNYGMN (配列番号3)	WINTYTGEPTYADD FKG (配列番号6)	KSTVVSRYFDV (配列番号11)

30

40

【0162】

【表 2】

表2. 抗体M6 VL CDRアミノ酸配列

定義	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	KASQDVGDAVT (配列番号15)	WASTRHT (配列番号19)	QQYRSYPLT (配列番号22)
Chothia	SQDVGDA (配列番号16)	WAS (配列番号20)	YRSYPL (配列番号23)
AbM	KASQDVGDAVT (配列番号15)	WASTRHT (配列番号19)	QQYRSYPLT (配列番号22)
Contact	GDAVTWC (配列番号17)	LLIYWASTRH (配列番号21)	QQYRSYPL (配列番号24)
IMGT	QDVGDA (配列番号18)	WAS (配列番号20)	QQYRSYPLT (配列番号22)
Exemplary	KASQDVGDAVT (配列番号15)	WASTRHT (配列番号19)	QQYRSYPLT (配列番号22)

10

【 0 1 6 3 】

20

【表 3】

表3. 抗体M19 VH CDRアミノ酸配列

定義	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
Kabat	DYSMH (配列番号25)	WINTDTGEPTYADD FKG (配列番号30)	WFGAMDY (配列番号:35)
Chothia	NYTFTDY (配列番号26)	TDTG (配列番号31)	FGAMD (配列番号36)
AbM	NYTFTDYSMH (配列番号27)	WINTDTGEPT (配列番号32)	WFGAMDY (配列番号:35)
Contact	TDYSMH (配列番号28)	WVGWINTDTGEPT (配列番号33)	ARWFGAMD (配列番号37)
IMGT	NYTFTDYS (配列番号29)	INTDTGEP (配列番号34)	ARWFGAMDY (配列番号38)
Exemplary	NYTFTDYSMH (配列番号27)	WINTDTGEPTYADD FKG (配列番号30)	WFGAMDY (配列番号:35)

30

40

【 0 1 6 4 】

【表 4】

表4. 抗体M19 VL CDRアミノ酸配列

定義	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	KASQDVTNVVA (配列番号39)	SASYRYT (配列番号43)	QQYYRTPRT (配列番号46)
Chothia	SQDVTNV (配列番号:40)	SAS (配列番号44)	YYRTPR (配列番号47)
AbM	KASQDVTNVVA (配列番号39)	SASYRYT (配列番号43)	QQYYRTPRT (配列番号46)
Contact	TNVVAWY (配列番号41)	LLIYSASYRY (配列番号:45)	QQYYRTPR (配列番号48)
IMGT	QDVTNV (配列番号42)	SAS (配列番号44)	QQYYRTPRT (配列番号46)
Exemplary	KASQDVTNVVA (配列番号39)	SASYRYT (配列番号43)	QQYYRTPRT (配列番号46)

10

【0165】

20

【表 5】

表5. 抗体M6可変領域のアミノ酸配列

VH	QVKLEESGPDLKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWWVKQAPGKG LKWVGWINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLETSASTAYLQINNLKNE DMATYFCARKSTVVSRYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号49)
VL	DIVLTQTHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGDVAVTWCQQKPGQPP KLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTINNVSQSEDLADYFCQQ YRSYPLTFGAGTKLELKR (配列番号:50)

30

【0166】

【表 6】

表6. 抗体M19可変領域のアミノ酸配列

VH	EVQLEESGPDLLKKPGETVKISCKASNYTFTDYSMHWVKQAPGKG LKWVGWINTDTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNE DTATYFCARWFGAMDYWGQGTSTVTVSS (配列番号51)
VL	DIVITQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVTNVVAWYQQKPGQSPK LLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQ QYYRTPRTFGGGTKLEIKR (配列番号52)

40

【0167】

【表 7】

表7. 抗体M6可変領域のDNA配列

VH	CAGGTTAAGCTGGAGGAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGG AGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGATATACCTTCAC AAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTT TAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCAACA TATGCTGA TGACTTCAAGGGACGGTTTGTCTTCTCTTTGGAAAC CTCTGCCAGCACTGCCTACTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGA GGACATGGCCACATATTTCTGTGCAAGAAAAAGTACGGTAGTAA GTAGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA (配列番号53)
VL	GGGATATTGTGCTGACACAGACTCACAAATTCATGTCCACATCAG TAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTG GGTGATGCTGTAACCTGGTGTCAACAGAAACCAGGTCAACCTCC TAACTACTGATTTACTGGGCATCCACCCGGCACACTGGAGTCC CTGATCGCTTCACAGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATTAACAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGATTATTTCTGTC AGCAATATCGCAGCTATCCTCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAG CTGGAGCTG (配列番号54)

10

20

【 0 1 6 8 】

【表 8】

表8. 抗体M19可変領域のDNA配列

VH	GAGGTCCAGCTGGAGGAGTCTGGACCTGACCTGAAGAAGCCTGG AGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTAATTATACCTTCAC AGACTATTCAATGCACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTT TAAAGTGGGTGGGCTGGATAAACACTGACACTGGTGAGCCAACA TATGCAGATGACTTCAAGGGACGCTTTGCCTTCTCTTTGGAAACC TCTGCCAGCACTGCCTATTTACAGATCAACAACCTCAAAAATGAG GACACGGCTACATATTTCTGTGCTAGATGGTTTGGTGCTATGGAC TACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAAC GACACCCCATCTGTCTATTCC (配列番号55)
VL	GGGATATTGTGATCACACAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAG TAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTG ACTAATGTTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCT AACTACTGATTTATTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGTCCCT GATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCACC ATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAG CAATATTATCGTACTCCTCGGACGTTCTGGTGGAGGCACCAAGCT GGAAATCAAACGG (配列番号56)

10

20

【 0 1 6 9 】

表9. MERTKのタンパク質配列

40

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（a）N Y G M N（配列番号1）のV H C D R 1；および/または

（b）W I N T Y T G E P T Y A D D F K G（配列番号6）のV H C D R 2；および/または

（c）K S T V V S R Y F D V（配列番号11）のV H C D R 3、を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0171】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（a）G Y T F T N Y（配列番号2）のV H C D R 1；および/または

（b）T Y T G（配列番号7）のV H C D R 2；および/または

（c）S T V V S R Y F D（配列番号12）のV H C D R 3、を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0172】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（a）G Y T F T N Y G M N（配列番号3）のV H C D R 1；および/または

（b）W I N T Y T G E P T（配列番号8）のV H C D R 2；および/または

（c）K S T V V S R Y F D V（配列番号11）のV H C D R 3、を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0173】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（a）T N Y G M N（配列番号4）のV H C D R 1；および/または

（b）W M G W I N T Y T G E P T（配列番号9）のV H C D R 2；および/または

（c）A R K S T V V S R Y F D V（配列番号13）のV H C D R 3、を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0174】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（a）G Y T F T N Y G（配列番号5）のV H C D R 1；および/または

（b）I N T Y T G E P（配列番号10）のV H C D R 2；および/または

（c）A R K S T V V S R Y F D V（配列番号14）のV H C D R 3、を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0175】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

（a）G Y T F T N Y G M N（配列番号3）のV H C D R 1；および/または

（b）W I N T Y T G E P T Y A D D F K G（配列番号6）のV H C D R 2；および/または

（c）K S T V V S R Y F D V（配列番号11）のV H C D R 3、を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0176】

10

20

30

40

50

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) K A S Q D V G D A V T（配列番号15）のV L C D R 1；および/または
- (b) W A S T R H T（配列番号19）のV L C D R 2；および/または
- (c) Q Q Y R S Y P L T（配列番号22）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【0177】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) S Q D V G D A（配列番号16）のV L C D R 1；および/または
- (b) W A S（配列番号20）のV L C D R 2；および/または
- (c) Y R S Y P L（配列番号23）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【0178】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) G D A V T W C（配列番号17）のV L C D R 1；および/または
- (b) L L I Y W A S T R H（配列番号21）のV L C D R 2；および/または
- (c) Q Q Y R S Y P L（配列番号24）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【0179】

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) Q D V G D A（配列番号18）のV L C D R 1；および/または
- (b) W A S（配列番号20）のV L C D R 2；および/または
- (c) Q Q Y R S Y P L T（配列番号22）のV L C D R 3、

を含む軽鎖可変領域（V L）を含む。

【0180】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) D Y S M H（配列番号25）のV H C D R 1；および/または
- (b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G（配列番号30）のV H C D R 2；および/または
- (c) W F G A M D Y（配列番号35）のV H C D R 3、

を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0181】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) N Y T F T D Y（配列番号26）のV H C D R 1；および/または
- (b) T D T G（配列番号31）のV H C D R 2；および/または
- (c) F G A M D（配列番号36）のV H C D R 3、

を含む重鎖可変領域（V H）を含む。

【0182】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウス

10

20

30

40

50

M E R T Kの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 2 7) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T D T G E P T (配列番号 3 2) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) W F G A M D Y (配列番号 3 5) の V H C D R 3 、

を含む重鎖可変領域 (V H) を含む。

【 0 1 8 3 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

10

- (a) T D Y S M H (配列番号 2 8) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W V G W I N T D T G E P T (配列番号 3 3) の V H C D R 2 ; および / または

は

- (c) A R W F G A M D (配列番号 3 7) の V H C D R 3 、

を含む重鎖可変領域 (V H) を含む。

【 0 1 8 4 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

20

- (a) N Y T F T D Y S (配列番号 2 9) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) I N T D T G E P (配列番号 3 4) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) A R W F G A M D Y (配列番号 3 8) の V H C D R 3 、

を含む重鎖可変領域 (V H) を含む。

【 0 1 8 5 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスM E R T Kの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 2 7) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G (配列番号 3 0) の V H C D R 2 ; およ

び / または

30

- (c) W F G A M D Y (配列番号 3 5) の V H C D R 3 、

を含む重鎖可変領域 (V H) を含む。

【 0 1 8 6 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両方のM E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) K A S Q D V T N V V A (配列番号 3 9) の V L C D R 1 ; および / または
- (b) S A S Y R Y T (配列番号 4 3) の V L C D R 2 ; および / または
- (c) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 、

を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む。

40

【 0 1 8 7 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両方のM E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) S Q D V T N V (配列番号 4 0) の V L C D R 1 ; および / または
- (b) S A S (配列番号 4 4) の V L C D R 2 ; および / または
- (c) Y Y R T P R (配列番号 4 7) の V L C D R 3 、

を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む。

【 0 1 8 8 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒトM E R T K、またはヒトとマウスの両

50

方のMER TK)に特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) TNVVAWY (配列番号41)のVL CDR1；および/または
- (b) LLISASYRY (配列番号45)のVL CDR2；および/または
- (c) QQYYRTPR (配列番号48)のVL CDR3、

を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0189】

特定の実施形態では、MER TK (例えば、ヒトMER TK、またはヒトとマウスの両方のMER TK)に特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は：

- (a) QDVTNV (配列番号42)のVL CDR1；および/または
- (b) SAS (配列番号44)のVL CDR2；および/または
- (c) QQYYRTPR (配列番号46)のVL CDR3、

を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0190】

特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、上記のVH CDRのうちの1つ、2つ、または3つすべてを含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のVH CDR1を含む。いくつかの実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のVH CDR2を含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のVH CDR3を含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、抗体M6のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3 (表1)を含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、抗体M19のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3 (表3)を含む。

【0191】

特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、上記のVL CDRのうちの1つ、2つ、または3つすべてを含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のVL CDR1を含む。いくつかの実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のVL CDR2を含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のVL CDR3を含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、抗体M6のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3 (表2)を含む。特定の実施形態では、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、抗体M19のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3 (表4)を含む。

【0192】

別の実施形態では、MER TK (例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK)に特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する、抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) NYGMN (配列番号1)のVH CDR1；および/または
- (b) WINTYTGETPT YADDFKG (配列番号6)のVH CDR2；および/または
- (c) KSTVVSRYFDV (配列番号11)のVH CDR3；および/または
- (d) KASQDVGD AVT (配列番号15)のVL CDR1；および/または
- (e) WASTRHT (配列番号19)のVL CDR2；および/または
- (f) QQYRSYPLT (配列番号22)のVL CDR3。

【0193】

特定の実施形態では、MER TK (例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスMER TKの両方)に特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) GYTFTNY (配列番号2)のVH CDR1；および/または

- (b) T Y T G (配列番号 7) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) S T V V S R Y F D (配列番号 12) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) S Q D V G D A の V L (配列番号 16) C D R 1 ; および / または
- (e) W A S (配列番号 20) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Y R S Y P L (配列番号 23) の V L C D R 3 。

【0194】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) G Y T F T N Y G M N (配列番号 3) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T Y T G E P T (配列番号 8) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) K S T V V S R Y F D V (配列番号 11) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) K A S Q D V G D A V T (配列番号 15) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) W A S T R H T (配列番号 19) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 22) の V L C D R 3 。

10

【0195】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) T N Y G M N (配列番号 4) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W M G W I N T Y T G E P T (配列番号 9) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) A R K S T V V S R Y F D (配列番号 13) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) G D A V T W C (配列番号 17) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) L L I Y W A S T R H (配列番号 21) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y R S Y P L (配列番号 24) の V L C D R 3 。

20

【0196】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) G Y T F T N Y G (配列番号 5) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) I N T Y T G E P (配列番号 10) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) A R K S T V V S R Y F D V (配列番号 14) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) Q D V G D A (配列番号 18) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) W A S (配列番号 20) を含む V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 22) の V L C D R 3 。

30

【0197】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) G Y T F T N Y G M N (配列番号 3) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T Y T G E P T Y A D D F K G (配列番号 6) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) K S T V V S R Y F D V (配列番号 11) の V H C D R 3 ; および / または
- (d) K A S Q D V G D A V T (配列番号 15) の V L C D R 1 ; および / または
- (e) W A S T R H T (配列番号 19) の V L C D R 2 ; および / または
- (f) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 22) の V L C D R 3 。

40

【0198】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、

50

抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) D Y S M H (配列番号 2 5) の V H C D R 1 ；および / または
- (b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G (配列番号 3 0) の V H C D R 2 ；および / または
- (c) W F G A M D Y (配列番号 3 5) の V H C D R 3 ；および / または
- (d) K A S Q D V T N V V A (配列番号 3 9) の V L C D R 1 ；および / または
- (e) S A S Y R Y T (配列番号 4 3) の V L C D R 2 ；および / または
- (f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 。

【 0 1 9 9 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) N Y T F T D Y (配列番号 2 6) の V H C D R 1 ；および / または
- (b) T D T G (配列番号 3 1) の V H C D R 2 ；および / または
- (c) F G A M D (配列番号 3 6) の V H C D R 3 ；および / または
- (d) S Q D V T N V (配列番号 4 0) の V L C D R 1 ；および / または
- (e) S A S (配列番号 4 4) の V L C D R 2 ；および / または
- (f) Y Y R T P R (配列番号 4 7) の V L C D R 3 。

【 0 2 0 0 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 2 7) の V H C D R 1 ；および / または
- (b) W I N T D T G E P T (配列番号 3 2) の V H C D R 2 ；および / または
- (c) W F G A M D Y (配列番号 3 5) の V H C D R 3 ；および / または
- (d) K A S Q D V T N V V A (配列番号 3 9) の V L C D R 1 ；および / または
- (e) S A S Y R Y T (配列番号 4 3) の V L C D R 2 ；および / または
- (f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 。

【 0 2 0 1 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) T D Y S M H (配列番号 2 8) の V H C D R 1 ；および / または
- (b) W V G W I N T D T G E P T (配列番号 3 3) の V H C D R 2 ；および / または
- (c) A R W F G A M D (配列番号 3 7) の V H C D R 3 ；および / または
- (d) T N V V A W Y (配列番号 4 1) の V L C D R 1 ；および / または
- (e) L L I Y S A S Y R Y の (配列番号 4 5) V L C D R 2 ；および / または
- (f) Q Q Y Y R T P R (配列番号 4 8) の V L C D R 3 。

【 0 2 0 2 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス M E R T K の両方) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) N Y T F T D Y S (配列番号 2 9) の V H C D R 1 ；および / または
- (b) I N T D T G E P (配列番号 3 4) の V H C D R 2 ；および / または
- (c) A R W F G A M D Y (配列番号 3 8) の V H C D R 3 ；および / または
- (d) Q D V T N V (配列番号 4 2) の V L C D R 1 ；および / または
- (e) S A S (配列番号 4 4) の V L C D R 2 ；および / または
- (f) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 。

【 0 2 0 3 】

10

20

30

40

50

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスMERTKの両方）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、以下を含む：

- (a) NYTF T D Y S M H（配列番号27）のVH CDR1；および／または
- (b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G（配列番号30）のVH CDR2；および／または
- (c) W F G A M D Y（配列番号35）のVH CDR3；および／または
- (d) K A S Q D V T N V V A（配列番号39）のVL CDR1；および／または
- (e) S A S Y R Y T（配列番号43）のVL CDR2；および／または
- (f) Q Q Y Y R T P R T（配列番号46）のVL CDR3。

10

【0204】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、上記のCDRの1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つすべてを含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のVH CDR1を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のVH CDR2を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表1または表3のVH CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のVL CDR1を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のVL CDR2を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表2または表4のVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体M6のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3（表1）を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体M19のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3（表3）を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体M6のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3（表2）を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体M19のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3（表4）を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体M6のVL CDR1、VL CDR2、VL CDR3、VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含む（表1および表2）。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体M19のVL CDR1、VL CDR2、VL CDR3、VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含む（表3および表4）。

20

30

【0205】

別の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）を含み、

(i) 前記VHは：

- (a) D Y S M H（配列番号25）のVH CDR1；および／または
 - (b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G（配列番号30）のVH CDR2；および／または
 - (c) W F G A M D Y（配列番号35）のVH CDR3、
- を含み、かつ、

40

(ii) 前記VLは：

- (a) K A S Q D V T N V V A（配列番号39）のVL CDR1；および／または
 - (b) S A S Y R Y T（配列番号43）のVL CDR2；および／または
 - (c) Q Q Y Y R T P R T（配列番号46）のVL CDR3、
- を含む。

【0206】

別の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗

50

M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

(i) 前記 V H は :

(a) N Y T F T D Y (配列番号 2 6) の V H C D R 1 ; および / または

(b) T D T G (配列番号 3 1) の V H C D R 2 ; および / または

(c) F G A M D (配列番号 3 6) の V H C D R 3 の V H C D R 3 、

を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

(a) S Q D V T N V (配列番号 4 0) の V L C D R 1 ; および / または

(b) S A S (配列番号 4 4) の V L C D R 2 ; および / または

(c) Y Y R T P R (配列番号 4 7) の V L C D R 3 、

を含む。

【 0 2 0 7 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K 、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

(i) 前記 V H は :

(a) N Y G M N (配列番号 1) の V H C D R 1 ; および / または

(b) W I N T Y T G E P T Y A D D F K G (配列番号 6) の V H C D R 2 ; および / または

(c) K S T V V S R Y F D V (配列番号 1 1) の V H C D R 3 の V H C D R 3 、
を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

(a) K A S Q D V G D A V T (配列番号 1 5) の V L C D R 1 ; および / または

(b) W A S T R H T (配列番号 1 9) の V L C D R 2 ; および / または

(c) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 2 2) の V L C D R 3 、

を含む。

【 0 2 0 8 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K 、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

(i) 前記 V H は :

(a) G Y T F T N Y (配列番号 2) の V H C D R 1 ; および / または

(b) T Y T G (配列番号 7) の V H C D R 2 ; および / または

(c) S T V V S R Y F D (配列番号 1 2) の V H C D R 3 の V H C D R 3 、

を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

(a) S Q D V G D A (配列番号 1 6) の V L C D R 1 ; および / または

(b) W A S (配列番号 2 0) の V L C D R 2 ; および / または

(c) Y R S Y P L (配列番号 2 3) の V L C D R 3 、

を含む。

【 0 2 0 9 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K 、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

(i) 前記 V H は :

(a) G Y T F T N Y G M N (配列番号 3) の V H C D R 1 ; および / または

10

20

30

40

50

(b) WINTYTGEPT (配列番号 8) の VH CDR 2 ; および / または
(c) KSTVVSRYFDV (配列番号 11) の VH CDR 3 の VH CDR 3 、
を含み、かつ、

(ii) 前記 VL は :

(a) KASQDVGDVAT (配列番号 15) の VL CDR 1 ; および / または
(b) WASTRHT (配列番号 19) の VL CDR 2 ; および / または
(c) QQYRSYPLT (配列番号 22) の VL CDR 3 、
を含む。

【0210】

別の実施形態では、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの
両方のMERTK) に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗
MERTK抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) を含み、

10

(i) 前記 VH は :

(a) TNYGMN (配列番号 4) の VH CDR 1 ; および / または
(b) WMGWINTYTGEPT (配列番号 9) の VH CDR 2 ; および / または
(c) ARKSTVVSRYFD (配列番号 13) の VH CDR 3 の VH CDR 3
、
を含み、かつ、

20

(ii) 前記 VL は :

(a) GDVATWC (配列番号 17) の VL CDR 1 ; および / または
(b) LLIYWASTRH (配列番号 21) の VL CDR 2 ; および / または
(c) QQYRSYPL (配列番号 24) の VL CDR 3 、
を含む。

【0211】

別の実施形態では、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの
両方のMERTK) に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗
MERTK抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) を含み、

30

(i) 前記 VH は :

(a) GYTFTNYG (配列番号 5) の VH CDR 1 ; および / または
(b) INTYTGEPT (配列番号 10) の VH CDR 2 ; および / または
(c) ARKSTVVSRYFDV (配列番号 14) の VH CDR 3 の VH CDR
3、
を含み、かつ、

(ii) 前記 VL は :

(a) QDVGDA (配列番号 18) の VL CDR 1 ; および / または
(b) WAS (配列番号 20) の VL CDR 2 ; および / または
(c) QQYRSYPLT (配列番号 22) の VL CDR 3 、

40

を含む。

【0212】

別の実施形態では、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの
両方のMERTK) に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗
MERTK抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) を含み、

(i) 前記 VH は :

(a) GYTFTNYGMN (配列番号 3) の VH CDR 1 ; および / または
(b) WINTYTGEPTYADDFKG (配列番号 6) の VH CDR 2 ; および
/ または

50

(c) KSTVVSRYFDV (配列番号 11) の VH CDR 3 の VH CDR 3 、

を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

- (a) K A S Q D V G D A V T (配列番号 1 5) の V L C D R 1 ; および / または
- (b) W A S T R H T (配列番号 1 9) の V L C D R 2 ; および / または
- (c) Q Q Y R S Y P L T (配列番号 2 2) の V L C D R 3 、

を含む。

【 0 2 1 3 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

10

(i) 前記 V H は :

- (a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 2 7) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W I N T D T G E P T (配列番号 3 2) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) W F G A M D Y (配列番号 3 5) の V H C D R 3 の V H C D R 3 、

を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

- (a) K A S Q D V T N V V A (配列番号 3 9) の V L C D R 1 ; および / または
- (b) S A S Y R Y T (配列番号 4 3) の V L C D R 2 ; および / または
- (c) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 4 6) の V L C D R 3 、

20

を含む。

【 0 2 1 4 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

(i) 前記 V H は :

- (a) T D Y S M H (配列番号 2 8) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) W V G W I N T D T G E P T (配列番号 3 3) の V H C D R 2 ; および / または

30

(c) A R W F G A M D (配列番号 3 7) の V H C D R 3 の V H C D R 3 、

を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

- (a) T N V V A W Y (配列番号 4 1) の V L C D R 1 ; および / または
- (b) L L I Y S A S Y R Y (配列番号 4 5) の V L C D R 2 ; および / または
- (c) Q Q Y Y R T P R (配列番号 4 8) の V L C D R 3 、

を含む。

【 0 2 1 5 】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

40

(i) 前記 V H は :

- (a) N Y T F T D Y S (配列番号 2 9) の V H C D R 1 ; および / または
- (b) I N T D T G E P (配列番号 3 4) の V H C D R 2 ; および / または
- (c) A R W F G A M D Y (配列番号 3 8) の V H C D R 3 の V H C D R 3 、

を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は :

- (a) Q D V T N V (配列番号 4 2) の V L C D R 1 ; および / または
- (b) S A S (配列番号 4 4) の V L C D R 2 ; および / または

50

(c) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 46) の V L C D R 3、
を含む。

【0216】

別の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含み、

(i) 前記 V H は：

(a) N Y T F T D Y S M H (配列番号 27) の V H C D R 1；および / または

(b) W I N T D T G E P T Y A D D F K G (配列番号 30) の V H C D R 2；および / または

(c) W F G A M D Y (配列番号 35) の V H C D R 3 の V H C D R 3、
を含み、かつ、

(i i) 前記 V L は：

(a) K A S Q D V T N V V A (配列番号 39) の V L C D R 1；および / または

(b) S A S Y R Y T (配列番号 43) の V L C D R 2；および / または

(c) Q Q Y Y R T P R T (配列番号 46) の V L C D R 3、
を含む。

【0217】

特定の実施形態では、V H は上記の V H C D R の 2 つまたは 3 つすべてを含み、および / または V L は上記の V L C D R の 2 つまたは 3 つすべてを含む。特定の実施形態では、V H は表 1 または表 3 の抗体の 1 つの V H C D R 1 を含む。いくつかの実施形態では、V H は表 1 または表 3 の抗体の 1 つの V H C D R 2 を含む。特定の実施形態では、V H は表 1 または表 3 の抗体の 1 つの V H C D R 3 を含む。いくつかの実施形態では、V L は表 2 または表 4 の抗体の 1 つの V L C D R 1 を含む。いくつかの実施形態では、V L は表 2 または表 4 の抗体の 1 つの V L C D R 2 を含む。特定の実施形態において、V L は表 2 または表 4 の抗体の 1 つの V L C D R 3 を含む。いくつかの実施形態において、V H は、抗体 M 6 の V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 (表 1) を含む。特定の実施形態では、V H は、抗体 M 19 の V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 (表 3) を含む。特定の実施形態では、V L は、抗体 M 6 の V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 (表 2) を含む。特定の実施形態では、V L は、抗体 M 19 の V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 (表 4) を含む。いくつかの実施形態では、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、V H および V L を含み、V H は、抗体 M 19 の V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 (表 3) を含み、V L は、抗体 M 19 の C D R の V L C D R の V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 (表 4) を含む。いくつかの実施形態では、抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、V H および V L を含み、V H は、抗体 M 6 の V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 (表 1) を含み、V L は、抗体 M 6 の C D R の V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 (表 2) を含む。

【0218】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 49 のアミノ酸配列 (表 5) を含む重鎖可変領域配列 (例えば、抗体 M 6 の V H) を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 51 のアミノ酸配列 (表 6) を含む重鎖可変領域配列 (表 6) (例えば、抗体 M 19 の V H) を含む。

【0219】

10

20

30

40

50

別の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号50のアミノ酸配列（表5）を含む軽鎖可変領域配列（例えば、抗体M6のV L）を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号52のアミノ酸配列（表6）を含む軽鎖可変領域配列（例えば、抗体M19のV L）を含む。

【0220】

特定の一実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、（a）配列番号49のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および（b）配列番号50のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（例えば、抗体M6のV HおよびV L）を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウス両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、（a）配列番号50のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および（b）配列番号52のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（例えば、抗体M19のV HおよびV L）。

【0221】

好ましい実施形態において、抗体は、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、

（A）配列番号1のV H C D R 1、配列番号6のV H C D R 2、配列番号11のV H C D R 3、配列番号15のV L C D R 1、配列番号19のV L C D R 2、および配列番号22のV L C D R 3；

（B）配列番号2のV H C D R 1、配列番号7のV H C D R 2、配列番号12のV H C D R 3、配列番号16のV L C D R 1、配列番号20のV L C D R 2、および配列番号23のV L C D R 3；

（C）配列番号3のV H C D R 1、配列番号8のV H C D R 2、配列番号11のV H C D R 3、配列番号15のV L C D R 1、配列番号19のV L C D R 2、および配列番号22のV L C D R 3；

（D）配列番号4のV H C D R 1、配列番号9のV H C D R 2、配列番号13のV H C D R 3、配列番号17のV L C D R 1、配列番号21のV L C D R 2、および配列番号24のV L C D R 3；

（E）配列番号5のV H C D R 1、配列番号10のV H C D R 2、配列番号14のV H C D R 3、配列番号18のV L C D R 1、配列番号20のV L C D R 2、および配列番号22のV L C D R 3；または、

（F）配列番号3のV H C D R 1、配列番号6のV H C D R 2、配列番号11のV H C D R 3、配列番号15のV L C D R 1、配列番号19のV L C D R 2、および配列番号22のV L C D R 3、

を含むヒト化抗体またはそのヒト化抗原結合断片である。

【0222】

特定の形態において、本明細書に記載の抗体は、そのV Hドメイン単独、またはそのV Lドメイン単独、またはその3つのV H C D R単独、またはその3つのV L C D R単独により記載され得る。例えば、相補的な軽鎖または重鎖をヒト軽鎖または重鎖のライブラリーからそれぞれ同定することによってマウス抗 V 3抗体をヒト化し、高い親和性または元の抗体の親和性よりも高い親和性を有するヒト化抗体変異体をもたらすことについて記載しており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、R a d e r C e t a l . (1 9 9 8) P N A S 9 5 : 8 9 1 0 - 8 9 1 5を参照。また、特定のV Hドメイン（またはV Lドメイン）を使用して相補的な可変ドメインについてライブラリーをスクリーニングすることにより特定の抗原に結合する抗体を作製する方法を説明してお

10

20

30

40

50

り、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Clackson T et al., (1991) Nature 352: 624-628も参照。また、特定のVHドメインを使用して相補的なVLドメインについてライブラリー（例えば、ヒトVLライブラリー）をスクリーニングし、次いで選択されたVLドメインを使用して追加の相補的な（例えば、ヒトの）VHドメインの選択をガイドすることにより特定の抗原に結合する抗体を作製する方法を記載し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Kim S J % Hong H J, (2007) J Microbiol 45: 572 - も参照。

【0223】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体のVH（例えば、CDR1、CDR2、またはCDR3）領域および/またはVL（例えば、CDR1、CDR2、またはCDR3）領域に沿った1つまたは複数のCDRの位置は、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への免疫特異的な結合が維持される（例えば、実質的に、例えば、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95%が維持される）限り、1、2、3、4、5、または6アミノ酸位置で異なってもよい。別の実施形態では、本明細書に記載の抗体のVH（例えば、CDR1、CDR2、またはCDR3）領域および/またはVL（例えば、CDR1、CDR2、またはCDR3）領域に沿った1つまたは複数のCDRの長さは、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への免疫特異的な結合が維持される（例えば、実質的に、例えば、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95%が維持される）限り、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つまたはそれ以上のアミノ酸だけ異なってもよい。別の実施形態では、本明細書に記載のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、および/またはVL CDR3のアミノ末端および/またはカルボキシ末端は、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への免疫特異的な結合が維持される（例えば、実質的に、例えば、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95%が維持される）限り、本明細書に記載の1つまたは複数のCDRと比較して、1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたはそれ以上のアミノ酸だけ長くてもよいし、短くてもよい。本明細書で使用する「免疫特異的に結合する」、「免疫特異的に認識する」、「特異的に結合する」、および「特異的に認識する」という用語は、当業者によって理解されるように、抗体の文脈における類似の用語であり、抗原結合部位を介して抗原（例えば、エピトープまたは免疫複合体）に結合する抗体およびその抗原結合断片を指し、当該抗体または抗原結合断片と他の抗原との交差反応性を排除するものではない。当技術分野で知られている任意の方法を使用して、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への免疫特異的な結合が維持されているかどうかを確認することができ、例えば、後述する実施例4および実施例7（セクション6）に結合アッセイおよび条件についての記載がある。

【0224】

特定の形態において、本明細書には、抗MERTK抗体、あるいは、重鎖および/または軽鎖（例えば、重鎖のみ、軽鎖のみ、または重鎖および軽鎖の両方）を含むその抗原結合断片が記載される。軽鎖に関して、特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片の軽鎖はカップ軽鎖である。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片の軽鎖はラムダ軽鎖である。さらに別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片の軽鎖は、ヒトカップ軽鎖またはヒトラムダ軽鎖である。

【0225】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、抗体M6または

抗体 M 1 9 の V L C D R のアミノ酸配列を有する V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3（すなわち、表 2 および表 4 に列挙されたもの）を含み、当該軽鎖の定常領域は、カップ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K）に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、配列番号 5 0 または配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含み、当該軽鎖の定常領域は、カップ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。本明細書で使用される場合、「定常領域」または「定常ドメイン」という用語は交換可能であり、当技術分野で共通の意味を有する。定常領域は、抗体の一部であり、例えば、抗体の抗原への結合には直接関与しないが、F c 受容体との相互作用などの様々なエフェクター機能を示すことができる軽鎖および/または重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は一般に、免疫グロブリン可変ドメインと比較して、より保存されたアミノ酸配列を有している。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、M E R T K シグナル伝達を作動する。

10

【0226】

別の特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K）に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、抗体 M 6 または抗体 M 1 9 の V L C D R のアミノ酸配列を有する V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3（すなわち、表 2 および表 4 に列挙されたもの）を含み、当該軽鎖の定常領域は、ラムダ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。別の特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K）に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、配列番号 5 0 または配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含み、当該軽鎖の定常領域は、ラムダ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、M E R T K シグナル伝達を作動する。

20

【0227】

別の特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K）に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、抗体 M 6 または抗体 M 1 9 の V L C D R のアミノ酸配列を有する V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3（すなわち、表 2 および表 4 に列挙されたもの）を含み、当該軽鎖の定常領域は、ヒトカップ軽鎖またはヒトラムダ軽鎖の定常領域のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K）に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸は、配列番号 5 0 または配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含み、当該軽鎖の定常領域は、ヒトカップ軽鎖またはヒトラムダ軽鎖の定常領域のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、M E R T K シグナル伝達を作動する。ヒト定常領域配列の非限定的な例は、当技術分野で開示されており、例えば、K a b a t E A e t a l . , (1 9 9 1) を参照。

30

40

【0228】

重鎖に関して、特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片の重鎖は、アルファ（ α ）重鎖、デルタ（ δ ）重鎖、イプシロン（ ϵ ）重鎖、ガンマ（ γ ）重鎖またはミュー（ μ ）重鎖であり得る。別の特定の実施形態において、本明細書に記載の抗体の重鎖は、ヒトアルファ（ α ）重鎖、ヒトデルタ（ δ ）重鎖、ヒトイプシロン（ ϵ ）重鎖、ヒトガンマ（ γ ）重鎖またはヒトミュー（ μ ）重鎖を含み得る。

【0229】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウス

50

の両方のMER TK)に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は重鎖を含み、当該重鎖の可変領域のアミノ酸配列は、抗体M 6または抗体M 19のVH CDRのアミノ酸配列を有するVH CDR 1、VH CDR 2、およびVH CDR 3(すなわち、表1および表3に列挙されたもの)を含み、当該重鎖の定常領域は、ヒトガンマ()重鎖の定常領域のアミノ酸配列を含む。別の特定の実施形態では、MER TK(例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK)に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は重鎖を含み、当該重鎖の可変領域のアミノ酸配列は、配列番号49または配列番号51のアミノ酸配列を含み、当該重鎖の定常領域は、ヒトガンマ()重鎖の定常領域のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、MER TKシグナル伝達を作動する。

10

【0230】

特定の実施形態では、MER TK(例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK)に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は重鎖を含み、当該重鎖の可変領域のアミノ酸配列は、抗体M 6または抗体M 19のVH CDRのアミノ酸配列を有するVH CDR 1、VH CDR 2、およびVH CDR 3(すなわち、表1および表3に列挙されたもの)を含み、当該重鎖の定常領域は、本明細書に記載のまたは当技術分野で知られているヒト重鎖のアミノ酸を含む。特定の実施形態では、MER TK(例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK)に特異的に結合する本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は重鎖を含み、当該重鎖の可変領域のアミノ酸配列は、配列番号49または配列番号51のアミノ酸配列を含み、当該重鎖の定常領域は、本明細書に記載のまたは当技術分野で公知のヒト重鎖のアミノ酸を含む。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、MER TKシグナル伝達を作動する。ヒト定常領域配列の非限定的な例は、当技術分野で開示されており、例えば、上述したKabata et al., (1991)を参照。

20

【0231】

特定の実施形態では、MER TK(例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK)に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載の任意のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含み、定常領域は、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAまたはIgY免疫グロブリン分子、またはヒトIgG、IgE、IgM、IgD、IgAまたはIgY免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む。別の特定の実施形態において、MER TK(例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK)に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載の任意のアミノ酸配列を含むVHおよびVLを含み、定常領域は、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、またはIgY免疫グロブリン分子のアミノ酸配列を含み、これは免疫グロブリン分子の任意のクラス(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁およびIgA₂)、または任意のサブクラス(例えば、IgG_{2a}およびIgG_{2b})である。特定の実施形態では、定常領域は、ヒトのIgG、IgE、IgM、IgD、IgAまたはIgY免疫グロブリン分子のアミノ酸配列を含み、これは免疫グロブリン分子の任意のクラス(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁およびIgA₂)、または任意のサブクラス(例えば、IgG_{2a}およびIgG_{2b})である。

30

40

【0232】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片のFc領域に、1つ、2つまたはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)を導入して、抗体の1つまたは複数の機能特性を変更する。

【0233】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片

50

のFc領域（例えば、Kabatナンバリングシステム（例えば、KabatのEUインデックス）によるナンバリングによる、CH2ドメイン（ヒトIgG₁の残基231～340）および/またはCH3ドメイン（ヒトIgG₁の残基341～447）および/またはヒンジ領域）に、1つ、2つまたはそれ以上の変異（例えば、アミノ酸置換）を導入して、エフェクター細胞の表面上のFc受容体（例えば、活性化Fc受容体）に対する抗体またはその抗原結合断片の親和性を増加または減少させる。Fc受容体に対する抗体の親和性を減少または増加させる抗MERTK抗体またはその抗原結合断片のFc領域における変異、およびそのような変異をFc受容体またはその断片に導入する技術は、当技術分野の当業者に知られている。Fc受容体に対する抗体またはその抗原結合断片の親和性を変化させることができる抗MERTK抗体またはその抗原結合断片のFc受容体における変異の例は、例えば、Smith P et al. 2012) PNAS 109: 6181 - 6186、米国特許第6,737,056号、および国際公開第WO02/060919; WO98/23289; およびWO97/34631に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0234】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、グリコシル化定常領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、グリコシル化されていない定常領域を含む。フコース含量が減少した抗体は、例えばFcRIIIaなどのFc受容体に対する親和性が増加していることが報告されている。したがって、特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、フコース含量が低いか、またはフコースを含有していない。そのような抗体またはその抗原結合断片は、当業者に知られている技術を使用して作製することができる。例えば、抗体またはその抗原結合断片は、フコシル化の能力が欠損しているかまたは欠如している細胞で発現され得る。特定の例では、1,6-フコシルトランスフェラーゼの両方の対立遺伝子のノックアウトを持つ細胞株を使用して、フコース含量が減少した抗体を産生することができる。ポテリジェント（登録商標）システム（ロンザ）は減少したフコース含量を有する抗体またはその抗原結合断片を作製することができるシステムの一例である。あるいは、フコース含量が低減された、またはフコースを含有しない抗体または抗原結合フラグメントは、例えば、以下によって作製され得る：(i) フコシル化を防止または低減する条件下で細胞を培養する；(ii) フコースの翻訳後除去（例えば、フコシダーゼ酵素による）；(iii) 例えば非グリコシル化糖タンパク質の組換え発現後の、所望の炭水化物の翻訳後付加；または(iv) フコシル化されていない抗体またはその抗原結合断片を選択するための糖タンパク質の精製。フコースを含有しない、またはフコース含量の減少した抗体またはその抗原結合断片を作製する方法については、例えば、Longmore GD & Schachter H (1982) Carbohydr Res 100: 365 - 92、およびImai-Nishiyama H et al., (2007) BMC Biotechnol. 7: 84を参照。

【0235】

別の特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、重鎖および/または軽鎖を含み、(i) 当該重鎖は、(a) 抗体M6または抗体M19のVH CDRのアミノ酸配列を有するVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3（すなわち、表1および表3に列挙されたもの）を含む可変領域、並びに(b) ヒトIgG重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常重鎖ドメインを含むか、並びに/あるいは、(ii) 当該軽鎖は、(a) 抗体M6または抗体M19のVL CDRのアミノ酸配列を有するVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3（すなわち、表2および表4に列挙されたもの）を含む可変領域、並びに(b) ヒトIgGの定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常軽鎖ドメインを含む。

【0236】

別の特定の実施形態では、MER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は重鎖および/または軽鎖を含み、（i）当該重鎖は（a）配列番号49または配列番号51のアミノ酸配列を含む可変領域、並びに（b）ヒトIgGの定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常重鎖ドメインを含むか、並びに/あるいは、（ii）当該軽鎖は、配列番号50または配列番号52のアミノ酸配列を含む可変領域、並びに（b）ヒトカッパ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常軽鎖ドメインを含む。

【0237】

2つの配列（例えば、アミノ酸配列または核酸配列）間の同一性百分率の決定は、数学的アルゴリズムを使用しても行うこともできる。2つの配列の比較に使用される数学的アルゴリズムの具体的かつ非限定的な例は、Karlin S & Altschul SF（1990）PNAS 90：5873-5877により修正された、Karlin S & Altschul SF（1990）PNAS 87：2264-2268のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、Altschul SF et al.,（1990）J Mol Biol 215：403のNBLASTおよびXBLASTプログラムに組み込まれている。本明細書に記載の核酸分子に相同なヌクレオチド配列を得るためには、BLASTヌクレオチド検索が、NBLASTヌクレオチドプログラムパラメーターセット、たとえばスコア＝100、ワード長＝12で実行可能である。本明細書に記載のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得るためには、BLASTタンパク質検索が、例えば、スコア50、ワード長＝3に設定されたXBLASTプログラムパラメータを用いて実行可能である。比較の目的でギャップ付きアライメントを取得するには、Altschul SF et al.,（1997）Nuc Acids Res 25：3389-3402に記載されているように、ギャップ付きBLASTを利用可能である。あるいは、PSI-BLASTを使用して、分子間の離れた関係を検出する反復探索を行ってもよい（上記）。BLAST、ギャップBLAST、およびPSI-BLASTプログラムを利用する場合、各プログラム（例えば、XBLASTおよびNBLAST）のデフォルトパラメータを使用することができる（例えば、ワールドワイドウェブ上の全米バイオテクノロジー情報センター（NCBI）、Ncbi.nlm.nih.gov）。配列の比較に使用される数学的アルゴリズムの別の具体的かつ非限定的な例は、Myers and Miller、1988、CABIOS 4：11-17のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、GCCシーケンスアライメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを利用する場合には、PAM120重み残差表、ギャップ長ペナルティ12、ギャップペナルティ4を使用可能である。

【0238】

2つの配列間の同一性百分率は、ギャップを許可するかどうかにかかわらず、上記と同様の手法を使用して決定され得る。同一性百分率の計算では、通常、完全一致のみがカウントされる。

【0239】

特定の実施形態では、MER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号49または配列番号51のVHのアミノ酸配列に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%の配列同一性を有するVHを含む。特定の実施形態では、MER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号49または配列番号51のVHのアミノ酸配列に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%の配列同一性を有するVHドメインを含み、当該抗体または

抗原結合断片は、表 1 ~ 表 4 に記載の C D R (例えば、V H C D R および / または V L C D R) と同一の C D R (例えば、V H C D R および / または V L C D R) を含む。

【 0 2 4 0 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 5 0 または配列番号 5 2 の V L のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する V L を含む。特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 5 0 または配列番号 5 2 の V L のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する V L を含み、当該抗体または抗原結合断片は、表 1 ~ 表 4 に記載の C D R (例えば、V H C D R および / または V L C D R) と同一の C D R (例えば、V H C D R および / または V L C D R) を含む。

【 0 2 4 1 】

特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、(i) 配列番号 4 9 または配列番号 5 1 の V H ドメインのアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する V H ドメイン、および (i i) 配列番号 5 0 または配列番号 5 2 の V L ドメインのアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する V L ドメインを含む。特定の実施形態では、M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合し、内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動する抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片は、(i) 配列番号 4 9 または配列番号 5 1 の V H ドメインのアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する V H ドメイン、および (i i) 配列番号 5 0 または配列番号 5 2 の V L ドメインのアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % の配列同一性を有する V L ドメインを含み、当該抗体または抗原結合断片は、表 1 ~ 表 4 に記載の C D R (例えば、V H C D R および / または V L C D R) と同一の C D R (例えば、V H C D R および / または V L C D R) を含む。

【 0 2 4 2 】

別の形態において、本明細書によれば、本明細書に記載の抗体 (例えば、抗体 M 6 または抗体 M 1 9) と同じかまたは重複する M E R T K のエピトープ (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K のエピトープ) に結合する抗体が開示される。本明細書で使用される「エピトープ」は、当技術分野における用語であり、抗体が特異的に結合することができる抗原の局所的な領域を意味する。エピトープは、例えば、ポリペプチドの連続したアミノ酸 (線形または隣接エピトープ) であってもよいし、1 つまたは複数のポリペプチドの 2 つ以上の非隣接領域から構成されていてもよい (立体配座、非線形、不連続、または非連続のエピトープ)。特定の実施形態において、抗体のエピトープは、例えば、N M R 分光法、X 線回折結晶学研究、E L I S A アッセイ、質量分析と組み合わせた水素 / 重水素交換 (例えば、M A L D I 質量分析)、アレイベースのオリゴペプチドスクリーニングアッセイ、および / または突然変異誘発マッピング (例えば、部位特異的突然変異誘発マッピング) により決定され得る。X 線結晶学の場合、結晶化は、当技術分野で既知の方法 (例えば、G i e g e R e t a l . , (1 9 9 4) A c t a C r y s t a l l o g r D B i o l C r y s t a l l o g r 5 0 (P t 4

10

20

30

40

50

) : 339 - 350 ; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189 : 1 - 23 ; Chayen NE (1997) Structure 5 : 1269 - 1274 ; McPherson A (1976) J Biol Chem 251 : 6300 - 6303) のいずれかを使用して達成することができる。抗体：抗原結晶は、よく知られているX線回折技術を使用して研究でき、X-PLOR (Yale University、1992、Molecular Simulations、Inc.によって配布された；例えば、Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115、eds Wyckoff HW et al. ; US Patent Application No. 2004 / 0014194を参照)、およびBUSTE R (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49 (Pt 1) : 37 - 60 ; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276 A : 361 - 423、ed Carter CW ; Roversi P et al. , (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56 (Pt 10) : 1316 - 1323) などのコンピューターソフトウェアを使用して修正可能である。突然変異誘発マッピング研究は、当業者に知られている任意の方法を使用して達成することができる。例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発技術を含む突然変異誘発技術の説明についてはChampe M et al. , (1995) およびCunningham BC & Wells JA (1989) を参照。さらに、MERTK (たとえば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK) の同じかまたは重複するエピトープを認識して結合する抗体は、イムノアッセイなどの日常的な手法を使用して、例えばある抗体が他の抗体の標的抗原への結合を阻害する能力を示すこと(すなわち、競合結合アッセイ)により同定することができる。競合結合アッセイを使用して、2つの抗体があるエピトープに対して同様の結合特異性を持っているかどうかを判断することもできる。競合的結合は、試験中の免疫グロブリンがMERTKなどの共通の抗原への参照抗体の特異的結合を阻害するアッセイにおいて決定され得る。例えば、固相での直接または間接的な放射免疫測定法(RIA)、固相での直接または間接的な酵素免疫測定法(EIA)、サンドイッチ競合アッセイ(Stahli C et al. , (1983) Methods Enzymol 9 : 242 - 253を参照) ; 固相での直接ビオチン - アビジンEIA (Kirkland TN et al. , (1986) J Immunol 137 : 3614 - 9を参照) ; 固相での直接標識アッセイ、固相での直接標識サンドイッチアッセイ(Harlow E & Lane D , (1988) Antibodies : A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Pressを参照) ; I - 125 標識を使用した固相での直接ラベルRIA (Morel GA et al. , (1988) Mol Immunol 25 (1) : 7 - 15を参照) ; 固相での直接ビオチン - アビジンEIA (Cheung RC et al. , (1990) Virology 176 : 546 - 52) ; 直接ラベル化RIA (Moldenhauer G et al. , (1990) Scand J Immunol 32 : 77 - 82) といった多くのタイプの競合結合アッセイが知られている。典型的に、そのようなアッセイは、固体表面結合した精製抗原(例えば、ヒトMERTKなどのMERTK) またはこれらのいずれかを有する細胞、非標識の試験免疫グロブリンおよび標識された参照免疫グロブリンの使用を伴う。競合阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で固体表面または細胞に結合した標識の量を測定することにより測定できる。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。通常、競合する抗体が過剰に存在すると、共通の抗原への参照抗体の特異的結合を少なくとも50 ~ 55 %、55 ~ 60 %、60 ~ 65 %、65 ~ 70 %、70 ~ 75 %またはそれよりも多く阻害する。競合結合アッセイは、標識抗原または標識抗体のいずれかを使用して、多数の異なる形式で構成され得る。このアッセイの一般的なバージョンでは、抗原は96ウェルプレートに固定されている。次に、放射能標識または酵素標識を使用して、標識抗体の抗原への結合を阻害する非標識抗体の能力を測定する。さらなる詳細については、例えば、Wagener C et al. , (1983)

J Immunol 130:2308-2315; Wagener C et al., (1984) J Immunol Methods 68:269-274; Kuroki M et al., (1990) Cancer Res 50:4872-4879; Kuroki M et al., (1992) Immunol Invest 21:523-538; Kuroki M et al., (1992) Hybridoma 11:391-407、および Antibodies: A Laboratory Manual、Ed Harlow E&Lane D editors supra, pp. 386-389。

【0243】

特定の形態では、競合ELISAアッセイなどの競合結合アッセイ（これは、標識抗原または標識抗体を使用して、あらゆる数の異なる形式で構成できる）において2つの抗体が同一または立体的に重複するエピトープを認識する場合には、競合結合アッセイを使用することで、ある抗体が、例えば用量依存的に、別の抗体（例えば、参照抗体と実質的に同じかまたは重複するエピトープに結合する抗体）によって競合的に阻害されるかどうかを決定できる。特定の実施形態では、抗体は、本明細書に記載の抗体（例えば、抗体M6または抗体M19）を用いた競合結合アッセイで試験することができる。

10

【0244】

別の形態では、当業者に公知のアッセイまたは本明細書に記載のアッセイ（例えば、ELISA競合アッセイまたは表面プラズモン共鳴）を使用して決定される、MERTK（例えば、ヒトMERTKまたはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への結合について本明細書に記載の抗体（例えば、M6またはM19）と（例えば、用量依存的に）競合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗体が本明細書により開示される。別の形態では、当業者に公知のアッセイまたは本明細書に記載のアッセイ（例えば、ELISA競合アッセイまたは懸濁液アレイまたは表面プラズモン共鳴）を使用して決定される、MERTK（例えば、ヒトMERTKまたはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への本明細書に記載の抗体（例えば、M6またはM19）の結合を（例えば、用量依存的に）競合的に阻害する抗体が本明細書により開示される。

20

【0245】

特定の実施形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTKまたはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への結合について本明細書に記載の抗体が自己競合するのと同程度に、MERTK（例えば、ヒトMERTKまたはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への結合について本明細書に記載の抗体と競合する抗体が本明細書により開示される。特定の実施形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への結合について本明細書に記載の抗体と競合する第1の抗体が本明細書により開示され、その競合は当該第1の抗体のMERTKへの結合の、80%を超える（例えば、85%、90%、95%、98%、または80%~85%、80%~90%、85%~90%、または85%~95%）低下として示される。

30

【0246】

特定の形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への特異的な結合について、配列番号49または配列番号51のアミノ酸配列を有するVHドメイン、および配列番号50または配列番号52のアミノ酸配列を有するVLドメインを含む抗体と（例えば、用量依存的に）競合する抗体が本明細書により開示される。

40

【0247】

特定の形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への特異的な結合について、(i)表1または表3に列挙されている抗体のCDRのアミノ酸配列を有するVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVHドメイン、および(ii)表2または表4に列挙されている抗体のVL CDRのアミノ酸配列を有するVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含むVLドメインを含む抗体と（例えば、用量依存的に）競合する抗体が本明細書

50

により開示される。VH CDRおよびVL

特定の実施形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への特異的な結合について、抗体M6のVH CDRおよびVL CDR（表1および表2）を含む抗体と（例えば、用量依存的に）競合する抗体が本明細書により開示される。

【0248】

特定の実施形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への特異的な結合について、抗体M19のVH CDRおよびVL CDR（表3および表4）を含む抗体と（例えば、用量依存的に）競合する抗体が本明細書により開示される。

10

【0249】

別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、(i)表1または表3に列挙されている抗体のCDRのアミノ酸配列を有するVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVHドメイン、および(ii)表2または表4に列挙されている抗体のCDRのアミノ酸配列を有するVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含むVLドメインを含む抗体と同じかまたは重複するエピトープに免疫特異的に結合する。

【0250】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号49のアミノ酸配列を有するVHドメイン、および配列番号50のアミノ酸配列を有するVLドメインを含む抗体M6と同じかまたは重複するエピトープに免疫特異的に結合する。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、配列番号51のアミノ酸配列を有するVHドメイン、および配列番号52のアミノ酸配列を有するVLドメインを含む抗体M6と同じかまたは重複するエピトープに免疫特異的に結合する。当業者に公知のまたは本明細書に記載のアッセイ（例えば、X線結晶学、ELISAアッセイなど）を使用して、2つの抗体が同じエピトープに結合するかどうかを判断することができる。

20

【0251】

親和性は、平衡解離定数(K_D)および平衡会合定数(K_A)を含むがこれらに限定されない、当技術分野で知られている多くの方法で測定および/または表現することができる。 K_D は、バイオレイヤー干渉法などの当業者に知られている技術によって決定することができる。特定の実施形態では、 K_D は、後述するセクション6の実施例4または実施例7に記載されるように決定される。

30

【0252】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片、MERTKへの結合について本明細書に記載の抗体と競合する抗MERTK抗体またはその抗原結合断片、または本明細書に記載の抗体と同じかまたは重複するエピトープに結合する抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、7 nM未満、6 nM未満、5 nM未満、4.5 nM未満、4 nM未満、3.5 nM未満、3 nM未満、2.5 nM未満、2 nM未満、1.5 nM未満、1 nM未満、0.75 nM未満、0.5 nM未満、0.25 nM未満、0.1 nM未満、0.05 nM未満、0.025 nM未満、0.01 nM未満、または0.005 nM未満の K_D でMERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片、MERTKへの結合について本明細書に記載の抗体と競合する抗MERTK抗体またはその抗原結合断片、または本明細書に記載の抗体と同じかまたは重複するエピトープに結合する抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、およそ、7 nM、6 nM、5 nM、4.5 nM、4 nM、3.5 nM、3 nM、2.5 nM、2 nM、1.5 nM、1 nM、0.75 nM、0.5 nM、0.25 nM、0.1 nM、0.05 nM、0.025 nM、0.01 nM、または0.005 nMの K_D でMERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK

40

50

）に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片、MER TKへの結合について本明細書に記載の抗体と競合する抗MER TK抗体またはその抗原結合断片、または本明細書に記載の抗体と同じかまたは重複するエピトープに結合する抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、約3 pM～約400 pMの K_D でMER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に結合する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、約0.3 nMの K_D でMER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に結合する。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、約4.6 pMの K_D でMER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に結合する。本明細書で使用される「約」という用語は、数値または数値範囲の変更に使用される場合、値または範囲の5%から10%大きい偏差および5%から10%小さい偏差が、記載された値または範囲の意図する意味内に留まることを意味する。

10

【0253】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体のエピトープは、抗体を製造するための免疫原として使用される。抗体を産生するための方法については、例えば、後述するセクション5.2を参照。

【0254】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、例えば、Beck A et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337; Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225; McCombs JR and Owen SC (2015) The AAPS Journal 17:339-351; Jackson DY (2016) Org Proces Res Dev 20:852-866; または、Olivier KJ and Hurvitz SA ed. (2016) Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, Wileyに記載された方法により、薬物部分との結合を促進するため、特に部位特異的な結合を促進するために、当技術分野で知られている方法によって操作または改変される。薬物部分との結合を促進する目的で抗MER TK抗体またはその抗原結合断片を操作または改変するのに使用することができる非限定的かつ例示的な方法（Beck A et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337を参照）としては、1つまたは複数の追加のシステインまたはセレノシステインの追加、非天然アミノ酸工学、結合を支援できる特定の酵素によって認識可能な1つまたは複数のアミノ酸タグの追加、グリカンのリモデリング、アミノ末端セリンの追加、および天然のシステイン架橋が挙げられる。

20

30

【0255】

5.1.2 抗体部分の機能的特徴

いくつかの形態では、MER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMER TKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MER TK抗体またはその抗原結合断片は、内皮細胞上のMER TK（例えば、ヒトMER TK、またはヒトおよびマウスの両方のMER TK）の活性を、少なくともおよそ、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増大させる。MER TKの活性は、本明細書に記載の方法または当業者に知られている方法、例えば、MER TKのリン酸化の量を測定することにより、測定され得る。別の特定の実施形態では、MER TKのリン酸化の増加によって測定されるMER TK活性の増加は、抗体を含まない内皮細胞、または無関係の抗体（例えば、MER TKに免疫特異的に結合しない抗体）を含む内皮細胞のMER TK活性（例えば、ヒトMER TK、またはヒトとマウスの両方のMER TK活性）に対して少なくとも3倍、4倍、5倍、6倍、

40

50

7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、または30 倍である。特定の実施形態では、MERTK 活性の増加は少なくとも50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、または100 %である。特定の実施形態では、MERTK 活性の増加は、後述する実施例3に記載されるように評価される。

【0256】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、MERTKへの結合について、Gas-6（例えば、ヒトGas-6）と競合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、Gas-6がMERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）へ結合するのを阻害する（例えば、完全に阻害するか、部分的にのみ阻害する）。いくつかの実施形態において、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、当業者に公知のまたは本明細書に記載のアッセイにより評価した場合に、内皮細胞上でGas-6（例えば、ヒトまたはマウスのGas-6）がMERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に結合するのを、85 %、80 %、75 %、70 %、65 %、60 %以上、55 %、50 %、45 %、40 %、35 %、30 %、25 %、20 %または10 %を超えて阻害する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片の存在下でのGas-6（例えば、ヒトGas-6）のMERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）への結合の阻害を評価するのに使用されるアッセイは、後述する実施例1に記載の抗体捕捉ELISAである。

【0257】

特定の実施形態では、内皮細胞におけるMERTKリン酸化のレベルは、後述する実施例3に記載されるようなホスホMERTK特異的ウエスタンブロッティングにより測定される。

【0258】

特定の実施形態では、内皮細胞上のMERTKリン酸化のレベルを促進する（すなわち、増加させる）本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、インビトロで癌細胞（例えば、乳癌細胞）上のMERTKリン酸化を促進しない（すなわち、増加させない）。特定の実施形態において、癌細胞におけるMERTKリン酸化のレベルは、後述する実施例3に記載されるようなホスホ-MERTK特異的ウエスタンブロッティングにより測定される。

【0259】

特定の実施形態では、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、癌細胞（例えば、乳癌細胞）の存在下、インビトロでMERTKを発現する内皮細胞の遊走を阻害する。いくつかの特定の実施形態において、内皮細胞の遊走は、本明細書に記載のおよび/または当業者に既知の方法によって評価した場合に、少なくとも10 %、20 %、30 %、35 %、40 %、50 %、または60 %阻害される。いくつかの特定の実施形態では、内皮細胞の遊走は、本明細書に記載のおよび/または当業者に知られている方法で評価した場合に、少なくとも40 %、45 %、50 %、55 %、または60 %阻害される。移動の程度は、本明細書に記載されているおよび/または当業者に知られている方法によって評価することができる。阻害は、抗体を含まないかまたは無関係の抗体（例えば、MERTKに免疫特異的に結合しない抗体）を含むMERTK発現内皮細胞の遊走の程度に対する相対的なものであってもよい。特定の実施形態では、内皮細胞の遊走を評価するのに使用されるアッセイは、後述する実施例2に記載されているトランスウェル遊走アッセイである。

【0260】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、内皮細胞の非存在下でのインビトロのトランスウェル遊走アッセイにおいて、多形膠芽腫細胞株 A 1 7 2 の遊走を阻害しない。

【0261】

特定の実施形態において、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍内の血管新生を阻害する。いくつかの実施形態では、血管新生の阻害は、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、55%、60%、65%、70%、または75%である。特定の実施形態では、血管新生の阻害は少なくとも50%、55%、60%、65%、または70%である。血管新生の阻害は、本明細書に記載のおよび/または当業者に知られている方法によって評価することができる。阻害は、抗体を含まないかまたは無関係の抗体（例えば、M E R T Kに免疫特異的に結合しない抗体）を含む場合の血管新生レベルに対する相対的なものであってもよい。特定の実施形態では、インビボで血管新生を評価するのに使用されるアッセイは、後述する実施例6に記載されている通りである。

10

【0262】

特定の実施形態では、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗M E R T K抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍（例えば、ヒト乳癌腫瘍）の進行を阻害する。腫瘍の進行の阻害は、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、または80%である。腫瘍の進行は、本明細書に記載のおよび/または当業者に知られている方法によって評価することができる。腫瘍の進行は、抗体を含まないかまたは無関係の抗体（例えば、M E R T Kに免疫特異的に結合しない抗体）を含む場合の腫瘍の状態に対する相対的なものであってもよい。特定の実施形態では、腫瘍の進行を評価するのに使用されるアッセイは、後述する実施例5および実施例8に記載されているマウス腫瘍移植モデルである。

20

【0263】

5.2. 抗体の製造

30

5.2.1. 抗体の製造およびスクリーニング

本明細書には、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する抗体またはその抗原結合断片を製造する方法も記載されている。

【0264】

本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、抗体の合成のための当該分野で公知の任意の方法、例えば、化学合成または組換え発現技術によって、製造することができる。本明細書に記載される方法は、特に明記しない限り、分子生物学、微生物学、遺伝子分析、組換えDNA、有機化学、生化学、PCR、オリゴヌクレオチドの合成および修飾、核酸ハイブリダイゼーション、および当業者の範囲内の関連分野における従来の技術を使用する。これらの技術は、例えば、本明細書で引用された参考文献に記載されており、文献で十分に説明されている。例えば、Maniatis T et al., (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J et al., (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J et al., (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM

40

50

et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987年および年次更新); Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987年および年次更新) Gait (ed.) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press; Birren B et al., (eds.) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照。

10

【0265】

特定の実施形態において、本明細書に記載の抗体は、例えば合成、遺伝子工学を介したDNA配列の作製を伴う任意の手段により調製、発現、作製または単離された抗体（例えば、組換え抗体）である。特定の実施形態では、そのような抗体は、動物または哺乳動物（例えば、ヒト）のインビボでの抗体生殖系列レパートリー内に天然に存在しないDNA配列によってコードされる配列を含む。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、ヒトMERTK（配列番号57）またはその細胞外ドメイン（配列番号58）を免疫原として使用することを含む方法によって作製される。

【0266】

特定の形態において、本明細書に記載の細胞または宿主細胞を培養することを含む、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作用する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片を作製する方法が本明細書に記載される。特定の形態において、本明細書に記載の細胞または宿主細胞（例えば、本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含む細胞または宿主細胞）を用いて、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片を発現させる（例えば、組換え発現させる）ことを含む、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作用する、抗MERTK抗体またはその抗原結合断片を作製する方法が本明細書に記載される。特定の実施形態では、細胞は単離された細胞である。特定の実施形態では、外因性ポリヌクレオチドが当該細胞に導入されている。特定の実施形態では、この方法は、細胞または宿主細胞から得られた抗体またはその抗原結合断片を精製する工程をさらに含む。

20

30

【0267】

ポリクローナル抗体を製造する方法は、当技術分野で知られている（例えば、第11章：Short Protocols in Molecular Biology, (2002)第5版、Ausubel FMら編、John Wiley and Sons、ニューヨークを参照）。

【0268】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術により製造される抗体に限定されない。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換え、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用などの当技術分野で知られている多種多様な技術を使用して作製することができる。例えば、モノクローナル抗体は、本明細書に記載の抗体またはその断片、例えばそのような抗体の軽鎖および/または重鎖を外因的に発現する宿主細胞から組換え的に製造することができる。クローン細胞株およびそれにより発現されるモノクローナル抗体の調製方法は、当技術分野で周知である（例えば、上述した、第11章：Short Protocols in Molecular Biology, (2002)第5版、Ausubel FMらを参照）。例えば、モノクローナル抗体は、Harlow E & Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerli

40

50

ng G J et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563 681 (Elsevier, NY, 1981); 及び Kohler G & Milstein C (1975) Nature 256: 495 に記載のように当技術分野で公知のハイブリドーマ技術を用いて製造され得る。ハイブリドーマ技術を用いて特定の抗体を製造およびスクリーニングする方法は、当技術分野において公知である。いくつかの実施形態では、マウス（またはラット、サル、ロバ、ブタ、ヒツジ、ハムスター、またはイヌなどの他の動物）を抗原（例えば、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK））で免疫することができる。そして、免疫反応が検出されると、例えば、抗原に特異的な抗体がマウス血清で検出されると、マウスの脾臓が採取され、脾臓細胞が単離される。次いで、脾臓細胞を周知の技術により、任意の適切な骨髓腫細胞、例えば、アメリカンタイプカルチャーコレクション（ATCC（登録商標））（マナッサス、バージニア州）から入手可能な細胞株SP20からの細胞に融合し、ハイブリドーマを形成する。ハイブリドーマは、限界希釈によって選択され、クローン化される。

10

20

30

40

50

【0269】

このように調製されたハイブリドーマ細胞は、好ましくは融合されていない親骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1つまたは複数の物質を含む適切な培地に播種されて増殖する。ハイブリドーマ細胞が増殖している培地を、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイする。所望の特異性、親和性、および/または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、標準的な方法（上述した Goding JW (Ed), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice）により、クローンをサブクローンし、増殖させ、培地から分離することができる。ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、当技術分野で知られている方法、例えば、免疫沈降法、または放射性免疫測定法（RIA）や酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）などのインビトロでの結合アッセイによって決定される。

【0270】

特定の実施形態において、単一細胞（例えば、組換え抗体を産生するハイブリドーマまたは宿主細胞）により産生されるモノクローナル抗体が本明細書に記載され、当該抗体は、例えば、当技術分野で公知の、または本明細書で提供される実施例1に記載のようなELISAまたは他の抗原結合アッセイまたは競合結合アッセイにより測定した場合に、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に免疫特異的に結合する。特定の実施形態では、モノクローナル抗体はキメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、一価抗体または多価（例えば、二価）抗体である。特定の実施形態では、モノクローナル抗体は単一特異性抗体または多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）である。

【0271】

本明細書に記載の抗体には、MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）を認識する抗体断片が含まれ、当業者に知られている任意の技術によって作製することができる。例えば、本明細書に記載のFabおよびF(ab')₂断片は、パパイン（Fab断片を生成する）またはペプシン（F(ab')₂断片を生成する）などの酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解により製造できる。Fab断片は、抗体分子の2つの同一アームの1つに対応し、重鎖のVHドメインおよびCH1ドメインと対になった完全な軽鎖を含む。F(ab')₂断片は、ヒンジ領域のジスルフィド結合により連結された抗体分子の2つの抗原結合アームを含む。

【0272】

さらに、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、当技術分野で公知の様々なファージディスプレイ法を使用して製造することもできる。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインを、それらをコードするポリヌクレオチド配列を運ぶファージ粒子

の表面に表示する。特に、VHドメインおよびVLドメインをコードするDNA配列は、動物のcDNAライブラリー（例えば、罹患組織のヒトまたはマウスのcDNAライブラリー）から増幅される。VHドメインおよびVLドメインをコードするDNAは、PCRによりscFvリンカーと組み換えられ、ファージミドベクターにクローニングされる。ベクターは大腸菌内にエレクトロポレートされ、大腸菌はヘルパーファージに感染する。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、fdおよびM13などの繊維状ファージであり、VHドメインおよびVLドメインは通常、ファージの遺伝子IIIまたは遺伝子VIIのいずれかに組換えにより融合される。特定の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、例えば、標識抗原または固体表面またはビーズに結合または捕捉された抗原を使用して、抗原で選択または特定することができる。本明細書に記載の抗体を作製するために使用できるファージディスプレイ法の例としては、Brinkman U et al., (1995) J Immunol Methods 182: 41-50; Ames RS et al., (1995) J Immunol Methods 184: 177-186; Kettlborough CA et al., (1994) Eur J Immunol 24: 952-958; Persic L et al., (1997) Gene 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280; PCT出願番号PCT/GB91/001134; 国際公開番号WO90/02809、WO91/10737、WO92/01047、WO92/18619、WO93/11236、WO95/15982、WO95/20401、およびWO97/13844、並びに米国特許第5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727、5,733,743および5,969,108号に記載のものがある。

10

20

30

40

50

【0273】

上記の参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ファージからの抗体コード領域を単離し、ヒト抗体などの抗体全体、またはその他の望ましい抗原結合断片を生成するために使用し、例えば、以下に説明するように、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌などのあらゆる望ましい宿主で発現させることができる。Fab、Fab'およびF(ab')₂断片などの抗体断片を組換えにより産生する技術も、PCT公開番号WO92/22324; Mullinax RL et al., (1992) BioTechniques 12(6): 864-9; Sawai H et al., (1995) Am J Reprod Immunol 34: 26-34; 及びBetter M et al., (1988) Science 240: 1041-1043に開示されているものなど、当技術分野で知られている方法を使用して実施可能である。

【0274】

一形態では、抗体全体を生成するために、VHヌクレオチド配列またはVLヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護する隣接配列を含むPCRプライマーを使用して、テンプレート、例えばscFvクローンからVH配列またはVL配列を増幅することができる。当業者に公知のクローニング技術を利用して、PCR増幅VHドメインをVH定常領域を発現するベクターにクローニングすることができ、PCR増幅VLドメインをVL定常領域、例えばヒトのカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローニングすることができる。VHドメインおよびVLドメインは、必要な定常領域を発現する1つのベクターにクローニングしてもよい。次いで、当業者に公知の技術を使用して、重鎖変換ベクターおよび軽鎖変換ベクターを細胞株に同時トランスフェクトして、完全長抗体、例えばIgGを発現する安定なまたは一過性の細胞株を生成する。

【0275】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリン分子に由来する分子である。例えば、キメラ抗体は、ヒト抗体の定常領域に融合したマウスまたはラットのモノクローナル抗体の可変領域を含むことができる。キメラ抗体を産生する方法は、当技術分野で知

られている。例えば、Morrison SL (1985) Science 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) BioTechniques 4: 214-221; Gillies SD et al., (1989) J Immunol Methods 125: 191-202; 並びに、米国特許第5,807,715号、4,816,567号、4,816,397号、および6,331,415号を参照。

【0276】

ヒト化抗体は、所定の抗原に結合することができ、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク領域と、非ヒト免疫グロブリン（例えば、マウス免疫グロブリン）のアミノ酸配列を実質的に有するCDRとを含む。特定の実施形態では、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含む。この抗体には、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3、およびCH4領域も含まれ得る。ヒト化抗体は、IgM、IgG、IgD、IgAおよびIgEなどの免疫グロブリンの任意のクラス、並びにIgG₁、IgG₂、IgG₃およびIgG₄などの任意のアイソタイプから選択され得る。ヒト化抗体は、CDRグラフティング（欧州特許第EP239400号、国際公開第WO91/09967号、並びに米国特許第5,225,539号、5,530,101号、および5,585,089号）、ペニアリングまたはリサーフェシング（欧州特許第EP592106号およびEP519596号; Padlan EA (1991) Mol Immunol 28(4/5): 489-498; Studnicka GM et al., (1994) Prot Eng 7(6): 805-814; および Roguska MA et al., (1994) PNAS 91: 969-973）、鎖シャッフリング（米国特許第5,565,332号）に開示されている技術や、例えば、米国特許第6,407,213号、米国特許第5,766,886号、国際公開第WO93/17105号; Tan P et al., (2002) J Immunol 169: 1119-25; Caldas C et al., (2000) Protein Eng. 13(5): 353-60; Morea V et al., (2000) Methods 20(3): 267-79; Baca M et al., (1997) J Biol Chem 272(16): 10678-84; Roguska MA et al., (1996) Protein Eng 9(10): 895-904; Couto JR et al., (1995) Cancer Res. 55(23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR et al., (1995) Cancer Res 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) Gene 150(2): 409-10及びPedersen JT et al., (1994) J Mol Biol 235(3): 959-73に記載の技術を含むが、これらに限定されない、当技術分野で公知の様々な技術を使用して産生することができる。参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国出願公開第US 2005/0042664 A1 (2005年2月24日)も参照されたい。

【0277】

多重特異性（例えば、二重特異性抗体）を作製する方法が開示されており、例えば、米国特許第7,951,917号; 7,183,076号; 8,227,577号; 5,837,242号; 5,989,830号; 5,869,620号; 6,132,992号および8,586,713号を参照。

【0278】

単ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠く抗体は、当技術分野で周知の方法により産生され得る。Riechmann L & Muyllderms S (1999) J Immunol 231: 25-38; Nuttall SD et al., (2000) Curr Pharm Biotechnol 1(3): 253-263; Muyllderms S, (2001) J Biotechnol 74(4): 277-302; 米国特許第6,005,079号; および国際公開第WO94/04678号、WO9

10

20

30

40

50

4 / 2 5 5 9 1 号および W O 0 1 / 4 4 3 0 1 号を参照。

【 0 2 7 9 】

さらに、M E R T K 抗原に免疫特異的に結合する抗体を利用して、当業者に周知の技術を使用して抗原を「模倣する」抗イディオタイプ抗体を作製することができる。(例えば、G r e e n s p a n N S & B o n a C A (1 9 8 9) F A S E B J 7 (5) : 4 3 7 - 4 4 4 ; および N i s s i n o f f A (1 9 9 1) J I m m u n o l 1 4 7 (8) : 2 4 2 9 - 2 4 3 8 を参照)。

【 0 2 8 0 】

特定の実施形態では、本明細書に記載の M E R T K アゴニスト抗体と同じかまたは重複する M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) のエピトープに結合する、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片である。特定の実施形態において、本明細書に記載の抗体のいずれか(例えば、M 6 または M 1 9) の M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) への結合を競合的に阻害する、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗 M E R T K 抗体またはその抗原結合断片である。ヒト抗体は、当該分野で公知の任意の方法を使用して産生され得る。例えば、機能的な内因性免疫グロブリンを発現できないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを使用できる。特に、ヒトの重鎖および軽鎖の免疫グロブリン遺伝子の複合体を、ランダムに、または相同組換えによりマウス胚性幹細胞に導入することができる。あるいは、ヒトの重鎖および軽鎖の遺伝子に加えて、ヒトの可変領域、定常領域、および多様性領域をマウス胚性幹細胞に導入することができる。マウスの重鎖および軽鎖の免疫グロブリン遺伝子については、相同組換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入とは別に、またはこれと同時にその機能を失わせることができる。特に、J_H 領域のホモ接合体の欠失により、内因性の抗体産生が阻害される。改変された胚性幹細胞は培養され、胚盤胞にマイクロインジェクションされて、キメラマウスが作られる。次に、キメラマウスを繁殖させて、ヒト抗体を発現するホモ接合の子世代を作製する。このトランスジェニックマウスは、選択された抗原、例えば抗原(例えば、M E R T K) の全部または一部を用いて通常の方法で免疫される。抗原に対するモノクローナル抗体は、従来のハイブリドーマ技術を使用して、免疫トランスジェニックマウスから取得することができる。トランスジェニックマウスが保有するヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B 細胞の分化中に再配列し、その後クラススイッチングおよび体細胞変異を受ける。したがって、そのような技術を使用して、治療的に有用な I g G、I g A、I g M および I g E 抗体を産生することが可能である。ヒト抗体を産生するためのこの技術の概要については、例えば、L o n b e r g N & H u s z a r D (1 9 9 5) I n t R e v I m m u n o l 1 3 : 6 5 - 9 3 を参照。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのこの技術およびそのような抗体を産生するためのプロトコルの詳細な議論については、例えば、国際公開第 W O 9 8 / 2 4 8 9 3、W O 9 6 / 3 4 0 9 6 および W O 9 6 / 3 3 7 3 5 および米国特許第 5, 4 1 3, 9 2 3、5, 6 2 5, 1 2 6、5, 6 3 3, 4 2 5、5, 5 6 9, 8 2 5、5, 6 6 1, 0 1 6、5, 5 4 5, 8 0 6、5, 8 1 4, 3 1 8 および 5, 9 3 9, 5 9 8 を参照。ヒト抗体を産生できるマウスの例には、X e n o m o u s e (商標) (A b g e n i x、I n c.; 米国特許第 6, 0 7 5, 1 8 1 および 6, 1 5 0, 1 8 4)、H u A b - M o u s e (商標) (M e d e r e x、I n c. / G e n P h a r m; 米国特許第 5, 5 4 5, 8 0 6 および 5, 5 6 9, 8 2 5)、T r a n s C h r o m o M o u s e (商標) (キリン) および K M M o u s e (商標) (M e d a r e x / K i r i n) がある。

【 0 2 8 1 】

M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に特異的に結合するヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリーを使用した上記のファージディスプレイ法などの、当技術分野で知られているさまざまな方法で作製できる。米国特許第 4, 4 4 4, 8 8 7 号、第 4, 7 1 6, 1 1 1 号、および第 5, 8 8 5, 7 9 3 号; および国際公開第 W O 9 8 / 4 6 6 4 5、W O 9 8 / 5 0 4 3 3

10

20

30

40

50

、WO 98 / 2 4 8 9 3、WO 98 / 1 6 6 5 4、WO 96 / 3 4 0 9 6、WO 96 / 3 3 7 3 5、およびWO 91 / 1 0 7 4 1も参照。

【0282】

いくつかの実施形態では、マウス - ヒトハイブリドーマを使用してヒト抗体を産生することができる。たとえば、エプスタイン - バーウイルス (EBV) で形質転換されたヒト末梢血リンパ球をマウス骨髄腫細胞と融合させて、ヒトモノクローナル抗体を分泌するマウス - ヒトハイブリドーマを作製し、これらのマウス - ヒトハイブリドーマをスクリーニングして、標的抗原 (例えば、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK)) に免疫特異的に結合するヒトモノクローナル抗体を分泌するものを決定することができる。そのような方法は知られており、当技術分野で開示されている。例えば、Shinmoto H et al., (2004) Cytotechnology 46:19-23; Naganawa Y et al., (2005) Human Antibodies 14:27-31を参照。

10

【0283】

特定の実施形態では、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK) に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗体またはその抗原結合断片を産生する方法は、後述する実施例1に記載されている。

【0284】

特定の実施形態では、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK) に特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する抗体またはその抗原結合断片をスクリーニングおよび選択する方法は、後述する実施例1に記載されている。

20

【0285】

本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片が産生されると、免疫グロブリン分子を精製するための当技術分野で公知の任意の方法、例えばクロマトグラフィー (例えば、イオン交換、アフィニティー、特に、プロテインA後の特定の抗原に対するアフィニティー、およびサイズカラムクロマトグラフィー)、遠心分離、示差溶解度、またはタンパク質精製のためのその他の標準的な手法により精製することができる。さらに、本明細書に記載の抗体は、精製を促進するために、本明細書に記載されるかまたは当技術分野で公知の異種ポリペプチド配列に融合させることができる。

30

【0286】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、単離または精製される。一般的に、単離された抗体は、単離された抗体とは異なる抗原特異性を持つ他の抗体を実質的に含まない抗体である。例えば、特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体の調製物は、細胞物質および/または化学前駆体を実質的に含まない。

「細胞物質を実質的に含まない」という用語には、抗体が単離または組換え生産される細胞の細胞成分から分離されている抗体の調製物が含まれる。したがって、細胞物質を実質的に含まない抗体には、およそ30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5%、または0.1% (乾燥重量) 未満の異種のタンパク質 (本明細書では「混入タンパク質」とも呼ばれる) および/または抗体の変異体、例えば抗体の異なる翻訳後修飾の形態または他の異なる抗体のバージョン (例えば、抗体断片) を有する抗体の調製物が含まれる。抗体が組換えにより産生される場合、それはまた、一般に培地を実質的に含まない、すなわち、培地はタンパク質調製物の体積のおよそ20%、10%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満を占める。抗体が化学合成により生成される場合、それは一般に化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない、すなわち、タンパク質の合成に関与する化学前駆体または他の化学物質から分離される。したがって、抗体のそのような調製物は、対象の抗体以外の化学前駆体または化合物をおよそ30%、20%、10%、または5% (乾燥重量で) 未満で有する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は単離または精製されている。

40

【0287】

50

5.2.2 ポリヌクレオチド

MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）の抗原に免疫特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片（例えば、可変軽鎖領域および/または可変重鎖領域）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、並びに、ベクター、例えば、当該ポリヌクレオチドの宿主細胞（例えば、大腸菌および哺乳動物細胞）における効率的な発現のためのポリヌクレオチドを含むベクターもまた、本明細書に開示される。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは単離または精製されている。

【0288】

本明細書で使用される「単離された」ポリヌクレオチドまたは核酸分子は、核酸分子の天然源に（例えば、マウスまたはヒトに）存在する他の核酸分子から分離されたものである。さらに、cDNA分子などの「単離された」核酸分子は、組換え技術によって産生される場合には他の細胞物質または培地を実質的に含まないか、または、化学合成される場合には化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。例えば、「実質的に含まない」という用語には、およそ15%、10%、5%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満の他の物質、例えば細胞物質、培地、他の核酸分子、化学前駆体および/または他の化学物質、を有するポリヌクレオチドまたは核酸分子の調製物が含まれる。

【0289】

特定の形態において、MERTKポリペプチド（例えば、ヒトMERTK）に免疫特異的に結合し、本明細書に記載のアミノ酸配列を含む抗体またはその抗原結合断片、並びに、MERTKポリペプチドへの結合についてこのような抗体と（例えば、用量依存的に）競合するか、またはこのような抗体のエピトープと同じかまたは重複するエピトープに結合する抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に開示される。

【0290】

特定の形態において、本明細書に記載の抗体の軽鎖または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に記載される。ポリヌクレオチドは、本明細書に記載のVH CDR（例えば、表1および表3を参照）を含む重鎖をコードするヌクレオチド配列を含むことができる。ポリヌクレオチドは、本明細書に記載のVL CDR（例えば、表2および表4を参照）を含む軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含むことができる。

【0291】

特定の実施形態において、例えば表1または表3に記載のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含む3つのVH鎖CDRを含むMERTKアゴニスト抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に開示される。特定の実施形態では、例えば表2または表4に記載のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含む3つのVL鎖CDRを含むMERTKアゴニスト抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に開示される。特定の実施形態において、例えば表1または表3に記載のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含む3つのVH鎖CDR、並びに、例えば表2および表4に記載のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含む3つのVL鎖CDRを含むMERTKアゴニスト抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に記載される。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M6のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3（すなわち、配列番号1、6、および11；配列番号2、7および12；配列番号3、8、および11；配列番号4、9、および13；配列番号5、10、および14；または配列番号3、6、および11）をコードする。特定の実施形態において、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M6のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3（すなわち、配列番号15、19、および22；配列番号16、20、および23；配列番号17、21、および24；または配列番号18、20、および22）をコードする。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリ

10

20

30

40

50

ヌクレオチドは、M 6 の V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 (すなわち、配列番号 1、6、および 1 1 ; 配列番号 2、7 および 1 2 ; 配列番号 3、8、および 1 1 ; 配列番号 4、9、および 1 3 ; 配列番号 5、1 0、および 1 4 ; または配列番号 3、6、および 1 1)、並びに、3 つの M 6 の V L C D R (すなわち、配列番号 1 5、1 9、および 2 2 ; 配列番号 1 6、2 0、および 2 3 ; 配列番号 1 7、2 1、および 2 4 ; または配列番号 1 8、2 0、および 2 2) をコードする。

【 0 2 9 2 】

特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M 1 9 の V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 (すなわち、配列番号 2 5、3 0、および 3 5 ; 配列番号 2 6、3 1、および 3 6 ; 配列番号 2 7、3 2、および 3 5 ; 配列番号 2 8、3 3、および 3 7 ; 配列番号 2 9、3 4、および 3 8 ; または配列番号 2 7、3 0、および 3 5) をコードする。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M 1 9 の V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 (例えば、配列番号 3 9、4 3、および 4 6 ; 配列番号 4 0、4 4、および 4 7 ; 配列番号 4 1、4 5、および 4 8 ; または配列番号 : 4 2、4 4、および 4 6) をコードする。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M 1 9 の 3 つの V H C D R (すなわち、配列番号 2 5、3 0、および 3 5 ; 配列番号 2 6、3 1、および 3 6 ; 配列番号 2 7、3 2、および 3 5 ; 配列番号 2 8、3 3、または 3 7 ; 配列番号 2 9、3 4、および 3 8 ; または配列番号 2 7、3 0、および 3 5)、並びに、M 1 9 の 3 つの V L C D R (すなわち、配列番号 3 9、4 3、および 4 6 ; 配列番号 : 4 0、4 4、および 4 7 ; 配列番号 4 1、4 5、および 4 8 ; または配列番号 : 4 2、4 4、および 4 6) をコードする。

10

20

【 0 2 9 3 】

特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、本明細書に記載のアミノ酸配列 (配列番号 4 9 または 5 1) を含む重鎖可変領域を含む本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、当該抗体は M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合する。特定の実施形態において、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、本明細書に記載のアミノ酸配列 (配列番号 5 0 または 5 2) を含む軽鎖可変領域を含む本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、当該抗体は M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合する。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、当該抗体は M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合する。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む本明細書に記載の抗 M E R T K 抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、当該抗体は M E R T K (例えば、ヒト M E R T K、またはヒトおよびマウスの両方の M E R T K) に免疫特異的に結合する。

30

【 0 2 9 4 】

特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、配列番号 5 3 または配列番号 5 5 の核酸配列を含む V H をコードする。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、配列番号 5 4 または配列番号 5 6 の核酸配列を含む V L をコードする。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、配列番号 5 3 の核酸配列を含む V H、および配列番号 5 4 の核酸配列を含む V L をコードする (例えば、M 6)。別の特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、配列番号 5 5 の核酸配列を含む V H、および配列番号 5 6 の核酸配列を含む V L をコードする (例えば、M 1 9)。

40

【 0 2 9 5 】

特定の形態において、軽鎖および重鎖、例えば別個の軽鎖および重鎖を含む抗体をコー

50

ドするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に開示される。軽鎖に関して、特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、カップ軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む。別の特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、ラムダ軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む。さらに別の特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、ヒトカップ軽鎖またはヒトラムダ軽鎖を含む本明細書に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動する、本明細書に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、当該抗体は軽鎖を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、配列番号50または配列番号52のいずれかのアミノ酸配列を含むことができ、当該軽鎖の定常領域はヒトカップ軽鎖の定常領域を含む。別の特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、M E R T K（例えば、ヒトM E R T K、またはヒトおよびマウスの両方のM E R T K）に免疫特異的に結合し、内皮細胞のM E R T Kシグナル伝達を作動し、軽鎖を含む、本明細書に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、当該軽鎖の可変領域のアミノ酸配列は、配列番号50または配列番号52のいずれかのアミノ酸配列を含むことができ、軽鎖の定常領域はヒトラムダ軽鎖の定常領域のアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0296】

特定の実施形態では、本明細書に記載のM E R T Kアゴニスト抗体またはその抗原結合断片（例えば、V Hドメインおよび/またはV Lドメイン）をコードする最適化されたポリヌクレオチド配列は、本明細書に記載のM E R T Kアゴニスト抗体またはその抗原結合断片（例えば、V Hドメインおよび/またはV Lドメイン）をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンス（例えば、相補的な）ポリヌクレオチドにハイブリダイズできる。特定の実施形態では、本明細書に記載のM E R T Kアゴニスト抗体または抗原結合断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書に記載のM E R T Kアゴニスト抗体またはその抗原結合断片をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンスポリヌクレオチドに高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする。特定の実施形態では、本明細書に記載のM E R T Kアゴニスト抗体またはその抗原結合断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書に記載のM E R T Kアゴニスト抗体またはその抗原結合断片をコードする最適化されていないヌクレオチド配列のアンチセンスポリヌクレオチドに高ストリンジェンシー、中または低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドはコドン最適化されている。ハイブリダイゼーション条件に関する情報は開示されており、例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2005/0048549号（例えば、段落72～73）を参照。

【0297】

当該分野で公知の任意の方法によって、ポリヌクレオチドが得られ、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が決定され得る。本明細書に記載の抗体およびこれらの抗体の修飾バージョンをコードするヌクレオチド配列は、当技術分野で周知の方法を使用して決定できる、すなわち、特定のアミノ酸をコードすることが知られているヌクレオチドコдонは、抗体をコードする核酸を生成するように組み立てられる。抗体をコードするようなポリヌクレオチドは、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから組み立てることができ（例えば、K u t m e i e r G e t a l . , (1 9 9 4) 、 B i o T e c h n i q u e s 17:242-6に記載されている）、簡単に言えば、抗体をコードする配列の部分を含有するオリゴヌクレオチドを重複させ、それらのオリゴヌクレオチドをアニーリングおよびライゲーションし、そしてライゲーションされたオリゴヌクレオチドをP C Rにより増幅する。

【0298】

あるいは、本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドは、当技術分野で周知の方法（例えば、P C Rおよび他の分子クローニング法）を使用して、適切な供給源（例

えば、ハイブリドーマ)からの核酸から生成できる。例えば、既知の配列の3'および5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したPCR増幅は、目的の抗体を産生するハイブリドーマ細胞から得られたゲノムDNAを使用して実行することができる。そのようなPCR増幅法を使用して、抗体の軽鎖および/または重鎖をコードする配列を含む核酸を得ることができる。そのようなPCR増幅法を使用して、抗体の可変軽鎖領域および/または可変重鎖領域をコードする配列を含む核酸を得ることができる。増幅された核酸は、例えばキメラ抗体およびヒト化抗体を作製するために、宿主細胞での発現およびさらなるクローニングのためにベクターにクローニングすることができる。

【0299】

特定の抗体をコードする核酸を含むクローンが入手できないが、抗体分子の配列がわかっている場合には、当該免疫グロブリンをコードする核酸を化学的に合成するか、または適切な供給源(例えば、抗体cDNAライブラリーまたは、本明細書に記載の抗体を発現するために選択されたハイブリドーマ細胞などの抗体を発現する組織または細胞から作製され、または核酸、好ましくはポリA+RNA、もしくは単離されたcDNAライブラリー)から、配列の3'および5'にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したPCR増幅により、または、例えば当該抗体をコードするcDNAライブラリーからのcDNAクローンを同定するための特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用したクローニングにより、取得することができる。次いで、PCRにより生成された増幅核酸は、当該分野で周知の任意の方法を使用して複製可能なクローニングベクター中にクローニングされ得る。

【0300】

本明細書に記載のMERTKアゴニスト抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して(例えば、MERTKアゴニスト抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより)、容易に単離および配列決定することができる。ハイブリドーマ細胞は、このようなDNAの供給源として機能し得る。単離されると、DNAは発現ベクター中に導入され、これはその後、他の方法では免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(例えば、CHO GSシステム(商標)(ロンザ)からのCHO細胞)、または骨髓腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトされ、組換え宿主細胞においてMERTKアゴニスト抗体の合成を行う。

【0301】

抗体全体を作製するには、VHまたはVLのヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護する隣接配列を含むPCRプライマーを使用して、scFvクローンのVH配列またはVL配列を増幅することができる。当業者に公知のクローニング技術を利用して、PCR増幅VHドメインを重鎖定常領域、例えばヒトガンマ4定常領域を発現するベクターにクローニングすることができ、PCR増幅VLドメインを軽鎖定常領域、例えば、ヒトのカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローニングすることができる。特定の実施形態では、VHまたはVLドメインを発現するためのベクターは、プロモーター、分泌シグナル、可変ドメインのクローニング部位、定常ドメイン、および選択マーカーを含む。VHおよびVLドメインは、必要な定常領域を発現する1つのベクターにクローニングすることもできる。重鎖変換ベクターおよび軽鎖変換ベクターは、当業者に公知の技術を用いて、完全長の抗体(例えば、IgG)を発現する安定したまたは一過性の細胞株を生成する細胞株に同時トランスフェクトされる。

【0302】

DNAは、例えば、マウス配列の代わりにヒトの重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列で置換することにより、または非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部または一部を免疫グロブリンコード配列に共有結合により連結することにより修飾することもできる。

【0303】

本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドに、高ストリンジェンシー、中ス

10

20

30

40

50

トリンジェンシーまたは低ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドもまた、本明細書に開示される。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、高ストリンジェンシー、中または低ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下で、本明細書で提供されるVH（配列番号49もしくは51）および/またはVL（配列番号50もしくは52）をコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズする。

【0304】

ハイブリダイゼーション条件は当該分野で開示されており、当業者に知られている。例えば、ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションには、約45 °Cでの6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム（SSC）中のフィルター結合DNAへのハイブリダイゼーションと、それに続く約50～65 °Cでの0.2×SSC/0.1%SDS中での1回以上の洗浄が含まれ得る；高ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションには、約45 °Cでの6×SSC中のフィルター結合核酸へのハイブリダイゼーションと、それに続く約68 °Cでの0.1×SSC/0.2%SDS中での1回以上の洗浄が含まれ得る。他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でのハイブリダイゼーションは当業者に公知で、開示されており、例えば、Ausubel FM et al., eds., (1989) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. および John Wiley & Sons, Inc., ニューヨーク、6.3.1-6.3.6 および 2.10.3 ページを参照。

【0305】

特定の実施形態では、薬物部分は、抗体部分の1つまたは複数の鎖のN末端またはC末端に（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合したペプチドまたはタンパク質である。例えば、抗体部分がscFvである場合、薬物部分はscFvのN末端またはC末端で（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができる。特定の実施形態では、抗体部分が多鎖抗体またはその抗原結合断片である場合、薬物部分は抗体部分の鎖の1つに（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができる。免疫グロブリンである抗体の場合、特定の実施形態では、両方の重鎖を薬物部分に（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができ、および/または両方の軽鎖をリンカー-薬物部分に（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができる。そのような特定の実施形態では、薬物部分および抗体部分またはその鎖、並びに薬物部分と抗体部分との間のリンカー（存在する場合）から構成される融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書で提供される。そのようなポリヌクレオチドは、抗MERTK抗体について上述したのと同じ方法を使用して生成および単離することができる。

【0306】

5.2.3 細胞およびベクター

宿主細胞、好ましくは哺乳動物細胞での組換え発現のためのMERTKアゴニスト抗体またはその抗原結合断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含むベクター（例えば、発現ベクター）も本明細書に開示される。本明細書に記載のMERTKアゴニスト抗体またはその抗原結合断片（例えば、ヒト抗体またはヒト化抗体）を組換え発現するためのそのようなベクターを含む宿主細胞も本明細書に開示される。

【0307】

MERTK（例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体（例えば、本明細書に記載の全長抗体、抗体の重鎖および/もしくは軽鎖、または単鎖抗体）の組換え発現は、当該抗体をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターの構築を伴う。本明細書に記載の抗体分子、抗体の重鎖および/または軽鎖、またはその抗原結合断片（例えば重鎖および/または軽鎖可変領域）をコードするポリヌクレオチドが得られたら、当該技術分野で周知の技術を使用する組

換えDNA技術によって当該抗体分子の産生のためのベクターを作製することができる。したがって、抗体または抗体断片（例えば、軽鎖または重鎖）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを発現させることによりタンパク質を調製する方法が本明細書に開示される。当業者に周知の方法を使用して、抗体または抗体断片（例えば、軽鎖または重鎖）をコードする配列および適切な転写および翻訳制御シグナルを含む発現ベクターを構築することができる。これらの方法には、例えば、インビトロ組換えDNA技術、合成技術、およびインビボ遺伝子組換えが含まれる。プロモーターに作動可能に連結された、本明細書に記載の抗体分子、抗体の重鎖または軽鎖、抗MERTK抗体の重鎖または軽鎖可変ドメインまたはその抗原結合断片、あるいは重鎖または軽鎖のCDRをコードするヌクレオチド配列を含む複製可能なベクターも本明細書に開示される。そのようなベクターは、例えば、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列（例えば、国際公開第WO86/05807およびWO89/01036；並びに米国特許第5,122,464号を参照）を含むことができ、重鎖全体、軽鎖全体、または重鎖および軽鎖の両方の全体の発現のために抗体の可変ドメインをそのようなベクターにクローニングすることができる。

10

【0308】

発現ベクターは、従来の技術によって細胞（例えば、宿主細胞）に移され、次いで、得られた細胞は、従来の技術によって培養されて、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片を産生し得る。したがって、宿主細胞における配列の発現のためのプロモーターに作動可能に連結された、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片、またはその重鎖もしくは軽鎖、またはその断片、または本明細書に記載の単鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞が本明細書に開示される。本明細書で使用される場合、「宿主細胞」との用語は、任意のタイプの細胞、例えば、初代細胞、培養中の細胞、または細胞株由来の細胞であり得る。特定の実施形態では、「宿主細胞」という用語は、ある核酸分子でトランスフェクトされた細胞およびそのような細胞の子孫または潜在的な子孫を意味する。そのような細胞の子孫は、例えば後続の世代または核酸分子の宿主細胞ゲノムへの組み込みで起こり得る突然変異または環境の影響により、核酸分子でトランスフェクトされた親細胞と同一ではなくてもよい。

20

【0309】

様々な宿主-発現ベクターシステムを利用して、本明細書に記載の抗体分子を発現させることができる。そのような宿主-発現システムは、それによって目的のコード配列が産生されてその後精製され得る媒体を意味するが、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換またはトランスフェクトすると、本明細書に記載の抗体分子をインサイチュで発現できる細胞も意味する。これらには、例えば、抗体をコードする配列を含む組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNAまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌（例えば、大腸菌および枯草菌）；抗体をコードする配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、サッカロミセス・ピキア）；抗体をコードする配列を含む組換えウイルス（例えば、バキュロウイルス）発現ベクターに感染した昆虫細胞システム；抗体をコードする配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）に感染した、または、抗体をコードする配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞システム（例えば、クラミドモナス・ラインハーディなどの緑藻）；あるいは、哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）、または哺乳動物ウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）を含む組換え発現コンストラクトを保有する哺乳動物細胞システム（例えば、COS（例えば、COS1またはCOS）、CHO、BHK、MDCK、HEK293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa、およびNIH3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20およびBMT10細胞）があるがこれらに限定されない。特定の実施形態

30

40

50

では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片を発現する細胞は、CHO細胞、例えばCHO GS System (商標) (ロンザ)からのCHO細胞である。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体を発現するための細胞は、ヒト細胞、例えばヒト細胞株である。特定の実施形態では、哺乳動物発現ベクターはpOptiVEC (商標)またはpcDNA3.3である。特定の実施形態では、特に全長の組換え抗体分子の発現のために、大腸菌などの細菌細胞または真核細胞 (例えば、哺乳動物細胞) が組換え抗体分子の発現に使用される。例えば、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞などの哺乳類細胞は、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要な中間初期遺伝子プロモーター要素などのベクターと組み合わせると、抗体の効果的な発現システムである (Foeckling M K & Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5; および Cockett M I et al., (1990) Biotechnology 8 (7): 662-7)。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、CHO細胞またはNS0細胞によって産生される。特定の実施形態では、MERTK (例えば、ヒトMERTK、またはヒトおよびマウスの両方のMERTK) に免疫特異的に結合し、内皮細胞のMERTKシグナル伝達を作動する本明細書に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列の発現は、構成的プロモーター、誘導性プロモーターまたは組織特異的により調節される。

【0310】

細菌系では、発現される抗体分子の用途に応じて、多くの発現ベクターを有利に選択できる。例えば、抗体分子の医薬組成物の製造のために、そのような抗体を大量に生産する場合、容易に精製される高レベルの融合タンパク質産物の発現を指示するベクターが望ましい場合がある。このようなベクターとしては、以下に制限されないが、大腸菌発現ベクターpUR278 (Ruethe U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794) (ここで抗体コード配列は、lacZコード領域とインフレームになるように個別にベクターにライゲーションすることができ、これにより融合タンパク質が産生される); pINベクター (Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 264: 5503-5509) などが挙げられる。例えば、pGEXベクターを使用して、外来ポリペプチドをグルタチオン5-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として発現させることもできる。一般に、そのような融合タンパク質は可溶性であり、マトリックスグルタチオンアガロースビーズへの吸着および結合と、それに続く遊離グルタチオンの存在下での溶出により溶解細胞から容易に精製することができる。pGEXベクターはトロピンまたはXa因子によるプロテアーゼ切断部位を含むように設計されているため、クローニングされた標的遺伝子産物はGST部分から放出される。

【0311】

昆虫系では、例えば、オートグラフィア・カリフォルニア核多角体病ウイルス (AcNPV) をベクターとして使用して外来遺伝子を発現させることができる。ウイルスはスポドプテラ・フルギブルダの細胞で増殖する。抗体をコードする配列は、ウイルスの非必須領域 (例えば、ポリヘドリン遺伝子) に個別にクローニングし、AcNPVプロモーター (例えば、ポリヘドリンプロモーター) の制御下に置くことができる。

【0312】

哺乳動物宿主細胞では、多くのウイルスベースの発現システムを利用できる。アデノウイルスを発現ベクターとして使用する場合には、目的の抗体をコードする配列をアデノウイルス転写/翻訳制御複合体、例えば後期プロモーターおよび三分節リーダー配列に連結することができる。次いで、このキメラ遺伝子は、インビトロまたはインビボでの組換えによりアデノウイルスゲノムに挿入され得る。ウイルスゲノムの非必須領域 (例えば、領域E1またはE3) に挿入すると、生存可能であり感染宿主で抗体分子を発現し得る組換えウイルスが得られる (例えば、Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81 (12): 3655-9を参照)。挿入された抗体コーディング配列の効率的な翻訳には、特定の開始シグナルも必要になる場合がある。これらのシグナルとしては、AT

G 開始コドンおよび隣接配列が挙げられる。さらに、開始コドンは、挿入物全体の翻訳を確実にするために、所望のコード配列のリーディングフレームと同相でなければならない。これらの外因性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、天然および合成の両方のさまざまな起源のものであり得る。発現の効率は、適切な転写エンハンサー要素、転写ターミネーターなどを含めることによって高めることができる（例えば、Bitter G et al., (1987) Methods Enzymol. 153: 516-544 を参照）。

【0313】

加えて、挿入された配列の発現を調節するか、または所望の特定の様式で遺伝子産物を修飾およびプロセッシングする宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のそのような修飾（例えば、グリコシル化）およびプロセッシング（例えば、切断）は、タンパク質の機能にとって重要であり得る。異なる宿主細胞には、タンパク質および遺伝子産物の翻訳後プロセッシングおよび修飾のための特徴的かつ特定のメカニズムがある。適切な細胞株または宿主システムを選択して、発現された外来タンパク質の正しい修飾および処理を保証することができる。この目的のために、遺伝子産物の一次転写物の適切なプロセッシング、グリコシル化、およびリン酸化のための細胞機構を保有する真核生物宿主細胞を使用することができる。そのような哺乳動物宿主細胞としては、以下に限定されないが、CHO、VERO、BHK、HeLa、MDCK、HEK293、NIH3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT2OおよびT47D、NS0（免疫グロブリン鎖を内因的に産生しないマウス骨髄腫細胞株）、CRL7030、COS（例えば、COS1またはCOS）、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10およびHsS78Bst細胞が挙げられる。特定の実施形態では、本明細書に記載のMERTKアゴニスト抗体は、CHO細胞などの哺乳動物細胞で産生される。

【0314】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、フコース含量が低いか、またはフコースを含有しない。そのような抗体は、当業者に知られている技術を使用して産生することができる。例えば、当該抗体は、フコシル化する能力を欠損しているかまたは欠如している細胞で発現され得る。特定の例では、1,6-フコシルトランスフェラーゼの両方の対立遺伝子のノックアウトを有する細胞株を使用して、フコース含量が低下した抗体またはその抗原結合断片を産生することができる。ポテリジェント（登録商標）システム（ロンザ）は、フコース含量が減少した抗体またはその抗原結合断片を作製するのに使用することができるシステムの一例である。

【0315】

組換えタンパク質の長期にわたる高収量での生産のために、安定した発現細胞を作製することができる。例えば、本明細書に記載のMERTKアゴニスト抗体またはその抗原結合断片を安定して発現する細胞株を作製することができる。特定の実施形態では、本明細書に記載の細胞は、会合して本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片を形成する軽鎖/軽鎖可変ドメインおよび重鎖/重鎖可変ドメインを安定に発現する。

【0316】

特定の形態では、ウイルスの複製起点を含む発現ベクターを使用するのではなく、適切な発現制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）、および選択可能なマーカーによって制御されたDNAで宿主細胞を形質転換することができる。外来DNA/ポリヌクレオチドの導入後、作製された細胞を濃縮培地で1~2日間増殖させ、その後選択培地に切り替える。組換えプラスミドの選択マーカーは、選択に対する耐性を付与し、細胞がプラスミドを染色体に安定して組み込み、増殖して増殖巣を形成することを可能にし、この増殖巣はその後クローニングされ細胞株で増殖し得る。この方法は、本明細書に記載のMERTKアゴニスト抗体またはその抗原結合断片を発現する細胞株を作製するために有利に使用され得る。そのよ

うな作製された細胞株は、抗体分子と直接または間接的に相互作用する組成物のスクリーニングおよび評価に特に有用であり得る。

【0317】

これらに限定されないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (Wigler M et al., (1977) Cell 11(1): 223-32)、ヒボキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034) およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Lowy I et al., (1980) Cell 22(3): 817-23) の遺伝子などの多くの選択システムが、それぞれ tk 細胞、hgprt 細胞、または aprt 細胞で用いられ得る。また、代謝拮抗剤耐性は、以下の遺伝子の選択の基礎として用いられ得る：メトトレキサートに対する耐性を付与する dhfr (Wigler M et al., (1980) PNAS 77(6): 3567-70; O'Hare K et al., (1981) PNAS 78: 1527-31); ミコフェノール酸に対する耐性を付与する gpt (Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6); アミノグリコシド G-418 に対する耐性を付与する neo (Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596; Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932; および Morgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62: 191-217; Nabel GJ & Felgner PL (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-5); およびハイグロマイシンに対する耐性を付与する hygromycin (Santerre RF et al., (1984) Gene 30(1-3): 147-56)。組換え DNA 技術の分野で一般的に知られている方法は、所望の組換えクローンを選択するために日常的に適用でき、そのような方法は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ausubel FM et al., (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, ニューヨーク (1993); Kriegl M, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); Dracopoli NC et al. (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994) の第 12 章および第 13 章; Colbere-Garapin F et al., (1981) J Mol Biol 150: 1-14 に開示されている。

【0318】

抗体分子の発現レベルは、ベクターの増幅によって増加させることができる (レビューについては、Bebbington CR & Hentschel CCG, DNA クロニングにおける哺乳動物細胞でのクローン化遺伝子の発現のための遺伝子増幅に基づくベクターの使用、Vol. 3 (アカデミックプレス、ニューヨーク、1987年))。抗体を発現するベクター系のマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物中に存在する阻害剤のレベルが増加すると、マーカー遺伝子のコピー数が増加する。増幅領域は抗体遺伝子に関連しているため、抗体の産生も増加する (Crouse GF et al., (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66)。

【0319】

宿主細胞は、本明細書に記載の 2 つ以上の発現ベクターである、重鎖由来ポリペプチドをコードする第 1 ベクターおよび軽鎖由来ポリペプチドをコードする第 2 ベクターで同時トランスフェクトすることができる。2 つのベクターは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの同等の発現を可能にする同一の選択マーカーを含むことができる。宿主細胞は、異なる量の 2 つ以上の発現ベクターで同時トランスフェクトすることができる。例えば、宿主細胞は、以下の比率のいずれかで第 1 の発現ベクターと第 2 の発現ベクターとをトランスフェ

クトすることができる：1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：12、1：15、1：20、1：25、1：30、1：35、1：40、1：45、または1：50。

【0320】

あるいは、重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドの両方をコードし、発現することができる単一のベクターを使用することができる。このような発現ベクターでは、両方の遺伝子の転写が共通のプロモーターによって駆動され、その一方で、第1の遺伝子からのmRNAの翻訳はキャップ依存性のスキャン機構によることができ、第2の遺伝子からのmRNAの翻訳はキャップに依存しないメカニズム、例えば、IRESによることができる。

10

【0321】

特定の実施形態では、薬物部分は、抗体部分の1つまたは複数の鎖のN末端またはC末端に（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合したペプチドまたはタンパク質である。例えば、抗体部分がscFvである場合、薬物部分はscFvのN末端またはC末端で（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができる。特定の実施形態では、抗体部分が多鎖抗体またはその抗原結合断片である場合、薬物部分は抗体部分の鎖の1つに（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができる。免疫グロブリンである抗体の場合、特定の実施形態では、両方の重鎖を薬物部分に（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができ、および/または両方の軽鎖を薬物部分に（直接または、ペプチドもしくはタンパク質であるリンカーを介して）融合することができる。そのような特定の実施形態においては、宿主細胞、好ましくは哺乳動物細胞での組換え発現のために、薬物部分および抗体部分またはその鎖、および薬物部分と抗体部分との間のリンカー（存在する場合）から構成される融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含むベクター（例えば発現ベクター）が本明細書で提供される。また、薬物部分および抗体部分またはその鎖、および薬物部分と抗体部分との間のリンカー（存在する場合）から構成される融合タンパク質を組換えにより発現するためのそのようなベクターを含むエクスピボ宿主細胞も本明細書により提供される。そのようなベクターおよびエクスピボ宿主細胞の特徴および作製方法は、抗MERTK抗体について上述したものと同じであり得る。また、本明細書では、融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが当該エクスピボ宿主細胞によって発現されて融合タンパク質を産生するような条件下でこのようなエクスピボ宿主細胞を培養することを含む、薬物部分および抗体部分またはその鎖、および薬物部分と抗体部分との間のリンカー（存在する場合）から構成される融合タンパク質を製造する方法もまた提供される。

20

30

【0322】

5.3. 抗体薬物コンジュゲートの機能特性

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体薬物コンジュゲートは、インビトロでMERTK発現内皮細胞の細胞死を引き起こす。いくつかの特定の実施形態では、インビトロで細胞死を測定するための当業者に公知の方法により評価したときに、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの存在下で一定期間培養されたMERTK発現内皮細胞の少なくとも10%、20%、30%、35%、40%、50%、または60%が当該期間の終点で死滅している。他の特定の実施形態では、細胞死を受けるMERTK発現内皮細胞の百分率は、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの存在下で一定期間培養したときに、抗体薬物コンジュゲートなしで培養した場合（例えば、一切の抗体薬物コンジュゲートなしで培養した場合、または無関係の抗体（例えば、MERTKに免疫特異的に結合しない抗体）を含む抗体薬物コンジュゲートとともに培養した場合、または本明細書に記載の非コンジュゲート抗MERTK抗体もしくは非コンジュゲート抗MERTK抗原結合断片とともに培養した場合）と比較して、少なくとも50%、100%、2倍、3倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、200倍、500倍、または1000倍高い。上

40

50

記期間は、例えば、およそ1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、16時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日、または1週間であり得る。

【0323】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは、腫瘍内の血管新生を阻害する。いくつかの実施形態では、血管新生の阻害は少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、55%、60%、65%、70%、または75%である。特定の実施形態では、血管新生の阻害は少なくとも50%、55%、60%、65%、または70%である。血管新生の阻害は、本明細書に記載のおよび/または当業者に知られている方法によって評価することができる。阻害は、抗体薬物コンジュゲートなし（例えば、一切の抗体薬物コンジュゲートなしで培養した場合、または無関係の抗体（例えば、MER TKに免疫特異的に結合しない抗体）を含む抗体薬物コンジュゲートとともに培養した場合、または本明細書に記載の非コンジュゲート抗MER TK抗体もしくは非コンジュゲート抗MER TK抗原結合断片とともに培養した場合）の血管新生のレベルに対する相対的なものであってもよい。特定の実施形態では、インビボで血管新生を評価するために使用されるアッセイは、後述する実施例6に記載されている通りである。

10

【0324】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは、腫瘍（例えば、ヒト乳癌腫瘍）の進行を阻害する。腫瘍進行の阻害は、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、または80%である。腫瘍の進行は、本明細書に記載のおよび/または当業者に知られている方法によって評価することができる。腫瘍の進行は、抗体-薬物コンジュゲートなし（例えば、一切の抗体薬物コンジュゲートなしで培養した場合、または無関係の抗体（例えば、MER TKに免疫特異的に結合しない抗体）を含む抗体薬物コンジュゲートとともに培養した場合、または本明細書に記載の非コンジュゲート抗MER TK抗体もしくは非コンジュゲート抗MER TK抗原結合断片とともに培養した場合）の腫瘍の状態に対する相対的なものであってもよい。特定の実施形態では、腫瘍の進行を評価するために使用されるアッセイは、後述する実施例5および実施例8に記載されているマウス腫瘍移植モデルである。

20

【0325】

5.4 薬物部分およびリンカー

抗体薬物コンジュゲートで使用される細胞毒性剤は、ペイロードまたは弾頭と称されることもよくある。抗体薬物コンジュゲートにおいて使用される細胞毒性剤のほとんどはDNAまたは微小管を標的とし細胞毒性の高い効力を有する（約 10^{-10} ~ 10^{-12} MのIC₅₀範囲）（Beck A et al., (2017)、Nat Rev Drug Discov 16:315-337）。細胞毒性剤は、小分子、ヌクレオチド、ペプチド、または非抗体タンパク質であり得る。特定の実施形態では、細胞毒性剤は小分子である。別の特定の実施形態では、細胞毒性剤は非抗体タンパク質である。本発明による抗体薬物コンジュゲートに使用できる非限定的かつ例示的な細胞毒性剤は、Beck A et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337; Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225; McCombs JR and Owen SC (2015) The AAPS Journal 17:339-351; Jackson DY (2016) Org Process Res Dev 20:852-866; Olivier KJ and Hurvitz SA ed., (2016) Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, Wileyに開示されている。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートで使用される細胞毒性剤は、アウリスタチン（モノメチルアウリスタチンE（MMAE）、モノメチルアウリスタチンF（MMAF）、Aur0101、PF06380101、アウリスタチンW、またはアウリスタチンFなど）またはその誘導体、メイタンシノイド（DM1またはDM4など）、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）（SGD1882またはSG3199など）、インドリノベン

30

40

50

ゾジアゼピン (DGN 462 または DGN 549 など)、カリケアマイシン (オゾガマイシン) (CM1 など)、カンプトテシン類似体 (SN38、DX-8951f、または DX-8951f 誘導体)、デュオカルマイシン (セコ-デュオカルマイシン-ヒドロキシ-ベンズアミド-アザインドール (セコ-DUBA)、マイナーグループ結合アルキル化剤 (MGBA)、または MED-2460 など)、チューブリン阻害剤 (クリプトフィシン など)、チューブリンまたはチューブリン類似体 (AZ13599185 など)、アンベルスタチン 269、ドキシソルピシン、抗生物質 (リファローグ など)、アントラサイクリン (PNU-159682 など)、微小管阻害剤 (リゾキシシン など)、スプライセオスタチン、またはタイランスタチンである。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートで使用される細胞毒性剤は MMAE または MMAF である。別の特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートで使用される細胞傷害剤は DM1 または DM4 である。

10

【0326】

本明細書で使用される「小分子」という用語は、モル当たり約 10,000 グラム未満の分子量を有する有機化合物または無機化合物 (例えば、ヘテロ有機化合物または有機金属化合物であり得る) を意味する。特定の実施形態において、小分子は、モル当たり約 5,000 グラム未満、またはモル当たり約 2,000 グラム未満、またはモル当たり約 1,000 グラム未満、またはモル当たり約 500 グラム未満、またはモル当たり約 100 グラム未満の分子量を有する。

【0327】

いくつかの実施形態では、細胞毒性剤は抗体部分に直接結合している。他の実施形態において、細胞毒性剤は、リンカーを介して抗体部分に結合している。本発明において用いられる適切なリンカーは、オフターゲットの毒性を制限すべく血流中で安定であり、細胞毒性剤の放出を可能とするために癌の部位では不安定である (Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225 を参照)。本発明において使用することができる非限定的かつ例示的なリンカーは、Beck A et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337; Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225; McCombs JR and Owen SC (2015) The AAPS Journal 17:339-351; Jackson DY (2016) Org Process Res Dev 20:852-866; Olivier KJ and Hurvitz SA ed., (2016) Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, Wiley に開示されている。いくつかの実施形態では、リンカーは、例えば、リソソームプロテアーゼに感受性のモチーフ (例えば、カテプシン B)、酸性 pH に感受性のモチーフ (例えば、ヒドラゾン)、またはグルタチオンによって減らすことができるジスルフィド架橋を含むモチーフを有する切断可能なリンカーである。他の実施形態では、リンカーは非切断性リンカーである。限定ではなく例として、リンカーは、小分子、ヌクレオチド、ペプチド、または非抗体タンパク質であり得る。特定の実施形態では、リンカーは小分子である。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートで使用されるリンカーは、カテプシン B、ヒドラゾン、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサ-1-カルボキシレート (SMCC)、マレイミドカプロン酸 (mc)、バリン-シトルリン (vc)、N-ヒドロキシスクシンイミジル 4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホブタノエート (スルホSPDB)、N-ヒドロキシスクシンイミジル 4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート (SPDB)、N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート (SPP)、バリン-アラニン (va)、ポリエチレングリコール 8-バリン-シトルリン (PEG8-v a)、mb-v c、CL2A、切断可能な vc ベースのリンカー、またはフレキシマーポリマーリンカーである。

20

30

40

【0328】

本発明において使用することができる非限定的かつ例示的なリンカー-薬物部分のペア

50

は、Beck A et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337; Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225; McCombs JR and Owen SC (2015) The AAPS Journal 17:339-351; Jackson DY (2016) Org Process Res Dev 20:852-866; Olivier KJ and Hurvitz SA ed., (2016) Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, Wileyに開示されている。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートのリンカー-薬物部分のペアは、vc-MMAE、mc-MMAF、SMCC-DM1、スルホSPDB-DM4、SPDB-DM4、SPP-DM1、va-SGD1882、ポリエチレングリコール8(PEG8)-va-SG3199、スルホSPDB-DGN462、ヒドラゾン-CM1、vc-seco-DUBA、mb-vc-MGBA、CL2A-SN38、DX-8951誘導体を伴うペプチドリナー、ヒドラゾン-ドキソルピシン、切断可能なvcベースのリンカー-Aur0101、vc-PF06380101、アウリスタチンFを伴うフレキシマーポリマーリンカー、切断可能なリンカー-チューブリン阻害剤、またはvc-リファログである。

10

【0329】

5.5. 抗体薬物コンジュゲートの製造

別の形態では、リンカーが存在しない、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法であって、(a)前記細胞毒性剤を前記抗体部分に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造し、(b)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することを含む製造方法が、本明細書により提供される。

20

【0330】

別の形態では、リンカーを含む、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法であって、(a)前記リンカーを前記抗体部分に直接共役させて、リンカー抗体部分を製造することと、(b)前記リンカー抗体部分の前記リンカーを前記細胞毒性剤に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造することと、(c)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと、をこの順に含む製造方法が、本明細書により提供される。

【0331】

別の形態では、リンカーを含む、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの製造方法であって、(a)前記リンカーを前記細胞毒性剤に直接共役させて、リンカー細胞毒性剤部分を製造することと、(b)前記リンカー細胞毒性剤部分の前記リンカーを前記抗体部分に直接共役させて、抗体薬物コンジュゲートを製造することと、(c)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと、をこの順に含む製造方法が本明細書により提供される。

30

【0332】

共役および精製ステップは、Beck A et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337; Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225; McCombs JR and Owen SC (2015) The AAPS Journal 17:339-351; Jackson DY (2016) Org Process Res Dev 20:852-866;または、Olivier KJ and Hurvitz SA ed., (2016) Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, Wileyに記載の方法などの、抗体薬物コンジュゲートの製造に使用される当技術分野で知られている方法によって実施することができる。いくつかの実施形態において、薬物部分は、抗体部分(例えば、抗体部分がscFvである場合、または抗体部分が多鎖抗体である場合には、免疫グロブリン(四量体である)またはその抗原結合断片など)の1つの鎖に結合している。他の実施形態では、薬物部分は、抗体部分(抗体部分が多鎖抗体である場合には、免疫グロブリンまたはその抗原結合断片など)の2

40

50

つ以上の鎖に結合している。特定の実施形態では、薬物部分は、免疫グロブリンの2つの同一の鎖、例えば重鎖または軽鎖に結合している。他の実施形態において、薬物部分は、抗体部分（抗体部分が多鎖抗体である場合には、免疫グロブリンまたはその抗原結合断片など）のすべての鎖に結合している。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートはクロマトグラフにより精製される。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは遠心分離により精製される。限定ではなく例として、抗体薬物コンジュゲートの生成に使用できる共役化学は、チオールとマレイミド、チオールと自己加水分解マレイミド、チオールとフェニルオキサジアゾールスルホン、オキシムライゲーション、アルコキシアミンからケト基への反応、ひずみ促進アジド-アルキン環化付加（SPAAC）、銅を含まないクリックケミストリー、ホルミルグリシンに酸化されたシステイン、ヒドラジノ-イソ-ピクテ-シュペングラ-（HIPS）ライゲーション、グルタミン残基と第一級アミンからの-カルボキシアミド基のライゲーション、ライゲーションLPEETGとポリグリシンモチーフの第一級アミン、マレイミドと6-チオフコース、ヒドラジドのフコース特異的共役、過ヨウ素酸塩酸化（アルデヒド）とアミノオキシペイロード、ひずみ促進アルキンアジド環状付加、C2-ケト-galオキシム化、部位選択性アルデヒド酸化とオキシムライゲーション、オキシムライゲーションNH₂とインドールベースの5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン誘導体、チオールとビススルホン、チオールとジプロモマレイミド、チオールとマレイミドの後にpH9.2処理（45、48時間）、またはチオールとアリアルプロピオニトリル（Beck et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337を参照）。

10

20

【0333】

本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、セクション5.2に記載のように生成することができる。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片は、薬物部分との結合を促進するため、特に薬物部分との部位特異的な結合を促進するために、当技術分野で知られている方法によって、例えば、Beck et al., (2017) Nat Rev Drug Discov 16:315-337; Peters C and Brown S, (2015) Biosci Rep 35:art:e00225; McCombs JR and Owen SC (2015) The AAPS Journal 17:339-351; Jackson DY (2016) Org Process Res Dev 20:852-866;または、Olivier KJ and Hurvitz SA ed., (2016) Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, Wileyに記載の方法によって、作製または改変される。薬物部分との結合を促進するために本明細書に記載の抗MERTK抗体またはその抗原結合断片を作製または改変するのに使用することができる非限定的かつ例示的な方法としては、1つまたは複数の追加のシステインまたはセレノシステインの追加、非天然アミノ酸工学、結合を支援できる特定の酵素によって認識可能な1つまたは複数のアミノ酸タグの追加、グリカンのリモデリング、アミノ末端セリンの追加、および天然のシステイン架橋が挙げられる。

30

40

【0334】

リンカーおよび細胞毒性剤は、それぞれリンカーおよび細胞毒性剤を生成するための当技術分野で知られている任意の方法によって生成することができる。

【0335】

5.6. 医薬組成物

本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書により提供される。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは精製されている。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、治療的有效量で医薬組成物中に存在する。

【0336】

50

特定の実施形態では、医薬組成物に含まれる抗体薬物コンジュゲートの集団は、1～20の薬物対抗体比(DAR)を有する。DARは、抗体に結合された細胞毒性剤の平均数である。別の特定の実施形態では、医薬組成物に含まれる抗体薬物コンジュゲートの集団は1～15のDARを有する。別の特定の実施形態では、医薬組成物に含まれる抗体薬物コンジュゲートの集団は1～12のDARを有する。別の特定の実施形態では、医薬組成物に含まれる抗体-薬物コンジュゲートの集団は1～8のDARを有する。別の特定の実施形態では、医薬組成物に含まれる抗体薬物コンジュゲートの集団は3～5のDARを有する。別の特定の実施形態では、医薬組成物に含まれる抗体薬物コンジュゲートの集団は3.5～4のDARを有する。

【0337】

賦形剤または安定剤であり得る許容される担体は、使用される用量および濃度で受容者に対して無毒であり、リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンなどの抗酸化剤；保存料（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルアルコールまたはベンジルアルコール、メチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール、m-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、またはデキストリンなどの他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；ショ糖、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成性対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；および/または、例えばTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）またはポリエチレングリコール(PEG)などの非イオン性界面活性剤が挙げられるが、これらに限定されない。。

【0338】

特定の実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容される担体中に、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲート、および任意に1つまたは複数の追加の予防薬または治療薬を含む。特定の実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容される担体中に、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの有効量、および任意に1つまたは複数の追加の予防薬または治療薬を含む。特定の実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物および/または抗体薬物コンジュゲートを、本明細書に記載の追加の治療薬のいずれかの治療有効量と組み合わせることができる（後述するセクション5.7.2を参照）。

【0339】

いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、医薬組成物に含まれる唯一の有効成分である。

【0340】

本明細書に記載の医薬組成物を使用して、癌を治療することができる。

【0341】

非経口製剤で使用される薬学的に許容される担体としては、水性ビヒクル、非水性ビヒクル、抗菌剤、等張剤、緩衝剤、抗酸化剤、局所麻酔薬、懸濁剤および分散剤、乳化剤、金属イオン封鎖剤またはキレート剤、および他の薬学的に許容される物質が挙げられる。水性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、滅菌水注射液、デキストロースおよび乳酸加リンゲル注射液が挙げられる。非水性の非経口ビヒクルとしては、植物起源の固定油、綿実油、コーン油、ゴマ油、落花生油が挙げられる。静菌性または静真菌性の濃度の抗菌剤は、フェノールまたはクレゾール、水銀、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチルおよびプロピルp-ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、塩化ベンザルコニウムおよび塩化ベンゼトニウムを含む複数回投与容器に包装された非経口製剤に追加され得る。等張剤としては、塩化ナトリウムおよびデキストロースが挙げられる。緩衝剤としては、リン酸塩およびクエン酸塩

が挙げられる。酸化防止剤としては、重硫酸ナトリウムが挙げられる。局所麻酔薬としては塩酸プロカインが挙げられる。懸濁剤および分散剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびポリビニルピロリドンが挙げられる。乳化剤は、ポリソルベート 80 (TWEEN (登録商標) 80)。金属イオンの金属イオン封鎖剤またはキレート剤としては、EDTA が挙げられる。医薬用担体としては、水混和性ビヒクル用のエチルアルコール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールや、pH 調整のための水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸または乳酸も含まれる。

【0342】

医薬組成物は、対象への投与のあらゆる経路のために製剤化されてもよい。投与経路の具体例としては、鼻腔内、経口、肺、経皮、皮内、および非経口が挙げられる。本明細書では、皮下、筋肉内、または静脈内注射のいずれかを特徴とする非経口投与も企図されている。注射剤は、液体溶液または懸濁液、注射前の液体中の溶液または懸濁液に適した固体形態、またはエマルジョンのいずれかとして、従来の形態で調製することができる。注射剤、液剤、および乳剤には、1 つ以上の賦形剤も含まれる。適切な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロールまたはエタノールである。さらに、必要に応じて、投与される医薬組成物は、湿潤剤または乳化剤、pH 緩衝剤、安定剤、溶解度向上剤、および他のそのような薬剤、例えば酢酸ナトリウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミンおよびシクロデキストリンなどの少量の非毒性補助物質も含むことができる。

10

20

【0343】

抗体薬物コンジュゲートの非経口投与用製剤としては、注射の準備ができた無菌溶液、使用直前に溶媒と混合する準備ができた、皮下注射錠等の凍結乾燥粉末などの無菌乾燥可溶性製品、注射の準備ができた無菌懸濁液、使用直前にビヒクルと混合する準備ができた滅菌乾燥不溶性製品、および滅菌エマルジョンが挙げられる。溶液は水性でも非水性でもよい。

【0344】

静脈内投与する場合、適切な担体としては、生理食塩水またはリン酸緩衝食塩水 (PBS)、並びに増粘剤および可溶化剤 (グルコース、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールなど) およびそれらの混合物を含む溶液が挙げられる。

30

【0345】

抗体薬物コンジュゲートを含む局所混合物は、局所および全身投与について記載されているように調製される。得られる混合物は、溶液、懸濁液、エマルジョンなどであり得、クリーム、ゲル、軟膏、エマルジョン、溶液、エリキシル、ローション、懸濁液、チンキ剤、ペースト、フォーム、エアロゾル、灌注、スプレー、座薬、包帯、皮膚パッチまたは局所投与に適した他の製剤として製剤化され得る。

【0346】

本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは、インハレーションなどの局所適用用のエアロゾルとして製剤化することができる (例えば、炎症性疾患、特に喘息、の治療に有用なステロイドの送達のためのエアロゾルを記載する米国特許第 4,044,126 号、第 4,414,209 号および第 4,364,923 号を参照)。気道への投与のためのこれらの製剤は、単独のまたはラクトースなどの不活性担体と組み合わせた、噴霧器用のエアロゾルまたは溶液の形で、または吹送用の微粉末であり得る。そのような場合、製剤の粒子は、一実施形態では、50 ミクロン未満、一実施形態では 10 ミクロン未満の直径を有する。

40

【0347】

本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは、眼中などの皮膚または粘膜への局所塗布といった部分または局所塗布用に、ゲル、クリーム、およびローションの形で、または眼への塗布用に、または嚢内もしくは脊髄内への塗布用に製剤化することができる。局所投与としては、経皮送達のため、眼または粘膜への投与のため、または吸入療法のためのも

50

のが考えられる。抗体薬物コンジュゲートの点鼻液を単独で、または他の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせて投与することもできる。

【0348】

イオン導入装置および電気泳動装置を含む経皮パッチは、当業者に周知であり、抗体薬物コンジュゲートを投与するために使用することができる。例えば、そのようなパッチは、米国特許第6,267,983号、第6,261,595号、第6,256,533号、第6,167,301号、第6,024,975号、第6,010,715号、第5,985,317号、第5,983,134号、第5,948,433号、および第5,860,957号に開示されている。

【0349】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む医薬組成物は、凍結乾燥粉末であり、溶液、エマルジョンおよび他の混合物として投与するために再構成することができる。また、固体またはゲルとして再構成および処方することもできる。凍結乾燥粉末は、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたはその薬学的に許容される誘導体を適切な溶媒に溶解することにより調製される。いくつかの実施形態では、凍結乾燥粉末は無菌である。溶媒は、粉末または粉末から調製された再構成溶液の安定性または他の薬理学的成分を改善する賦形剤を含んでもよい。使用できる賦形剤としては、デキストロース、ソルビトール、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロースまたは他の適切な薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。溶媒はまた、一実施形態ではほぼ中性のpHで、クエン酸塩、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウムなどの緩衝液、または当業者に知られている他のそのような緩衝液を含んでもよい。溶液のその後の当業者に公知の標準条件下での滅菌濾過とそれに続く凍結乾燥により、所望の製剤が提供される。一実施形態において、得られた溶液は、凍結乾燥のためにバイアルに分配される。各バイアルには、化合物の単回の用量または複数回の用量が含まれる。凍結乾燥粉末は、約4〜室温などの適切な条件下で保存できる。

【0350】

この凍結乾燥粉末を注射用水で再構成すると、非経口投与で使用するための製剤が提供される。再構成のために、凍結乾燥粉末を滅菌水または他の適切な担体に加える。正確な量は、選択した化合物によって異なる。そのような量は経験的に決定できる。

【0351】

本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートおよび本明細書により提供される他の組成物は、特定の組織、受容体、または治療対象の身体他の領域を標的とするように製剤化することもできる。多くのそのような標的化方法は、当業者に周知である。そのような標的化方法はすべて、本組成物で使用するために本明細書で企図される。標的化方法の非限定的な例については、例えば、米国特許第6,316,652号、6,274,552、6,271,359、6,253,872、6,139,865、6,131,570、6,120,751、6,071,495、6,060,082、6,048,736、6,039,975、6,004,534、5,985,307、5,972,366、5,900,252、5,840,5および5,709,874を参照。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは腫瘍を標的とする。

【0352】

インビボ投与に使用される組成物は無菌であり得る。これは、例えば、滅菌ろ過膜によるろ過により容易に達成される。

【0353】

5.7 用途および方法

5.7.1 治療上の用途および方法

5.7.1.1 癌

一形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲート、または本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、対象の癌を治療する方法が本明細書により提供される。特定の実施形態では、本明細書に

記載の抗体薬物コンジュゲートを含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む、対象の癌を治療する方法が本明細書により提供される。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む、血管新生を阻害するために内皮細胞の M E R T K シグナル伝達を作動することが望ましい、癌を治療する方法が本明細書に提示される。

【0354】

特定の実施形態において、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたは本明細書に記載の医薬組成物の、癌を有する対象への投与は、以下の効果の少なくとも1つ、2つ、3つ、4つまたはそれ以上を達成する：(i) 癌の1つ以上の症状の重症度の減少または改善；(ii) 癌に関連する1つ以上の症状の持続期間の短縮；(iii) 癌に関連する症状の再発の予防；(iv) 対象の入院の減少；(v) 入院期間の短縮；(vi) 対象の生存率の増加；(vii) 別の治療の治療効果の強化または改善；(viii) 癌に関連する1つ以上の症状の進行または発症の抑制；(ix) 癌に関連する症状の数の減少；(x) 当該分野で周知の方法により評価される生活の質の改善；(xi) 腫瘍の再発の抑制；(xii) 腫瘍および/またはそれに関連する1つ以上の症状の退縮；(xiii) 腫瘍および/またはそれに関連する1つ以上の症状の進行の抑制；(xiv) 腫瘍の成長の減少；(xv) 腫瘍サイズ（例えば、体積または直径）の減少；(xvi) 新たに形成される腫瘍の形成の減少；(xvii) 原発腫瘍、局所腫瘍、および/または転移性腫瘍の予防、根絶、除去、または制御；(xviii) 転移の数またはサイズの減少；(xix) 死亡率の減少；(xx) 無再発生存期間の増加；(xxi) 磁気共鳴画像法(MRI)、ダイナミック造影MRI(DCE-MRI)、X線、コンピューター断層撮影(CT)スキャン、または陽電子放出断層撮影(PET)スキャンなどの当業者に利用可能な従来の方法によって測定したときに、腫瘍のサイズは維持されて増加しないか、または、標準治療の投与後の腫瘍の増加未満の増加を示す、および/または(xxx) 患者の寛解期間の延長。

10

20

【0355】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、肺、乳房、骨、卵巣、胃、脾臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆道、結腸、直腸、子宮頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺または甲状腺の癌である。いくつかの実施形態では、癌は肉腫、扁平上皮癌、黒色腫、神経膠腫、膠芽腫、神経芽腫またはカボジ肉腫である。

30

【0356】

特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は乳癌である。特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、トリプルネガティブ乳癌である。トリプルネガティブ乳癌とは、遺伝子H e r 2 (N e uとも称される)、エストロゲン受容体(E Rとも称される)、またはプロゲステロン受容体(P Rとも称される)の遺伝子を発現しない乳房組織に由来するかまたは当該乳房組織で成長する腫瘍または細胞を意味する。

【0357】

本明細書で使用される場合、「対象」および「患者」との用語は互換的に使用される。いくつかの実施形態において、対象は、霊長類（例えば、サルまたはヒト）などの哺乳動物であり、最も好ましくはヒトである。

40

【0358】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは対象に投与される。特定の実施形態では、本明細書に記載の2つ以上の異なる抗体薬物コンジュゲートが対象に投与される。いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、本明細書に記載される1つ以上の他の治療と組み合わせられて対象に投与される（上記セクション5.7.2）。

【0359】

5.7.1.2 投与経路および用量

50

本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたは組成物は、様々な経路で対象に送達され得る。これらの経路としては、以下に制限されないが、非経口、鼻腔内、気管内、経口、皮内、局所、筋肉内、腹腔内、経皮、静脈内、腫瘍内、結膜および皮下経路が挙げられる。例えば、インヘラーまたはネブライザーの使用、およびスプレーとして使用するためのエアロゾル化剤を含む製剤による肺投与も使用できる。一実施形態において、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたは組成物は、対象に非経口投与される。特定の実施形態では、前記非経口投与は静脈内、筋肉内、または皮下である。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、対象に静脈内投与される。

【0360】

症状の治療および/または予防に有効となる抗体薬物コンジュゲートまたは組成物の量は、疾患の性質に依存し、標準的な臨床技術により決定することができる。

【0361】

組成物で使用される正確な用量は、投与経路、および癌の種類にも依存し、医師の判断および各対象の状況に従って決定されるべきである。例えば、有効用量は、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態（年齢、体重、健康など）、患者がヒトか動物か、投与された他の薬物、または治療が予防的か治療的かによって変動し得る。治療用量は、安全性と有効性を最適化するために最適に調整される。

【0362】

特定の実施形態では、最適な用量範囲の特定を支援するために、インビトロアッセイが使用される。有効用量は、インビトロまたは動物モデルの試験系から得られた用量反応曲線から推定できる。

【0363】

抗体薬物コンジュゲートの場合、投与量は患者の体重に対して、約0.0001~100mg/kg、より一般的には0.01~15mg/kgの範囲であり得る。例えば、投与量は1mg/kg体重、10mg/kg体重、または1~10mg/kgの範囲内、70kgの患者についてそれぞれ言い換えれば、70mgまたは700mgまたは70~700mgの範囲内であり得る。いくつかの実施形態では、患者に投与される用量は、患者の体重1kg当たり約1mg~約20mgである。一般的に、外来ポリペプチドに対する免疫応答のため、ヒト抗体は他の種由来の抗体よりも人体内での半減期が長い。したがって、ヒト抗体を含む抗体-薬物コンジュゲートの投与量を減らし、投与頻度を減らすことが可能な場合が多い。

【0364】

例示的な治療計画は、1年または数年以上、または数年の間隔にわたって、2週間に1回または月に1回または3~6か月に1回の投与を伴う。いくつかの方法では、2つ以上の抗体薬物コンジュゲートが対象に同時に投与される。抗体薬物コンジュゲートは、通常複数回投与される。単回投与の間隔は、毎週、毎月、3か月ごと、6か月ごと、または1年ごとである。

【0365】

5.7.2. 併用療法

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む、対象の癌を治療するための本明細書で提供される方法は、対象に1つ以上の追加の治療薬を投与することをさらに含む。特定の実施形態では、追加の治療薬は癌を治療するためのものである。特定の実施形態では、追加の治療薬は、本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートによる治療の副作用を治療するためのものである。

【0366】

特定の実施形態では、追加の薬剤は、乳癌の治療に使用される薬剤、黒色腫の治療に使用される薬剤、免疫療法、または血管新生阻害剤である。

【0367】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、タモキシフェン、ラロキシフェン、パクリタキ

10

20

30

40

50

セル（TAXOL（登録商標））、シクロホスファミド、ドセタキセル、ビンブラスチン、フルオロウラシル、エベロリムス、トラスツズマブ、トラスツズマブ - エムタンシン、ペルツズマブ、およびラパチニブジトシレートからなる群から選択される乳癌の治療に使用される薬剤である。

【0368】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、BRAF阻害薬、MEK阻害薬、およびダカルバジンからなる群から選択される黒色腫を治療するために使用される薬剤である。

【0369】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、CTLA - 4阻害剤、PD - 1阻害剤、またはPD - L1阻害剤である抗体である。

10

【0370】

特定の実施形態では、追加の治療薬は、VEGF阻害剤、VEGFR2阻害剤、スニチニブ、およびソラフェニブからなる群から選択される血管新生阻害剤である。

【0371】

他の実施形態では、追加の治療薬は表10に列挙された薬剤である。

【0372】

【表 10 - 1】

表10. MERTK抗体またはその抗原結合フラグメントとの併用療法で使用する追加の治療薬

アルキル化剤	ブスルファン	クロラムブシル	10
	ダカルバジン	プロカルバジン	
	イホスファミド	アルトレタミン	
	ヘキサメチルメラミン	リン酸エストラムスチン	
	チオテパ	メクロレタミン	
	ダカルバジン	ストレプトゾシン	
	ロムスチン	テモゾロミド	
	シクロホスファミド	セムスチン	
プラチナ剤	スピロブラチン	ロバプラチン(アエテルナ)	20
	テトラプラチン	サトラプラチン(ジョンソン・マッセイ)	
	オーマブラチン	BBR-3464(ホフマンラロッシュ)	
	イプロブラチン	SM-11355(住友)	
	ZD-0473(AnorMED)	AP-5280(アクセス)	
	オキサリプラチン	シスプラチン	
	カルボプラチン		
代謝拮抗剤	アザシチジン	トリメトレキサート	30
	フロクスウリジン	デオキシコホルマイシン	
	2-クロロデオキシアデノシン	ペントスタチン	
	6-メルカプトプリン	ヒドロキシ尿素	
	6-チオグアニン	デシタビン(SuperGen)	
	シタラビン	クロファラビン(Bioenvision)	
	2-フルオロデオキシシチジン	イロフルベン(MGI Pharma)	
	メトトレキサート	DMDC(ホフマンラロッシュ)	
	トムデックス	エチニルシチジン(大鵬)	
	フルダラビン	ゲムシタビン	
	ラルティトレキセド	カペシタビン	
トポイソメラーゼ 阻害剤	アムサクリン	メシル酸エキサテカン(第一)	40
	エピルビシン	quinamed(ChemGenex)	
	エトポシド	ギマテカン(Sigma-Tau)	
	テニポシドまたはミトキサントロン	ジフロモテカン(Beaufour-Ipsen)	
	7-エチル-10-ヒドロキシ-カンプトテ シン	TAS-103(大鵬)	
	デクスラゾキサン(TopoTarget)	エルサミトルシン(スペクトル)	
	pixantrone(Novuspharma)	J-107088(Merck & Co)	
	レベッカマイシンアナログ(Exelixis)	BNP-1350(BioNumerik)	
	BBR-3576(ノバスファーマ)	CKD-602(チョン・クンダン)	
	ルビテカン(SuperGen)	KW-2170(協和発酵)	

【表 10 - 2】

	イリノテカン(CPT-11)	ヒドロキシカンプトテシン(SN-38)
	トポテカン	
抗腫瘍抗生物質	バルルビシン	アゾナフィド
	テラルビシン	アントラピラゾール
	イダルビシン	オキサントラゾール
	ルビダゾン	ロソキサントロン
	ブリカマイシン	MEN-10755(メナリーニ)
	ポルフィロマイシン	GPX-100(Gem Pharmaceuticals)
	ミトキサントロン(ノバントロン)	エピルビシン
	アモナフィド	ミトキサントロン
		ドキシソルビシン
抗有糸分裂剤	コルヒチン	E7010(アボット)
	ビンブラスチン	PG-TXL(細胞治療薬)
	ビンデシン	IDN 5109(バイエル)
	ドラスタチン 10(NCI)	A 105972(アボット)
	リゾキシシン(藤沢)	A 204197(アボット)
	ミボブリン(ワーナーランバート)	LU 223651(BASF)
	セマドチン(BASF)	D 24851(アスタメディカ)
	RPR 109881A(アベンティス)	ER-86526(エーザイ)
	TXD 258(アベンティス)	コンプレタスタチン A4(BMS)
	エポチロン B(ノバルティス)	イソホモハリコンドリリン-B(PharmaMar)
	T 900607(Tularik)	ZD 6126(アストラゼネカ)
	T 138067(Tularik)	AZ10992(アサヒ)
	クリプトフィシン 52(Eli Lilly)	IDN-5109(インデナ)
	ビンフルニン(Fabre)	AVLB(Prescient NeuroPharma)
	オーリスタチン PE(帝国ホルモン)	アザエポチロン B(BMS)
	BMS 247550(BMS)	BNP-7787(BioNumerik)
	BMS 184476(BMS)	CA-4 プロドラッグ(OXiGENE)
	BMS 188797(BMS)	ドラスタチン-10(NIH)
	タキソプレキシシン(プロタルガ)	CA-4(OXiGENE)
	SB 408075(GlaxoSmithKline)	ドセタキセル
	ビノレルピン	ピンクリスチン
	トリコスタチン A	パクリタキセル
アロマターゼ阻害剤	アミノグルテチミド	YM-511(山ノ内)
	アタメスタン(BioMedicines)	フォルメスタン
	レトロゾール	エキセメスタン
	アナストラゾール	

【表 10 - 3】

チミジル酸 シンターゼ阻害剤	ペメトレキセド(Eli Lilly)	nolatrexed(Eximias)
	ZD-9331(BTG)	CoFactor(商標)(BioKeys)
DNA アンタゴニスト	トラベクテジン(PharmaMar)	エドトレオチド(ノバルティス)
	ゲルフォスファミド (バクスターインターナショナル)	マフォスファミド (バクスターインターナショナル)
	アルブミン+ 32P(同位体溶液)	アパジコン(Spectrum Pharmaceuticals)
	サイメクタシン(NewBiotics)	O6 ベンジルグアニン(Paligent)
ファルネシルトランス フェラーゼ阻害剤	アルグラビン(NuOncology Labs)	チピファルニブ(ジョンソン & ジョンソン)
	ロナファルニブ(シェリング・プラウ)	ペリリルアルコール(DOR BioPharma)
	BAY-43-9006(バイエル)	
ポンプ阻害剤	CBT-1(CBA Pharma)	ゾスクイダル三塩酸塩(Eli Lilly)
	タリキダール(ゼノバ)	クエン酸ピリコダール(Vertex)
	MS-209(Schering AG)	
ヒストンアセチル トランスフェラーゼ 阻害剤	タセジナリン(ファイザー)	酪酸ピバロイルオキシメチル(タイタン)
	SAHA(Aton Pharma)	デブシペプチド(藤沢)
	MS-275(Schering AG)	
メタロプロテイナーゼ 阻害剤	ネオバスタット (Aeterna Laboratories)	CMT-3(CollaGenex)
	マリマスタット (ブリティッシュバイオテック)	BMS-275291(Celltech)
リボヌクレオシド レダクターゼ阻害剤	ガリウムマルトレート(タイタン)	テザンタビン(アベンティス)
	トリアピン(ビオン)	ディドックス(健康分子)
TNF アルファ アゴニスト /アンタゴニスト	ビルリジン(Lorus Therapeutics)	レビミッド(セルジーン)
	CDC-394(セルジーン)	
エンドセリン A 受容体拮抗薬	アトラセンタン(アボット)	YM-598(山ノ内)
	ZD-4054(アストラゼネカ)	
レチノイン酸 受容体アゴニスト	フェンレチニド(Johnson & Johnson)	アリトレチノイン(リガンド)
	LGD-1550(リガンド)	
免疫調節剤	インターフェロン	デキソソーム療法(Anosys)
	オンコファージ(Antigenics)	pentrix(Australian Cancer Technology)
	GMK(プロジェニックス)	ISF-154(Tragen)
	腺癌ワクチン(Biomira)	がんワクチン(インターセル)
	CTP-37(AVI BioPharma)	ノレリン(バイオスター)
	IRX-2(Immuno-Rx)	BLP-25(バイオミラ)
	PEP-005(Peplin Biotech)	MGV(プロジェニックス)

10

20

30

40

【表 10 - 4】

	シンクロバックスワクチン(CTL Immuno)	B-アレチン(ダブテール)
	黒色腫ワクチン(CTL Immuno)	CLL 療法(Vasogen)
	p21 RAS ワクチン(GemVax)	イピリムマブ(BMS)、
	MAGE-A3(GSK)	CM-10(cCam Biotherapeutics)
	ニボルマブ(BMS)	MPDL3280A(Genentech)
	アバタセプト(BMS)	ピジリズマブ(CureTech)
	ランブロリズマブ(メルク)	AMP-224(GSK)
	MEDI-4736(アストラゼネカ)	
ホルモンおよび 抗ホルモン剤	エストロゲン	デキサメタゾン
	共役エストロゲン	プレドニゾン
	エチニルエストラジオール	メチルプレドニゾロン
	クロルトリアニセン	プレドニゾロン
	イデネストロール	アミノグルテチミド
	カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン	リユープロリド
	メドロキシプロゲステロン	オクトレオチド
	テストステロン	ミタン
	プロピオン酸テストステロン; フルオキシメステロン	P-04(ノヴォジェン)
	メチルテストステロン	2-メトキシエストラジオール(EntreMed)
	ジエチルスチルベストロール	アルゾキシフェン(Eli Lilly)
	メゲストロール	タモキシフェン
	ビカルタミド	トレモフィン
	フルタミド	ゴセレリン
	ニルタミド	リユーボレリン
		ビカルタミド
フォトダイナミック剤	タラポルフィン(Light Sciences)	Pd-バクテリオフェオホルバイド(Yeda)
	Theralux(セラテノロジーズ)	ルテチウムテキサフィリン(Pharmacyclics)
	モテキサフィンガドリニウム (Pharmacyclics)	ヒペリシン
キナーゼ阻害剤	イマチニブ(ノバルティス)	EKB-569(ワイズ)
	レフルノミド(Sugen / Pharmacia)	カハライド F(PharmaMar)
	ZD1839(アストラゼネカ)	CEP-701(セファロン)
	エルロチニブ(Oncogene Science)	CEP-751(セファロン)
	カネルチニブ(ファイザー)	MLN518(ミレニアム)
	スクアラミン(Genaera)	PKC412(ノバルティス)
	SU5416(ファルマシア)	フェノキシジオール(ノヴォジェン)
	SU6668(ファルマシア)	C225(ImClone)

10

20

30

40

【表 10 - 5】

	ZD4190(アストラゼネカ)	rhu-Mab(ジェネンテック)
	ZD6474(アストラゼネカ)	MDX-H210(メダレックス)
	ヴァタラニブ(ノバルティス)	2C4(ジェネンテック)
	PKI166(ノバルティス)	MDX-447(メダレックス)
	GW2016(GlaxoSmithKline)	ABX-EGF(アブゲニックス)
	EKB-509(ワイズ)	IMC-1C11(ImClone)
	トラスツズマブ(ジェネンテック)	チルホスチン
	OSI-774(タルセバ TM)	ゲフィチニブ(イレッサ)
	CI-1033(ファイザー)	PTK787(ノバルティス)
	SU11248(ファルマシア)	EMD 72000(メルク)
	RH3(ヨークメディカル)	エモジン
	ゲニステイン	ラジシノール
	ラジシノール	ベムラフェニブ (B-Raf 酵素阻害剤、第一三共)
	Met-MAb(ロシュ)	
	トラメチニブ(GSK)	
追加の剤	SR-27897(CCK A 阻害剤、 Sanofi-Synthelabo)	セフラトニン(アポトーシス促進剤、 ChemGenex)
	トクラデシン(サイクリック AMP アゴ ニスト、リバファーム)	BCX-1777(PNP 阻害剤、BioCryst)
	アルボシジブ (CDK 阻害剤、アベンティス)	ランビルナーゼ (リボヌクレアーゼ刺激剤、アルファセル)
	CV-247 (COX-2 阻害剤、Ivy Medical)	ガラルビシン(RNA 合成阻害剤、Dong-A)
	P54(COX-2 阻害剤、Phytopharm)	チラパザミン(還元剤、SRI International)
	CapCell(商標)(CYP450 刺激剤、 Bavarian Nordic)	N-アセチルシステイン(還元剤、ザンボン)
	GCS-100(gal3 拮抗薬、 GlycoGenesys)	R-フルルビプロフェン (NF- κ B 阻害剤、アンコール)
	G17DT 免疫原 (ガストリン阻害剤、アフトン)	3CPA(NF- κ B 阻害剤、 アクティブバイオテック)
	エファブプロキシラール (酸素発生剤、Allos Therapeutics)	セオカルシトール (ビタミン D 受容体アゴニスト、レオ)
	PI-88 (ヘパラーゼ阻害剤、プロゲン)	131-I-TM-601(DNA アンタゴニスト、 TransMolecular)
	テスミリフェン(ヒスタミン拮抗薬、 YM BioSciences)	エフロルニチン (ODC 阻害剤、ILEX Oncology)
	ヒスタミン (ヒスタミン H2 受容体アゴニスト、 マキシム)	ミノドロン酸(破骨細胞抑制剤、山ノ内)

10

20

30

40

【表 10 - 6】

	チアゾフリン (IMPDH 阻害剤、リバファーム)	インディシュラム (p53 刺激剤、エーザイ)	10
	シレンギチド(インテグリン拮抗薬、 メルク KGaA)	アプリジン (PPT 阻害剤、PharmaMar)	
	SR-31747 (IL-1 拮抗薬、 Sanofi-Synthelabo)	ゲムツズマブ (CD33 抗体、Wyeth Ayerst)	
	CCI-779 (mTOR キナーゼ阻害剤、ワイス)	PG2 (造血エンハンサー、Pharmagenesis)	
	Exisulind (PDE V 阻害剤、Cell Pathways)	Immunol (商標) (トリクロサンオーラルリンズ、遠藤)	
	CP-461 (PDE V 阻害剤、細胞経路)	トリアセチルウリジン (ウリジンプロドラッグ、Wellstat)	
	AG-2037 (GART 阻害剤、ファイザー)	SN-4071 (肉腫剤、Signature BioScience)	
	WX-UK1 (プラスミノーゲン活性化因 子阻害剤、Wilex)	TransMID-107 (商標) (免疫毒素、KS Biomedix)	
	PBI-1402 (PMN 刺激剤、 ProMetic LifeSciences)	PCK-3145 (アポトーシス促進剤、Procyon)	
	ボルテゾミブ(プロテアソーム 阻害剤、ミレニアム)	ドラニダゾール (アポトーシス促進剤、ポーラ)	
	SRL-172 (T 細胞刺激薬、 SR Pharma)	CHS-828 (細胞傷害剤、レオ)	
	TLK-286 (グルタチオン S トランスフ ェラーゼ阻害剤、テリック)	トランスレチノイン酸 (分化剤、NIH)	
	PT-100 (成長因子アゴニスト、 Point Therapeutics)	MX6 (アポトーシス促進剤、MAXIA)	
	ミドスタウリン (PKC 阻害剤、 ノバルティス)	アポミン (アポトーシス促進剤、 ILEX Oncology)	
	ブリオスタチン-1 (PKC 刺激薬、 GPC Biotech)	ウロシジン (アポトーシス促進剤、Bioniche)	40
	CDA-II (アポトーシス促進剤、 Everlife)	Ro-31-7453 (アポトーシス促進剤、 ラロッシュ)	
	SDX-101 (アポトーシス促進剤、 Salmedix)	ブロスタリシン (アポトーシス促進剤、 Pharmacia)	
	リツキシマブ (CD20 抗体、ジェネン テック)	β -ラパコン	
	カルムスチン	ゲロニン	
	ミトキサントロン	カフェストール	
	プレオマイシン	カーウェオール	
	アブシンチン	コーヒー酸	

【表 10 - 7】

	クリソファン酸	チルホスチン AG
	酸化セシウム	PD-1 阻害剤
	BRAF 阻害剤、	CTLA-4 阻害剤
	PDL1 阻害剤	ソラフェニブ
	MEK 阻害剤	BRAF 阻害剤
	ベバシズマブ	
	血管新生阻害剤	
	ダブラフェニブ	

10

【0379】

本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートは、追加の治療薬と同時にまたは連続して（前および／または後に）投与することができる。抗体薬物コンジュゲートおよび追加の治療薬は、同じまたは異なる組成物中で、そして同一または異なる投与経路によって投与することができる。（本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたは追加の治療薬である）第1の治療は、癌患者への（本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートまたは追加の治療薬である）第2の治療の投与の前（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間前）、同時またはその後（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間後）に投与され得る。特定の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートと組み合わせて対象に投与される追加の治療薬は、同じ組成物（医薬組成物）で投与される。他の実施形態では、抗体薬物コンジュゲートと組み合わされて投与される追加の治療薬は、抗体薬物コンジュゲートとは異なる組成物中で対象に投与される（例えば、2つ以上の医薬組成物が使用される）。

20

【0380】

5.8. キット

また、本明細書に記載の1つ以上の抗体薬物コンジュゲートを含むキットも本明細書により提供される。特定の実施形態では、本明細書に記載の1つ以上の抗体薬物コンジュゲートなどの本明細書に記載の医薬組成物の成分の1つ以上で満たされた1つ以上の容器を含む医薬パックまたはキットが本明細書により提供される。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の医薬組成物および予防薬または治療薬を含む。

30

【0381】

そのような容器に随意的に関連付けられるのは、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関によって規定された形態の通知、剤形、および／またはそれらの使用説明書である。特定の実施形態では、キットに含まれる説明書は、医薬組成物の投与のための投与量および／または投与計画に関するガイダンスを提供する。

40

【0382】

医薬品包装材料の例には、プリスターパック、ボトル、パケット、サシェ、チューブ、吸入器、ポンプ、バッグ、バイアル、容器、シリンジ、および選択された医薬組成物および意図された投与および治療の方法に適した包装材料が含まれるが、これらに限定されない。

【0383】

本明細書で提供されるキットは、活性成分を投与するために使用される装置をさらに含むことができる。そのような装置の例には、シリンジ、無針注射器、点滴バッグ、パッチおよび吸入器が含まれるが、これらに限定されない。

【0384】

50

本明細書で提供されるキットは、成分を投与するために使用できる薬学的に許容されるビヒクルをさらに含むことができる。例えば、成分が非経口投与のために再構成されなければならない固体形態で提供される場合、キットは、成分が溶解して非経口投与に適した粒子状物質を含まない滅菌溶液を形成できるか、または経口投与用の懸濁液として再構成され得る適切なビヒクルの密封容器を含むことができる。薬学的に許容されるビヒクルの例としては、注射用水USP、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、デキストロース注射液、デキストロースおよび塩化ナトリウム注射液、および乳酸加リンゲル注射液を含むがこれに限定されない水性ビヒクル；エチルアルコール、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールを含むがこれらに限定されない水混和性ビヒクル；コーン油、綿実油、ピーナッツ油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、および安息香酸ベンジルを含むがこれらに限定されない非水性ビヒクルが挙げられる。

10

【0385】

以下の実施例は、限定の目的ではなく例示として提供される。

【実施例】

【0386】

6. 実施例

6. 1. 実施例1：高親和性MER TK結合モノクローナル抗体の作製

本実施例では、MER TKに結合し、そのリン酸化を活性化することによって、転移性乳癌細胞による内皮動員を阻害するモノクローナル抗体について記載する。本実施例に記載の抗体を作製するためにマウスを免疫化するのに使用されるペプチド抗原は、R & Dシステムから購入した(Recombinant Human Mer Fc Chimera、#CF891-MR-100)。これは、間に介在する小さな連結ペプチド(IEGRMD)でヒトIgG1タンパク質(Pro100-Lys330)のFc領域の一部に融合したMER TKの細胞外ドメインの大部分(Arg26からAla499；配列番号58)から構成されるキメラペプチドである。当該キメラペプチドの概略については、図1Aを参照。マウスをこのキメラペプチドで免疫した後、免疫したマウスから単離したB細胞を骨髓腫細胞株に融合させることにより、ハイブリドーマライブラリーを作製した。次に、これらのハイブリドーマの上清を単離し、後述するセクション6.1.1に記載されているように、抗体捕捉競合ELISAアッセイ(図2)を使用してMER TKに結合する抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した。これを同定した後、後述するセクション6.1.2に記載されているように、抗体捕捉競合ELISAアッセイ(図2)を使用して、MER TKのGas-6への結合を阻害できる抗体を産生するハイブリドーマを同定するために、MER TKに高い親和性を持つ抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングした。単クローンの(モノクローナル)ハイブリドーマ細胞を単離するために、ハイブリドーマライブラリーで分離およびスクリーニングを実施した。このライブラリーから960個の単一ハイブリドーマクローン(モノクローナル)をスクリーニングし、高い親和性でMER TKに結合してGas-6の結合を中和するモノクローナル抗体を産生するクローンを同定した。

20

30

【0387】

6.1.1。MER TK結合のELISA捕捉アッセイ：

MER TKに結合するモノクローナル抗体を同定するために、ELISA抗体捕捉アッセイを使用して、組換えMER TKタンパク質で免疫化したマウスから作製された各ハイブリドーマクローンから産生された分泌抗体をスクリーニングした。最初に、ポリスチレンプレートをコーティング抗体(ヤギ抗マウスIgG(Fc)；ロット番号：Jackson 98959；抗体濃度10 µg/mL)でコーティングした。次いで、各モノクローナルハイブリドーマクローンからの一次抗体を含む上清をプレートの各ウェルに加えた。次に、タグ付き抗原(組換えヒトMer-Fc；RnDシステム#891-MR；ロット番号：CXK0211051；濃度300 ng/mL)を各ウェルに添加した。次いで、検出抗体(ホースラディッシュペルオキシダーゼ[HRP]共役ヤギ抗ヒトIgG(Fc)；ロット番号：Jackson 86954；希釈度：1/5000)を各ウェルに

40

50

添加した。これに続いて、HRP基質を添加し、その後停止溶液を添加して反応を完了させた。各ウェルからのシグナル(OD)を、分光光度計を使用して読み取った。試験した960個のハイブリドーマクローンのうち、20個が1より大きいOD値を示し、ヒトMERTKへの有意な結合親和性を示した。OD読み取り値が1であると、陰性対照(抗体のない空の培地)で観察されたシグナル(OD値は0.22であった)の少なくとも4倍であることを示す。これらの20個のクローンを、M1からM20まで任意に命名し、図2に列挙している。図2の2番目の列(見出し「Mer」)は、各クローンのOD測定値(結合親和性を示す)を示している。

【0388】

6.1.2. 競合的Gas-6結合ELISAアッセイ

MERTKへのGas-6の結合を阻害する抗体を同定するために、上記20個のMERTK結合抗体(M1~M20)について、Gas-6競合的結合ELISAアッセイを行った。最初に、ポリスチレンプレートを組換えヒトGas-6(RnDシステム、rhGas6、#885-GS-050、濃度7 μ g/mL)でコーティングした。次に、各モノクローナルハイブリドーマクローンからの一次抗体を含む上清をプレートの各ウェルに添加した。同時に、組換えヒトMERTK(Mer-Fc RnDシステム、#891-MR;ロット番号:CXK0211051;濃度300ng/mL)を各ウェルに添加した。次いで、検出抗体(ホースラディッシュペルオキシダーゼ[HRP]共役ヤギ抗ヒトIgG(Fc);ロット番号:Jackson 86954;希釈度:1/5000)を各ウェルに添加した。これに続いて、HRP基質および停止溶液を添加して反応を完了させた。シグナル(OD)を、分光光度計を使用して各プレートから測定した。このアッセイで試験したすべてのハイブリドーマクローンのうち、11個のOD値は2.4未満であり、MERTKへのGas-6の結合を阻害したことが示された。陰性対照(抗体のない空の培地)で観察されたシグナルが2.43であったことから、OD読み取り値が2.4であることはMERTKへのGas-6の結合を阻害したことを示す。これらの20個のクローンを図2に示す。図2の3番目の列(見出し「(Mer+Clone)」)は、各クローンのOD測定値(Gas-6結合の阻害の量を示す)を示す。

【0389】

2つのモノクローナル抗体(M6およびM19)を、トランスウェル内皮遊走アッセイを使用した転移細胞による内皮動員を阻害できるかどうかなどの、さらなる研究のために選択した。

【0390】

6.2. 実施例2:M19およびM6抗体は、インビトロでトリプルネガティブ乳癌細胞による内皮細胞の動員を阻害することができる

MERTKの活性化による内皮動員を阻害できるモノクローナル抗体を同定するために、上記実施例1に記載のスクリーニングで作製された高親和性のGas-6競合モノクローナル抗体を、トランスウェルを使用したインビトロでの内皮動員アッセイで試験した。転移性であるMDA-MB-231ヒト乳癌細胞を、多孔質のトランスウェルインサートを通してHUVECsを動員する能力をアッセイ可能なボイデンチャンバーの底部に配置した。上記スクリーニングからのMERTK結合抗体(高親和性抗体と低親和性抗体との両方を含む)を生理的濃度でトランスウェルに個別に添加した。試験したすべての抗体の中で、M19およびM6が、陰性対照の抗体IgG(図3)に対してHUVEC細胞の動員(遊走細胞/フィールド)を最も有意に阻害した(遊走細胞の50%減少)。このことは、モノクローナル抗体M19およびM6の、ヒト転移性癌細胞によるヒト内皮細胞の動員を阻害する能力を示している(図3)。

【0391】

6.3. 実施例3:M19およびM6抗体は、内皮細胞でのMERTKのリン酸化を活性化する

M19およびM6が実際にMERTKを活性化する抗体であることを確認するために、ウェスタンブロット分析を実施して、M19またはM6抗体処理の有無による、内皮細胞

10

20

30

40

50

(H U V E C) が発現しているリン酸化 (活性化) M E R T K のレベルを定量化した (図 4、図 5)。

【0392】

ウエスタンブロット分析を行うために、H U V E C 細胞 (または L M 2 乳癌細胞) を、10% F B S を含む E G M - 2 培地 (L o n z a、c a t # C C - 3 1 6 2) で 80% コンフルエンスまで増殖させた。所定の条件下で 16 時間インキュベートした後、細胞を P B S で洗浄し、プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤 (R o c h e、それぞれの C a t # 1 1 8 3 6 1 7 0 0 0 1 および 0 4 9 0 6 8 4 5 0 0 1) を含む 1 m L R I P A 緩衝液 (G - B i o s c e i n c e、C a t # 7 8 6 - 4 9 0) で溶解させた。次いで、細胞溶解物からのタンパク質を S D S - P A G E で分離し、P V D F 膜に転写した。タンパク質の検出には、次の一次抗体を使用した: リン酸化 - M E R T K (F a b G e n n i x、c a t # P M K T - 1 4 0 A P)、M E R T K (A b c a m、c a t # a b 5 2 9 6 8)、リン酸化 - A k t (S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y、c a t # s c - 7 9 8 5 R)、および A k t (S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y、c a t # s c - 1 6 1 8)。適切な H R P 共役二次抗体 (L i f e T e c h n o l o g i e s) を使用して、一次抗体を検出した。

10

【0393】

特定の抗体で処理した培養細胞は、慢性 (16 時間) および急性 (30 分) の両方の抗体処理中に用量依存的に内皮細胞上の M E R T K の活性化を増加させた (図 4、図 5)。興味深いことに、M 19 抗体での処理は L M 2 乳癌細胞の M E R T K の活性化を増加させなかった (図 6)。

20

【0394】

6.4. 実施例 4: M 19 はヒトおよびマウスの両方の M E R T K に高い親和性で結合する

本実施例は、M 19 抗体がヒトおよびマウスの両方の M E R T K に高い親和性 (~ 0.3 nM の K_D) で結合することを示している。組換えヒトおよびマウス M E R T K に対する M 19 抗体の結合親和性を特徴付けるために、バイオレイヤー干渉法を用いて生体分子相互作用分析を実施した (図 7 および図 8)。M 19 とマウスおよびヒトの両方の M E R T K との間に結合が観察された。全体的なグローバルフィットから、ヒトおよびマウスの M E R T K への M 19 の結合の結合親和性 (K_D) は同等である ($K_D = \sim 0.3$ nM) と算出された (図 7、図 8)。

30

【0395】

6.5. 実施例 5: M 19 の治療的投与は、インビボでのヒト乳癌の腫瘍進行を阻害する

本実施例は、M E R T K を活性化する抗体である M 19 が、ヒト乳癌のマウスモデルにおいてインビボで腫瘍の進行および腫瘍の転移を阻害できることを実証している。モノクローナル抗体 M 19 がインビボで腫瘍の負荷を軽減し、腫瘍の進行を阻害できるかどうかを試験するために、成長因子を低減させたマトリゲルと 2000 M D A - M B - 231 または 5000 L m 1 a 1 細胞とを 1:1 の比率で混合し、N O D - S C I D マウスの乳腺脂肪体に両側から注入した。この手術後、M 19 抗体またはコントロール I g G 抗体の 250 μ g の腹腔内注射を行い、その後週に 2 回注射した。触知可能な腫瘍の腫瘍サイズを、口径を使用して毎週測定した。M 19 抗体を用いた治療により、インビボでのトリプルネガティブ乳癌の原発腫瘍の増殖 (図 9 A) および転移 (図 9 B) の両方が有意な治療的阻害を示した。

40

【0396】

6.6. 実施例 6: M 19 はインビボで腫瘍の血管新生を阻害する

M 19 抗体による治療的処置がインビボで血管新生の阻害をもたらすかどうかを調べるために、M 19 で処置したマウスおよび未処置マウスの腫瘍内の血管密度を定量化した。2000 M D A - M B - 231 を、N O D - S C I D マウスの乳腺体に両側から注射した。250 μ g の M 19 抗体またはコントロール I g G 抗体で処置してから 58 日後に、

50

腫瘍を切除し、血管密度を定量した（図10）。実際、M19抗体による治療的処置は、インビボでの血管新生の有意な阻害（＞50%）をもたらした（図10）。

【0397】

6.7. 実施例7：M6は両方のヒトMERTKに高い親和性で結合する

本実施例は、M6抗体が組換えヒトMERTKに高い親和性（～4.6ピコモルの K_D ）で結合することを示している。M6抗体の結合親和性を特徴付けるために、バイオレイヤー干渉法を使用して生体分子相互作用分析を実施した（図11）。M6とヒトMERTKとの間で結合が観察された。全体的なグローバルフィットはから、ヒトMERTKへのM6の結合の結合親和性（ K_D ）は約4.6ピコモルと算出された（図11）。

【0398】

6.8. 実施例8：M6の治療的投与はインビボでのヒト乳癌の腫瘍の進行を阻害する

本実施例は、MERTKを活性化する抗体M6が、ヒト乳癌のマウスモデルにおいてインビボで腫瘍の進行を阻害できることを示している。モノクローナル抗体M6がインビボで腫瘍の負荷を軽減し、腫瘍の進行を阻害できるかどうかを試験するために、成長因子を低減させたマトリゲル（BD Biosciences）と2000 MDA-MB-231乳癌細胞とを1：1の比率で混合し、NOD-SCIDマウスの乳腺脂肪体の両側に注射した。この手術後、M6抗体またはコントロールIgG抗体を腹腔内に注射し、続いて週2回注射した。触知可能な腫瘍の腫瘍サイズを、口径を使用して毎週測定した。実際、週2回のM6抗体による治療は、腫瘍サイズの有意な減少をもたらした（図12）。

【0399】

6.9. 実施例9：M6およびM19の抗体配列

M19およびM6をさらに特徴付けるために、これらの抗体の重鎖および軽鎖の可変領域の配列を決定した。M6の重鎖および軽鎖の可変領域の両方のアミノ酸配列を表5に示す。M6の重鎖および軽鎖の可変領域の両方の核酸配列を表7に示す。M6のCDRのアミノ酸配列を表1（VHの場合）および表2（VLの場合）に示す。

【0400】

M19の重鎖および軽鎖の可変領域の両方のアミノ酸配列を表6に示す。M6の重鎖および軽鎖の可変領域の両方の核酸配列を表8に示す。M19のCDRのアミノ酸配列は表3（VHの場合）および表4（VLの場合）に示されている。

【0401】

本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態によって範囲が限定されるものではない。実際、記載されたものに加えて、本発明の様々な修正が、前述の説明および添付の図面から当業者に明らかになるであろう。そのような修正は、添付の特許請求の範囲内に含まれることが意図されている。

【0402】

6.10. 実施例10：抗MERTKアゴニスト抗体薬物コンジュゲートを用いた転移性トリプルネガティブ乳癌の治療

実施例1（セクション6.1）に記載のモノクローナル抗体M6はヒト化されており、マレイミドカプロン酸（mc）（すなわち、リンカー）を介して細胞毒性剤であるモノメチルアウリスチンF（MMAF）に結合されている。抗MERTK抗体-薬物コンジュゲートは精製され、転移性トリプルネガティブ乳がんを呈する患者に静脈内投与される。この患者は、臨床評価による応答について、抗体薬物コンジュゲート投与の前、投与の間、および投与の後にモニタリングされる。

【0403】

本明細書に引用されている全ての文献（例えば、刊行物または特許または特許出願）は、それぞれの個々の文献（例えば、刊行物または特許または特許出願）がすべての目的のためにその全体が参照により引用されていることが具体的かつ個別的に明記されているのと同程度に、その全体が参照により、すべての目的で本明細書に引用される。

10

20

30

40

【 図 1 】

図1A

ヒトMERTK (Arg26 - Ala489) スイスプロットID # Q12866	IEGRMD (連続ペプチド)	ヒトIgG1 (Pro100 - Lys330) スイスプロットID # P01857
N末端		C末端

図1B

1 mgpaplpill glflpalwrr aiteareeak pyplfpgpfp gslqtdhtpl
lsiphasgyg 61 palmfptcp grphgtgnvai pgrtsveskp lpplafkhtv
ghilsehkg vkfncsievp 121 niyqdttsiw wkdgkellga hhaigtgfyd
devtaiiaaf sitvqrsdn gsvickmkin 181 neelvsdpyi ievqglphft
kqpsnmvtr ntafnltcga vgppepvniif wvqnserrne 241 gpekspsvlt
vpgltemavf sceahndkql tvskgvqini kaipsptev sirntahsi 301
liawvpqfdg yspfrncsiq vkeadplang evmfntaal phlygikqlg alanyisgvs
361 cmneiqwsav spwilaette gapsvapinv tvfinessdn vdirwmkppt
kqgdgelvgy 421 rishvwqesg iskelleevg qngzerariev qvhnatctvr
iaavtrggvg pfedpvkifi 481 pahgvvdyap sstpapgnad pvllifgcfc
gfiligllily islaikrvqg etkfngafte 541 edselsvnyi akksfrcrai
eltihslgvs eelqnkledv vidrnllilg kilgegefgs 601 vmegnklqed
gtsikvavkt mkidnssqre ieefflseaac mkdfshpni rllgvciems 661
sqgipkpmvi lpfmkygdih tyllysrlet gpkhiplqtl lkfmvdialg meylsnrnf
721 hrdlaarncm lrddmtvcva dfglskkiys gdyyrqgria kmpvkwiaie
sladvrytsk 781 sdvwaifgtm weilatrgmt ppgvqnemy dyllhghrlk
qpedcdely eimyscwrt 841 pldrptfsvl riqleklles lpdvrnqadv
iyvntqlles seglaqgstl apldlnidpd 901 sliasctpra aivsvtaevh
dskphegryi lnggseewd ltsapsaavt aeknsvipge 961 rlvrngvsws
hssmiplgss ipdeillfadd ssegsevlm

【 図 2 】

MerTK モノクローナル抗体 スクリーニング		
名称	ELISAによるO.D. 対 Mer	ブロッキングO.D. (Mer + クローン)
M1	1.307	2.922
M2	0.746	2.744
M3	0.949	2.718
M4	4.000	2.842
M5	1.377	2.508
M6	4.000	2.048
M7	1.304	2.735
M8	3.764	2.729
M9	1.006	2.715
M10	3.160	2.699
M11	4.000	1.809
M12	4.000	1.840
M13	4.000	1.759
M14	4.000	1.806
M15	3.705	1.448
M16	3.777	1.557
M17	4.000	1.639
M18	4.000	1.567
M19	4.000	1.517
M20	4.000	1.726

図2

【 図 3 】

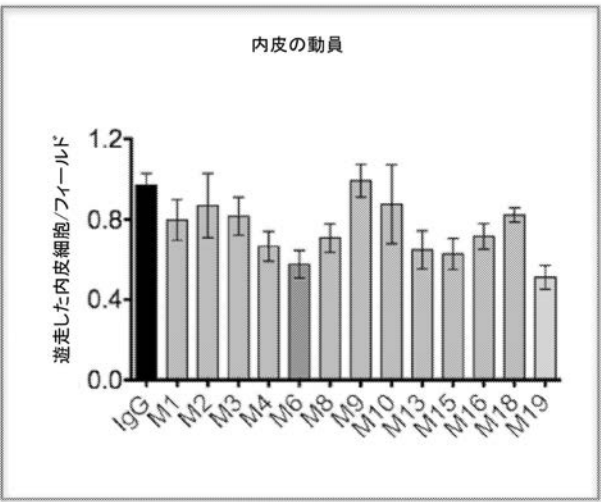


図3

【 図 4 】

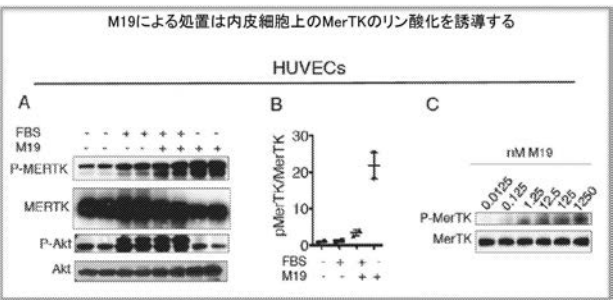


図4A, 4Bおよび4C

【 図 5 】

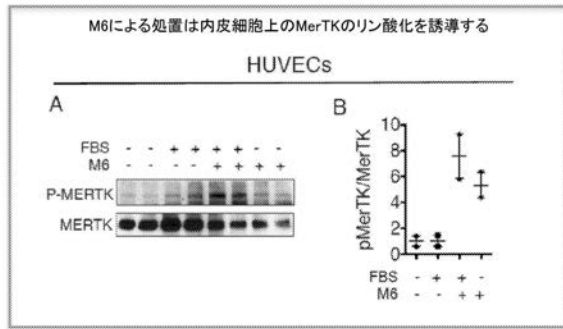


図5Aおよび5B

【 図 6 】

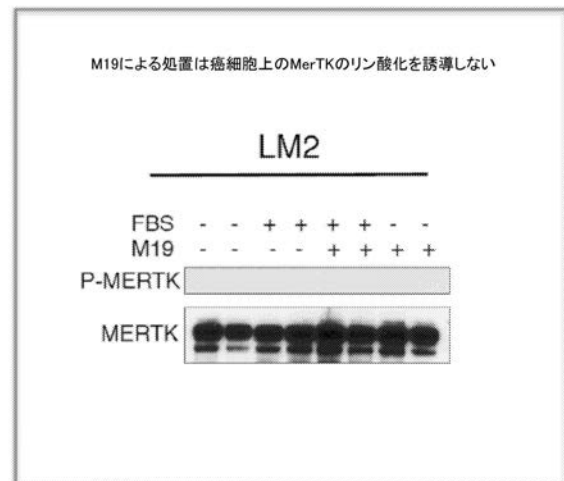


図6

【 図 7 】

ER-M19 対 hMer 親和性						
濃度 hMer (nM)	応答	(nm)	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{dis} (1/s)	完全 R^2
5	0.7942	2.46E-10	3.86E+06	9.51E-04	0.956793	
2.5	0.5448	3.39E-10	2.65E+06	8.99E-04	0.983587	
1.25	0.3565	2.97E-10	3.44E+06	1.02E-03	0.985297	
0.625	0.2551	1.55E-10	5.11E+06	7.90E-04	0.984157	
0.3125	0.1347	1.28E-10	7.57E+06	9.68E-04	0.985513	
0.1563	0.0667	6.21E-11	1.53E+06	9.49E-04	0.993774	
0.0781	0.0404	7.65E-11	1.22E+07	9.34E-04	0.973438	
グローバルフィット:		3.26E-10	3.08E+06	1.00E-03	0.99598	

略語キー

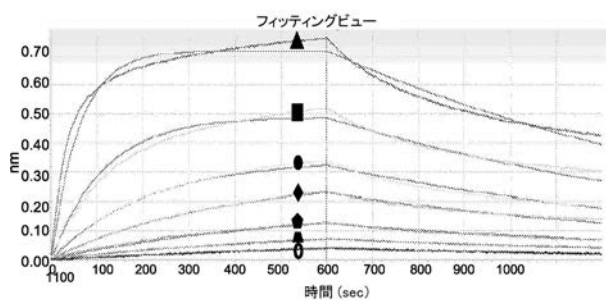
応答 会合ステップ中に算出された波長のシフト (nm)

K_D 親和性の定数 (M) = k_{dis}/k_{on}

k_{on} 会合の速度 (1/Ms)

k_{dis} 解離の速度 (1/s)

完全 R^2 カーブフィッティングの相関係数



図表キー 濃度 (nM)

5

2.5

1.25

0.625

0.3125

0.15625

0.078125

図7

【 図 8 】

MER-M19 対 msMer 親和性						
濃度 msMer (nM)	応答	(nm)	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{dis} (1/s)	完全 R^2
5	0.4374	3.54E-10	3.77E+06	1.33E-03	0.968567	
2.5	0.363	3.41E-10	4.66E+06	1.59E-03	0.982899	
1.25	0.2775	2.82E-10	5.27E+06	1.49E-03	0.983871	
0.625	0.214	1.98E-10	6.92E+06	1.37E-03	0.989074	
0.3125	0.1427	1.15E-10	9.23E+06	1.06E-03	0.986706	
0.1563	0.0795	1.17E-10	1.10E+07	1.29E-03	0.987989	
0.0781	0.0428	4.72E-11	2.29E+07	1.08E-03	0.961076	
グローバルフィット:		3.05E-10	4.71E+06	1.44E-03	0.99318	

略語キー

応答 会合ステップ中に算出された波長のシフト (nm)

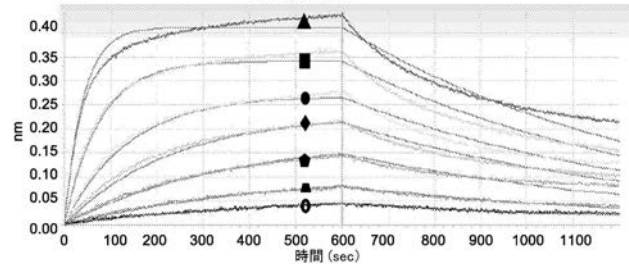
K_D 親和性の定数 (M) = k_{dis}/k_{on}

k_{on} 会合の速度 (1/Ms)

k_{dis} 解離の速度 (1/s)

完全 R^2 カーブフィッティングの相関係数

フィッティングビュー



図表キー 濃度 (nM)

5

2.5

1.25

0.625

0.3125

0.15625

0.078125

図8

【 図 9 】

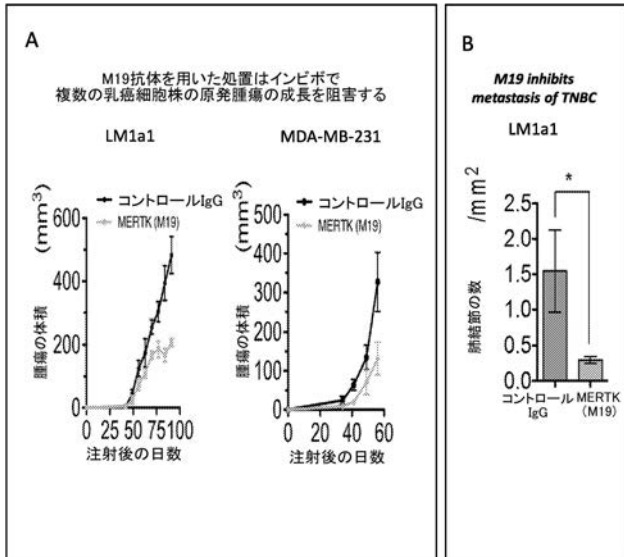


図9Aおよび9B

【 図 1 0 】

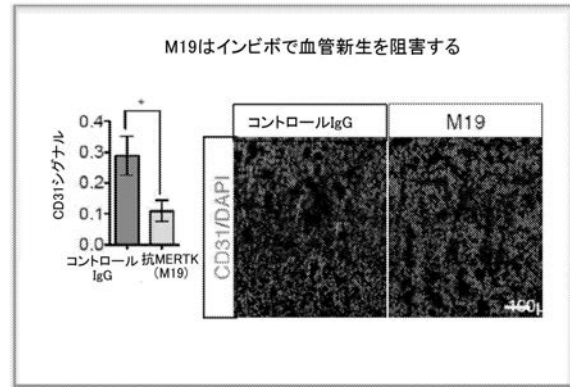


図10

【 図 1 1 】

MER-M6 対 hMer 親和性						
濃度	hMer (nM)	応答 (nm)	K _D (M)	k _{on} (1/Ms)	k _{dis} (1/s)	完全 R ²
5	0.5449	6.34E-13	2.37E+06	1.50E-06	0.937992	
2.5	0.3941	2.09E-12	2.13E+06	4.46E-06	0.986368	
1.25	0.2669	4.98E-11	3.12E+06	1.56E-04	0.98301	
0.625	0.1835	1.31E-14	5.57E+06	7.27E-08	0.872407	
0.3125	0.1009	3.12E-15	1.06E+07	3.30E-08	0.834831	
0.1563	0.0373	6.52E-14	1.41E+07	9.22E-07	0.800002	
0.0781	0.0173	8.23E-13	3.03E+07	2.49E-05	0.816043	
グローバルフィット:		4.61E-12	2.07E+06	9.55E-06	0.997574	

略語キー

応答 会合ステップ中に算出された波長のシフト (nm)

K_D 親和性の定数 (M) = k_{dis}/k_{on}

k_{on} 会合の速度 (1/Ms)

k_{dis} 解離の速度 (1/s)

完全 R² カーブフィッティングの相関係数

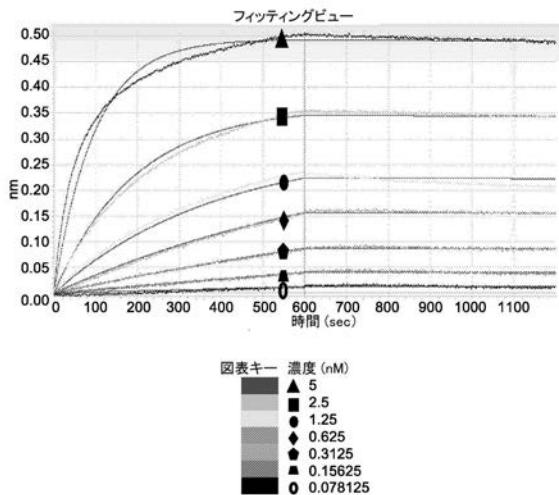


図 11

【 図 1 2 】

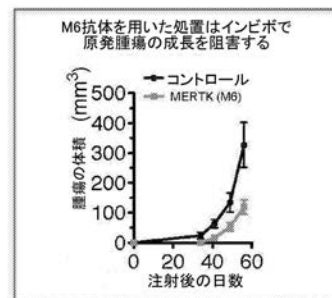


図 12

【配列表】

2020526584000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 18/39445

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 18/39445

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-41, 62-67, 70-95
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:
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.

—continued on first extra sheet—

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.: 1-3, 42, 54(in part), 68 and 69 limited to SEQ ID Nos: 1, 6, 11, 15, 19, 22, 49, 50

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/US 18/39445

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/395, A61K 45/00, A61K 45/06 (2018.01)
CPC - C07K 16/2863, C07K 2317/76, C07K 16/40

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History Document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History Document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History Document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/106221 A1 (ROCKEFELLER UNIVERSITY) 30 June 2016 (30.06.2016) para [0008]; [0044]; [0054]; [0062]; [0063]; [0372]; Table 10; SEQ ID NOs: 1, 6, 11, 15, 19, 22, 49, 50 and 58.	1-3, 42, 54, 68, 69
Y	US 2015/031552 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 05 November 2015 (05.11.2015) para [0005]; [0013]-[0016]; [0040]; [0048]; [0168].	1-3, 42, 54, 68, 69

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 October 2018

Date of mailing of the international search report

09 NOV 2018

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 18/39445

--continued from Box No III: Observations where unity of invention is lacking--

Group I+, claims 1-3, 42-61, 68 and 69, directed to an antibody-drug conjugate comprising an antibody or an antigen-binding fragment thereof that specifically binds to human Mer Tyrosine Kinase (MERTK). The anti- MERTK conjugate will be searched to the extent that the binding region encompasses VH CDR sequences CDR1 SEQ ID NO: 1, CDR2 SEQ ID NO: 6, and CDR3 SEQ ID NO: 11, VL CDR sequences CDR1 SEQ ID NO: 15, CDR2 SEQ ID NO: 19, and CDR3 SEQ ID NO: 22, VH sequence SEQ ID NO: 49 and VL sequence SEQ ID NO: 50. It is believed that claims 1-3, 42, 54(in part), 68 and 69 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the binding domain sequence encompasses an E15 substitution. Additional binding domain sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected binding domain 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. An exemplary election would be a binding domain sequence comprising VH CDR sequences CDR1 SEQ ID NO: 2, CDR2 SEQ ID NO: 7, and CDR3 SEQ ID NO: 12, VL CDR sequences CDR1 SEQ ID NO: 16, CDR2 SEQ ID NO: 20, and CDR3 SEQ ID NO: 23, VL sequence SEQ ID NO: 49 and VL sequence SEQ ID NO: 50 (claims 1-3, 43, 55, 68 and 69).

[Note, M5 variable region sequences (in applicant specification Table 5 on p. 37) VH sequence SEQ ID NO: 49 includes all of SEQ ID Nos: 1, 2, 6, 7, 11 and 12; and VL sequence SEQ ID NO: 50 includes all of SEQ ID Nos: 15, 16, 19, 20, 22 and 23]

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique amino acid sequence. Each amino acid sequence encodes a unique peptide, and is considered a distinct technical feature.

No technical features are shared between the anti- MERTK amino acid sequences of Group I+ and accordingly, this group lacks unity a priori.

Additionally, even if Group I+ were considered to share the technical features of including: an antibody-drug conjugate comprising: (a) an antibody moiety that is an antibody or an antigen-binding fragment thereof that specifically binds to human Mer Tyrosine Kinase (MERTK), wherein said antibody or antigen-binding fragment agonizes human MERTK signaling of endothelial cells; (b) one or more drug moieties, each drug moiety being a cytotoxic agent; and (c) optionally a linker; wherein the cytotoxic agent is conjugated directly to the antibody moiety or is conjugated to the antibody moiety via the linker.

wherein said antibody-drug conjugate comprises an antibody moiety that is an antibody that competes for binding to MERTK with a reference antibody comprising a first immunoglobulin and a second immunoglobulin.

These shared technical features are previously made obvious by WO 2016/106221 A1 to Univ Rockefeller (hereinafter Rockefeller) in view of US 2015/031552 A1 to The Board Of Trustees Of The Leland Stanford Junior University (hereinafter Stanford).

Rockefeller teaches (a) an antibody moiety that is an antibody or an antigen-binding fragment thereof that specifically binds to human Mer Tyrosine Kinase (MERTK), wherein said antibody or antigen-binding fragment agonizes human MERTK signaling of endothelial cells (para [0044] "provided herein is an anti-MERTK antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to MERTK (e.g., human MERTK, or both human and mouse MERTK) and agonizes MERTK signaling on endothelial cells"); and (b) one or more drug moieties, each drug moiety being a cytotoxic agent (para [0054] "the method of treating cancer further comprises administering to the subject an additional therapeutic agent. Examples of additional therapeutic agents that can be administered to a subject in combination with an anti- MERTK antibody or antigen-binding fragment thereof described herein"; [0372] "Table 10. Additional Therapeutic Agents for Use in Combination Therapy with MERTK Antibodies or Antigen-Binding Fragments Thereof Alkylating agents Busulfan Chlorambucil dacarbazine procarbazine ifosfamide altretamine hexamethylmelamine estramustine phosphate thiotepa mechlorethamine dacarbazine streptozocin lomustine temozolomide cyclophosphamide Semustine...CHS-828 (cytotoxic agent, Leo Pharma)"), yet does not specifically teach the antibody and one or more drug moieties are in the form of an antibody-drug conjugate further comprising (c) optionally a linker; wherein the cytotoxic agent is conjugated directly to the antibody moiety or is conjugated to the antibody moiety via the linker.

Stanford teaches an antibody-drug conjugate comprising an antibody or antigen-binding fragment that agonizes MERTK signaling (para [0013]-[0016] "the agent useful for treating, reducing, or preventing primary tumor growth and/or formation, e.g., via inhibition of AXL, MER and Tyro3 and/or GAS6 related pathways is an inhibitor agent. In some embodiments, the inhibitor agent is selected from the group consisting of (a) an inhibitor of AXL, MER and/or Tyro3 activity...the inhibitor agent is...an antibody, an antibody fragment, or antibody drug-conjugate...the inhibitor agent binds to two or more epitopes on a single GAS6...at least one of the epitopes is the major or minor AXL, MER or Tyro3 binding site on GAS6"; [0166] "the peptide or polypeptide conjugate is an antibody-drug conjugates"; Note, MERTK is synonym for MER, see Rockefeller para [0005] "The receptor tyrosine kinase AXL (also known as Ufo and Tyro7) belongs to a family of tyrosine receptors that includes Tyro3 (Sky) and Mer (Tyro12). A common ligand for AXL family is GAS6", that binds MERTK (para [0040] "wherein said AXL, MER or Tyro3 variant polypeptide exhibits increased affinity of the AXL, MER or Tyro3 variant polypeptide binding to GAS6"), optionally comprising a linker (para [0046] "In some embodiments, the AXL, MER or Tyro3 variant polypeptide further comprises a linker"). Since Rockefeller teaches combined treatment with anti-MERTK and a cytotoxic agent to treat cancer (para [0054] "the method of treating cancer further comprises administering to the subject an additional therapeutic agent...in combination with an anti- MERTK antibody or antigen-binding fragment thereof described herein"; [0372] "Table 10. Additional Therapeutic Agents for Use in Combination Therapy with MERTK Antibodies or Antigen-Binding Fragments Thereof...Chlorambucil dacarbazine...CHS-828 (cytotoxic agent, Leo Pharma)"), it would have been obvious to one of ordinary skill in the art to have conjugated the anti-MERTK antibodies taught by Rockefeller to the cytotoxic drugs taught by Rockefeller, thus producing an antibody-drug conjugate, in order to target the drug to the site of MERTK signaling sought to be inhibited with the antibody.

--continued in next sheet--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 18/39445

--continued from last sheet--

Rockefeller further teaches said antibody competes for binding to MERTK with a reference antibody comprising a first immunoglobulin and a second immunoglobulin (para [0121] "provided herein is an antibody which competes for binding to MERTK with a reference antibody selected from the group consisting of: (a) a first immunoglobulin comprising (i) a heavy chain variable").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

NOTE, claims 4-41, 62-67, 70-95 are held unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/07 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 38/08 (2019.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 31/537 (2006.01)	A 6 1 K 38/07	
A 6 1 K 31/4164 (2006.01)	A 6 1 K 38/08	
A 6 1 K 31/404 (2006.01)	A 6 1 K 31/537	
A 6 1 K 31/44 (2006.01)	A 6 1 K 31/4164	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/404	
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/44	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 5/14 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 5/14	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 13/10 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/10	
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/08	
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
	A 6 1 P 43/00	1 1 1
	A 6 1 P 43/00	1 2 1
	C 1 2 N 15/13	

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

(72)発明者 タヴァゾイ, ソハイル

アメリカ合衆国, ニューヨーク, ニューヨーク, ナンバー 17 ビー, イースト 63 ストリート
504

(72)発明者 タヴァゾイ, マスード

アメリカ合衆国, ニューヨーク, ニューヨーク, アpartment 3 ビー, サード アヴェニュー
535

Fターム(参考) 4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59

4C084 AA17 AA19 BA08 BA16 BA23 BA44 MA02 NA05 NA13 ZB261
ZC412 ZC751

4C085 AA13 AA14 AA26 BB01 BB31 BB41 BB43 CC02 CC23 DD62
EE01 EE03 GG01 GG08

4C086 AA01 AA02 AA03 BC13 BC17 BC38 CB22 GA07 MA02 MA04

NA05	NA13	ZB26	ZC75					
4H045	AA11	AA30	BA10	BA72	DA76	EA20	FA10	FA74