

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7279026号

(P7279026)

(45)発行日 令和5年5月22日(2023.5.22)

(24)登録日 令和5年5月12日(2023.5.12)

(51)国際特許分類

F I

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

G 0 1 N 33/574

A Z N A

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/53

Y

G 0 1 N 33/536 (2006.01)

G 0 1 N 33/536

A

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 K 47/68

請求項の数 21 (全70頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-516740(P2020-516740)

(86)(22)出願日 平成30年9月20日(2018.9.20)

(65)公表番号 特表2020-534540(P2020-534540
A)

(43)公表日 令和2年11月26日(2020.11.26)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/051951

(87)国際公開番号 WO2019/060542

(87)国際公開日 平成31年3月28日(2019.3.28)

審査請求日 令和3年9月17日(2021.9.17)

(31)優先権主張番号 62/561,107

(32)優先日 平成29年9月20日(2017.9.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/571,397

(32)優先日 平成29年10月12日(2017.10.12)

最終頁に続く

(73)特許権者 506226212

メルサナ セラピューティクス インコー

ポレイテッド

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州、

ケンブリッジ、メモリアル ドライブ 8

4 0

(74)代理人 100102978

弁理士 清水 初志

(74)代理人 100102118

弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 N A P I 2 B 標的化療法に対する応答を予測するための組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するNaPi2b発現がん患者の応答性を予測することを補助する方法であって、患者から得られた腫瘍サンプルをウサギ定常領域およびヒト可変領域を含むキメラ抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルを測定する段階を含み、腫瘍サンプルにおける、所定の定量的カットオフスコアまたは半定量的カットオフスコアよりも高いNaPi2bの発現レベルが、患者が処置に対し応答性であることを示し、ヒト可変領域が、

アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、

アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、

アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、

アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、

アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、

アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)

を含み、かつ

ウサギ定常領域が、SEQ ID NO: 11に示されるアミノ酸配列を含む重鎖定常領域およびS

EQ ID NO: 12に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含み、かつ

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体が、

10

20

アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、
 アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、
 アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、
 アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、
 アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、
 アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)を含む、方法。

【請求項 2】

NaPi2b発現がんが、肺がん、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、腎臓がん、甲状腺がん、腎がん、唾液腺がん、子宮内膜がん、胆管がん、甲状腺乳頭がんまたは乳頭腎がんである、請求項1記載の方法。

10

【請求項 3】

肺がんが非小細胞肺がん(NSCLC)である、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

NSCLCが、非扁平NSCLCまたは腺がんである、請求項3記載の方法。

【請求項 5】

卵巣がんが、上皮性卵巣がんまたは白金抵抗性の卵巣がんである、請求項2記載の方法。

【請求項 6】

所定の定量的カットオフスコアまたは半定量的カットオフスコアが、Hスコア法、光学顕微鏡または画像分析によって決定される、請求項1記載の方法。

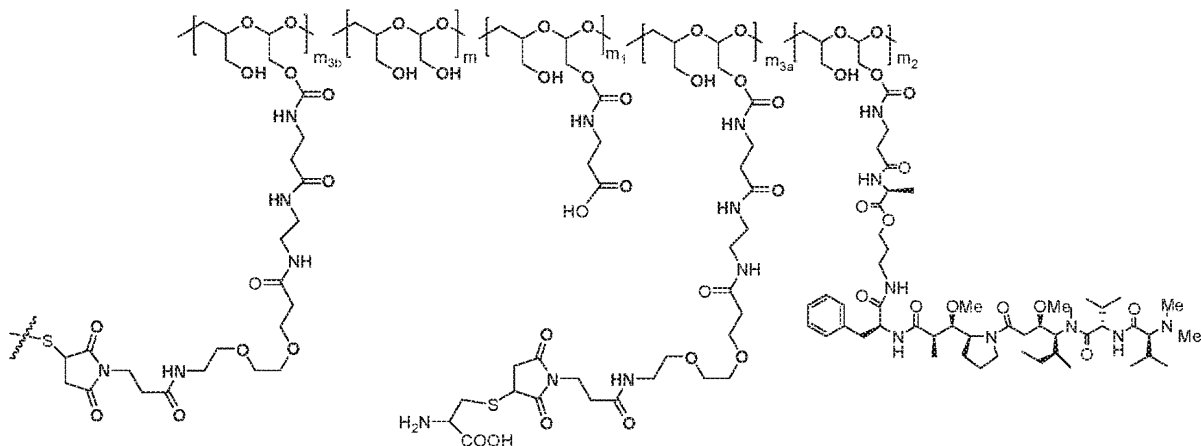
20

【請求項 7】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体がXMT-1535である、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートが以下：



30

であり、

式中：

m が $1 \sim 300$ の整数であり、

m_1 が $1 \sim 140$ の整数であり、

m_2 が $1 \sim 40$ の整数であり、

m_{3a} が $0 \sim 17$ の整数であり、

m_{3b} が $1 \sim 8$ の整数であり；

m_{3a} および m_{3b} の合計が $1 \sim 18$ の範囲であり；ならびに

m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} 、および m_{3b} の合計が $15 \sim 300$ の範囲であり；

末端の

40

50



がNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つもしくは複数の重合体足場の結合を示す、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを含む、対象におけるNaPi2b発現がんを処置するための薬学的組成物であって、

該薬学的組成物の投与の前に、該対象から得られた腫瘍サンプルを、ウサギ定常領域およびヒト可変領域を含むキメラ抗NaPi2b抗体と接触させることによって、該腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルが測定され、

該腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルが所定の定量的カットオフスコアまたは半定量的カットオフスコアよりも高い場合、該対象は、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対し応答性であると予測され、該薬学的組成物を投与され、

ここで、ヒト可変領域が、

アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、

アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、

アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、

アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、

アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、

アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)

を含み、かつ

ウサギ定常領域が、SEQ ID NO: 11に示されるアミノ酸配列を含む重鎖定常領域およびS

EQ ID NO: 12に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含み、かつ

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体が、

アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、

アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、

アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、

アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、

アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、

アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)

を含む、薬学的組成物。

【請求項10】

所定の定量的カットオフスコアまたは半定量的カットオフスコアが、Hスコア法、光学顕微鏡または画像分析によって決定される、請求項9記載の薬学的組成物。

【請求項11】

NaPi2b発現がんが、肺がん、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、腎臓がん、甲状腺がん、腎がん、唾液管腺がん、子宮内膜がん、胆管がん、甲状腺乳頭がんまたは乳頭腎がんである、請求項9記載の薬学的組成物。

【請求項12】

肺がんが非小細胞肺がん(NSCLC)である、請求項11記載の薬学的組成物。

【請求項13】

NSCLCが、非扁平NSCLCまたは腺がんである、請求項12記載の薬学的組成物。

【請求項14】

卵巣がんが、上皮性卵巣がんまたは白金抵抗性の卵巣がんである、請求項11記載の薬学的組成物。

【請求項15】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体がXMT-1535である、請求項9～14のい

10

20

30

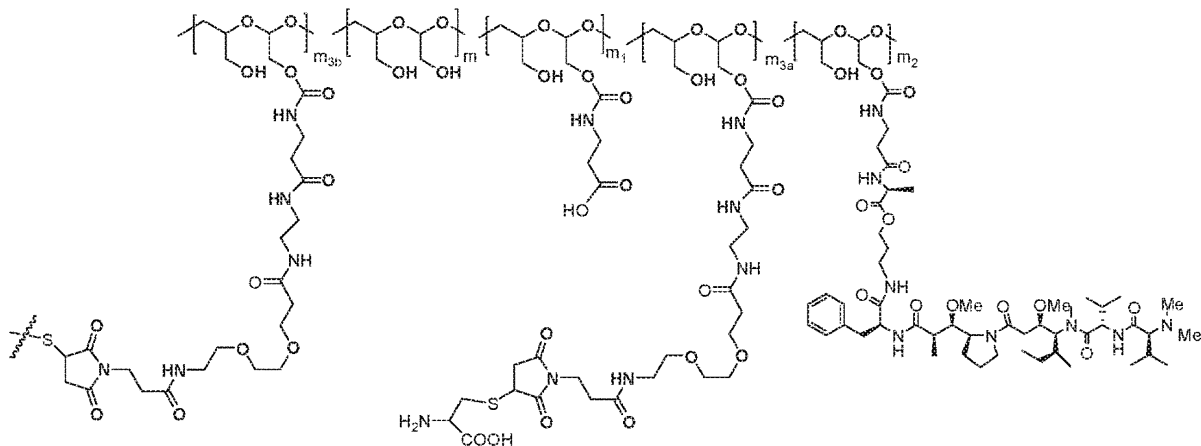
40

50

ずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 16】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートが以下：



10

であり、

式中：

m が $1 \sim 300$ の整数であり、

m_1 が $1 \sim 140$ の整数であり、

m_2 が $1 \sim 40$ の整数であり、

m_{3a} が $0 \sim 17$ の整数であり、

m_{3b} が $1 \sim 8$ の整数であり；

m_{3a} および m_{3b} の合計が $1 \sim 18$ の範囲であり；ならびに

m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} 、および m_{3b} の合計が $15 \sim 300$ の範囲であり；

末端の



20

がNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つもしくは複数の重合体足場の結合を示す、請求項9～15のいずれか一項記載の薬学的組成物。

30

【請求項 17】

キメラ抗NaPi2b抗体が標識二次抗体で検出される、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 18】

ウサギ定常領域およびヒト可変領域を含む、キメラ抗体であって、

ヒト可変領域が、

アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、

アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、

40

アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、

アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、

アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、

アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)を含み、かつ

ウサギ定常領域が、SEQ ID NO: 11の重鎖定常領域を含むウサギIgG1重鎖定常領域およびSEQ ID NO: 12の軽鎖定常領域を含むウサギ 軽鎖定常領域を含む、

50

キメラ抗体。

【請求項 19】

SEQ ID No: 1の可変重鎖およびSEQ ID No:2の可変軽鎖を含む、請求項18記載のキメラ抗体。

【請求項 20】

請求項18記載のキメラ抗体の重鎖および/または軽鎖をコードする核酸を含み、該核酸が、SEQ ID NO: 17および/またはSEQ ID NO: 18を含む、プラスミド。

【請求項 21】

請求項20記載のプラスミドを含む、細胞。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2017年9月20日付で出願された米国特許出願第62/561,107号、2017年10月12日付で出願された米国特許出願第62/571,397号および2018年8月14日付で出願された米国特許出願第62/718,692号の恩典および優先権を主張する。それぞれの内容は参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0002】

発明の分野

本発明は全体として、NaPi2bを標的とする抗体-重合体-薬物コンジュゲートによる処置に対する応答者と非応答者を層別化するための組成物および方法に関する。非小細胞肺がんをサブタイプ分類する方法も提供される。

20

【背景技術】

【0003】

発明の背景

複数回膜貫通型ナトリウム依存性リン酸輸送体であるNaPi2b (SLC34A2、NaPi1b、Npt2) (Xu et al. Genomics 62:281-284 (1999)(非特許文献1))は、哺乳動物小腸の刷子縁膜に通常発現され、経細胞無機リン酸(Pi)吸収に関与し、体内のリン酸ホメオスタシスの維持に寄与している。タンパク質レベルでのNaPi2bの発現は、肝臓において、乳腺および唾液腺の上皮細胞の頂端表面で、ならびに肺、精巣、唾液腺、甲状腺、小腸および子宮において検出されている。NaPi2bの変異は、肺胞および精巣の微石症の臨床症候群に関連付けられている。NaPi2bは、非扁平上皮非小細胞肺がん(NSCLC)、非粘液性卵巣がんおよび甲状腺乳頭がんにおいて高度に発現される。NaPi2b陽性組織の免疫反応性は、NSCLCの61%、および卵巣がん標本の92%に存在する。

30

【0004】

卵巣がんは、最も一般的な婦人科悪性腫瘍の1つであり、女性において5番目に最も頻発するがん死の原因である。高い致死率の一部には、卵巣がんが、進行した病期で診断されることが多いことの結果であり、致死率は罹患率のおよそ65%である。卵巣の上皮腫瘍は、全ての卵巣新生物の58%および卵巣悪性腫瘍の90%超を構成している。減量手術および白金に基づく併用化学療法(タキサンを含む)は、現在の処置様式である。しかし、卵巣上皮がんが再発した患者の大半は最終的には本疾患で死亡する。モノクローナル抗体による免疫療法またはがんワクチンに基づくアプローチのような標的化療法を含む、卵巣がんの新規処置様式が必要である。

40

【0005】

NSCLCは、小細胞肺がん(SCLC)以外の肺上皮がんのあらゆるタイプである。NSCLCは、全ての肺がんの約85%を占める。クラスとして、NSCLCは小細胞がんと比較して、化学療法に対し比較的感受性が低い。可能である場合、NSCLCは、治癒目的の外科的切除によって主に処置されるが、術前(ネオアジュバント化学療法)および術後(アジュバント化学療法)の両方において化学療法がますます使用されている。転移性または手術不能な状況では、化学療法および/または免疫療法が使用されるが、この病期の疾患は大部分が不治であり

50

、生存期間は依然として短い。NSCLCではモノクローナル抗体による免疫療法またはがんワクチンに基づくアプローチのような標的化療法を含めて、新規の処置様式が必要である。

【0006】

さらに、NaPi2bの生物学的活性を標的化する治療に対する応答を予測するための診断方法およびキットが必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【文献】Xu et al. Genomics 62:281-284 (1999)

【発明の概要】

【0008】

概要

さまざまな局面において、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階; NaPi2bと抗体との間の結合を検出する段階; および腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの存在が検出される場合に、患者が処置に対し応答性であることを予測する段階により、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法を提供する。

【0009】

別の局面において、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階; NaPi2bと抗体との間の結合を検出する段階; および検出を病理学的にスコアリングする段階により、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法を提供する。病理スコアは、処置に対する応答性と相関する。

【0010】

さらなる局面において、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルを測定する段階、および腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルが所定のカットオフポイントよりも高い場合に、患者が処置に対し応答性であることを予測する段階により、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法を提供する。

【0011】

本発明の方法のさまざまな局面において、本方法は、処置に応答すると予測された対象にNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを投与する段階をさらに含む。

【0012】

別の局面において、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階; NaPi2bと抗体との間の結合を検出する段階; 腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの存在が検出される場合に、患者がNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対し応答性であることを予測する段階; および応答性であると予測された対象にNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを投与する段階により、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートにより対象におけるがんを処置する方法を提供する。

【0013】

さまざまな方法において、予測する段階は、NaPi2bタンパク質の検出を病理学的にスコアリングすることによって達成される。病理スコアは、処置に対する応答性と相関する。病理スコアは定量的または半定量的スコアである。例えば、病理スコアは光学顕微鏡または画像分析によって決定される。

【0014】

あるいは、予測する段階は、腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルが所定のカットオフポイントよりも高いことを決定することによって達成される。所定のカットオフポイントは、例えば、Hスコア法によって計算される。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 5 】

さらなる局面において、本発明は、非小細胞肺癌サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階； NaPi2bと抗体との間の結合を検出する段階； およびサンプルにおけるNaPi2bの存在が検出される場合に、非小細胞肺癌を腺がんとしてサブタイプ分類する段階により、非小細胞肺癌を腺がんとしてサブタイプ分類する方法を提供する。任意で、本方法は、非小細胞肺癌サンプルにおいてTTF-1、ナプシンA、p63、p40またはCK5/6の1つまたは複数を検出する段階をさらに含んでもよい。

【 0 0 1 6 】

がんはNaPi2b発現がんである。例としては、肺がん、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、腎臓がん、甲状腺がん、腎がん、唾液腺がん、子宮内膜がん、胆管がん、甲状腺乳頭がんまたは乳頭腎がんが挙げられるが、これらに限定されることはない。肺がんは、例えば、非小細胞肺癌(NSCLC)である。いくつかの局面において、NSCLCは非扁平NSCLCである。いくつかの局面において、NSCLCは腺がんとしてサブタイプ分類される。卵巣がんは、例えば、上皮性卵巣がんである。卵巣がんは、例えば、白金感受性の卵巣がんである。卵巣がんは、例えば、白金抵抗性の卵巣がんである。

【 0 0 1 7 】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体はXMT-1535である。好ましくは、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体は、アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)

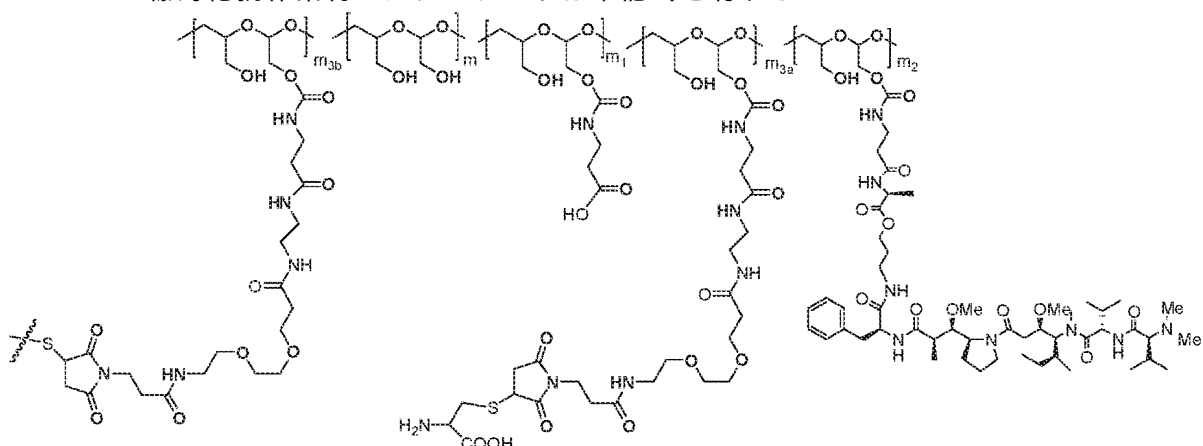
を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)を含む。

【 0 0 1 8 】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートは、例えば、オーリスタチンに基づくNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートである。

【 0 0 1 9 】

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートは下記式を有する：



式中：

- m が 1 ～ 約 300 の整数であり、
- m₁ が 1 ～ 約 140 の整数であり、
- m₂ が 1 ～ 約 40 の整数であり、
- m_{3a} が 0 ～ 約 17 の整数であり、

m_{3b} が1～約8の整数であり;

m_{3a} および m_{3b} の合計が1～約18の範囲であり; ならびに

m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} 、および m_{3b} の合計が15～約300の範囲であり;

末端の



がNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つもしくは複数の重合体足場の結合を示す。

【0020】

検出する段階は、例えば、免疫組織化学的に実施される。好ましくは、抗NaPi2b抗体は標識二次抗体を用いて検出される。

10

【0021】

抗NaPi2b抗体はキメラ抗体である。キメラ抗体はヒト可変領域および非ヒト定常領域を含む。キメラ抗体は抗体XMT-1535の可変領域を含む。非ヒト定常領域はウサギのものである。

【0022】

サンプルは、例えば、ホルマリン固定パラフィン包埋サンプルであるが、これに限定されることはない。

【0023】

本発明はさらに、アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)

20

を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)を含む、キメラ抗体を提供する。いくつかの局面において、キメラ抗体は、SEQ ID No: 1の可変重鎖およびSEQ ID No: 2の可変軽鎖を含む。定常領域は、例えば、ウサギ定常領域であるが、これに限定されることはない。例えば、キメラ抗体は、ウサギIgG1重鎖定常領域およびウサギ 軽鎖定常領域を含む。好ましい態様において、キメラ抗体は、SEQ ID No: 11の重鎖定常領域およびSEQ ID NO: 12の軽鎖定常領域を有する。

30

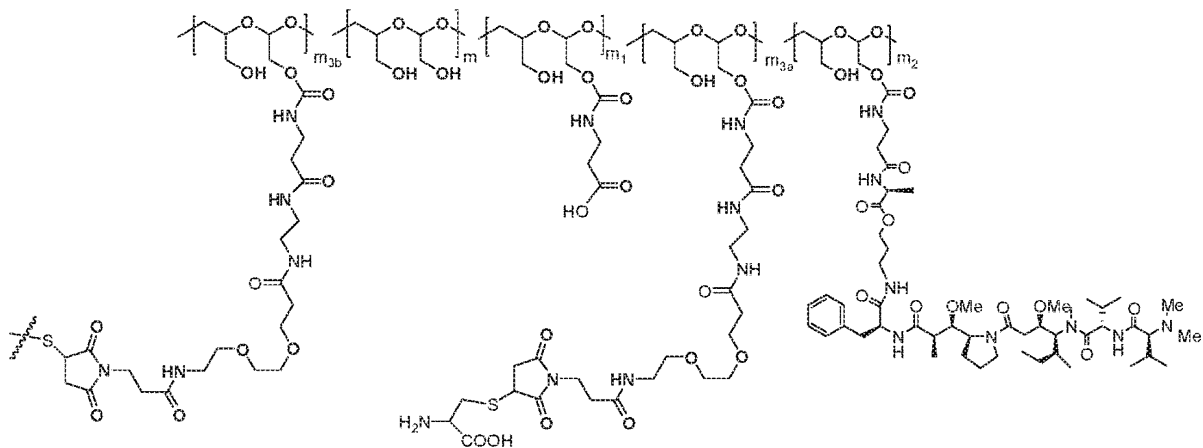
【0024】

SEQ ID NO: 17および/またはSEQ ID NO: 18の核酸を含むプラスミド、ならびに該プラスミドを含む細胞も、本発明に含まれる。

【0025】

がんの症状を緩和するのに十分な量のNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを対象に投与する段階を含む、甲状腺乳頭がん、乳頭腎がん、唾液管腺がん、子宮内膜がんまたは胆管がんを処置する方法も本発明に含まれる。NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートは、例えば、WO 2017/160754に開示されている任意のコンジュゲートである。例えば、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートは以下である:

40



10

式中：

- mが1～約300の整数であり、
- m₁が1～約140の整数であり、
- m₂が1～約40の整数であり、
- m_{3a}が0～約17の整数であり、
- m_{3b}が1～約8の整数であり；
- m_{3a}およびm_{3b}の合計が1～約18の範囲であり；
- m、m₁、m₂、m_{3a}、およびm_{3b}の合計が15～約300の範囲であり；ならびに

20

末端の



がNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つまたは複数の重合体足場の結合を示す。

【0026】

特に定義されない限り、本明細書において用いられる全ての技術的および科学的用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書において、文脈上特に明記されていない限り、単数形は複数形も含む。本明細書において記述されるものと類似または同等の方法および材料を本発明の実践または試験において用いることができるが、適当な方法および材料を以下に記述する。矛盾する場合、定義を含めて、本明細書が優先する。さらに、材料、方法および例は、単なる例示であり、限定することを意図していない。

30

【0027】

[本発明1001]

a. 患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階；

b. NaPi2bと該抗体との間の結合を検出する段階；および

c. 腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの存在が検出される場合に、患者が処置に対し応答性であることを予測する段階

40

を含む、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法。

[本発明1002]

a. 患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階；

b. NaPi2bと抗NaPi2b抗体との間の結合を検出する段階；および

c. 検出を病理学的にスコアリングする段階であって、病理スコアが、処置に対する応答性と相関する、段階

を含む、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を

50

予測する方法。

[本発明1003]

a. 患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルを測定する段階; および

b. 腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルが所定のカットオフポイントよりも高い場合に、患者が処置に対し応答性であることを予測する段階

を含む、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法。

[本発明1004]

応答性であると予測された対象にNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを投与する段階をさらに含む、前記本発明のいずれかの方法。

10

[本発明1005]

a. 患者から得られた腫瘍サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、腫瘍サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階;

b. NaPi2bと抗NaPi2b抗体との間の結合を検出する段階;

c. 腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの存在が検出される場合に、患者がNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートによる処置に対し応答性であることを予測する段階; および

d. 応答性であると予測された対象にNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを投与する段階

を含む、NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートにより対象におけるがんを処置する方法。

20

[本発明1006]

予測する段階が、段階(b)の検出を病理学的にスコアリングすることによって達成され、病理スコアが、処置に対する応答性と相関する、本発明1001、1004または1005の方法。

[本発明1007]

予測する段階が、腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルが所定のカットオフポイントよりも高いことを決定することによって達成される、本発明1001、1004または1005の方法。

[本発明1008]

所定のカットオフポイントがHスコア法によって計算される、本発明1003または1007の方法。

30

[本発明1009]

病理スコアが定量的または半定量的スコアである、本発明1002または1006の方法。

[本発明1010]

病理スコアが光学顕微鏡または画像分析によって決定される、本発明1002、1006または1009の方法。

[本発明1011]

がんがNaPi2b発現がんである、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1012]

NaPi2b発現がんが、肺がん、卵巣がん、乳がん、結腸直腸がん、腎臓がん、甲状腺がん、腎がん、唾液管腺がん、子宮内膜がん、胆管がん、甲状腺乳頭がんまたは乳頭腎がんである、本発明1011の方法。

40

[本発明1013]

肺がんが非小細胞肺がん(NSCLC)である、本発明1012の方法。

[本発明1014]

NSCLCが非扁平NSCLCである、本発明1013の方法。

[本発明1015]

NSCLCが腺がんである、本発明1013の方法。

[本発明1016]

卵巣がんが上皮性卵巣がんである、本発明1012の方法。

50

[本発明1017]

卵巣がんが白金抵抗性の卵巣がんである、本発明1012の方法。

[本発明1018]

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体がXMT-1535である、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1019]

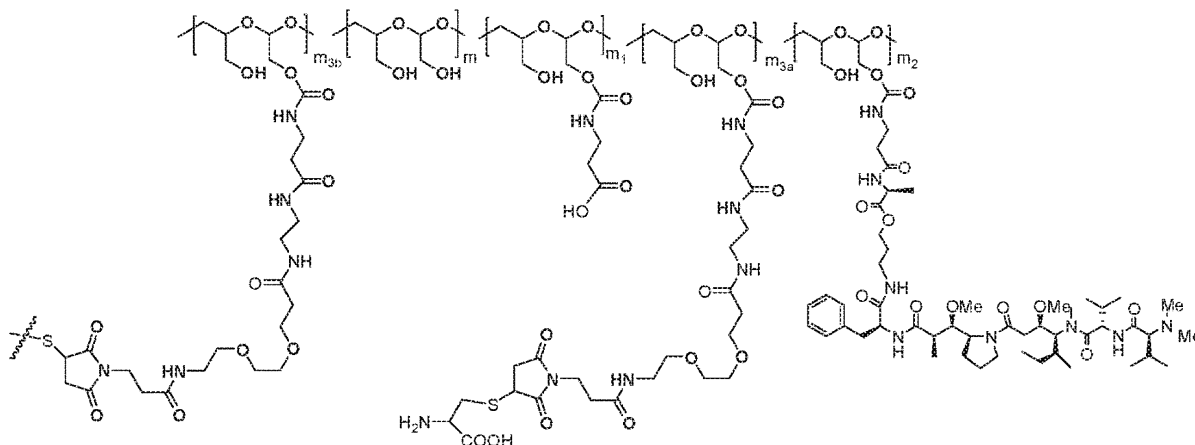
NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートの抗体が、
アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、
アミノ酸配列
AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)

10

を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、
アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、
アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、
アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、
アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)
を含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1020]

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートが以下:



20

30

であり、

式中:

m が1～約300の整数であり、

m_1 が1～約140の整数であり、

m_2 が1～約40の整数であり、

m_{3a} が0～約17の整数であり、

m_{3b} が1～約8の整数であり;

m_{3a} および m_{3b} の合計が1～約18の範囲であり; ならびに

m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} 、および m_{3b} の合計が15～約300の範囲であり;

末端の



40

がNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つもしくは複数の重合体足場の結合を示す、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1021]

非小細胞肺癌サンプルを抗NaPi2b抗体と接触させることによって、サンプルにNaPi2bが存在するかどうかを検出する段階;

50

NaPi2bと該抗体との間の結合を検出する段階;および
サンプルにおけるNaPi2bの存在が検出される場合に、非小細胞肺がんを腺がんとしてサブタイプ分類する段階
を含む、非小細胞肺がんを腺がんとしてサブタイプ分類する方法。
[本発明1022]
非小細胞肺がんサンプルにおいてTTF-1、ナプシンA、p63、p40またはCK5/6の1つまたは複数を検出する段階をさらに含む、本発明1018の方法。
[本発明1023]
検出する段階が免疫組織化学的に実施される、前記本発明のいずれかの方法。
[本発明1024]
抗NaPi2b抗体がキメラ抗体である、前記本発明のいずれかの方法。
[本発明1025]
キメラ抗体がヒト可変領域および非ヒト定常領域を含む、本発明1024の方法。
[本発明1026]
キメラ抗体が抗体XMT-1535の可変領域を含む、本発明1024の方法。
[本発明1027]
非ヒト定常領域がウサギのものである、本発明1024の方法。
[本発明1028]
組織サンプルがホルマリン固定パラフィン包埋サンプルである、前記本発明のいずれかの方法。
[本発明1029]
抗体が標識二次抗体で検出される、前記本発明のいずれかの方法。
[本発明1030]
アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1)、
アミノ酸配列
AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)
を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2)、
アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)、
アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1)、
アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2)、
アミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)
を含む、キメラ抗体。
[本発明1031]
SEQ ID No: 1の可変重鎖およびSEQ ID No: 2の可変軽鎖を含む、本発明1030のキメラ抗体。
[本発明1032]
定常領域がウサギ定常領域である、本発明1030または1031のキメラ抗体。
[本発明1033]
ウサギIgG1重鎖定常領域およびウサギ 軽鎖定常領域を含む、本発明1030～1032のいずれかのキメラ抗体。
[本発明1034]
SEQ ID No: 11の重鎖定常領域およびSEQ ID NO: 12の軽鎖定常領域を含む、本発明1033のキメラ抗体。
[本発明1035]
SEQ ID NO: 17および/またはSEQ ID NO: 18の核酸を含む、プラスミド。
[本発明1036]
本発明1035のプラスミドを含む、細胞。
[本発明1037]
がんの症状を緩和するのに十分な量のNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを対象に投

10

20

30

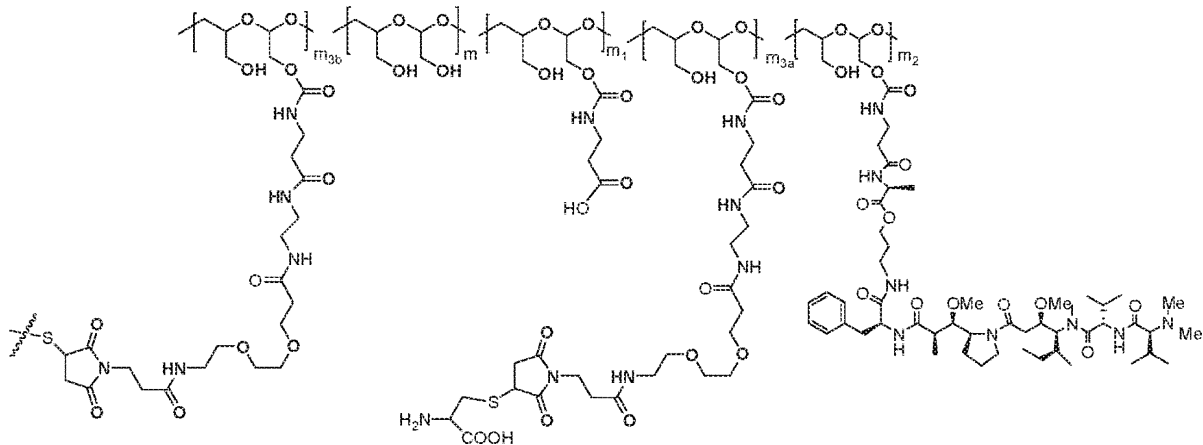
40

50

与する段階を含む、甲状腺乳頭がん、乳頭腎がん、唾液管腺がん、子宮内膜がんまたは胆管がんを処置する方法。

[本発明1038]

NaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートが以下:



10

であり、

式中:

m が1～約300の整数であり、

m_1 が1～約140の整数であり、

m_2 が1～約40の整数であり、

m_{3a} が0～約17の整数であり、

m_{3b} が1～約8の整数であり、

m_{3a} および m_{3b} の合計が1～約18の範囲であり; ならびに

m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} 、および m_{3b} の合計が15～約300の範囲であり;

末端の



20

30

がNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つまたは複数の重合体足場の結合を示す、本発明1037の方法。

本発明の他の特徴および利点は、下記の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】ヒト化抗NaPi2b抗体XMT-1535に基づくキメラ抗体の設計を例示している。キメラ抗体は本明細書においてMERS67といわれる。

【図2】Mers67抗体のSDS-PAGEおよびウエスタンブロット分析を示す写真である。

【図3A】1段階精製後のMERS67のSEC-HPLC分析を示す。

【図3B】2段階精製後のMERS67のSEC-HPLC分析を示す。

【図4】OVCAR3およびJIMT-1異種移植片における代表的な免疫組織化学染色を示す写真である。

【図5】2つのヒト肺腺がんにおける免疫組織化学染色を示す。

【図6】WO 2017/160754に開示されたNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートを $n=3$ 、3 mg/kg qweek x 3で用いたマウス卵巣臨床試験からの最良応答の中央値を示す棒グラフである。y軸は最良応答の中央値を示し; x軸はモデル番号を示す。暗い方の着色バーは処置未実施の腫瘍を示し、明るい方の着色バーは処置後の腫瘍を示す。

【図7】START卵巣モデルを示す棒グラフであり、最良応答の中央値により順序付けられ; Hスコアにより色分けされた(全モデル)。色が濃いほど、Hスコアが大きくなる。y軸は最

40

50

良応答の中央値を示し；x軸はモデル番号を示す。

【図 8】肺および卵巣ヒト腫瘍および異種移植片を示す散布図である。Hスコア(y軸)と組織型(x軸)によりグラフ化され、異種移植片の最良応答の中央値により色分けされた。明るい方の色はより多い抗腫瘍効果に対応し；暗い方の色はより少ない抗腫瘍効果に対応する。

【図 9】肺SCCおよびACCにおけるNaPi2b、ナブシンA、CK5およびTTF1の差次的発現を示す、TCGAから抽出されたRNAseqデータを示すボックスプロットである。ナブシンA、CK5、TTF1といったパネルからタンパク質発現を検出する免疫組織化学パネルは、扁平上皮細胞肺がんおよび肺腺がんの分類において用いることができる。NaPi2bの発現の検出は、現在使用されているパネルを補足するために使用することができよう。

【図 10】TCGAから抽出されたRNAseqデータを示す散布図である。NaPi2bがx軸に示され、ナブシンAがy軸に示されている。サイトケラチン5の発現が色で示されており、最も暗いのが最も高い発現レベルである。扁平上皮がん(円形)として注釈が付けられたほとんどの組織は、楕円形の実線内に含まれている。腺がん(四角形)として注釈が付けられたほとんどの組織は、グラフの右上の象限にある。扁平上皮がん領域と分類された一部の腫瘍も右上の象限に位置し、破線の円で印を付けられており、サイトケラチンの発現が低い。NaPi2bなどのタンパク質マーカーの使用により、破線の円中のものなどの腫瘍の分類が精緻化されう。

【図 11 - 1】図11は、cBioPortalから抽出され、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子（そのタンパク質産物がSCCとACAとを区別するために頻繁に用いられているいくつかの遺伝子）と比較されたNaPi2b RNA発現の関係をj示すためにグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的データを示す。図11-1、11-2はACA RNAの結果、図11-3、11-4はSCC RNAの結果を示す。NaPi2bがx軸に示されている。

【図 11 - 2】図11は、cBioPortalから抽出され、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子（そのタンパク質産物がSCCとACAとを区別するために頻繁に用いられているいくつかの遺伝子）と比較されたNaPi2b RNA発現の関係をj示すためにグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的データを示す。図11-1、11-2はACA RNAの結果、図11-3、11-4はSCC RNAの結果を示す。NaPi2bがx軸に示されている。

【図 11 - 3】図11は、cBioPortalから抽出され、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子（そのタンパク質産物がSCCとACAとを区別するために頻繁に用いられているいくつかの遺伝子）と比較されたNaPi2b RNA発現の関係をj示すためにグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的データを示す。図11-1、11-2はACA RNAの結果、図11-3、11-4はSCC RNAの結果を示す。NaPi2bがx軸に示されている。

【図 11 - 4】図11は、cBioPortalから抽出され、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子（そのタンパク質産物がSCCとACAとを区別するために頻繁に用いられているいくつかの遺伝子）と比較されたNaPi2b RNA発現の関係をj示すためにグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的データを示す。図11-1、11-2はACA RNAの結果、図11-3、11-4はSCC RNAの結果を示す。NaPi2bがx軸に示されている。

【図 12 - 1】図12は、cBioPortalから抽出され、ACAおよびSCCに対するSCL34A2、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子の関係をj示すために個別にグラフ化された肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的RNAseqデータを示す。各プロットにおいて、ACAの結果は左側にあり、SCCデータは右側にある。y軸は、RNAseqによって決定される、RNA発現の測定値である。

【図 12 - 2】図12は、cBioPortalから抽出され、ACAおよびSCCに対するSCL34A2、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子の関係をj示すために個別にグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的RNAseqデータを示す。各プロットにおいて、ACAの結果は左側にあり、SCCデータは右側にある。y軸は、RNAseqによって決定される、RNA発現の測定値である。

【図 12 - 3】図12は、cBioPortalから抽出され、ACAおよびSCCに対するSCL34A2、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子の関係をj示すために個別にグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的RNAseqデータを示す。各プロッ

10

20

30

40

50

トにおいて、ACAの結果は左側にあり、SCCデータは右側にある。y軸は、RNAseqによって決定される、RNA発現の測定値である。

【図12-4】図12は、cBioPortalから抽出され、ACAおよびSCCに対するSCL34A2、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子の関係を示すために個別にグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的RNAseqデータを示す。各プロットにおいて、ACAの結果は左側にあり、SCCデータは右側にある。y軸は、RNAseqによって決定される、RNA発現の測定値である。

【図12-5】図12は、cBioPortalから抽出され、ACAおよびSCCに対するSCL34A2、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子の関係を示すために個別にグラフ化された、肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的RNAseqデータを示す。各プロットにおいて、ACAの結果は左側にあり、SCCデータは右側にある。y軸は、RNAseqによって決定される、RNA発現の測定値である。

10

【図13】SCCおよびACA腫瘍の組織マイクロアレイのNaPi2B IHC評価から得られたHスコアを示す。

【図14】p40およびTTF-1 IHC染色を用いて組織像サブタイプがさらに特徴付けられた場合の、同じ組織セットからのHスコアのボックスプロットである。

【発明を実施するための形態】

【0029】

詳細な説明

本発明は、NaPi2b標的化抗体-薬物コンジュゲート(NaPi2b抗体-重合体-薬物コンジュゲートなど)に応答する対象を同定する組成物および方法を提供する。

20

【0030】

本発明は、NaPi2bに対する完全ヒト化IgG1抗体XMT-1535を含むNaPi2b抗体-重合体-薬物コンジュゲート(ADC)が、肺がんおよび卵巣がんの両方のモデルにおいて抗腫瘍効果を示したということの発見に一部基づいている(WO 2017/160754を参照されたく、この内容は参照によりその全体が組み入れられる)。ADCの有効性は、少なくとも部分的に、腫瘍または腫瘍モデルにおける標的発現の程度またはパターンによるものである。ヒト腫瘍モデルおよび原発性ヒト腫瘍におけるNaPi2b発現のパターンを正確に記述するために、試薬MERS67(別名MER67)が開発され、免疫組織化学(IHC)で検証された。ヒト腫瘍におけるNaPi2b発現を理解することで、NaPi2bを発現するがんを有する患者に、より合理的かつ個別化された治療法が提供される。

30

【0031】

MERS67は、ヒト化抗NaPi2b抗体XMT-1535に基づいたヒトウサギキメラ抗体である。XMT-1535は、WO 2017/160754に開示されているADCの抗体部分である。具体的には、MERS67は、ウサギIgG1定常領域またはウサギIgG1-b4鎖C領域にそれぞれ結び付けられたXMT-1535のヒト重鎖鎖領域を含む。

【0032】

したがって、本発明は、部分的には、NaPi2bキメラ抗体を提供する。より具体的には、本発明は、XMT-1535の可変領域に基づくNaPi2bキメラ抗体を提供する。本発明はさらに、腫瘍サンプルのNaPi2bの発現レベルを決定することにより、WO 2017/160754に開示されたNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法を提供する。具体的な態様において、腫瘍サンプルのNaPi2bの発現レベルは、MERS67を用いて免疫組織化学的に決定される。

40

【0033】

本発明はまた、部分的には、(i) MERS67を用いて免疫組織化学的に決定されるように、腫瘍サンプルのNaPi2bの発現レベルを決定する段階、および(ii) NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置から恩恵を受けられることを患者に知らせる段階により、WO 2017/160754に開示されたNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置から恩恵を受けられる患者を同定する方法を提供する。

【0034】

50

本発明はまた、部分的には、(i) MERS67を用いて免疫組織化学的に決定されるように、腫瘍サンプルのNaPi2bの発現レベルを決定する段階、および(ii) 処置に応答する可能性が高いと患者を分類する段階を含み、患者から得られた腫瘍サンプルにおけるNaPi2bのレベルが所定のカットオフポイントであるかまたは所定のカットオフポイントよりも高いことにより、患者がNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置から恩恵を受けられる可能性が高いことが示唆される、NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置に対するがん患者の応答性を予測する方法を提供する。本発明はまた、部分的には、がんを有する患者がNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置からの恩恵を示す可能性を決定するための方法であって、患者から得られたサンプルにおけるNaPi2bの発現レベルを決定する段階を含み、患者から得られたサンプルにおけるNaPi2bのレベルが所定のカットオフポイントであるかまたは所定のカットオフポイントよりも高いことにより、患者が抗がん療法から恩恵を受けられる可能性が高いことが示唆される、該方法を提供する。

10

【0035】

本発明はまた、部分的には、NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートを含む抗がん療法の治療効果を最適化するための方法であって、患者から得られた腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現レベルを決定する段階を含み、患者から得られたサンプルにおけるNaPi2bのレベルが所定のカットオフポイントであるかまたは所定のカットオフポイントよりも高いことにより、患者がNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲート療法から恩恵を受けられる可能性が高いことが示唆される、該方法を提供する。

20

【0036】

本発明はまた、部分的には、患者におけるがんを処置するための方法であって、患者から得られた腫瘍サンプルが、参照サンプルにおけるNaPi2bレベルのまたはそのレベルより上のNaPi2bレベルを有することを決定する段階、および有効量のNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートを該患者に投与する段階を含み、それによりがんが処置される、該方法を提供する。

【0037】

本発明はまた、部分的には、患者におけるがん処置の有効性をモニタリングするための方法であって、患者から得られた腫瘍サンプルが、参照サンプルにおけるNaPi2bレベルのまたはそのレベルより上のNaPi2bレベルを有することを決定する段階、および有効量のNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートを該患者に投与する段階を含み、それによりがんが処置される、該方法を提供する。

30

【0038】

本発明によって、腫瘍専門医は、患者の特定のサブセットに対して、モニタリングの増加、および/またはより積極的かつ最適な予防的介入または処置の提供が可能になる。

【0039】

キメラNaPi2b抗体

本発明は、ヒト可変領域および非ヒト定常領域を有するキメラ抗体を提供する。具体的には、本明細書において記述されるキメラ抗体は、NaPi2b発現を特異的に認識する。本明細書において開示されるキメラ抗体において用いられる例示的なヒト可変領域には、例えば、WO 2017/160754に記述され、XMT-1535といわれる抗NaPi2b抗体の可変領域が含まれる。XMT-1535抗体は、ヒトNaPi2bに対して特異性を示し、インビトロでNaPi2bの機能的活性を阻害することが示されている。

40

【0040】

本発明による特定のキメラNaPi2b抗体は、以下に提示されるアミノ酸および核酸配列に示されるように、重鎖可変領域(VH)および軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0041】

重鎖および軽鎖の相補性決定領域(CDR)は、以下に提示されるアミノ酸配列において下線が引かれている。XMT-1535抗体の相補性決定領域(CDR)を包含するアミノ酸は、E.A. Kabatら(Kabat, E.A., et al., Sequences of Protein of immunological interest, Fi

50

6th Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office (1991)を参照のこと)によって定義されている通りであり、米国特許第8,603,474号に開示されており、10H1.11.4B抗体のCDRを包含するアミノ酸は、米国特許第8,535,675号に定義されている通りである。

【0042】

XMT-1535重鎖可変領域アミノ酸配列

QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYN¹HWVKQAPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYKQKFRGRATLTADTSTSTVY
MELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFAYWGQGT²LVTVSSG (SEQ ID NO: 1)
CDRH1: GYTFTGYN¹H (SEQ ID NO: 3)
CDRH2: AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)
CDRH3: GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)

10

【0043】

XMT-1535重鎖可変領域核酸配列

CAAGTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAGGTTGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTA
CACCTTCACCGGCTACAACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCCTGGACAGGGACTCGAATGGATCGGAGCCATCTATCCCG
GCAACGGCGACACCAGCTACAAGCAGAAGTTCGGGGCAGAGCCACACTGACCGCCGATACAAGCACCAGCACCGTGTAC
ATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCCAGAGGCGAAACAGCCAGAGCCACCTTTGC
CTATTGGGGCCAGGGAACCTTGGTCACCGTTAGCTCT (SEQ ID NO: 9)

20

【0044】

XMT-1535軽鎖可変領域アミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCSASQDIGNFLN¹WYQQKPGKTKV²LIYYTSSLYSGVPSRFSGSGSGTDYTLTIS³SLQP
EDFATYYCQQY⁴SKLPLT⁵FGQGTKLELKR (SEQ ID NO: 2)
CDRL1: SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)
CDRL2: YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)
CDRL3: QQY⁴SKLPLT (SEQ ID NO: 8)

【0045】

XMT-1535軽鎖可変領域核酸配列

GATATTGATGACACAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGCGCCAGCCA
GGATATCGGCAACTTCCTGAAGTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGACCGTGAAGGTGCTGATCTACTACACCTCCAGCC
TGTACAGCGCGCTGCCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTACACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCT
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCAAGCTGCCCCCTGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAGTGA
G (SEQ ID NO: 10)

30

【0046】

本発明によるキメラ抗体の定常領域は、ヒト以外の任意の種に由来することができる。例えば、重鎖および軽鎖定常領域は、例えば、ウサギ、マウス、ラット、ウマ、ウシ、またはニワトリに由来するが、これらに限定されることはない。

40

【0047】

いくつかの局面において、本発明によるキメラ抗体は、ウサギ重鎖定常領域およびウサギ軽鎖定常領域を含む。例えば、本発明によるキメラ抗体は、ウサギIgG1定常領域およびウサギIg定常領域を含む。

【0048】

好ましい態様において、本発明によるキメラ抗体は、以下に提示されるアミノ酸および核酸配列に示されるように、ウサギ重鎖定常領域(VH)、および軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0049】

ウサギIgG1定常領域アミノ酸配列

50

GQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPPSVRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNV
AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEDDPEVQFTWYINNEQVRTAR
PPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHEDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMIN
GFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGSGYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK
(SEQ ID NO:11)

【 0 0 5 0 】

ウサギIg -b4定常領域アミノ酸配列

RDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTGTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTSTQYNHKE
YTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO:12)

10

【 0 0 5 1 】

ウサギIgG1定常領域核酸配列

GGACAGCCTAAGGCTCCCAGCGTGTCCCTCTGGCTCCTTGCTGTGGCGATACCCCTAGCAGCACAGTGACACTGGGCTGTG
TGGTCAAGGGCTACCTGCCTGAACCTGTGACCGTGACCTGGAATAGCGGCACCCTGACCAACGGCGTGCGGCATTTCCTAG
CGTCAGACAGAGCAGCGGCCCTGTAAGTCTCTGAGCAGCGTGGTGTCTGTGACCAGCAGCTCTCAGCCTGTGACCTGCAATGTG
GCCCATCTGCCACCAACACCAAGGTGGACAAAACCGTGGCTCCCTCCACCTGTAGCAAGCCCACATGTCTCTCCACCAGAGC
TGCTCGGAGGCCCTCCGTGTTATCTTCCACCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTG
CGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGCATGATCCTGAGGTGCAGTTACCTGGTACATCAACAACGAGCAAGTGGCGACCGCCAGA
CCTCCTCTGAGAGAGCAGCAGTTCAACAGCACCATCAGAGTGGTGTCTACCCCTGCCTATCGCTCACGAGGATTGGCTGCGGG
GCAAAGAGTTCAAGTGCAAGGTGCACAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAGAGGCCAGCC
ACTGGAACCCAAGGTGTACACAATGGGCCCTCCAAGAGAGGAAGTGTCCAGCAGATCCGTGTCTCTGACCTGCATGATCAAC
GGCTTCTACCCAGCGACATCAGCGTGGAAATGGGAGAAGAATGGCAAGGCCGAGGACAACACTACAAGACAACCCCTGCCGTGC
TGGATAGCGACGGCAGCTACTTCCTGTACAGCAAGCTGAGCGTGCCACCTCTGAATGGCAACGGGGAGATGTGTTTACCTG
CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCATCAGCAGGTCCCAGGCCAAA (SEQ ID
NO:13)

20

【 0 0 5 2 】

ウサギIg -b4定常領域核酸配列

AGGGATCCTGTGGCTCCACCGTGCTGATTTTCCACCAGCCGCTGATCAGGTGGCCACTGGCACAGTGACAATCGTGTGCGTG
GCCAACAACTACTTCCCCGACGTGACCGTGACCTGGGAAGTCGATGGCACCACACAGACCACAGGCATCGAGAACAGCAAGACC
CCTCAGAACAGCGCCGACTGCACCTACAACCTGAGCAGCACCCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAGCCACAAAGAGTAC
ACCTGTAAAGTCACCCAGGGCACAACCAGCGTGGTGCAGAGCTTCAACAGAGGCGATTGC (SEQ ID NO:14)

30

【 0 0 5 3 】

より好ましい態様において、キメラNaPi2b抗体MERS67は、以下に提示される重鎖および軽鎖のアミノ酸および核酸配列を含む。

【 0 0 5 4 】

キメラNaPi2b抗体重鎖アミノ酸配列

QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNIHVVKQAPGQGLEWIGAIYPNGDTSYKQKFRGRATLTADTSTSTVY
MELSSLRSEDSAVYYCARGETARATFAYWGQGLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTSPSSVTLGCLVKGYLPEPVTVTW
NSGTLTNGVRTFPPSVRQSSGLYSLSSVSVTSSSQPVTCNV AHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFFP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEDDPEVQFTWYINNEQVRTAR PPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHEDWLRGKEFKCKVHN
KALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGSGYF
LYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEA LHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO:15)

40

【 0 0 5 5 】

キメラNaPi2b抗体軽鎖アミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCSASQDIGNFLNWIYQQKPGKTVKVLIIYTTSSLYSGVPSRFSGSGSGTDYT
LTISLQPEDFATYYCQQYSKLPLTFGQGTKLELKRDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGT
TQTTGIE NSKTPQNSADCTYNLSSTLTSTQYNHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO:16)

【 0 0 5 6 】

50

キメラNaPi2b抗体重鎖核酸配列

CAAGTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAGGTTGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTA
CACCTTCACCGGCTACAACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCCTGGACAGGGACTCGAATGGATCGGAGCCATCTATCCCCG
GCAACGGCGACACCAGCTACAAGCAGAAGTTCGGGGGCGAGAGCCACACTGACCGCCGATACAAGCACCAGCACCGTGTAC
ATGGAAGTGAAGCAGCTGAGAAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCCAGAGGGCGAAACAGCCAGAGCCACCTTTGC
CTATTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTTAGCTCTGGACAGCCTAAGGCTCCAGCGTGTCCCTCTGGCTCCTTGCT
GTGGCGATACCCCTAGCAGCACAGTGACACTGGGCTGTCTGGTCAAGGGCTACCTGCCTGAACCTGTGACCGTGACCTGG
AATAGCGGCACCCCTGACCAACGGCGTGGGACATTTCTAGCGTCAGACAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGT
GGTGTCTGTGACCAGCAGCTCTCAGCCTGTGACCTGCAATGTGGCCCATCTGCCACCAACACCAAGGTGGACAAAACCG
TGGCTCCCTCCACCTGTAGCAAGCCCACATGTCTCCACCAGAGCTGCTCGGAGGCCCCCTCCGTGTTTATCTTCCACCT
AAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGATGATCCTGA
GGTGCAGTTCACCTGGTACATCAACAACGAGCAAGTGCGGACCGCCAGACCTCCTCTGAGAGAGCAGCAGTTCAACAGCA
CCATCAGAGTGGTGTCTACCCCTGCCTATCGCTCACGAGGATTGGCTGCGGGGCAAAGAGTTCAAGTGCAAGGTGCACAAC
AAGGCCCTGCCTGCTCTATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAGAGGCCAGCCACTGGAACCCAAGGTGTACACAATGGG
CCCTCCAAGAGAGGAAGTGTCCAGCAGATCCGTGTCTCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTACCCAGCGACATCAGCG
TGAATGGGAGAAGAATGGCAAGGCCGAGGACAACACTACAAGACAACCCCTGCCGTGCTGGATAGCGACGGCAGCTACTTC
CTGTACAGCAAGCTGAGCGTGCCACCTCTGAATGGCAACGGGGAGATGTGTTTACCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCT
GCACAACCACTACACCCAGAAGTCCATCAGCAGGTCCCCAGGCAA (SEQ ID NO:17)

10

20

【 0 0 5 7 】**キメラNaPi2b抗体軽鎖核酸配列**

GATATTGAGATGACACAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGCGCCAGCCA
GGATATCGGCAACTTCTGAACTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGACCGTGAAGGTGCTGATCTACTACACCTCCAGCC
TGACAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTACACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCT
GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCAAGCTGCCCCTGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAGTGA
GAGGGATCCTGTGGCTCCACCGTGCTGATTTTCCACCAGCCGCTGATCAGGTGGCCACTGGCACAGTGACAATCGTGT
GCGTGGCCAACAAGTACTTCCCCGACGTGACCGTGACCTGGGAAGTCGATGGCACCACACAGACCACAGGCATCGAGAAC
AGCAAGACCCCTCAGAACAGCGCCGACTGCACCTACAACCTGAGCAGCACCCCTGACACTGACCAGCACACAGTACAACAG
CCACAAAGAGTACACCTGTAAAGTACCCAGGGCACAACCAGCGTGGTGCAGAGCTTCAACAGAGGCGATTGC (SEQ
ID NO:18)

30

【 0 0 5 8 】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1); アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4);

40

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2); およびアミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)を含む。

【 0 0 5 9 】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1); アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96

50

%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2); およびアミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)を含む。

【0060】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRH1; アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)

10

と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRH2; アミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRH3; アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRL1; アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRL2; およびアミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRL3を含む。

20

【0061】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖(VH)領域を含む。いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、SEQ ID NO: 2のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖(VL)領域を含む。

【0062】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むVH領域、およびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むVL領域を含む。

30

【0063】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 3)と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖相補性決定領域1 (CDRH1); アミノ酸配列AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)

40

と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖相補性決定領域2 (CDRH2); およびアミノ酸配列GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖相補性決定領域3 (CDRH3)を含む。

【0064】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1); アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO: 7)と少なくとも85%、86%

50

、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%
またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2); およびア
ミノ酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、9
0%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のア
ミノ酸配列を含む可変軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3)を含む。

【0065】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、アミノ酸配列GYTFTGYNIH (SEQ ID
NO: 3)と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、9
5%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRH1; アミノ
酸配列
AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 4)

10

と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、9
6%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRH2; アミノ酸配列
GETARATFAY (SEQ ID NO: 5)と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91
%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配
列を含むCDRH3; アミノ酸配列SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 6)と少なくとも85%、86
%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%
またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRL1; アミノ酸配列YTSSLYS (SEQ ID NO:
7)と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、
96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むCDRL2; およびアミノ
酸配列QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 8)と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%
、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミ
ノ酸配列を含むCDRL3を含む。

20

【0066】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列と少な
くとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、9
7%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変重鎖(VH)領域を含む。い
くつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、SEQ ID NO: 2のアミノ酸配列と少なく
とも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%
、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含む可変軽鎖(VL)領域を含む。

30

【0067】

いくつかの態様において、キメラNaPi2b抗体は、SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列と少
なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、
97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むVH領域、およびSEQ ID NO:
16のアミノ酸配列と少なくとも85%、86%、87% 88%、89%、90%、91%、92%、93
%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一のアミノ酸配列を含むVL
領域を含む。

【0068】

当業者は、あるキメラ抗体が本明細書において開示されるキメラ抗体(例えばMERS67)
と同じ特異性を有するかどうかを、天然の結合パートナーへのまたはNaPi2bと関連する
ことが知られている他の分子への後者の結合を前者が妨げるかどうか確認することで、過
度の実験なしに、決定することが可能であることを認識するであろう。本明細書において
開示されるキメラ抗体による結合の減少によって示されるように、試験される抗体が本明
細書において開示されるキメラ抗体と競合するなら、2つの抗体は、同じまたは密接に関
連したエピトープに結合する。

40

【0069】

あるモノクローナル抗体が本明細書において開示されるモノクローナル抗体の特異性を
有するかどうかを決定するための代替方法は、本明細書において開示されるキメラ抗体を
可溶性NaPi2b (両者は通常は反応性である)とプレインキュベートし、次に、試験される

50

抗体を加えて、試験される抗体のNaPi2bに結合する能力が阻害されるかどうかを決定することである。試験される抗体が阻害されるなら、おそらくそれは、本明細書において開示されるキメラ抗体と同じまたは機能的に同等のエピトープ特異性を有する。

【0070】

本明細書において開示されるキメラ抗体のスクリーニングは、例えば、NaPi2b媒介活性を測定し、試験キメラ抗体がNaPi2b活性を調節、遮断、阻害、低減、拮抗、中和またはその他の方法で干渉することができるかどうかを決定することによっても実行することができる。

【0071】

キメラ抗体は、米国特許第4,816,567号に記述されているものなどの組み換えDNA法によって作出することができる。本明細書において開示されるモノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を用いて(例えば、ネズミ抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより)容易に単離および配列決定することができる。本明細書において開示されるハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの好ましい供給源として役立つ。DNAは、単離した後、発現ベクターに配置することができ、これを次いで、組み換え宿主細胞におけるモノクローナル抗体の合成を得るために、サルCOS細胞、HEK293細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、または普通なら免疫グロブリンタンパク質を産生しない骨髓腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクションする。DNAは、例えば、ヒト重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列を相同ネズミ配列の代わりに置換することにより(米国特許第4,816,567号; Morrison, Nature 368, 812-13 (1994)を参照のこと)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もしくは一部を免疫グロブリンコード配列に共有結合することにより修飾することもできる。そのような非免疫グロブリンポリペプチドで、本明細書において開示される抗体の定常ドメインを置換することができ、または本明細書において開示される抗体の1つの抗原結合部位の可変ドメインを置換してキメラ二価抗体を作出することができる。

【0072】

キメラNaPi2b抗体は、例えば、以下に提供される実施例において記述される手順を用いて作出される。

【0073】

本明細書において開示されるキメラNaPi2b抗体は、上記の抗体をコードするDNAセグメントを含んだプラスミドまたはベクターによって発現させることができる。プラスミドまたはベクターは、発現のために細胞にトランスフェクションすることができる。例えば、細胞はHEK293細胞またはCHO細胞である。

【0074】

これらのベクター、プラスミドおよび細胞を用いて、種々の方法で使用できる大量の抗体を発現させることができる。例えば、サンプル中のNaPi2bの存在を検出するためなど。

【0075】

抗体は、プロテインAまたはプロテインGを用いた親和性クロマトグラフィーといった、免疫血清のIgG画分を主に提供する周知の技法によって精製される。その後、またはその代わりに、調べられる免疫グロブリンの標的である特定の抗原、またはそのエピトープをカラムに固定して、免疫親和性クロマトグラフィーによって免疫特異的抗体を精製してもよい。免疫グロブリンの精製は、例えば、D. Wilkinson (The Scientist, The Scientist, Inc.発行, Philadelphia PA, Vol. 14, No. 8 (April 17, 2000), pp. 25-28)によって論じられている。

【0076】

本明細書において開示されるキメラ抗体は、患者サンプルにおけるNaPi2bの検出においても有用であり、したがって診断法として有用である。例えば、本明細書において開示されるNaPi2b抗体は、患者サンプルにおけるNaPi2bレベルを検出するために、インビトロアッセイ法、例えば、IHC、ELISAにおいて用いられる。

10

20

30

40

50

【 0 0 7 7 】

NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲート

いくつかの態様において、NaPi2b標的化抗体XMT-1535を作用物質と結び付けてコンジュゲートを形成させることができる。いくつかの態様において、作用物質は治療剤である。いくつかの態様において、作用物質は抗腫瘍薬である。いくつかの態様において、作用物質は毒素またはその断片である。いくつかの態様において、作用物質は、(a) オーリスタチン化合物; (b) カリケアマイシン化合物; (c) デュオカルマイシン化合物; (d) SN38、(e) ピロロベンゾジアゼピン; (f) ピンカ化合物; (g) ツブリシン化合物; (h) 非天然カンプトテシン化合物; (i) メイタンシノイド化合物; (j) DNA結合薬; (k) キナーゼ阻害剤; (l) MEK阻害剤; (m) KSP阻害剤; (n) トポイソメラーゼ阻害剤; (o) DNAアルキル化薬; (p) RNAポリメラーゼ阻害剤; またはその類似体である。いくつかの態様において、作用物質は、リンカーを介してNaPi2b標的化抗体に結合される。いくつかの態様において、リンカーは切断性リンカーである。いくつかの態様において、リンカーは非切断性リンカーである。いくつかの態様において、作用物質は、本明細書において記述される毒素のいずれかである。

10

【 0 0 7 8 】

1つの局面において、本明細書において記述されるNaPi2b標的化抗体コンジュゲートは、1つまたは複数の治療剤または診断剤(「D」)に直接的または間接的に結び付けられた、単離NaPi2b標的化抗体XMT-1535を含む。いくつかの態様において、NaPi2b標的化抗体コンジュゲートはまた、抗体に結び付けられた1つまたは複数の重合体足場を含み、1つまたは複数のDの各々が1つまたは複数の重合体足場を介して抗体に独立して結び付けられる。いくつかの態様において、1つまたは複数のDはAF-HPAである。

20

【 0 0 7 9 】

いくつかの態様において、XMT-1535に結び付けられる1つまたは複数の重合体足場の各々は、ポリ(1-ヒドロキシメチルエチレンヒドロキシメチルホルマール) (PHF)、例えば約2 kDa ~ 約40 kDaの範囲の分子量を有するPHF、を含む。他の態様において、PHFは約2 kDa ~ 約20 kDaの範囲の分子量を有する。いくつかの態様において、PHFは約3 kDa ~ 約15 kDaの範囲の分子量を有する。他の態様において、PHFは約5 kDa ~ 約10 kDaの範囲の分子量を有する。

【 0 0 8 0 】

いくつかの態様において、PHFは約6 kDa ~ 約8 kDaの範囲の分子量を有する。

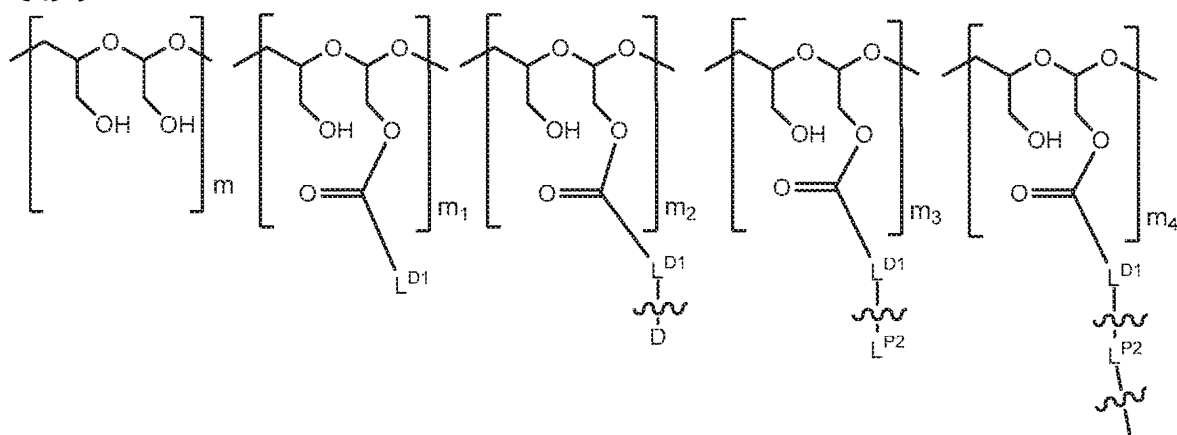
30

【 0 0 8 1 】

いくつかの態様において、PHFは約6 kDa ~ 約7 kDaの範囲の分子量を有する。

【 0 0 8 2 】

いくつかの態様において、1つまたは複数の重合体足場の各々は、独立して式(I)のものであり:



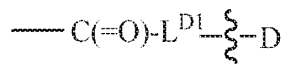
40

(I)

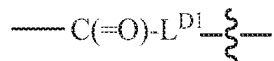
50

式中:

L^{D1} がカルボニル含有部分であり;

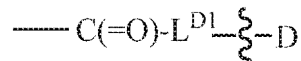


における



の各出現は独立して、結合が切断されると、Dはその意図した治療効果に向けて活性型で放出されるように生分解性結合を含む第1のリンカーであり; L^{D1} とDとの間の

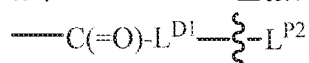
10



における



は、 L^{D1} へのDの直接的または間接的結合を示し;



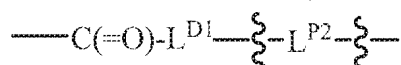
20

の各出現は独立して、単離された抗体とまだ結び付けられていない第2のリンカーであり、ここで L^{P2} は、単離された抗体の官能基と共有結合をまだ形成していない官能基を含んだ部分であり、 L^{D1} と L^{P2} との間の



は L^{D1} への L^{P2} の直接的または間接的結合を示し、第2のリンカーの各出現は第1のリンカーの各出現とは異なり;

30



の各出現は、独立して、各D保有重合体足場を単離された抗体に結び付ける第3のリンカーであり、ここで L^{P2} に結合した末端の



は、 L^{P2} の官能基と単離された抗体の官能基との間の共有結合の形成時の、単離された抗体への L^{P2} の直接的または間接的結合を示し; 第3のリンカーの各出現は第1のリンカーの各出現とは異なり;

40

m が1~約300の整数であり、

m_1 が1~約140の整数であり、

m_2 が1~約40の整数であり、

m_3 が0~約18の整数であり、

m_4 が1~約10の整数であり、

m 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、および m_4 の合計が約15~約300の範囲であり; ならびに単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は10またはそれ以下である。

【0083】

本明細書において記述されるコンジュゲートは、以下の特徴の1つまたは複数を含むこ

50

とができる：例えば、式(I)において、 m_1 は1～約120（例えば、約1～90）の整数であり、および/または m_3 は1～約10（例えば、約1～8）の整数である。

【0084】

例えば、式(I)におけるPHFが約6 kDa～約20 kDaの範囲の分子量を有する(すなわち、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、および m_4 の合計が約45～約150の範囲である)場合、 m_2 は2～約20の整数であり、 m_3 は0～約9の整数であり、 m_4 は1～約10の整数であり、および/または m_1 は1～約75の整数である(例えば、 m_1 は約4～45である)。

【0085】

例えば、式(I)におけるPHFが約8 kDa～約15 kDaの範囲の分子量を有する(すなわち、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、および m_4 の合計が約60～約110の範囲である)場合、 m_2 は2～約15の整数であり、 m_3 は0～約7の整数であり、 m_4 は1～約10の整数であり、および/または m_1 は1～約55の整数である(例えば、 m_1 は約4～30である)。

10

【0086】

例えば、式(I)におけるPHFが約2 kDa～約20 kDaの範囲の分子量を有する(すなわち、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、および m_4 の合計が約15～約150の範囲である)場合、 m_2 は1～約20の整数であり、 m_3 は0～約10の整数であり(例えば、 m_3 は0～約9の範囲であり)、 m_4 は1～約8の整数であり、および/または m_1 は1～約70の整数であり、ならびに単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約2～約8の範囲(例えば、約2、3、4、5、6、7、または8)である。

【0087】

例えば、単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約2～約6の範囲(例えば、約2、3、4、5または6)である。

20

【0088】

例えば、単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約3～約6の範囲(例えば、約3、4、5または6)である。

【0089】

例えば、単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約3～約5の範囲(例えば、約3、4、または5)である。

【0090】

例えば、単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約2～約4の範囲(例えば、約2、3または4)である。

30

【0091】

例えば、単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約3～約4の範囲(例えば、約3または4)である。

【0092】

例えば、式(I)におけるPHFが約3 kDa～約15 kDaの範囲の分子量を有する(すなわち、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、および m_4 の合計が約20～約110の範囲である)場合、 m_2 は2～約15の整数であり、 m_3 は0～約8の整数であり(例えば、 m_3 は0～約7の範囲であり)、 m_4 は1～約8の整数であり、および/または m_1 は2～約50の整数であり、ならびに単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約2～約8の範囲(例えば、約2、3、4、5、6、7、または8)である。

40

【0093】

例えば、式(I)におけるPHFが約5 kDa～約10 kDaの範囲の分子量を有する(すなわち、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_3 および m_4 の合計が約40～約75の範囲である)場合、 m_2 は約2～約10の整数であり(例えば、 m_2 は約3～10の範囲であり)、 m_3 は0～約5の整数であり(例えば、 m_3 は0～約4の範囲であり)、 m_4 は1～約8の整数であり(例えば、 m_4 は1～約5の範囲であり)、および/または m_1 は約2～約35の整数であり(例えば、 m_1 は約5～35の範囲であり)、ならびに単離された抗体に結び付けられた L^{P2} の総数は約2～約8の範囲(例えば、約2、3、4、5、6、7、または8)である。

【0094】

50

例えば、Dの各出現は独立して、例えば5 kDa以下の分子量を有する、治療剤である。

【0095】

例えば、Dの各出現は独立して、診断剤または標識である。

【0096】

例えば、Dのいくつかの出現は独立して、治療剤(例えば、5 kDa以下の分子量を有する)であり、Dの他の出現は診断剤または標識である。

【0097】

例えば、Dの各出現は独立して、例えば、ピンカアルカロイド、オーリスタチン、チューブリン、デュオカルマイシン、非天然カンプトテシン化合物、メイタンシノイド、カリケアマイシン化合物、トポイソメラーゼ阻害剤、ピロロベンゾジアゼピン、DNA結合薬、DNAアルキル化薬、RNAポリメラーゼ阻害剤、キナーゼ阻害剤、MEK阻害剤、KSP阻害剤、およびそれらの類似体である。

10

【0098】

例えば、オーリスタチン化合物の各出現は、オーリスタチン、ドラスタチン(例えば、ドラスタチン10もしくはドラスタチン15)、モノメチルオーリスタチンE (MMAE)、モノメチルオーリスタチンF (MMAF)、オーリスタチンFヒドロキシプロピルアミド(AF HPA)、モノメチルオーリスタチンFヒドロキシプロピルアミド(AF HPA)、またはオーリスタチンFフェニレンジアミン(AFP)である。

【0099】

例えば、デュオカルマイシンまたはそれらの類似体の各出現は、デュオカルマイシンA、デュオカルマイシンB1、デュオカルマイシンB2、デュオカルマイシンC1、デュオカルマイシンC2、デュオカルマイシンD、デュオカルマイシンSA、CC-1065、アドゼレシン、ビゼレシン、またはカルゼレシンである。

20

【0100】

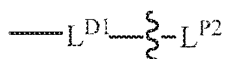
例えば、カンプトテシン化合物の各出現は、カンプトテシン、CPT-11 (イリノテカン)、SN-38、またはトポテカンである。

【0101】

例えば、ピロロベンゾジアゼピン化合物の各出現は、ピロロベンゾジアゼピン単量体、対称ピロロベンゾジアゼピン二量体または非対称ピロロベンゾジアゼピン二量体である。

【0102】

例えば、各



30

は、単離された抗体に結び付けられていない場合、独立して末端基 W^P を含み、ここで各 W^P は独立して以下である:

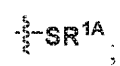
40

50

(1)



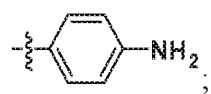
(2)



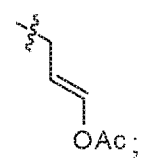
(3)



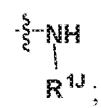
(4)



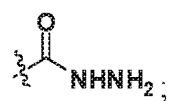
(5)



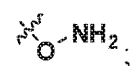
(6)



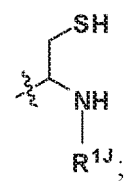
(7)



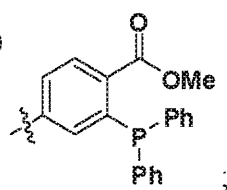
(8)



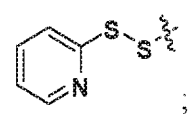
(9)



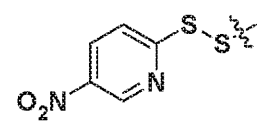
(10)



(11)



(12)



10

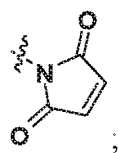
20

30

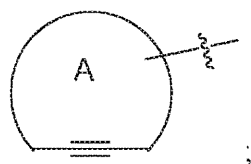
40

50

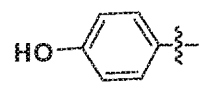
(13)



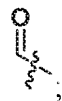
(14)



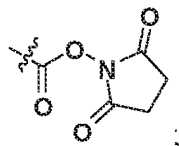
(15)



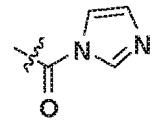
(16)



(17)

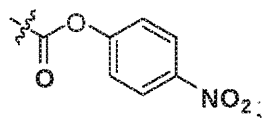


(18)

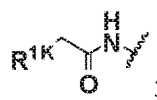


10

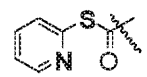
(19)



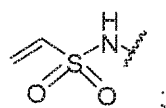
(20)



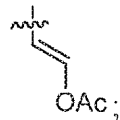
(21)



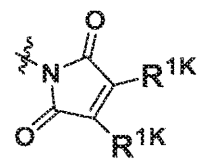
(22)



(23)

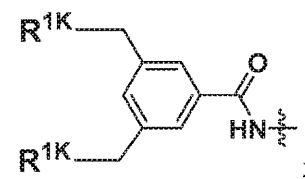


(24)

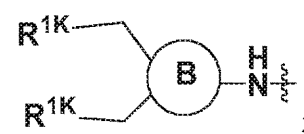


20

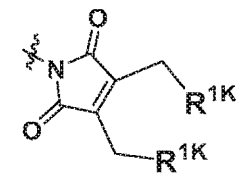
(25)



(26)

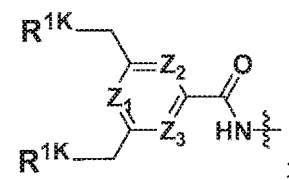


(27)

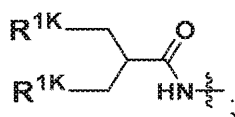


30

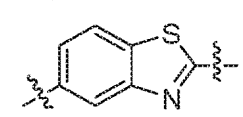
(28)



(29)



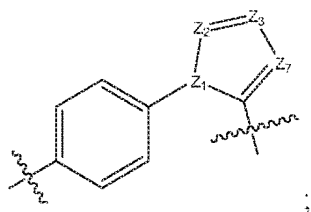
(30)



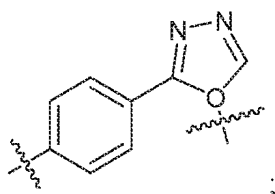
40

50

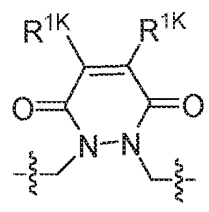
(31)



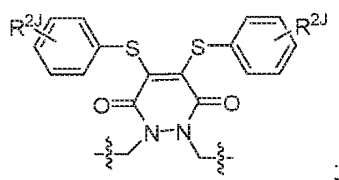
(32)



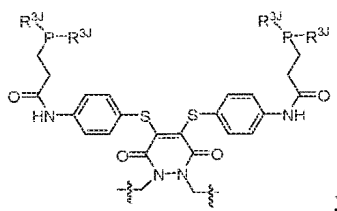
(33)



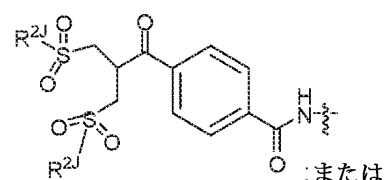
(34)



(35)

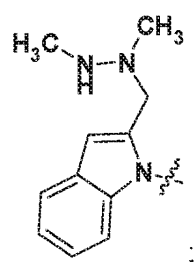


(36)

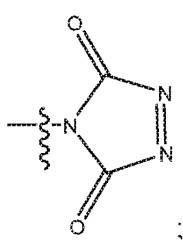


10

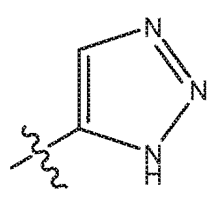
(37)



(38)

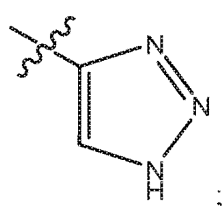


(39)

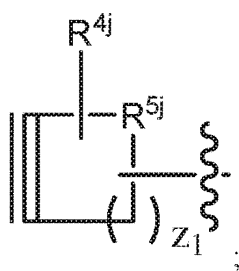


20

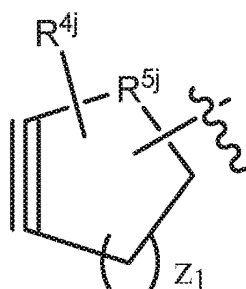
(40)



(41)



(43)



30

式中

環Aはシクロアルキルもしくはヘテロシクロアルキルであり；

環Bはシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、もしくはヘテロアリールであり；

R^{1K}は脱離基であり；R^{1A}は硫黄保護基であり；R^{1J}は水素、脂肪族部分、ヘテロ脂肪族部分、炭素環式部分、もしくはヘテロシクロアルキル部分であり；R^{2J}は水素、脂肪族部分、アリール部分、ヘテロ脂肪族部分、もしくは炭素環式部分であり；R^{3J}はC₁～6アルキルであり、Z₁、Z₂、Z₃およびZ₇の各々が独立して炭素もしくは窒素原子であり；R^{4j}は水素、ハロゲン、OR、-NO₂、-CN、-S(O)₂R、C₁～24アルキル(例えば、C₁～6アルキル)、または6～24員アリールもしくはヘテロアリールであり、ここでC₁～24アルキル(例えば、C₁～6アルキル)、または6～24員アリールもしくはヘテロアリールは、1つ

40

50

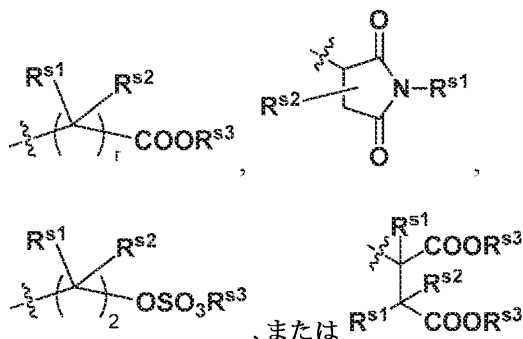
もしくは複数のアリールもしくはヘテロアリールで置換されてもよく;あるいは2つの R^{4j} が一緒になって縮環シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、もしくはヘテロアリールを形成し; Rは水素、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、もしくはヘテロシクロアルキルであり;

R^{5j} は $C(R^{4j})_2$ 、O、SもしくはNRであり;ならびに

z_1 は整数1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10である。

【0103】

例えば、各 R^{1A} は独立して



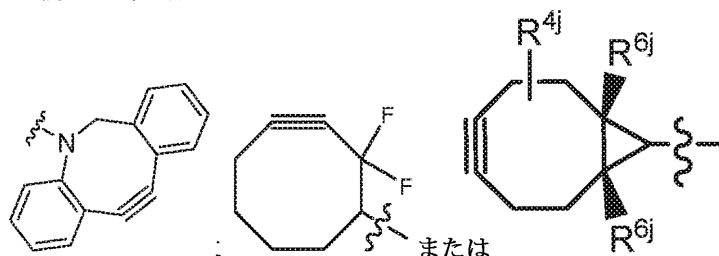
10

であり、ここでrは1もしくは2であり、 R^{s1} 、 R^{s2} 、および R^{s3} の各々が水素、脂肪族部分、ヘテロ脂肪族部分、炭素環式部分、もしくはヘテロシクロアルキル部分である。

20

【0104】

例えば、環Aは

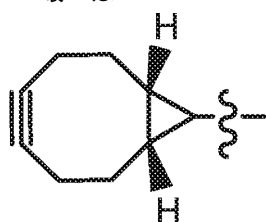


30

でありえ、式中で R^{6j} は水素、ハロゲン、 $C_1 \sim 24$ アルキル(例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキル)、または6~24員アリールもしくはヘテロアリールであり、ここで $C_1 \sim 24$ アルキル(例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキル)、または6~24員アリールもしくはヘテロアリールは、1つもしくは複数のアリールもしくはヘテロアリールで置換されてもよい。

【0105】

環Aは



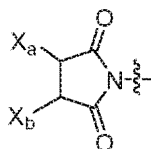
40

でありうる。

【0106】

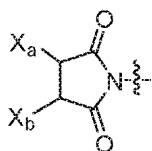
例えば、単離された抗体の官能基との共有結合をまだ形成していない L^{P2} の官能基(抗体のアミノ酸残基上の官能基もしくは反応性部分、例えば、抗体のシステイン残基もしくはリジン残基上の官能基など)は、 $-SR^P$ 、 $-S-S-LG$ 、

50



およびハロから選択され、ここでLGは脱離基であり、R^PはHもしくは硫黄保護基であり、X_aおよびX_bの一方がHであり、他方が水溶性マレイミドブロッキング部分であり、またはX_aおよびX_bは、それらが結合している炭素原子と一緒に becoming 炭素-炭素二重結合を形成する。例えば、共有結合をまだ形成していないL^{P2}の官能基は、単離された抗体の官能基と反応していない官能基、例えば、L^{P2}の官能基としての

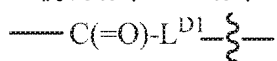
10



であり、ここでX_aおよびX_bの一方がHであり、他方が水溶性マレイミドブロッキング部分であり、またはX_aおよびX_b。

【 0 1 0 7 】

例えば、L^{D1}は、Xが

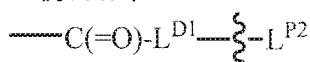


20

のカルボニル基に直接結び付けられた-X-(CH₂)_v-C(=O)-を含み、ここでXはCH₂、O、もしくはNHであり、vは1～6の整数である。

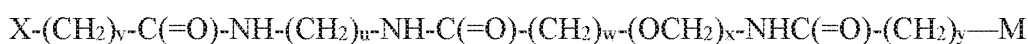
【 0 1 0 8 】

例えば、

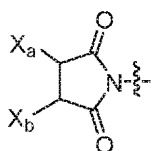


の各出現は独立して

30



であり、ここでXはCH₂、O、もしくはNHであり、v、u、w、xおよびyの各々が1～6の整数であり、Mは



40

であり、式中でX_aおよびX_bの一方がHであり、他方が水溶性マレイミドブロッキング部分であり、またはX_aおよびX_bは、それらが結合している炭素原子と一緒に becoming 炭素-炭素二重結合を形成する。

【 0 1 0 9 】

例えば、v、u、w、xおよびyの各々が2である。

【 0 1 1 0 】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約25:1、24:1、23:1、22:1、21:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1もしくは1:1である。

50

【0 1 1 1】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約20:1、15:1、10:1、5:1、2:1もしくは1:1である。

【0 1 1 2】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1もしくは10:1である。

【0 1 1 3】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約15:1、14:1、13:1、12:1もしくは11:1である。

【0 1 1 4】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約15:1、14:1、13:1もしくは12:1である。

【0 1 1 5】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約14:1、13:1もしくは12:1である。

【0 1 1 6】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約13:1もしくは12:1である。

【0 1 1 7】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約12:1である。

【0 1 1 8】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約14:1、13:1、12:1、11:1、10:1もしくは9:1である。

【0 1 1 9】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約13:1、12:1、11:1、10:1もしくは9:1である。

【0 1 2 0】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約12:1、11:1、10:1もしくは9:1である。

【0 1 2 1】

例えば、Dと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約11:1、10:1もしくは9:1である。

【0 1 2 2】

例えば、1つまたは複数のD保有重合体足場の各々は独立して、式(II)のものである：

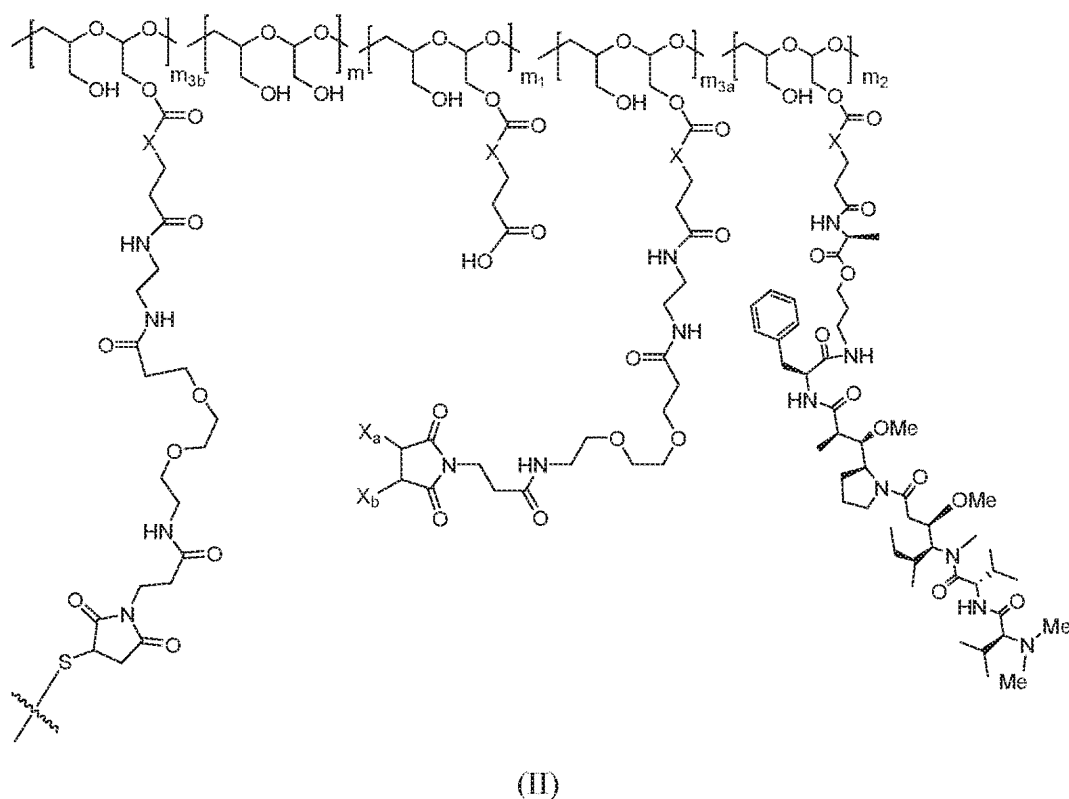
10

20

30

40

50



式中:

m_{3a} が 0 ~ 約 17 の整数であり、

m_{3b} が 1 ~ 約 8 の整数であり、ならびに
末端の



が、単離された NaPi2b 標的化抗体 XMT-1535 への 1 つまたは複数の重合体足場の直接的結合を示す。式(II)の足場は以下の特徴の 1 つまたは複数を含むことができる。

【 0 1 2 3 】

m_{3a} および m_{3b} の合計は 1 ~ 18 である。

【 0 1 2 4 】

式(II)における PHF が約 2 kDa ~ 約 40 kDa の範囲の分子量を有する場合、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} および m_{3b} の合計は約 15 ~ 約 300 の範囲であり、 m_1 は 1 ~ 約 140 の整数であり、 m_2 は 1 ~ 約 40 の整数であり、 m_{3a} は 0 ~ 約 17 の整数であり、 m_{3b} は 1 ~ 約 8 の整数であり、 m_{3a} および m_{3b} の合計は 1 ~ 約 18 の範囲であり、PHF と、単離された NaPi2b 標的化抗体 XMT-1535 との比率は、10 またはそれ以下である。

【 0 1 2 5 】

式(II)における PHF が約 2 kDa ~ 約 20 kDa の範囲の分子量を有する場合、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} および m_{3b} の合計は約 15 ~ 約 150 の範囲であり、 m_1 は 1 ~ 約 70 の整数であり、 m_2 は 1 ~ 約 20 の整数であり、 m_{3a} は 0 ~ 約 9 の整数であり、 m_{3b} は 1 ~ 約 8 の整数であり、 m_{3a} および m_{3b} の合計は 1 ~ 約 10 の範囲であり、PHF と、単離された NaPi2b 標的化抗体 XMT-1535 との比率は、2 ~ 約 8 の整数(例えば、約 2 ~ 約 6 または約 2 ~ 約 4)である。

【 0 1 2 6 】

式(II)における PHF が約 3 kDa ~ 約 15 kDa の範囲の分子量を有する場合、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} および m_{3b} の合計は約 20 ~ 約 110 の範囲であり、 m_1 は 2 ~ 約 50 の整数であり、 m_2 は 2 ~ 約 15 の整数であり、 m_{3a} は 0 ~ 約 7 の整数であり、 m_{3b} は 1 ~ 約 8 の整数であり、 m_{3a} および m_{3b} の合計は 1 ~ 約 8 の範囲であり；ならびに PHF と、単離された NaPi2b 標的化抗

体XMT-1535との比率は、2～約8の整数(例えば、約2～約6または約2～約4)である。

【0127】

式(II)におけるPHFが約5 kDa～約10 kDaの範囲の分子量を有する場合、 m 、 m_1 、 m_2 、 m_{3a} および m_{3b} の合計は約40～約75の範囲であり、 m_1 は約2～約35の整数であり、 m_2 は約2～約10の整数であり、 m_{3a} は0～約4の整数であり、 m_{3b} は1～約5の整数であり、 m_{3a} および m_{3b} の合計は1～約5の範囲であり；ならびにPHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、2～約8の整数(例えば、約2～約6または約2～約4)である。

【0128】

特定の態様において、オーリスタチンFヒドロキシプロピルアミド(「AF HPA」)と、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約30:1、29:1、28:1、27:1、26:1、25:1、24:1、23:1、22:1、21:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1もしくは6:1でありうる。

10

【0129】

特定の態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約25:1、24:1、23:1、22:1、21:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1もしくは6:1でありうる。

【0130】

他の態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535との比率は、約20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1もしくは6:1でありうる。

20

【0131】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1もしくは10:1でありうる。

【0132】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約15:1、14:1、13:1、12:1もしくは11:1でありうる。

【0133】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約15:1、14:1、13:1もしくは12:1でありうる。

【0134】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約14:1、13:1もしくは12:1でありうる。

30

【0135】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約13:1もしくは12:1でありうる。

【0136】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約12:1でありうる。

【0137】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約14:1、13:1、12:1、11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

40

【0138】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約13:1、12:1、11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

【0139】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約12:1、11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

【0140】

いくつかの態様において、AF HPAと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

50

【 0 1 4 1 】

特定の態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1もしくは1:1でありうる。

【 0 1 4 2 】

特定の態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1もしくは2:1でありうる。

【 0 1 4 3 】

他の態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約6:1、5:1、4:1、3:1、2:1もしくは1:1でありうる。

【 0 1 4 4 】

他の態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約6:1、5:1、4:1、3:1もしくは2:1でありうる。

【 0 1 4 5 】

他の態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約6:1、5:1、4:1もしくは3:1でありうる。

【 0 1 4 6 】

いくつかの態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約5:1、4:1もしくは3:1でありうる。

【 0 1 4 7 】

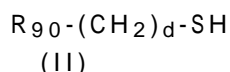
いくつかの態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約4:1、3:1もしくは2:1でありうる。

【 0 1 4 8 】

いくつかの態様において、PHFと、単離されたNaPi2b標的化抗体との比率は、約4:1もしくは3:1でありうる。

【 0 1 4 9 】

水溶性マレイミドブロッキング部分(例えば、 X_a もしくは X_b)は、マレイミド基と式(II)のチオール含有化合物との反応時に2つのオレフィン炭素原子のうちの1つに共有結合できる部分である:



式中:

R_{90} は NHR_{91} 、OH、 $COOR_{93}$ 、 $CH(NHR_{91})COOR_{93}$ もしくは置換フェニル基であり;

R_{93} は水素もしくは $C_1 \sim 4$ アルキルであり;

R_{91} は水素、 CH_3 もしくは CH_3CO であり、および

d は1~3の整数である。

【 0 1 5 0 】

1つの態様において、式(II)の水溶性マレイミドブロッキング化合物は、システイン、N-アセチルシステイン、システインメチルエステル、N-メチルシステイン、2-メルカプトエタノール、3-メルカプトプロパン酸、2-メルカプト酢酸、メルカプトメタノール(すなわち、 $HOCH_2SH$)、フェニルが1つもしくは複数の親水性置換基で置換されているベンジルチオール、または3-アミノプロパン-1-チオールでありうる。フェニル上の1つもしくは複数の親水性置換基は、OH、SH、メトキシ、エトキシ、COOH、CHO、 $COC_1 \sim 4$ アルキル、 NH_2 、F、シアノ、 SO_3H 、 PO_3H などを含む。

【 0 1 5 1 】

別の局面において、水溶性マレイミドブロッキング基は $-S-(CH_2)_d-R_{90}$ であり、ここで

R_{90} はOH、COOHもしくは $CH(NHR_{91})COOR_{93}$ であり;

R_{93} は水素もしくは CH_3 であり;

R_{91} は水素もしくは CH_3CO であり; および

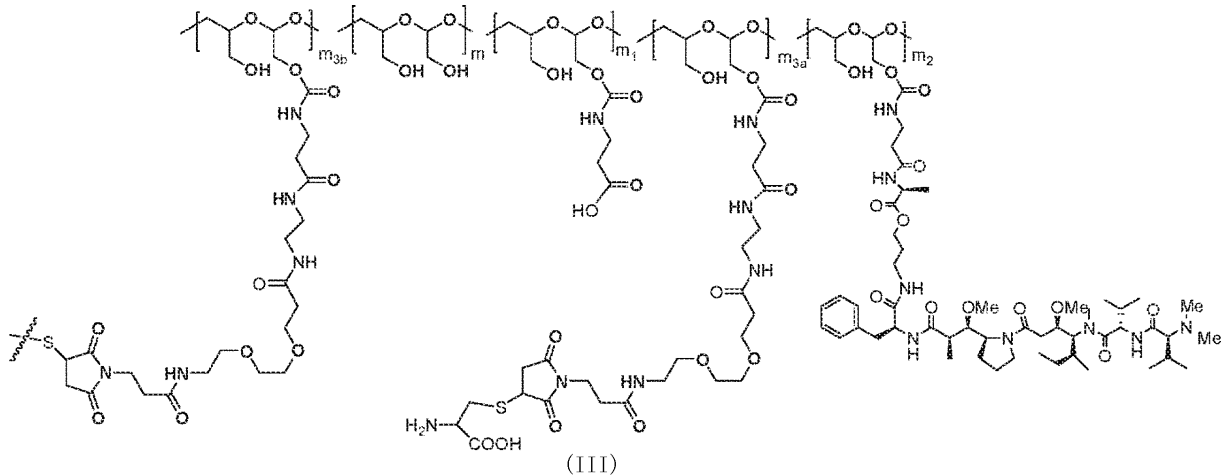
d は1もしくは2である。

【 0 1 5 2 】

別の態様において、水溶性マレイミドブロッキング基は-S-CH₂-CH(NH₂)COOHである。

【0153】

特定の態様において、本明細書において記述されるコンジュゲートは、各々が独立して式(III)のものである、1つもしくは複数のD保有PHFを含み、ここでPHFは約2 kDa～約40 kDaの範囲の分子量を有する：



式中：

- mが1～約300の整数であり、
 - m₁が1～約140の整数であり、
 - m₂が1～約40の整数であり、
 - m_{3a}が0～約17の整数であり、
 - m_{3b}が1～約8の整数であり；
 - m_{3a}およびm_{3b}の合計が1～約18の範囲であり；
 - m、m₁、m₂、m_{3a}、およびm_{3b}の合計が約15～約300の範囲であり；
- 末端の



が、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つもしくは複数のPHF重合体足場の結合を示し、

PHFと抗体との比率が10もしくはそれ以下である。

【0154】

式(III)の足場は以下の特徴の1つまたは複数を含むことができる。

【0155】

式(III)におけるPHFが約2 kDa～約20 kDaの範囲の分子量を有する場合、m、m₁、m₂、m_{3a}およびm_{3b}の合計は約15～約150の範囲であり、m₁は1～約70の整数であり、m₂は1～約20の整数であり、m_{3a}は0～約9の整数であり、m_{3b}は1～約8の整数であり、m_{3a}およびm_{3b}の合計は1～約10の範囲であり、PHFと抗体との比率は2～約8の整数である。

【0156】

式(III)におけるPHFが約3 kDa～約15 kDaの範囲の分子量を有する場合、m、m₁、m₂、m_{3a}およびm_{3b}の合計は約20～約110の範囲であり、m₁は2～約50の整数であり、m₂は2～約15の整数であり、m_{3a}は0～約7の整数であり、m_{3b}は1～約8の整数であり、m_{3a}およびm_{3b}の合計は1～約8の範囲であり；ならびにPHFと抗体との比率は、2～約8の整数（例えば、約2～約6または約2～約4）である。

【0157】

式(III)におけるPHFが約5 kDa～約10 kDaの範囲の分子量を有する場合、m、m₁、m₂

、 m_{3a} および m_{3b} の合計は約40～約75の範囲であり、 m_1 は約2～約35の整数であり、 m_2 は約2～約10の整数であり、 m_{3a} は0～約4の整数であり、 m_{3b} は1～約5の整数であり、 m_{3a} および m_{3b} の合計は1～約5の範囲であり；ならびにPHFと抗体との比率は、2～約8の整数(例えば、約2～約6または約2～約4)である。

【0158】

特定の態様において、オーリスタチンFヒドロキシプロピルアミド(「AF HPA」)と抗体との比率は、約30:1、29:1、28:1、27:1、26:1、25:1、24:1、23:1、22:1、21:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1もしくは6:1でありうる。

【0159】

特定の態様において、AF HPAと抗体との比率は、約25:1、24:1、23:1、22:1、21:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1もしくは6:1でありうる。

【0160】

他の態様において、AF HPAと抗体との比率は、約20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1もしくは6:1でありうる。

【0161】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1もしくは10:1でありうる。

【0162】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約15:1、14:1、13:1、12:1もしくは11:1でありうる。

【0163】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約15:1、14:1、13:1もしくは12:1でありうる。

【0164】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約14:1、13:1もしくは12:1でありうる。

【0165】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約13:1もしくは12:1でありうる。

【0166】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約12:1でありうる。

【0167】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約14:1、13:1、12:1、11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

【0168】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約13:1、12:1、11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

【0169】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約12:1、11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

【0170】

いくつかの態様において、AF HPAと抗体との比率は、約11:1、10:1もしくは9:1でありうる。

【0171】

特定の態様において、PHFと抗体との比率は、約10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1もしくは1:1でありうる。

【0172】

特定の態様において、PHFと抗体との比率は、約8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1もし

10

20

30

40

50

くは2:1でありうる。

【0173】

他の態様において、PHFと抗体との比率は、約6:1、5:1、4:1、3:1、2:1もしくは1:1でありうる。

【0174】

他の態様において、PHFと抗体との比率は、約6:1、5:1、4:1、3:1もしくは2:1でありうる。

【0175】

他の態様において、PHFと抗体との比率は、約6:1、5:1、4:1もしくは3:1でありうる。

【0176】

いくつかの態様において、PHFと抗体との比率は、約5:1、4:1もしくは3:1でありうる。

【0177】

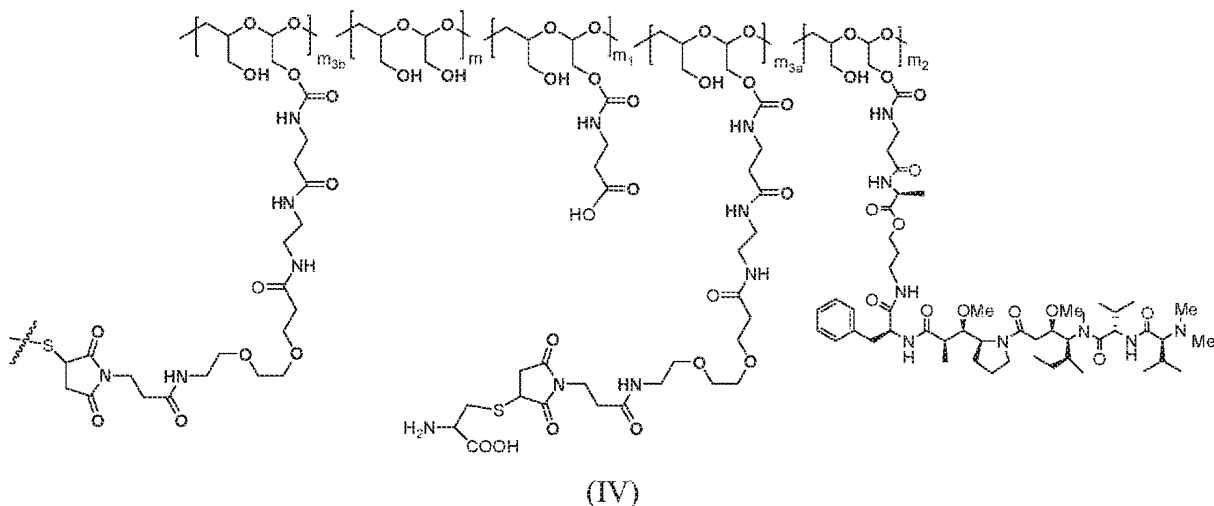
いくつかの態様において、PHFと抗体との比率は、約4:1、3:1もしくは2:1でありうる。

【0178】

いくつかの態様において、PHFと抗体との比率は、約4:1もしくは3:1でありうる。

【0179】

特定の態様において、本明細書において記述されるコンジュゲートにおいて、式(III)のD保有重合体足場は式(IV)のものであり、ここで重合体は、約5 kDa～約10 kDaの範囲の分子量を有するPHFである：



式中：

m が30～約35の整数であり、

m_1 が8～約10の整数であり、

m_2 が2～約5の整数であり、

m_{3a} が0～約1の整数であり、

m_{3b} が1～約2の整数であり；

m_{3a} および m_{3b} の合計が1～約4の範囲であり；

末端の



が、単離されたNaPi2b標的化抗体XMT-1535への1つもしくは複数のPHF重合体足場の結合を示し、

PHFと抗体との比率が約3～約5である。

【0180】

本発明の診断、予測、および予後診断の方法

さまざまな局面において、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルにおけるNaPi2b発現の状態を測定する段階、および腫瘍サンプルにおけるNaPi2b発現に基づいて処置のために患者を特定する段階により、NaPi2b標的化療法に適しているがん患者を特定するための方法を提供する。

【0181】

具体的には、本発明は、NaPi2bの発現レベルに基づいてNaPi2b標的化処置、例えばWO2017/160754に開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置に応答するがん患者と、応答しない患者とを識別する方法を提供する。NaPi2b発現プロファイルは、処置に対する良好または不良な応答を有する患者と関連する(したがって、それらの患者を識別することができる)。

10

【0182】

他の態様において、本発明は、患者由来のがん細胞のサンプルにおけるNaPi2b発現を対照NaPi2bプロファイルと比較して、その患者において得られる可能性の高い臨床転帰もしくは処置結果、または当然の生物学的結果を決定する方法を含む。本発明のこれらの態様は、患者が所与の処置タイプから恩恵を受ける可能性が高いかどうか、または患者が別のタイプの処置でもっと良い状態になるかどうかを予測する能力に対しての、満たされていない重要な診断的要求を満たすために有利に用いられうる。例えば、高いNaPi2b発現レベル値は、WO 2017/160574に開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートへの応答と強く関連している可能性がある。

20

【0183】

本発明の方法は、生存およびがん再発を含めた患者転帰のいっそう正確な評価を提供するために、単独でもしくは主観的基準との組み合わせで用いられうる客観的タンパク質発現パターンを提供する。

【0184】

さまざまな局面において、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルにおけるNaPi2b発現を測定する段階により、異常なNaPi2b発現に関連する疾患または障害を特定および/または処置するための方法を提供する。

【0185】

本発明の方法は、NSCLCのいっそう正確な診断を提供するために、単独でもしくは主観的基準との組み合わせで用いられうる客観的タンパク質発現パターンを提供する。例えば、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルにおけるNaPi2b発現を測定する段階により、患者におけるNSCLCを診断する方法を提供する。具体的には、本発明は、患者から得られた腫瘍サンプルにおけるNaPi2b発現を測定する段階、および腫瘍サンプルにおけるNaPi2b発現に基づいて腺がんであるとNSCLCを特定する段階により、NSCLCをサブタイプ分類するための方法を提供する。任意で、TTF-1、ナプシンA、p63、p40またはCH5/6の1つまたは複数の発現レベルがさらに決定されてもよい。

30

【0186】

がん患者は、異常なNaPi2b活性および/または発現に関連する疾患または障害を有する。異常なNaPi2b活性および/または発現に関連する疾患または障害は、がんを含むが、これに限定されることはない。がんは、上皮性卵巣がんなどの卵巣がん、甲状腺がん、結腸直腸がん、肺がん、非扁平上皮NSCLCなどの非小細胞肺癌(NSCLC)、乳がん、腎臓がん、唾液腺管がん、甲状腺乳頭がん、乳頭状腎がん、唾液腺がん、子宮内膜がん、および胆管がんでありうる。

40

【0187】

対象は、標準的な第一線の化学療法剤を含む化学療法に不応性である。いくつかの態様において、対象は、白金感受性卵巣がんを有する。いくつかの態様において、対象は白金不応性卵巣がんを有する。いくつかの態様において、対象は進行した卵巣がんを有し、がん(例えば、卵巣がん)を処置するための以前のいかなる治療も受けていない。いくつかの

50

態様において、対象は進行した卵巣がんを有し、がん(例えば、卵巣がん)を処置するための以前のいかなる化学療法も受けていない。

【0188】

サンプルは、がんを有する対象またはがんを有する疑いのある対象に由来する。がん細胞のサンプルは、対象から取り出されたまたは得られた組織から切り出される。

【0189】

いくつかの態様において、試験細胞集団は、生検サンプルからの新鮮な凍結されていない組織に由来する。他の態様において、試験細胞集団は、原発性または転移性部位に由来する。いくつかの態様において、試験細胞集団は、生検もしくは外科的サンプルからの新鮮組織もしくは凍結組織、または腹水液(ascetic fluid)もしくは胸膜液に由来する。いくつかの態様において、試験細胞集団は、生検もしくは外科的サンプルからの固定(例えば、ホルマリン固定もしくはホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE))組織または流体標本に由来する細胞ブロックに由来する。組織サンプルは凍結されていてもまたは新鮮なものであってもよい。

【0190】

NaPi2b標的化療法はNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲート(ADC)療法を含む。例えば、WO 2017/160754に記述されているようなNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲート(ADC)療法。

【0191】

必要なNaPi2b発現のレベルは、当技術分野において公知の任意の方法によって、より具体的には本明細書において記述される方法によって特定されるものでありうる。

【0192】

例えば、NaPi2b発現のレベルは、NaPi2bを特異的に認識する抗体(例えば、本発明によるキメラ抗体)を用いて、酵素免疫アッセイ法、放射免疫アッセイ法、競合免疫アッセイ法、二重抗体サンドイッチアッセイ法、蛍光免疫アッセイ法、ELISA、ウエスタンブロット技法、凝集アッセイ法、細胞蛍光測定法(例えばフローサイトメトリー)、または免疫組織化学染色アッセイ法といった、公知の免疫学的アッセイ法を行うことにより測定することができる。フローサイトメトリー(FC)法、免疫組織化学(IHC)法、または免疫蛍光(IF)法といった、細胞に基づくアッセイ法は、臨床的に適しているため、本発明の方法を実践する際には特に望ましい。したがって、いくつかの態様において、本発明の方法は、フローサイトメトリー(FC)、免疫組織化学(IHC)、または免疫蛍光(IF)アッセイ形式で実施される。好ましくは、本方法はIHC形式で実施される。

【0193】

フローサイトメトリー(FC)を利用して、NaPi2b発現の阻害を標的とした薬物による処置前、処置中、および処置後の腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの細胞表面発現を決定してもよい。例えば、腫瘍細胞は、要望があれば、NaPi2bに対するフローサイトメトリー、およびがん細胞型を特定するマーカーなどに対するフローサイトメトリーにより分析されうる。フローサイトメトリーは、標準的な方法によって実行されうる。例えば、Chow et al., Cytometry (Communications in Clinical Cytometry) 46: 72-78 (2001)を参照されたい。簡潔には、例として、サイトメトリー分析のための以下のプロトコルが利用されうる: 37 °Cで10分間2%パラホルムアルデヒドによる細胞の固定と、それに続き氷上で30分間90%メタノール中での透過処理。次に、細胞をNaPi2b特異的抗体で染色し、洗浄し、蛍光標識した二次抗体で標識することができる。次に、使用する機器の特定のプロトコルにしたがって、細胞をフローサイトメーター(例えば、Beckman Coulter FC500)で分析する。そのような分析により、腫瘍において発現されたNaPi2bのレベルが特定されよう。

【0194】

また、免疫組織化学(IHC)染色を利用して、活性の阻害を標的とした薬物による処置前、処置中、および処置後の腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現を決定してもよい。IHCは、周知の技法にしたがって実行されうる。例えば、ANTIBODIES; A LABORATORY MA

10

20

30

40

50

NUAL, Chapter 10, Harlow & Lane Eds., Cold Spring Harbor Laboratory (1988)を参照されたい。簡潔には、例として、パラフィン包埋組織(例えば、生検からの腫瘍組織)は、キシレン、続いてエタノールで組織切片を脱パラフィン化し; 水中、次いでPBS中で水和し; クエン酸ナトリウム緩衝液中でスライドを加熱することによって抗原を脱マスクし; 過酸化水素中で切片をインキュベートし; ブロッキング溶液中でブロッキングし; 一次ポリペプチド抗体および二次抗体中でスライドをインキュベートし; 最後に製造元の指示にしたがってABCアビジン/ビオチン法を用いて検出することによる免疫組織化学染色のために調製される。

【0195】

また、免疫蛍光(IF)アッセイ法を利用して、活性の阻害を標的とした薬物による処置前、処置中、および処置後の腫瘍サンプルにおけるNaPi2bの発現を決定してもよい。IFは、周知の技法にしたがって実行されうる。例えば、J. M. Polak and S. Van Noorden (1997) INTRODUCTION TO IMMUNOCYTOCHEMISTRY, 2nd Ed.; ROYAL MICROSCOPY SOCIETY MICROSCOPY HANDBOOK 37, BioScientific/Springer-Verlagを参照されたい。簡潔には、例として、患者サンプルをパラホルムアルデヒド、その後にメタノール中で固定し、ウマ血清などのブロッキング溶液でブロックし、ポリペプチドに対する一次抗体、続いてAlexa 488などの蛍光色素で標識された二次抗体とともにインキュベートし、落射蛍光顕微鏡で分析することができる。

10

【0196】

上記のアッセイ法で利用される抗体は、蛍光色素(例えばAlexa488、PE)、または他のシグナル伝達(ホスホ-AKT, ホスホ-Erk 1/2)および/もしくは細胞マーカー(サイトケラチン)抗体とともに多パラメータ分析で用いるための他の標識(量子ドットなど)に、有利に結合されうる。

20

【0197】

好ましい態様において、腫瘍由来のサンプルにおけるNaPi2bの発現は、免疫組織化学的に決定される。さらにより好ましい態様において、腫瘍由来のサンプルにおけるNaPi2bの発現は、本明細書において記述されるキメラ抗体を用いて免疫組織化学(IHC)的に決定される。

【0198】

あるいは、アッセイ法は、任意でPCR (ポリメラーゼ連鎖反応)または他の分析方法論で用いるために、サンプルからRNAを調製することを含んでもよい。PCR方法論は、任意で、例えば、RT-PCR (逆転写PCR)、または例えば、リアルタイムRT-PCR、RNAseqなどの定量的PCRである。あるいは、アッセイは、関連分野で知られているマイクロアレイのなどのアレイの使用によって行われてもよい。

30

【0199】

患者は処置に応答するものと特定され、ここで処置がモニタリングされるか、またはサンプルにおけるNaPi2bの発現レベルを検出および/または測定することによりがんが検出される。

【0200】

NaPi2bの発現レベルの検出/測定は、NaPi2bスコアを計算することによって決定される。NaPi2bスコアは定量的または半定量的である。例えば、検出は病理学的にスコアリングされて、病理学スコアに到達する。当技術分野において公知の任意のスコアリング法が本発明の方法において用いられうるものと企図される。特に、当技術分野において公知の組織学的スコアリング法。

40

【0201】

免疫組織化学的染色アッセイ法によって得られた測定結果を評価するための方法は、例えば、Hスコア法を含む。Hスコアは以下の計算式によって決定される(Am J Clin Pathol. 1988; 90 (3): 233-9)。Hスコア = $((1+\%) \times 0) + ((1+\%) \times 1) + ((2+\%) \times 2) + ((3+\%) \times 3)$ 、ここで染色強度 0は無染色であり; 染色強度1は弱染色であり; 染色強度2は中程度の染色であり; および染色強度3は強染色である。

50

【0202】

いくつかの態様において、Hスコアは0～300の値でありえ、Hスコアがカットオフポイントよりも高い場合、抗腫瘍効果は、本発明のNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲートを用いる化学療法において観察されうる。例えば、対象が50、60、70、80、90、100、110、120、130またはそれ以上のHスコアを有する場合、対象は、本明細書においておよびWO 2017/160754において記述されているようにNaPi2b標的化抗体薬物コンジュゲート(ADC)による処置に応答性である。

【0203】

Hスコア法による評価では、がん細胞部分だけが用いられる。染色強度の陰性または陽性対照には、ホルマリン固定パラフィン包埋細胞株または異種移植片(タンパク質発現レベルが事前にわかっている株)が利用されうる。対照標本がない場合は、複数の標本を同時に評価して標本の染色強度の全体的な分布を確認し、染色強度を設定すればよい。

【0204】

Hスコア法に加えて、Allred法(Harvey, et al. Journal of Clinical Oncology 17, no. 5 (May 1999) 1474-1474)のなどの他のスコアリング法を用いることもできる。各方法においてカットオフポイントを設定する必要がある。Allredスコア = 陽性細胞の割合のスコア + 染色強度スコア。標本は、NaPi2b発現に対して1+または2+または3+のスコアリングを有するとして半定量的にスコアリングすることもできる。

【0205】

本発明の性能および精度測定

本発明の性能、したがって本発明の絶対的および相対的な臨床的有用性は、上記のように複数の方法で評価されうる。さまざまな性能評価のうち、本発明は、臨床診断および予後診断における精度を提供することを意図している。診断、予測、または予後診断の試験、アッセイ法、または方法の精度は、NaPi2bレベルの「有効な量」または「有意な変化」を対象が有するかどうかに基づいて、化学療法処置に応答する対象と応答しない対象とを識別する、試験、アッセイ法、または方法の能力に関係する。「有効な量」または「有意な変化」とは、NaPi2b測定値が所定のカットオフポイント(または閾値)とは異なることを意味し、ゆえに、治療に対する対象の応答性、またはNaPi2bが決定要因である無病生存率/全生存率を示す。

【0206】

病状のカテゴリ診断では、通常、試験(もしくはアッセイ法)のカットポイントまたは閾値を変化させると、感度および特異性が変化するが、質的には逆の関係になる。ゆえに、対象の状態を評価するために提案された医学的試験、アッセイ法、または方法の精度および有用性を評価する際には、感度および特異性はカットポイントの範囲にわたって大幅に異なる可能性があるため、常に感度および特異性の両方を考慮に入れ、その感度および特異性が報告されているカットポイントに留意するべきである。

【0207】

臨床アルゴリズムの構築

任意の式を用いて、NaPi2bの結果を、本発明の実践において有用な指数に組み合わせてもよい。上記で示されたように、非限定的に、そのような指数は、他のさまざまな指標のうち、例えば、化学療法または化学放射線療法、すなわちNaPi2b標的化療法、例えば本明細書において記述されWO 2017/160754において開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置に応答する確率、可能性、絶対的または相対的機會を示しうる。これは、特定の時間周期もしくは期間、または残りの生涯リスクについてである場合もあれば、単に別の参照対象集団に対する指数として提供される場合もある。

【0208】

さまざまな好ましい式が本明細書で記述されているが、本明細書においておよび上記の定義において述べられているもの以外のいくつかの他のモデルおよび式のタイプが、当業者に周知である。使用される実際のモデルタイプまたは式自体は、訓練集団での結果における性能および診断精度の特徴に基づいて、潜在的なモデルの領域から選択されうる。式

10

20

30

40

50

自体の詳細は、一般に、関連する訓練集団におけるNaPi2bの結果から導出されうる。他の用途の中でも、そのような式は、1つまたは複数の入力から導出された特徴空間を一連の対象クラス(例えば、対象クラスの成員を通常、応答者および非応答者として予測するのに役立つ)にマッピングするように、ベイジアンアプローチを用いたリスク(例えば、がんもしくは転移事象のリスク)の確率関数の推定を導出するように、またはクラス条件付き確率を推定し、ベイズの規則を用いて前の事例と同様にクラス確率関数を生成するように意図されうる。

【0209】

処置の方法

処置のために選択されると、患者は、治療的に有効な量のNaPi2b抗体コンジュゲート(例えば、本明細書において記述されたまたはWO 2017/160754において開示されたNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲート)を投与される。

10

【0210】

したがって、本発明はまた、本明細書において記述されている方法により特定された対象にNaPi2b抗体コンジュゲート(例えば、本明細書において記述されたまたはWO 2017/160753において開示されたNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲート)を投与する段階により、上皮性卵巣がん、甲状腺がん、結腸直腸がん、肺がん、非扁平上皮NSCLCなどの非小細胞肺癌(NSCLC)、腺がん、乳がん、腎臓がん、唾液腺管がん、甲状腺乳頭がん、乳頭状腎がん、唾液腺がん、子宮内膜がん、および胆管がんからなる群より選択されるがんの症状を処置する、予防する、その進行を遅延させる、またはそうでなければ改善する方法を提供する。処置される対象は、例えば、ヒトである。コンジュゲートは、病状に関連する症状を処置、予防または緩和するのに十分な量で投与される。

20

【0211】

治療的に有効な量とは、一般に、治療目的を達成するために必要な量に関する。投与するのに必要な量はさらに、抗体のその特異的抗原に対する結合親和性に依存し、また、投与された抗体が、それが投与される他の対象の自由体積から枯渇する速度にも依存する。本明細書において開示されるコンジュゲートを利用する投薬計画はまた、患者のタイプ、種、年齢、体重、性別および医学的状態を含む種々の他の要因; 処置される状態の重症度; 投与経路; 患者の腎機能および肝機能; ならびに利用される特定のコンジュゲートにしたがって選択される。通常の技能を有する医師または獣医師は、状態の進行の抑止、対抗または阻止に必要なコンジュゲートの有効量を容易に決定および処方することができる。

30

【0212】

本明細書において開示されるNaPi2b抗体コンジュゲートの治療的に有効な投薬のための一般的な範囲は、非限定的な例として、約0.1 mg/kg体重～約50 mg/kg体重、約0.1 mg/kg体重～約100 mg/kg体重または約0.1 mg/kg体重～約150 mg/kg体重でありうる。本明細書において開示される範囲は、対象の体重に基づいて投与される量として表現され、当業者は、対象の体表面積あたりの投与量としてそれを容易に表現することができる。例えば、ヒト成人の1 mg/kg体重は約37 mg/m²に相当し、ヒト小児の1 mg/kg体重は約25 mg/m²に相当する。

【0213】

40

一般的な投薬頻度は、例えば、1日に2回から1ヶ月に1回(例えば、1日に1回、毎週1回; 隔週に1回; 3週間に1回、4週間に1回または毎月)の範囲でありうる。例えば、本明細書において開示されるXMT-1535のコンジュゲートは、約0.1 mg/kg～約20 mg/kg (例えば、0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.67 mg/kg、0.8 mg/kg、1 mg/kg、1.25 mg/kg、1.67 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kg、10 mg/kg、11 mg/kg、12 mg/kg、13 mg/kg、14 mg/kg、15 mg/kg、16 mg/kg、17 mg/kg、18 mg/kg、19 mg/kg、または20 mg/kg)で(例えば、毎週、2週間ごと、3週間ごと、4週間ごとまたは毎月の単回用量として)投与することができる。例えば、本明細書において開示されるXMT-1535のコンジュゲートは、NaPi2b発現卵巣がんまたはNaPi2b発現NSCLCがんを処置するために

50

約0.1 mg/kg～約20 mg/kg (例えば、0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.67 mg/kg、0.8 mg/kg、1 mg/kg、1.25 mg/kg、1.67 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kg、10 mg/kg、11 mg/kg、12 mg/kg、13 mg/kg、14 mg/kg、15 mg/kg、16 mg/kg、17 mg/kg、18 mg/kg、19 mg/kg、または20 mg/kg)で(例えば、毎週、2週間ごと、3週間ごと、4週間ごとまたは毎月の単回用量として)投与することができる。

【0214】

一般的な投薬頻度は、例えば、1日に2回から1ヶ月に1回(例えば、1日に1回、毎週1回; 隔週に1回; 3週間に1回、4週間に1回または毎月)の範囲でありうる。例えば、本明細書において開示されるXMT-1535のコンジュゲートは、約3 mg/m²～約53 mg/m² (例えば、3 mg/m²、6 mg/m²、12 mg/m²、20 mg/m²、25 mg/m²、30 mg/m²、35 mg/m²、40 mg/m²、または53 mg/m²で(例えば、毎週、2週間ごと、3週間ごと、4週間ごとまたは毎月の単回用量として)投与することができる。例えば、本明細書において開示されるXMT-1535のコンジュゲートは、NaPi2b発現卵巣がんまたはNaPi2b発現NSCLCがんを処置するために約3 mg/m²～約53 mg/m² (例えば、3 mg/m²、6 mg/m²、12 mg/m²、20 mg/m²、25 mg/m²、30 mg/m²、35 mg/m²、40 mg/m²、または53 mg/m²)で(例えば、毎週、2週間ごと、3週間ごと、4週間ごとまたは毎月の単回用量として)投与することができる。

10

【0215】

処置の有効性は、特定のNaPi2b関連障害を診断または処置するための任意の公知の方法に関連して決定される。NaPi2b関連障害の1つもしくは複数の症状の緩和は、抗体が臨床的利益をもたらすことを示す。

20

【0216】

キット

本発明は、患者サンプルにおけるNaPi2b発現のレベル(例えば、細胞あたりの抗原の数)を検出するキメラNaPi2b抗体(例えば、MERS67)と、本明細書において記述されたまたはWO 2017/160754において開示されたNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートの有効量を含む治療組成物とを含むキットを提供する。必要に応じて、キットはさらに、NaPi2b発現のレベルを検出するためのおよびWO 2017/160754に開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートが患者に投与された場合に有効であるかどうかを決定するための指示を含む。好ましくは、キットは免疫組織化学試験キットである。任意で、キットはさらに、本明細書において記述されているまたはWO 2017/160754において開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートを、そのような処置を受けるように選択された患者に投与するための説明書を含んでもよい。

30

【0217】

定義

それ以外であると定義されている場合を除き、本開示に関連して用いられる科学および技術的用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するであろう。さらに、本文がそれ以外であることを必要としている場合を除き、単数形は複数形を含み、複数形は単数形を含むであろう。概して、本明細書において記述される細胞および組織培養、分子生物学、ならびにタンパク質およびオリゴまたはポリヌクレオチド化学およびハイブリダイゼーションに関連して用いられる名称、およびそれらの技法は、当技術分野において周知であり、一般的に用いられる。組み換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、ならびに組織培養および形質転換に関して、標準的な技法が用いられる(例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション)。酵素反応および精製技法は、製造元の仕様書にしたがって、または当技術分野において一般的に行われるように、または本明細書において記述されるように行われる。前述の技法および手順は一般的に、当技術分野において周知の通常の方法にしたがっておよび本明細書を通して引用および考察されるさまざまな一般的なおよびより特異的な参考文献に記述されるように行われる。例えば、Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press,

40

50

Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))を参照されたい。本明細書において記述される分析化学、合成有機化学、ならびに医化学および薬化学に関連して用いられる名称、ならびにそれらの実験手順および技法は、当技術分野において周知であり、一般的に用いられる手順および技法である。化学合成、化学分析、薬剤調製、調合、ならびに患者への送達および処置に関して、標準的な技法が用いられる。

【0218】

本開示にしたがって利用される場合、以下の用語は、それ以外であることを示している場合を除き、以下の意味を有すると理解されるものとする。

【0219】

本明細書において用いられる、用語「NaPi2b」(ナトリウム依存性リン酸輸送タンパク質2B、SLC34A2、NaPiIb、Npt2、Na(+)-依存性リン酸共輸送体2B; ナトリウム/リン酸共輸送体2B; Na(+)/Pi共輸送体2B; NaPi3b; 溶質キャリアファミリー34メンバー2としても知られる)は、本明細書において用いられる場合、ヒトNaPi2b (例えば、GenBankアクセッション番号O95436.3)をいい、腫瘍細胞を含む細胞によって自然に発現される、またはNaPi2b遺伝子でトランスフェクションされた細胞上に発現されるNaPi2bの任意の変種、アイソフォームおよび種相同体を含む。これらの用語は同義であり、互換的に用いられる。

【0220】

本明細書において用いられる場合、「NaPi2b抗体」または「抗NaPi2b抗体」という用語は、抗原NaPi2bに特異的に結合する抗体である。

【0221】

2つまたはそれ以上の抗体との関連で本明細書において用いられる場合、「と競合する」または「と交差競合する」という用語は、2つまたはそれ以上の抗体がNaPi2bへの結合について競合する、例えば、当技術分野において承認されている任意のアッセイ法においてNaPi2b結合について競合することを示す。抗体が1つまたは複数の他の抗体と25%またはそれ以上競合する場合、抗体は1つまたは複数の他の抗体のNaPi2bへの結合を「ブロック」または「交差ブロック」し、当技術分野において承認されている任意のアッセイ法を用いて決定されるように、25%~74%は「部分的ブロック」に相当し、75%~100%は「完全ブロック」に相当する。一部の抗体ペアでは、当技術分野において承認されている任意のアッセイ法における競合またはブロッキングは、一方の抗体がプレートにコーティングされ、もう一方が競合に使用された場合にのみ観察され、その逆ではない。文脈によって特に定義または否定されない限り、「と競合する」、「と交差競合する」、「ブロックする」または「交差ブロックする」という用語は、本明細書において用いられる場合、そのような抗体のペアを網羅することも意図される。

【0222】

本明細書において用いられる「抗体」という用語は、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン(Ig)分子の免疫活性部分、すなわち、抗原に特異的に結合する(免疫反応する)抗原結合部位を含む分子を意味する。「と特異的に結合する」または「と免疫反応する」または「に対して作製された」とは、抗体が、所望の抗原の1つまたは複数の抗原性決定基と反応するが、他のポリペプチドとは反応しないか、またはかなり低い親和性($K_d > 10^{-6}$)で結合することを意味する。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体およびキメラ抗体を含むが、これらに限定されることはない。

【0223】

抗体の基本構造単位は、四量体を含むことが知られている。各四量体は、各々の対が1つの「軽」鎖(約25 kDa)と1つの「重」鎖(約50~70 kDa)とを有する、ポリペプチド鎖の2つの同一の対で構成される。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識を主に担う約100個から110個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクタ機能を主に担う定常領域を定義する。一般的に、ヒトから得られる抗体分子は、分子に存在する重鎖の性質が互いに異なるIgG、IgM、IgA、IgEおよびIgDのクラスのいずれかに関連する。特定のクラスは、その上、IgG₁、IgG₂、およびその他などのサブ

10

20

30

40

50

クラスも有する。さらに、ヒトでは、軽鎖はカップ鎖またはラムダ鎖でありうる。

【0224】

本明細書において用いられる「モノクローナル抗体」(mAb)または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、独自の軽鎖遺伝子産物と独自の重鎖遺伝子産物からなる抗体分子の1つの分子種のみを含む抗体分子集団をいう。特に、モノクローナル抗体の相補性決定領域(CDR)は、その集団の全ての分子において同一である。モノクローナル抗体(mAb)は、それに対する独自の結合親和性を特徴とする抗原の特定のエピトープと免疫反応することができる抗原結合部位を含む。

【0225】

本明細書において用いられる場合、「キメラ」という用語は、抗体または抗原結合部分が2つの異なる種由来の配列を含むことを意味する。キメラ抗体は、ヒトおよび非ヒト部分を含む免疫グロブリン分子である。より具体的には、キメラ抗体の抗原結合領域(可変領域)はヒト供給源に由来し、免疫グロブリンに生物学的エフェクタ機能を付与するキメラ抗体の定常領域は非ヒト供給源に由来する。キメラ抗体は、ヒト抗体分子の抗原結合特異性および非ヒト抗体分子によって付与されるエフェクタ機能を有するはずである。本発明によるキメラ抗体を産生する方法は、当業者によく知られており、例えば、米国特許第4,816,567号、米国特許第5,585,089号およびUS 20030039649を参照されたく、これらは参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。そのような方法は、標準的な組み換え技法の使用を必要とする。

【0226】

一般に、ヒトから得られる抗体分子は、分子中に存在する重鎖の性質が互いに異なるIgG、IgM、IgA、IgEおよびIgDのクラスのいずれかに関連する。特定のクラスは、その上、IgG₁、IgG₂などのサブクラスも有する。さらに、ヒトでは、軽鎖はカップ鎖またはラムダ鎖でありうる。

【0227】

「抗原結合部位」または「結合部分」という用語は、抗原結合に関与する免疫グロブリン分子の部分を用いる。抗原結合部位は、重鎖(「H」)と軽鎖(「L」)のN-末端可変(「V」)領域のアミノ酸残基によって形成される。「超可変領域」といわれる、重鎖と軽鎖のV領域内の3つの高度に多様な伸長部が、「フレームワーク領域」または「FR」として知られるより保存された隣接伸長部の間に挿入される。このように、「FR」という用語は、免疫グロブリンの超可変領域の間に、超可変領域に隣接して天然に見出されるアミノ酸配列をいう。抗体分子において、軽鎖の3つの超可変領域および重鎖の3つの超可変領域は、三次元空間で互いに関連して配置されて抗原結合表面を形成する。抗原結合表面は、結合した抗原の三次元表面と相補的であり、重鎖および軽鎖の各々の3つの超可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」といわれる。各ドメインに対するアミノ酸の割付は、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991))、またはChothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、Chothia et al. Nature 342:878-883 (1989)の定義に従う。

【0228】

本明細書において用いられる場合、「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンもしくはその断片、またはT細胞受容体に特異的に結合することができる任意のタンパク質決定基を含む。「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に特異的に結合することができる任意のタンパク質決定基を含む。エピトープ決定基は通常、アミノ酸または糖鎖などの分子の化学的に活性な表面官能基からなり、通常、特異的三次元構造特徴ならびに特異的電荷特徴を有する。抗体は、解離定数が 1 μ M; 例えば、100 nM、好ましくは 10 nMおよび最も好ましくは 1 nMである場合に抗原に特異的に結合するといわれる。

【0229】

本明細書において用いられる場合、「免疫学的に結合する」および「免疫学的結合特性」という用語は、免疫グロブリン分子と、免疫グロブリン分子がそれに対して特異的であ

10

20

30

40

50

る抗原との間に起こるタイプの非共有的相互作用をいう。免疫学的結合相互作用の強度または親和性は、相互作用の解離定数(K_d)に関して表記することができ、 K_d がより小さければ、親和性がより大きいことを表す。選択されたポリペプチドの免疫学的結合特性は、当技術分野において周知の方法を用いて定量することができる。そのような1つの方法は、抗原結合部位/抗原複合体の形成および解離速度を測定する段階を伴い、それらの速度は複合体パートナーの濃度、相互作用の親和性、および両方向の速度に等しく影響を及ぼす幾何学的パラメータに依存する。このように、濃度ならびに実際の結合速度および解離速度を計算することによって、「会合速度定数」(K_{on})および「解離速度定数」(K_{off})の両方を決定することができる(Nature 361: 186-87 (1993)を参照されたい)。 K_{off}/K_{on} の比率は、親和性に関連しない全てのパラメータの削除を可能にして、解離定数 K_d に等しい(概要は、Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473を参照されたい)。本開示の抗体は、放射リガンド結合アッセイ法または当業者に公知の類似のアッセイ法などのアッセイ法によって測定した場合に、平衡解離定数(K_d または K_D)が 1 μ M、好ましくは 100 nM、より好ましくは 10 nM、および最も好ましくは 100 pMから約 1 pMであれば、NaPi2bに特異的に結合するといわれる。

【0230】

本明細書において用いられる「単離ポリヌクレオチド」という用語は、ゲノム、cDNA、もしくは合成起源のポリヌクレオチド、またはそのいくつかの組み合わせを意味し、その起源のゆえに、「単離ポリヌクレオチド」は、(1)「単離ポリヌクレオチド」が天然において見出されるポリヌクレオチドの全てまたは一部に会合していない、(2)天然において結合していないポリヌクレオチドに機能的に結合している、または(3)より大きい配列の一部として天然において存在しない。

【0231】

本明細書においていわれる「単離タンパク質」という用語は、cDNA、組み換え型RNA、もしくは合成起源のタンパク質、またはそのいくつかの組み合わせを意味し、その起源または由来のゆえに、「単離タンパク質」は、(1)天然において見出されるタンパク質に会合していない、(2)同じ起源の他のタンパク質を含まない、(3)異なる種からの細胞によって発現される、または(4)天然において存在しない。

【0232】

「ポリペプチド」という用語は、ポリペプチド配列の本来のタンパク質、断片、または類似体をいう総称として本明細書において用いられる。ゆえに、本来のタンパク質、断片、および類似体は、ポリペプチド属の種である。

【0233】

本明細書において物体に適用される場合に用いられる「天然に存在する」という用語は、物体を天然において見出すことができるという事実をいう。例えば、天然の起源から単離することができる生物(ウイルスを含む)に存在し、研究室において人為的にまたはそれ以外の方法で意図的に改変されていないポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列は、天然に存在する。

【0234】

本明細書において用いられる「機能的に連結した」という用語は、そのように記述された成分の位置がその意図される様式でそれらを機能させる関係にあることをいう。コード配列に「機能的に連結された」制御配列は、制御配列に適合する条件下でコード配列の発現が達成されるようにライゲーションされる。

【0235】

本明細書において用いられる「制御配列」という用語は、それらがライゲーションされるコード配列の発現およびプロセッシングを行うために必要であるポリヌクレオチド配列をいう。そのような制御配列の性質は、原核細胞中の宿主生物に応じて異なり、そのような制御配列は一般的に、真核細胞においてプロモーター、リボソーム結合部位、および転写終止配列を含み、一般的に、そのような制御配列はプロモーターおよび転写終止配列を含む。「制御配列」という用語は、少なくとも、その存在が発現およびプロセッシングに

10

20

30

40

50

として必須である全ての成分を含むことを意図し、同様にその存在が有利である追加の成分、例えばリーダー配列、および融合パートナー配列を含むことができる。本明細書においていわれる「ポリヌクレオチド」という用語は、長さが少なくとも10塩基のリボヌクレオチドもしくはデオキシリボヌクレオチドのいずれかであるヌクレオチドの重合体ホウ素、またはいずれかのタイプのヌクレオチドの修飾型を意味する。この用語は、DNAの一本鎖および二本鎖型を含む。

【0236】

本明細書においていわれる「オリゴヌクレオチド」という用語は、天然に存在するヌクレオチド、ならびに天然に存在するおよび天然に存在しないオリゴヌクレオチド結合によってともに連結された修飾ヌクレオチドを含む。オリゴヌクレオチドは、一般的に200塩基またはそれ以下の長さを含むポリヌクレオチドサブセットである。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、長さが10～60塩基であり、最も好ましくは長さが12、13、14、15、16、17、18、19、または20～40塩基である。オリゴヌクレオチドは通常、例えばプローブの場合一本鎖であるが、例えば遺伝子変異体の構築に用いる場合には、オリゴヌクレオチドは二本鎖であってもよい。本明細書において開示されるオリゴヌクレオチドは、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドのいずれかである。

【0237】

以下の用語は、2つまたはそれ以上のポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列の配列関係を記述するために用いられる:「参照配列」、「比較ウィンドウ」、「配列同一性」、「配列同一性の百分率」、および「実質的な同一性」。「参照配列」は、配列比較のための基礎として用いられる定義された配列であり、参照配列は、より大きい配列のサブセットであってもよく、例えば配列表に与えられる完全長のcDNAもしくは遺伝子配列のセグメントであってもよく、または完全なcDNAもしくは遺伝子配列を含んでもよい。一般的に、参照配列は、長さが少なくともヌクレオチド18個またはアミノ酸6個、しばしば長さが少なくともヌクレオチド24個またはアミノ酸8個、およびしばしば長さが少なくともヌクレオチド48個またはアミノ酸16個である。2つのポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列は各々、(1) 2つの分子の間で類似である配列(すなわち完全なポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列の一部)を含みうる、および(2) 2つのポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列の間で異なる配列をさらに含みうることから、2つの(またはそれ以上の)分子の間の配列比較は典型的に、2つの分子の配列を「比較ウィンドウ」に対して比較して、配列類似性の局所領域を同定および比較することによって行われる。本明細書において用いられる「比較ウィンドウ」は、少なくとも連続ヌクレオチド位置18個またはアミノ酸6個の概念的セグメントをいい、ポリヌクレオチド配列またはアミノ酸配列は、少なくとも連続ヌクレオチド18個またはアミノ酸6個の配列の参照配列と比較され、比較ウィンドウにおけるポリヌクレオチド配列の部分は、2つの配列の最適なアラインメントのために参照配列(付加または欠失を含まない)と比較して20%またはそれ以下の付加、欠失、置換、およびその他(すなわち、ギャップ)を含みうる。比較ウィンドウを整列させるための配列の最適なアラインメントは、Smith and Waterman Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)のローカルホモロジーアルゴリズム、Needleman and Wunsch J. Mol. Biol. 48:443 (1970)のホモロジーアラインメントアルゴリズム、Pearson and Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 85:2444 (1988)の類似性検索法、これらのアルゴリズムのコンピュータによる実行(Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0 (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.))、Geneworks、またはMacVectorソフトウェアパッケージにおけるGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFASTA)によって、または検分によって行ってもよく、さまざまな方法によって得られた最善のアラインメント(すなわち、比較ウィンドウにおいて最高の相同性百分率が得られる)を選択する。

【0238】

「配列同一性」という用語は、2つのポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列が比較ウィンドウにおいて同一(すなわち、ヌクレオチドごとにまたは残基ごとに)であることを意味する。「配列同一性の百分率」という用語は、2つの最適に整列させた配列を比較ウィン

10

20

30

40

50

ドウにおいて比較する段階、同一の核酸塩基(例えば、A、T、C、G、UまたはI)または残基が両方の配列に存在する位置の数を決定して、マッチした位置の数を得る段階、マッチした位置の数を、比較ウィンドウにおける位置の総数(すなわち、ウィンドウサイズ)で除する段階、および結果に100を乗じて配列同一性の百分率を得る段階によって計算される。本明細書において用いられる「実質的な同一性」という用語は、ポリヌクレオチドまたはアミノ酸配列の特徴を意味し、ポリヌクレオチドまたはアミノ酸は、ヌクレオチド位置少なくとも18個(アミノ酸6個)の比較ウィンドウにおいて、しばしばヌクレオチド位置少なくとも24~48個(アミノ酸8~16個)の比較ウィンドウにおいて、参照配列と比較した場合に、少なくとも85%の配列同一性、好ましくは少なくとも90から95%の配列同一性、より通常には少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含み、配列同一性の百分率は、比較ウィンドウにおいて参照配列の20%またはそれ以下となる欠失または付加を含みうる配列と参照配列とを比較する段階によって計算される。参照配列は、より大きい配列のサブセットでありうる。

10

【0239】

本明細書において用いられる場合、20個の通常アミノ酸およびその省略語は、慣例的用法に従う。Immunology - A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland7 Mass. (1991))を参照されたい。20個の通常アミノ酸の立体異性体(例えば、D-アミノ酸)、 β -二置換アミノ酸などの非天然アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、乳酸、および他の非通常アミノ酸も同様に、本開示のポリペプチドにとって適した成分でありうる。非通常アミノ酸の例としては、4-ヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタメート、 γ -N,N,N-トリメチルリジン、 γ -N-アセチルリジン、O-ホスホセリン、N-アセチルセリン、N-ホルミルメチオニン、3-メチルヒスチジン、5-ヒドロキシリジン、 γ -N-メチルアルギニン、および他の類似のアミノ酸およびイミノ酸(例えば、4-ヒドロキシプロリン)が挙げられる。本明細書において用いられるポリペプチドの表記において、標準的な用法および慣例にしたがって、左手方向はアミノ末端方向であり、右手方向はカルボキシ末端方向である。

20

【0240】

同様に、それ以外であると明記している場合を除き、一本鎖ポリヌクレオチド配列の左手末端は、5'末端であり、二本鎖ポリヌクレオチド配列の左手方向は、5'方向を意味する。新生RNA転写物が5'から3'に付加される方向は、転写方向といわれ、RNAと同じ配列を有し、RNA転写物の5'末端に対して5'であるDNA鎖上の配列領域は「上流配列」といわれ、RNAと同じ配列を有し、RNA転写物の3'末端に対して3'であるDNA鎖上の配列領域は、「下流配列」といわれる。

30

【0241】

ポリペプチドに適用される場合、「実質的な同一性」という用語は、2つのペプチド配列が、GAPまたはBESTFITプログラムなどによって、デフォルトのギャップの重みを用いて最適に整列させた場合に、少なくとも80%の配列同一性、好ましくは少なくとも90%の配列同一性、より好ましくは少なくとも95%の配列同一性、および最も好ましくは少なくとも99%の配列同一性を共有することを意味する。

【0242】

好ましくは、同一でない残基の位置は、保存的アミノ酸置換によって異なる。

40

【0243】

保存的アミノ酸置換は、類似の側鎖を有する残基の相互交換性をいう。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンであり、脂肪族ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリンおよびトレオニンであり、アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群は、アスパラギンおよびグルタミンであり、芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファンであり、塩基性側鎖を有するアミノ酸の群は、リジン、アルギニン、およびヒスチジンであり、ならびに硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の群は、システインおよびメチオニンである。好ましい保存的アミノ酸置換群は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルア

50

ラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸-アスパラギン酸、およびアスパラギン-グルタミンである。

【0244】

本明細書において論じられるように、抗体または免疫グロブリン分子のアミノ酸配列の軽微な変化は、アミノ酸配列の変化が、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも80%、85%、90%、95%および最も好ましくは99%を維持する限り、本開示によって包含されると企図される。特に、保存的アミノ酸交換が企図される。保存的交換は、その側鎖が関連するアミノ酸のファミリー内で起こる交換である。遺伝子コードアミノ酸は一般的に、以下のファミリーに分けられる：(1) 酸性アミノ酸であるアスパラギン酸塩、グルタミン酸塩；(2) 塩基性アミノ酸であるリジン、アルギニン、ヒスチジン；(3) 非極性アミノ酸であるアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン、および(4) 非荷電極性アミノ酸であるグリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシン。親水性アミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸塩、グルタミン、グルタミン酸塩、ヒスチジン、リジン、セリン、およびトレオニンを含む。疎水性アミノ酸は、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン、およびバリンを含む。他のアミノ酸ファミリーは、(i) 脂肪族ヒドロキシファミリーであるセリンおよびトレオニン；(ii) アミド含有ファミリーであるアスパラギンおよびグルタミン；(iii) 脂肪族ファミリーであるアラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシン；ならびに(iv) 芳香族ファミリーであるフェニルアラニン、トリプトファン、およびチロシンを含む。例えば、ロイシンをイソロイシンまたはバリンに、アスパラギン酸塩をグルタミン酸塩に、トレオニンをセリンに単発的に交換しても、またはアミノ酸を、構造的に関連するアミノ酸へと同様に交換しても、特に交換がフレームワーク部位内でのアミノ酸を伴わない場合、得られた分子の結合または特性に対して主要な影響を有しないことは妥当に予想される。アミノ酸の変化によって、機能的ペプチドが得られるか否かは、ポリペプチド誘導体の比活性をアッセイすることによって容易に決定することができる。アッセイ法は、本明細書において詳細に記述される。当業者は、抗体または免疫グロブリン分子の類似体を容易に調製することができる。類似体の好ましいアミノおよびカルボキシ末端は、機能的ドメインの境界付近に存在する。構造および機能的ドメインは、ヌクレオチドおよび/またはアミノ酸配列データを公共または固有の配列データベースと比較することによって同定することができる。好ましくは、コンピュータ比較法を用いて、公知の構造および/または機能の他のタンパク質に存在する配列モチーフまたは予想されるタンパク質コンフォメーションドメインを同定する。公知の三次元構造に折り畳まれるタンパク質配列を同定する方法は公知である。Bowie et al. Science 253: 164 (1991)。このように、前述の例は、当業者が、本開示にしたがって構造および機能的ドメインを定義するために用いられうる配列モチーフおよび構造コンフォメーションを認識できることを実証する。

【0245】

好ましいアミノ酸置換は、(1) タンパク質分解に対する感受性を低減させる、(2) 酸化に対する感受性を低減させる、(3) タンパク質複合体を形成するための結合親和性を変化させる、(4) 結合親和性を変化させる、および(4) そのような類似体の他の物理化学的または機能的特性を付与または改変する置換である。類似体は、天然に存在するペプチド配列以外の配列のさまざまなムテインを含むことができる。例えば、1つまたは複数のアミノ酸置換(好ましくは、保存的アミノ酸置換)を、天然に存在する配列(好ましくは分子間接触を形成するドメイン外のポリペプチドの部分において)に行ってもよい。保存的アミノ酸置換は、親配列の構造的特徴を実質的に変化させてはならない(例えば、交換アミノ酸は、親配列に存在するらせんを切断するまたは親配列を特徴付けする他のタイプの二次構造を崩壊させる傾向があってはならない)。当技術分野において承認されているポリペプチドの二次および三次構造の例は、Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Pr

10

20

30

40

50

rotein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); and Thornton et al. Nature 354: 105 (1991)において記述される。

【0246】

「作用物質」という用語は、本明細書において化学化合物、化学化合物の混合物、生物学的高分子、または生物材料から作製された抽出物を意味するために用いられる。

【0247】

本明細書において用いられる場合、「標識」または「標識された」という用語は、例えば、印をつけたアビジン(例えば、光学または熱量測定法によって検出することができる蛍光マーカーまたは酵素活性を含むストレプトアビジン)によって検出することができる、ビオチニル部分のポリペプチドに、放射標識アミノ酸または連結部分を組み入れることによって、検出可能なマーカーを組み入れることをいう。ある状況において、標識またはマーカーはまた、治療的でありうる。ポリペプチドおよび糖タンパク質を標識するさまざまな方法が当技術分野において公知であり、用いられる。ポリペプチドの標識の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されることはない: 放射性同位元素または放射性核種(例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、蛍光標識(例えば、FITC、ローダミン、ランタニド蛍光体)、酵素標識(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、p-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ)、化学発光物質、ビオチニル基、二次レポーターによって認識される既定のポリペプチドエピトープ(例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ)。いくつかの態様において、標識は、可能性のある立体障害を低減させるために、さまざまな長さのスペーサーアームによって結合される。本明細書において用いられる「薬剤または薬物」という用語は、患者に適切に投与した場合に、所望の治療効果を誘導することができる化学化合物または組成物をいう。

【0248】

本明細書における他の化学用語は、The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985))によって例証されるように、当技術分野における慣例的用法にしたがって用いられる。

【0249】

本明細書において用いられる場合、「実質的に純粋な」とは、目的種が、存在する優勢な種である(すなわち、モルに基づいて、組成物中の他の任意の個々の種より豊富に存在すること)を意味し、好ましくは、実質的に精製された分画は、目的種が、存在する全ての高分子種の少なくとも約50% (モルに基づいて)を構成する組成物である。

【0250】

一般的に、実質的に純粋な組成物は、組成物に存在する全ての高分子種の約80%超、より好ましくは約85%、90%、95%、および99%超を構成するであろう。最も好ましくは、目的種は、本質的に均一になる(通常の検出法によって組成物中に混入物質種を検出することができない)まで精製され、ここで組成物は本質的に1つの高分子種からなる。

【0251】

以下の記述および特許請求の範囲の両方における冠詞「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」の使用は、本明細書において特に示さない限りまたは文脈によって明確に矛盾しない限り、単数および複数の両方を網羅すると解釈されるべきである。「含む(comprising)」、「有する(having)」、「化学式のものである」にあるような「のものである」、「含む(including)」および「含有する(containing)」という用語は、特に断りのない限り、限定されていない用語(open term) (すなわち、「を含むが限定されることはない」を意味する)と解釈されるべきである。例えば、特定の式の重合体足場は、式中に示されている全ての単量体単位を含み、また式中に示されていないさらなる単量体単位を含んでもよい。さらに「含む(comprising)」または別の制約のない(open-ended)用語が態様において用いられる場合には常に、同じ態様を、「から本質的になる」という中間的な用語または「からなる」という閉じた(closed)用語を用いて、より狭義に主張できることが理解されるべきである。

10

20

30

40

50

【0252】

「約(about)」、「およそ(approximately)」または「大体(approximate)」という用語は、数値に関して用いられる場合、値の集合または範囲が含まれることを意味する。例えば、「約X」は、Xが数値である場合、Xの $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 1\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 、 $\pm 0.2\%$ 、または $\pm 0.1\%$ である値の範囲を含む。1つの態様において、「約」という用語は、所定値の前後5%である値の範囲をいう。別の態様において、「約」という用語は、所定値の前後2%である値の範囲をいう。別の態様において、「約」という用語は、所定値の前後1%である値の範囲をいう。

【0253】

値の範囲についての言及は、本明細書において別段の指示がない限り、範囲内にある各個別の値を個別に参照する簡単な方法として役立つことのみを意図しており、各個別の値は、本明細書において個別に記載されているかのように明細書の中に組み入れられる。本明細書において用いられる範囲は、特別の定めのない限り、その範囲の2つの端を含む。例えば、「xは1～6の整数である(x being an integer between 1 and 6)」および「xは1～6の整数である(x being an integer of 1 to 6)」という表現は、両方とも「xは1、2、3、4、5または6である」ことを意味し、すなわち「X～Y」および「XからYの範囲」という用語は、XおよびY、およびその間の整数を含む。

【0254】

「薬物」：本明細書において用いられる場合、「薬物」という用語は、生物学的に活性であり、それを必要としている対象への投与後に所望の生理学的効果を提供する化合物(例えば、活性薬剤成分)をいう。

【0255】

「抗血管新生剤」または「血管新生阻害剤」は、血管新生、脈管形成、または望ましくない血管透過性を直接的または間接的に阻害する、低分子量の物質、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、単離タンパク質、組み換えタンパク質、抗体、またはそのコンジュゲートもしくは融合タンパク質をいう。血管新生阻害剤は、血管新生因子またはその受容体に結合し、血管新生因子またはその受容体の血管新生活性をブロックする作用物質を含む。例えば、抗血管新生剤は、VEGF-Aに対する抗体またはVEGF-A受容体(例えば、KDR受容体もしくはFlt-1受容体)に対する抗体、VEGF-trap、Gleevec(商標)(イマチニブメシル酸塩)などの抗PDGFR阻害剤を含むが、これらに限定されない、血管新生作用物質に対する抗体または他のアンタゴニストである。抗血管新生剤はまた、天然の血管新生阻害剤、例えば、アンジオスタチン、エンドスタチンなどを含む。

【0256】

「細胞傷害性」：本明細書において用いられる場合、「細胞傷害性」という用語は、細胞または選択された細胞集団(例えば、がん細胞)に対する毒性を意味する。毒性効果は、細胞死および/または細胞溶解をもたらす。特定の例において、毒性効果は、例えば細胞増殖を減速するまたは停止する、細胞に対する亜致死的な破壊効果でありうる。細胞傷害効果を達成するために、薬物またはプロドラッグは、とりわけ、DNA損傷剤、微小管破壊剤、または細胞毒性タンパク質もしくはポリペプチドからなる群より選択されうる。

【0257】

「細胞増殖抑制剤」：本明細書において用いられる場合、「細胞増殖抑制剤」という用語は、細胞成長および/または増殖を阻害または停止する薬物または他の化合物をいう。

【0258】

「小分子」：本明細書において用いられる場合、「小分子」という用語は、天然に存在するか、または(例えば、化学合成により)人工的に作出されたかにかかわらず、比較的低い分子量を有する分子をいう。好ましい小分子は、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトにおいて局所的または全身的効果を生じるという点で生物学的に活性である。特定の好ましい態様において、小分子は薬物であり、小分子は「薬物分子」または「薬物」または「治療剤」といわれる。特定の態様において、薬物分子は、約5 kDa以下のMWを有する。他の態様において、薬物分子は、約1.5 kDa以下のMWを有する。態様におい

10

20

30

40

50

て、薬物分子は、ピンカアルカロイド、オーリスタチン、デュオカルマイシン、チューブリン、非天然カンプトテシン化合物、トポイソメラーゼ阻害剤、DNA結合薬、キナーゼ阻害剤、MEK阻害剤、KSP阻害剤、カリケアマイシン、SN38、ピロロベンゾジアゼピン、およびそれらの類似体から選択される。必ずというわけではないが、好ましくは、薬物は、適切な政府機関または行政体、例えば、FDAによって使用のために安全かつ効果的であると既に見なされているものである。例えば、参照により本明細書に組み入れられる、21 C.F.R. § § 330.5, 331~361、および440~460の下でFDAが挙げたヒトに使用するための薬物; 21 C.F.R. § § 500~589の下でFDAが挙げた動物に使用するための薬物)は全て、本発明の親水性重合体とともに用いるのに適していると考えられる。

【0259】

本明細書において用いられる「薬物誘導体」または「修飾薬物」などは、本明細書において開示されるコンジュゲートによって送達されることが意図される薬物分子と、薬物分子を重合体担体に結合できる官能基とを含む、化合物をいう。

【0260】

本明細書において用いられる「活性型」は、インビボまたはインビトロで意図された薬効を示す化合物の形態をいう。特に、本明細書において開示されるコンジュゲートにより送達されることが意図される薬物分子がコンジュゲートから放出される場合、活性形態は、意図される治療特性を示す薬物自体またはその誘導体でありうる。コンジュゲートからの薬物の放出は、薬物を重合体担体に結合させるリンカーの生分解性結合の切断によって達成することができる。したがって、活性薬物誘導体はリンカーの一部を含むことができる。

【0261】

「PHF」はポリ(1-ヒドロキシメチルエチレンヒドロキシメチル-ホルマール)をいう。

【0262】

本明細書において用いられる場合、「重合体単位」、「単量体単位(monomeric unit)」、「単量体」、「単量体単位(monomer unit)」、「単位」という用語は全て、重合体中の反復可能な構造単位をいう。

【0263】

本明細書において用いられる場合、重合体または重合体担体/足場または重合体コンジュゲートの「分子量」または「MW」は、特別の定めのない限り、未修飾重合体の重量平均分子量をいう。

【0264】

本明細書において用いられる場合、「処置すること」または「処置する」は、疾患、状態もしくは障害と闘う目的での患者の管理およびケアを記述し、疾患、状態もしくは障害の症状もしくは合併症を緩和するための、または疾患、状態もしくは障害を取り除くための、本開示のコンジュゲートまたはその薬学的組成物の投与を含む。

【0265】

本明細書において用いられる場合、「予防(prevention)」または「予防(prophylaxis)」は、疾患もしくは状態を発症するリスクの低減、または疾患、状態もしくは障害の症状もしくは合併症の発症の低減もしくは排除をいう。

【0266】

「有効量」または「十分な量」という用語は、それが活性作用物質に言及する場合、所望の生物学的応答を誘発するのに必要な量をいう。本明細書において用いられる場合、「治療的に有効な量」または「治療的に有効な用量」は、検出可能な治療効果を生み出すのに少なくとも十分である化合物を含有する作用物質、化合物、材料、または組成物の量(amount)または量(quantity)をいう。効果は、当技術分野において公知の任意のアッセイ法によって検出することができる。対象にとっての正確な有効量は、対象の体重、サイズ、および健康状態; 状態の性質および程度; ならびに投与のために選択された治療薬に依るであろう。

【0267】

10

20

30

40

50

例えば、「対象」は、例えば、任意の哺乳動物、ヒト、霊長類、鳥、マウス、ラット、家禽、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヤギ、ラクダ、ヒツジまたはブタを含めて、任意の発達段階の、非ヒト動物ならびにヒトを含む。好ましくは、非ヒト動物は哺乳動物(例えば、げっ歯類、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、霊長類、またはブタ)である。動物はトランスジェニック動物またはヒトクローンでありうる。好ましくは、哺乳動物はヒトである。「対象」という用語は動物を包含する。

【0268】

本明細書において用いられる場合、「キット」は、本明細書における組成物と、再構成、活性化ならびに送達、投与、診断および生物学的活性または特性の評価のための器具/装置を含むがこれらに限定されない、目的のための別のアイテムとの組み合わせなどの、構成要素の組み合わせをいう。キットは任意で使用説明書を含んでもよい。

10

【0269】

本明細書において用いられる場合、「接触させる」とは、腫瘍サンプルまたは標本を抗NaPi2b抗体と反応させ、曝露させ、インキュベートすることをいう。

【0270】

本明細書において用いられる場合、処置からの「患者応答」または「応答」または「恩恵」は、非限定的に、(1) 減速および完全な停止を含む、疾患進行を含むがこれに限定されない疾患進行のある程度までの阻害、(2) 疾患エピソードおよび/または症状の数の低減、(3) 腫瘍サイズの低減、(4) 疾患の広がり阻害(すなわち低減、減速または完全な停止)、(5) 疾患に関連する1つまたは複数の症状のある程度までの緩和、(6) 処置後の所定の時点での死亡率の低下を含む、患者に対しての恩恵を示す任意のエンドポイントを用いて評価することができる。

20

【0271】

本明細書において用いられる場合、「組織サンプル」は、対象または個体の組織から得られた類似の細胞の集合を意味する。組織の供給源は、新鮮な、凍結されたおよび/または保存された臓器、組織サンプル、生検、および/または吸引物からなどの固形組織; 血液または血漿などの血液成分; 脳脊髄液、羊水、腹水、または間質液などの体液; 対象の妊娠中または発達中の任意の時点の細胞でありうる。組織サンプルは初代もしくは培養細胞または細胞株であってもよい。任意で、組織サンプルは疾患組織/臓器から得られてもよい。例えば、「腫瘍サンプル」は、腫瘍または他のがん性組織から得られた組織サンプルである。組織サンプルは、複数の細胞型(例えば、腫瘍細胞および非腫瘍細胞、がん性細胞および非がん性細胞)の混合集団を含有しうる。組織サンプルは、保存料、抗凝固剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質などの、自然界で組織と自然には混合されない化合物を含有しうる。

30

【0272】

本明細書において用いられる「予測」または「予測する」という用語は、患者が薬物(治療剤)もしくは薬物セットまたは治療計画に有利または不利に応答する可能性をいう。1つの態様において、予測はこうした応答の程度に関する。1つの態様において、予測は、処置、例えば特定の治療剤による治療、もしくは疾患の再発なしの一定期間の後の、患者の生存もしくは改善の有無、および/またはその確率に関する。本発明の予測方法を臨床的に用いて、任意の特定の患者に最も適切な処置法を選択することにより処置決定を行うことができる。本発明の予測方法は、患者が、例えば、所定の治療剤もしくは組み合わせの投与、外科的介入、ステロイド処置などを含む、所定の治療計画などの、処置計画に有利に応答する可能性が高いかどうか、または治療計画後の患者の長期生存の可能性が高いかどうかの予測において貴重なツールである。

40

【0273】

「臨床パラメータ」は、対象の健康状態または他の特徴、例えば、非限定的に、年齢(Age)、民族(RACE)、性別(Sex)、または家族歴(FamHX)の全ての非サンプルまたは非NaPi2b状態を包含する。

【0274】

50

「FN」は偽陰性であり、この場合には、疾患状態の試験が、疾患対象を、非疾患、処置に
10 応答しない、または正常と誤って分類することを意味する。

【0275】

「FP」は偽陽性であり、この場合には、疾患状態の試験が、正常対象を、疾患を有する、
または処置に応答すると誤って分類することを意味する。

【0276】

「式」、「アルゴリズム」または「モデル」は、1つまたは複数の連続またはカテゴリ
入力(本明細書において「パラメータ」と呼ばれる)を利用し、「指数」または「指数値」
といわれることもある出力値を計算する、任意の数学方程式、アルゴリズム、分析もしくは
10 プログラムプロセス、または統計手法である。「式」の非限定的な例としては、合計、
比率、および回帰演算子、例えば係数または指数、バイオマーカー値の変換および正規化(
非限定的に、性別、年齢、または民族などの、臨床パラメータに基づく正規化スキームを
含む)が挙げられる。結果としてもたらされる予測モデルは、他の研究において検証される
か、またはBootstrap、Leave-One-Out (LOO)および10倍相互検証(10-Fold cross-validation;
10-Fold CV)などの手法を用い、最初に訓練された研究において相互検証され
うる。さまざまな段階で、当技術分野において公知の技法にしたがう値の並べ替えにより
偽発見率が推定されうる。

【0277】

「医療経済学的効用関数」は、診断的または治療的介入を標準治療に導入する前後での、
理想化された適応可能患者集団における臨床転帰の範囲の予想確率の組み合わせに由来
20 する式である。これは、そのような介入の精度、有効性、および成績特徴の推定値、なら
びに各々の転帰に関連する費用および/または価値の測定(効用)を包含し、これらは、各転
帰をもたらす実際の医療制度の治療費用(サービス、供給品、装置、および薬物など)から、
および/または質調整生存年(QALY)あたりの推定許容値として、導き出すことができる。
各々の転帰の予測有用性を乗じた、ある転帰についての予測集団サイズの積の、全ての
予測転帰に及ぶ合計が、所与の標準治療の総医療経済学的効用である。(i) 介入を行った標
準治療に関して計算した総医療経済学的効用と(ii) 介入を行わない標準治療に関する総医
療経済学的効用との差によって、介入の医療経済学費用または価値の全測定が得られる。
これをそれ自身、分析される全患者群で(または単に介入群によって)除して、単位介入あ
30 たりりの費用を得てもよく、かつ、医療制度が受け入れられる市場での位置づけ、価格、お
よび仮定などの決定を誘導してもよい。そのような医療経済学的効用関数は通常、介入の
費用効果を比較するために用いられるが、また、医療制度が進んで支払うQALYあたりの
許容値、または新しい介入を必要とする許容される費用効果の高い臨床成績特徴を推定す
るためにも変換されうる。

【0278】

本発明の診断的(または予後的)介入に関して、各々の転帰(疾患分類診断試験においてTP、
FP、TN、またはFNでありうる)は異なる費用を有することから、医療経済学的効用関数
は、臨床状況および個々の転帰の費用および価値に基づいて、特異性よりも感度、または
NPVよりもPPVが優先的に有利である可能性があり、したがって、より直接的な臨床的ま
たは分析的成績測定とは異なりうる医療経済学的成績および価値のもう1つの測定を提供
40 する。これらの異なる測定および相対的妥協点は、一般的に、全ての成績測定にとって程
度は異なるものの不完全な試験より好都合である完全な試験の場合に限って、誤差率ゼロ
で(ゼロ予測対象転帰誤分類またはFPおよびFNとしても知られる)収束するであろう。

【0279】

「測定する」もしくは「測定」、または「検出する」もしくは「検出」とは、物質の定
性的または定量的濃度レベルの導出を含む、臨床サンプルまたは対象由来のサンプル中の
所与の物質の有無、量(quantitiy)、または量(amount) (有効量でありうる)を評価するこ
と、またはそうでなければ対象における非分析物臨床パラメータの値もしくは分類を評価
することを意味する。

【0280】

10

20

30

40

50

「負の予測値」または「NPV」は、 $TN/(TN+FN)$ 、または全ての負の試験結果のうちの真の負の画分によって計算される。これはまた、疾患の有病率および試験されることが意図される集団の試験前確率によって固有に影響を受ける。例えば、試験（例えば臨床診断試験）の特異性、感度、ならびに正および負の予測値について考察している O'Marcaigh AS, Jacobson RM, "Estimating The Predictive Value Of A Diagnostic Test, How To Prevent Misleading Or Confusing Results," Clin. Ped. 1993, 32(8): 485-491 を参照されたい。しばしば、連続的な診断試験測定を用いるバイナリ疾患状態分類アプローチに関して、感度および特異性は、Pepe et al, "Limitations of the Odds Ratio in Gauging the Performance of a Diagnostic, Prognostic, or Screening Marker," Am. J. Epidemiol 2004, 159 (9): 882-890 に従う受信者操作特性（ROC）曲線によって要約され、および単に1つの値を有する試験（またはアッセイ）カットポイントの全範囲にわたる、ある試験、アッセイ、もしくは方法の感度および特異性の表示を可能にする指標である曲線下面積（AUC）またはc-統計量によって要約される。Shultz, "Clinical Interpretation Of Laboratory Procedures," chapter 14 in Teitz, Fundamentals of Clinical Chemistry, Burtis and Ashwood (eds.), 4th edition 1996, W.B. Saunders Company, pages 192-199; and Zweig et al., "ROC Curve Analysis: An Example Showing The Relationships Among Serum Lipid And Apolipoprotein Concentrations In Identifying Subjects With Coronary Artery Disease," Clin. Chem., 1992, 38(8): 1425-1428 もまた参照されたい。尤度関数、オッズ比、情報理論、予測値、較正（適合度を含む）、および再分類測定を用いる代替アプローチは、Cook, "Use and Misuse of the Receiver Operating Characteristic Curve in Risk Prediction," Circulation 2007, 115: 928-935 より要約される。最後に、1つの試験によって定義された対象コホート内のハザード比ならびに絶対的および相対的リスク比は、臨床精度および有用性のさらなる測定法である。参照限界、識別限界、およびリスク閾値を含む、異常値または疾患値を定義するために多数の方法がしばしば用いられている。

【0281】

「分析精度」は、測定プロセスそのものの再現性および予測可能性を意味し、そのような測定において、ならびに異なる時間、ユーザー、機器、および/または試薬での同じサンプルまたは対照の一致および較正の試験などにおいて、変動係数として要約されうる。新しいバイオマーカーを評価するためのこれらおよび他の検討はまた、Vasan, 2006 においても要約されている。

【0282】

「成績」とは、とりわけ臨床および分析精度、使用特徴（例えば、安定性、使いやすさ）、医療経済学上の価値、および試験の成分の相対的費用などの他の分析およびプロセス特徴を含む、診断試験または予後予測試験の全体的な有用性および品質に関連する用語である。これらの要因はいずれも、試験の優れた成績、ひいては有用性の起源でありえ、関連するAUC、結果までの時間、有効期限などの適切な「成績測定値」によって測定されうる。

【0283】

「正の予測値」または「PPV」は、 $TP/(TP+FP)$ によって、または全ての陽性試験結果のうちの真の陽性画分によって計算される。これは疾患の有病率および試験されることが意図される集団の試験前確率によって固有に影響を受ける。

【0284】

「感度」は、 $TP/(TP+FN)$ によって、または対象の真陽性画分によって計算される。

【0285】

「特異性」は、 $TN/(TN+FP)$ によって、または正常対象の真陰性画分によって計算される。

【0286】

「統計学的有意」とは、変化が、偶然のみによって起こる（「偽陽性」でありうる）と予想される場合より大きいことを意味する。統計学的有意性は当技術分野において公知の任

意の方法によって決定することができる。一般的に用いられる有意性の測定はp値を含み、これはデータ点が偶然のみの結果であると仮定して、所与のデータ点と少なくとも同程度に極端である結果を得る確率を表す。結果はしばしば、0.05またはそれ以下のp値で非常に有意であると見なされる。好ましくは、p値は0.04、0.03、0.02、0.01、0.005、0.001またはそれ以下である。

【0287】

「従来の実験室リスク因子」は、対象サンプルから単離または導出され、現在、臨床研究室において評価され、従来の包括的リスク評価アルゴリズムにおいて用いられる、バイオマーカーに対応する。腫瘍再発に対する従来の実験室リスク因子は、例えば、腫瘍浸潤リンパ球の増殖指数を含む。腫瘍再発に対する他の従来の実験室リスク因子が、当業者に公知である。

10

【0288】

本明細書において記述される全ての方法は、本明細書において特に示されない限り、または文脈で明確に矛盾しない限り、任意の適当な順序で実施することができる。本明細書において提供される、任意のおよび全ての実施例、または例示する言い回し(例えば「などの」)の使用は、単に本開示をより良く説明することが意図されており、明示的に別段の主張がない限り、特許請求の範囲に関する限定と解釈されるべきではない。本明細書における言い回しは、主張されていない任意の要素が、主張されているものに不可欠であることを示すと解釈されるべきではない。

【実施例】

20

【0289】

実施例1: MERS67のクローニング、産生、および精製

MERS67は、ヒト化抗NaPi2b抗体、XMT-1535(別名RebMab200 (Lopes dos Santos, 2013))に基づいて設計されたヒト-ウサギキメラ抗体であり、ウサギIgG1定常領域またはウサギIgG1-b4鎖C領域にそれぞれ結合したヒト重鎖および軽鎖可変配列からなる。標的化DNA配列は、ヒト化可変重鎖および軽鎖領域ならびにウサギ定常領域のアミノ酸配列からコドン最適化を用いて設計された。遺伝子合成、発現ベクター構築、プラスミド調製、および一過性発現は、GenScript(登録商標)で実施された。キメラ重鎖および軽鎖のDNA配列を図1に示す。産生のため、ExpiCHO-S細胞を無血清ExpiCHO(商標) Expression Medium (Thermo Fisher Scientific)中で増殖させた。細胞をオービタルシェーカー(VWR Scientific)上、8% CO₂で37℃にてエルレンマイヤーフラスコ(Corning Inc., Acton, MA)中で維持した。トランスフェクションの1日前に、細胞を適切な密度でCorningエルレンマイヤーフラスコ中に播種した。トランスフェクションの日に、DNAとトランスフェクション試薬を最適な比率で混合し、その後、トランスフェクションの準備が整った細胞を有するフラスコに加えた。Mers67の重鎖および軽鎖をコードする組み換えプラスミドをExpiCHO-S細胞培養懸濁液に一過性に同時トランスフェクションした。残りの培養のためトランスフェクション後1日目に、細胞を、5% CO₂を有する32℃のインキュベータに移した。エンハンサーおよびフィード(Thermo Fisher Scientific)を1日目に加え、フィードをトランスフェクション後5日目に加えた。14日目に収集された細胞培養上清を精製に用いた。

30

40

【0290】

細胞培養ブ罗斯を遠心分離し、続いてろ過した。ろ過した上清をプロテインAカラム(GenScript, Cat.No.L00433)に3 mL/分で負荷した。適切な緩衝液での洗浄および溶出の後、溶出された画分をPBSに緩衝液交換した。標的タンパク質をHiLoad Superdex 200 16/600 pgカラム(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)によりさらに精製して、高分子量の凝集体を除去した。精製されたタンパク質を図2および図3A(1段階精製後, Lot U0859BH)ならびに図3B(2段階精製後, Lot U5696BL)に示されるように、分子量、収量および純度測定の標準プロトコルを用いることによってSDS-PAGE、ウエスタンブロットおよびSEC-HPLCにより分析した。サンプル5 μgをSDS-PAGEに負荷し、総タンパク質0.3 μgをウエスタンブロットに負荷した。ウエスタンブロットの一次抗体は、ヤギ抗ウサギI

50

gG-HRP (GenScript, Cat No.A00131)であった。

【0291】

実施例2: MERS67のヒトNaPi2bペプチドへの結合

MERS67の結合を親抗体XMT-1535の結合と比較して評価した。

【0292】

XMT-1535エピトープ(New England Peptide, Gardner, MA)において特定されたアミノ酸を網羅するヒト環化NaPi2bペプチドを作出し、凍結乾燥した。ELISAのために、凍結乾燥したNaPi2bペプチドをDMSOで再構成した。ヒトNaPi2bペプチドを用いて、炭酸ナトリウム緩衝液 pH 9中1 $\mu\text{g/mL}$ で、96ウェルの高結合透明ELISAプレート(Corning, 3369)を1ウェルあたり総容量100 μl までコーティングした。2時間のインキュベーション後、プレートを1ウェルあたり100 μl のTBS-Tween 20で4回洗浄し、TBS-Tween 20中3%のBSA (1ウェルあたり100 μl)で1時間ブロックし、再度洗浄した。被験物質MERS67 (Lot U0859BHおよびLot U5569BL)、XMT-1535、ならびに非結合対照(トラスツズマブ)を1ウェルあたり100 μl で、TBS-Tween 20緩衝液中8点3倍連続希釈を用いて100 nMから0.002 nMの用量濃度範囲でウェルに加えた。プレートを揺り動かしながら1時間インキュベートし、その後、上記のように洗浄した。XMT-1535およびトラスツズマブの場合にはペルオキシダーゼ結合AffiniPureヤギ抗ヒトIgG F(ab')₂断片特異的二次抗体(Jackson ImmunoResearch, 109-035-097)を1ウェルあたり100 μl でTBS-Tween 20緩衝液中5000 \times で使用し、MERS67の場合にはヤギ抗ウサギHRP二次抗体(Abcam, ab6721)を使用した。プレートを再び揺り動かしながら1時間インキュベートした後、上記のように洗浄を行った。TMB基質(Bethyl Lab, E102)を1ウェルあたり50 μl で加え、色が現れるまでインキュベートした後、等量の0.2N H_2SO_4 で反応を停止させた。SpectraMax M5マイクロプレートリーダー(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)により光学密度(O.D.)を450 nmで測定した。各処理のO.D.のグラフを作成し、GraphPad Prismソフトウェア(GraphPad Software Inc., La Jolla, CA)で一部位特異的結合モデルを用いた非線形回帰により、各抗体の K_d を計算した。

【0293】

試験した2つのロット(Lot U0859BHおよびLot U5696BL)において、MERS67はそれぞれ、0.2561 nMおよび0.1045 nMの K_d でヒトNaPi2bに結合した; XMT-1535は0.536 nMの K_d でヒトNaPi2bに結合した。陰性対照抗体は結合を示さなかった。

【0294】

実施例3 MERS67はFFPE免疫組織化学形式でNaPi2bを検出することができる

NaPi2bの細胞表面発現のレベルをフローサイトメトリーにより確認した。1 $\times 10^6$ 個のOVCAR3またはJIMT-1細胞100 μl を5 $\mu\text{g/ml}$ のフィコエリトリン結合RebMAB200とともに氷中で1時間インキュベートした。Quantibrite PE蛍光キャリブレーションキット(BD BioSciences)およびMACS Quant Instrument (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany)を用い、OVCAR3およびJIMT-1それぞれの細胞表面受容体数は標準曲線に対して1.95 $\times 10^5$ および120であると計算された。

【0295】

細胞ペレットおよび異種移植片ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックは、標準的な方法を用いてOVCAR3およびJIMT-1細胞株から調製された。

【0296】

手動の免疫組織化学分析の場合、DAKO Envision+System-HRP (DAB)キット(K4010, Agilent, Santa Clara, CA)を製造元の指示にしたがって用いた。簡潔には、スライドを5 μ で切片化し、56 $^\circ\text{C}$ で15分間バークし、キシレンおよび段階的アルコールによって再水和した。ペルオキシダーゼブロッキングの前に、スライドをpH 6.0溶液(Vector Laboratories, Burlingame, CA)中99 $^\circ\text{C}$ で抗原回復させた。一次抗体のインキュベーション段階の場合、MERS67を最初に、バックグラウンド低減成分(S3022, Agilent, Santa Clara, CA)とともにDAKO希釈液中、ある希釈範囲で用量設定した。「一次なし」の抗体対照をいくつかの実験操作に含めて、非特異的バックグラウンドの方法を評価した。スライドを

10

20

30

40

50

メイヤーのヘマトキシリンで対比染色し、脱水し、光学顕微鏡による検査のためにマウントした。さまざまな用量設定を、WO 2017/160754に開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートに対する既知の応答を有する一連の異種移植片においてインビボで比較し、視覚的光学顕微鏡読み取りにより一連の前臨床異種移植モデルにおいて応答者と非応答者を最良に識別したIHC染色をもたらし用量設定を選択した。対照OVCAR 3およびJIMT1異種移植片染色の結果を図4に示す。自動化されたTechMate 500またはTechMate 1000 (BioTek Solutions/Ventana medical Systems)プラットフォームを用いて免疫組織化学を同様に確立し、ここではさまざまな抗原回復条件および一次抗体用量設定を試験して、より高速大量処理のプロトコルを開発した。対照材料の染色およびADC処理に対する既知の応答を有する前臨床材料の染色に基づいてプロトコルを選択した。簡潔には、確立されたプロトコルの場合、4 μ の切片を切り取り、脱ロウし、キシレンおよび一連のアルコールによって再水和した。BioGenex AR-10回復溶液を用い標準スチーマ中でスライドを抗原回復させた。TechMateプラットフォームでは、プロテイナーゼK (DAKO)を用いてさらに回復を実施した。血清ブロッキング後：一次抗体を室温で30分間適用し、次いで内因性ペルオキシダーゼブロックおよび非ビオチン重合体に基づく検出(ウサギPolink-2 Plus検出システム, GBI)を使用し、最後に簡潔なヘマトキシリン対比染色を行った。

10

【0297】

実施例4: MERS67を用いて、ヒト腫瘍におけるおよびヒト初代異種移植モデルにおける免疫反応性を検出した

20

IHC用に開発された手動の方法を用いて、37例の腫瘍からなるヒト肺腫瘍組織マイクロアレイをMERS67で染色した。組織コアの21/37 (57%)は検出可能な膜免疫反応性を有していた。2つのヒト肺腺がんの免疫組織化学染色を図5に示す。

【0298】

種々の腫瘍型を有するさらなる組織マイクロアレイも評価し、免疫反応性が卵巣がん、および非常に限局的に胆管がん、と認められた。免疫反応性は、唾液腺がんのヒト初代異種移植モデルでも検出することができた。

【0299】

実施例5: NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートの投与に対する腫瘍成長応答

卵巣原発がん異種移植モデルは、漿液性卵巣がんまたは卵管がん由来の一連の腫瘍モデルからのものであり、腫瘍が層別平均体積125 ~ 250 mm³に達したら、WO 2017/160754に開示されているNaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲート3 mg/kgで毎週1回3週間処置された免疫不全マウスにn=3の群で移植した。n=2 ~ 4の群の未処置動物を対照として含めた。計画された試験エンドポイントは、1 cm³の腫瘍体積または45日であった。完全応答の場合、腫瘍の再成長を評価するために、より長い時間経過でマウスを追跡した。図6は、動物ごとに各時点で0日目に対して計算され、各モデルの最良応答の中央値として表された、最良応答の中央値を示す棒グラフである。y軸は最良応答の中央値を示し; x軸はモデル番号を示す。このモデルは、以前に処置を受けた患者と処置を実施しなかった患者との両方から導出された。NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートの抗腫瘍効果が、両方の腫瘍クラスで見られた。バーは、処置未実施(暗色のバー)の腫瘍または処置後(明色のバー)の腫瘍に由来するように色分けされている。-50と-100の間の最良応答の中央値を示す10のモデルのうち、5つは処置未実施の腫瘍に由来し、5つは以前に処置された腫瘍に由来した。

30

40

【0300】

持続的な抗腫瘍成長効果が見られたモデルST206は、長時間の時間経過にわたって継続した。研究の最後(73日目)に応答が不完全な腫瘍で得られた組織を、IHCによってNaPi2b発現について評価したところ、NaPi2b発現を示した。

【0301】

未処置研究動物の腫瘍ブロックを評価して、有効性/染色パターンを決定した。卵巣がんモデルで見られる染色パターンを、ヒト原発腫瘍で見られる染色と比較した。図7

50

はSTART卵巢モデルを示す棒グラフであり、最良応答の中央値により順序付けられ、Hスコアにより色分けされた(全モデル)。色が濃いほど、Hスコアが大きくなる。NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートは、3 mg/kgの用量で週1回3週間投与された場合、10/20 (50%)のモデルでベースラインと比べて少なくとも50%の腫瘍体積の低減を誘発した。処置未実施の腫瘍モデルと処置を受けた腫瘍モデルとの間の退縮率に有意差はなかった(それぞれ5/8、5/12)。70以上のHスコアを有する異種移植片腫瘍のうち10/13 (76%)のモデルは、NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲートによる処置後に腫瘍体積の50%またはそれ以上の低減を達成したのに対し、70未満のHスコアを有していたモデルは0/7 (0%)であった。原発性ヒト卵巢腫瘍に同じIHCアッセイ法を適用すると、12/20 (60%)の試験腫瘍は70以上のHスコアを有していた。NaPi2b標的化重合体抗体-薬物コンジュゲート処置後のNaPi2b IHC Hスコアと腫瘍体積の変化との間には相関が認められた(スピアマンランク係数0.76)。

10

【0302】

自動化されたIHC法を用いて、一連の20例のヒト肺腺がん、20例の卵巢がん、および20例のヒト原発性卵巢がん異種移植モデルを調べ、「Hスコア」法を用いて解釈した。Hスコアには、染色強度(0から3+まで強度を増加させることにより決定される)、および腫瘍細胞膜で検出された細胞陽性率が組み入れられている。Hスコア = (1+の% × 0) + ((1+の%) × 1) + ((2+の%) × 2) + ((3+) × 3)。グラフ化されたHスコア(y軸)と組織型(x軸)が異種移植片の最良応答の中央値により色分けされた図8の散布図に示されているように、Hスコアは、肺、卵巢および異種移植片組織のそれぞれに対して1~220、1~250、および0~290の範囲であった。

20

【0303】

実施例6: 肺がんの分類

肺がんの組織病理学的分類は形態学的特徴に基づいているが、正確な診断のために付随的な免疫組織化学染色を要することがある。非小細胞がんは、扁平上皮がん(SCC)および腺がん(ACA)を含むいくつかのサブタイプに分類することができる。特定の治療剤の使用は、異なる肺がんサブタイプにおいて適応される、または禁忌とされうる(例えば、Am J Surg Pathol., Volume 35, Number 1, January 2011を参照のこと)。現在、腫瘍を分類するために免疫組織化学染色のパネル、例えばサイトケラチン5/6、TTF-1、ナプシンA、p40およびp63が利用されている。MERS67により検出されるNaPi2bタンパク質は、肺ACAの前駆細胞でありうる細胞型(すなわちII型肺胞細胞)を含む正常肺組織における発現を有し、腺がんのマーカーでありうる。それは単一の染色マーカーとして利用されうるか、または現在の免疫組織化学パネルを改善するために使用されうる。

30

【0304】

さらに、公的に入手可能なデータ源からのデータ、IHC形式においてタンパク質レベルで一般的にアッセイされる遺伝子のRNA発現値は、集団に基づく、腺がんおよび扁平上皮がんの特徴的なIHCプロファイルを模倣している。また、個々の腫瘍に基づき大規模な発現データを表示することで、NaPi2bの発現レベルを理解することが腺がんと扁平上皮がんとの分類を精緻化するのに役立つことが示唆される。

【0305】

40

図9は、肺SCCおよびACCにおけるNaPi2b、ナプシンA、CK5およびTTF1の差次的発現を示すがンゲノムアトラス(The Cancer Genome Atlas; TCGA)から抽出されたRNAseqデータを示すボックスプロットである。ナプシンA、CK5、TTF1といったパネルからタンパク質発現を検出する免疫組織化学パネルは、扁平上皮細胞肺がんおよび肺腺がんの分類において用いることができる。NaPi2bの発現の検出は、現在使用されているパネルを補足するために使用することができよう。

【0306】

図10は、TCGAから抽出されたRNAseqデータを示す散布図である。NaPi2bがx軸に示され、ナプシンAがy軸に示されている。サイトケラチン5の発現が色で示されており、最も暗いのが最も高い発現レベルである。扁平上皮がん(円形)として注釈が付けられたほと

50

んどの組織は、実線の楕円形内に含まれている。腺がん(四角形)として注釈が付けられたほとんどの組織は、グラフの右上の象限にある。扁平上皮がん領域と分類された一部の腫瘍も右上の象限に位置し、破線の円で印を付けられており、サイトケラチンの発現が低い。NaPi2bなどのタンパク質マーカーの使用により、破線の円中のものなどの腫瘍の分類が精緻化されうる。

【0307】

図11は、cBioPortal (Cerami et al Cancer Discov May 1 2012 (2) (5) 401-404; Gao et al, Sci Signal, 2013 Apr 2;6(269):pl)から抽出され、臨床の場でSCCおよびACAを区別するためにIHCによっていっそう慣習的に評価されている遺伝子TTF-1、ナブシンA、CK5、p63のRNA発現値と比較されたNaPi2b RNA発現の関係を示すためにグラフ化された肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的データを示す。前半はACA RNAの結果、後半はSCC RNAの結果を示す。NaPi2bがx軸に示され、関心対象の遺伝子がy軸に示されている。NaPi2b RNAの発現とACAのナブシンA遺伝子との間には相関があるように見えるが、他の遺伝子は相関があまりないか、またはないように見える。

10

【0308】

図12は、cBioPortal (Cerami et al., Cancer Discov May 1 2012 (2) (5) 401-404; Gao et al., Sci Signal, 2013 Apr 2;6(269):pl)から抽出され、ACAおよびSCCにおけるSCL34A2、TTF-1、ナブシンA、CK5およびp63遺伝子の発現を示すためにグラフ化された肺SCCおよびACAの2018年5月21日時点のTCGA暫定的データを示す。各プロットにおいて、ACAの結果は左側にある。y軸は、RNAseqによって決定される、RNA発現の測定値である。結果は、全体として、SLC34A2の発現が、扁平上皮がんと比較して腺がんで高いように見えることを示す。

20

【0309】

RNA発現に基づいて行われた区別は、IHCによりクリニックで評価されるタンパク質と多少重複するが、一般的に使用される遺伝子に基づいたRNAに基づく分類は検証されていない。肺がんで最も差次的に発現される遺伝子を見出すための公表された偏りのない試みは、SCC遺伝子対ACA遺伝子のリストでTTF1/TITF1を返しただけであった(Wilkerson et al, Journal of Molecular Diagnostics, 2013 15:4, 485-497)ことから、IHCによる区別に用いられる遺伝子に基づくRNAプロファイリングはACA対SCCを区別するための最良の方法ではないことが示唆された。

30

【0310】

実施例7: NaPi2bタンパク質発現を用いた、SCCからのACAの区別

MERS67の免疫組織化学アッセイ法は、Leica BondRx Instrumentにて確立された。このアッセイ法は、NSCLCおよび小細胞肺がん(SCLC)細胞株アレイ、ならびにNSCLCヒト腫瘍アレイを含む、組織マイクロアレイ(TMA)にて実施された。NSCLCアレイの腫瘍はあらかじめ、形態学的特徴のみに基づいて分類されていた。全てのアレイは、Hスコア法に基づいてスコア化された。

【0311】

原発腫瘍をさらに特徴付けるために、腫瘍TMAを、それぞれACAおよび扁平上皮がん(SCC)のマーカーであるTTF-1およびp40で染色した。この染色の結果を、MERS67染色パターンと比較した。NSCLC細胞株TMAのHスコアは0~260、小細胞肺がん(SCLC) TMAでは0~100の範囲であった。組織マイクロアレイ内では、99例の個別症例が評価可能であった。形態学的分類では、63症例がSCC、23症例がACAであった。H=50の任意のカットポイントを用いると、NaPi2b陽性ACA症例(19/23)対SCC (3/63)の数に統計的に有意な差があった。図13は、これらの腫瘍が形態のみで分類された場合の、SCC対ACAを比較した、MERS67 IHCから得られたHスコアのボックスプロットである。

40

【0312】

図14は、組織像によるACA対SCCの分類とTTF-1/p40 IHCの結果とが一致した標本のみのNSCLCコホートの組織像に基づくNaPi2b染色結果を示す。IHCによって決定されたNaPi2b HスコアがY軸にプロットされ、組織像サブタイプがX軸に特徴付けられている。p

50

40とTTF-1が評価可能であり、形態学的診断と一致した43症例のうち、ACAの7/7症例がNaPi2b陽性で、0/36症例のSCCが陽性であった。

【 0 3 1 3 】

他の態様

本発明をその詳細な説明とともに記述してきたが、前述の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を例示することを意図しており、限定することを意図していない。他の局面、利点、および変更は、添付の特許請求の範囲内である。

10

20

30

40

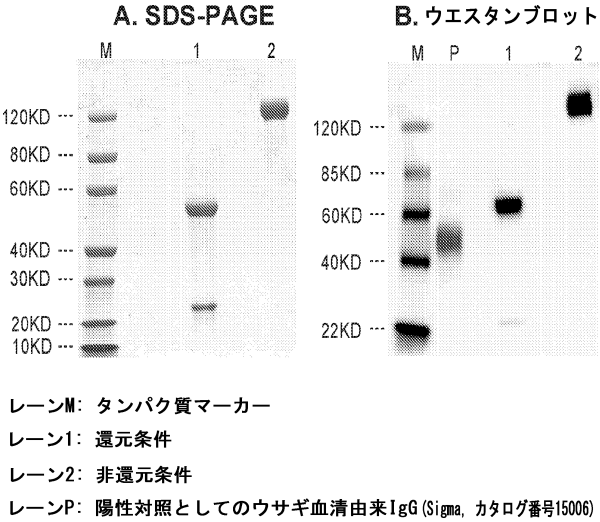
50

【図面】

【図 1】



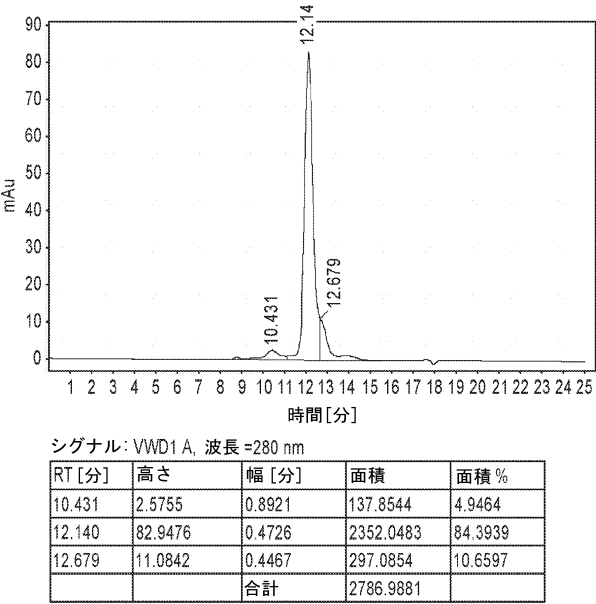
【図 2】



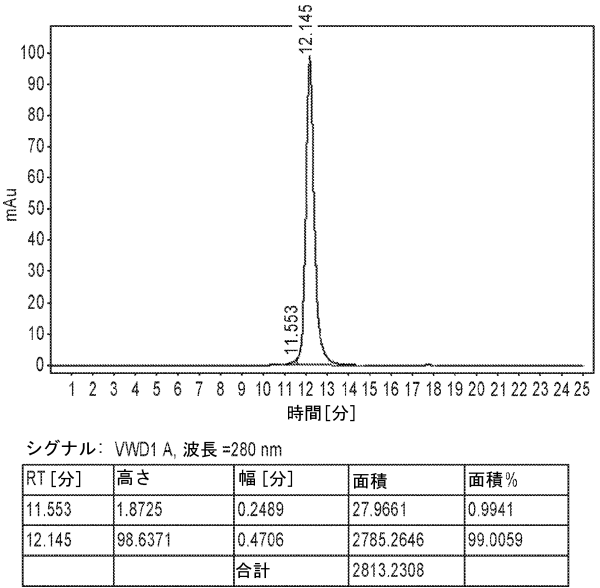
10

20

【図 3 A】



【図 3 B】

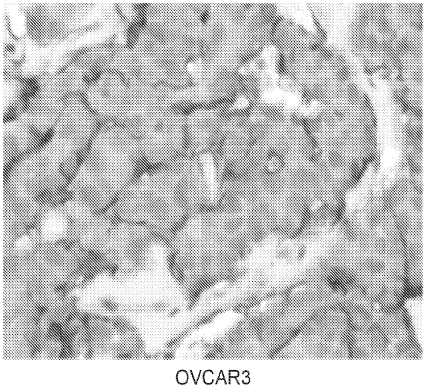


30

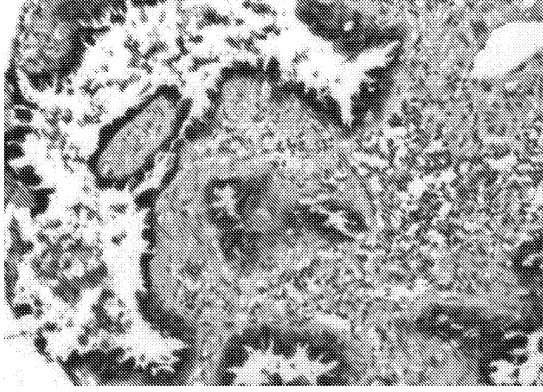
40

50

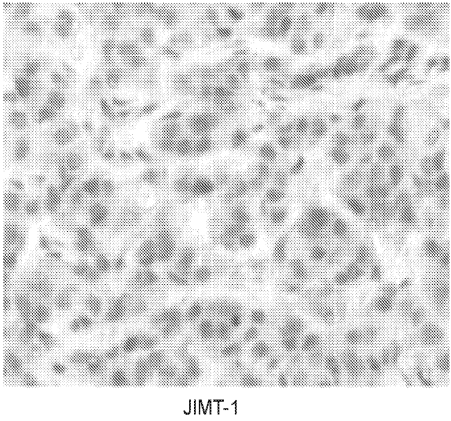
【図 4】



【図 5】

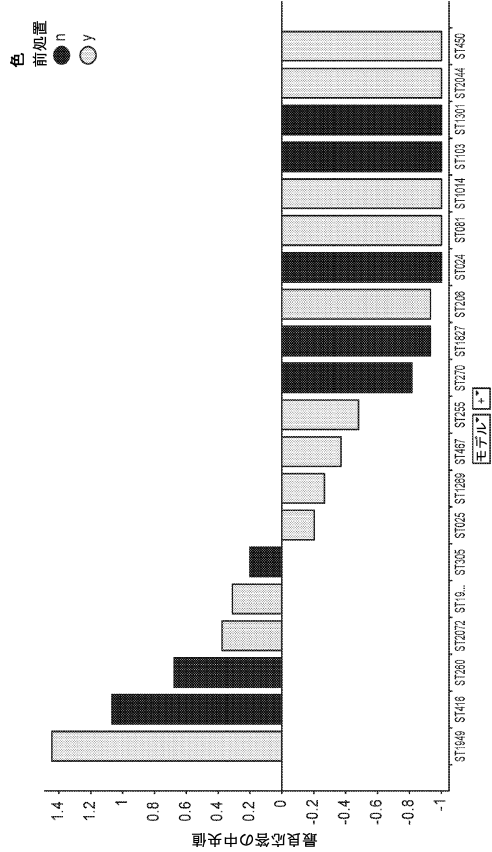


10

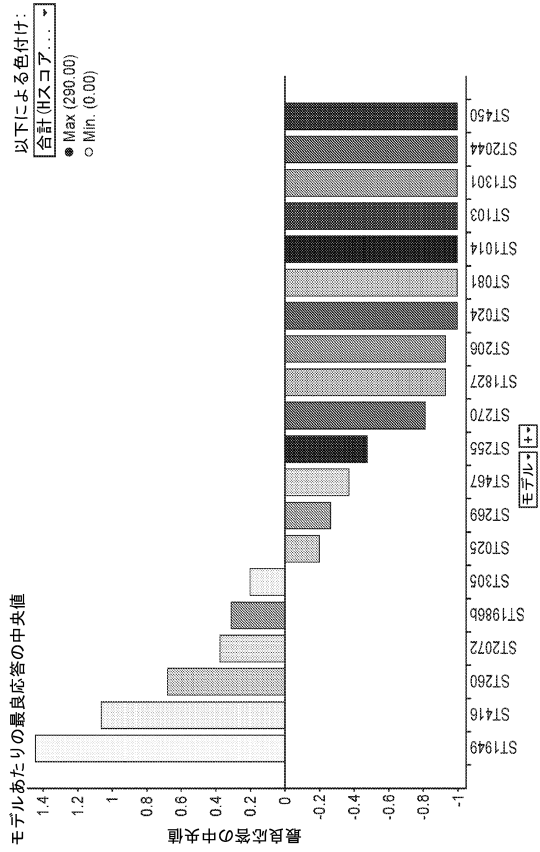


20

【図 6】



【図 7】

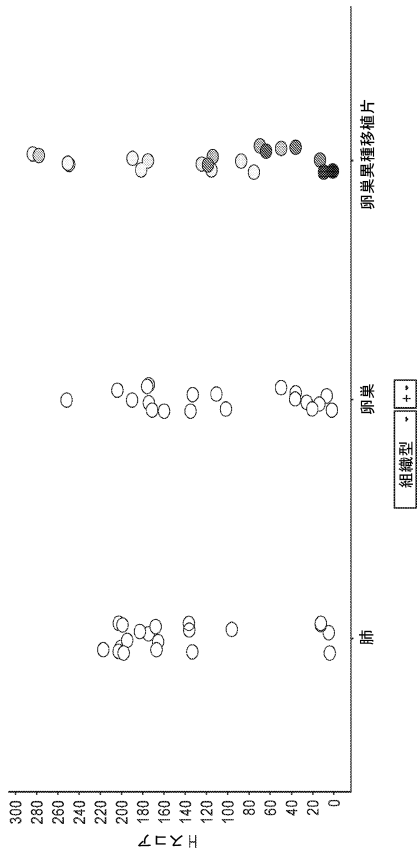


30

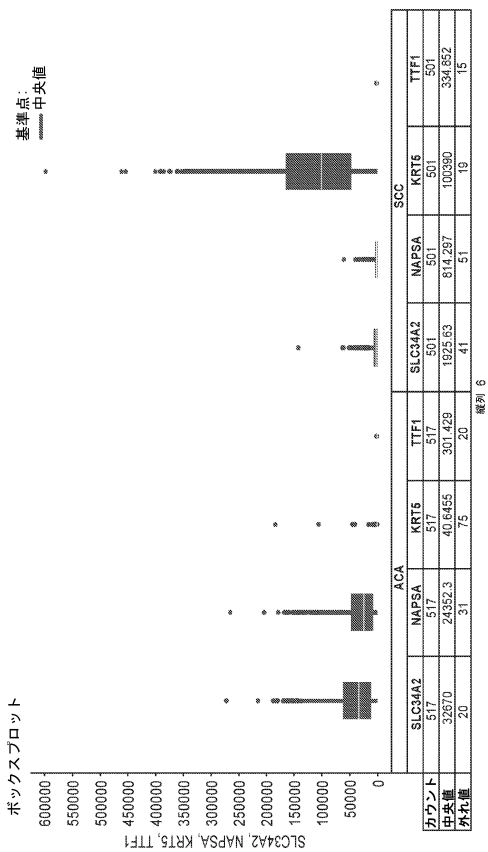
40

50

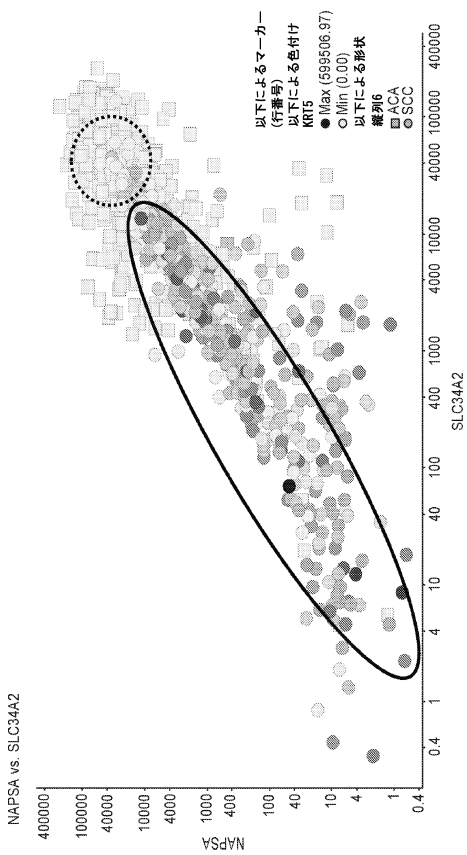
【図 8】



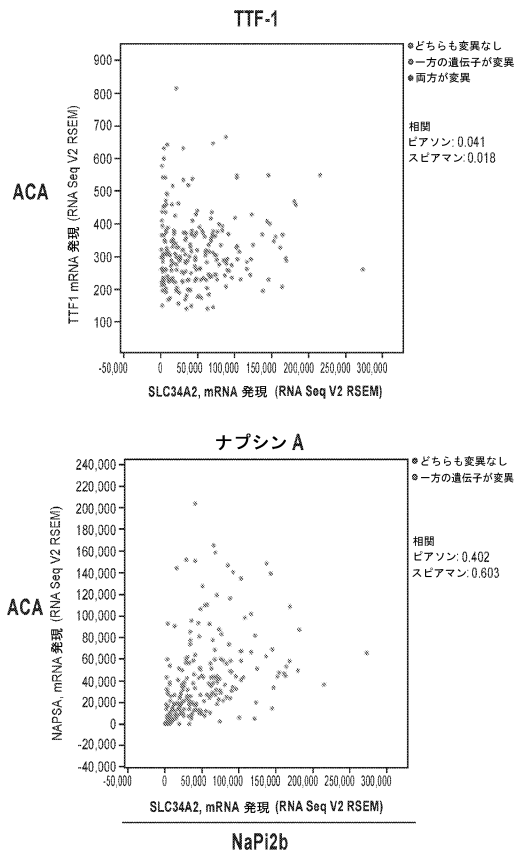
【図 9】



【図 10】



【図 11 - 1】



10

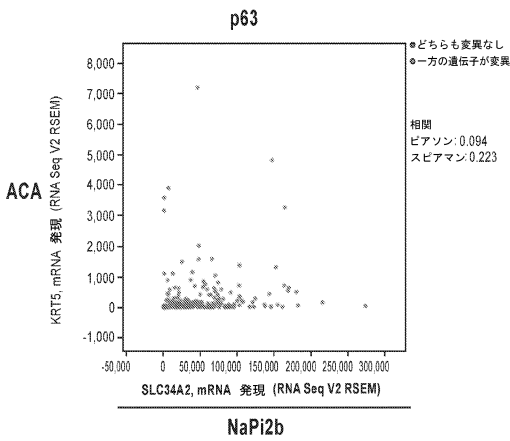
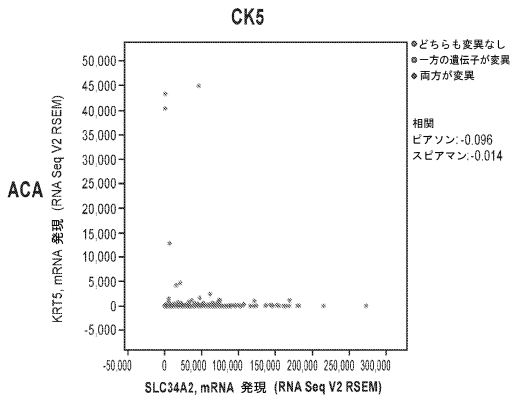
20

30

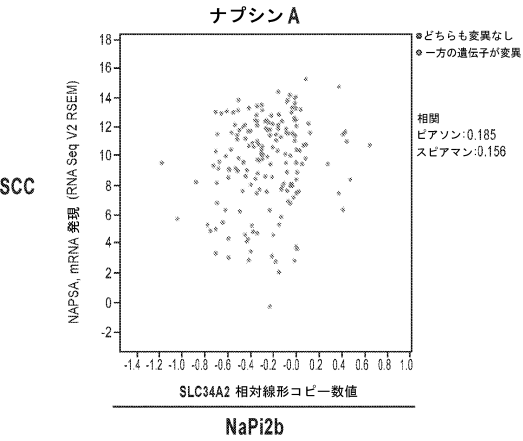
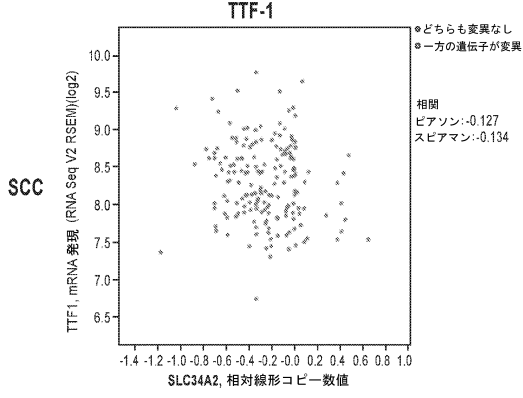
40

50

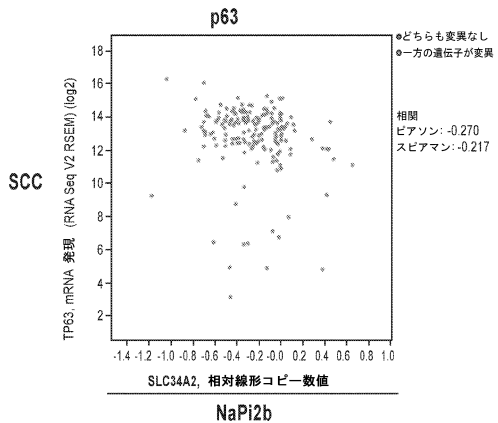
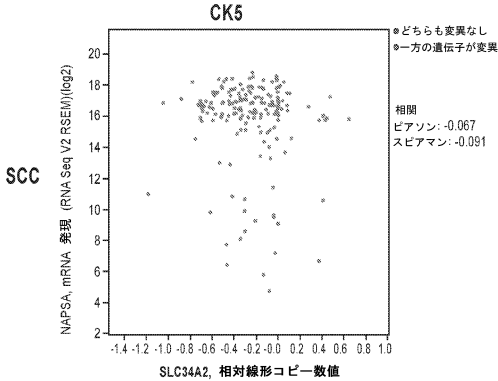
【図 1 1 - 2】



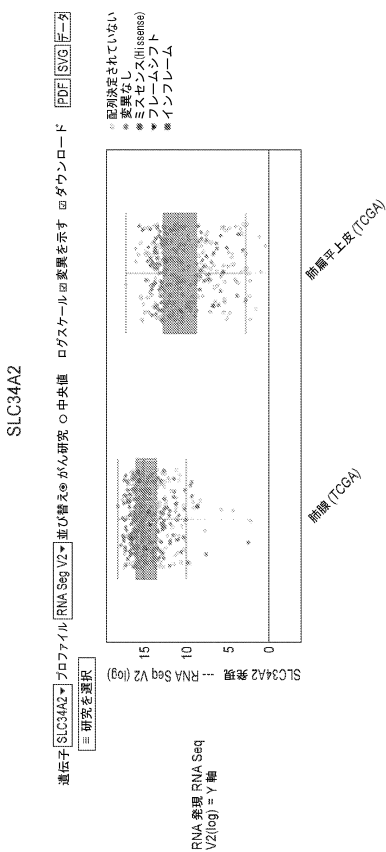
【図 1 1 - 3】



【図 1 1 - 4】



【図 1 2 - 1】



10

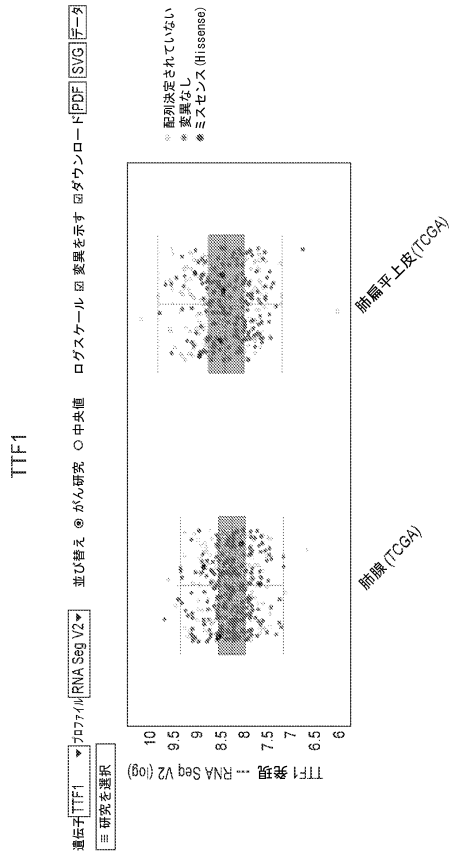
20

30

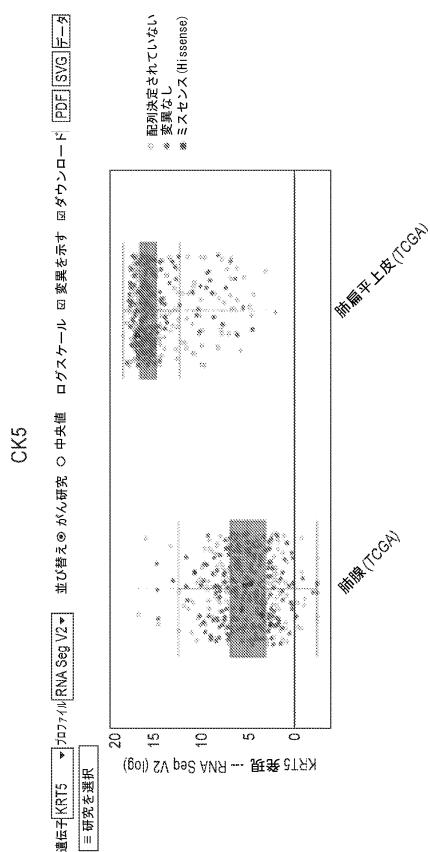
40

50

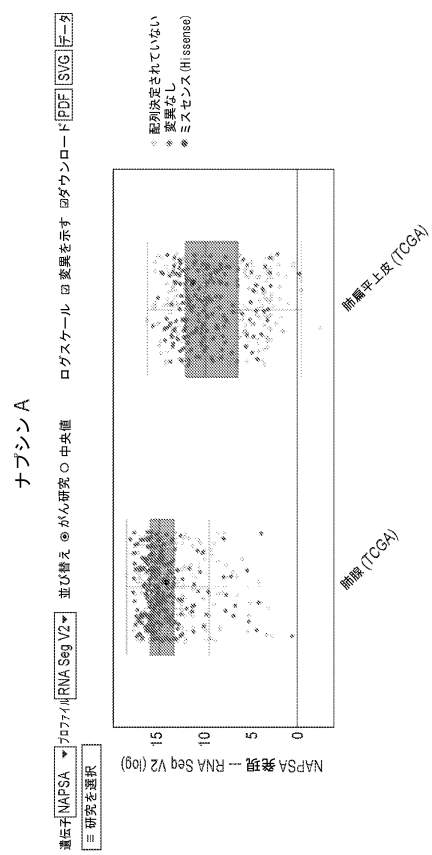
【 図 1 2 - 2 】



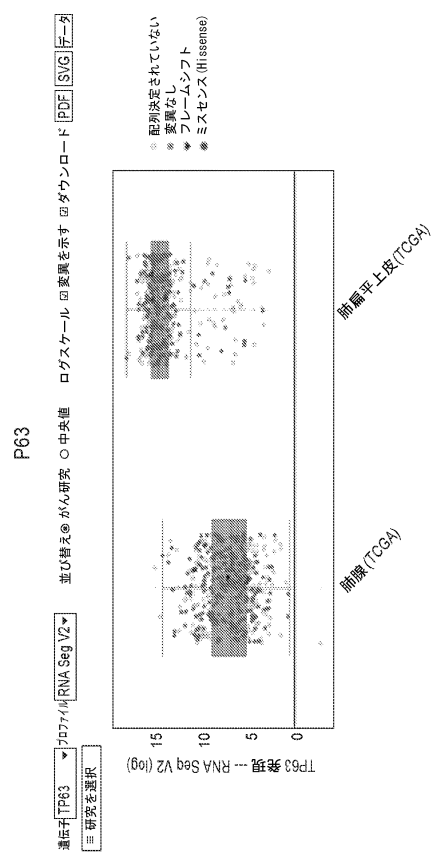
【 図 1 2 - 4 】



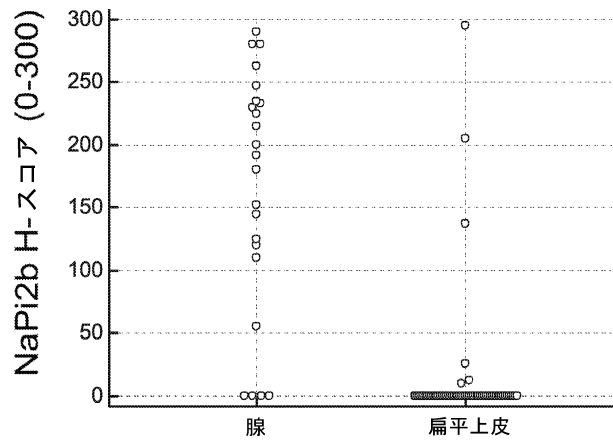
【 ☎ 1 2 - 3 】



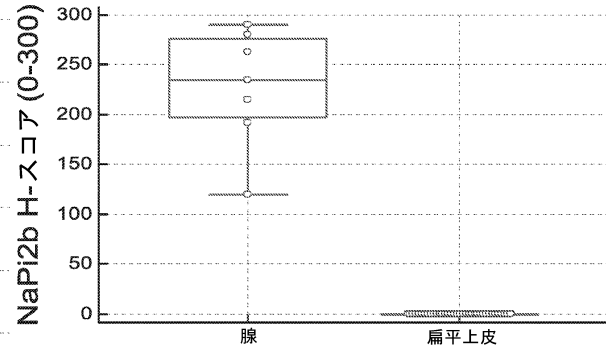
【 図 1 2 - 5 】



【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



10

			陽性	陰性	
病理タイプ		扁平上皮	3	60	
		腺	19	4	
		その他	4	9	
		Hスコア50以上の任意カットオフ			

20

【配列表】

0007279026000001.app

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	38/07 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 K	38/07	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	A 6 1 P	15/00	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
		C 1 2 N	1/21	
		C 1 2 N	5/10	

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/718,692

(32)優先日 平成30年8月14日(2018.8.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 モッシャー レベッカ

アメリカ合衆国 0 2 4 5 9 マサチューセッツ州 ニュートン オズボーン パス 2 8

(72)発明者 ポーリング ローラ エル .

アメリカ合衆国 0 1 7 2 0 マサチューセッツ州 アクトン エバーグリーン ロード 1 4

(72)発明者 バーグストロム ドナルド エー .

アメリカ合衆国 0 1 8 9 0 マサチューセッツ州 ウィンチェスター セントラル ストリート 2 4

審査官 大瀧 真理

(56)参考文献 特表 2 0 1 6 - 5 3 5 7 2 8 (J P , A)

米国特許第 0 8 6 0 3 4 7 4 (U S , B 2)

国際公開第 2 0 1 6 / 1 9 6 7 9 2 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 5 / 0 5 4 6 5 9 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 0 / 1 2 2 8 4 6 (W O , A 1)

特表 2 0 1 4 - 5 1 0 6 9 9 (J P , A)

国際公開第 2 0 0 9 / 0 9 7 1 2 8 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 1 6 0 7 5 4 (W O , A 1)

BODYAK, N. et al. , Discovery and preclinical development of a highly potent NaPi2b-targeted antibody -drug conjugate (ADC) with significant activity in patient-derived non -small cell lung cancer (NSCLC) xenograft models , Cancer Research , 2016年 , Vol.76, Suppl.14 , pp .1-2 , [online] , [令和4年8月31日検索] , インターネット <URL:https://aacrjournals.org/cancerres/article/76/14_Supplement/1194/608223/Abstract-1194-Discovery-and-preclinical>

GERBER, D. E. et al. , Safety Pharmacokinetics, and Activity of the Anti-NaPi2b Antibody-Drug Conjugate DNIB0600A: A Phase I Study in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer and Platinum-Resistant Ovarian Cancer , IASLC World Lung , 2013年 , p.1 , [online] , [令和4年8月31日検索] , インターネット <URL:https://qfuse.com/client_downloads/WL2013_Gerber_NaPi2b_15Oct13.pdf>

BERGSTROM, D. A. et al. , Non-clinical pharmacokinetics of XMT-1522, a HER2 targeting a uristatin-based antibody drug conjugate , AACR Annual meeting 2017 , 2017年04月 , [online] , [令和4年8月31日検索] , インターネット <URL:https://www.mersana.com/wp-content/uploads/2019/12/AACR-Poster-DG-MAR-28_TBLeditRY_.pdf>

SOARES, I. C. et al. , In Silico Analysis and Immunohistochemical Characterization of NaPi2b Protein Expression in Ovarian Carcinoma With Monoclonal Antibody Mx35 , Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology , 2012年03月 , Vol.20, No.2 , pp.165-172

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / B I O S I S (S T N)