



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0020421
(43) 공개일자 2016년02월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)	(71) 출원인
<i>A61K 47/48</i> (2006.01) <i>A61K 31/573</i> (2006.01)	이뮤노젠 아이엔씨
<i>A61K 39/00</i> (2006.01) <i>C07K 16/28</i> (2006.01)	미국 02451-1477 메사추세츠주 월섬 원터 스트리트 830
(52) CPC특허분류	(72) 발명자
<i>A61K 47/48384</i> (2013.01)	러닝 켈리
<i>A61K 31/573</i> (2013.01)	미국 06415 코네티컷주 콜체스터 폴즈 서클 9
(21) 출원번호 10-2015-7034078	메스티코 로버트 에이
(22) 출원일자(국제) 2014년05월13일	미국 02341 매사추세츠주 헨슨 우드멘 테라스 29 (뒷면에 계속)
심사청구일자 없음	(74) 대리인
(85) 번역문제출일자 2015년11월30일	특허법인코리아나
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/037911	
(87) 국제공개번호 WO 2014/186403	
국제공개일자 2014년11월20일	
(30) 우선권주장	
61/823,317 2013년05월14일 미국(US)	
61/828,586 2013년05월29일 미국(US)	

전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 항-FOLR1 면역접합체 투약 섭생

(57) 요 약

FOLR1에 결합하는 면역접합체를 투여하는 방법이 제공된다. 이들 방법은 최소의 부정적인 효과를 유발하는 치료적으로 효과적인 투약 섭생에서, 항-FOLR1 면역접합체를 치료가 필요한 개체, 예를 들면, 암 환자에 투여하는 것을 포함한다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/48461 (2013.01)

A61K 47/48592 (2013.01)

A61K 47/48638 (2013.01)

C07K 16/28 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/94 (2013.01)

(72) 발명자

오리어리 제임스 제이

미국 02458 매사추세츠주 뉴턴 워터타운 스트리트

273

아브 을가

미국 02054 매사추세츠주 밀리스 베이베리 서클 26

올프 베니 비

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 페어뱅크스 로드

29

명세서**청구범위****청구항 1**

암을 앓는 인간 환자를 치료하기 위한 방법에 있어서, FOLR1 폴리펩티드에 결합하는 면역접합체의 유효 분량을 환자에 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 투여는 약 100-150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 C_{max}를 산출하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 면역접합체는 약 3 mg/kg 내지 약 6 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 면역접합체는 약 3.0 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 면역접합체는 약 3.3 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

청구항 2에 있어서, 면역접합체는 약 5.0 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

청구항 2에 있어서, 면역접합체는 약 5.5 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

청구항 2에 있어서, 면역접합체는 약 6.0 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 면역접합체는 약 6.5 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중에서 어느 한 항에 있어서, 면역접합체는 대략 매주 1회 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

암을 앓는 인간 환자를 치료하기 위한 방법에 있어서, FOLR1 폴리펩티드에 결합하는 면역접합체의 유효 분량을 환자에 투여하는 것을 포함하고, 여기서 면역접합체는 대략 매주 1회 약 6 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

암을 앓는 인간 환자를 치료하기 위한 방법에 있어서, FOLR1 폴리펩티드에 결합하는 면역접합체의 유효 분량을 환자에 투여하는 것을 포함하고, 여기서 면역접합체는 대략 매주 1회 약 6.5 mg/kg 의 분량에서 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

청구항 1 내지 11 중에서 어느 한 항에 있어서, 면역접합체는 서열 번호:6을 포함하는 경쇄 CDR1, 서열 번호:7을 포함하는 경쇄 CDR2, 서열 번호:8을 포함하는 경쇄 CDR3, 서열 번호:9를 포함하는 중쇄 CDR1, 서열 번호: 10 또는 11을 포함하는 중쇄 CDR2, 그리고 서열 번호:12를 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 면역접합체는 서열 번호:5를 포함하는 가변 경쇄 및 서열 번호:3을 포함하는 가변 중쇄를 포함하는 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 면역접합체는 IMGN853인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

청구항 1 내지 14 중에서 어느 한 항에 있어서, 면역접합체는 정맥내 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

청구항 1 내지 15 중에서 어느 한 항에 있어서, 암은 난소암, 뇌암, 유방암, 자궁암, 자궁내막암, 췌장암, 신장암, 그리고 폐암으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 폐암은 비소세포 폐암 또는 세기관지폐포 암종인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

청구항 16에 있어서, 난소암은 상피 난소암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 난소암은 백금 내성, 재발성, 또는 난치성인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

청구항 1 내지 19 중에서 어느 한 항에 있어서, 암은 FOLR1 폴리펩티드 또는 혁산을 발현하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

청구항 20에 있어서, FOLR1 발현 수준은 면역조직화학 (IHC)에 의해 계측되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

청구항 1 내지 21 중에서 어느 한 항에 있어서, 스테로이드를 환자에 투여하는 것을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 스테로이드는 덱사메타손인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

청구항 1 내지 22 중에서 어느 한 항에 있어서, 투여는 종양 크기에서 감소를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

청구항 1 내지 16 및 18 내지 25 중에서 어느 한 항에 있어서, 암은 난소암이고, 그리고 투여는 CA125에서 감소를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

청구항 1 내지 25 중에서 어느 한 항에 있어서, 투여는 부정적인 효과에서 감소를 유발하는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

발명의 분야

[0001] 본 발명의 분야는 일반적으로 질환, 예를 들면, 암의 치료를 위한 항-FOLR1 면역접합체를 투여하는 방법에 관계 한다. 이들 방법은 원치 않는 부작용을 최소화하는 투약 섭생을 제공한다.

배경기술

발명의 배경

[0004] 암은 선진국에서 사망의 주도적인 원인 중에서 한 가지인데, 미국에서만 백만 명 이상의 사람들이 암으로 진단되고 매년 500,000명이 사망한다. 전반적으로, 3명 중에서 1명 이상이 그들의 생애 동안 일부 형태의 암이 발달하는 것으로 추정된다. 200여 가지 상이한 유형의 암이 존재하는데, 이들 중에서 4가지-유방, 폐, 대장, 그리고 전립선-가 모든 새로운 사례의 절반 이상을 차지한다 (Jemal et al., 2003, *Cancer J. Clin.* 53:5-26).

[0005] 엽산염 수용체-알파, 또는 엽산염 결합 단백질로서 또한 알려져 있는 엽산염 수용체 1 (FOLR1)은 세포의 원형질막에서 발현된 N-당화된 단백질이다. FOLR1은 엽산 및 여러 환원된 엽산 유도체에 대한 높은 친화성을 갖는다. FOLR1은 생리학적 엽산염, 5-메틸테트라하이드로엽산염의 세포 내측으로의 전달을 매개한다.

[0006] FOLR1은 극대다수의 난소암에서뿐만 아니라 많은 자궁, 자궁내막, 폐, 그리고 유방 암에서 과다발현되고, 반면 정상적인 조직에서 FOLR1의 발현은 신장 근위 세뇨관, 폐의 치조 폐포세포, 방광, 고환, 맥락막총, 그리고 갑상선에서 상피 세포의 정단막에 국한된다 (Weitman SD, et al., *Cancer Res* 52: 3396-3401 (1992); Antony AC, *Annu Rev Nutr* 16: 501-521 (1996); Kalli KR, et al. *Gynecol Oncol* 108: 619-626 (2008)). FOLR1의 이러한 발현 패턴은 이를 FOLR1-지향된 암 요법을 위한 바람직한 표적으로 만든다.

[0007] 난소암이 진행된 시기까지 전형적으로 무증상이기 때문에, 이것은 종종, 후기 단계에서 진단되고, 그리고 현재 가용한 절차, 전형적으로 외과적 용적축소 후 화학요법 약물로 치료될 때 불량한 예후를 갖는다 (von Gruenigen V et al., *Cancer* 112: 2221-2227 (2008); Ayhan A et al., *Am J Obstet Gynecol* 196: 81 e81-86 (2007); Harry VN et al., *Obstet Gynecol Surv* 64: 548-560 (2009)). 따라서 난소암을 위한 더욱 효과적인 치료제에 대한 충족되지 않은 의료 수요가 명백히 존재한다.

[0008] 항체는 이런 암을 치료하는데 유망한 방법으로서 급부상하고 있다. 이에 더하여, 다른 화합물, 예를 들면, 세포 독소에 접합된 항체를 포함하는 면역접합체 역시 잠재적 치료제로서 조사되고 있다. 특히, 식물 유래된 항진균성과 항암 작용제인 메이탄시노이드를 포함하는 면역접합체는 일부 유익한 활성을 갖는 것으로 나타났다. 메이테누스 오바투스 (*Maytenus ovatus*)와 메이테누스 부카나니 (*Maytenus buchananii*)의 에탄올성 추출물로부터 3 가지 고리 마크로라이드의 단리는 S. M. Kupchan 등에 의해 최초 보고되었고, 그리고 뮤린 모델에서 마이크로그램/kg 분량 범위에서 그들의 항-백혈병 효과의 입증과 함께 U.S. 특허 번호 3,896,111의 주제이다. 메이탄시노이드는 하지만, 받아들일 수 없는 독성을 갖고, 중추와 말초 신경병증 둘 모두 및 부작용: 특히 메스꺼움, 구토, 설사, 간 기능 검사치의 상승, 그리고 드물게는, 쇠약과 기면을 유발한다. 이러한 전반적인 독성은 항체에 메이탄시노이드의 접합에 의해 얼마간 감소되는데, 그 이유는 항체 접합체가 항원-양성 세포와 비교하여 항원-음성 세포에 대한 여러 크기 차릿수 낮은 독성을 갖기 때문이다. 하지만, 메이탄시노이드를 포함하는 면역접합체는 받아들일 수 없는 수준의 불리한 부작용과 여전히 연관되었다. 가령, 메이탄시노이드를 포함하는 높은 용량의 항-FOLR1 면역접합체로 주사된 동물은 안구 독성을 보여주었다. 이러한 독성의 원인, 예를 들면, 이것이 Cmax 또는 AUC에 관련될 수 있는지는 알려지지 않았다. 결과적으로, 인간에서 치료적으로 효과적이지만 부정적인 효과를 방지하는 항-FOLR1 면역접합체의 특정 투약 섭생을 확인하는 것이 여전히 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

발명의 짧은 요약

[0010] 원치 않는 부작용을 최소화하는 치료적으로 효과적인 투약 섭생에서 항-FOLR1 면역접합체를 투여하는 방법이 본

원에서 제공된다. 따라서, FOLR1에 결합하는 면역접합체의 유효 분량을 환자에 투여하는 것을 포함하는, 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 방법이 본원에서 설명되고, 여기서 면역접합체는 약 3.0 mg/kg 내지 약 6 mg/kg의 분량에서 투여된다. 항-FOLR1 면역접합체는 하전된 링커를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 면역접합체는 항체 huMov19, 링커 술포-SPDB, 그리고 메이탄시노이드 DM4를 포함한다.

[0011] 일부 구체예에서, 면역접합체는 서열 번호:3과 서열 번호:5의 서열을 갖는 항체의 FOLR1에 대한 결합을 경쟁적으로 저해하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 단편은 huMov19의 CDR (즉, 서열 번호: 6-10과 12 또는 서열 번호: 6-9, 11과 12)을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 단편은 뮤린 Mov19의 6개 CDR (즉, 서열 번호:6-9, 16과 12)을 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 항체는 huMov19이다. 일부 구체예에서, 면역접합체는 메이탄시노이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 메이탄시노이드는 DM4이다. 일부 구체예에서, 면역접합체는 술포-SPDB인 링커를 포함한다. 일부 구체예에서, 면역접합체는 IMGN853 (huMov19-술포-SPDB-DM4)이다.

[0012] 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 3.0 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 3.3 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 4.0 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 5 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 5.5 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 6 mg/kg의 분량에서 투여된다.

[0013] 본원에서 설명된 방법에 따라, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 4 주마다 1회 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 3 주마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 2 주마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 1 주마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 약 주 2회 투여된다.

[0014] 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 21 일마다 1회 정맥내 주입에 의해 투여된다.

[0015] 본원에서 설명된 방법에 따라, 투여는 약 10,000-18,000 시간 · μ g/mL, 약 10,000-17,500 시간 · μ g/mL, 약 10,000-17,000 시간 · μ g/mL, 또는 약 10,000-16,000 시간 · μ g/mL의 AUC_(0-무한)를 산출할 수 있다. 일부 구체예에서, AUC_(0-무한)는 약 12,000 시간 · μ g/mL 내지 약 13,500 시간 · μ g/mL이다. 일부 구체예에서, AUC_(0-무한)는 약 12,708 시간 · μ g/mL이다. 일부 구체예에서, AUC_(0-무한)는 실시예 1에서 획득되고 도면 1에서 도시된 AUC_(0-무한)이다.

[0016] 본원에서 설명된 방법에 따라, 투여는 약 7,500-12,500 시간 · μ g/mL, 약 7,500-12,000 시간 · μ g/mL, 약 7,500-10,000 시간 · μ g/mL, 또는 약 8,000-10,000 시간 · μ g/mL의 AUC₍₀₋₁₆₈₎를 산출할 수 있다. 일부 구체예에서, AUC₍₀₋₁₆₈₎는 약 8,000 시간 · μ g/mL 내지 약 8,500 시간 · μ g/mL이다. 일부 구체예에서, AUC₍₀₋₁₆₈₎는 약 8,254 시간 · μ g/mL이다. 일부 구체예에서, AUC₍₀₋₁₆₈₎는 실시예 1에서 획득되고 도면 1에서 도시된 AUC₍₀₋₁₆₈₎이다.

[0017] 본원에서 설명된 방법에 따라, 투여는 약 50-250 μ g/mL, 약 50-200 μ g/mL, 약 50-175 μ g/mL, 약 50-150 μ g/mL, 약 50-125 μ g/mL, 약 75-250 μ g/mL, 약 75-200 μ g/mL, 약 75-175 μ g/mL, 약 75-150 μ g/mL, 또는 약 75-125 μ g/mL의 Cmax를 산출할 수 있다. 일부 구체예에서, Cmax는 약 100 μ g/mL 내지 약 150 μ g/mL이다. 일부 구체예에서, Cmax는 약 100 μ g/mL 내지 약 120 μ g/mL이다. 일부 구체예에서, Cmax는 약 108 μ g/mL이다. 일부 구체예에서, Cmax는 실시예 1에서 획득되고 도면 1에서 도시된 Cmax이다.

[0018] 본원에서 설명된 방법에 따라, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 소실은 1.0 mL/시간/kg보다 적을 수 있다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 소실은 0.6 mL/시간/kg보다 적을 수 있다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 소실은 약 0.2 mL/시간/kg 내지 약 0.6 mL/시간/kg이다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 소실은 약 0.3 mL/시간/kg 내지 약 0.4 mL/시간/kg이다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 소실은 약 0.3 mL/시간/kg이다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합체 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 소실은 약 0.4 mL/시간/kg이다. 일부 구체예에서, 소실은 실시예 1에서 획득되고 도면 1에서 도시된 소실이다.

[0019] 본원에서 설명된 방법에 따라, 항-FOLR1 결합제 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 반감기는 최소한 약 4 일일 수 있다. 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합제 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 반감기는 약 3 내지 약 5 일, 또는 약 4 내지 약 4.5 일이다. 일부 구체예에서, 반감기는 약 4.4 일이다. 일부 구체예에서, 반감기는 실시예 1에서 획득되고 도면 1에서 도시된 반감기이다.

[0020] 본원에서 설명된 방법에 따라, 항-FOLR1 결합제 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)의 항정 상태에서 곁보기 분포 용적 (V_{ss})은 약 25 내지 약 100 mL/kg, 약 25 내지 약 75 mL/kg, 약 30 내지 약 75 mL/kg, 또는 약 35 내지 약 70 mL/kg일 수 있다. 일부 구체예에서, V_{ss} 는 약 55 mL/kg 내지 약 65 mL/kg이다. 일부 구체예에서, V_{ss} 는 약 61 mL/kg이다. 일부 구체예에서, V_{ss} 는 실시예 1에서 획득되고 도면 1에서 도시된 V_{ss} 이다.

[0021] 일부 구체예에서, 항-FOLR1 결합제 (가령, huMov19-술포-SPDB-DM4)는 정맥내 투여된다.

[0022] 본원에서 설명된 방법은 암을 치료하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 암은 난소암, 뇌암, 유방암, 자궁암, 자궁내막암, 췌장암, 신장암 (가령, 신장 세포 암종), 그리고 폐암 (가령, 비소세포 폐암, 또는 세기관지폐포 암종 (BAC))으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 암은 난소암 또는 폐암이다. 일부 구체예에서, 암은 상피 난소암이다.

[0023] 일부 구체예에서, 암은 FOLR1 폴리펩티드 또는 핵산을 발현한다. 일부 구체예에서, 암은 면역조직화학 (IHC)에 의해 계측될 때, 증가된 발현 수준의 FOLR1 폴리펩티드를 갖는다. 가령, 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 2 헤테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 2 호모 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 3 헤테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 3 호모 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 2 헤테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 폐암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 3 헤테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 폐암이다. 일부 구체예에서, 암은 3 헤테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1 폴리펩티드를 발현하는 상피 난소암 (가령, 백금 내성 또는 재발성 또는 난치성)이다.

[0024] 일부 구체예에서, 이들 방법은 스테로이드를 환자에 투여하는 것을 더욱 포함한다. 스테로이드는 전치료로서, 다시 말하면, 항-FOLR1 결합제의 투여에 앞서 투여될 수 있다. 스테로이드는 텍사메타손일 수 있다.

[0025] 본원에서 설명된 방법은 종양 크기에서 감소를 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 난소암 환자에서 CA125 수준에서 감소를 유발할 수 있다. 한 가지 실례에서, CA125 수준은 치료에 앞서 그리고 치료 후 1회 또는 그 이상, 난소암 환자로부터 표본에서 계측되고, 그리고 시간의 흐름에서 CA125 수준에서 감소는 치료적 효능을 지시한다. 본원에서 설명된 방법은 암 치료 사이에 증가된 시간을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 증가된 진행 없는 생존 (PFS)을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 증가된 질환 없는 생존 (DFS)을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 증가된 전반적인 생존 (OS)을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 증가된 완전한 반응 (CR)을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 증가된 부분적인 반응 (PR)을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 증가된 안정된 질환 (SD)을 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 진행성 질환 (PD)에서 증가된 감소를 유발할 수 있다. 본원에서 설명된 방법은 진행까지 감소된 시간 (TTP)을 유발할 수 있다.

[0026] 본원에서 설명된 방법은 또한, 부정적인 효과에서 감소를 유발할 수 있다.

[0027] 특히, 본원에서 제공된 투약 섭생은 예로서, 실시예 1과 2 및 도 1에서 증명된 바와 같이, 효능 (가령, PR) 및 감소된 독성 사이에 최적 균형을 달성한다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도면의 간단한 설명

도 1은 실시예 1에서 설명된 바와 같이, IMGN853 (0.15 mg/kg 내지 7.0 mg/kg)의 투여로부터 발생하는 약동학적 데이터를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 발명의 상세한 설명

[0030] 본 발명은 FOLR1 결합 면역접합체에 대한 새로운 투약 섭생을 제공한다.

I. 정의

[0031] 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위해, 다수의 용어와 관용구가 아래에 규정된다.

[0032] 용어 "인간 엽산염 수용체 1," "FOLR1," 또는 "엽산염 수용체 알파 (FR-α)"는 본원에서 이용된 바와 같이, 달리 지시되지 않으면, 임의의 선천적 인간 FOLR1을 지칭한다. 따라서, 이들 모든 용어는 본원에서 지시된 바와 같은 단백질 또는 핵산 서열을 지칭할 수 있다. 용어 "FOLR1"은 "전장" 처리되지 않은 FOLR1뿐만 아니라 세포 내에서 처리로부터 발생하는 FOLR1의 임의의 형태를 포함한다. 상기 용어는 또한, FOLR1의 자연발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체, 대립형질 변이체 및 동종형을 포함한다. 본원에서 설명된 FOLR1 폴리펩티드는 다양한 공급원으로부터, 예를 들면, 인간 조직 유형으로부터 또는 다른 공급원으로부터 단리되거나, 또는 재조합 또는 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. FOLR1 서열의 실례에는 NCBI 참조 번호 P15328, NP_001092242.1, AAX29268.1, AAX37119.1, NP_057937.1, 그리고 NP_057936.1이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0033] 용어 "항체"는 표적, 예를 들면, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 또는 이들의 조합을, 면역글로불린 분자의 가변 영역 내에 최소한 하나의 항원 인식 부위를 통해 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 의미한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항체"는 무손상 다중클론 항체, 무손상 단일클론 항체, 항체 단편 (가령, Fab, Fab', F(ab')2, 그리고 Fv 단편), 단일 사슬 Fv (scFv) 돌연변이체, 최소한 2개의 무손상 항체로부터 산출된 다중특이적 항체, 예를 들면, 이중특이적 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 항체의 항원 결정 부분을 포함하는 융합 단백질, 그리고 원하는 생물학적 활성을 전시하기만 하면, 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 각각, 알파, 텔타, 엡실론, 간마, 그리고 뮤로서 지칭되는 그들의 중쇄 불변 도메인의 동일성에 기초하여, 면역글로불린의 5 가지 주요 부류 중에서 한 가지일 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 그리고 IgM, 또는 이들의 하위부류 (아이소타입) (가령, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2). 상이한 부류의 면역글로불린은 상이하고 널리 공지된 아단위 구조와 3차원 형상을 갖는다. 항체는 나신이거나 또는 다른 분자, 예를 들면, 독소, 방사성동위원소 등에 접합될 수 있다.

[0034] "차단" 항체 또는 "길항체" 항체는 자신이 결합하는 항원, 예를 들면, FOLR1의 생물학적 활성을 저해하거나 또는 감소시키는 항체이다. 일부 구체예에서, 차단 항체 또는 길항체 항체는 항원의 생물학적 활성을 실제적으로 또는 완전하게 저해한다. 생물학적 활성은 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 심지어 100% 감소될 수 있다.

[0035] 용어 "항-FOLR1 항체" 또는 "FOLR1에 결합하는 항체"는 항체가 FOLR1을 표적화하는데 있어서 진단적 및/또는 치료적 작용제로서 유용할 만큼 충분한 친화성으로 FOLR1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 관련 없는, 비-FOLR1 단백질에 대한 항-FOLR1 항체의 결합의 정도는 예로서, 방사면역검정 (RIA)에 의해 계측될 때, FOLR1에 대한 항체의 결합의 약 10%보다 적을 수 있다. 일정한 구체예에서, FOLR1에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, 또는 $\leq 0.1 nM$ 의 해리 상수 (Kd)를 갖는다.

[0036] 용어 "항체 단편"은 무손상 항체의 부분을 지칭하고, 그리고 무손상 항체의 항원성 결정 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 실례에는 Fab, Fab', F(ab')2, 그리고 Fv 단편, 선형 항체, 단일 사슬 항체, 그리고 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0037] "단일클론 항체"는 단일 항원 결정인자, 또는 에피토프의 고도로 특이적 인식과 결합에 관련된 균질한 항체 개체군을 지칭한다. 이것은 상이한 항원 결정인자에 대해 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항체와 대조적이다. 용어 "단일클론 항체"는 무손상과 전장 단일클론 항체 둘 모두뿐만 아니라 항체 단편 (가령, Fab, Fab', F(ab')2, Fv), 단일 사슬 (scFv) 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 그리고 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포함한다. 게다가, "단일클론 항체"는 하이브리도마, 파지 선별, 재조합 발현, 그리고 유전자도입 동물이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 수많은 방식으로 만들어진 이와 같은 항체를 지칭한다.

[0038] 용어 "인간화 항체"는 최소 비-인간 (가령, 뮤린) 서열을 내포하는 특정한 면역글로불린 사슬, 키메라 면역글로불린, 또는 이들의 단편인 비-인간 (가령, 뮤린) 항체의 형태를 지칭한다. 전형적으로, 인간화 항체는 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터 잔기가 원하는 특이성, 친화성, 그리고 능력을 갖는 비-인간 종 (가령, 생쥐, 쥐, 토끼, 햄스터)의 CDR로부터 잔기에 의해 대체되는 인간 면역글로불린이다 (Jones et al., 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, *Science*, 239:1534-1536). 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 원하는 특이성, 친화성, 그리고 능

력을 갖는 비-인간 종으로부터 항체에서 상응하는 잔기로 대체된다. 인간화 항체는 항체 특이성, 친화성, 및/또는 능력을 정밀화하고 최적화하기 위해, Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 대체된 비-인간 잔기 내에서 추가 잔기의 치환에 의해 더욱 변형될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비-인간 면역글로불린에 상응하는 모든 또는 실제적으로 모든 CDR 영역을 내포하는 최소한 하나, 그리고 전형적으로 2개 또는 3개, 가변 도메인 중에서 실제적으로 모두를 포함할 것이고, 반면 모든 또는 실제적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 공통 서열의 것들이다. 인간화 항체는 또한, 전형적으로 인간 면역글로불린의 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc) 중에서 최소한 일부를 포함할 수 있다. 인간화 항체를 산출하는데 이용된 방법의 실례는 U.S. 특허 5,225,539에서 설명된다. 일부 구체예에서, "인간화 항체"는 표면치환된 항체이다.

[0040] 항체의 "가변 영역"은 단독으로 또는 합동으로, 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 지칭한다. 중쇄와 경쇄의 가변 영역은 각각, 초가변 영역으로서 또한 알려져 있는 3개의 상보성 결정 영역 (CDRs)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역 (FR)으로 구성된다. 각 사슬에서 이들 CDR은 FR에 의해 매우 근접하여 결합되고, 그리고 다른 사슬로부터 CDR과 함께, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. CDR을 결정하기 위한 최소한 2가지 기술이 있다: (1) 중간 서열 가변성에 기초된 접근법 (즉, Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda Md.)); 그리고 (2) 항원 항체 복합체의 결정학적 연구에 기초된 접근법 (Al-lazikani et al (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). 이에 더하여, 이들 2가지 접근법의 조합이 CDR을 결정하기 위해 당분야에서 때때로 이용된다.

[0041] 가변 도메인 내에 잔기 (대략, 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)를 지칭할 때, Kabat 넘버링 시스템이 일반적으로 이용된다 (가령, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

[0042] Kabat에서처럼 아미노산 위치 넘버링은 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)에서 항체의 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 이용된 넘버링 시스템을 지칭한다. 이러한 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축, 또는 이것 내로 삽입에 상응하는 더욱 적은 또는 추가 아미노산을 내포할 수 있다. 가령, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입물 (Kabat에 따라 잔기 52a), 그리고 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기 (가령, Kabat에 따라 잔기 82a, 82b, 그리고 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 Kabat 넘버링은 항체의 서열과 "표준" Kabat 넘버링된 서열의 상동성의 영역에서 정렬에 의해 소정의 항체에 대해 결정될 수 있다. Chothia는 그 대신에, 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Kabat 넘버링 규약을 이용하여 넘버링될 때 Chothia CDR-H1 루프의 단부는 루프의 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 변한다 (이것은 Kabat 넘버링 설계가 H35A와 H35B에서 삽입을 배치하기 때문이다; 35A와 35B 둘 모두 존재하지 않으면, 루프는 32에서 끝난다; 단지 35A만 존재하면, 루프는 33에서 끝난다; 35A와 35B 둘 모두 존재하면, 루프는 34에서 끝난다). AbM 초가변 영역은 Kabat CDR 및 Chothia 구조적 루프 사이에 타협을 나타내고, 그리고 Oxford Molecular의 AbM 항체 모형화 소프트웨어에 의해 이용된다.

루프	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34 (Kabat 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35 (Chothia 넘버링)	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

[0043] 용어 "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체 또는 당분야에서 공지된 임의의 기술을 이용하여 만들어진 인간에 의해 생산된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 의미한다. 인간 항체의 이러한 정의는 무손상 또는 전장 항체, 이들의 단편, 및/또는 최소한 하나의 인간 중쇄 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체, 예를 들

[0044] 용어 "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체 또는 당분야에서 공지된 임의의 기술을 이용하여 만들어진 인간에 의해 생산된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 의미한다. 인간 항체의 이러한 정의는 무손상 또는 전장 항체, 이들의 단편, 및/또는 최소한 하나의 인간 중쇄 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체, 예를 들

면, 예로서, 뮤린 경쇄와 인간 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체를 포함한다.

[0045] 용어 "키메라 항체"는 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이 2개 또는 그 이상 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 경쇄와 중쇄 둘 모두의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화성, 그리고 능력을 갖는 포유동물의 한 가지 종류 (가령, 생쥐, 쥐, 토끼 등)로부터 유래된 항체의 가변 영역에 상응하고, 반면 불변 영역은 상기 종에서 면역 반응을 이끌어내는 것을 방지하는 다른 종 (통상적으로 인간)으로부터 유래된 항체에서 서열에 상동하다.

[0046] 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정인자"는 본원에서 교체가능하게 이용되고, 그리고 특정 항체에 의해 인식되고 특이적으로 결합될 수 있는 항원의 부분을 지칭한다. 항원이 폴리펩티드일 때, 에피토프는 단백질의 삼차 접힘에 의해 병치된 인접한 아미노산 및 비인접한 아미노산 둘 모두로부터 형성될 수 있다. 인접한 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로, 단백질 변성 시에 유지되고, 반면 삼차 접힘에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로, 단백질 변성 시에 상실된다. 에피토프는 전형적으로, 독특한 공간적 입체형태에서 최소한 3개, 그리고 더욱 통상적으로, 최소한 5개 또는 8-10개 아미노산을 포함한다.

[0047] "결합 친화성"은 일반적으로, 분자 (가령, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 상태 (가령, 항원) 사이에 비공유 상호작용의 종류의 강도를 지칭한다. 달리 지시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (가령, 항체와 항원) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 상태 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (Kd)에 의해 표현될 수 있다. 친화성은 본원에서 설명된 것들을 비롯한 당분야에서 공지된 통상적인 방법에 의해 계측될 수 있다. 낮은 친화성 항체는 일반적으로, 항원에 천천히 결합하고 쉽게 해리하는 경향이 있고, 반면 높은 친화성 항체는 일반적으로, 항원에 더욱 빨리 결합하고 더욱 길게 결합된 상태로 남아있는 경향이 있다. 결합 친화성을 계측하는 다양한 방법이 당분야에서 공지되는데, 이들 중에서 한 가지가 본 발명을 위해 이용될 수 있다. 특정한 예시적인 구체예가 다음에서 설명된다.

[0048] "또는 더욱 우수한"은 결합 친화성을 지칭하기 위해 본원에서 이용될 때, 분자와 이의 결합 상태 사이에 더욱 강한 결합을 지칭한다. "또는 더욱 우수한"은 본원에서 이용될 때, 더욱 작은 수치 Kd 값에 의해 표시되는, 더욱 강한 결합을 지칭한다. 가령, "0.6 nM 또는 더욱 우수한" 항원에 대한 친화성을 갖는 항체의 경우에, 항원에 대한 항체의 친화성은 <0.6 nM, 다시 말하면, 0.59 nM, 0.58 nM, 0.57 nM 등 또는 0.6 nM보다 적은 임의의 값이다.

[0049] "특이적으로 결합한다"는 항체가 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합하고, 그리고 상기 결합이 항원 결합 도메인과 에피토프 사이에 일부 상보성을 수반한다는 것으로 일반적으로 의미된다. 이러한 정의에 따라, 항체는 무작위, 관련 없는 에피토프에 결합하는 것보다 더욱 쉽게 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합할 때, 상기 에피토프에 "특이적으로 결합한다"라고 일컬어진다. 용어 "특이성"은 일정한 항체가 일정한 에피토프에 결합하는 상대적 친화성에 대한 자격을 부여하기 위해 본원에서 이용된다. 가령, 항체 "A"는 항체 "B"보다 소정의 에피토프에 대해 더욱 높은 특이성을 갖는 것으로 간주될 수 있거나, 또는 항체 "A"는 관련된 에피토프 "D"에 대해서보다 더욱 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합하는 것으로 일컬어질 수 있다.

[0050] "우선적으로 결합한다"는 항체가 관련된, 유사한, 상동한, 또는 닮은 에피토프에 결합하는 것보다 더욱 쉽게 에피토프에 특이적으로 결합하는 것으로 의미된다. 따라서, 소정의 에피토프에 "우선적으로 결합"하는 항체는 비록 이런 항체가 관련된 에피토프와 교차 반응할 수 있긴 하지만, 관련된 에피토프보다 상기 에피토프에 더욱 높은 가능성으로 결합할 것이다.

[0051] 항체는 에피토프에 참고 항체의 결합을 어느 정도 차단할 정도까지 상기 에피토프에 우선적으로 결합하면, 소정의 에피토프에 참고 항체의 결합을 "경쟁적으로 저해한다"라고 일컬어진다. 경쟁 저해는 당분야에서 공지된 임의의 방법, 예를 들면, 경쟁 ELISA 검정에 의해 결정될 수 있다. 항체는 소정의 에피토프에 참고 항체의 결합을 최소한 90%, 최소한 80%, 최소한 70%, 최소한 60%, 또는 최소한 50% 경쟁적으로 저해하는 것으로 일컬어질 수 있다.

[0052] 관용구 "실제적으로 유사한," 또는 "실제적으로 동일한"은 본원에서 이용된 바와 같이, 당업자가 2가지 수치 값 사이에 차이를 상기 값 (가령, Kd 값)에 의해 계측된 생물학적 특성의 배경에서 생물학적 및/또는 통계 유의성이 거의 또는 전혀 없는 것으로 고려할 만큼, 이들 두 수치 값 (일반적으로, 본 발명의 항체와 연관된 수치 값 및 참고/비교측정기 항체와 연관된 다른 수치 값) 사이에 충분히 높은 정도의 유사성을 표시한다. 상기 2가지 값 사이에 차이는 참고/비교측정기 항체에 대한 값의 함수로서 약 50%보다 적거나, 약 40%보다 적거나, 약 30%

보다 적거나, 약 20%보다 적거나, 또는 약 10%보다 적을 수 있다.

[0053] "단리된" 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물은 자연에서 발견되지 않는 형태인 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물이다. 단리된 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 조성물은 그들이 더 이상 자연에서 발견되는 형태에 있지 않는 정도까지 정제된 것들을 포함한다. 일부 구체예에서, 단리된 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물은 실제적으로 순수하다.

[0054] 본원에서 이용된 바와 같이, "실제적으로 순수한"은 최소한 50% 순수한 (즉, 오염체가 없는), 최소한 90% 순수한, 최소한 95% 순수한, 최소한 98% 순수한, 또는 최소한 99% 순수한 물질을 지칭한다.

[0055] 용어 "면역접합체" 또는 "접합체"는 본원에서 이용된 바와 같이, 세포 결합 작용제 (즉, 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편)에 연결되고 하기 일반식에 의해 규정되는 화합물 또는 이의 유도체를 지칭한다: C-L-A, 여기서 C = 세포독소, L = 링커, 그리고 A = 항-FOLR1 항체 또는 항체 단편. 면역접합체는 또한, 역순으로 일반식: A-L-C에 의해 규정될 수 있다.

[0056] 용어 "IMGN853"은 huMov19 항체, 술포SPDB 링커, 그리고 DM4 메이탄시노이드를 내포하는 본원에서 설명된 면역접합체를 지칭한다.

[0057] "링커"는 화합물, 통상적으로 약물, 예를 들면, 메이탄시노이드를 안정된, 공유 방식으로, 세포 결합 작용제, 예를 들면, 항 FOLR1 항체 또는 이의 단편에 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 링커는 화합물 또는 항체가 활성 상태로 남아있는 조건에서, 산-유도된 개열, 광-유도된 개열, 펩티드분해효소-유도된 개열, 에스테르분해효소-유도된 개열, 그리고 이황화 결합 개열에 감수성이거나 또는 실제적으로 내성일 수 있다. 적합한 링커는 당분야에서 널리 공지되고, 그리고 예로서, 이황화 기, 티오에테르 기, 산 불안정 기, 광불안정 기, 펩티드분해효소 불안정 기 및 에스테르분해효소 불안정 기를 포함한다. 링커는 또한, 본원에서 설명되고 당분야에서 공지된 하전된 링커, 그리고 이들의 친수성 형태를 포함한다.

[0058] 용어 "암"과 "암성"은 세포 개체군이 조절되지 않은 세포 성장에 의해 특징화되는 포유동물에서 생리학적 상태를 지칭하거나 또는 설명한다. 암의 실례에는 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 그리고 백혈병이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 이런 암의 더욱 특정 실례는 편평상피 세포 암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평상피 암종, 복막의 암, 간세포암, 위장관암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 대장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다. 암은 FOLR1을 발현하는 암일 수 있다.

[0059] "종양"과 "신생물"은 전암성 병변을 비롯하여 양성 (비암성) 또는 악성 (암성)인, 과도한 세포 성장 또는 증식으로부터 발생하는 조직의 임의의 덩어리를 지칭한다.

[0060] 용어 "암 세포," "종양 세포," 그리고 문법적 동가물은 대부분의 종양 세포 개체군을 포함하는 비종양형성 세포, 그리고 종양형성 줄기 세포 (암 줄기 세포) 둘 모두를 비롯하여, 종양 또는 전암성 병변으로부터 유래된 전체 세포 개체군을 지칭한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "종양 세포"는 종양 세포를 암 줄기 세포로부터 식별하기 위해, 재생하고 분화하는 능력을 결여하는 종양 세포만을 언급할 때, 용어 "비종양형성"에 의해 수식될 것이다.

[0061] 용어 "개체"는 인간, 비-인간 영장류, 설치류, 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 임의의 동물 (가령, 포유동물)을 지칭하는데, 이것은 특정 치료의 수용자이다. 전형적으로, 용어 "개체"와 "환자"는 인간 개체에 관하여 본원에서 교체가능하게 이용된다.

[0062] 하나 또는 그 이상의 추가 치료적 작용제"와 합동으로" 투여는 동시적 (동시) 투여 및 임의의 순서에서 연속적 투여를 포함한다.

[0063] 용어 "제약학적 제제"는 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 허용하고, 그리고 이러한 제제가 투여될 개체에 받아들이기 어려울 정도로 독성인 추가 성분을 내포하지 않는 형태의 제조물을 지칭한다. 제제는 무균일 수 있다.

[0064] 본원에서 개시된 바와 같은 항체 또는 면역접합체의 "효과량"은 구체적으로 언급된 목적을 실행하는데 충분한 양이다. "효과량"은 언급된 목적에 관계하여, 경험적으로 및 일과적인 방식으로 결정될 수 있다.

[0065] 용어 "치료 효과량"은 개체 또는 포유동물에서 질환 또는 장애를 "치료"하는데 효과적인 항체 또는 다른 약물의

양을 지칭한다. 암의 경우에, 약물의 치료 효과량은 암 세포의 숫자를 감소시키고; 종양 크기를 감소시키고; 말초 장기 내로 암 세포 침윤을 저해하고 (즉, 얼마간 늦추고, 그리고 일정한 구체예에서, 중단시키고); 종양 전이를 저해하고 (즉, 얼마간 늦추고, 그리고 일정한 구체예에서, 중단시키고); 종양 성장을 얼마간 저해하고; 암과 연관된 증상 중에서 하나 또는 그 이상을 얼마간 완화하고; 및/또는 우호적인 반응, 예를 들면, 증가된 진행 없는 생존 (PFS), 질환 없는 생존 (DFS), 또는 전반적인 생존 (OS), 완전한 반응 (CR), 부분적인 반응 (PR), 또는 일부 경우에, 안정된 질환 (SD), 진행성 질환 (PD)에서 감소, 진행까지 감소된 시간 (TTP), 난소암의 경우에 CA125에서 감소, 또는 이들의 임의의 조합을 유발할 수 있다.

[0066] 본원에서 "치료하는"의 정의를 참조한다. 약물은 암 세포의 성장을 예방하고 및/또는 현존하는 암 세포를 사멸시킬 수 있는 정도까지, 정균성 및/또는 세포독성을 일정한 구체예에서, 증가된 FOLR1 수준의 확인은 더욱 높은 용량에서 보이는 바와 동일한 치료 효과를 달성하는 줄어든 양의 FOLR1-표적화 치료제의 투여를 허용한다. "예방적 효과량"은 원하는 예방적 결과를 달성하는데 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 전형적으로, 하지만 반드시 그러한 것은 아니지만, 예방적 분량이 질환에 앞서 또는 질환의 초기 단계에서 개체에서 이용되기 때문에, 예방적 효과량은 치료 효과량보다 적을 것이다.

[0067] 용어 "우호적으로 반응한다"는 일반적으로, 개체에서 유익한 상태를 유발하는 것을 지칭한다. 암 치료에 관하여, 상기 용어는 치료 효과를 개체에 제공하는 것을 지칭한다. 암에서 긍정적인 치료 효과는 다수의 방식에서 계측될 수 있다 (참조: W.A. Weber, J. Nucl. Med. 50:1S-10S (2009)). 가령, 종양 성장 저해, 분자 마커 발현, 혈청 마커 발현, 그리고 분자 영상 기술 모두 항암 치료제의 치료적 효능을 사정하는데 이용될 수 있다. 종양 성장 저해에 대하여, NCI 기준에 따라, $T/C \leq 42\%$ 가 항종양 활성의 최소 수준이다. $T/C < 10\%$ 은 높은 항종양 활성 수준인 것으로 고려되는데, $T/C (\%) = \text{치료의 중앙 종양 체적} / \text{대조의 중앙 종양 체적} \times 100$ 이다. 우호적인 반응은 예로서, 증가된 진행 없는 생존 (PFS), 질환 없는 생존 (DFS), 또는 전반적인 생존 (OS), 완전한 반응 (CR), 부분적인 반응 (PR), 또는 일부 경우에, 안정된 질환 (SD), 진행성 질환 (PD)에서 감소, 진행까지 감소된 시간 (TTP), 난소암의 경우에 CA125에서 감소 또는 이들의 임의의 조합에 의해 사정될 수 있다.

[0068] PFS, DFS, 그리고 OS는 새로운 약물의 승인을 위한 국립 암 연구소 및 미국 식품의약국에 의한 기준 세트에 의해 계측될 수 있다. Johnson et al, (2003) J. Clin. Oncol. 21(7):1404-1411을 참조한다.

[0069] "진행 없는 생존" (PFS)는 등록에서부터 질환 진행 또는 사망까지의 시간을 지칭한다. PFS는 일반적으로, 카플란 마이어 방법 및 고형 종양에서 반응 평가 규준 (RECIST) 1.1 기준을 이용하여 계측된다. 일반적으로, 진행 없는 생존은 환자가 암 악화 없이 생존하는 상황을 지칭한다.

[0070] "종양 진행까지 시간" (TTP)은 등록에서부터 질환 진행까지의 시간으로서 규정된다. TTP는 일반적으로, RECIST 1.1 기준을 이용하여 계측된다.

[0071] "완전한 반응" 또는 "완전 완화" 또는 "CR"은 치료에 대한 응답으로 종양 또는 암의 모든 징후의 소실을 지시한다. 이것은 암이 치유되었다는 것을 항상 의미하는 것은 아니다.

[0072] "부분적인 반응" 또는 "PR"은 치료에 대한 응답으로, 하나 또는 그 이상의 종양 또는 병변의 크기 또는 부피에서 감소, 또는 체내에서 암의 정도에서 감소를 지칭한다.

[0073] "안정된 질환"은 진행 또는 재발 없는 질환을 지칭한다. 안정된 질환에서, 부분적인 반응에 대한 자격을 부여하는데 충분한 종양 수축 및 진행성 질환으로서 자격을 부여하는데 충분한 종양 증가가 없다.

[0074] "진행성 질환"은 하나 이상의 새로운 병변 또는 종양의 출현 및/또는 현존하는 비-표적 병변의 명백한 진행을 지칭한다. 진행성 질환은 또한, 종양의 질량 또는 확산에서 증가로 인해, 치료가 시작된 이후, 20 퍼센트보다 많은 종양 성장을 지칭할 수 있다.

[0075] "질환 없는 생존" (DFS)은 환자가 질환 없이 살아남는, 치료 동안과 후에 시간의 길이를 지칭한다.

[0076] "전반적인 생존" (OS)은 환자 등록에서부터 사망까지 또는 살아있는 것으로 알려진 마지막 일자에서 감시까지의 시간을 지칭한다. OS는 경험 없는 또는 치료되지 않은 개체 또는 환자와 비교하여 기대 수명에서 연장을 포함한다. 전반적인 생존은 환자가 예로서, 진단 또는 치료의 시간으로부터 규정된 기간, 예를 들면, 1년, 5년 등 동안 살아남아있는 상황을 지칭한다.

[0077] "CA125 수준에서 감소"는 Gynecologic Cancer Intergroup (GCIG) 지침에 따라 사정될 수 있다. 가령, CA125 수준은 기준선 CA125 수준을 확립하기 위해 치료에 앞서 계측될 수 있다. CA125 수준은 치료 동안 또는 후에 1회 또는 그 이상 계측될 수 있고, 그리고 기준선 수준과 비교하여 시간의 흐름에서 CA125 수준에서 감소는 CA125

수준에서 감소인 것으로 고려된다.

[0078] 용어, 예를 들면, "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하기 위해" 또는 "경감하는" 또는 "경감하기 위해"는 진단된 병리학적 장애 또는 질환을 치유하고, 이의 속도를 늦추고, 이의 증상을 줄이고, 및/또는 이의 진행을 중단시키는 치료적 조치를 지칭한다. 따라서, 치료가 필요한 개체는 장애로 이미 진단된 또는 장애를 갖는 것으로 의심되는 개체를 포함한다. 일정한 구체예에서, 개체는 환자가 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 보여주면, 본 발명의 방법에 따라 암에 대해 성공적으로 "치료된다": 암 세포의 숫자에서 감소 또는 암 세포의 완전한 부재; 종양 크기에서 감소; 예로서, 연조직과 뼈 내로 암의 확산을 비롯하여 말초 장기 내로 암 세포 침윤의 저해 또는 부재; 종양 전이의 저해 또는 부재; 종양 성장의 저해 또는 부재; 특정한 암과 연관된 하나 또는 그 이상의 증상의 경감; 감소된 이환율과 사망률; 삶의 질에서 향상; 종양의 종양형성, 종양형성 빈도, 또는 종양형성 능력에서 감소; 종양에서 암 줄기 세포의 숫자 또는 빈도에서 감소; 종양형성 세포의 비종양형성 상태로의 분화; 증가된 진행 없는 생존 (PFS), 질환 없는 생존 (DFS), 또는 전반적인 생존 (OS), 완전한 반응 (CR), 부분적인 반응 (PR), 안정된 질환 (SD), 진행성 질환 (PD)에서 감소, 진행까지 감소된 시간 (TP), 난소암의 경우에 CA125에서 감소, 또는 이들의 임의의 조합.

[0079] 예방적 또는 방지적 조치는 표적화된 병리학적 장애 또는 장애의 발달을 예방하고 및/또는 늦추는 치료적 조치를 지칭한다. 따라서, 예방적 또는 방지적 조치가 필요한 개체는 장애를 앓기 쉬운 개체 및 장애가 예방되어야 하는 개체를 포함한다.

[0080] 용어 "전치료하다"와 "전치료"는 항-FOLR1 치료제의 투여에 앞서 발생하는 치료적 조치를 지칭한다. 가령, 본원에서 더욱 상세하게 설명된 바와 같이, 예방제, 예를 들면, 스테로이드가 항-FOLR1 치료제의 투여에 앞서 약 1 주, 약 5 일, 약 3 일, 약 2 일, 또는 약 1 일 또는 24 시간 이내에 투여될 수 있다. 예방제는 또한, 항-FOLR1 치료제와 동일자에, 항-FOLR1 치료제에 앞서 투여될 수 있다.

[0081] "화학치료제"는 작용 기전에 상관없이, 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학치료제는 예로서, CD20의 길항제, 예를 들면, 리툭시맙과 시크로포스파미드, 독소루비신, 빙크리스틴, 프레드니손, 플루다라빈, 에토포시드, 메토트렉사트, 레날리도미드, 클로람부실, 벤다무스틴 및/또는 이런 화학요법제의 변형된 이형을 포함한다.

[0082] 용어 "폴리펩티드," "펩티드," 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 교체 가능하게 이용된다. 중합체는 선형이거나 또는 분지될 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 그리고 비-아미노산이 끼어들 수 있다. 이를 용어는 또한, 자연적으로 또는 개입에 의해; 예를 들면, 이황화 결합 형성, 당화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예를 들면, 표지화 성분으로 접합에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포괄한다. 또한, 상기 정의 내에는 예로서, 아미노산의 하나 또는 그 이상의 유사체 (예로서, 비자연적인 아미노산 등 포함)뿐만 아니라 당분야에서 공지된 다른 변형을 내포하는 폴리펩티드가 포함된다. 본 발명의 폴리펩티드가 항체에 기초되기 때문에, 일정한 구체예에서, 이를 폴리펩티드는 단일 사슬 또는 연관된 사슬로서 발생할 수 있는 것으로 이해된다.

[0083] 2개 또는 그 이상 핵산 또는 폴리펩티드의 배경에서 용어 "동일한" 또는 퍼센트 "동일성"은 임의의 보존성 아미노산 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않으면서, 최고 상응을 위해 비교되고 정렬될 때 (필요하면, 캡을 도입), 동일하거나 또는 특정된 백분율의 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 갖는 2개 또는 그 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 퍼센트 동일성은 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 이용하여 또는 시각적 검사에 의해 계측될 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열의 정렬을 획득하는데 이용될 수 있는 다양한 알고리즘과 소프트웨어가 당분야에서 공지된다. 서열 정렬 알고리즘의 이와 같은 한 가지 무제한적 실례는 Karlin et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:2264-2268에서 설명되고, Karlin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:5873-5877에서처럼 변형되고, 그리고 NBLAST와 XBLAST 프로그램 (Altschul et al., 1991, *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-3402) 내로 통합된 알고리즘이다. 일정한 구체예에서, 캡트 BLAST가 Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402에서 설명된 바와 같이 이용될 수 있다. BLAST-2, WU-BLAST-2 (Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology*, 266:460-480), ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, California) 또는 Megalign (DNASTAR)은 서열을 정렬하는데 이용될 수 있는 추가의 공개적으로 사용한 소프트웨어 프로그램이다. 일정한 구체예에서, 2개의 뉴클레오티드 서열 사이에 퍼센트 동일성은 GCG 소프트웨어에서 GAP 프로그램을 이용하여 결정된다 (가령, NWSgapdna.CMP 매트릭스, 40, 50, 60, 70, 또는 90의 캡 가중 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중을 이용). 일정한 대안적 구체예에서, Needleman과 Wunsch의 알고리즘 (*J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970))을 통합하는, GCG 소프트웨어 패키지에서 GAP 프로그램이 2개의 아미노산 서열 사이에 퍼센트 동일성을 결정하는데 이용될 수 있다 (가령, Blossum 62 매트릭스 또는

PAM250 매트릭스, 그리고 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 갭 가중 및 1, 2, 3, 4, 5의 길이 가중을 이용). 대안으로, 일정한 구체예에서, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이에 퍼센트 동일성은 Myers와 Miller의 알고리즘 (CABIOS, 4:11-17 (1989))을 이용하여 결정된다. 가령, 퍼센트 동일성은 ALIGN 프로그램 (버전 2.0)을 이용하고, 그리고 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티를 갖는 PAM120을 이용하여 결정될 수 있다. 특정 정렬 소프트웨어에 의한 최대 정렬을 위한 적절한 파라미터는 당업자에 의해 결정될 수 있다. 일정한 구체예에서, 정렬 소프트웨어의 디폴트 파라미터가 이용된다. 일정한 구체예에서, 두 번째 서열 아미노산에 대한 첫 번째 아미노산 서열의 백분율 동일성 "X"는 100 x (Y/Z)로서 계산되는데, 여기서 Y는 첫 번째와 두 번째 서열의 정렬에서 동일한 정합으로서 채점된 아미노산 잔기의 숫자 (시각적 검사 또는 특정 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬될 때)이고, 그리고 Z는 두 번째 서열에서 잔기의 총수이다. 첫 번째 서열의 길이가 두 번째 서열보다 길면, 두 번째 서열에 대한 첫 번째 서열의 퍼센트 동일성은 첫 번째 서열에 대한 두 번째 서열의 퍼센트 동일성보다 길 것이다.

[0084] 무제한적 실례로서, 임의의 특정 폴리뉴클레오티드가 참고 서열에 일정한 백분율 서열 동일성 (가령, 최소한 80% 동일한, 최소한 85% 동일한, 최소한 90% 동일한, 그리고 일부 구체예에서, 최소한 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한)을 갖는 지는 일정한 구체예에서, Bestfit 프로그램 (Wisconsin Sequence Analysis Package, Unix용 버전 8, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)을 이용하여 결정될 수 있다. Bestfit은 두 서열 사이에 상동성의 최고 분절을 찾기 위해, Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2: 482-489 (1981)의 국부 상동성 알고리즘을 이용한다. 특정 서열이 예로서, 본 발명에 따른 참고 서열과 95% 동일한지를 결정하기 위해 Bestfit 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 이용할 때, 파라미터는 동일성의 백분율이 참고 뉴클레오티드 서열의 전장에 걸쳐 계산되고, 그리고 참고 서열에서 뉴클레오티드의 총수의 최대 5%의 상동성에서 갭이 허용되도록 설정된다.

[0085] 일부 구체예에서, 본 발명의 2개의 핵산 또는 폴리펩티드는 실제적으로 동일한데, 이것은 이들이 최고 상응을 위해 비교되고 정렬될 때, 서열 비교 알고리즘을 이용하거나 또는 시각적 검사에 의한 계측에서, 최소한 70%, 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 그리고 일부 구체예에서, 최소한 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 동일성을 갖는다는 것을 의미한다. 동일성은 길이에서 최소한 약 10개, 약 20개, 약 40-60개 잔기 또는 그 사이에 임의의 정수 값인 서열의 영역에 걸쳐 존재할 수 있고, 그리고 60-80개 잔기보다 긴 영역, 예를 들면, 최소한 약 90-100개 잔기에 걸쳐 있을 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, 이들 서열은 예로서, 비교되는 서열, 예를 들면, 뉴클레오티드 서열의 코딩 영역의 전장에 걸쳐 실제적으로 동일하다.

[0086] "보존성 아미노산 치환"은 한 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 다른 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 염기성 측쇄 (가령, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (가령, 아스파르트산, 글루타민산), 하전되지 않은 극성 측쇄 (가령, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (가령, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지된 측쇄 (가령, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (가령, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 비롯한, 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 당분야에서 규정되었다. 가령, 티로신에 대한 페닐알라닌의 치환은 보존성 치환이다. 일부 구체예에서, 본 발명의 폴리펩티드와 항체의 서열에서 보존성 치환은 이러한 폴리펩티드 또는 항체가 결합하는 항원(들), 즉, FOLR1에 대한, 아미노산 서열을 내포하는 폴리펩티드 또는 항체의 결합을 제거하지 않는다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드와 아미노산 보존성 치환을 확인하는 방법은 당분야에서 널리 공지된다 (가령, Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al. *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 그리고 Burks et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 412-417 (1997)을 참조한다).

[0087] 본 명세서 및 특허청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다.

[0088] 구체예가 본원에서 언어 "포함하는"으로 설명될 때는 언제나, "으로 구성되는" 및/또는 "으로 본질적으로 구성되는"의 면에서 설명된 다른 모든 면에서 유사한 구체예 역시 제공되는 것으로 이해된다.

[0089] 본원에서 관용구, 예를 들면, "A 및/또는 B"에서 이용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 "A와 B," "A 또는 B," "A," 그리고 "B"를 모두 포함하는 것으로 의도된다. 유사하게, 관용구, 예를 들면, "A, B, 및/또는 C"에서 이용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 다음의 구체예 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B, 그리고 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A와 C; A와 B; B와 C; A (단독); B (단독); 그리고 C (단독).

II. FOLR1 결합 작용제

[0091] 본원에서 설명된 방법은 FOLR1에 특이적으로 결합하는 서열 ("FOLR1 결합 작용제")을 투여하는 방법을 제공한다. 일정한 구체예에서, FOLR1 결합 작용제는 항체, 면역접합체 또는 폴리펩티드이다. 인간 FOLR1에 대한 아미노산과 뉴클레오티드 서열은 당분야에서 공지되고, 그리고 또한, 본원에서 서열 번호:1과 서열 번호:2에 의해 대표된 바와 같이 제공된다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1 결합 작용제는 서열 번호:1의 에피토프에 결합할 수 있다.

[0092] 치료적으로 효과적인 항-FOLR1 항체의 실례는 US 출원 공개 번호 US 2012/0009181에서 발견될 수 있는데, 이것은 본원에 참조로서 편입된다. 치료적으로 효과적인 항-FOLR1 항체의 실례는 huMov19 (M9346A)이다. 서열 번호:3-5의 폴리펩티드는 각각, huMov19 (M9346A)의 중쇄의 가변 도메인, 그리고 huMov19의 가변 도메인 경쇄 이형 1.00, 가변 도메인 경쇄 이형 1.60을 포함한다. 일정한 구체예에서, huMov19 (M9346A) 항체는 부다페스트 조약의 조건 하에 2010년 4월 7일자에, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110에 소재하는 American Type Culture Collection (ATCC)에 기탁되고 ATCC 수탁 번호 PTA-10772와 PTA-10773 또는 10774를 갖는 플라스미드에 의해 인코딩된다. 본 발명의 치료 방법에서 유용한 FOLR1 면역접합체의 실례는 아래에 제공된다.

[0093] 일부 구체예에서, FOLR1 결합 작용제는 인간화 항체 또는 이들의 항원 결합 단편이다. 일부 구체예에서, 인간화 항체 또는 단편은 표면치환된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 다른 구체예에서, FOLR1 결합 작용제는 완전한 인간 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.

[0094] 일정한 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 다음의 효과 중에서 하나 또는 그 이상을 갖는다: 안정된 질환을 유도하거나, 종양 세포의 증식을 저해하거나, 종양에서 암 줄기 세포의 빈도를 감소시킴으로써 종양의 종양형성을 감소시키거나, 종양 성장을 저해하거나, 생존을 증가시키거나, 종양 세포의 세포 사멸을 촉발하거나, 종양형성 세포를 비종양형성 상태로 분화하거나, 또는 종양 세포의 전이를 예방한다.

[0095] 일정한 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 항체-의존성 세포 세포독성 (ADCC) 활성을 갖는 항체이다.

[0096] 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 종양 체적을 감소시킬 수 있다. 종양 체적을 감소시키는 FOLR1-결합 작용제의 능력은 예로서, %T/C 값을 계측함으로써 사정될 수 있는데, 상기 값은 대조 개체의 중앙 종양 체적에 의해 나눗셈된 치료된 개체의 중앙 종양 체적이다. 일정한 구체예에서, 인간 FOLR1에 특이적으로 결합하는 면역접합체 또는 다른 작용제는 세포독성제를 통해 세포 사멸을 촉발한다. 가령, 일정한 구체예에서, 인간 FOLR1 항체에 대한 항체가 단백질 내재화에 의해 FOLR1을 발현하는 종양 세포에서 활성화되는 메이탄시노이드에 접합된다. 일정한 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 종양 성장을 저해할 수 있다. 일정한 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 생체내에서 (가령, 이종이식편 생쥐 모델에서 및/또는 암을 갖는 인간에서) 종양 성장을 저해할 수 있다.

[0097] FOLR1 결합 분자는 예로서, CDR마다 최대 4개 (즉, 0, 1, 2, 3, 또는 4개)의 보존성 아미노산 치환을 갖는 huMov19 (M9346A)의 CDR을 포함하는, FOLR1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편일 수 있고, 여기서 이들 항체 또는 단편은 뮤린 Mov19의 6개 CDR (즉, 서열 번호:6-9, 16, 그리고 12)을 포함하지 않는다. 폴리펩티드는 본원에서 설명된 개별 가변 경쇄 또는 가변 중쇄 중에서 한 가지를 포함할 수 있다. 항체와 폴리펩티드는 또한, 가변 경쇄와 가변 중쇄 둘 모두를 포함할 수 있다.

[0098] 일부 구체예에서, FOLR1 결합 분자는 서열 번호:6-10의 서열 및 서열 번호:12의 서열을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 구체예에서, FOLR1 결합 분자는 서열 번호:6-9의 서열 및 서열 번호:11과 12의 서열을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0099] 서열 번호:3, 서열 번호:4 또는 서열 번호:5에 최소한 약 90% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 역시 제공된다. 일정한 구체예에서, 폴리펩티드는 서열 번호:3, 서열 번호:4 또는 서열 번호:5에 최소한 약 95%, 최소한 약 96%, 최소한 약 97%, 최소한 약 98%, 또는 최소한 약 99% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, 일정한 구체예에서, 폴리펩티드는 (a) 서열 번호:3에 최소한 약 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 및/또는 (b) 서열 번호:4 또는 서열 번호:5에 최소한 약 95% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일정한 구체예에서, 폴리펩티드는 (a) 서열 번호:3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드; 및/또는 (b) 서열 번호:4 또는 서열 번호:5의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일정한 구체예에서, 폴리펩티드는 FOLR1에 특이적으로 결합하는 항체 및/또는 폴리펩티드이다. 일정한 구체예에서, 폴리펩티드는 FOLR1에 특이적으로 결합하는 뮤린, 키메라, 또는 인간화 항체이다. 일정한 구체예에서, 서열 번호:3, 서열 번호:4 또는 서열 번호:5에 일정한 백분율의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드는 단지 보존성 아미노산 치환에 의해 서열 번호:3, 서열 번호:4 또는 서열 번호:5와 상이하다.

[0100] 폴리펩티드는 본원에서 설명된 개별 경쇄 또는 중쇄 중에서 한 가지를 포함할 수 있다. 항체와 폴리펩티드는 또

한, 경쇄와 중쇄 둘 모두를 포함할 수 있다.

[0101] 단일클론 항체는 하이브리도마 방법, 예를 들면, Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256:495에 의해 설명된 것들을 이용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 방법을 이용하여, 생쥐, 햄스터, 또는 다른 적절한 숙주 동물을 면역화 항원에 특이적으로 결합할 항체의 림프구에 의한 생산을 이끌어내기 위해 앞서 설명된 바와 같이 면역화 된다. 림프구는 또한, 시험관내에서 면역화될 수 있다. 면역화 이후에, 림프구는 단리되고, 그리고 예로서, 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 적합한 골수종 세포주와 융합되어 하이브리도마 세포를 형성하고, 이들은 이후, 융합되지 않은 림프구 및 골수종 세포로부터 선별될 수 있다. 면역침전, 면역블로팅, 또는 시험관내 결합 검정 (가령, 방사면역검정 (RIA); 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA))에 의해 결정될 때 선택된 항원에 대하여 특이적으로 지향된 단일클론 항체를 생산하는 하이브리도마는 이후, 표준 방법 (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press, 1986)을 이용하여 시험관내 배양액으로서 또는 동물에서 생체내 복수 종양으로서 증식될 수 있다. 단일클론 항체는 이후, 상기 다중클론 항체에 대해 설명된 바와 같이 배양 배지 또는 복수액으로부터 정제될 수 있다.

[0102] 대안으로, 단일클론 항체는 또한, U.S. 특허 4,816,567에서 설명된 바와 같은 재조합 DNA 방법을 이용하여 만들어질 수 있다. 단일클론 항체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 예로서, 이러한 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 유전자를 특이적으로 증폭하는 올리고뉴클레오티드 프라이머를 이용한 RT-PCR에 의해 성숙 B-세포 또는 하이브리도마 세포로부터 단리되고, 그리고 그들의 서열은 전통적인 절차를 이용하여 결정된다. 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드는 이후, 적합한 발현 벡터 내로 클로닝되고, 이들은 숙주 세포, 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 만약 그렇지 않으면, 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 골수종 세포 내로 형질감염될 때, 단일클론 항체가 숙주 세포에 의해 산출된다. 또한, 원하는 종의 재조합 단일클론 항체 또는 이들의 단편은 기존 문헌에서 설명된 바와 같이, 원하는 종의 CDR을 발현하는 과지 전시 라이브러리로부터 단리될 수 있다 (McCafferty et al., 1990, *Nature*, 348:552-554; Clackson et al., 1991, *Nature*, 352:624-628; 그리고 Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597).

[0103] 단일클론 항체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드(들)는 대안적 항체를 산출하기 위해, 재조합 DNA 기술을 이용한 다수의 상이한 방식으로 더욱 변형될 수 있다. 일부 구체예에서, 예로서 생쥐 단일클론 항체의 경쇄와 중쇄의 불변 도메인은 1) 예로서, 키메라 항체를 산출하기 위해 인간 항체의 이들 영역에 대해 또는 2) 융합 항체를 산출하기 위해 비면역글로불린 폴리펩티드에 대해 치환될 수 있다. 일부 구체예에서, 불변 영역은 단일클론 항체의 원하는 항체 단편을 산출하기 위해 절두되거나 또는 제거된다. 가변 영역의 부위-지향된 또는 고밀도 돌연변이유발이 단일클론 항체의 특이성, 친화성 등을 최적화하는데 이용될 수 있다.

[0104] 일부 구체예에서, 인간 FOLR1에 대한 단일클론 항체는 인간화 항체이다. 일부 구체예에서, "인간화 항체"는 표면치환된 항체이다. 일정한 구체예에서, 이런 항체는 인간 개체에 투여될 때 항원성 및 HAMA (인간 항생쥐 항체) 반응을 감소시키기 위해 치료적으로 이용된다. 인간화 항체는 당분야에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. 일정한 대안적 구체예에서, FOLR1에 대한 항체는 인간 항체이다.

[0105] 인간 항체는 당분야에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 직접적으로 제조될 수 있다. 시험관내 면역화된 또는 표적 항원에 대해 지향된 항체를 생산하는 면역화된 개체로부터 단리된 영속화된 인간 B 림프구가 산출될 수 있다 (가령, Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., 1991, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95; 그리고 U.S. 특허 5,750,373을 참조한다). 또한, 인간 항체는 과지 라이브러리에서 선택될 수 있는데, 여기서 상기 과지 라이브러리는 예로서, Vaughan et al., 1996, *Nat. Biotech.*, 14:309-314, Sheets et al., 1998, *Proc. Nat'l. Acad. Sci.*, 95:6157-6162, Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381, 그리고 Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581)에서 설명된 바와 같이 인간 항체를 발현한다. 항체 과지 라이브러리의 산출과 이용을 위한 기술 역시 U.S. 특허 번호 5,969,108, 6,172,197, 5,885,793, 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915; 6,593,081; 6,300,064; 6,653,068; 6,706,484; 그리고 7,264,963; 그리고 Rothe et al., 2007, *J. Mol. Biol.*, doi:10.1016/j.jmb.2007.12.018에서 설명된다 (이들은 각각 전체적으로 참조로서 편입된다). 친화성 성숙 전략 및 사슬 뒤섞음 전략 (Marks et al., 1992, *Bio/Technology* 10:779-783, 전체적으로 참조로서 편입됨)은 당분야에서 공지되고 높은 친화성 인간 항체를 산출하는데 이용될 수 있다.

[0106] 인간화 항체는 또한, 내인성 면역글로불린 생산의 부재에서 인간 항체의 완전한 레퍼토리를 면역화 시에 생산할 수 있는 인간 면역글로불린 좌위를 내포하는 유전자도입 생쥐에서 만들어질 수 있다. 이러한 접근법은 U.S. 특허 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 그리고 5,661,016에서 설명된다.

[0107]

본 발명은 또한, FOLR1을 특이적으로 인식하는 이중특이적 항체를 포함한다. 이중특이적 항체는 최소한 2개의 상이한 에피토프를 특이적으로 인식하고 결합할 수 있는 항체이다. 상이한 에피토프는 둘 모두, 예를 들면, 이들 항체가 FOLR1뿐만 아니라, 예로서 1) 백혈구 상에서 작동체 분자, 예를 들면, T 세포 수용체 (가령, CD3) 또는 아래에 상세하게 설명된 바와 같이 Fc 수용체 (가령, CD64, CD32, 또는 CD16) 또는 2) 세포독성제를 특이적으로 인식하고 결합할 수 있도록, 동일한 분자 (가령, 동일한 FOLR1) 내에 또는 상이한 분자 상에 있을 수 있다.

[0108]

본 발명의 폴리펩티드는 인간 FOLR1에 대한 항체, 또는 이의 단편을 포함하는 재조합 폴리펩티드, 자연 폴리펩티드, 또는 합성 폴리펩티드일 수 있다.

[0109]

폴리펩티드와 유사체는 정상적으로 단백질의 일부가 아닌 추가 화학적 모이어티를 내포하도록 더욱 변형될 수 있다. 이들 유도체화된 모이어티는 단백질의 용해도, 생물학적 반감기 또는 흡수를 향상시킬 수 있다. 이들 모이어티는 또한, 단백질 등의 임의의 바람직한 부작용을 감소시키거나 또는 제거할 수 있다. 이들 모이어티에 대한 개요는 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 20th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000)에서 발견될 수 있다.

[0110]

본원에서 설명된 단리된 폴리펩티드는 당분야에서 공지된 임의의 적절한 방법에 의해 생산될 수 있다. 이런 방법은 직접적인 단백질 합성 방법에서부터 단리된 폴리펩티드 서열을 인코딩하는 DNA 서열을 작제하고 이를 서열을 적합한 형질전환된 숙주에서 발현하는 것까지의 범위에 있다. 일부 구체예에서, DNA 서열은 관심되는 야생형 단백질을 인코딩하는 DNA 서열을 단리하거나 또는 합성함으로써 재조합 기술을 이용하여 작제된다. 임의선택적으로, 서열은 이의 기능적 유사체를 제공하기 위해 부위 특이적 돌연변이유발에 의해 돌연변이화될 수 있다. 가령, Zoeller et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 81:5662-5666 (1984) 및 U.S. 특허 번호 4,588,585를 참조한다.

[0111]

일부 구체예에서, 관심되는 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA 서열은 올리고뉴클레오티드 합성장치를 이용한 화학적 합성에 의해 작제될 것이다. 이런 올리고뉴클레오티드는 원하는 폴리펩티드의 아미노산 서열 및 관심되는 재조합 폴리펩티드가 생산될 숙주 세포에서 선호되는 코돈의 선별에 기초하여 설계될 수 있다. 관심되는 단리된 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드 서열을 합성하는데 표준 방법이 적용될 수 있다. 가령, 완전한 아미노산 서열이 역-번역된 유전자를 작제하는데 이용될 수 있다. 게다가, 특정 단리된 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 내포하는 DNA 소중합체가 합성될 수 있다. 가령, 원하는 폴리펩티드의 부분을 코딩하는 여러 작은 올리고뉴클레오티드가 합성되고, 그리고 이후 결합될 수 있다. 개별 올리고뉴클레오티드는 전형적으로, 상보성 어셈블리를 위한 5' 또는 3' 오버행을 내포한다.

[0112]

일단 조립되면 (합성, 특정 부위 돌연변이유발 또는 다른 방법에 의해), 관심되는 특정 단리된 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 발현 벡터 내로 삽입되고, 그리고 원하는 숙주에서 상기 단백질의 발현에 적절한 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결될 것이다. 적절한 어셈블리는 뉴클레오티드 염기서열결정, 제한효소지도화, 그리고 적합한 숙주에서 생물학적으로 활성 폴리펩티드의 발현에 의해 확증될 수 있다. 당분야에서 널리 공지된 바와 같이, 숙주에서 형질감염된 유전자의 높은 발현 수준을 획득하기 위해, 유전자는 선택된 발현 숙주에서 기능적인 전사와 번역 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결되어야 한다.

[0113]

일정한 구체예에서, 재조합 발현 벡터가 인간 FOLR1에 대한 항체, 또는 이들의 단편을 인코딩하는 DNA를 증폭하고 발현하는데 이용된다. 재조합 발현 벡터는 포유류, 미생물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래된 적합한 전사 또는 번역 조절 요소에 작동가능하게 연결된 항-FOLR1 항체, 또는 이의 단편의 폴리펩티드 사슬을 인코딩하는 합성 또는 cDNA-유래된 DNA 단편을 갖는 복제가능한 DNA 구조체이다. 전사 단위는 일반적으로, (1) 유전자 발현에서 조절 역할을 갖는 유전자 원소 또는 원소들, 예를 들면, 전사 프로모터 또는 인핸서, (2) mRNA로 전사되고 단백질로 번역되는 구조적 또는 코딩 서열, 그리고 (3) 아래에 상세하게 설명된 바와 같이, 적절한 전사와 번역 개시와 종결 서열의 어셈블리를 포함한다. 이런 조절 요소는 전사를 제어하는 오퍼레이터 서열을 포함할 수 있다. 숙주에서 복제하는 능력은 통상적으로 복제 기점에 의해 부여되고, 그리고 형질전환체의 인식을 용이하게 하는 선별 유전자가 부가적으로 통합될 수 있다. DNA 영역은 그들이 서로에 기능적으로 관련될 때 작동가능하게 연결된다. 가령, 신호 웨პ티드 (분비성 리더)에 대한 DNA가 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전구체로서 발현되면, 이것은 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동가능하게 연결된다; 프로모터가 서열의 전사를 제어하면, 이것은 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다; 또는 리보솜 결합 부위가 번역을 협용하기 위해 배치되면, 이것은 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 효모 발현 시스템에서 이용에 의도된 구조적 원소는 숙주 세포에 의한 번역된 단백질의 세포외 분비를 실시가능하게 하는 리더 서열을 포함한다. 대안으로, 재조합 단백질이 리더 또는 운반 서

열 없이 발현되는 경우에, 이것은 N 말단 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 잔기는 임의선택적으로, 최종 산물을 제공하기 위해, 발현된 재조합 단백질로부터 차후에 개열될 수 있다.

[0114] 발현 제어 서열과 발현 벡터의 선택은 숙주의 선택에 의존할 것이다. 매우 다양한 발현 숙주/벡터 조합이 이용될 수 있다. 진핵 숙주에 유용한 발현 벡터는 예로서, SV40, 소 유두종 바이러스, 아데노바이러스 및 시토메갈로바이러스로부터 발현 제어 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 세균 숙주에 유용한 발현 벡터는 pCR 1, pBR322, pMB9와 이들의 유도체를 비롯한 공지된 세균 플라스미드, 예를 들면, 대장균 (*Escherichia coli*)으로부터 플라스미드, 더욱 넓은 숙주 범위 플라스미드, 예를 들면, M13과 실모양 단일 가닥 DNA 과자를 포함한다.

[0115] FOLR1-결합 폴리펩티드 또는 항체 (또는 항원으로서 이용을 위한 FOLR1 단백질)의 발현에 적합한 숙주 세포는 적절한 프로모터의 제어 하에 원핵생물, 효모, 곤충 또는 고등 진핵 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람 음성 또는 그람 양성 생물체, 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) 또는 바실루스를 포함한다. 고등 진핵 세포는 아래에 설명된 바와 같이 포유류 기원의 확립 세포주를 포함한다. 무세포 번역 시스템 역시 이용될 수 있었다. 세균, 진균, 효모, 그리고 포유류 세포 숙주에서 이용을 위한 적절한 클로닝과 발현 벡터는 Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., 1985)에 의해 설명되고, 이것의 유관한 개시는 여기에 참조로서 편입된다. 항체 생산을 비롯하여, 단백질 생산의 방법에 관한 추가 정보는 예로서, U.S. 특허 공개 번호 2008/0187954, U.S. 특허 번호 6,413,746과 6,660,501, 그리고 국제 특허 공개 번호 WO 04009823에서 발견될 수 있고, 이들은 각각 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다.

[0116] 다양한 포유류 또는 곤충 세포 배양 시스템 역시 재조합 단백질을 발현하는데 유리하게 이용된다. 포유류 세포에서 재조합 단백질의 발현이 수행될 수 있는데, 그 이유는 이런 단백질이 일반적으로 정확하게 접힘되고, 적절하게 변형되고, 그리고 완전하게 기능적이기 때문이다. 적합한 포유류 숙주 세포주의 실례는 Gluzman (Cell 23:175, 1981)에 의해 설명된 원숭이 신장 세포의 COS-7 라인, 그리고 예로서, L 세포, C127, 3T3, 중국 햄스터 난소 (CHO), HeLa와 BHK 세포주를 비롯하여 적절한 벡터를 발현할 수 있는 다른 세포주를 포함한다. 포유류 발현 벡터는 비전사된 원소, 예를 들면, 복제 기점, 발현되는 유전자에 연결된 적합한 프로모터와 인핸서, 그리고 다른 5' 또는 3' 측면에 접하는 비전사된 서열, 그리고 5' 또는 3' 비변역된 서열, 예를 들면, 필요한 리보솜 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 스플라이스 공여자와 수용자 부위, 그리고 전사 종결 서열을 포함할 수 있다. 곤충 세포에서 이종성 단백질의 생산을 위한 배클로바이러스 시스템은 Luckow and Summers, Bio/Technology 6:47 (1988)에 의해 재고된다.

[0117] 형질전환된 숙주에 의해 생산된 단백질은 임의의 적절한 방법에 따라 정제될 수 있다. 이런 표준 방법은 크로마토그래피 (가령, 이온 교환, 친화성과 크기산정 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 차별적 용해도, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술을 포함한다. 친화성 태그, 예를 들면, 헥사히스티딘, 말토오스 결합 도메인, 인플루엔자 피막 서열 및 글루타티온-S-전달효소가 적절한 친화성 칼럼 위에서 통과에 의한 쉬운 정제를 허용하도록 단백질에 부착될 수 있다. 단리된 단백질은 또한, 단백질분해, 핵 자기 공명 및 x-선 결정학과 같은 기술을 이용하여 물리적으로 특징화될 수 있다.

[0118] 가령, 재조합 단백질을 배양 배지 내로 분비하는 시스템으로부터 상층액은 먼저, 상업적으로 가용한 단백질 농축 필터, 예를 들면, Amicon 또는 Millipore Pellicon 한외여과 단위를 이용하여 농축될 수 있다. 농축 단계 이후에, 농축물은 적합한 정제 매트릭스에 적용될 수 있다. 대안으로, 음이온 교환 수지, 예를 들면, 펜던트 디에틸아미노에틸 (DEAE) 기를 갖는 매트릭스 또는 기질이 이용될 수 있다. 매트릭스는 아크릴아미드, 아가로오스, 텍스트란, 셀룰로오스 또는 단백질 정제에서 통상적으로 이용되는 다른 유형일 수 있다. 대안으로, 양이온 교환 단계가 이용될 수 있다. 적합한 양이온 교환체는 슬포프로필 또는 카르복시메틸 기를 포함하는 다양한 불용성 매트릭스를 포함한다. 최종적으로, 소수성 RP-HPLC 매체, 예를 들면, 펜던트 메틸 또는 다른 지방족 기를 갖는 실리카 젤을 이용한 하나 또는 그 이상의 역상 고성능 액체크로마토그래피 (RP-HPLC) 단계가 FOLR1-결합 작용제를 더욱 정제하는데 이용될 수 있다. 다양한 조합에서 전술한 정제 단계의 일부 또는 전부가 균질한 재조합 단백질을 제공하는데 또한 이용될 수 있다.

[0119] 세균 배양에서 생산된 재조합 단백질은 예로서, 세포 펠렛으로부터 초기 추출, 그 이후에 하나 또는 그 이상의 농축, 염석, 수성 이온 교환 또는 크기 배제 크로마토그래피 단계에 의해 단리될 수 있다. 고성능 액체크로마토그래피 (HPLC)가 최종 정제 단계를 위해 이용될 수 있다. 재조합 단백질의 발현에서 이용된 미생물 세포는 동결-해동 사이클링, 초음파처리, 기계적 교란, 또는 세포 용해 작용제의 이용을 비롯한 임의의 편의한 방법에 의해 교란될 수 있다.

[0120] 항체 및 다른 단백질을 정제하기 위한 당분야에서 공지된 방법은 예로서, U.S. 특허 공개 번호 2008/0312425,

2008/0177048, 그리고 2009/0187005에서 설명된 것들을 또한 포함하고, 이들은 각각 전제적으로 본원에 참조로서 편입된다.

[0121] III. 면역접합체

약물 또는 전구약물에 연결된 또는 접합된, 본원에서 개시된 바와 같은 항-FOLR1 항체, 항체 단편, 그리고 그들의 기능적 등가물을 포함하는 접합체 (또한 면역접합체로서 본원에서 지칭됨)를 투여하기 위한 방법 역시 본원에서 설명된다. 적합한 약물 또는 전구약물은 당분야에서 공지된다. 약물 또는 전구약물은 세포독성제일 수 있다. 본 발명의 세포독성 접합체에서 이용된 세포독성제는 세포 사멸을 유발하거나, 또는 세포 사멸을 유도하거나, 또는 일부 방식에서 세포 생존력을 줄이고, 그리고 예로서, 메이탄시노이드와 메이탄시노이드 유사체를 포함하는 임의의 화합물일 수 있다. 다른 적합한 세포독성제는 예로서, 벤조디아제핀, 탁소이드, CC-1065와 CC-1065 유사체, 듀오카마이신과 듀오카마이신 유사체, 에네다인, 예를 들면, 칼리키아마이신, 돌라스타틴과 아우리스타틴을 비롯한 돌라스타틴 유사체, 토메이마이신 유도체, 램토마이신 유도체, 메토트렉사트, 시스플라틴, 카르보플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 빙크리스틴, 빙블라스틴, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 그리고 모르폴리노 독소루비신이다.

[0123] 이런 접합체는 약물 또는 전구약물을 항체 또는 기능적 등가물에 연결하기 위해 연결 기를 이용함으로써 제조될 수 있다. 적합한 연결 기는 당분야에서 널리 공지되고, 그리고 예로서, 이황화 기, 티오에테르 기, 산 불안정 기, 광불안정 기, 펩티드분해효소 불안정 기 및 에스테르분해효소 불안정 기를 포함한다.

[0124] 약물 또는 전구약물은 예로서, 이황화 결합을 통해 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 링커 분자 또는 교차연결제는 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편과 반응할 수 있는 반응성 화학적 기를 포함한다. 세포 결합 작용제와의 반응을 위한 반응성 화학적 기는 *N*-숙신이미딜 에스테르 및 *N*-술포숙신이미딜 에스테르일 수 있다. 부가적으로, 링커 분자가 반응성 화학적 기를 포함하는데, 이것은 약물과 반응하여 이황화 결합을 형성할 수 있는 디티오피리딜 기일 수 있다. 링커 분자는 예로서, *N*-숙신이미딜 3-(2-피리딜디티오) 프로피온산염 (SPDP) (가령, Carlsson et al., *Biochem. J.*, 173: 723-737 (1978)을 참조한다), *N*-숙신이미딜 4-(2-피리딜디티오) 부타노에이트 (SPDB) (가령, U.S. 특허 번호 4,563,304를 참조한다), *N*-숙신이미딜 4-(2-피리딜디티오) 2-술포부타노에이트 (술포-SPDB) (US 공개 번호 20090274713을 참조한다), *N*-숙신이미딜 4-(2-피리딜디티오) 펜타노에이트 (SPP) (가령, CAS 등록 번호 341498-08-6을 참조한다), 2-이미노티올란, 또는 아세틸숙신산 무수물을 포함한다. 가령, 항체 또는 세포 결합 작용제는 교차연결 시약으로 변형될 수 있고, 그리고 유리 또는 보호된 티올 기를 내포하고, 따라서 파생되는 항체 또는 세포 결합 작용제는 이후, 이황화물- 또는 티올-내포 메이탄시노이드와 반응되어 접합체를 생산한다. 이들 접합체는 HPLC, 크기-배제, 흡착, 이온 교환과 친화성 포획, 투석 또는 접선 유동 여과가 포함되지만 이들에 한정되지 않는 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있다.

[0125] 본 발명의 다른 양상에서, 항-FOLR1 항체는 면역접합체의 효능, 용해도 또는 효력을 증강하는데 있어서 이황화 결합 및 폴리에틸렌 글리콜 스페이서를 통해 세포독성 약물에 연결된다. 이런 개열가능한 친수성 링커는 WO2009/0134976에서 설명된다. 이러한 링커 설계의 추가 이익은 항체-약물 접합체의 원하는 높은 단위체 비율과 최소 응집이다. 이러한 양상에서, 2-8의 좁은 범위의 약물 하중을 갖는 폴리에틸렌 글리콜 스페이서 ($(CH_2CH_2O)_{n=1-14}$)를 보유하는, 이황화 기 (-S-S-)를 통해 연결된 세포 결합 작용제와 약물의 접합체가 구체적으로 예기되고, 이들은 암 세포를 향하여 상대적으로 높은 강력한 생물학적 활성을 보여주고, 그리고 높은 접합 수율의 원하는 생화학적 성질 및 최소 단백질 응집에서 높은 단위체 비율을 갖는다.

[0126] 비개열가능한 링커를 갖는 항체-메이탄시노이드 접합체 역시 제조될 수 있다. 이런 교차연결제는 당분야에서 설명되고 (US 공개 번호 20050169933을 참조한다), 그리고 여기에는 *N*-숙신이미딜 4-(말레이미도메틸) 시클로헥산 카르복실레이트 (SMCC)가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서, 항체는 1-10개 반응성 기를 도입하기 위해, 기존 문헌에서 설명된 바와 같이, 교차연결 시약, 예를 들면, 숙신이미딜 4-(*N*-말레이미도메틸)-시클로헥산-1-카르복실산염 (SMCC), 술포-SMCC, 말레이미도벤조일-*N*-히드록시숙신이미드 에스테르 (MBS), 술포-MBS 또는 숙신이미딜-요오드아세트산염으로 변형된다 (Yoshitake et al, *Eur. J. Biochem.*, 101:395-399 (1979); Hashida et al, *J. Applied Biochem.*, 56-63 (1984); 그리고 Liu et al, *Biochem.*, 18:690-697 (1979)). 변형된 항체는 이후, 접합체를 생산하기 위해 티올-내포 메이탄시노이드 유도체와 반응된다. 접합체는 세파텍스 G25 칼럼을 통한 젤 여과에 의해 또는 투석 또는 접선 유동 여과에 의해 정제될 수 있다. 변형된 항체는 티올-내포 메이탄시노이드 (1 내지 2 몰 당량/말레이미도 기)로 처리되고, 그리고 항체-메이탄시노이드 접합체는 세파텍스 G-25 칼럼을 통한 젤 여과, 세라믹 수산화인화석 칼럼 상에서 크로마토그래피, 투석 또는 접선 유동 여과 또는 이들 방법의 조합에 의해 정제된다. 전형적으로, 항체마다 평균적으로 1-10개의 메이탄시노이드

가 연결된다. 한 가지 방법은 항체를 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)-시클로헥산-1-카르복실산염 (SMCC)으로 변형하여 말레이미도 기를 도입하고, 그 이후에 변형된 항체를 티올-내포 메이탄시노이드와 반응시켜 티오에테르-연결된 접합체를 제공하는 것이다. 다시 한 번, 항체 분자마다 1 내지 10개 약물 분자를 갖는 접합체가 발생한다. 항체, 항체 단편, 그리고 다른 단백질의 메이탄시노이드 접합체는 동일한 방식으로 만들어진다.

[0127] 본 발명의 다른 양상에서, FOLR1 항체는 PEG 스페이서의 중개를 통한 비개열가능한 결합에 의해 약물에 연결된다. 약물과 항-FOLR1 항체 또는 단편 사이에 링커를 형성하는 친수성 PEG 사슬을 포함하는 적합한 교차연결 시약 역시 당분야에서 널리 공지되거나, 또는 상업적으로 가용하다 (가령, Quanta Biodesign, Powell, Ohio로부터). 적합한 PEG-내포 교차연결제는 당업자에게 공지된 표준 합성 화학 기술을 이용하여 상업적으로 가용한 PEG 자체로부터 또한 합성될 수 있다. 약물은 US 특허 공개 20090274713 및 WO2009/0134976에서 상세하게 설명된 방법에 의해 이중기능성 PEG-내포 교차연결제와 반응되어 다음의 화학식, $Z-X_i-(-CH_2-CH_2-O-)_n-Y_p-D$ 의 화합물을 제공할 수 있고, 이들은 이후, 세포 결합 작용제와 반응하여 접합체를 제공할 수 있다. 대안으로, 세포 결합은 이중기능성 PEG 교차연결제로 변형되어 티올-반응성 기 (가령, 말레이미드 또는 할로아세트아미드)를 도입할 수 있고, 이것은 이후, 티올-내포 메이탄시노이드로 처리되어 접합체를 제공할 수 있다. 다른 방법에서, 세포 결합은 이중기능성 PEG 교차연결제로 변형되어 티올 모이어티를 도입할 수 있고, 이것은 이후, 티올-반응성 메이탄시노이드 (가령, 말레이미드 또는 할로아세트아미드를 보유하는 메이탄시노이드)로 처리되어 접합체를 제공할 수 있다.

[0128] 적합한 PEG-내포 링커의 실례는 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편과의 반응을 위한 N-숙신이미딜 에스테르 또는 N-술포숙신이미딜 에스테르 모이어티뿐만 아니라 화합물과의 반응을 위한 말레이미도- 또는 할로아세틸-기초된 모이어티를 갖는 링커를 포함한다. PEG 스페이서는 본원에서 설명된 방법에 의해, 당분야에서 공지된 임의의 교차연결제 내로 통합될 수 있다.

[0129] 일부 구체예에서, 링커는 예로서, U.S. 특허 공개 번호 2012/0282282에서 설명된 바와 같은 최소한 하나의 하전된 기를 내포하는 링커이고, 이의 내용은 완전하게 본원에 참조로서 편입된다. 일부 구체예에서, 하전된 또는 전-하전된 교차연결제는 변형된 세포 결합 작용제 및 세포 결합 작용제-약물 접합체, 특히 2 내지 20개 약물/항체가 연결된 단일클론 항체-약물 접합체의 용해도를 유의미하게 증가시키는 술폰산염, 인산염, 카르복실 또는 사차 아민 치환체를 내포하는 것들이다. 전-하전된 모이어티를 내포하는 링커로부터 제조된 접합체는 이러한 접합체가 세포에서 물질대사된 후에, 하나 또는 그 이상의 하전된 모이어티를 생산할 것이다. 일부 구체예에서, 링커는 다음과 같이 구성된 군에서 선택된다: N-숙신이미딜 4-(2-피리딜디티오)-2-술포펜타노에이트 (술포-SPP) 및 N-숙신이미딜 4-(2-피리딜디티오)-2-술포부타노에이트 (술포-SPDB).

[0130] 본원에서 개시된 링커 중에서 다수는 U.S. 특허 공개 번호 2005/0169933, 2009/0274713, 그리고 2012/0282282에서, 그리고 WO2009/0134976에서 상세하게 설명된다; 이들의 내용은 완전하게 본원에 참조로서 편입된다.

[0131] 본 발명은 약 2개 내지 약 8개 약물 분자 ("약물 하중"), 예를 들면, 메이탄시노이드가 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편에 연결되는 양상을 포함한다. "약물 하중"은 본원에서 이용된 바와 같이, 세포 결합 작용제 (가령, 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편)에 부착될 수 있는 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)의 숫자를 지칭한다. 한 양상에서, 세포 결합 작용제에 부착될 수 있는 약물 분자의 숫자는 평균적으로 약 2 내지 약 8 (가령, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8.0, 8.1)이다. N2'-데아세틸-N2'-(3-메르캅토-1-옥소프로필)-메이탄신 (DM1) 및 N2'-데아세틸-N2'-(4-메르캅토-4-메틸-1-옥소펜틸) 메이탄신 (DM4)이 이용될 수 있다.

[0132] 따라서, 한 양상에서, 면역접합체는 항체마다 1개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 2개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 3개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 4개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 5개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 6개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 7개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 8개의 메이탄시노이드를 포함한다.

[0133] 한 양상에서, 면역접합체는 항체마다 약 1 내지 약 8개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 약 2 내지 약 7개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 약 2 내지 약 6개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 약 2 내지 약 5개의 메이탄시

노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 약 3 내지 약 5개의 메이탄시노이드를 포함한다. 다른 양상에서, 면역접합체는 항체마다 약 3 내지 약 4개의 메이탄시노이드를 포함한다.

[0134] 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 2 내지 약 8 (가령, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8.0, 8.1)개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)가 부착된다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 1 내지 약 8개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 2 내지 약 7개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 2 내지 약 6개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 2 내지 약 5개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 3 내지 약 5개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 3 내지 약 4개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다.

[0135] 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 2 ± 0.5, 약 3 ± 0.5, 약 4 ± 0.5, 약 5 ± 0.5, 약 6 ± 0.5, 약 7 ± 0.5, 또는 약 8 ± 0.5 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)가 부착된다. 한 양상에서, 면역접합체를 포함하는 조성물은 항체마다 평균적으로 약 3.5 ± 0.5개의 약물 분자 (가령, 메이탄시노이드)를 갖는다.

[0136] 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편은 이중기능성 교차연결 시약을 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편과 반응시키고, 따라서 항-FOLR1 항체 또는 이의 단편에 링커 분자의 공유 부착을 유발함으로써 변형될 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, "이중기능성 교차연결 시약"은 세포 결합 작용제를 약물, 예를 들면, 본원에서 설명된 약물에 공유적으로 연결하는 임의의 화학적 모이어티이다. 다른 방법에서, 연결 모이어티의 부분은 약물에 의해 제공된다. 이점에 관하여, 약물은 세포 결합 작용제를 약물에 연결하는데 이용되는 더욱 큰 링커 분자의 일부인 연결 모이어티를 포함한다. 가령, 메이탄시노이드 DM1을 형성하기 위해, 메이탄신의 C-3 헤드록실 기에서 측쇄가 유리 술 피드릴 기 (SH)를 갖도록 변형된다. 메이탄신의 이러한 티올화된 형태는 변형된 세포 결합 작용제와 반응하여 접합체를 형성할 수 있다. 이런 이유로, 최종 링커는 2가지 성분으로부터 조립되고, 이들 중에서 한 쪽은 교차연결 시약에 의해 제공되고, 반면 다른 쪽은 DM1로부터 측쇄에 의해 제공된다.

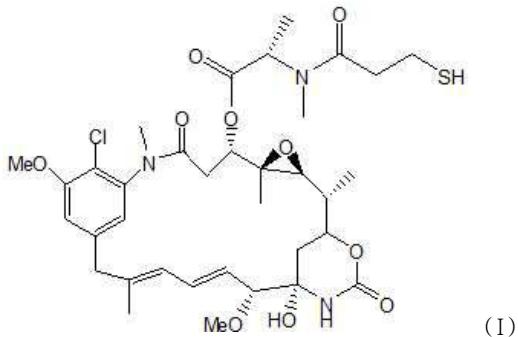
[0137] 약물 분자는 중간 담체 분자, 예를 들면, 혈청 알부민을 통해 항체 분자에 또한 연결될 수 있다.

[0138] 본원에서 이용된 바와 같이, 표현 "세포 결합 작용제에 연결된" 또는 "항-FOLR1 항체 또는 단편에 연결된"은 적합한 연결 기, 또는 이의 전구체를 통해 세포 결합 작용제 항-FOLR1 항체 또는 단편에 결합된 최소한 하나의 약물 유도체를 포함하는 접합체 분자를 지칭한다. 예시적인 연결 기는 SPDB 또는 술포-SPDB이다.

[0139] 일정한 구체예에서, 본 발명에서 유용한 세포독성제는 메이탄시노이드 및 메이탄시노이드 유사체이다. 적합한 메이탄시노이드의 실례는 메이탄시놀과 메이탄시놀 유사체의 에스테르를 포함한다. 메이탄시놀 및 메이탄시놀 유사체가 그러한 것처럼, 미세관 형성을 저해하고 포유류 세포에 고도로 독성인 임의의 약물이 포함된다.

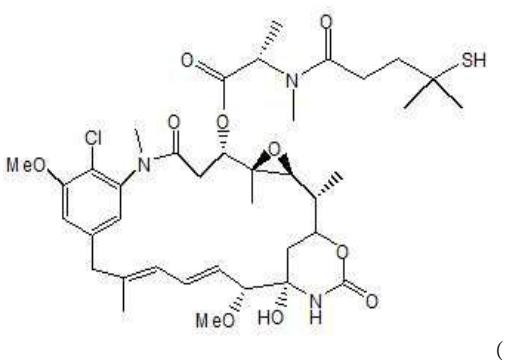
[0140] 적합한 메이탄시놀 에스테르의 실례는 변형된 방향족 고리를 갖는 것들 및 다른 위치에서 변형을 갖는 것들을 포함한다. 이런 적합한 메이탄시노이드는 U.S. 특허 번호 4,424,219; 4,256,746; 4,294,757; 4,307,016; 4,313,946; 4,315,929; 4,331,598; 4,361,650; 4,362,663; 4,364,866; 4,450,254; 4,322,348; 4,371,533; 5,208,020; 5,416,064; 5,475,092; 5,585,499; 5,846,545; 6,333,410; 7,276,497과 7,473,796에서 개시된다.

[0141] 일정한 구체예에서, 본 발명의 면역접합체는 N^2 -데아세틸- N^2 -(3-메르캅토-1-옥소프로필)-메이탄신으로 공식적으로 명명된 티올-내포 메이탄시노이드 (DM1)를 세포독성제로서 활용한다. DM1은 다음의 구조식 (I)에 의해 표시된다:



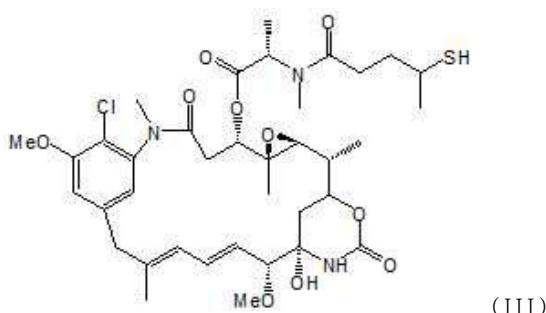
[0142]

다른 구체예에서, 본 발명의 접합체는 티올-내포 메이탄시노이드 $N^{2'}\text{-}$ 데아세틸- $N^{2'}\text{-}$ (4-메틸-4-메르캅토-1-옥소펜틸)-메이탄신 (가령, DM4)을 세포독성제로서 활용한다. DM4는 다음의 구조식 (II)에 의해 표시된다:



[0144]

입체적으로 방해된 티올 결합을 내포하는 측체를 포함하는 다른 메이탄시노이드는 다음의 구조식 (III)에 의해 표시되는 $N^{2'}\text{-}$ 데아세틸- $N^{2'}\text{-}$ (4-메르캅토-1-옥소펜틸)-메이탄신 (DM3으로 명명됨)이다:



[0146]

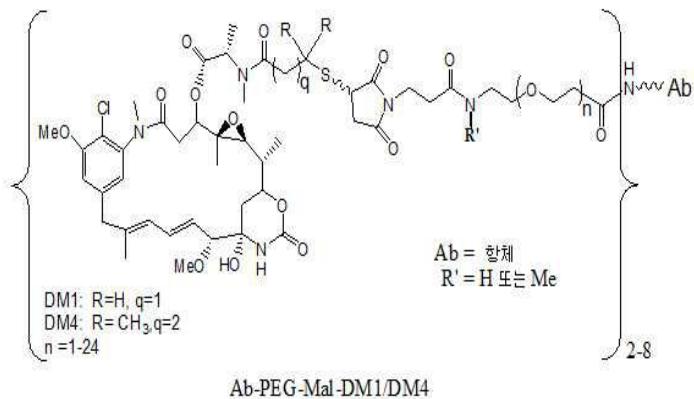
US 특허 번호 5,208,020과 7,276,497에서 교시된 각 메이탄시노이드 역시 본 발명의 접합체에서 이용될 수 있다. 이점에 관해서, 5,208,020과 7,276,697의 전체 공개는 본원에 참조로서 편입된다.

[0148]

메이탄시노이드 상에서 많은 위치가 연결 모이어티를 화학적으로 연결하기 위한 위치로서 역할할 수 있다. 가령, 히드록실 기를 갖는 C-3 위치, 히드록시메틸로 변형된 C-14 위치, 히드록시로 변형된 C-15 위치 및 히드록시 기를 갖는 C-20 위치 모두 유용할 것으로 예상된다. 일부 구체예에서, C-3 위치는 연결 모이어티를 화학적으로 연결하는 위치로서 역할하고, 그리고 일부 특정 구체예에서, 메이탄시노이드의 C-3 위치는 연결 모이어티를 화학적으로 연결하는 위치로서 역할한다.

[0149]

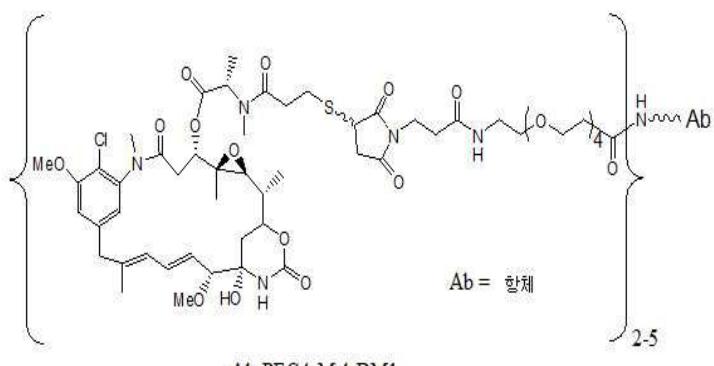
일부 접합체의 구조적 표시가 아래에 도시된다:



[0150]

[0151]

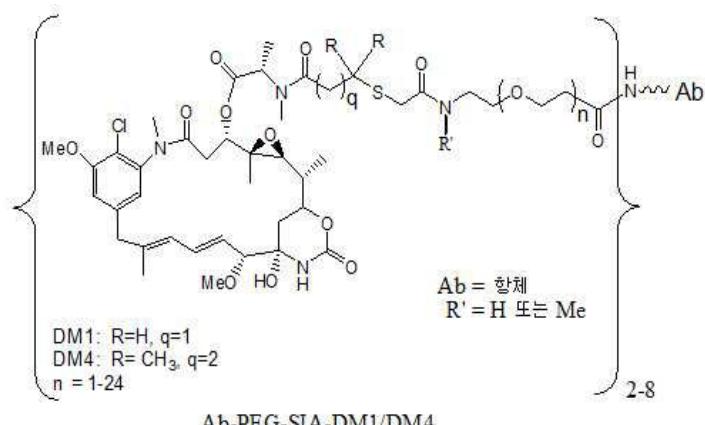
(IV)



[0152]

[0153]

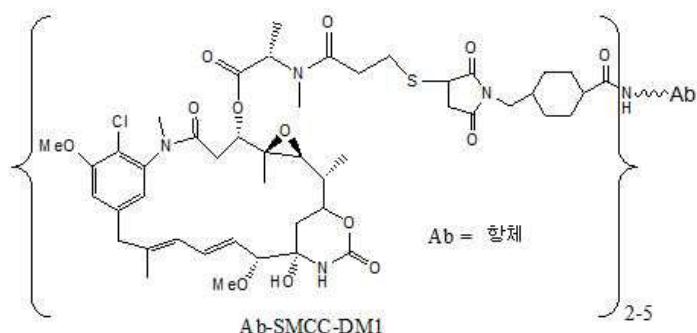
(V)



[0154]

[0155]

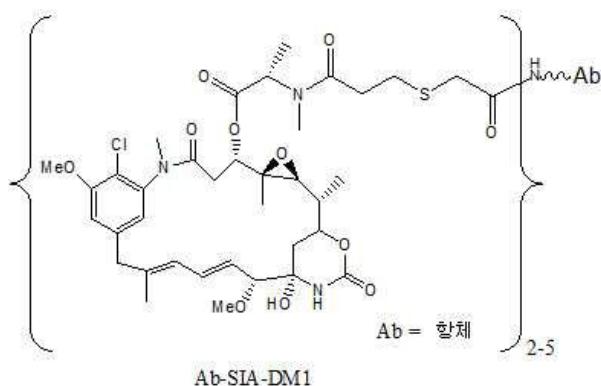
(VI)



[0156]

[0157]

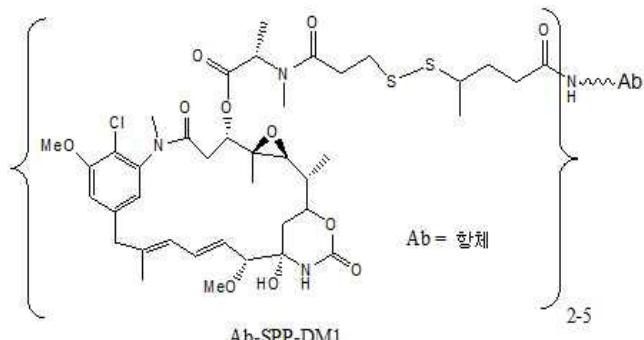
(VII)



[0158]

[0159]

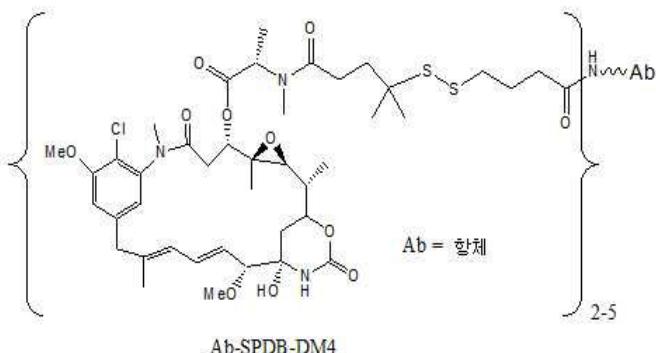
(VIII)



[0160]

[0161]

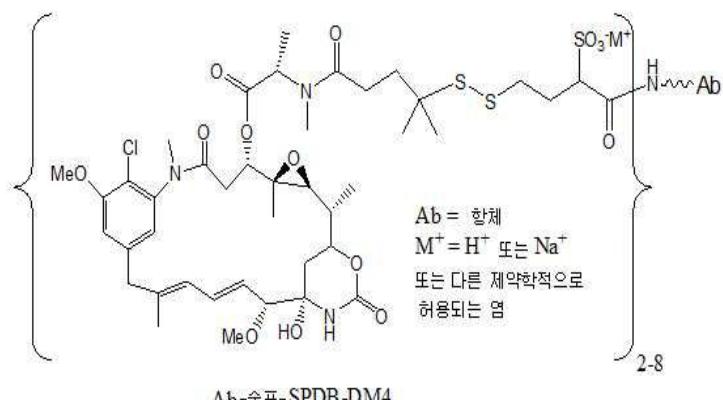
(IX)



[0162]

[0163]

(X)



[0164]

[0165]

임의의 상기 구조에 의해 묘사된 임의의 화합물 또는 접합체에 대한 임의의 입체이성질체 및 이들의 혼합물 역시 본 발명에 포함된다.

이런 항체-메이탄시노이드 접합체를 생산하기 위한 여러 설명은 U.S. 특허 번호 6,333,410, 6,441,163, 6,716,821, 그리고 7,368,565에서 제공되고, 이들은 각각 전체적으로 본원에 편입된다.

일반적으로, 수성 완충액에서 항체의 용액은 반응성 기를 보유하는 이황화물 모이어티를 갖는 물 과잉의 메이탄시노이드와 함께 인큐베이션될 수 있다. 반응 혼합물은 과잉 아민 (가령, 에탄올아민, 타우린 등)의 첨가에 의해 급냉될 수 있다. 메이탄시노이드-항체 접합체는 이후, 겔 여과에 의해 정제될 수 있다.

항체 분자마다 결합된 메이탄시노이드 분자의 숫자는 252 nm와 280 nm에서 흡광도의 비율을 분광광도법적으로 계측함으로써 결정될 수 있다. 메이탄시노이드 분자/항체의 평균 숫자는 예로서, 1-10 또는 2-5일 수 있다. 메이탄시노이드 분자/항체의 평균 숫자는 예로서 약 3 내지 약 4일 수 있다. 메이탄시노이드 분자/항체의 평균 숫자는 약 3.5일 수 있다.

항체와 메이탄시노이드 또는 다른 약물의 접합체는 다양한 원치 않는 세포주의 증식을 억제하는 그들의 능력에 대해 시험관내에서 평가될 수 있다. 가령, 세포주, 예를 들면, 인간 림프종 세포주 Daudi 및 인간 림프종 세포주 Ramos는 이를 화합물의 세포독성의 사정을 위해 쉽게 이용될 수 있다. 평가되는 세포는 화합물에 4 내지 5 일 동안 노출되고, 그리고 세포의 생존 분획물이 공지된 방법에 의한 직접적인 검정에서 계측될 수 있다. IC₅₀ 값은 이후, 이들 검정의 결과로부터 계산될 수 있다.

면역접합체는 본원에서 설명된 일부 구체예에 따라, 세포 내로 내재화될 수 있다. 면역접합체는 이런 이유로, FOLR1-발현 세포에 의해 흡수되거나, 또는 내재화될 때, 치료 효과를 발휘할 수 있다. 일부 특정 구체예에서, 면역접합체는 개열가능한 링커에 의해 세포독성제에 연결된 항체, 항체 단편, 또는 폴리펩티드를 포함하고, 그리고 세포독성제는 항체, 항체 단편, 또는 폴리펩티드로부터 개열되고, 여기서 이것은 FOLR1-발현 세포에 의해

내재화된다.

[0172] 일부 구체예에서, 면역접합체는 종양 체적을 감소시킬 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, 면역접합체로 치료는 약 50%보다 적은, 약 45%보다 적은, 약 40%보다 적은, 약 35%보다 적은, 약 30%보다 적은, 약 25%보다 적은, 약 20%보다 적은, 약 15%보다 적은, 약 10%보다 적은, 또는 약 5%보다 적은 %T/C 값을 유발한다. 일부 특정 구체예에서, 면역접합체는 KB, OVCAR-3, IGROV-1, 및/또는 OV-90 이종이식편 모델에서 종양 크기를 감소시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 면역접합체는 전이를 저해할 수 있다.

III.FOLR1-결합 작용제를 투여하는 방법

[0174] 본 발명의 FOLR1-결합 작용제 (항체, 면역접합체, 그리고 폴리펩티드 포함)는 치료적 처치 방법, 예를 들면, 암의 치료가 포함되지만 이에 한정되지 않는 다양한 적용에서 유용하다. 일정한 구체예에서, 이를 작용제는 종양 성장을 저해하고, 분화를 유도하고, 전이를 저해하고, 종양 체적을 감소시키고, 및/또는 종양의 종양형성을 감소시키는데 유용하다. 이용 방법은 생체내 방법일 수 있다.

[0175] 본원에서 설명된 방법에 따라, FOLR1-결합 작용제는 특정 용량에서 투여될 수 있다. 가령, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 0.15 mg/kg 내지 약 7 mg/kg의 분량에서 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 3.0 mg/kg 내지 약 6.0 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 3.3 mg/kg 내지 약 6.0 mg/kg의 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 0.15 mg/kg에서 투여된다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 0.5 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 2.0 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 3.0 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 3.3 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 5.0 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 5.5 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 6.0 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 6.5 mg/kg에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 (가령, IMGN853)는 약 7.0 mg/kg에서 투여된다.

[0176] 게다가, FOLR1-결합 작용제는 특정 투약 간격에서 투여될 수 있다. 가령, FOLR1-결합 작용제는 대략 주 4회 내지 대략 4 주마다 1회 투여될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 3 주마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 2와 1/2 주마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 2 주마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 10 일마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 매주 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 5 일마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 4 일마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 3 일마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 2 일마다 1회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 주 2회 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 대략 주 3회 투여된다.

[0177] FOLR1-결합 작용제는 또한, 약 3-주 (즉, 약 21-일) 주기에서 투여될 수 있다. 가령, FOLR1-결합 작용제는 약 3 주 내에 2회 투여될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 21-일 주기의 대략 1일자와 8일자에 투여될 수 있다. 다른 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 3 주 내에 3회 투여될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 21-일 주기의 대략 1일자, 8일자, 그리고 15일자에 투여될 수 있다.

[0178] FOLR1-결합 작용제는 또한, 약 4-주 (즉, 약 28-일) 주기에서 투여될 수 있다. 가령, FOLR1-결합 작용제는 약 4 주 내에 3회 투여될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 28-일 주기의 대략 1일자, 8일자, 그리고 15일자에 투여될 수 있다.

[0179] 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 특정 Cmax를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 가령, FOLR1-결합 작용제는 약 0.5 내지 약 250 μ g/mL의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 50 내지 약 250 μ g/mL의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 50 내지 약 200 μ g/mL의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여된다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 50 내지 약 175 μ g/mL의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 50 내지 약 150 μ g/mL의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여된다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 100 내지 약 175 μ g/mL의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여된다. 일부 구체예에서,

FOLR1-결합 작용제는 약 100 내지 약 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 Cmax를 유발하는 분량에서 투여된다.

[0180] 일정한 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 특정 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 가령, FOLR1-결합 작용제는 약 50 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 약 18,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 10,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 약 18,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 10,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 약 17,500 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 10,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 약 17,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 10,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 약 16,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 약 10,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 약 15,000 시간 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 AUC를 유발하는 분량에서 투여될 수 있다.

[0181] 일정한 구체예에서, FOLR1-결합 작용제 또는 길항제 (가령, 항-FOLR1 항체)로 치료되는 질환은 암이다. 일정한 구체예에서, 암은 FOLR1-결합 작용제 (가령, 항체)가 결합하는 FOLR1 발현 세포에 의해 특징화된다. 일정한 구체예에서, 종양은 인간 FOLR1을 과다발현한다.

[0182] 본 발명은 치료 효과량의 FOLR1-결합 작용제를 개체 (가령, 치료가 필요한 개체)에 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에 의해 포괄된 방법에 의해 치료될 수 있는 암에는 신생물, 종양, 전이, 또는 통제되지 않은 세포 성장에 의해 특징화되는 임의의 질환 또는 장애가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 암은 원발성 또는 전이성 암일 수 있다. 본 발명에 의해 포괄된 방법에 의해 치료될 수 있는 암의 특정한 실례에는 난소암, 폐암, 대장암, 췌장암, 간암, 유방암, 뇌암, 신장암, 전립선암, 위장관암, 흑색종, 자궁경부암, 방광암, 교모세포종, 그리고 두경부암이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 구체예에서, 암은 난소암이다. 일정한 구체예에서, 암은 폐암이다.

[0183] 일부 구체예에서, 암은 FOLR1 (폴리펩티드 또는 핵산)을 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, FOLR1-결합 작용제는 예로서, U.S. 공개된 출원 번호 2012/0282175 또는 국제 공개된 출원 번호 WO 2012/135675에서 설명된 바와 같이, FOLR1의 증가된 발현 수준을 갖는 환자에 투여되고, 이들 둘 모두 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다. 따라서, 일부 구체예에서, FOLR1 발현이 면역조직화학 (IHC)에 의해 계측되고, 그리고 규정된 점수를 전시하는 대조 (가령, 보정된 대조)에 비해 염색 강도 점수 및/또는 염색 균일성 점수가 제공된다 (가령, 강도가 수준 3 보정된 대조에 필적하면 3의 강도 점수가 검사 표본에 제공되고, 또는 강도가 수준 2 보정된 대조에 필적하면 2의 강도가 검사 표본에 제공된다). 비균질한 또는 균질한 염색 균일성은 또한, 증가된 FOLR1 발현을 지시한다. 염색 강도와 염색 균일성 점수는 단독으로 또는 합동으로 (가령, 2 호모, 2 혜테로, 3 호모, 3 혜테로 등) 이용될 수 있다. 다른 실례에서, FOLR1 발현에서 증가는 대조 값 (가령, 암이 없거나 또는 상승된 FOLR1 값을 갖지 않는 암을 앓는 개체로부터 조직 또는 세포에서 발현 수준)에 비하여 최소한 2-배, 최소한 3-배, 또는 최소한 5-배)의 증가의 검출에 의해 결정될 수 있다.

[0184] 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 2 혜테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1을 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 3 혜테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1을 발현하는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 2 혜테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1을 발현하는 폐암이다. 일부 구체예에서, 암은 IHC에 의해 3 혜테로 또는 더욱 높은 수준에서 FOLR1을 발현하는 폐암이다.

[0185] 일정한 구체예에서, 종양 성장을 저해하는 방법은 FOLR1-결합 작용제의 치료 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, 개체는 인간이다. 일정한 구체예에서, 개체는 종양을 앓거나 또는 종양이 제거되었다.

[0186] 이에 더하여, 본 발명은 개체에서 종양의 종양형성을 감소시키는 방법을 제공하고, 상기 방법은 FOLR1-결합 작용제의 치료 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, 종양은 암 줄기 세포를 포함한다. 일정한 구체예에서, 종양에서 암 줄기 세포의 빈도는 상기 작용제의 투여에 의해 감소된다.

[0187] 본 발명은 본원에서 설명된 FOLR1-결합 작용제 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하는 제약학적 조성물을 더욱 제공한다. 일정한 구체예에서, 제약학적 조성물은 제약학적으로 허용되는 운반제를 더욱 포함한다. 이들 제약학적 조성물은 인간 환자에서 종양 성장을 저해하고 암을 치료하는데 용도를 발견한다.

[0188] 일정한 구체예에서, 본 발명의 정제된 항체 또는 작용제를 제약학적으로 허용되는 운반제 (가령, 담체, 부형제)와 합동함으로써, 보관과 이용을 위한 제제가 제조된다 (Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Edition Mack Publishing, 2000). 적합한 제약학적으로 허용되는 운반제에는 비독성 완충액, 예를 들면,

인산염, 구연산염, 그리고 다른 유기 산; 염, 예를 들면, 염화나트륨; 아스코르бин산과 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (가령, 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄; 헥사메토늄 염화물; 벤잘코늄 염화물; 벤제토늄 염화물; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예를 들면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 그리고 m-크레졸); 저분자량 폴리펩티드 (가령, 약 10개 아미노산 잔기보다 적음); 단백질, 예를 들면, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들면, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들면, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 탄수화물, 예를 들면, 단당류, 이당류, 글루코오스, 만노오스, 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예를 들면, EDTA; 당, 예를 들면, 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온, 예를 들면, 나트륨; 금속 착물 (가령, Zn-단백질 복합체); 그리고 비이온성 계면활성제, 예를 들면, TWEEN 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0189] 본원에서 설명된 제약학적 조성물은 국부 또는 전신 치료를 위해 수많은 방식으로 투여될 수 있다. 투여는 국소 (가령, 질과 직장 전달을 비롯하여 점막으로), 예를 들면, 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 점액약, 좌약, 스프레이, 액체와 분말; 폐 (가령, 연무기에 의해; 기관내, 비내, 표피와 경피를 비롯하여, 분말 또는 에어로졸의 흡기 또는 흡입에 의해); 경구; 또는 정맥내, 동맥내, 피하, 복막내 또는 근육내 주사 또는 주입을 비롯한 비경구; 또는 두개내 (가령, 척수강내 또는 뇌실내) 투여일 수 있다. 일부 특정 구체예에서, 투여는 정맥내이다.

[0190] 항체 또는 면역접합체는 제약학적 조합 제제에서, 또는 복합 요법으로서 투약 섭생에서 두 번째 화합물과 합동될 수 있다. 일부 구체예에서, 두 번째 화합물은 스테로이드이다. 일부 구체예에서, 이들 방법은 면역접합체 단독의 투여와 비교하여, 두통의 감소를 유발하는 스테로이드와 면역접합체의 투여를 포괄한다.

[0191] 스테로이드는 면역접합체와 동시에, 면역접합체의 투여에 앞서, 및/또는 면역접합체의 투여 후에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 면역접합체의 투여에 앞서 약 1 주, 약 5 일, 약 3 일, 약 2 일, 또는 약 1 일 또는 24 시간 이내에 투여된다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 면역접합체의 투여의 1 일 이내에 투여된다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 복수 회 투여된다. 일부 구체예에서, 스테로이드는 면역접합체의 투여에 약 1 일 앞서 및 면역접합체의 투여와 동일자에 투여된다. 스테로이드는 예로서, 국소, 폐, 경구, 비경구, 또는 두개내 투여를 비롯한 수많은 방식을 통해 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 투여는 경구이다. 일부 구체예에서, 투여는 정맥내이다. 일부 구체예에서, 투여는 경구와 정맥내 둘 모두이다.

[0192] 항체 또는 면역접합체는 또한, 제약학적 조합 제제에서, 또는 복합 요법으로서 투약 섭생에서, 진통제, 또는 두통을 예방하거나 또는 치료하는 다른 약제와 합동될 수 있다. 가령, 아세트아미노핀 및/또는 데펜히드라민이 항체 또는 면역접합체의 투여에 더하여 투여될 수 있다. 진통제는 면역접합체의 투여에 앞서, 투여와 동시에, 또는 투여 후에 투여될 수 있고, 그리고 임의의 적절한 투여 루트에 의할 수 있다. 일부 구체예에서, 진통제는 경구 투여된다.

[0193] 일부 구체예에서, 이들 방법은 항체 또는 면역접합체인 첫 번째 화합물, 스테로이드인 두 번째 화합물, 그리고 진통제인 세 번째 화합물의 투여를 포함한다. 일부 구체예에서, 이들 방법은 IMGN388인 첫 번째 화합물, 텍사메타손인 두 번째 화합물, 그리고 아세트아미노핀 및/또는 디펜히드라민인 세 번째 화합물의 투여를 포함한다.

[0194] 항체 또는 면역접합체는 제약학적 조합 제제에서, 또는 복합 요법으로서 투약 섭생에서, 항암 성질을 갖는 두 번째 화합물과 합동될 수 있다. 제약학적 조합 제제 또는 투약 섭생의 두 번째 화합물은 이들이 서로에 부정적으로 영향을 주지 않도록, 이러한 조합의 ADC에 상보성 활성을 가질 수 있다. FOLR1-결합 작용제 및 두 번째 항암제를 포함하는 제약학적 조성을 역시 제공된다.

[0195] * * *

[0196] 본 발명의 구체예는 다음의 무제한적 실시예를 참조함으로써 더욱 규정될 수 있는데, 이들 실시예는 본 발명의 일정한 항체의 제조 및 본 발명의 항체를 이용하기 위한 방법을 상세하게 설명한다. 재료와 방법 둘 모두에 많은 변형이 본 발명의 범위로부터 벗어나지 않으면서 실시될 수 있다는 것은 당업자에게 명백할 것이다.

[0197] 실시예

[0198] 본원에서 설명된 실시예와 구체예는 단지 예시를 목적으로 하고, 그리고 이에 비추어 다양한 변형 또는 변화가 당업자에게 제안될 것이고 본 출원의 사상과 범위 내에 포함되는 것으로 이해된다.

[0199] 실시예 1

[0200] 인간 암 환자에서 IMGN853 투약 시험

IMGN853은 엽산염 수용체 1 (FOLR1)-결합 항체 및 강력한 메이탄시노이드, DM4를 포함하는 항체-약물 접합체 (ADC)이다. IMGN853은 국제 공개된 출원 번호 WO 2011/106528, WO 2012/135675와 WO 2012/138749, 그리고 U.S. 공개된 출원 번호 2012/0009181, 2012/0282175와 2012/0282282에서 앞서 설명되었고, 이들은 각각 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다. IMGN853은 huMov19-sSPDB-DM4이고, 그리고 huMov19 항체는 서열 번호:3의 아미노산 서열을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 가변 경쇄를 내포한다. FOLR1 단백질은 많은 고형 종양, 특히 상피 난소암 (EOC), 자궁내막암, 비소세포 폐암 (NSCLC), 그리고 투명 세포 신장 세포 암에서 상승된 수준으로 발현된다.

IMGN853의 최대 내성 분량 (MTD) 및 권장된 2 단계 분량 (RP2D)을 결정할 뿐만 아니라 이의 안전성, 약물동력학 (PK), 약력학 (PD) 및 효력을 평가하기 위한 연구가 시작되었다. 상기 연구는 2가지 구성요소를 포함한다: 가속된 분량 적정 구성요소, 여기서 IMGN853 면역접합체가 상피 난소암 (EOC) 및 다른 FOLR1-양성 고형 종양을 비롯한 임의의 유형의 FOLR1-발현 난치성 고형 종양을 앓는 환자에 투여되었고, 그리고 분량 확대 구성요소.

상기 연구의 가속된 적정 부분을 위해, IMGN853이 각 21-일 (3 주) 주기의 1일자에 정맥내 (IV) 제공되었다. 18명 환자가 0.15 내지 7.0 mg/kg IMGN853 범위에서 변하는 7가지 분량 수준에 걸쳐 등록되었다: EOC를 앓는 11명 환자, 자궁내막암을 앓는 5명 환자, 그리고 투명 세포 신장 세포 암을 앓는 2명 환자 (표 1을 참조한다). 이들 18명 환자 사이에서, 8명 환자는 연구-약물 관련된 것으로 고려되는 부작용 (AEs)을 보고하였다. 이들 AE 중에서 대부분은 경등도 또는 중등도이었다.

[0204] [표 1]

[0205] 종양 유형에 의한 등록

결과						
표 1: 종양 유형에 의한 등록 N = 18						
진단	Fr a 발현					
	2 혼테로	2 호모	3 혼테로	3 호모	기타	합계
난소암	3	1	5	2	0	11
장액	1		4 ¹	2		7
이행 세포			1 ²			1
투명 세포	2	1				2
암육종						1
자궁내막	1	0	3	1	0	5
장액			2 ²	1		3
자궁내막유	1					1
사			1			1
선편평상피						
신장 세포	0	1	0	0	1	2
투명 세포		1			음성	2

¹1명 환자에서 CA125 반응과 SD가 6 주기 동안 지속됨
²확인되지 않은 PR (확증 계류중)

[0207] 7.0 mg/kg 분량에서, 4명 환자가 안구 독성을 경험하였다. 1명 환자는 연구 치료에 명확히 관련된 것으로 간주되는 등급 3, 분량-제한 점상 각막염 및 등급 2 몽롱함이 보고되었다. 추가적으로, 등급 3, 등급 2, 그리고 등급 1 몽롱함을 갖는 각각 1명의 환자가 있었다; 모든 이벤트는 IMGN853 치료에 아마도 또는 명확히 관련된 것으로 간주되었다. 결과적으로, 이러한 투여 일정 (즉, 3 주마다 1회)에서 최대 내성 분량은 7.0 mg/kg 분량 수준

에서 초과된 것으로 간주되었고, 그리고 7.0 mg/kg 분량 수준에서 남아있는 모든 환자는 이전 분량 수준 (5.0 mg/kg)으로 분량 감소되었다.

[0208] 약물 노출은 14명 환자에서 계측되었고, 그리고 일반적으로, ≥ 3.3 mg/kg 분량에서 대략 4 일의 반감기로 선형으로 증가하는 것으로 밝혀졌다. 2명 환자는 확증된 CA125 반응을 보고하였다: 장액 난소를 갖는 1명 환자 및 장액 자궁내막암을 갖는 1명 환자. 부가적으로, 자궁내막암을 앓는 환자는 확인되지 않은 부분적인 반응을 달성하였다. 5.0 mg/kg보다 크거나 또는 이와 동등한 분량에서 IMGN853을 투여받는 환자는 항-FOLR1 면역접합체 (가령, IMGN853) 투여에 30 내지 60 분 앞서 텍사메타손, 10 mg IV (또는 유사한 스테로이드 등가물)을 투여받았다.

[0209] 약동학적 (PK) 파라미터가 IMGN853 1 단계 시험의 주기 1 (단지 각 환자에 대한 투약의 첫 번째 주기)에 대해 보고된다. (도면 1) IMGN853의 소실은 저분량 ($CL = 1.1$ mL/시간/kg)에서 대략 35.4 시간 또는 1.5 일의 반감기로 급속한 것으로 나타난다. 소실은 더욱 높은 분량에서 줄어들고 ($CL = 0.4$ mL/시간/kg), 그리고 반감기는 7.0 mg/kg에서 약 4 일로 증가한다. 노출 (AUC)과 Cmax 역시 일반적으로, 더욱 높은 분량에서 증가하는 것으로 나타난다.

[0210] 분량 적정 연구는 IMGN853이 5.0 mg/kg까지의 분량에서 충분히 용인된다는 것을 증명하였다. 등록은 5.0 mg/kg 분량 수준에서 계속된다. 연구에 계속 참여하는, 이전에 7.0 mg/kg에서 치료되었던 모든 환자는 그들의 분량이 5.0 mg/kg으로 감소되었다. 이러한 분량에 최초 배정된 3명 환자에서 목격된 안전성 프로필을 더욱 확증하기 위해, 추가 환자 역시 5.0 mg/kg에 등록되고 있다.

[0211] 일단 MTD가 규정되면, 연구는 분량 확대 단계로 진행할 것이다. 3가지 확대 코호트는 FOLR1 단백질 양성 (1) 백금 내성 상피 난소암; (2) 재발된 또는 난치성 상피 난소암, 그리고 (3) 재발된 또는 난치성 비소세포 폐암 (NSCLC)을 앓는 환자를 평가할 것이다. 코호트 2와 3은 각각, 투약전과 투약후 종양 생검에 의해 및/또는 FLT-PET 영상에 의해 IMGN853 PD 사정을 받을 것이다. IMGN853은 최소한 3.3 mg/kg의 분량에서 투여될 것이고, 그리고 5.0 mg/kg 또는 높게는 6.0 mg/kg의 분량을 포함할 수 있다. 초기에, IMGN853은 1 mg/분의 비율에서 투여되어야 한다; 30 분 후, 비율은 충분히 용인되면 3 mg/분으로 증가될 수 있다. 3 mg/분에서 30 분 후 충분히 용인되면, 비율은 5 mg/분으로 증가될 수 있다. 차후 주입은 용인된 비율에서 전달될 수 있다.

[0212] 3.3 mg/kg 또는 그 이상에서 모든 IMGN853 투약의 경우에, 예방적 스테로이드 치료는 실시예 2에서 설명된 프로토콜을 이용하여 포함될 것이다 (가령, 스테로이드 치료는 필요한 IMGN853 투여에 30 내지 60 분 앞서 10 mg 텍사메타손 IV (또는 유사한 스테로이드 등가물)에서 포함되고, 그리고 예방적 디펜히드라민 HCl과 아세트아미노펜이 IMGN853 투여에 앞서 권장된다). 주기는 (i) 환자의 질환이 더욱 악화되거나, (ii) 환자가 받아들일 수 없는 독성을 경험하거나, (iii) 환자가 동의를 취소하거나, (iv) 환자에서 추가 연구 치료를 배제시킬 동시이환 조건이 발생하거나 또는 (v) 환자가 비-순응도 또는 관리상 이유로 인해 중단할 때까지 반복된다.

[0213] 반응은 RECIST 및 부인과 암 그룹간 (GCIG) 규준 (타당하면)을 이용하여 사정된다.

[0214] 실시예 2

주입 반응에 대한 IMGN853 스테로이드-기초된 예방

[0215] 주입 반응의 가능성성을 줄이기 위해, 다음의 스테로이드-기초된 예방 프로토콜 중에서 한 가지가 이용될 수 있다.

[0216] (1) 환자는 항-FOLR1 면역접합체 (가령, IMGN853) 투여에 30 내지 60 분 앞서, 텍사메타손, 10 mg IV (또는 유사한 스테로이드 등가물)을 투여받는다.

[0217] (2) 환자는 항-FOLR1 면역접합체 (가령, IMGN853) 투여에 30 내지 60 분 앞서, 아세트아미노펜 (325-650 mg IV 또는 PO)와 함께 또는 이것 없이, 텍사메타손, 10 mg IV (또는 유사한 스테로이드 등가물) 및 디펜히드라민 HCl (25-50 mg IV 또는 PO)을 투여받는다. 이러한 예방적 프로토콜이 권장되고 각 조사관의 재량에 따른다.

[0218] (3) 환자는 항-FOLR1 면역접합체 (가령, IMGN853)의 투여에 하루 앞서 입 BID에 의해 텍사메타손 8 mg (또는 유사한 스테로이드 등가물)을 투여받는다. 항-FOLR1 면역접합체 (가령, IMGN853)의 투여의 일자에, 항-FOLR1 면역접합체 (가령, IMGN853) 투여에 30-60 분 앞서, 환자는 아세트아미노펜 (325-650 mg IV 또는 PO)와 함께 또는 이것 없이, 텍사메타손, 10 mg IV (또는 유사한 스테로이드 등가물), 디펜히드라민 HCl (25-50 mg IV 또는 PO)을 투여받는다.

[0220] (4) 주입에 앞서 24 시간 이내에 스테로이드 (가령, 텍사메타손)이 경구 투여된다.

[0222] 상세한 설명 섹션은 청구항을 해석하는데 이용되는 것으로 의도되지만, 개요와 요약 섹션은 그렇지 않은 것으로 인지된다. 개요와 요약 섹션은 발명자(들)에 의해 예기된 바와 같은 본 발명의 하나 또는 그 이상, 하지만 전체가 아닌 예시적인 구체예를 진술하고, 그리고 따라서, 본 발명 및 첨부된 청구항을 어떤 방식으로든 한정하는 것으로 의도되지 않는다.

[0223] 본 발명은 특정된 기능 및 이들의 관계의 실행을 예증하는 기능적 빌딩 블록의 보조로 앞서 설명되었다. 이들 기능적 빌딩 블록의 경계는 설명의 편의를 위해 본원에서 임의적으로 규정되었다. 대체 경계는 특정된 기능 및 이들의 관계가 적절하게 수행되기만 하면, 규정될 수 있다.

[0224] 특정한 구체예의 전술한 설명은 타인이 당해 분야의 기술 내에 지식을 적용함으로써, 과도한 실험 없이, 본 발명의 일반적인 개념으로부터 벗어나지 않으면서, 이런 특정한 구체예를 다양한 적용을 위해 쉽게 변형하고 및/ 또는 적합하게 할 수 있을 만큼 완전히 본 발명의 전반적인 성격을 드러낼 것이다. 이런 이유로, 이런 적용과 변형은 본원에서 제공된 교시와 보도에 기초하여, 개시된 구체예의 등가물의 의미와 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 본원에서 관용구 또는 용어는 제한이 아닌 설명을 목적으로 하고, 따라서 본 명세서의 용어 또는 어법은 이를 교시와 보도에 비추어 당업자에 의해 해석되어야 하는 것으로 이해된다.

[0225] 본 발명의 폭과 범위는 상기-설명된 예시적인 구체예 중에서 한 가지에 의해 제한되지 않아야 하고, 단지 아래 청구항 및 이들의 등가물에 따라 규정되어야 한다.

0226] 서열

[0227] 서열 번호:1 - 인간 엽산염 수용체 1

[0228] MAQRMTTQLLLLWVVAVGAEQTRIAWARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNACCNTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCHEMAPACKRHF1Q
DTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFNCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARYAAAMSGAGPWAAPFLLSLALMLLWLLS

[0229] 서열 번호:2 - 인간 엽산염 수용체 1 핵산 서열

[0230] atggctcagcggatgacaacacagctgtgtccctctagtgtgggtggctgttagttagggaggctcagacaaggatgtcatggccaggactgagcttc
aatgtctgcataacgcacccataaggatgttctacctataatagattcaacttggaccactgtggagatggcacctgcctgcaaacggcattcatccag
aacaccaggcaggaaagccataaggatgttctacctataatagattcaacttggaccactgtggagatggcacctgcctgcaaacggcattcatccag
gacacctgccttacggatgtccccaacttgggcctggatccaggcaggatcagacttggcacaaggagcgggtactgaacgtgcctgtgcaa
gaggactgtgagaatgtggagatgtgcacccatctacccacccacttctgtcaatgaaatctggactcactcctacaaggtcagcaactacagccgaa
gtgggagctgcctgccaaccttccatttctacttccacccacttctgtcaatgaaatctggactcactcctacaaggtcagcaactacagccgaa
gggatggccgctgcataccatgtggatcgaccgcaggcaacccatgaggagttggcaggttcatgtcagccatgagtgggctggcccttggcc
tggcagccctggcttctgttagccctggccataatgtgtgtggctgcac

[0231] 서열 번호:3 - huMov19 vHC

[0232] QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGTFTYNQKFQGKATLTVKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGS
RAMDYWGQGTTVTVSS

[0233] 서열 번호:4 - huMov19 vLCv1.00

[0234] DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTF
GGGTKLEIKR

[0235] 서열 번호:5 - huMov19 vLCv1.60

[0236] DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKDFTLTI SPVEAEDAATYYCQQSREYPYTF
GGGTKLEIKR

[0237] 서열 번호:6 - huMov19 vLC CDR1

[0238] KASQSVSFAGTSLMH

[0239]

[0240] 서열 번호:7 - huMov19 vLC CDR2

[0241] RASNLEA

[0242] 서열 번호:8 - huMov19 vLC CDR3

[0243] QQSREYPYT

[0244] 서열 번호:9 - huMov19 vHC CDR1

[0245] GYFMN

[0246] 서열 번호:10 - huMov19 vHC CDR2 - Kabat 규정됨

[0247] RIHPYDGDTFYNQKFQG

[0248] 서열 번호:11 - huMov19 vHC CDR2 - Abm 규정됨

[0249] RIHPYDGDTF

[0250] 서열 번호:12 - huMov19 vHC CDR3

[0251] YDGSRAMDY

[0252] 서열 번호:13 - huMov19 HC 아미노산 서열

[0253] QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWKQSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGS
RAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMSIRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0254] 서열 번호:14 - huMov19 LCv1.00

[0255] DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKDFTLNI SPVEAEDAATYYCQQSREYPYTF
GGGTKLEIKRTVAAPSFI FPPSDEQLKSGTASVVCNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDTYSLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0256] 서열 번호:15 - huMov19 LCv1.60

[0257] DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSAGTSLMHWYHQPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTF
GGGTKLEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

[0258] 서열 번호: 16 - muMov19 vHC CDR2 - Kabat 규정됨

[0259] RIHPYDGT~~F~~YNQNFKD

수탁번호

[0260] 기탁기관명 : American Type Culture Collection (ATCC)

수탁번호 : PTA-10772

수탁일자 : 20100407

기탁기관명 : American Type Culture Collection (ATCC)

수탁번호 : PTA-10773

수탁일자 : 20100407

기탁기관명 : American Type Culture Collection (ATCC)

수탁번호 : PTA-10774

수탁일자 : 20100407

도면

도면1

IMGN853 약동학적 결과

분량 (mg/kg)	0.15 (n=2)	0.5 (n=1)	1.0 (n=1)	2.0 (n=1)	3.3 (n=3)	5.0 (n=3)	7.0 (n=4)
C _{max} (ug/mL)	2.9	10.5	22.1	65.7	96.6 (16.4)	108 (32.7)	179 (21.8)
반감기 (시간)	35.4	41.2	70.1	89.9	99.6 (15.7)	105 (4.4)	87.6 (11.5)
반감기 (일)	1.5	1.7	2.9	2.9	4.1 (0.65)	4.4 (1.0)	3.6 (0.5)
AUC ₀₋₁₈₀ (시간ug/mL)	150.9	596.8	1779	6595	12188 (2581)	12708 (2112)	17559 (2559)
AUC ₀₋₁₈₀ (시간 ² ug/mL)	104.6	496.8	1676	5330	8178 (1129)	8254 (1771)	12177 (1621)
CL (mL/시간kg)	1.1	0.8	0.6	0.3	0.3 (0.06)	0.4 (0.07)	0.4 (0.06)
V _{ss} (mL/kg)	51.3	48.7	64.9	28.2	38.6 (5.2)	61.2 (16.1)	52.5 (5.3)

노출과 C_{max}는 일반적으로, 대략 4.0 일에서 반감기로 분량이 증가함에 따라서 증가한다

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> IMMUNOGEN, INC.

<120> ANTI-FOLR1 IMMUNOCONJUGATE DOSING REGIMENS

<130> 2921.050PC03

<140> To be assigned

<141> Herewith

<150> 61/823,317

<151> 2013-05-14

<150> 61/828,586

<151> 2013-05-29

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 257

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Val Trp Val

1 5 10 15

Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu

20 25 30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly

35 40 45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala

50 55 60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr

65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys

85 90 95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn

100 105 110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg

115	120	125
Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu		
130	135	140
Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp		
145	150	155
Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln		
165	170	175
Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile		
180	185	190
Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg		
195	200	205
Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu		
210	215	220
Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala		
225	230	235
Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu		
245	250	255
Ser		
<210> 2		
<211> 771		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 2		
atggctcagc ggatgacaac acagctgctg ctcctctag tgtgggtggc tgttagtaggg		60
gaggctcaga caaggattgc atggccagg actgagcttc tcaatgtctg catgaacgcc		
aaggcaccaca agggaaagcc agggcccgag gacaagttgc atgagcagtgc tgacccctgg		
aggaagaatg cctgctgtc taccaacacc agccaggaag cccataagga tggttcctac		
ctatatacat tcaactggaa ccactgtgga gagatggcac ctgcctgcaa acggcatttc		
atccaggaca cctgcctcta cgagtgtcc cccaaacttgg ggcctggat ccagcagggt		
gatcagagct ggcgcaaaga gcgggtactg aacgtcccc tgtgcaaaga ggactgtgag		

caatgggtggg aagattgtcg cacctcctac acctgcaaga gcaactggca caaggcgtgg 480

aactggactt cagggttaa caagtgcga gtgggagctg cctgccaacc ttccatttc 540
 tacttccccca cacccactgt tctgtcaat gaaatctgga ctcactccta caaggtcagc 600
 aactacagcc gagggagttgg ccgctgcac cagatgtggt tcgacccagc ccagggcaac 660
 cccaatgagg aggtggcgag gttctatgct gcagccatga gtggggctgg gccctggca 720
 gcctggcctt tcctgcttag cctggcccta atgctgctgt ggctgctcag c 771

<210> 3

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vHC

<400> 3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vLCv1.00

<400> 4

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro

35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser

65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg

85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

<210> 5

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vLCv1.60

<400> 5

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro

35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65	70	75	80
----	----	----	----

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg

85	90	95
----	----	----

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100	105	110
-----	-----	-----

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vLC CDR1

<400> 6

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala Gly Thr Ser Leu Met His

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 7

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vLC CDR2

<400> 7

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala

1	5
---	---

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vLC CDR3

<400> 8

Gln Gln Ser Arg Glu Tyr Pro Tyr Thr

1	5
---	---

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vHC CDR1

<400> 9

Gly Tyr Phe Met Asn

1 5

<210> 10

<211> 17

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vHC CDR2 - Kabat Defined

<400> 10

Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vHC CDR2 - Abm Defined

<400> 11

Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe

1 5 10

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 vHC CDR3

<400> 12

Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 13

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 HC amino acid sequence

<400> 13

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His

65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 14

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 LCv1.00

<400> 14

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro

35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser

65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg

85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 15

<211> 218

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huMov19 LCv1.60

<400> 15

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro

35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg

85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215
<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> muMov19 vHC CDR2 - Kabat Defined
<400> 16
Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15
Asp