

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-517133

(P2021-517133A)

(43) 公表日 令和3年7月15日 (2021.7.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 7 6
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 C	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 P 37/06	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	4 C 0 8 6
A 6 1 K 38/08 (2019.01)	A 6 1 K 45/00	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 115 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-547005 (P2020-547005)	(71) 出願人	518445159
(86) (22) 出願日	平成31年3月8日 (2019.3.8)		マジエンタ セラピューティクス インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	令和2年10月30日 (2020.10.30)		MAGENTA THERAPEUTICS, INC.
(86) 国際出願番号	PCT/US2019/021464		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
(87) 国際公開番号	W02019/173780		02139 ケンブリッジ テクノロジー
(87) 国際公開日	令和1年9月12日 (2019.9.12)		スクエア 100 フィフス フロア
(31) 優先権主張番号	62/640,543	(74) 代理人	100147485
(32) 優先日	平成30年3月8日 (2018.3.8)		弁理士 杉村 憲司
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	230118913
			弁理士 杉村 光嗣
		(74) 代理人	100214259
			弁理士 山本 睦也
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 抗CD252抗体、コンジュゲート、および使用方法

(57) 【要約】

本発明は、CD252に特異的に結合する抗体、抗体フラグメント、および抗体-薬物コンジュゲートの使用による造血細胞の選択的枯渇によって、移植療法から生じる移植片対宿主病などの移植片対宿主病を予防および処置する方法を提供する。本明細書に記載の組成物および方法は、幹細胞障害および他の血液状態を含む様々な病状を処置するために使用され得る。

【選択図】 なし

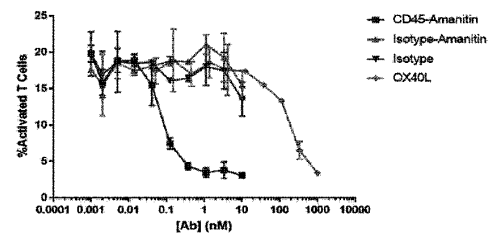


Fig.1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

移植片対宿主病を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者において C D 2 5 2 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、抗 C D 2 5 2 抗体－薬物コンジュゲート（A D C）の有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗 C D 2 5 2 A D C は式 A b－Z－L－C y で表され、式中、A b はヒト C D 2 5 2 に結合する抗体であって、L はリンカーであって、Z は化学部分であって、C y は細胞毒素である、方法。

【請求項 2】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記抗 C D 2 5 2 A D C を投与することを含む、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約 3 日前に、前記患者に前記抗 C D 2 5 2 A D C を投与することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記抗 C D 2 5 2 A D C を投与することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記抗 C D 2 5 2 A D C を投与することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記細胞毒素は、微小管結合剤または R N A ポリメラーゼ阻害剤である、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記 R N A ポリメラーゼ阻害剤はアマトキシシンである、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記アマトキシシンは、 α －アマニチン、 β －アマニチン、 γ －アマニチン、 ε －アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

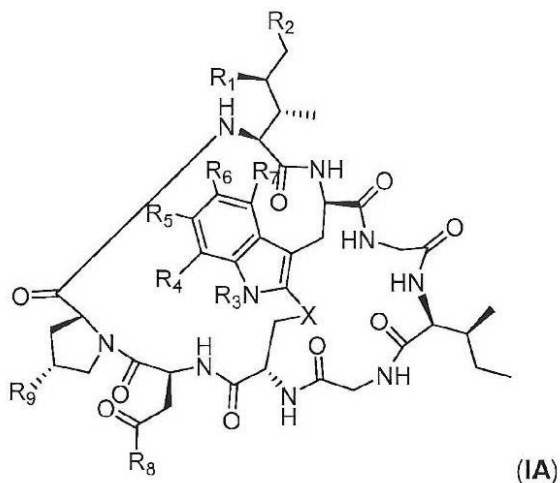
移植片対宿主病を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者において C D 2 5 2 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、抗 C D 2 5 2 抗体－薬物コンジュゲート（A D C）の有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗 C D 2 5 2 A D C は式 A b－Z－L－A m で表され、式中、A b は抗体またはその抗原結合フラグメントであって、L はリンカーであって、Z は化学部分であって、A m はアマトキシシンである、方法。

30

【請求項 10】

A m－L－Z は式（I A）で表される、請求項 9 に記載の方法：

【化 1】



10

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

20

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル、任意に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、任意に置換された $C_2 - C_6$ ヘテロアルケニル、任意に置換された $C_2 - C_6$ アルキニル、任意に置換された $C_2 - C_6$ ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

30

L は、任意に置換された $C_1 - C_6$ アルキレン、任意に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキレン、任意に置換された $C_2 - C_6$ アルケニレン、任意に置換された $C_2 - C_6$ ヘテロアルケニレン、任意に置換された $C_2 - C_6$ アルキニレン、任意に置換された $C_2 - C_6$ ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、任意にジペプチド、任意に $-(C=O)-$ 、任意にペプチド、またはそれらの組み合わせであり；ならびに

Z は、L 上に存在する反応性置換基と、前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、

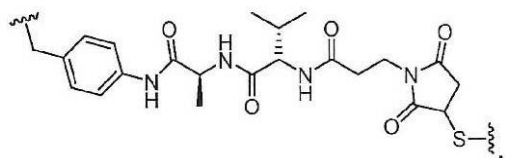
40

式中、Am は、ちょうど 1 つの R_C 置換基を含む]。

【請求項 11】

L-Z は、

【化 2】



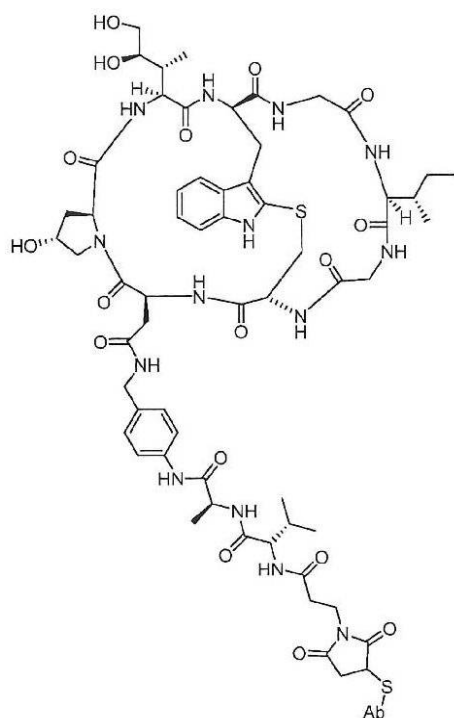
である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

10

Am-L-Z-Ab は、

【化 3】



20

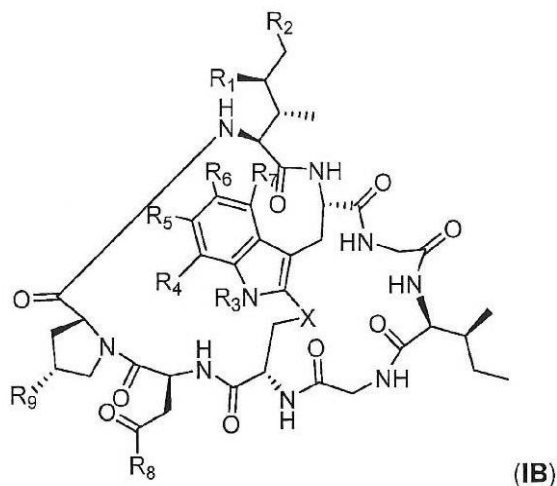
30

である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

Am-L-Z は式 (I B) で表される、請求項 9 に記載の方法：

【化 4】



10

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

20

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

30

L は、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、任意にジペプチド、任意に $-(C=O)-$ 、任意にペプチド、またはそれらの組み合わせであり；ならびに

40

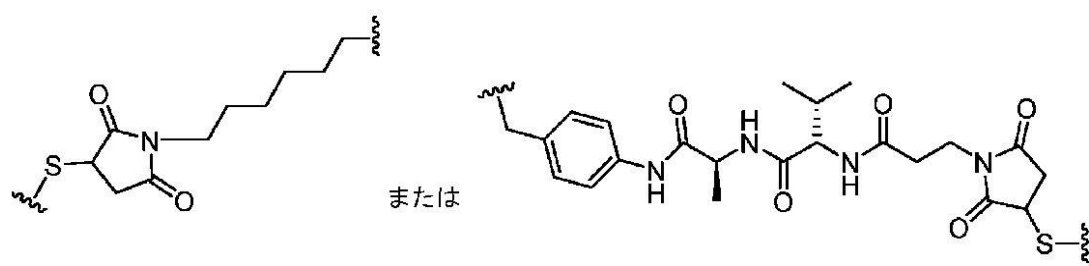
Z は、L上に存在する反応性置換基と、前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、

式中、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む]。

【請求項 14】

L-Zは、

【化 5】



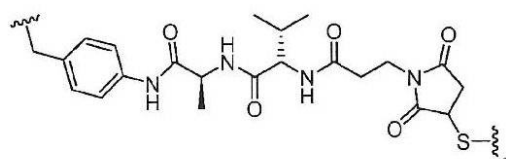
10

である、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

L - Z は、

【化 6】



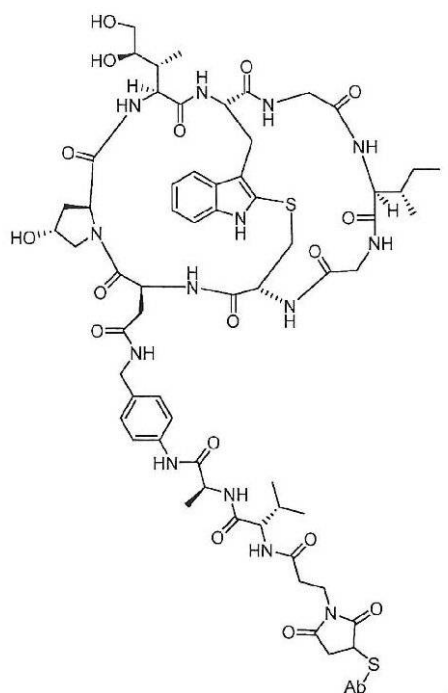
20

である、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

A m - L - Z - A b は、

【化 7】



30

40

である、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

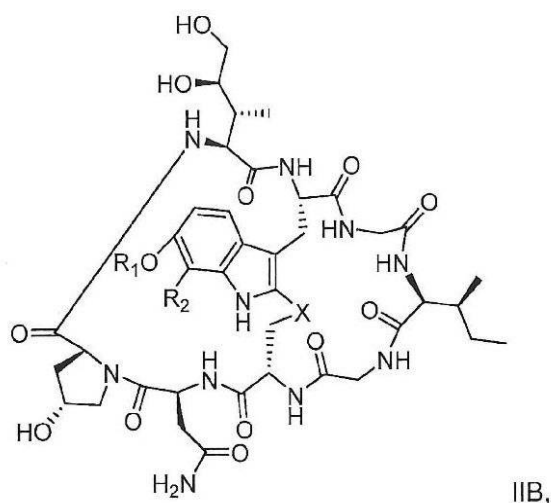
A m - L - Z は、式 (I I)、式 (I I A)、または式 (I I B) で表される、請求項

50

【化 8 - 1】



【化 8 - 2】



10

〔式中、Xは、S、SO、またはSO₂であり；

R₁はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；ならびに

20

R₂はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；

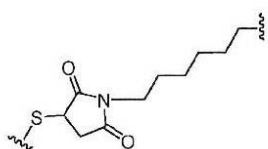
ここで、R₁がHである場合、R₂が前記リンカーであり、R₂がHである場合、R₁が前記リンカーである〕。

【請求項 18】

L-Zは、

【化 9】

30



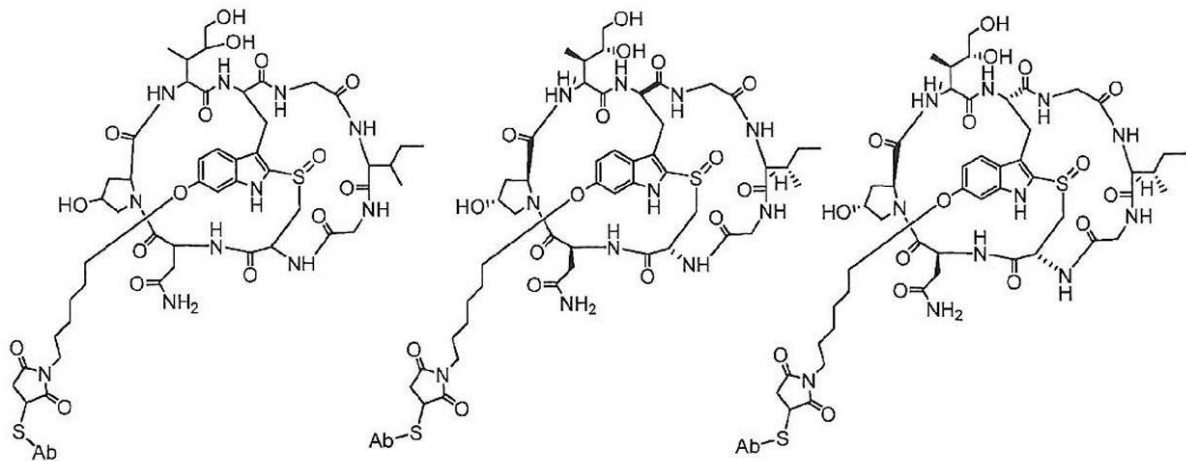
である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

Am-L-Zは、以下のうちの1つである、請求項 18 に記載の方法；

40

【化 10】



10

【請求項 20】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記 F c ドメインにおけるシステイン残基によって前記アマトキシシンにコンジュゲートされる、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 21】

前記システイン残基は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記 F c ドメインにおける変異によって導入される、請求項 20 に記載の方法。

20

【請求項 22】

前記システイン残基は C y s 1 1 8、C y s 2 3 9、および C y s 2 6 5 からなる群から選択される、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記システイン残基は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記 F c ドメインに天然に存在する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 24】

前記 F c ドメインは I g G F c ドメインであり、前記システイン残基は C y s 2 6 1、C y s 3 2 1、C y s 3 6 7、および C y s 4 2 5 からなる群から選択される、請求項 23 に記載の方法。

30

【請求項 25】

前記抗 C D 2 5 2 A D C は、抗原提示細胞 (A P C) によって内在化される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記細胞毒素は、微小管結合剤またはアウリスタチンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 27】

前記微小管結合剤はメイタンシンである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記微小管結合剤はメイタンシノイドである、請求項 26 に記載の方法。

40

【請求項 29】

前記メイタンシノイドは、D M 1、D M 3、および D M 4、ならびにメイタンシノールからなる群から選択される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチン E またはモノメチルアウリスタチン F である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 31】

前記細胞毒素は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである、請求項 1 に記載の方法。

50

【請求項 32】

移植片対宿主病（GVHD）を処置することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を処置する方法であって、GVHDが処置されるように抗CD252ADCを前記ヒト患者に投与することを含む、方法。

【請求項 33】

前記ヒト患者は以前に移植を受けたことがある、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前4日以内に前記移植を受けた、請求項33に記載の方法。

【請求項 35】

前記抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、単回用量として前記ヒト患者に投与される、請求項32～34のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗CD252抗体またはその抗原結合部分を含む、抗CD252抗体-薬物コンジュゲート（ADC）。

【請求項 37】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する、請求項36に記載の抗CD252ADC。

【請求項 38】

前記IgGは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプである、請求項37に記載の抗CD252ADC。

【請求項 39】

前記抗体はインタクト抗体である、請求項36～38のいずれか一項に記載の抗CD252ADC。

【請求項 40】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、二重特異性抗体、二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖Fv分子（scFv）、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキャフォールド、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、またはタンデムdimer-scFvである、請求項36～39のいずれか一項に記載の抗CD252ADC。

【請求項 41】

前記抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含有する重鎖可変領域を含み、且つ、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含有する軽鎖可変領域を含む、請求項36に記載の抗CD252ADC。

【請求項 42】

前記抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3～5のアミノ酸配列に記載のCDR1、CDR2、およびCDR3ドメインを含有する重鎖可変領域を含み、且つ、配列番号6～8のアミノ酸配列に記載のCDR1、CDR2、およびCDR3ドメインを含有する軽鎖可変領域を含む、請求項36に記載の抗CD252ADC。

【請求項 43】

前記細胞毒素は、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である、請求項36に記載の抗CD252ADC。

【請求項 44】

前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである、請求項43に記載の抗CD252ADC。

【請求項 45】

前記アマトキシンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項44に記載の抗CD252ADC。

10

20

30

40

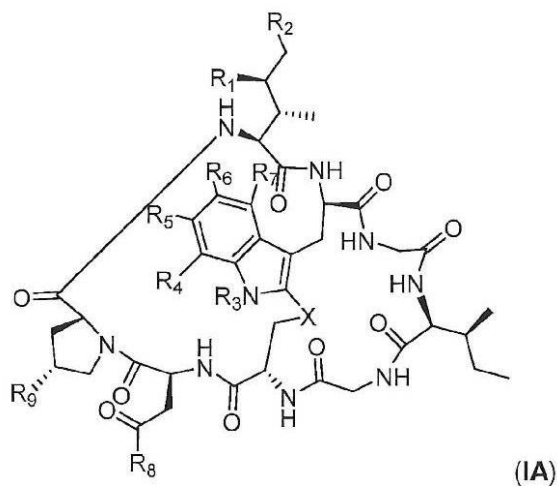
50

【請求項 4 6】

式 $A b-Z-L-A m$ で表される抗 $C D 2 5 2 A D C$ であって、式中、 $A b$ は請求項 4 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントであって、 L はリンカーであって、 Z は化学部分であって、 $A m$ はアマトキシシンである、抗 $C D 2 5 2 A D C$ 。

【請求項 4 7】

$A m-L-Z$ は式 (I A) で表わされる、請求項 4 6 に記載の抗 $C D 2 5 2 A D C$:
【化 1 1】



10

20

[式中、 R_1 は、 H 、 OH 、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、 H 、 OH 、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、 H 、 R_C 、または R_D であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ独立して、 H 、 OH 、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、 OH 、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

30

R_9 は、 H 、 OH 、 OR_C 、または OR_D であり；

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

L は、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、任意にジペプチド、任意に $-(C=O)-$ 、任意にペプチド、またはそれらの組み合わせであり；ならびに

40

Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、

式中、 $A m$ は、ちょうど 1 つの R_C 置換基を含む]。

【請求項 4 8】

$L-Z$ は、

50

CC(C)[C@H](C(=O)NCC1C(=O)CC(=O)S1)C(=O)N[C@H](C)C(=O)Nc2ccc(C#N)cc2

【請求項 49】

10

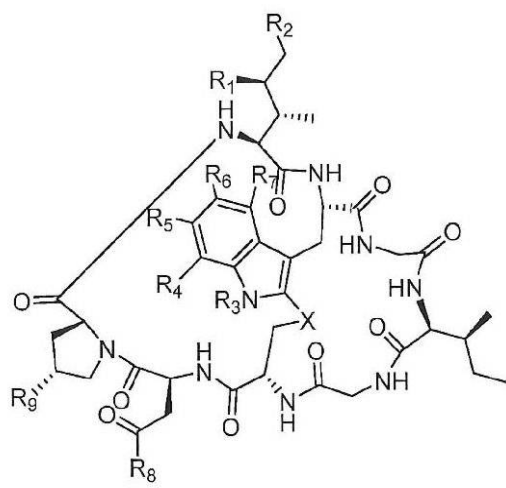
20

30

【請求項 50】

A m - L - Z は式 (I B) で表わされる、請求項 4 6 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C :

【化 1 4】



10

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

20

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

30

Lは、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、任意にジペプチド、任意に $-(C=O)-$ 、任意にペプチド、またはそれらの組み合わせであり；ならびに

Zは、L上に存在する反応性置換基と、前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、

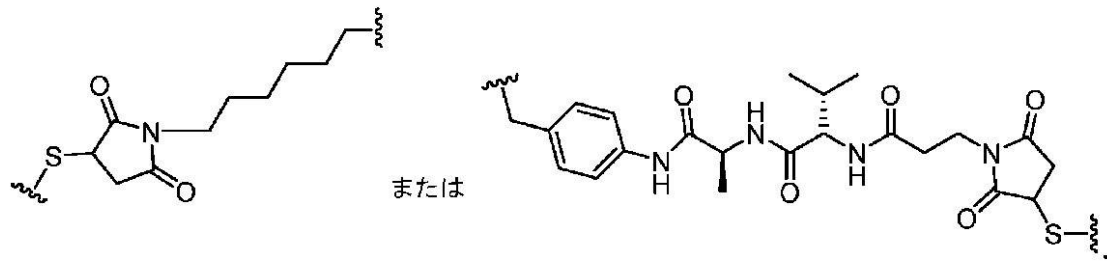
40

式中、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む]。

【請求項 5 1】

L-Zは、

【化 1 5】



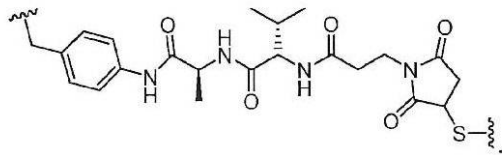
10

である、請求項 50 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 5 2】

L - Z は、

【化 1 6】



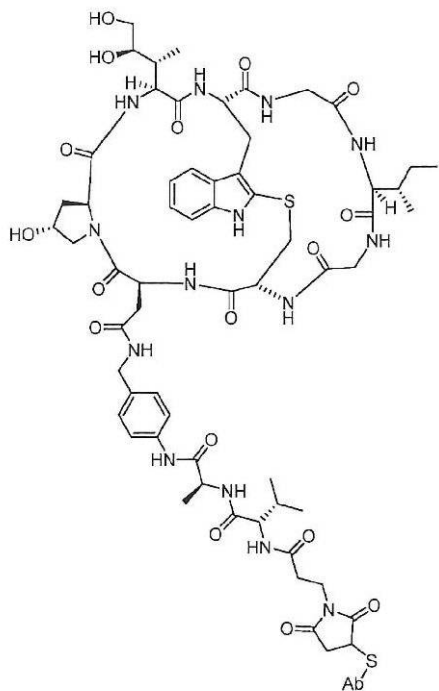
20

である、請求項 51 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 5 3】

A m - L - Z - A b は、

【化 1 7】



30

40

である、請求項 52 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 5 4】

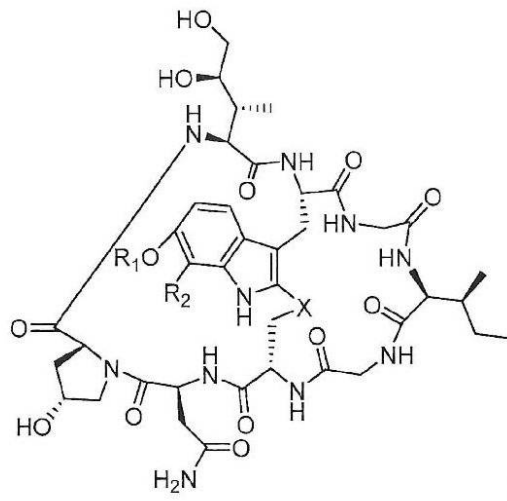
A m - L - Z は、式 (I I)、式 (I I A)、または式 (I I B) で表される、請求項

50

【化 1 8 - 1】



【化 1 8 - 2】



10

〔式中、Xは、S、SO、またはSO₂であり；

R₁はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；ならびに

20

R₂はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；

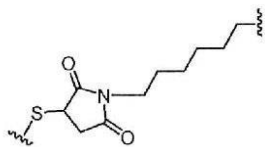
ここで、R₁がHである場合、R₂が前記リンカーであり、R₂がHである場合、R₁が前記リンカーである〕。

【請求項 5 5】

L-Zは、

【化 1 9】

30

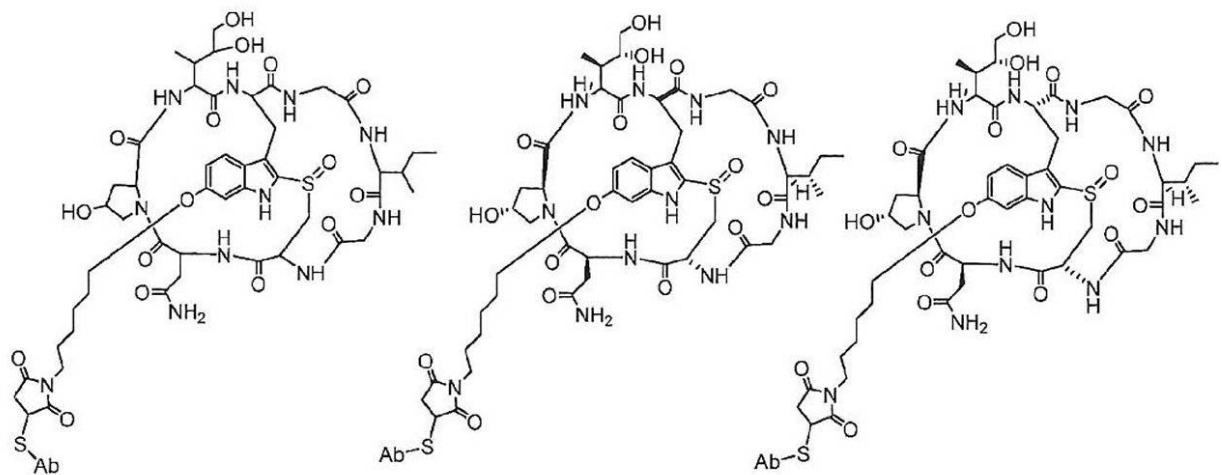


である、請求項 5 4 に記載の抗 CD 2 5 2 A D C。

【請求項 5 6】

A m-L-Zは、以下のうちの 1 つである、請求項 5 5 に記載の抗 CD 2 5 2 A D C：

【化 20】



10

【請求項 57】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記 F c ドメインにおけるシステイン残基によって前記アマトキシシンにコンジュゲートされる、請求項 46 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

20

【請求項 58】

前記システイン残基は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記 F c ドメインにおける変異によって導入される、請求項 57 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 59】

前記システイン残基は C y s 1 1 8、C y s 2 3 9、および C y s 2 6 5 からなる群から選択される、請求項 58 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 60】

前記システイン残基は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記 F c ドメインに天然に存在する、請求項 57 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 61】

前記 F c ドメインは I g G F c ドメインであり、前記システイン残基は C y s 2 6 1、C y s 3 2 1、C y s 3 6 7、および C y s 4 2 5 からなる群から選択される、請求項 60 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

30

【請求項 62】

前記抗 C D 2 5 2 抗体、そのフラグメント、または A D C は、抗原提示細胞 (A P C) によって内在化される、請求項 36 ~ 61 のいずれか一項に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 63】

前記細胞毒素は、微小管結合剤またはアウリスタチンである、請求項 36 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 64】

前記微小管結合剤はメイタンシンである、請求項 63 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

40

【請求項 65】

前記微小管結合剤はメイタンシノイドである、請求項 63 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

。

【請求項 66】

前記メイタンシノイドは、D M 1、D M 3、および D M 4、ならびにメイタンシノールからなる群から選択される、請求項 65 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

【請求項 67】

前記アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチン E またはモノメチルアウリスタチン F である、請求項 63 に記載の抗 C D 2 5 2 A D C。

50

【請求項 68】

前記細胞毒素は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである、請求項 36 に記載の抗 CD 25 2 ADC。

【請求項 69】

請求項 36 ～ 68 のいずれか一項に記載の抗 CD 25 2 ADC と、薬学的に活性な担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 70】

移植片対宿主病を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者において CD 25 2 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、請求項 36 ～ 68 のいずれか一項に記載の抗 CD 25 2 ADC の有効量を前記患者に投与することを含む、方法。

10

【請求項 71】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記抗 CD 25 2 ADC を投与することを含む、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 72】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約 3 日前に、前記患者に前記抗 CD 25 2 ADC を投与することを含む、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 73】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記抗 CD 25 2 ADC を投与することを含む、請求項 77 に記載の方法。

20

【請求項 74】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記抗 CD 25 2 ADC を投与することを含む、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 75】

移植片対宿主病 (GVHD) を処置することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病 (GVHD) を処置する方法であって、前記方法は、GVHD が処置されるように、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗 CD 25 2 抗体またはその抗原結合部分を含む抗 CD 25 2 抗体-薬物コンジュゲート (ADC) を前記ヒト患者に投与することを含む、方法。

【請求項 76】

移植片不全または GVHD を処置することを必要とするヒト患者において移植片不全または GVHD を処置する方法であって、前記方法は、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗 CD 25 2 抗体またはその抗原結合部分を含む抗 CD 25 2 抗体-薬物コンジュゲート (ADC) の有効量を前記ヒト患者に投与することを含む、方法。

30

【請求項 77】

前記ヒト患者は以前に移植を受けたことがある、請求項 76 に記載の方法。

【請求項 78】

前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前 4 日以内に前記移植を受けた、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 79】

移植片不全または GVHD を有するリスクがあるヒト患者を処置する方法であって、請求項 36 ～ 68 のいずれか一項に記載の抗 CD 25 2 ADC の有効量を前記移植片不全または GVHD を有するリスクがあるヒト患者に投与することと、その後前記ヒト対象に移植片を投与することを含む、方法。

40

【請求項 80】

前記 ADC は、単回用量として前記ヒト患者に投与される、請求項 76 ～ 79 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

50

【0001】

本出願は、2018年3月8日に出願された米国仮出願第62/640,543号に対する優先権を主張する。前述の出願の内容は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【技術分野】

【0002】

本発明は移植療法の分野に関し、抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、および抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の投与による移植片対宿主病(GVHD)の処置方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

移植後のGVHDの処置に関してかなりの進歩がなされてきたが、特にGVHDによる死亡率の低下に関して、方法の改善が当技術分野において依然として必要とされている。GVHDの従来の処置には、コルチコステロイドやシクロスポリンなどの強力な薬物による全身免疫抑制療法が必要である。ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン(シロリムス)、イマチニブ、およびリツキシマブなどの薬剤は、ステロイド不応性GVHD患者に使用される。しかしながら、これらの処置は有効性が制限されており、しばしば深刻な副作用を引き起こす。GVHD患者の50%のみが診断後5年以内に免疫抑制治療を中止することができ、10%は5年を超える継続治療を必要とする。残りの40%は、GVHDが治る前に死亡または再発悪性腫瘍を発症する。ハイリスクGVHD(血小板数<100,000/マイクロリットル、またはGVHDからの進行性発症)の患者の5年生存率は40~50%に過ぎない。このように、GVHDを予防および処置するための革新的戦略の開発は、重要な未充足の臨床的ニーズを表している。したがって、GVHDの細胞メ

10

20

【発明の概要】

【0004】

本明細書に開示されるのは、GVHDに関連する罹患率および死亡率を低減するために、ヒト患者などの患者における急性および慢性形態の移植片対宿主病(GVHD)を予防および処置するための組成物および方法である。

【0005】

一実施形態では、本発明は、患者内の抗原提示細胞(APC)、すなわち、OX40リガンド(すなわちCD252)を発現するAPCの集団を枯渇させるために、抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)で患者を処置する方法を特徴とする。

30

【0006】

一態様では、本発明は、抗CD252抗体、その抗原結合フラグメントまたはADCの有効量を患者に投与することによって、GVHDを処置することを必要とするヒト患者においてGVHDを処置する方法を特徴とする。

【0007】

別の態様では、本発明は、抗CD252抗体、その抗原結合フラグメントまたはADCの有効量を患者に投与することによって、GVHDを有するかまたはそのリスクがあるヒト患者において抗原提示細胞(APC)、すなわち、OX40リガンド(すなわち、CD252)を発現するAPCの集団を枯渇させる方法を提供する。

40

【0008】

いくつかの実施形態では、前記抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、前記患者への投与後にCD252(OX40リガンド)を発現する抗原提示細胞(APC)によって内在化される。例えば、前記抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、受容体媒介エンドサイトーシスによって(例えば、OX40リガンドを発現する抗原提示細胞(APC)の細胞表面に結合すると)内在化され得る。いくつかの実施形態では、前記抗OX40抗体、その抗原結合フラグメントに共有結合した細胞毒素は

50

、化学的切断（例えば、本明細書に記載のリンカーの酵素的または非特異的切断）によって細胞内に放出され得る。次いで、前記細胞毒素は、OX40リガンドを発現する抗原提示細胞（APC）の死を促進するために、その細胞内標的（とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核DNA、リボソームRNA、またはトポイソメラーゼなど）にアクセスすることができる。

【0009】

いくつかの実施形態では、前記抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、（例えば、微小管の動的不安定性を抑制することによって）CD252を発現する抗原提示細胞（APC）の有糸分裂停止を促進し、増殖を抑制することができる。

【0010】

いくつかの実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメント、ADCは、患者への投与時に、1つ以上複数の補体タンパク質、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、好中球、および／または好酸球をリクルートすることによって細胞の死を促進し得る。

【0011】

いくつかの実施形態では、前記抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、好中球、および／または好酸球をリクルートすることによって、OX40リガンドを発現する抗原提示細胞（APC）の死を促進し得る。

【0012】

さらなる態様では、本発明は、移植片対宿主病（GVHD）を予防または軽減することが必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を予防または軽減する方法であって、前記方法は、GVHDが予防されるように抗CD252抗体を前記ヒト患者に投与することを含む、方法の特徴とする。いくつかの実施形態では、前記抗CD252抗体は、細胞毒素に結合している（すなわち、抗CD252ADC）。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらに別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～約10日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～8日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～7日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～6日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～5日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約2～4日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者

10

20

30

40

50

に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。他の実施形態では、前記移植は同種移植である。

【0013】

さらに別の態様では、本発明は、GVHDを有するかまたはGVHDを発症するリスクがあるヒト対象においてCD252を発現する抗原提示細胞（APC）の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記CD252を発現する抗原提示細胞（APC）の集団が枯渇するように抗CD252ADCを前記ヒト患者に投与することを含み、前記抗CD252ADCは、細胞毒素に結合した抗OX40リガンド抗体を含む、方法の特徴とする。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に抗OX40抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらに別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～約10日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）、約1時間～約6時間、約1時間～約12時間、約1時間～約24時間、約1日～約2日、約1時間～約3日、約1日～約4日、約1日～約5日、約1日～約6日、約1日～約7日、約1日～約8日、約1日～約9日、または約1日～約10日後に前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～8日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～7日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～6日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1～5日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約2～4日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に抗CD252抗体または抗CD252ADCを投与することを含む。他の実施形態では、前記移植は同種移植である。

【0014】

一実施形態では、前記抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号1のアミノ酸配列に記載の重鎖可変領域を含み、且つ、配列番号2のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、前記抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号1の重鎖可変領域に記載のCDR1、CDR2、およびCDR3を含有する重鎖を含み、且つ、配列番号2の軽鎖可変領域に記載のCDR1、CDR2、およびCDR3を含有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、前記抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3～5に記載のCDR1、CDR2、およびCDR3を含有する重鎖を含み、且つ、配列番号6～8に記載のCDR1、CDR2、およびCDR3を含有する軽鎖を含む。

【0015】

別の実施形態では、前記抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号17の

アミノ酸配列に記載の重鎖可変領域を含み、且つ、配列番号 18 のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、前記抗 CD 252 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 17 の重鎖可変領域に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 を含有する重鎖を含み、且つ、配列番号 18 の軽鎖可変領域に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 を含有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、前記抗 CD 252 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 11～13 に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR を含有する重鎖を含み、且つ、配列番号 14～16 に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 を含有する軽鎖を含む。

【0016】

さらに別の態様では、本発明は、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含有する全長重鎖を含み、且つ、配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含有する全長軽鎖を含む抗 CD 252 抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【0017】

特定の実施形態では、抗 CD 252 抗体またはそのフラグメントは、細胞毒素にコンジュゲートされる。抗 CD 252 抗体（またはそのフラグメント）にコンジュゲートされ得る細胞毒素の例には、限定されないが、微小管結合剤が含まれる。

【0018】

一態様では、本発明は、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含有する重鎖可変領域を含み、且つ、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含有する軽鎖可変領域を含む抗 CD 252 抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【0019】

別の態様では、本発明は、配列番号 1 のアミノ酸配列に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 ドメインを含有する重鎖可変領域を含み、且つ、配列番号 2 のアミノ酸配列に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 ドメインを含有する軽鎖可変領域を含む抗 CD 252 抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。特定の実施形態では、前記抗 CD 252 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 3～5 に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 ドメインを含有する重鎖を含み、且つ、配列番号 6～8 に記載の CDR 1、CDR 2、および CDR 3 ドメインを含有する軽鎖を含む。

【0020】

一実施形態では、前記抗 CD 252 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG、IgA、IgM、IgD、および IgE からなる群から選択されるアイソタイプを有する。別の実施形態では、前記 IgG は、IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 アイソタイプである。さらなる実施形態では、前記抗 CD 252 抗体はインタクト抗体である。

【0021】

いくつかの実施形態では、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、二重特異性抗体、二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖 Fv 分子 (scFv)、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキャフォールド、Fv フラグメント、Fab フラグメント、F(ab')₂ 分子、またはタンデム di-scFv である。

【0022】

別の態様では、本発明は、本発明の抗体またはその抗原結合部分と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を特徴とする。

【0023】

別の態様では、本発明は、本発明の抗 CD 252 抗体またはその抗原フラグメントをヒト患者に投与することによって、移植片不全または GVHD を処置することを必要とするヒト患者において移植片不全または GVHD を処置する方法を特徴とする。一実施形態では、前記ヒト患者は以前に移植を受けたことがある。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前 4 日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前 3 日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原

10

20

30

40

50

結合フラグメントの投与前2日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前1日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前1日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前2～4日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前1日以内に前記移植を受けた。別の実施形態では、前記ヒト患者は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの投与前3～4日以内に前記移植を受けた。

【0024】

10

別の態様では、本発明は、本発明の抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を移植片不全またはGVHDを有するリスクがあるヒト患者に投与することと、その後前記ヒト対象に移植片を投与することによって、移植片不全またはGVHDを有するリスクがあるヒト患者を処置する方法を特徴とする。特定の実施形態では、前記抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、単回用量として前記ヒト患者に投与される。

【0025】

別の態様では、本発明は、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされた本明細書に記載の抗CD252抗体またはその抗原結合部分を含む、抗CD252抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を特徴とする。一実施形態では、前記細胞毒素は、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である。別の実施形態では、前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである。さらに別の実施形態では、前記アマトキシンはアマニチンである。別の実施形態では、前記アマトキシンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される。

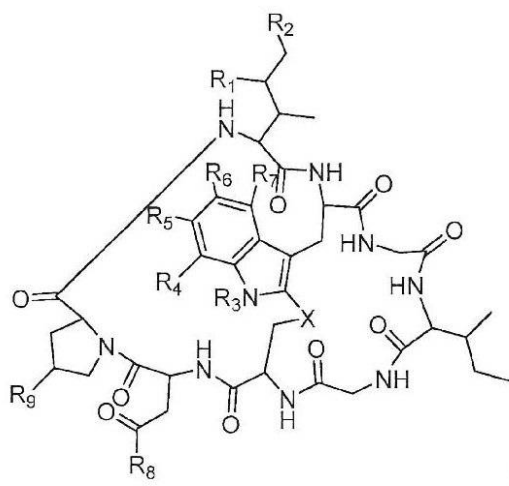
20

【0026】

別の態様では、本発明は、式Ab-Z-L-Amで表される抗CD252ADCであって、式中、Abは本明細書に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントであって、Lはリンカーであって、Zは化学部分であって、Amはアマトキシンである、抗CD252ADCを特徴とする。いくつかの実施形態では、前記アマトキシンはリンカーにコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、前記アマトキシリンカーコンジュゲートAm-L-Zは、式(I)で表される：

30

【化1】



40

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結

50

合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

10

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

20

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である】。

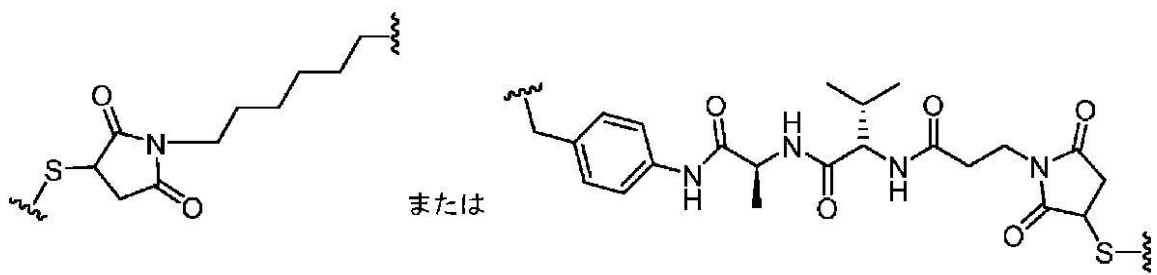
【0027】

いくつかの実施形態では、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む。

30

【0028】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、 $L-Z$ としてまとめて、【化2】



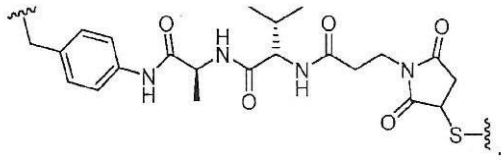
40

であり、上記式において、Sは、CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す（例えば、システイン残基の $-SH$ 基由来の）硫黄原子である。

【0029】

いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化 3】



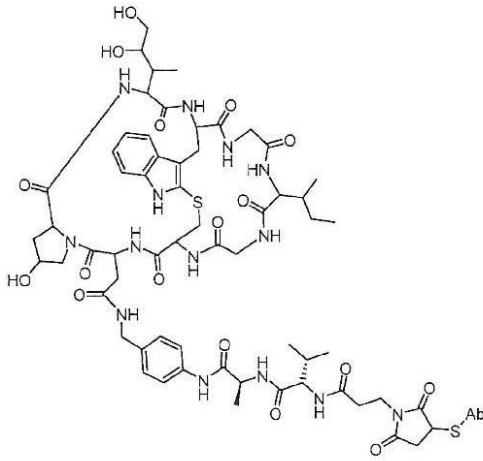
である。

【0030】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、

【化 4】

10



20

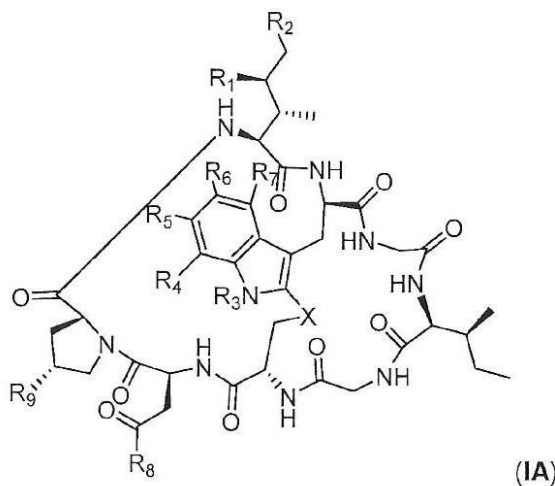
である。

【0031】

一実施形態では、Am-L-Zは、式 (IA) で表される：

【化 5】

30



40

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 および R_7 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

50

R_8 は、 OH 、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または NR_CR_D であり；

R_9 は、 H 、 OH 、 OR_C 、または OR_D であり；

X は、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、または $-\text{SO}_2-$ であり；

R_C は、 $-\text{L}-\text{Z}$ であり；

R_D は、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

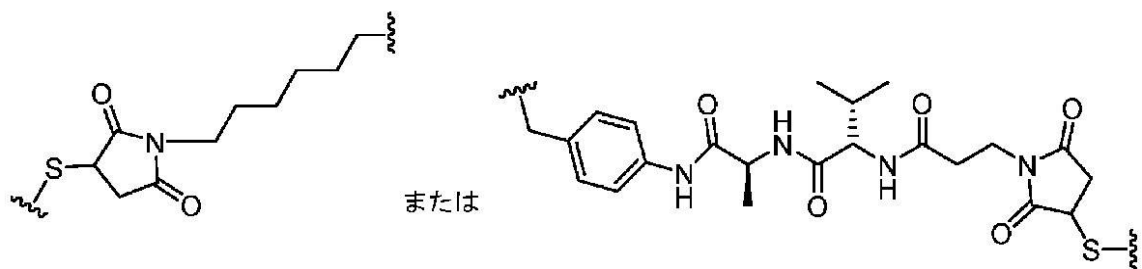
L は、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせであり；ならびに

Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり；

式中、 Am は、ちょうど 1 つの R_C 置換基を含む】。

【0032】

いくつかの実施形態では、リンカー L と化学部分 Z は、 $L-Z$ としてまとめて、
【化 6】

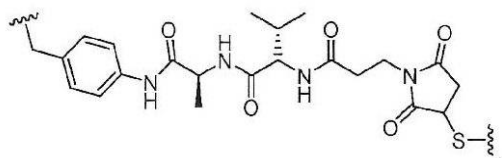


30

である。

【0033】

いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、
【化 7】



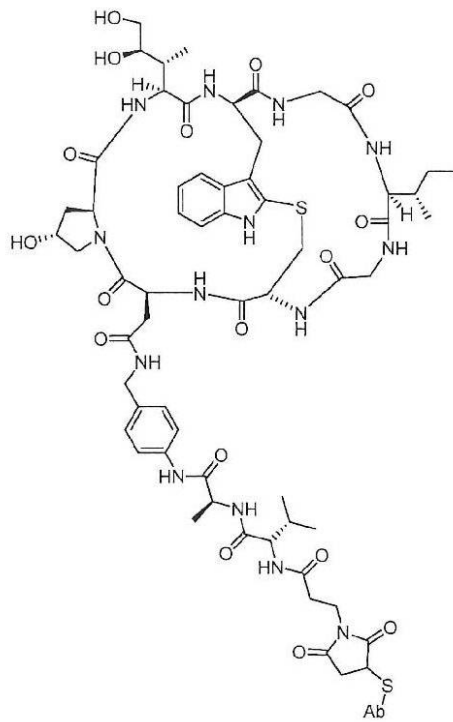
40

である。

【0034】

いくつかの実施形態では、 $\text{Am}-L-Z-\text{Ab}$ は、

【化 8】



10

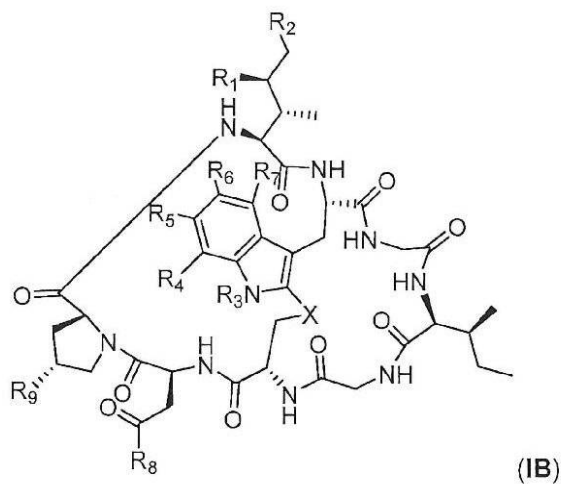
20

である。

【0035】

別の実施形態では、Am-L-Zは、式（IB）で表される：

【化 9】



(IB)

30

40

〔式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 、 R_5 、 R_6 および R_7 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

50

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせであり；ならびに

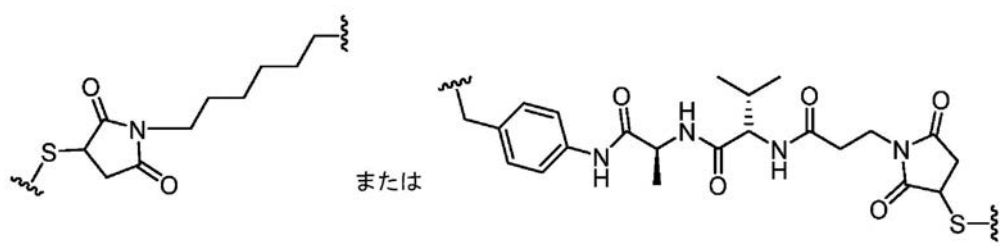
Zは、L上に存在する反応性置換基と、前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり；

式中、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む]。

【0036】

いくつかの実施形態では、リンカーLと化学部分Zは、 $L-Z$ としてまとめて、

【化10】

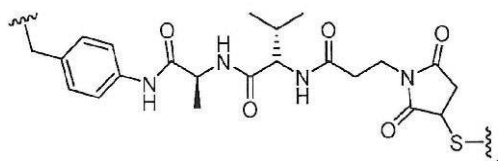


である。

【0037】

いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化11】



である。

【0038】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z-Ab$ は、

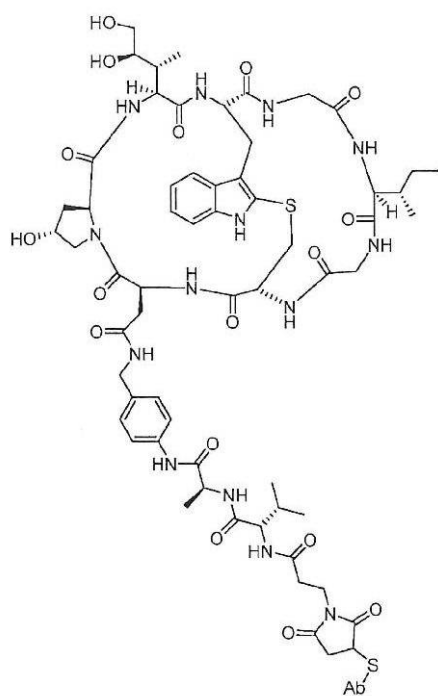
10

20

30

40

【化 1 2】



10

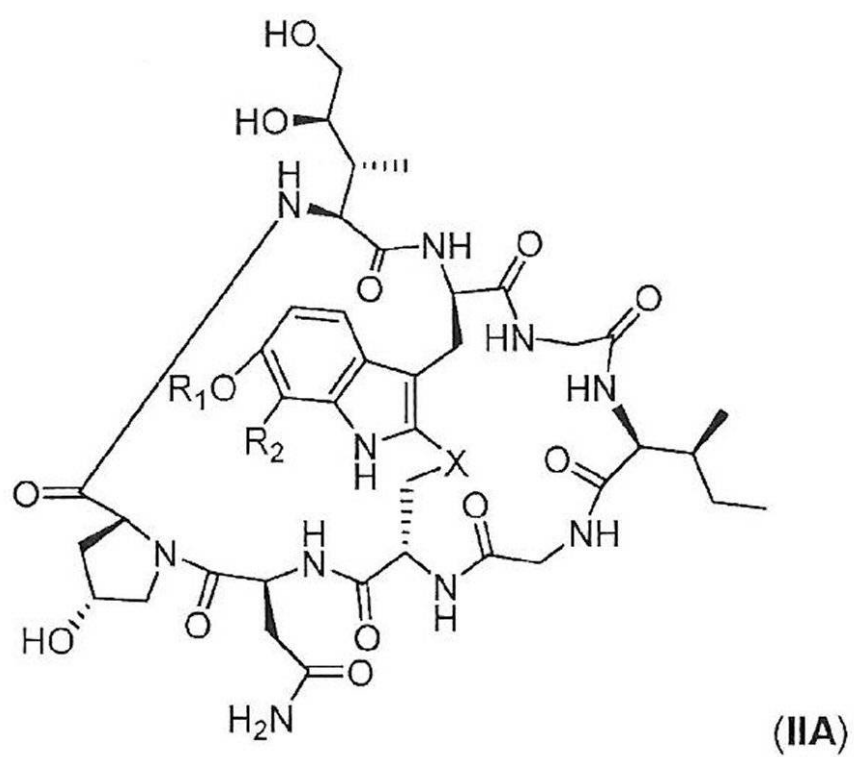
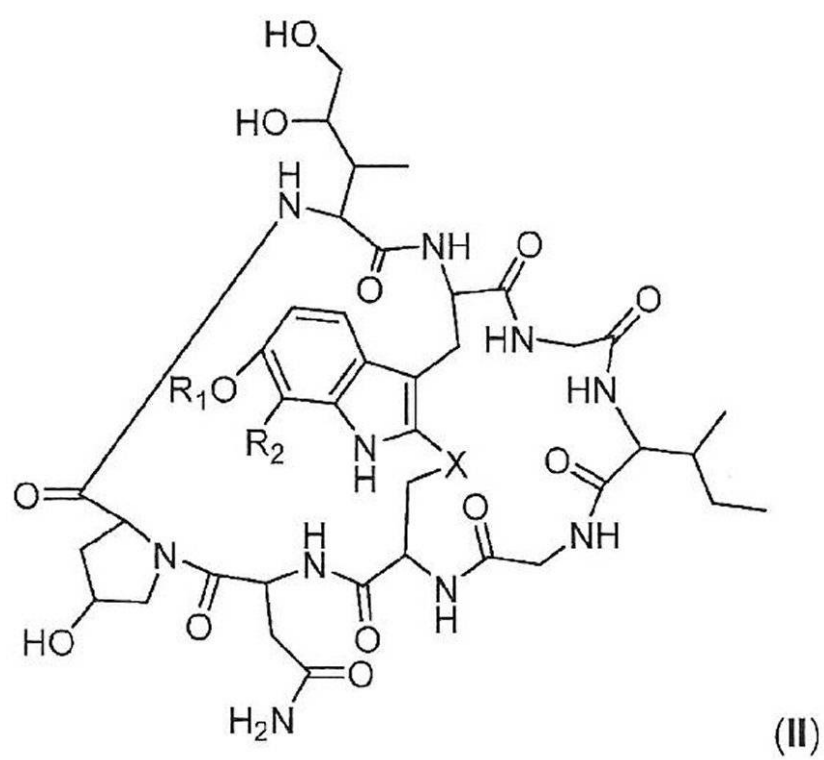
20

である。

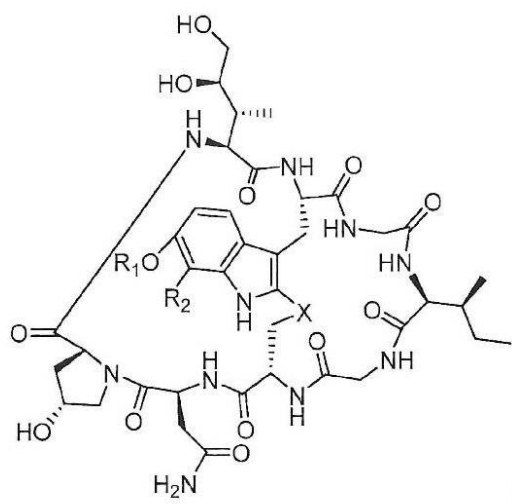
【0039】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（I I）、式（I I A）、または式（I I B）で表される：

【化 1 3 - 1】



【化 1 3 - 2】



10

[式中、Xは、S、SO、またはSO₂であり；

R₁はHであるか、化学部分Zを介して前記抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；ならびに

20

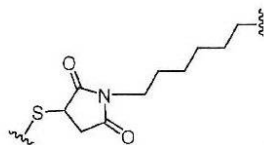
R₂はHであるか、化学部分Zを介して前記抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；

ここで、R₁がHである場合、R₂が前記リンカーであり、R₂がHである場合、R₁が前記リンカーである]。

【0040】

いくつかの実施形態では、L-Zは、

【化 1 4】



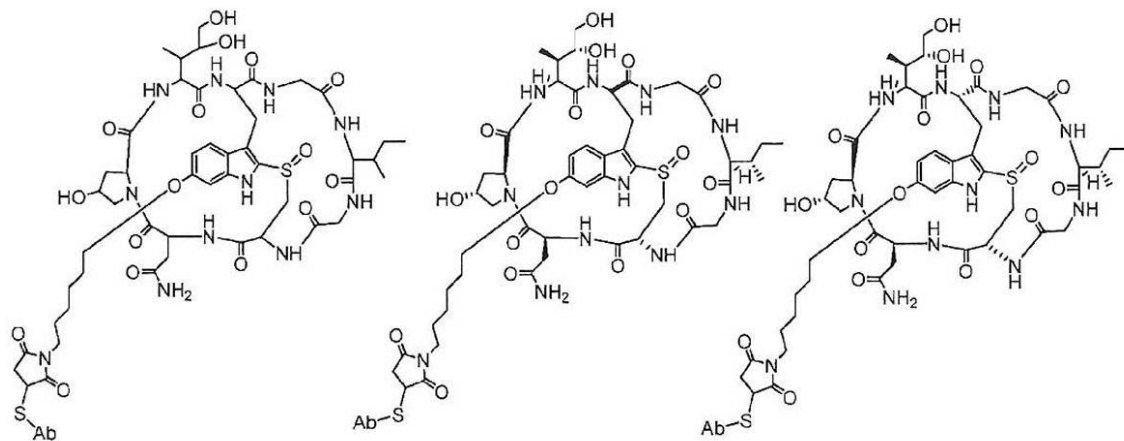
30

である。

【0041】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、以下のうちの1つである：

【化 1 5】



10

【0042】

さらに他の実施形態では、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記Fcドメインにおけるシステイン残基によって前記アマトキシニンにコンジュゲートされる。別の実施形態では、前記システイン残基は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記Fcドメインにおける変異によって導入される。別の実施形態では、前記システイン残基はCys118、Cys239、およびCys265からなる群から選択される。さらに他の実施形態では、前記システイン残基は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記Fcドメインに天然に存在する。別の実施形態では、前記FcドメインはIgGFcドメインであり、前記システイン残基はCys261、Cys321、Cys367、およびCys425からなる群から選択される。

20

【0043】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗CD252抗体、そのフラグメント、またはADCであって、抗原提示細胞（APC）によって内在化される抗CD252抗体、そのフラグメント、またはADCを特徴とする。いくつかの実施形態では、前記細胞毒素は、微小管結合剤またはアウリスタチンである。他の実施形態では、前記微小管結合剤はメイトンシンである。さらに他の実施形態では、前記微小管結合剤はメイトンシノイドである。別の実施形態では、前記メイトンシノイドは、DM1、DM3、およびDM4、ならびにメイトンシノールからなる群から選択される。別の実施形態では、前記アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチンEまたはモノメチルアウリスタチンFである。他の実施形態では、前記細胞毒素は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである。

30

【0044】

別の態様では、本発明は、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合フラグメントまたはADCの有効量を患者に投与することによって、移植片対宿主病を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD252+細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とする。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に本明細書に開示される抗体、その抗原結合フラグメントまたはADCを投与することを含む。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体、その抗原結合フラグメントまたはADCは、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に投与される。別の実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメントは、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に投与される。さらに他の実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメントは、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に投与される。

40

【0045】

別の態様では、本発明は、GVHDが処置されるように本明細書に開示される抗CD2

50

52抗体-薬物コンジュゲート（ADC）をヒト患者に投与することによって、移植片対宿主病（GVHD）を処置することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を処置する方法を特徴とする。

【0046】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗CD252ADCと、薬学的に活性な担体とを含む医薬組成物を特徴とする。

【0047】

別の態様では、本明細書に記載の方法は、自己免疫疾患の処置にも有用である。一実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、限定されないが、乾癬、炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎）、乾癬性関節炎、多発性硬化症、関節リウマチ、または強直性脊椎炎などの自己免疫疾患を処置するために使用され得る。他の実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、限定されないが乾癬、炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎）、乾癬性関節炎、多発性硬化症、関節リウマチ、または強直性脊椎炎などの自己免疫疾患を処置するために使用され得る。他の実施形態では、本明細書に開示される方法を使用して処置され得る自己免疫疾患には、例えば、強皮症、多発性硬化症（MS）、ヒト全身性エリテマトーデス（SLE）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、乾癬の処置、I型真性糖尿病（I型糖尿病）、急性散在性脳脊髄炎（ADEM）、アジソン病、汎発性脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群（APS）、再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患（AIED）、自己免疫性リンパ増殖症候群（ALPS）、自己免疫性卵巣炎、バロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、シャーガス病、慢性疲労免疫機能障害症候群（CFIDS）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、クローン病、瘢痕性類天疱瘡、セリアックスブル-疱疹状皮膚炎、寒冷凝集素症、クレスト症候群、デゴス病、円板状エリテマトーデス、自律神経失調症、子宮内膜症、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛症・線維筋炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギランバレー症候群（GBS）、橋本甲状腺炎、化膿性汗腺炎、特発性および／または急性型血小板減少性紫斑病、特発性肺線維症、IgAニューロパチー、間質性膀胱炎、若年性関節炎、川崎病、扁平苔癬、ライム病、メニエール病、混合性結合組織病（MCTD）、重症筋無力症、神経性筋強直症、オプソクロノス・ミオクロノス運動失調（OMS）、視神経炎、オード甲状腺炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性軟骨炎、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発性動脈炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、原発性無ガンマグロブリン血症、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、全身硬直症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎（「巨細胞性動脈炎」としても知られている）、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛（「外陰部前庭炎」）、ならびにウェゲナー肉芽腫症などの自己免疫疾患を処置するために使用され得る。

【図面の簡単な説明】

【0048】

【図1】ネイキッド抗CD252抗体、抗CD45ADC、およびアイソタイプコントロールを比較した混合リンパ球反応の結果を示すグラフである。

【図2】ネイキッド抗CD252抗体、抗CD45ADC、およびアイソタイプコントロールを異なる抗CD252抗体（11C3、1、159403、159408、およびオキセルマブ）と比較した混合リンパ球反応の結果を示すグラフである。結果は、抗体濃度の関数として、%活性化T細胞（図2A）または非活性化T細胞カウント（図2B）を示す。

【発明を実施するための形態】

【0049】

本発明は、ヒトCD252（すなわち、OX40リガンド）に結合する抗CD252抗体（ならびにそのフラグメントおよび抗体-薬物コンジュゲート（ADC））を提供する。本明細書で同定された抗CD252の結合領域は、以下の配列番号1および配列番号2に記載されている。

【0050】

本発明は、抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCの投与によって移植片対宿主病（GVHD）を予防および処置する方法を提供する。この投与は、宿主に対して反応性であるAPCの集団の選択的枯渇を引き起こすことができる。本発明は、CD252（すなわち、OX40リガンド）に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCが、造血幹細胞移植療法から生じるGVHDを含むGVHDを予防および処置するために患者に投与され得るという発見に一部基づいている。

【0051】

以下のセクションでは、GVHDを患っているかまたはそのリスクがある患者に投与され得る抗体、その抗原結合フラグメント、またはADC、ならびにそのような治療薬を該患者に投与する方法について説明する。

10

【0052】

（定義）

本明細書で使用される場合、用語「約」は、記載されている値の上下10%以内の値を指す。例えば、用語「約5 nM」は、4.5 nM～5.5 nMの範囲を示す。

【0053】

本明細書で使用される場合、「同種」という用語は、同じ種に属するが遺伝的に異なり、したがって免疫学的に不適合である個体由来の細胞または組織を指す。したがって、「同種細胞」という用語は、遺伝的に異なるが同じ種に属する細胞型を指す。通常、「同種」という用語は、ドナーから同じ種のレシピエントに移植される幹細胞などの細胞を定義するために使用される。

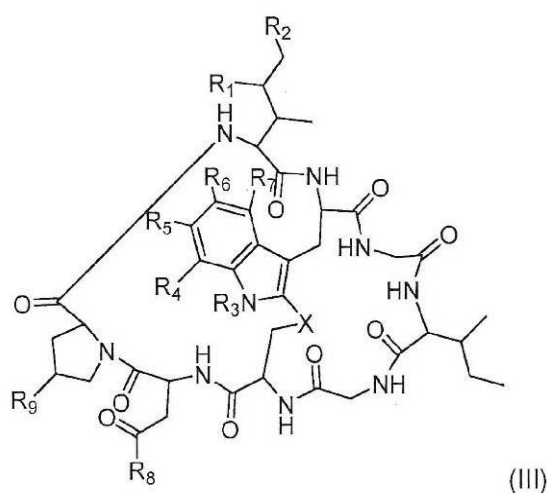
20

【0054】

本明細書で使用される場合、用語「アマトキシシン」は、タマゴテングタケによって産生されるペプチドのアマトキシシンファミリーのメンバー、またはそのバリエーションもしくは誘導体、例えばRNAポリメラーゼII活性を阻害することができるそのバリエーションもしくは誘導体を指す。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシシンには、限定されないが、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンを含む、式（III）による化合物が含まれる。式（III）は、以下の通りである：

30

【化16】



40

〔式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、

R_2 は、H、OH、または OR_B であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3 は、Hまたは R_D であり、

50

R_4 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、または OR_D であり、
 R_9 は、H、OH、または OR_D であり、

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、ならびに

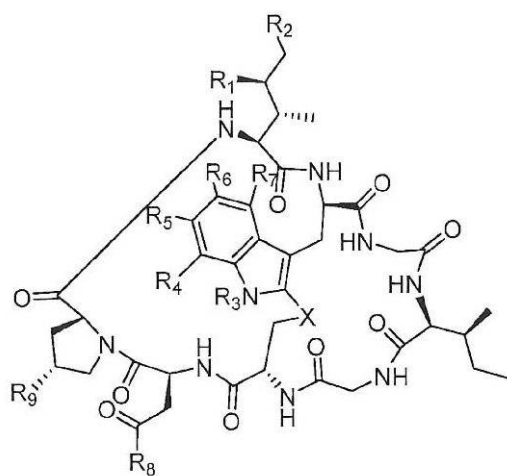
R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである」。

10

【0055】

例えば、一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシシンには、以下の式（III A）の化合物が挙げられる：

【化17】



(III A)

20

30

[式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、

R_2 は、H、OH、または OR_B であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3 は、Hまたは R_D であり、

R_4 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_5 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

40

R_6 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_7 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、または OR_D であり、

R_9 は、H、OH、または OR_D であり、

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、ならびに

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任

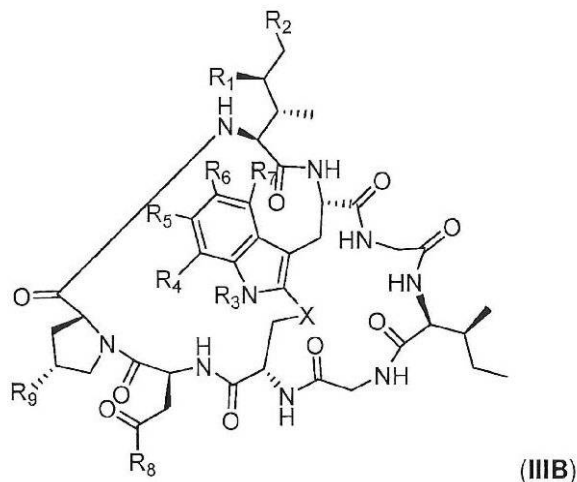
50

意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである」。

【0056】

一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシシンには、以下の式 (III B) の化合物も挙げられる：

【化18】



10

20

[式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、
 R_2 は、H、OH、または OR_B であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3 は、Hまたは R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、または OR_D であり、
 R_9 は、H、OH、または OR_D であり、

30

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、ならびに

R_D は、任意に置換されたアルキル (例えば、 C_1-C_6 アルキル)、任意に置換されたヘテロアルキル (例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル)、任意に置換されたアルケニル (例えば、 C_2-C_6 アルケニル)、任意に置換されたヘテロアルケニル (例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル)、任意に置換されたアルキニル (例えば、 C_2-C_6 アルキニル)、任意に置換されたヘテロアルキニル (例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル)、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである」。

40

【0057】

本明細書に記載されるように、アマトキシシンは、例えばリンカー部分 (L) を介して、抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされ得る (したがって、ADCを形成する)。そのようなプロセスに有用なアマトキシシンコンジュゲーションおよびリンカーの例示的な方法は、表1を含めて以下に記載されている。本明細書に記載の組成物および方法による、抗体または抗原結合フラグメントへの結合に有用な例示的なリンカー含有アマトキシシンは、本明細書に記載の構造式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA) および (IIB) に示されている。

【0058】

50

本明細書で使用される場合、用語「抗体」は、特定の抗原に特異的に結合するか、またはそれと免疫学的に反応性である免疫グロブリン分子を指し、モノクローナル抗体、遺伝子操作された抗体、およびその他の修飾形態の抗体が含まれ、限定されないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヘテロコンジュゲート抗体（例えば、二重、三重および四重特異性抗体、ダイアボディ、トリアボディ、およびテトラボディ）、ならびに、例えば、F a b'、F (a b')₂、F a b、F v、r I g G、およびs c F vフラグメントを含む抗体の抗原結合フラグメントが含まれる。特に明記しない限り、「モノクローナル抗体」(m A b)という用語は、インタクト分子と、標的タンパク質（抗原）に特異的に結合することができる抗体フラグメント（例えば、F a bおよびF (a b')₂フラグメントを含む）の両方を含むことを意味する。本明細書で使用される場合、F a bおよびF (a b')₂フラグメントは、インタクト抗体のF cフラグメントを欠く抗体フラグメントを指す。これらの抗体フラグメントの例は、本明細書に記載されている。

10

【0059】

一般に、抗体は、抗原結合領域を含有する重鎖および軽鎖を含む。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではH C V RまたはV Hと略される）および重鎖定常領域からなる。重鎖定常領域は、C H 1、C H 2およびC H 3の3つのドメインからなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではL C V RまたはV Lと略される）および軽鎖定常領域からなる。軽鎖定常領域は、1つのドメインC Lからなる。V HおよびV L領域は、相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分化することでき、フレームワーク領域（F R）と呼ばれるより保存された領域が点在している。各V HおよびV Lは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4の順序で配置された3つのC D Rと4つのF Rからなる。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的な補体系の第1成分（C 1 q）を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

20

【0060】

本明細書で使用される「インタクト」または「全長」抗体は、ジスルフィド結合によって相互接続された2つの重鎖（H）鎖ポリペプチドおよび2つの軽（L）鎖ポリペプチドを有する抗体を指す。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではH C V RまたはV Hと略される）および重鎖定常領域からなる。重鎖定常領域は、C H 1、C H 2およびC H 3の3つのドメインからなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではL C V RまたはV Lと略される）および軽鎖定常領域からなる。軽鎖定常領域は、1つのドメインC Lからなる。V HおよびV L領域は、相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分化することでき、フレームワーク領域（F R）と呼ばれるより保存された領域が点在している。各V HおよびV Lは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4の順序で配置された3つのC D Rと4つのF Rからなる。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的な補体系の第1成分（C 1 q）を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

30

40

【0061】

本明細書で使用される「抗原結合フラグメント」という用語は、標的抗原に特異的に結合する能力を保持する、抗体の1つ以上のフラグメントを指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体のフラグメントによって実行され得る。抗体フラグメントは、例えば、F a b、F (a b')₂、s c F v、ダイアボディ、トリアボディ、アフィボディ、ナノボディ、アプタマー、またはドメイン抗体であり得る。抗体の「抗原結合フラグメント」という用語に包含される結合フラグメントの例には、以下が含まれるが、これらに限定されない：

(i) V_L、V_H、C_L、およびC_H 1ドメインからなる一価フラグメントであるF a bフラグメント；(i i) ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのF a bフラグメントを含む二価フラグメントであるF (a b')₂フラグメント；(i i i) V

50

H および C_H1 ドメインからなる Fd フラグメント；(i v) 抗体の単一アームの V_L および V_H ドメインからなる Fv フラグメント；(v) V_H および V_L ドメインを含む dAb ；(v i) V_H ドメインからなる dAb フラグメント（例えば、Ward et al., Nature 341:544-546 頁、1989 年を参照）；(v i i) V_H または V_L ドメインからなる dAb ；(v i i i) 単離された相補性決定領域 (CDR)；および (i x) 任意に合成リンカーによって連結されていてもよい 2 つ以上（例えば、2、3、4、5、または 6 つ）の単離された CDR の組み合わせ。さらに、 Fv フラグメントの 2 つのドメイン、 V_L および V_H は、別々の遺伝子によってコードされているが、それらは、組み換え法を用いて、 V_L および V_H 領域がペアになって一価分子を形成する単一のタンパク質鎖としてそれらが作製されることを可能にするリンカーによって連結され得る（一本鎖 Fv (scFv) として知られる；例えば、Bird et al., Science 242:423-426 頁、1988 年、および Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 頁、1988 年を参照）。これらの抗体フラグメントは、当業者に知られている従来技術を用いて得ることができ、該フラグメントは、インタクト抗体と同じ方法で、有用性についてスクリーニングすることができる。抗原結合フラグメントは、組み換え DNA 技術、インタクト免疫グロブリンの酵素的または化学的切断によって、または、特定の場合には、当該技術分野で知られている化学的ペプチド合成手順によって産生することができる。

10

【0062】

20

本明細書で使用される場合、用語「抗 OX40 リガンド抗体」または「抗 CD252 抗体」または「抗 OX40 リガンド ADC」または「抗 CD252 ADC」は、OX40 リガンド（すなわち、CD252）に特異的に結合する抗体または ADC を指す。目的の抗原、すなわち CD252 に結合する抗体は、抗体が抗原を発現する細胞を標的化するのに有用であるように、十分な親和性でその抗原に結合することができるものである。好ましい実施形態において、抗体は、ヒト CD252 (hCD252) に特異的に結合する。CD252 は抗原提示細胞に見られる。抗 CD252 抗体（または抗 CD252 抗体-薬物コンジュゲート）が結合するヒト CD252 のアミノ酸配列は、以下の配列番号 19 または 20 に記載されている。

【0063】

30

本明細書で使用される場合、用語「二重特異性抗体」は、2 つの異なる抗原に結合することができる抗体を指す。例えば、結合特異性の一方は、抗原提示細胞 (APC) 表面抗原 CD252 に向けることができ、他方は、とりわけ、細胞増殖を増強するシグナル伝達経路に関与する受容体または受容体サブユニットなどの、異なる細胞表面抗原または別の細胞表面タンパク質に特異的に結合することができる。

【0064】

本明細書で使用される場合、用語「相補性決定領域 (CDR)」は、抗体の軽鎖および重鎖可変ドメインの両方に見られる超可変領域を指す。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク領域 (FR) と呼ばれる。抗体の超可変領域を線引きするアミノ酸位置は、文脈および当該技術分野で知られている様々な定義に応じて変わり得る。可変ドメイン内のいくつかの位置は、これらの位置がある基準の下では超可変領域内にあると見なすことができるが、異なる基準の下では超可変領域外にあると見なすことができるという点で、ハイブリッド超可変位置と見なされ得る。これらの位置のうちの 1 つ以上を、拡張超可変領域にも見ることができる。本明細書に記載の抗体は、これらのハイブリッド超可変位置に改変を含み得る。天然の重鎖および軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、主に β シート構造をとる 4 つのフレームワーク領域を含み、3 つの CDR によって接続され、それらは β シート構造をつなぐループを形成し、場合によっては β シート構造の一部を形成する。各鎖中の CDR は、FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 の順序で、フレームワーク領域によって互いに近接して一緒に保持され、他の抗体鎖からの CDR と共に、抗体の標的結合部位の形成に寄与する（例えば、Kabata

40

50

、Sequences of Proteins of Immunological Interest、国立衛生研究所、ベセスダ、メリーランド州、1987年または <http://www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/DomainGapAlign.cgi> を参照)。特定の実施形態では、別段の指定がない限り、免疫グロブリンアミノ酸残基のナンバリングは、Kabattらの免疫グロブリンアミノ酸残基のナンバリングシステムに従って行われる。

【0065】

本明細書で使用される場合、用語「抗体-薬物コンジュゲート」または「ADC」は、抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性官能基と、本明細書に記載の細胞毒素などの別の分子の適切な反応性官能基との化学結合によって形成される化合物を指す。ADCは、互いに結合した抗体（例えば、抗CD252抗体）と細胞毒素との間にリンカーを含み得る。そのようなADCは式 $Ab-Z-L-Cy$ で表わされ得、式中、Abは抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Zはリンカー上に存在する化学性反応基と抗体またはその抗原結合フラグメント内の化学性反応基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、Lはリンカーであり、Cyは細胞毒素である。ADCの形成に使用され得るリンカーの例には、天然に存在するアミノ酸またはD-アミノ酸などの天然に存在しないアミノ酸を含有するものなどのペプチド含有リンカーが挙げられる。リンカーは、本明細書に記載され、当該技術分野で知られている種々の戦略を使用して調製することができる。その中の反応性成分に応じて、リンカーは、例えば、酵素加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核開裂、または有機金属開裂によって切断され得る（例えば、Leriche et al., Bioorg. Med. Chem., 20:571-582頁、2012年を参照）。前述のコンジュゲートは、本明細書では互換的に「薬物-抗体コンジュゲート」または「コンジュゲート」とも呼ばれる。

【0066】

本明細書で使用される場合、用語「カップリング反応」は、互いに反応するのに適した2つ以上の置換基が反応して、各置換基に結合した分子フラグメントを（例えば、共有結合的に）連結する化学的部位を形成する化学反応を指す。カップリング反応には、当該技術分野で知られているかまたは本明細書に記載の細胞毒素などの細胞毒素であるフラグメントに結合した反応性置換基が抗体またはその抗原結合フラグメント、例えば、当該技術分野で知られているかまたは本明細書に記載のCD252に特異的な抗体またはその抗原結合フラグメントであるフラグメントに結合した適切に反応性の置換基と反応するものが挙げられる。適切に反応性の置換基の例には、求核剤/求電子剤対（例えば、とりわけチオール/ハロアルキル対、アミン/カルボニル対、またはチオール/ α , β -不飽和カルボニル対）、ジエン/ジエノフィル対（例えば、とりわけアジド/アルキン対）などが挙げられる。カップリング反応には、特に限定されないが、チオールアルキル化、ヒドロキシアルキル化、アミンアルキル化、アミン縮合、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、付加環化（例えば、とりわけ、[4+2] ディールス-アルダー付加環化、[3+2] ヒュスゲン付加環化）、求核芳香族置換、求電子芳香族置換、および当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載の他の反応様式が含まれる。

【0067】

本明細書で使用される場合、「CRU（競合的再増殖単位）」は、*in vivo* 移植後に検出され得る長期生着幹細胞の測定単位を指す。

【0068】

本明細書で使用される場合、用語「ドナー」は、1つ以上の細胞が、その細胞またはその子孫のレシピエントへの投与の前に単離されるヒトまたは動物を指す。1つ以上の細胞は、例えば、造血幹細胞の集団であり得る。

【0069】

本明細書で使用される場合、用語「ダイアボディ」は、2本のポリペプチド鎖を含有する二価抗体を指し、各ポリペプチド鎖は、同じペプチド鎖上の V_H および V_L ドメインの

分子内会合を可能にするには短すぎるリンカー（例えば、5個のアミノ酸からなるリンカー）によって連結されたV_HおよびV_Lドメインを含む。この立体配置は、ホモ二量体構造を形成するように、各ドメインを別のポリペプチド鎖上の相補的ドメインと対合させる。したがって、用語「トリアポディ」は、3つのペプチド鎖を含む三価抗体を指し、その各々は、同じペプチド鎖内のV_HドメインとV_Lドメインの分子内会合を可能にするには非常に短いリンカー（例えば、1～2個のアミノ酸からなるリンカー）によって連結された1つのV_Hドメインと1つのV_Lドメインとを含む。それらの天然構造に折り畳むために、このように構成されたペプチドは、典型的には、隣接するペプチド鎖のV_HおよびV_Lドメインを互いに空間的に近位に配置するように三量体化する（例えば、Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-48頁、1993年を参照）。 10

【0070】

本明細書で使用される場合、「二重可変ドメイン免疫グロブリン」（「DVD-Ig」）は、リンカーを介して2つのモノクローナル抗体の標的結合可変ドメインを組み合わせて、四価の二重標的単一剤を作製する抗体を指す（例えば、Guet al., Meth. Enzymol., 502: 25-41頁、2012年を参照）。

【0071】

本明細書で使用される場合、用語「内因性」は、ヒト患者などの特定の生物において天然に見られる分子、細胞、組織、または臓器などの物質（例えば、造血幹細胞または造血系列の細胞、例えば巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、筋芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、またはBリンパ球）を表す。 20

【0072】

本明細書で使用される場合、用語「外因性」は、ヒト患者などの特定の生物において天然には見られない分子、細胞、組織、または臓器などの物質（例えば、造血幹細胞または造血系列の細胞、例えば巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、筋芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、またはBリンパ球など）を表す。外因性物質には、外部供給源から生物に、またはそれらから抽出された培養物に提供されるものが挙げられる。 30

【0073】

本明細書で使用される場合、用語「フレームワーク領域」または「FW領域」は、抗体またはその抗原結合フラグメントのCDRに隣接しているアミノ酸残基を含む。FW領域残基は、例えば、とりわけ、ヒト抗体、ヒト化抗体、モノクローナル抗体、抗体フラグメント、Fabフラグメント、一本鎖抗体フラグメント、scFvフラグメント、抗体ドメイン、および二重特異性抗体に存在し得る。

【0074】

本明細書で使用される場合、用語「造血幹細胞」（「HSC」）は、自己複製し、以下を含むがこれらに限定されない多様な系列を含む成熟血球に分化する能力を有する未成熟血球を指す：顆粒球（例えば前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、栓球（thrombocytes）（例えば、巨核球、血小板産生巨核球、血小板（platelets））、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞）。そのような細胞には、CD34+細胞が挙げられ得る。CD34+細胞は、CD34細胞表面マーカーを発現する未熟細胞である。ヒトでは、CD34+細胞は上記定義の幹細胞特性を有する細胞の亜集団を含むと考えられているが、マウスでは、HSCはCD34-である。さらに、HSCは、長期再構築HSC（LT-HSC）および短期再構築HSC（ST-HSC）も指す。LT-HSCおよびST-HSCは、機能的ポテンシャルおよび細胞表面マーカー発現に基づいて区別される。例えば、ヒトHSCは、CD 40

34+、CD38-、CD45RA-、CD90+、CD49F+、およびlin- (CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56、CD235Aを含む成熟系列マーカーについて陰性) である。マウスでは、骨髓LT-HSCは、CD34-、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+、CD48-、およびlin- (Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系列マーカーについて陰性) であり、一方、ST-HSCは、CD34+、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+、およびlin- (Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系列マーカーについて陰性) である。さらに、ST-HSCは、恒常性条件下で、LT-HSCよりも不活発ではなく、増殖性が高い。しかしながら、LT-HSCは、より大きな自己複製能力を有し (すなわち、それらは成熟期を通じて生存し、一連のレシピエントを通して連続的に移植され得る)、一方でST-HSCは、限られた自己複製を有する (すなわち、それらは限られた期間のみ生存し、連続移植能力を持たない)。これらのHSCのいずれも、本明細書に記載の方法で使うことができる。ST-HSCは、高度に増殖性であり、したがってより迅速に分化した子孫を生じさせることができるため、特に有用である。

【0075】

本明細書で使われる場合、用語「造血幹細胞としての機能的ポテンシャル」は、以下を含む造血幹細胞の機能的特性を指す：1) 多能性 (顆粒球 (例えば前骨髓球、好中球、好酸球、好塩基球)、赤血球 (例えば、網状赤血球、赤血球)、栓球 (thrombocytes) (例えば、巨核球、血小板産生巨核球、血小板 (platelets))、単球 (例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球 (例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞を含むが、これらに限定されない複数の異なる血系列に分化する能力を指す)、2) 自己複製 (造血幹細胞が、母細胞と同等の能力を有する娘細胞を生じさせる能力を指し、さらにこの能力は、枯渇することなく個体の生涯を通じて繰り返し出現することができる)、ならびに3) 造血幹細胞またはその子孫が移植レシピエントに再導入され、そこでそれらが造血幹細胞ニッチにホーミングし、生産的かつ持続的な造血を再確立する能力。

【0076】

本明細書で使われる場合、用語「ヒト抗体」は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変および定常領域を有する抗体を含むことを意図している。ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基 (例えば、in vitroでのまたは遺伝子再構成中のランダムまたは部位特異的突然変異誘発によって、あるいはin vivoでの体細胞突然変異によって導入された変異) を含む得る。しかしながら、本明細書で使われる用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列に由来するCDR配列が、ヒトのフレームワーク配列上にグラフトされている抗体を含むことは意図していない。ヒト抗体は、ヒト細胞においてin vitroで (例えば、組み換え発現によって)、または機能的に再構成されたヒト免疫グロブリン (重鎖および/または軽鎖など) 遺伝子を発現することができるヒト以外の動物または原核もしくは真核細胞によって産生され得る。ヒト抗体が一本鎖抗体である場合、それは天然のヒト抗体には見られないリンカーペプチドを含むことができる。例えば、Fvは、重鎖の可変領域と軽鎖の可変領域を連結する、2~約8個のグリシンまたは他のアミノ酸残基などのリンカーペプチドを含むことができる。そのようなリンカーペプチドは、ヒト起源のものであるとみなされる。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリーを使用するファージディスプレイ法を含む、当技術分野で知られている様々な方法によって作製することができる。ヒト抗体は、機能的な内因性免疫グロブリンを発現することはできないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して産生することもできる (例えば、PCT公開番号WO1998/24893; WO1992/01047; WO1996/34096; WO1996/33735; 米国特許第5,413,923号; 第5,625,126号; 第5,633,425

10

20

30

40

50

号；第5，569，825号；第5，661，016号；第5，545，806号；第5，814，318号；第5，885，793号；第5，916，771号；および第5，939，598号を参照）。

【0077】

本明細書で使用される場合、「微小管結合剤」という用語は、有糸分裂および間期細胞機能に不可欠である微小管ネットワークを破壊することによって作用する化合物を指す。微小管結合剤の例には、メイタシン、メイタンシノイド、およびそれらの誘導体（例えば、本明細書に記載されているまたは当技術分野で知られているものなど）、ビンブラスチン、硫酸ビンブラスチン、ビンクリスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビンなどのピンカアルカロイド、ドセタキセルおよびパクリタキセルなどのタキサン、デイスコデルモライド、コルヒチン、およびエポチロンなどのマクロライド、ならびにその誘導体（エポチロンBまたはその誘導体など）が含まれるが、これらに限定されない。パクリタキセルはTAXOL（登録商標）として、ドセタキセルはTAXOTERE（登録商標）として、硫酸ビンブラスチンはVINBLASTIN R. P（登録商標）として、硫酸ビンクリスチンはFARMISTIN（登録商標）として販売されている。パクリタキセルのジェネリック形態およびパクリタキセルの様々な剤形も含まれる。パクリタキセルのジェネリック形態には、塩酸ベタキソロールが含まれるが、これに限定されない。パクリタキセルの様々な剤形には、これらに限定されないが、ABRAXANE（登録商標）として販売されているアルブミンナノ粒子パクリタキセル、ONXOL（登録商標）、CYTOTAX（登録商標）が含まれる。デイスコデルモライドは、例えば、米国特許第5，010，099号に開示されているように得ることができる。また、米国特許第6，194，181号、WO9810121、WO9825929、WO9808849、WO9943653、WO9822461およびWO0031247に開示されているエポトリン誘導体も含まれ、これらの各々の開示は、参照により本明細書に援用される。

【0078】

タンパク質、例えば、抗体に関連して使用される場合の「単離された」という用語は、その起源または由来の源のために、その天然状態でそれに付随する天然関連成分と関連しないタンパク質；同じ種の他のタンパク質を実質的に含まないタンパク質；異なる種の細胞によって発現されるタンパク質；または自然界に発生しないタンパク質を指す。したがって、化学的に合成されたタンパク質、またはそれが天然に由来する細胞とは異なる細胞系で合成されたタンパク質は、その天然関連成分から「単離される」であろう。タンパク質はまた、当技術分野で周知のタンパク質精製技術を使用して、単離することにより、天然関連成分を実質的に含まないようにすることができる。

【0079】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、真核生物、原核生物、またはファージのクローンを含む単一のクローンに由来する抗体を指し、それを作製する方法ではない。

【0080】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、哺乳動物（例えば、ヒト）などの対象の組織との接触に適した化合物、材料、組成物および／または剤形であり、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、およびその他の問題の合併症がなく、合理的な利益／リスク比に見合ったものを指す。

【0081】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、哺乳動物に影響を与えている特定の疾患または状態、例えば、とりわけ本明細書に記載の自己免疫障害、癌、または血液障害を予防、処置または制御するために、哺乳動物（例えば、ヒト）などの対象に投与される治療化合物を含有する混合物を意味する。

【0082】

本明細書で使用される場合、「GVHDのリスクがある患者」という用語は、GVHDを発症する1つ以上の危険因子を有する患者を指す。危険因子には、ミスマッチヒト白血

球抗原（H L A）ドナーおよび性ミスマッチドナーを含む同種ドナー移植（例えば、骨髄移植からの造血幹細胞の移植）、T細胞が豊富な幹細胞移植、ドナーおよびレシピエントの年齢、移植ドナーまたは宿主におけるサイトメガロウイルス（C M V）またはC M V抗体の存在、全身照射（T B I）の線量の増加、コンディショニングレジメンの強度、急性G V H D予防、保護環境の欠如、脾臓摘出、免疫グロブリンの使用、基礎疾患、A B O適合性、ヘルペスウイルスへの以前の曝露、ドナーの輸血、パフォーマンススコア、抗生物質の腸管の除染、および同種移植後の輸血が含まれるが、これらに限定されない。

【0083】

本明細書で使用される場合、「H L A不適合」という用語は、特にH L A－A、H L A－B、およびH L A－D Rに関して、少なくとも1つのH L A抗原が、造血幹細胞移植療法を必要とするレシピエントに造血幹細胞移植片を提供するドナーなどのドナーとレシピエントの間で不適合であるドナー－レシピエントペアを指す。いくつかの実施形態では、一方のハプロタイプが適合であり、他方が不適合である。内因性T細胞およびN K細胞は、H L A不適合のドナー－レシピエントのペアの場合、入ってくる移植片を外来性として認識する可能性が高く、したがって、そのようなT細胞とN K細胞は移植片に対して免疫応答を開始する可能性が高くなるので、H L A不適合のドナー－レシピエントのペアは、H L A適合のドナー－レシピエントのペアと比較して移植片拒絶のリスクが高い可能性がある。

【0084】

本明細書で使用される場合、用語「サンプル」は、対象から採取した検体（例えば、血液、血液成分（例えば、血清または血漿）、尿、唾液、羊水、脳脊髄液、組織（例えば、胎盤または真皮）、腓液、絨毛膜絨毛サンプル、および細胞）を指す。

【0085】

本明細書で使用される場合、用語「s c F v」は、抗体由来の重鎖および軽鎖の可変ドメインが連結されて1本の鎖を形成している一本鎖F v抗体を指す。s c F vフラグメントは、リンカーによって分離された、抗体軽鎖の可変領域（V_L）（例えば、C D R－L 1、C D R－L 2、および／またはC D R－L 3）と抗体重鎖の可変領域（V_H）（例えば、C D R－H 1、C D R－H 2、および／またはC D R－H 3）を含む単一ポリペプチド鎖を含有する。s c F vフラグメントのV_LおよびV_H領域を連結するリンカーは、タンパク質新生アミノ酸からなるペプチドリンカーであり得る。代替リンカーを、s c F vフラグメントのタンパク質分解に対する耐性を増加させるように（例えば、D－アミノ酸を含有するリンカー）、s c F vフラグメントの溶解性を高めるために（例えば、ポリエチレングリコール含有リンカーもしくは反復グリシンおよびセリン残基を含有するポリペプチドなどの親水性リンカー）、分子の生物物理学的安定性を改善するために（例えば、分子内もしくは分子間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含有するリンカー）、またはs c F vフラグメントの免疫原性を弱めるために（例えば、グリコシル化部位を含むリンカー）、使用することができる。本明細書に記載のs c F v分子の可変領域は、それらが由来する抗体分子とはアミノ酸配列が異なるように修飾することができることも、当業者には理解されよう。例えば、保存的置換もしくはアミノ酸残基の変化をもたらすヌクレオチドまたはアミノ酸置換を（例えば、C D Rおよび／またはフレームワーク残基において）、対応する抗体によって認識される抗原に結合するs c F vの能力を保持または増強するように、実施することができる。

【0086】

本明細書で使用される「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、タンパク質一般にではなく、特定のタンパク質構造（エピトープ）を認識および結合する抗体（またはA D C）の能力を指す。抗体またはA D Cがエピトープ「A」に特異的である場合、標識「A」と抗体を含む反応において、エピトープAを含む分子（または遊離の非標識A）が存在すると、抗体またはA D Cに結合した標識Aの量が減少する。例として、抗体は、標識されたときに、対応する非標識抗体によってその標的からコンピートアウェイ（c o m p e t e d a w a y）され得る場合、その標的に「特異的に結合する」。一実

10

20

30

40

50

施形態では、抗体の標的に対する K_D が、少なくとも約 10^{-4} M、約 10^{-5} M、約 10^{-6} M、約 10^{-7} M、約 10^{-8} M、約 10^{-9} M、約 10^{-10} M、約 10^{-11} M、約 10^{-12} M、またはそれ未満である場合（それ未満は 10^{-12} 未満の数値、例えば 10^{-13} を意味する）、その抗体は標的、例えばCD252に特異的に結合する。別の実施形態では、抗体の標的に対する K_D が、少なくとも約 10^{-4} M～ 10^{-5} M、約 10^{-5} M～ 10^{-6} M、約 10^{-6} M～ 10^{-7} M、約 10^{-7} M～ 10^{-8} M、約 10^{-8} M～ 10^{-9} M、約 10^{-9} M～ 10^{-10} M、約 10^{-10} M～ 10^{-11} M、約 10^{-11} M～ 10^{-12} M、またはそれ未満である場合（それ未満は 10^{-12} 未満の数値、例えば 10^{-13} を意味する）、その抗体は標的、例えばCD252に特異的に結合する。一実施形態では、本明細書で使用される「CD252への特異的結合」または「CD252に特異的に結合する」という用語は、CD252に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定される解離定数（ K_D ）が 1.0×10^{-7} M以下である抗体またはADCを指す。一実施形態では、 K_D は、標準的な生体層干渉計（BLI）によって決定される。ただし、抗体またはADCは、配列が関連する2つ以上の抗原に特異的に結合できる可能性があることを理解されたい。例えば、一実施形態では、抗体は、CD252のヒトおよび非ヒト（例えば、マウスまたは非ヒト霊長類）オルソログの両方に特異的に結合することができる。

10

【0087】

本明細書で使用される場合、用語「対象」および「患者」は、本明細書に記載されるような特定の疾患または状態についての処置を受ける、ヒトなどの生物を指す。例えば、ヒト患者などの患者は、外因性造血幹細胞の生着を促進するために、造血幹細胞移植療法の前に処置を受け得る。

20

【0088】

本明細書で使用される場合、語句「血液から実質的に除去される」は、治療薬（抗CD252抗体、またはその抗原結合フラグメントなど）の患者への投与後のある時点であって、患者から単離された血液サンプル中の治療薬の濃度が、従来の手段によって治療薬を検出することができないようなときであるとき（例えば、治療薬が、治療薬の検出に使用される装置またはアッセイのノイズ閾値を超えて検出されないとき）を指す。当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載されるELISAベースの検出アッセイなどの、当該技術分野で知られている様々な技術が、抗体、抗体フラグメントおよびタンパク質リガンドを検出するために使用され得る。抗体、または抗体フラグメントを検出するために使用され得る追加的アッセイには、当該技術分野で知られているものの中でも、とりわけ免疫沈降技術および免疫プロットアッセイが含まれる。

30

【0089】

本明細書で使用される場合、語句「幹細胞障害」は、対象の標的組織をコンディショニングすることによって、および／または標的組織中の内因性幹細胞集団を切除する（例えば、対象の骨髓組織から内因性造血幹細胞または前駆細胞集団を切除することによって、および／または対象の標的組織に幹細胞を生着させるもしくは移植することによって処置もしくは治療され得る任意の疾患、障害、または状態を広く指す。

【0090】

本明細書で使用される場合、「疾患を患っている」という用語は、移植片対宿主病（GVHD）などの疾患に関連する症状を経験している対象（例えば、ヒト）を指す。本発明が特定の兆候または症状、または疾患に限定されることは意図されていない。したがって、本発明は、無症状から本格的な疾患まで、あらゆる範囲の疾患を経験している対象を包含し、当該対象は、GVHDに関連する兆候（例えば、兆候および症状）の少なくとも一部を示すことが意図されている。

40

【0091】

本明細書で使用される場合、「トランスフェクション（transfection）」という用語は、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム沈殿、DEAEーデキストラントランスフェクションなど、外因性DNAを原核生物または真核生

50

物の宿主細胞内に導入するために一般的に使用される多種多様な技術のいずれかを指す。

【0092】

本明細書で使用される場合、「移植（片）」という用語は、その起源の部位からレシピエント部位に移された任意の臓器、体組織、または細胞、またはそうする行為を指す。

【0093】

本明細書で使用される場合、「処置する」または「処置」という用語は、疾患症状の重症度および／または頻度を低減すること、疾患症状および／または前記症状の根本原因を排除すること、疾患症状および／またはそれらの根本原因の頻度または可能性を低減すること、および疾患によって直接的または間接的に引き起こされる損傷を改善または修復することを指す。有益なまたは望ましい臨床結果には、限定されないが、本明細書に記載の抗体コンディショニング療法およびその後の造血幹細胞移植療法後の患者における外因性造血細胞の生着の促進が含まれる。追加の有益な結果には、コンディショニング療法およびその後の患者への外因性造血幹細胞移植片の投与後の造血幹細胞移植を必要とする患者における造血幹細胞の細胞数または相対濃度の増加が含まれる。本明細書に記載の療法の有益な結果には、コンディショニング療法およびその後の造血幹細胞移植療法後の、巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、またはBリンパ球などの造血系列の1つ以上の細胞の細胞数または相対濃度の増加も含まれ得る。追加の有益な結果には、癌細胞または自己免疫細胞の集団などの疾患を引き起こす細胞集団の量の減少が含まれ得る。本発明の方法が障害を予防することを対象とする限り、「予防する」という用語は、疾患が完全に阻止されることを必要としないことが理解される。むしろ、本明細書で使用される場合、予防という用語は、本発明の化合物の投与が疾患の発症前に起こり得るように、障害に感受性のある集団を特定する当業者の能力を指す。当該用語は、疾患が完全に回避されることを意味するものではない。

【0094】

本明細書で使用される場合、「バリエーション」および「誘導体」という用語は交換可能に使用され、化合物、ペプチド、タンパク質または本明細書に記載の他の物質の天然に存在する、合成の、および半合成の類似体を指す。本明細書に記載の化合物、ペプチド、タンパク質もしくは他の物質のバリエーションまたは誘導体は、元の材料の生物学的活性を保持または改善し得る。

【0095】

本明細書で使用される場合、「有効量」または「治療有効量」という用語は、所望の結果を達成するために、またはGVHDに影響を与えるために十分な量を指す。特定の患者に対する特定の治療有効用量レベルは、処置される障害および障害の重症度；使用される特定の組成物；患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別および食事；投与時間；投与経路；使用した特定の化合物の排泄速度；処置期間；使用される特定の化合物および当技術分野でよく知られている同様の因子と組み合わせるまたは同時に使用される薬物を含む様々な因子に依存する。用量は変動する可能性があり、1日または数日間、毎日1回以上の投与で投与され得る。

【0096】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗原結合部位（CDR）を含有する抗体の領域を指す。通常、可変領域は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインである。重鎖の可変ドメインは、「VH」と呼ばれることもある。軽鎖の可変ドメインは、「VL」と呼ばれることもある。これらのドメインは、一般的に抗体の最も可変的な部分である。

【0097】

本明細書で使用される場合、用語「ベクター」は、プラスミド、DNAベクター、プラスミド、RNAベクター、ウイルス、または他の適切なレプリコンなどの核酸ベクターを含む。本明細書に記載の発現ベクターは、ポリヌクレオチド配列、ならびに、例えば、タ

ンパク質の発現および／またはこれらのポリヌクレオチド配列の哺乳動物細胞のゲノムへの組み込みに使用される追加的配列要素を含み得る。本発明の抗体および抗体フラグメントの発現に用いることができる特定のベクターは、遺伝子転写を指示するプロモーターおよびエンハンサー領域などの調節配列を含有するプラスミドを含む。抗体および抗体フラグメントの発現のための他の有用なベクターは、これらの遺伝子の翻訳速度を増強するか、または遺伝子転写から生じるmRNAの安定性もしくは核外輸送を改善するポリヌクレオチド配列を含有する。これらの配列要素は、例えば、発現ベクターで運ばれる遺伝子の効率的な転写を指示するための、5'および3'非翻訳領域とポリアデニル化シグナル部位とを含み得る。本明細書に記載の発現ベクターは、そのようなベクターを含む細胞を選択するためのマーカーをコードするポリヌクレオチドを含有し得る。適切なマーカーの例には、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、およびノウルセオトリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。

10

【0098】

本明細書で使用される場合、用語「アルキル」は、例えば、鎖中に1～20個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基を指す。アルキル基の例には、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル、イソヘキシルなどが挙げられる。

【0099】

本明細書で使用される場合、用語「アルキレン」は、直鎖または分岐鎖の二価アルキル基を指す。二価の位置は、アルキル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。アルキレンの例には、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレンなどが挙げられる。

20

【0100】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキル」は、例えば、鎖中に1～20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子（例えば、とりわけ酸素、窒素、または硫黄）を含有する直鎖または分岐鎖アルキル基を指す。

【0101】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルキル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルキル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。二価の位置は、1個以上のヘテロ原子であり得る。

30

【0102】

本明細書で使用される場合、用語「アルケニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルケニル基を指す。アルケニル基の例には、ビニル、プロペニル、イソプロペニル、ブテニル、tert-ブチレニル、ヘキセニルなどが挙げられる。

【0103】

本明細書で使用される場合、用語「アルケニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価アルケニル基を指す。二価の位置は、アルケニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。アルケニレンの例には、エテニレン、プロペニレン、イソプロペニレン、ブテニレンなどが挙げられる。

40

【0104】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルケニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子（例えば、とりわけ酸素、窒素、または硫黄）を含有する直鎖または分岐鎖アルケニル基を指す。

【0105】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルケニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルケニル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルケニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。二価の位置は、1個以上のヘテロ原子であり得る。

【0106】

本明細書で使用される場合、用語「アルキニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素

50

原子を有する直鎖または分岐鎖アルキニル基を指す。アルキニル基の例には、プロパルギル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニルなどが挙げられる。

【0107】

本明細書で使用される場合、用語「アルキニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価アルキニル基を指す。二価の位置は、アルキニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0108】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子（例えば、とりわけ酸素、窒素、または硫黄）を含有する直鎖または分岐鎖アルキニル基を指す。

【0109】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルキニル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルキニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。二価の位置は、1個以上のヘテロ原子であり得る。

【0110】

本明細書で使用される場合、用語「シクロアルキル」は、飽和であり、例えば、3～12個の炭素環原子を有する、単環式、または縮合、架橋、もしくはスピロ多環式環構造を指す。シクロアルキル基の例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスシクロ[3.1.0]ヘキサンなどが挙げられる。

【0111】

本明細書で使用される場合、用語「シクロアルキレン」は、二価のシクロアルキル基を指す。二価の位置は、環構造内の同じまたは異なる原子上にあり得る。シクロアルキレンの例には、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレンなどが挙げられる。

【0112】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキル」は、飽和であり、例えば、炭素原子と、例えば、とりわけ窒素、酸素、および硫黄から選択されるヘテロ原子とから選択される3～12個の環原子を環構造当たり有する、単環式、または縮合、架橋、もしくはスピロ多環式環構造を指す。環構造は、例えば、炭素、窒素、または硫黄の環員上に1つ以上のオキシ基を含有し得る。ヘテロシクロアルキルの例には、限定としてではなく例として、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、テトラヒドロチオフェニル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビステトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、ピペラジニル、キヌクリジニル、およびモルホリニルが含まれる。

【0113】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキレン」は、二価のヘテロシクロアルキル基を指す。二価の位置は、環構造内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

本明細書で使用される場合、用語「アリール」は、例えば、6～19個の炭素原子を含有する単環式または多環式芳香環系を指す。アリール基には、フェニル、フルオレニル、ナフチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。二価の位置は、1個以上のヘテロ原子であり得る。

【0114】

本明細書で使用される場合、用語「アリーレン」は、二価のアリー二価の位置は、1個以上のヘテロ原子であり得る。ル基を指す。二価の位置は、同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0115】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアリール」は、1つ以上の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素または硫黄である、単環式ヘテロ芳香族、または二環式もしくは三環式の縮合環ヘテロ芳香族基を指す。ヘテロアリール基には、以下が挙げられる：ピリ

10

20

30

40

50

ジル、ピロリル、フリル、チエニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、ピラゾリル、1, 2, 3-トリアゾリル、1, 2, 4-トリアゾリル、1, 2, 3-オキサジアゾリル、1, 2, 4-オキサジアゾリル、1, 2, 5-オキサジアゾリル、1, 3, 4-オキサジアゾリル、1, 3, 4-トリアジニル、1, 2, 3-トリアジニル、ベンゾフリル、[2, 3-ジヒドロ]ベンゾフリル、イソベンゾフリル、ベンゾチエニル、ベンゾトリアゾリル、イソベンゾチエニル、インドリル、イソインドリル、3H-インドリル、ベンゾイミダゾリル、イミダゾ[1, 2-a]ピリジル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、キノリジニル、キナゾリニル、フタラジニル、キノキサリニル、シンノリニル、ナフチリジニル、ピリド[3, 4-b]ピリジル、ピリド[3, 2-b]ピリジル、ピリド[4, 3-b]ピリジル、キノリル、イソキノリル、テトラゾリル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロキノリル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロイソキノリル、プリニル、プテリジニル、カルバゾリル、キサントニル、ベンゾキノリルなど。

10

【0116】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアリーレン」は、二価ヘテロアリール基を指す。二価の位置は、同じまたは異なる原子上にあり得る。二価の位置は、1個以上のヘテロ原子であり得る。

【0117】

個々の置換基の定義によって特に制限されない限り、前述の化学的単位、例えば「アルキル」、「アルキレン」、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルキレン」、「アルケニル」、「アルケニレン」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルケニレン」、「アルキニル」、「アルキニレン」、「ヘテロアルキニル」、「ヘテロアルキニレン」、「シクロアルキル」、「シクロアルキレン」、「ヘテロシクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキレン」、「アリール」、「アリーレン」、「ヘテロアリール」、および「ヘテロアリーレン」基は、例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルアリール、アルキルヘテロアリール、アルキルシクロアルキル、アルキルヘテロシクロアルキル、アミノ、アンモニウム、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリール、ヘテロアリール、スルフィニル、スルホニル、アルコキシ、スルファニル、ハロゲン、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、ヒドロキシ、メルカプト、ニトロなどからなる群より選択される1～5個の置換基で任意に置換されていてもよい。典型的な置換基には、限定されることなく、 $-X$ 、 $-R$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-N^+(R)_3$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NCO$ 、 $-NCS$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NC(=O)H$ 、 $-NC(=O)R$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)N(R)_2$ 、 $-SO_3-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R$ 、 $-OS(=O)_2OR$ 、 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2N(R)_2$ 、 $-S(=O)R$ 、 $-OP(=O)(OH)_2$ 、 $-OP(=O)(OR)_2$ 、 $-P(=O)(OR)_2$ 、 $-PO_3$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-C(=S)R$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(=S)OR$ 、 $-C(=O)SR$ 、 $-C(=S)SR$ 、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)N(R)_2$ 、 $-C(=S)NH_2$ 、 $-C(=S)N(R)_2$ 、 $-C(=NH)NH_2$ 、および $-C(=NR)N(R)_2$ が含まれ、各Xは、それぞれの場合に独立して、F、Cl、Br、およびIからそれぞれ独立して選択され、各Rは、それぞれの場合に独立して、アルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール、保護基およびプロドラッグ部分からそれぞれ独立して選択される。基が「任意に置換され」と記載されている場合はいつでも、その基は、それぞれの場合に独立して、上記の置換基の1つ以上で置換され得る。置換は、隣接官能置換基の閉環など、隣接置換基が閉環を受けて、例えば、閉環により形成されるラクタム、ラクトン、環状無水物、アセタール、ヘミアセタール、チオアセタール、アミナール、およびヘミアミナールを形成し、例えば、保護基を供給する状況を含み得る。

20

30

40

【0118】

50

特定のラジカル命名規則には、文脈に応じてモノラジカルまたはジラジカルのいずれかを含み得ることを理解されたい。例えば、置換基が分子の残りの部分への2つの結合点を必要とする場合、該置換基はジラジカルであると理解される。例えば、2つの結合点を必要とするアルキルとして識別される置換基には、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ などのジラジカルが含まれる。他のラジカル命名規則は、ラジカルが「アルキレン」、「アルケニレン」、「アリーレン」、「ヘテロシクロアルキレン」などのようなジラジカルであることを明確に示している。

【0119】

置換基がジラジカルとして示されている場合（即ち、分子の残りの部分への2つの結合点を有する場合）、別段の指定がない限り、該置換基は任意の方向性配置で結合され得ることが理解されるべきである。

10

【0120】

（抗CD252抗体）

本発明は、CD252（OX40リガンド（OX40L）とも呼ばれる。タンパク質NCBI参照配列：NP_003317.1；UniProtアクセッション番号：P23510；配列番号19または20）に結合できる抗体またはその抗原結合フラグメント、GVHDを予防および処置するための治療薬として使用することができるという発見に一部基づいている。そのような抗体は、単独で使用することも、抗体-薬物コンジュゲート（ADC）として細胞毒素にコンジュゲートさせることもできる。

【0121】

20

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（例えば、ADC）には、抗CD252抗体が含まれ、その重鎖および軽鎖アミノ酸配列はそれぞれ配列番号1および2に記載されている。一実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号1のアミノ酸配列に記載の重鎖可変領域、および配列番号2のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変領域を含む。一実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号1のアミノ酸配列に記載のCDRを含有する重鎖可変領域、および配列番号2のアミノ酸配列に記載のCDRを含有する軽鎖可変領域を含む。配列番号1および2のアミノ酸配列を以下に示す。

【0122】

特定の実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3～5のアミノ酸配列に記載のCDRを含有する重鎖可変領域、および配列番号6～8のアミノ酸配列に記載のCDRを含有する軽鎖可変領域を含む。配列番号3～8のアミノ酸配列を以下に示す。

30

【化19】

抗CD252 VHAミノ酸配列（以下のCDR配列はIMGTによって定義される）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGATRYADS
VKGRFTISRDNSTNTVYLQMNSLRVEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYYGMDVWGQGTTVTVSS
（配列番号1）

CDR-H1: GFTFSNYA（配列番号3）

40

CDR-H2: ISGSGGAT（配列番号4）

CDR-H3: TKDRLIMATVRGPYYYGMDV（配列番号5）

【化 20】

抗CD252 V Lアミノ酸配列（以下のCDR配列はIMGTによって定義される）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGS

GSETDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIK（配列番号2）

CDR-L1: QSISSY（配列番号6）

CDR-L2: AAS（配列番号7）

CDR-L3: QQSHSVSFT（配列番号8）

【0123】

10

一実施形態では、本明細書において開示される方法および組成物で使用される抗CD252抗体は、配列番号1のアミノ酸配列に記載の重鎖可変領域、および配列番号2のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変領域を含むインタクト抗体である。一実施形態では、抗CD252抗体は、短い半減期を有するように操作されている。

【0124】

20

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD252抗体は、11C3.1（Biolegend、カタログ番号326302）、159403（R&D Systems、カタログ番号MAB10541）、159408（R&D Systems、カタログ番号MAB1054）、MM0505-8S23（Novus、カタログ番号NBP2-11969）、またはオキセルマブ（Novus、カタログ番号NBP2-52687-0.1）から選択される抗体である。

【0125】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD252抗体は、マウスモノクローナル抗CD252抗体11C3.1、または11C3.1抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD252抗体である。11C3.1（Biolegend、カタログ番号326302（2019年2月27日付）によって販売）。

【0126】

30

一実施形態では、抗CD252抗体は、抗CD252抗体11C3.1のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD252抗体11C3.1のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD252抗体は、ヒト化11C3.1抗体である。

【0127】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD252抗体は、マウスモノクローナル抗CD252抗体159403、または159403抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD252抗体である。159403（R&D Systems、カタログ番号MAB10541（2019年2月27日付）によって販売）。

【0128】

40

一実施形態では、抗CD252抗体は、抗CD252抗体159403のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD252抗体159403のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD252抗体は、ヒト化159403抗体である。

【0129】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD252抗体は、マウスモノクローナル抗CD252抗体159408、または159408抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD252抗体である。159408（R&D Systems、カタログ番号MAB1054（2019年2月27日付）によっ

50

て販売)。

【0130】

一実施形態では、抗CD252抗体は、抗CD252抗体159408のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD252抗体159408のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD252抗体は、ヒト化159408抗体である。

【0131】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物(ADCを含む)で使用され得る抗CD252抗体は、マウスモノクローナル抗CD252抗体MM0505-8S23、またはMM0505-8S23抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD252抗体である。MM0505-8S23(Novus、カタログ番号NBP2-11969(2019年2月27日付))によって販売)。この抗体は、ハイブリドーマ(OX40リガンドとも呼ばれるヒトTNFSF4で免疫化されたマウス由来の脾臓細胞と融合したマウス骨髓腫)から産生された。

10

【0132】

一実施形態では、抗CD252抗体は、抗CD252抗体MM0505-8S23のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD252抗体MM0505-8S23のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD252抗体は、ヒト化MM0505-8S23抗体である。

20

【0133】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物(ADCを含む)で使用され得る抗CD252抗体は、ウサギモノクローナル抗CD252抗体オキセルマブ、またはオキセルマブ抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD252抗体である。オキセルマブ(Novus、カタログ番号NBP2-52687-0.1(2019年2月27日付))によって販売)。

【0134】

一実施形態では、抗CD252抗体は、抗CD252抗体オキセルマブのCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD252抗体オキセルマブのCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD252抗体は、ヒト化オキセルマブ抗体である。いくつかの実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号9のアミノ酸配列に記載の重鎖、および配列番号10のアミノ酸配列に記載の軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号17のアミノ酸配列に記載の重鎖可変領域、および配列番号18のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変領域を含む。一実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合部分は、配列番号11~13のアミノ酸配列に記載のCDRを含有する重鎖可変領域と、配列番号14~16のアミノ酸配列に記載のCDRを含有する軽鎖可変領域とを含む。一実施形態では、抗体は、配列番号17のアミノ酸配列に記載の重鎖可変領域、および配列番号18のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変領域を含むインタクト抗体である。配列番号9~16のアミノ酸配列を以下に示す。

30

40

【化 2 1】

オキセルマブ 全長 重鎖配列（以下のCDR配列はIMGTによって定義される；

重鎖可変領域（配列番号17）を下線で示す）：

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMSWVRQAPGKGLEWVSIISGSGGFTY
YADSVKGRFTISRDNSTTLTLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRLVAPGTFDYWGQAGLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（配列番号9）

CDR-H1: GFTFNSYA（配列番号11）

CDR-H2: ISGSGGFT（配列番号12）

CDR-H3: AKDRLVAPGTFDY（配列番号13）

10

20

【化 2 2】

オキセルマブ 全長 軽鎖配列（以下のCDR配列はIMGTによって定義される；

軽鎖可変領域（配列番号18）を下線で示す）：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGSSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号10）

CDR-L1: QGISSW（配列番号14）

CDR-L2: AAS（配列番号15）

CDR-L3: QQYNSYPYT（配列番号16）

30

【0135】

本明細書に記載の抗CD252抗体または結合フラグメントはまた、当該分野で公知であるように、半減期を増加させるもの、ADCCを増加または減少させるものなど、抗体および／またはフラグメントの特性を変化させる改変および／または変異を含み得る。

【0136】

一実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物で使用される抗CD252抗体またはその結合フラグメントは、バリエーションFc領域を含み、前記バリエーションFc領域は、野生型Fc領域と比較して少なくとも1つのアミノ酸改変を含み、その結果、前記分子は、FcγR（FcγR）に対する親和性が変化している。Fc領域内の特定のアミノ酸位置は、結晶学研究によりFcγRと直接接触することが知られている。具体的には、アミノ酸234-239（ヒンジ領域）、アミノ酸265-269（B/Cループ）、アミノ酸297-299（C'/Eループ）、およびアミノ酸327-332（F/G）ループ（Sondermann et al., 2000年 Nature, 406: 267-273頁を参照）。したがって、本明細書に記載の抗CD252抗体はバリエーションFc領域を含み得、当該バリエーションFc領域は構造的および結晶学的分析に基づい

40

50

てFcγRと直接接触する少なくとも1つの残基の改変を含む。一実施形態では、抗CD252抗体（またはそのフラグメント）のFc領域は、参照により本明細書に明示的に援用されるKabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版 Public Health Service, NH1、メリーランド州（1991年）のEUインデックスに従って、アミノ酸265にアミノ酸置換を含む。「KabatのEUインデックス」は、ヒトIgG1 EU抗体のナンバリングを指す。一実施形態では、Fc領域はD265A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含む。いくつかの実施形態では、抗CD252抗体（またはそのフラグメント）のFc領域は、KabatのEUインデックスに従って、アミノ酸234にアミノ酸置換を含む。一実施形態では、Fc領域は、L234A変異を含む。いくつかの実施形態では、抗CD252抗体（またはそのフラグメント）のFc領域は、KabatのEUインデックスによるアミノ酸235にアミノ酸置換を含む。一実施形態では、Fc領域はL235A変異を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域は、L234AおよびL235A変異を含む。さらなる実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235A変異を含む。

10

【0137】

特定の態様では、バリエーションIgG Fcドメインは、アミノ酸置換を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcγRおよび／またはClqに対する結合親和性の低下または消失をもたらす1つ以上のアミノ酸置換を含む。Fc結合相互作用は、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ADCC）および補体依存性細胞傷害（CDC）を含むがこれらに限定されない、様々なエフェクター機能および下流のシグナル伝達イベントに不可欠である。したがって、特定の態様では、改変されたFc領域を含む（例えば、L234A、L235A、およびD265C変異を含む）抗CD252抗体は、実質的に低減または無効化されたエフェクター機能を有する。

20

【0138】

Fc領域に対する親和性は、当技術分野で公知の様々な技術、例えば、限定されないが、平衡法（例えば、酵素免疫測定法（ELISA）；KinExA、Rathanaswami et al., Analytical Biochemistry、373巻：52-60頁、2008年；またはラジオイムノアッセイ（RIA））、または表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のメカニズムの速度論に基づくアッセイ（BIACORE（商標）分析またはOctet（商標）分析（forteBIO））、および間接結合アッセイ、競合結合アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲルろ過）などの他の方法を使用して決定することができる。これらおよび他の方法は、検査されている成分の1つ以上の標識を利用し、かつ／または発色、蛍光、発光、または同位体標識を含むがこれらに限定されない様々な検出方法を使用し得る。結合親和性および反応速度論の詳細な説明は、Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology、第4版、Lippincott-Raven、フィラデルフィア（1999年）にあり、抗体-免疫原の相互作用に焦点を当てている。競合結合アッセイの一例は、増加する量の非標識抗原の存在下における標識された抗原と目的の抗体とのインキュベーションと、標識された抗原に結合した抗体の検出とを含むラジオイムノアッセイである。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフ速度（binding off-rate）は、スキャッチャードプロット分析によってデータから決定することができる。二次抗体との競合は、ラジオイムノアッセイを使用して決定することもできる。この場合、抗原は、増加する量の非標識二次抗体の存在下で、標識された化合物にコンジュゲートされた目的の抗体とインキュベートされる。

30

40

【0139】

本発明の抗体は、追加のFc変異を導入することによって抗体半減期をさらに調節するようにさらに操作され得、当該追加のFc変異は、例えば（Dall'Acqua et al., (2006年) J Biol Chem 281:23514-24頁）、（Z

50

alevsky et al. (2010年) Nat Biotechnol 28:157-9頁)、(Hinton et al. (2004年) J Biol Chem 279:6213-6頁)、(Hinton et al. (2006年) J Immunol 176:346-56頁)、(Shields et al. (2001年) J Biol Chem 276:6591-604頁)、(Petkova et al. (2006年) Int Immunol 18:1759-69頁)、(Datta-Mannan et al. (2007年) Drug Metab Dispos 35:86-94頁)、(Vaccaro et al. (2005年) Nat Biotechnol 23:1283-8頁)、(Yeung et al. (2010年) Cancer Res 70:3269-77頁) および (Kim et al. (1999年) Eur J Immunol 29:2819-25頁) に記載されており、250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434 および 435 位を含む。単独でまたは組み合わせて作製され得る例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257L、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A、および H435R 変異である。

【0140】

したがって、一実施形態では、Fc 領域は、半減期の減少をもたらす変異を含む。半減期が短い抗体は、抗体が短命の治療薬として機能すると予想される特定の場合、例えば抗体が投与され、続いて HSC が投与される本明細書に記載のコンディショニングステップにおいて有利であり得る。理想的には、抗体は HSC の送達前に実質的に除去され、ここで内因性幹細胞とは異なり、HSC はまた一般に CD252 を発現するが抗 CD252 抗体の標的ではない。一実施形態では、Fc 領域は 435 位 (Kabatt による EU インデックス) に変異を含む。一実施形態では、変異は H435A 変異である。

【0141】

一実施形態では、本明細書に記載の抗 CD252 抗体は、14 時間以下、13 時間以下、12 時間以下、または 11 時間以下の半減期を有する。一実施形態では、本明細書に記載の抗 CD252 抗体は、約 24 時間以下の半減期、約 22 時間以下の半減期、約 20 時間以下の半減期、約 18 時間以下の半減期、約 16 時間以下の半減期、約 14 時間以下の半減期、約 13 時間以下の半減期、約 12 時間以下の半減期、または約 11 時間以下の半減期を有する。一実施形態では、抗体の半減期は、約 1 時間～約 20 時間、約 2 時間～約 18 時間、約 4 時間～約 16 時間、約 6 時間～約 14 時間、約 8 時間～約 12 時間、約 11 時間～約 12 時間、約 11 時間～約 24 時間、約 12 時間～約 22 時間、約 10 時間～約 20 時間、約 8 時間～約 18 時間、約 1 時間～約 6 時間、約 2 時間～約 5 時間、約 3 時間～約 4 時間、または約 14 時間～約 24 時間である。

【0142】

いくつかの態様では、Fc 領域は、半減期の減少をもたらす、抗体のエフェクター機能を大幅に減少させるかまたは完全になくす 2 つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc 領域は、半減期の減少をもたらす変異、および (例えば、構造的および結晶学的分析に基づいて) FcγR と直接接触することができる少なくとも 1 つの残基の変異を含む。一実施形態では、Fc 領域は、H435A 変異、L234A 変異、および L235A 変異を含む。一実施形態では、Fc 領域は、H435A 変異および D265C 変異を含む。一実施形態では、Fc 領域は、H435A 変異、L234A 変異、L235A 変異、および D265C 変異を含む。

【0143】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、抗体またはその抗原結合フラグメントの Fc ドメイン中のシステイン残基を介して細胞毒素 (例えば、アマトキシン) にコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、システイン残基は、抗体またはその抗原結合フラグメントの Fc ドメインにおける変異によって導入される。例えば、システイン残基は、Cys118、Cys239、および Cys265 からなる群か

ら選択され得る。一実施形態では、抗CD252抗体（またはそれらのフラグメント）のFc領域は、KababのEUインデックスに従って、アミノ酸265にアミノ酸置換を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265CおよびH435A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265、L234A、およびL235A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435A変異を含む。

【0144】

これらの態様のいくつかの実施形態では、システイン残基は、抗体またはその抗原結合フラグメントのFcドメインに天然に存在する。例えば、Fcドメインは、ヒトIgG1 FcドメインなどのIgG Fcドメインであり得、システイン残基は、Cys261、Cys321、Cys367、およびCys425からなる群から選択され得る。

【0145】

本明細書に記載のバリエーションFcドメインは、それらを構成するアミノ酸改変に従って定義される。Fc領域に関して本明細書で説明するすべてのアミノ酸置換について、ナンバリングは常にEUインデックスに従う。したがって、例えば、D265Cは、親Fcドメインに対して、EU位置265のアスパラギン酸（D）がシステイン（C）で置換されたFcバリエーションである。同様に、例えば、D265C/L234A/L235Aは、親Fcドメインに対して、EU位置265（DからC）、234（LからA）、および235（LからA）に置換を有するFcバリエーションを定義する。バリエーションはまた、変異させたEUアミノ酸位置におけるその最終的なアミノ酸組成に従って指定することができる。例えば、L234A/L235A変異体はLALAと呼ばれる。置換が提供される順序は任意であることに留意されたい。

【0146】

一実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示される配列番号と少なくとも95%、96%、97%または99%同一であるアミノ酸配列を有する可変領域を含む。あるいは、抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示される配列番号と少なくとも95%、96%、97%または99%同一であるアミノ酸配列を有する本明細書に記載の可変領域のフレームワーク領域とともに、本明細書に開示される配列番号を含有するCDRを含む。

【0147】

特定の実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、コンジュゲートの一部として使用される場合に特に有利である特定の解離速度を有する。例えば、抗CD252抗体は、特定の実施形態において、生体層干渉計（BLI）によって測定した場合に、ヒトCD252および／またはアカゲザルCD252に対して $1 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-3}$ 、 $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-4}$ 、 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-7}$ または $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-8}$ のオフ速度定数（Koff）を有する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、生体層干渉計（BLI）アッセイによって決定した場合、約100nM以下、約90nM以下、約80nM以下、約70nM以下、約60nM以下、約50nM以下、約40nM以下、約30nM以下、約20nM以下、約10nM以下、約8nM以下、約6nM以下、約4nM以下、約2nM以下、約1nM以下の K_D でCD252（例えば、ヒトCD252および／またはアカゲザルCD252）に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、生体層干渉計（BLI）アッセイによって決定した場合、約90nM～100nM、約80nM～90nM、約70nM～80nM、約60nM～70nM、約50nM～60nM、約40nM～50nM、約30nM～40nM、約20nM～30nM、約10nM～20nM、約8nM～10nM、約6nM～8nM、約4nM～6nM、約2nM～4nM、約1nM～2nM、または約1nM以下の K_D でCD252（例えば、ヒトCD252および／またはアカゲザルCD252）に結合する。

【0148】

本明細書に開示される抗体、およびその結合フラグメントは、以下により詳細に記載さ

れるように、コンジュゲートにおいて使用され得る。

【0149】

前述の抗体の例示的な抗原結合フラグメントには、とりわけ、二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖Fv分子（scFv）、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキフォールド、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムdi-scFvが含まれる。本明細書に記載の抗CD252抗体は、限定されないがFab、Fab'、(Fab')₂、Fv)、scFv（一本鎖Fv）、サロボディ（サロゲート軽鎖コンストラクトを含む）、単ドメイン抗体、ラクダ化抗体などを含む、全長抗体、二重特異性抗体、二重可変ドメイン抗体、多鎖または一本鎖抗体、および／またはヒトCD252に特異的に結合する結合フラグメントの形態であり得る。それらはまた、例えば、IgA（例えば、IgA1またはIgA2）、IgD、IgE、IgG（例えば、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4）、またはIgMを含む、任意のアイソタイプのものであるか、またはそれらに由来し得る。いくつかの実施形態では、抗CD252抗体は、IgG（例えば、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4）である。

10

【0150】

一実施形態では、抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示される配列番号と少なくとも95%、96%、97%または99%同一であるアミノ酸配列を有する可変領域を含む。あるいは、抗CD252抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示される配列番号と少なくとも95%、96%、97%または99%同一であるアミノ酸配列を有する本明細書に記載の可変領域のフレームワーク領域とともに、本明細書に開示される配列番号を含有するCDRを含む。

20

【0151】

（抗CD252抗体の産生方法）

本明細書に開示される組成物および方法で使用され得る抗CD252抗体は、当技術分野で知られている方法を使用して産生することができる。抗CD252抗体は、本開示によって提供されるCD252結合分子のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子から生成され得る。ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列は抗体の任意の部分、例えば、CDR、1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含む配列、重鎖の可変領域、軽鎖の可変領域であってよく、または全長の重鎖もしくは全長の軽鎖であってもよい。本開示の核酸は、例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。典型的には、核酸はcDNA分子である。

30

【0152】

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているように、組換え法および組換え組成物を使用して産生することができる。一実施形態では、本明細書に記載の抗CD252抗体をコードする単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列および／またはVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態では、宿主細胞は以下を含む（例えば、以下で形質転換されている）：（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列および抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクターと、抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクター。一実施形態では、宿主細胞は真核生物、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（YO、NSO、Sp20細胞など）である。一実施形態では、抗CLL-1抗体を作製する方法が提供され、この方法は、上記のように、抗体の発現に適した条件下で抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することと、任意に宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から抗体を回収することを含む。

40

【0153】

50

抗CD252抗体の組換え産生のために、例えば上記のように、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞におけるさらなるクローニングおよび／または発現のために1つ以上のベクターに挿入される。そのような核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離および配列決定することができる。

【0154】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化とFcエフェクター機能が不要な場合に、細菌内で産生され得る。細菌における抗体フラグメントおよびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、第5,789,199号、および第5,840,523号を参照されたい（大腸菌における抗体フラグメントの発現について説明のあるCharlton, Methods in Molecular Biology, 248巻（B. K. C. Lo, ed., Humana Press、トトワ、ニュージャージー州、2003年）、245-254頁も参照）。発現後、抗体は細菌細胞ペーストから可溶性画分に単離され得、さらに精製することができる。

【0155】

脊椎動物細胞も宿主として使用され得る。例えば、懸濁液（suspension）中で増殖するように適合された哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胎児腎臓株（例えば、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59（1977年）に記載されている293または293細胞）；ベビーハムスター腎細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251頁（1980年）に記載されているTM4細胞）；サル腎細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎細胞（VERO-76）；ヒト子宮頸がん細胞（HELA）；イヌ腎細胞（MDCK）；バッファローラット肝細胞（BRL 3A）；ヒト肺細胞（W138）；ヒト肝細胞（Hep G2）；マウス乳腺腫瘍（MMT 060562）；例えばMather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68頁（1982年）に記載されているTRI細胞；MRC 5細胞；およびFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216（1980年））；およびY0、NS0、Sp2/0などの骨髓腫細胞株が含まれる。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, 248巻（B. K. C. Lo, ed., Humana Press、トトワ、ニュージャージー州）、255-268頁（2003年）を参照されたい。

【0156】

（抗CD252抗体の同定方法）

本明細書に開示される組成物および方法において有用な追加の抗CD252抗体、その抗原結合フラグメントは、当技術分野で公知であり本明細書に記載されている技術、例えば、免疫化、計算モデリング技術、ならびに以下に記載するファージディスプレイおよび細胞ベースのディスプレイプラットフォームなどのin vitro選択法を用いて同定することができる。

【0157】

本明細書に記載の組成物および方法で使用され得る抗CD252抗体は、当該分野で公知の技術（例えば、ハイブリドーマ産生）を使用して同定することができる。ハイブリドーマは、マウスのシステムを使用して調製することができる。免疫化およびその後の融合用の脾細胞の単離のためのプロトコルは、当技術分野で知られている。ハイブリドーマ生成のための融合パートナーおよび手順も知られている。抗CD252抗体を作製する際、

CD252抗原は単離および／または精製される。いくつかの実施形態では、CD252抗原はCD252のフラグメントであり得る。動物の免疫化は、当技術分野で知られている任意の方法によって行うことができる。例えば、Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*、ニューヨーク：Cold Spring Harbor Press、1990年を参照。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシおよびウマなどの動物を免疫化する方法は、当技術分野でよく知られている。例えば、上記のHarlow and Laneおよび米国特許第5,994,619号を参照。CD252抗原は、免疫応答を刺激するためにアジュバントと共に投与され得る。当技術分野で公知のアジュバントには、完全または不完全フロイントアジュバント、RIBI（ムラミルジペプチド）、またはISCOM（免疫刺激複合体）が含まれる。動物をCD252抗原で免疫化した後、免疫化した動物から単離された細胞から抗体産生不死化細胞株を調製する。免疫化後、動物を犠牲にし、リンパ節および／または脾臓B細胞を当技術分野で公知の方法（例えば、癌遺伝子導入、発癌性ウイルスの形質導入、発癌性または変異化合物への曝露、不死化細胞（骨髄腫細胞など）との融合、および腫瘍抑制遺伝子の不活性化）により不死化する。例えば、上記のHarlow and Laneを参照。ハイブリドーマを選択し、クローン化し、高増殖、高い抗体産生、および所望の抗体特性を含む所望の特性についてさらにスクリーニングすることができる。ヒト抗CD252抗体は、HuMAb-Mouse（登録商標）またはXenomouse（商標）などのマウスにおいて作製することもできる。

10

【0158】

20

CD252に結合することができる抗体、または抗体フラグメントおよび分子用ライブラリーのハイスループットスクリーニングのための方法は、癌、自己免疫疾患を処置すること、および本明細書に記載の造血幹細胞療法を必要とする患者（例えば、ヒト患者）をコンディショニングする上で有用な抗体を同定し、その親和性を成熟化させるために使用され得る。そのような方法には、とりわけファージディスプレイ、細菌ディスプレイ、酵母ディスプレイ、哺乳動物細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、mRNAディスプレイ、およびcDNAディスプレイなどの当該技術分野で知られている*in vitro*ディスプレイ技術が挙げられる。生物学的に関連のある分子に結合するリガンドを単離するためのファージディスプレイの使用は、例えば、Felicci et al., *Biotecnol. Annual Rev.* 1:149-183頁、1995年；Katz, *Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:27-45頁、1997年；およびHoogenboom et al., *Immunotechnology* 4:1-20頁、1998年にレビューされており、これらの各々の開示は、*in vitro*ディスプレイ技術に関連するため、参照により本明細書に援用される。Kay, *Perspect. Drug Discovery Des.* 2:251-268頁、1995年およびKay et al., *Mol. Divers.* 1:139-140頁、1996年に記載されているように、細胞表面抗原に結合するポリペプチドを選択するために、ランダム化コンビナトリアルペプチドライブラリーが構築されており、これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見に関連するため、参照により本明細書に援用される。多量体タンパク質などのタンパク質は、機能的分子として首尾よくファージディスプレイされている（例えば、EP0349578；EP4527839；およびEP0589877、ならびにChiswell and McCafferty, *Trends Biotechnol.* 10:80-84頁、1992年を参照し、それらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のための*in vitro*ディスプレイ技術の使用に関連するため、参照により本明細書に援用される）。さらに、FabフラグメントおよびscFVフラグメントなどの機能的抗体フラグメントは、*in vitro*ディスプレイフォーマットで発現されている（例えば、McCafferty et al., *Nature* 348:552-554頁、1990年；Barbas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982頁、1991年；およびClackson et al.

30

40

50

., Nature 352:624-628頁、1991年を参照し、これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のための *in vitro* ディスプレイ技術の使用に関連するため、参照により本明細書に援用される)。これらの技術は、とりわけ、CD252に結合する抗体の親和性を同定および改善するために使用され得る。

【0159】

In vitro ディスプレイ技術に加えて、*in silico*でCD252に結合する抗体または抗体フラグメントを設計および同定するために、計算モデリング技法を使用することができる。例えば、計算モデリング技法を使用して、当業者は、この抗原の細胞外エピトープなどの特定のエピトープに結合できる分子について、抗体または抗体フラグメントのライブラリーを *in silico*でスクリーニングすることができる。これらの計算技法によって同定された抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に記載の治療方法と組み合わせて使用することができる。

【0160】

細胞（例えば、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞）の表面上のCD252に結合し、例えば、受容体媒介エンドサイトーシスによって該細胞によって内在化される抗体またはその抗原結合フラグメントを同定するために、さらなる技術を使用することができる。例えば、APCの表面上のCD252に結合し、その後内在化される抗体またはその抗原結合フラグメントについてスクリーニングするために、上記の *in vitro* ディスプレイ技術を適合させることができる。ファージディスプレイは、このスクリーニングパラダイムと併せて使用することができるそのような技術の1つを表す。CD252に結合し、続いて癌細胞、自己免疫細胞、APCまたは造血幹細胞によって内在化される抗体またはそのフラグメントを同定するために、当業者は、例えばWilliams et al., Leukemia 19:1432-1438頁、2005年に記載のファージディスプレイ技術を適合させることができ、当該文献の開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。例えば、当該技術分野で知られている突然変異誘発法を用いて、ランダム化アミノ酸カセット（例えば、CDRもしくはその等価領域のうちの1つ以上、もしくは全部、または抗体もしくは抗体フラグメント）を含有する、とりわけ抗体、抗体フラグメント、例えばscFvフラグメント、Fabフラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、および¹⁰Fn3ドメインをコードする組み換えファージライブラリーを作製することができる。前述の抗体の例示的な抗原結合フラグメントには、とりわけ二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖Fv分子（scFv）、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキフォールド、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムd-scFvが含まれる。フレームワーク領域、ヒンジ、Fcドメイン、および抗体または抗体フラグメントの他の領域は、例えば、ヒト生殖細胞系列抗体配列またはヒト生殖細胞系列抗体に対してわずかな変異のみを示す配列を有することによって、ヒトにおいて非免疫原性であるように設計され得る。

【0161】

本明細書に記載のまたは当該技術分野で知られているファージディスプレイ技術を用いて、ファージ粒子に共有結合したランダム化された抗体、または抗体フラグメントを含むファージライブラリーを、CD252抗原とインキュベートすることができ、それは、例えば、最初に、ファージライブラリーをブロッキング剤（例えば、乳タンパク質、ウシ血清アルブミン、および/またはIgGなど）とインキュベートし、非特異的タンパク質結合を示す抗体またはそのフラグメントをコードするファージと、Fcドメインに結合する抗体またはそのフラグメントをコードするファージを除去し、次いでファージライブラリーをAPCの集団とインキュベートすることによる。CD252特異的抗体またはその抗原結合フラグメントが細胞表面CD252抗原に結合し、その後、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞によって内在化されるのを可能するのに十分な時間、ファージライブラリーを癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞などの標的細胞とインキュベートすることができる（例：4℃で30分～6時間、例えば4℃で1時間）。癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞への結合およびそれらによる内在化を可能にするために、これらの

抗原の1つ以上に対して十分親和性を示さない抗体またはそのフラグメントを含有するファージは、その後、例えばpH 2.8の冷(4℃)0.1Mグリシン緩衝液で細胞を洗浄することによって除去され得る。抗体もしくはそのフラグメントに結合したファージ、または癌細胞、自己免疫細胞、もしくは造血幹細胞によって内在化されたファージは、例えば、細胞を溶解し、内在化されたファージを細胞培養培地から回収することによって同定することができる。次いで、ファージは、例えば、当該技術分野で知られている方法を用いて、2×YT培地中で細菌細胞を回収されたファージとインキュベートすることによって、細菌細胞中で増幅させることができる。次いで、この培地から回収されたファージは、例えば、ファージゲノム内に挿入された抗体またはそのフラグメントをコードする遺伝子(単数または複数)の核酸配列を決定することによって、特性評価することができる。コードされた抗体、またはそのフラグメントは、その後、(例えば、scFvフラグメントなどの抗体フラグメントの)化学合成によって、または(例えば、全長抗体の)組み換え発現によってde novoで調製され得る。

10

【0162】

調製された抗体またはそのフラグメントの内在化能力は、例えば当該技術分野で知られている放射性核種内在化アッセイを用いて評価することができる。例えば、本明細書に記載されているかまたは当該技術分野で知られているin vitroディスプレイ技術を使用して同定された抗体またはそのフラグメントは、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{211}At 、 ^{67}Ga 、 ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{169}Yb 、 ^{186}Re 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{177}Lu 、 ^{77}As 、 ^{72}As 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、または ^{225}Ac などの放射性同位元素の組み込みによって機能化され得る。例えば、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{211}At などの放射性ハロゲンを、求電子性ハロゲン試薬を含有するポリスチレンビーズなどのビーズ(例えば、ヨウ素化ビーズ、サーモフィッシュサイエンティフィック社、ケンブリッジ、マサチューセッツ州)を用いて、抗体またはそのフラグメントに組み込むことができる。放射標識された抗体またはそのフラグメントを、内在化を可能にするのに十分な時間(例:4℃で30分~6時間、例えば4℃で1時間)、癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞とインキュベートすることができる。次いで、細胞を洗浄して、内在化されなかった抗体またはそのフラグメントを除去することができる(例えば、pH 2.8の冷(4℃)0.1Mグリシン緩衝液を使用して)。内在化された抗体またはそのフラグメントは、回収された洗浄緩衝液から放出される放射線(例えば、 γ 線)と比較して、得られた癌細胞、自己免疫細胞、または造血幹細胞から放出される放射線(例えば、 γ 線)を検出することによって同定され得る。

20

30

【0163】

(抗体-薬物コンジュゲート(ADC))

<細胞毒素>

本明細書に記載の抗CD252抗体およびその抗原結合フラグメントは、細胞毒素にコンジュゲート(結合)させることができ、したがって抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を形成する。いくつかの実施形態では、細胞毒性分子は、抗体またはそのフラグメントの細胞取り込みに続いて、細胞毒素がその細胞内標的にアクセスし、細胞死を媒介し得るように、本明細書に開示される細胞内在化抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされる。本明細書に開示されるように、そのようなADCは、式Ab-Z-L-Cyで表され得、ここで、それぞれ本明細書で開示されるように、AbはCD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Zはリンカー上に存在する反応性官能基と抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性官能基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、Lはリンカーであり、Cyは細胞毒素である。

40

【0164】

本明細書に記載の組成物および方法での使用に適した細胞毒素には、当該技術分野で知られているものの中でもとりわけ、DNA挿入剤(例えば、アントラサイクリン)、有糸

50

分裂紡錘体装置を破壊することができる薬剤（例えば、ビンカアルカロイド、メイタンシン、メイタンシノイド、およびそれらの誘導体）、RNAポリメラーゼ阻害剤（例えば、 α -アマニチンなどのアマトキシシンおよびそれらの誘導体）、およびタンパク質合成を妨害することができる薬剤（例えば、サポリンおよびリシンA鎖などのrRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤）が挙げられる。

【0165】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、微小管結合剤（例えば、メイタンシンまたはメイタンシノイド）、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deBougainin、ジフテリア毒素、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、もしくはそれらのバリエーション、または本明細書に記載か当該技術分野で知られている別の細胞毒性化合物である。

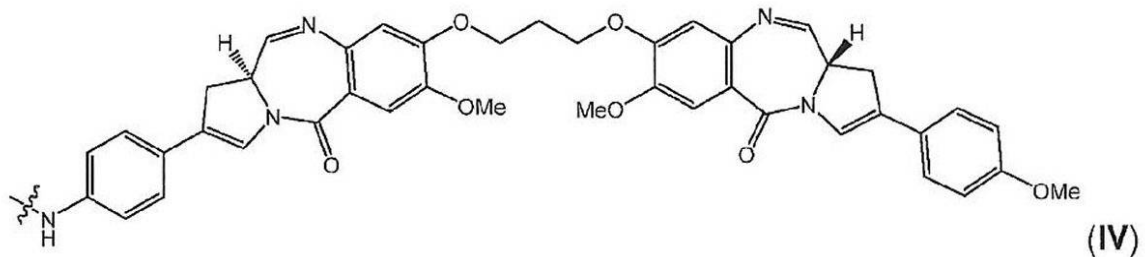
【0166】

上記の態様のいずれかのいくつかの実施形態では、細胞毒素は、DM1およびDM4からなる群から選択されるメイタンシノイドである。いくつかの実施形態では、細胞毒素は、モノメチルアウリスタチンEおよびモノメチルアウリスタチンFからなる群から選択されるアウリスタチンである。いくつかの実施形態では、細胞毒素は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである。

【0167】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、式(IV)で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体である：

【化23】



【0168】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、マレイミドカプロイルリンカーを介して、抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされる。

【0169】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、モノメチルアウリスタチンEおよびモノメチルアウリスタチンFからなる群から選択されるアウリスタチンである。

【0170】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである。

【0171】

本明細書に記載の組成物および方法での使用に適した追加の細胞毒素には、限定されないが、とりわけ以下のものが挙げられる：5-エチニルウラシル、アビラテロン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミホスチン、アミノレプリン酸、アムルビシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、アンタレリックス、抗背側化形態形成性タンパク質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフジコリングリシネート、ア

ポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレーター、アプリン酸、アスラク
 リン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキ
 シナスタチン3、アザセトロン、アザトキシシ、アザチロシン、バッカチン I I I 誘導体
 、バラノール、バチマスタット、BCR／ABLアンタゴニスト、ベンゾクロリン、ベン
 ゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、ベーターアレチン、ベタクラマイシン
 B、ベツリン酸、b F G F 阻害剤、ビカルタミド、ビスアントレン、ビスアジリジニルスペ
 ルミン、ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレフレート、ブレオマイシンA
 2、ブレオマイシンB2、プロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カル
 シポトリオール、カルホスチンC、カンプトテシン誘導体（例えば、10－ヒドロキシー
 カンプトテシン）、カペシタビン、カルボキサミド－アミノ－トリアゾール、カルボキシ
 アミドトリアゾール、カルゼレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カスタノスペルミン、セ
 クロピンB、セトロレリックス、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカブ
 ロスト、シス－ポルフィリン、クラドリビン、クロミフェンおよびその類似体、クロトリ
 マゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンプレタスタチンA4、コンプレタ
 スタチン類似体、コナゲニン、クラムベシジン816、クリスナトール、クリプトフィシ
 ン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタアントラキノ、シクロ
 プラタム、シペマイシン、シタラビンオクホスフェート、細胞溶解因子、サイトスタチン
 、ダクリキシマブ、デシタビン、デヒドロジデムニンB、2’デオキシコホルマイシン（
 DCF）、デスロレリン、デキシフォスファミド、デクスラゾキサ、デクスベラパミル
 、ジアジコン、ジデムニンB、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ－5－ア
 ザシチジン、ジヒドロタキソール、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ディ
 スコデルモリド、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロロキシフェン、
 ドロナビノール、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エデルフォシン
 、エドレコロマブ、エフロルニチン、エレメン、エミテフル、エボチロン、エピチロン、
 エプリステリド、エストラムスチンおよびその類似体、エトボシド、エトボシド4’－リ
 ン酸（エトボフォスとも呼ばれる）、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、
 フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチ
 ン、フルアステロン、フルダラビン、塩酸フルオロダウノルニシン、ホルフェニメックス
 、フォルメスタン、フォストリエシン、フォテムスチン、ガドリニウムテクキサフィリン、
 硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリックス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、グ
 ルタチオン阻害剤、ヘプスルファム、ホモハリングトニン（HHT）、ヒペリシン、イバ
 ンドロン酸、イドキシフェン、イドラマントン、イルモホシン、イロマスタット、イミダ
 ゴアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、ヨーベングアン、ヨードドキソルピシン
 、イポメアノール、イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベングアゾール、
 ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン－Nトリアセテート、ランレオチド、レ
 イナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸、レプトルスタチン、レトロゾール、親
 油性白金化合物リソクリンアミド7、ロバプラチン、ロメトレキソール、ロニダミン、ロ
 キソキサントロン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテクキサフィリン、リゾフィ
 リン、マソプロコール、マスピン、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メノガリ
 ル、ルネルバロン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトクロプラミド、MIF阻害剤、イ
 フェプリストン、ミルテフォシン、ミリモスチム、ミトラシン、ミトグアゾン、ミトラク
 トール、マイトマイシンおよびその類似体、ミトナフィド、ミトキサントロン、モファロ
 テン、モルグラモスチン、マイカペルオキシドB、ミリアボロン、N－アセチルジナリン
 、N－置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスチップ、ナパビン、ナフテルピン、ナ
 ルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルピシン、ネリドロロン酸、ニルタミド、ニサマイシ
 ン、ニトルリン、オクトレオチド、オキセノン、オナプリストン、オندانセトロン、オ
 ラシン、オルマプラチン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、パクリタキセルおよ
 びその類似体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシシ、パミドロロン酸、パナキシトリオ
 ール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペ
 ントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペル

10

20

30

40

50

ホスファミド、フェナジノマイシン、ピシバニール、ピラルピシン、ピリトレキシム、ポドフィロトキシシン、ポルフィロマイシン、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ラルチトレキセド、リゾキシシン、ログレチミド、ロヒツキン、ルビギノン B 1、ルボキシシン、サフィンゴール、セイントピン、サルコフィトール A、サルグラモスチム、ソブゾキシシン、ソネルミン、スパルホシン酸、スピカマイシン D、スピロムスチン、スチピアミド、スルフィノシン、タリムスチン、テガフル、テモゾロミド、テニボシド、タリプラスチン、チオコラリン、チラパザミン、トポテカン、トプセンチン、トリシリピン、トリメトレキサート、ベラミン、ビノレルビン、ビンキサルチン、ボロゾール、ゼニプラチン、ならびにジラスコルブ。

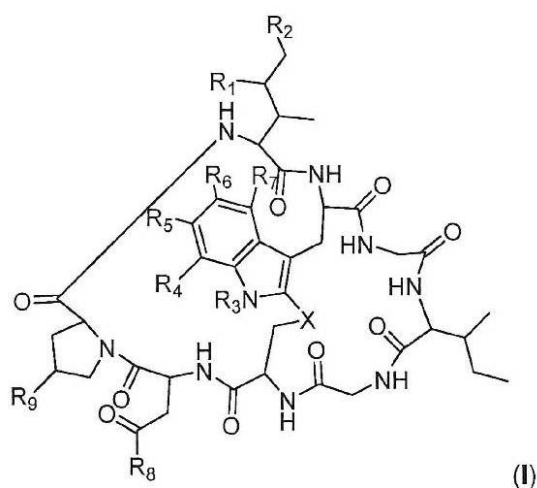
【0172】

いくつかの実施形態では、抗体-薬物コンジュゲートの細胞毒素は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシシンまたはその誘導体である。いくつかの実施形態では、細胞毒素は、アマトキシシンまたはその誘導体、例えば、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンである。天然に存在する様々なアマトキシシンの構造は、例えば、Zanotti et al., Int. J. Peptide Protein Res. 30, 1987年、450-459頁に開示されている。一実施形態では、細胞毒素はアマニチンである。

【0173】

例えば、本明細書に記載の抗体または抗原結合フラグメントは、式 $Ab-Z-L-Am$ によって表されるコンジュゲートを形成するように、アマトキシシンに結合され得（すなわち、細胞毒素 Cy はアマトキシシンである）、ここで Ab は抗体またはその抗原結合フラグメントであり、L はリンカーであり、Z は化学部分であり、Am は本明細書に記載のアマトキシシンである。アマトキシシンまたはその誘導体の多くの位置は、連結部分 L、したがって抗体またはその抗原結合フラグメントを共有結合する位置として機能することができる。いくつかの実施形態では、アマトキシシン-リンカーコンジュゲート $Am-L-Z$ は、式 (I) で表される：

【化24】



(I)

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、
 R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、
 R_A および R_B は、それらが結合している酸素原子と一緒に、結合して任意に置換された 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成し、
 R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり、
 R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり、
 X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、
 R_C は、 $-L-Z$ であり、

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、

L は、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、任意にジペプチド、任意に $-(C=O)-$ 、任意にペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり、ならびに

Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である」。

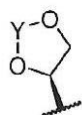
【0174】

いくつかの実施形態では、 Am は、ちょうど1つの R_C 置換基を含む

【0175】

式Iのいくつかの実施形態では、 R_A および R_B は、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下の式の5員ヘテロシクロアルキル基を形成する：

【化25】



上記式において、 Y は、 $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-(C=NR_E)-$ 、または $-(CR_E R_{E'})-$ であり、 R_E および $R_{E'}$ は、それぞれ独立して、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン- R_C 、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン- R_C 、任意に置換されたシクロアルキレン- R_C 、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン- R_C 、任意に置換されたアリーレン- R_C 、または任意に置換されたヘテロアリーレン- R_C である。

【0176】

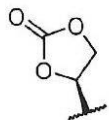
いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は式Iで表され、

上記式において、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

【化 2 6】



R_3 は、H または R_C であり、

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

X、 R_C および R_D は、それぞれ上記で定義した通りである。

10

【0 1 7 7】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は式 I で表され、

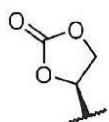
上記式において、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

20

【化 2 7】



R_3 は、H または R_C であり、

R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 R_C 、または OR_D であり、

、

R_6 および R_7 は、それぞれ H であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

X および R_C は、上記で定義した通りである。

30

【0 1 7 8】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は式 I で表され、

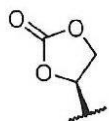
上記式において、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、

R_2 は、H、OH、または OR_B であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

40

【化 2 8】



R_3 、 R_4 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり、

R_5 は OR_C であり、

R_8 は、OH または NH_2 であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

X および R_C は、上記で定義した通りである。

50

【0179】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは式Iで表され、
 上記式において、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
 R_3 は R_C であり、
 R_4 、 R_6 、および R_7 は、それぞれHであり、
 R_5 は、H、OH、または OC_1-C_6 アルキルであり、
 R_8 は、OHまたは NH_2 であり、
 R_9 は、HまたはOHであり、ならびに
 Xおよび R_C は、上記で定義した通りである。

【0180】

10

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは式Iで表され、
 上記式において、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
 R_3 、 R_6 、および R_7 は、それぞれHであり、
 R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、または R_C であり、
 R_8 は、OHまたは NH_2 であり、
 R_9 は、HまたはOHであり、ならびに
 Xおよび R_C は、上記で定義した通りである。

【0181】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは式Iで表され、
 上記式において、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
 R_3 、 R_6 、および R_7 は、それぞれHであり、
 R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり、
 R_9 は、HまたはOHであり、ならびに
 Xおよび R_C は、上記で定義した通りである。

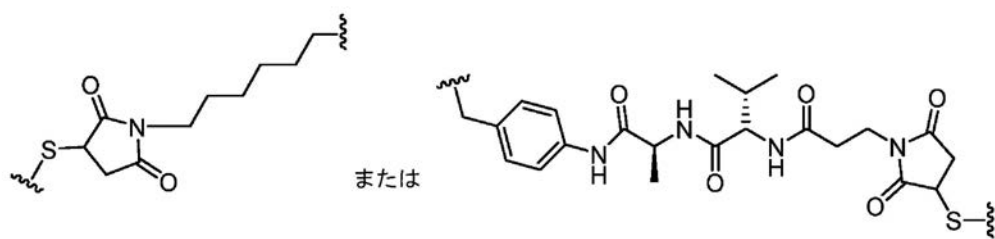
20

【0182】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは $-(CH_2)_n-$ を含み、ここでnは6である。いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、L-Zとして

30

【化29】



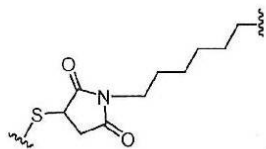
40

であり、上記式において、Sは、CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す（例えば、システイン残基の-SH基由来の）硫黄原子である。

【0183】

いくつかの実施形態では、L-Zは、

【化 3 0】



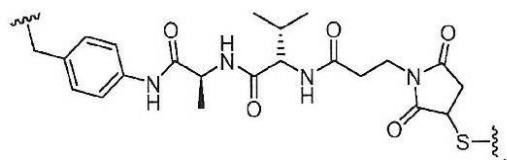
である。

【 0 1 8 4】

いくつかの実施形態では、L-Zは、

10

【化 3 1】



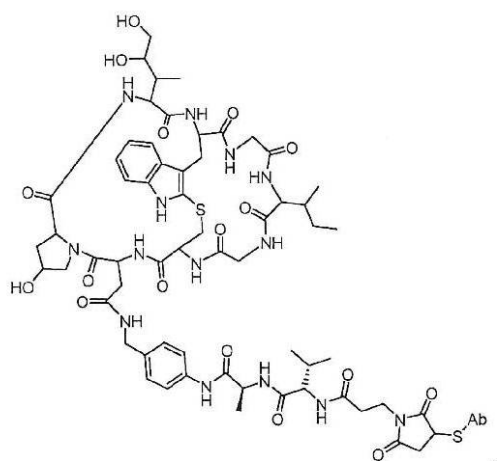
である。

【 0 1 8 5】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、

20

【化 3 2】



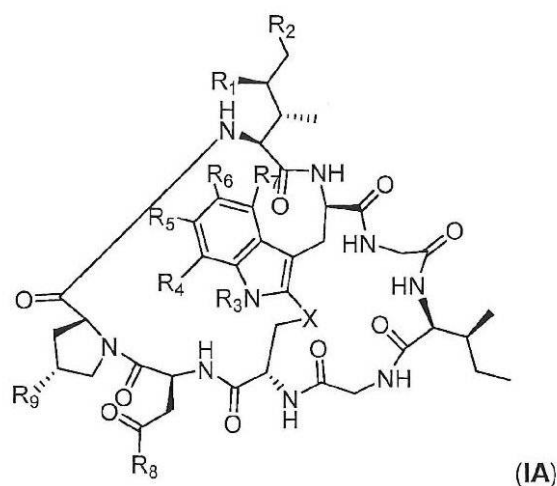
30

である。

【 0 1 8 6】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（I A）で表される：

【化 3 3】



10

20

30

40

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、
 R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成し、
 R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり、
 R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり、
 X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、
 R_C は、 $-L-Z$ であり、
 R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、
 L は、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、任意にジペプチド、任意に $-(C=O)-$ 、任意にペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり、

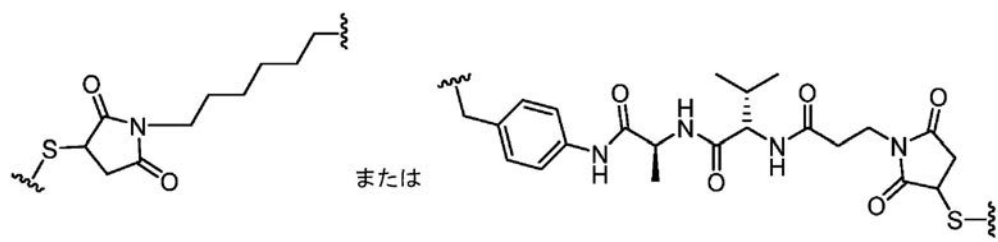
Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、CD252 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、ならびに

Am は、ちょうど 1 つの R_C 置換基を含む」。

【0187】

50

いくつかの実施形態では、リンカー L および化学部分 Z は、L-Z としてまとめて、
【化 3 4】



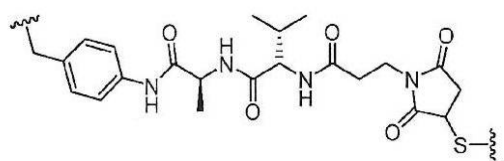
10

である。

【0188】

いくつかの実施形態では、L-Z は、

【化 3 5】



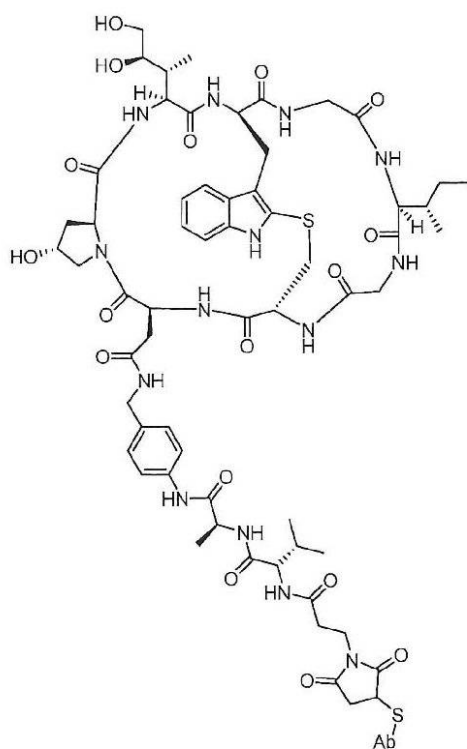
20

である。

【0189】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Ab は、

【化 3 6】



30

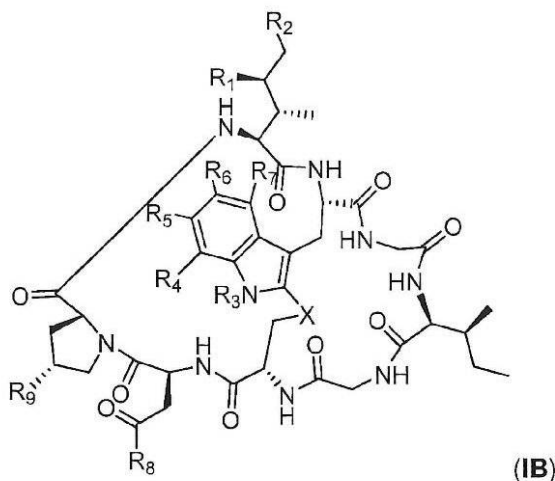
40

である。

【0190】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z は、式 (I B) で表される：

【化 3 7】



(IB)

10

20

30

40

50

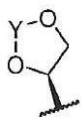
[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、
 R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結
 合して任意に置換された 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成し、
 R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり、
 R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり、
 X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、
 R_C は、 $-L-Z$ であり、
 R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換され
 たヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル
 （例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2
 $-C_6$ ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、
 任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任
 意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換さ
 れたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、
 L は、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換さ
 れたヘテロアルキレン（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアル
 ケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（
 例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C
 $_2-C_6$ アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘ
 テロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシク
 ロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペ
 プチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり、
 Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、 $CD252$ に結合する抗体またはその抗原結合
 フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部
 分であり、ならびに
 Am は、ちょうど 1 つの R_C 置換基を含む]。

【0191】

いくつかの実施形態では、式 (IA) または (IB) において、 R_A および R_B は、そ

れらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下の式の 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成する：

【化 3 8】



上記式において、Y は、 $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-(C=NR_E)-$ 、または $-(CR_E R_{E'})-$ であり、 R_E および $R_{E'}$ は、それぞれ独立して、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン- R_C 、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン- R_C 、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン- R_C 、任意に置換されたシクロアルキレン- R_C 、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン- R_C 、任意に置換されたアリーレン- R_C 、または任意に置換されたヘテロアリーレン- R_C である。

10

【0192】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (IA) または式 (IB) で表され、

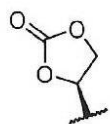
上記式において、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

20

【化 3 9】



R_3 は、H または R_C であり、

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

30

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

X、 R_C 、および R_D はそれぞれ上記で定義した通りである。

【0193】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (IA) または式 (IB) で表され、

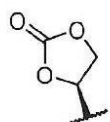
上記式において、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

40

【化 4 0】



R_3 は、H または R_C であり、

R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 R_C 、または OR_D であり、

50

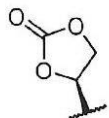
R₆ および R₇ は、それぞれ H であり、
 R₈ は、OH、NH₂、OR_C、または NHR_C であり、
 R₉ は、H または OH であり、ならびに
 X および R_C は上記で定義した通りである。

【0194】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z は、式 (I A) または式 (I B) で表され、
 上記式において、R₁ は、H、OH、または OR_A であり、
 R₂ は、H、OH、または OR_B であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

10

【化 4 1】



R₃、R₄、R₆、および R₇ は、それぞれ H であり、
 R₅ は OR_C であり、
 R₈ は、OH または NH₂ であり、
 R₉ は、H または OH であり、ならびに
 X および R_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシシンコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第 2016/0002298 号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

20

【0195】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z は、式 (I A) または式 (I B) で表され、
 上記式において、R₁ および R₂ は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R₃ は R_C であり、
 R₄、R₆、および R₇ は、それぞれ H であり、
 R₅ は、H、OH、または OC₁-C₆ アルキルであり、
 R₈ は、OH または NH₂ であり、
 R₉ は、H または OH であり、ならびに
 X および R_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシシンコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第 2014/0294865 号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

30

【0196】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z は、式 (I A) または式 (I B) で表され、
 上記式において、R₁ および R₂ は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R₃、R₆、および R₇ は、それぞれ H であり、
 R₄ および R₅ は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、または R_C であり、
 R₈ は、OH または NH₂ であり、
 R₉ は、H または OH であり、ならびに
 X および R_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシシンコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第 2015/0218220 号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

40

【0197】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z は、式 (I A) または式 (I B) で表され、
 上記式において、R₁ および R₂ は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R₃、R₆、および R₇ は、それぞれ H であり、
 R₄ および R₅ は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R₈ は、OH、NH₂、OR_C、または NHR_C であり、

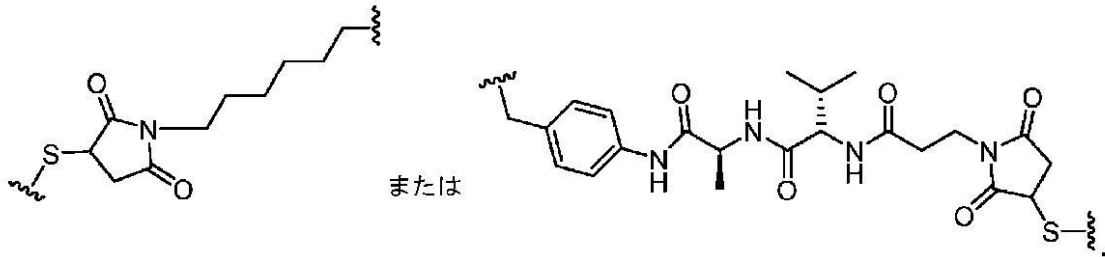
50

R₉ は、HまたはOHであり、ならびに

XおよびR_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシシンコンジュゲートは、例えば、米国特許第9, 233, 173号および第9, 399, 681号ならびに米国特許出願公開第2016/0089450号に記載されており、それらの各々の開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0198】

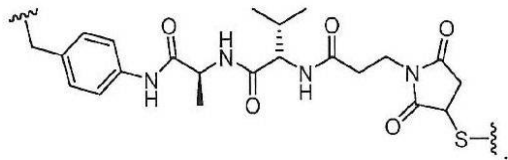
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、L-Zとしてまとめて、
【化42】



である。

【0199】

いくつかの実施形態では、L-Zは、
【化43】



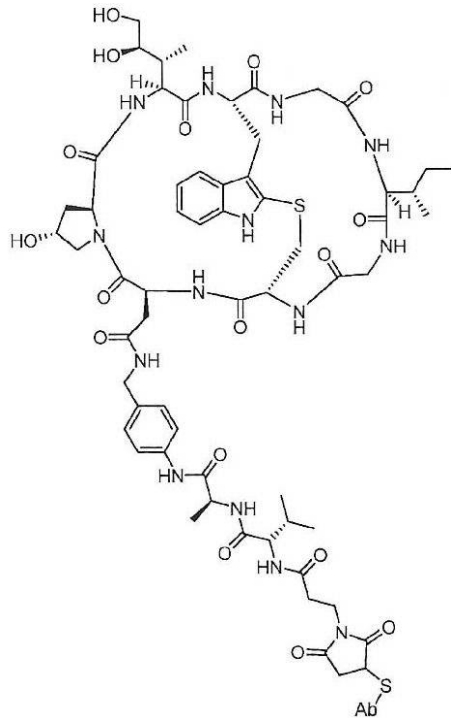
である。

【0200】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、

30

【化 4 4】



10

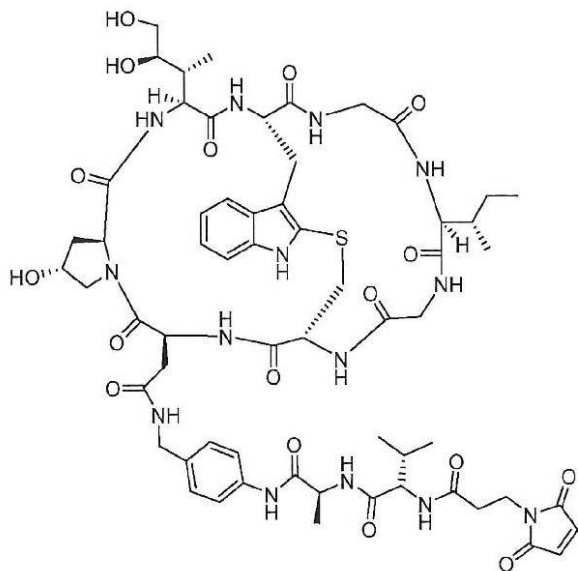
20

である。

【0201】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z 前駆体は、

【化 4 5】



30

40

であり、ここで、マレイミドは抗体中のシステイン上にあるチオール基と反応する。

【0202】

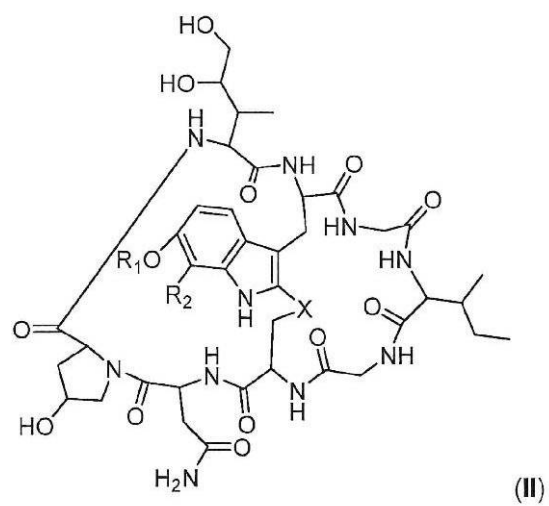
本明細書に記載の組成物および方法に従って抗体またはその抗原結合フラグメントへのコンジュゲーションに使用され得るさらなるアマトキシンは、例えば、WO 2016/142049；WO 2016/071856；およびWO 2017/046658に記載されており、これらの各々の開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0203】

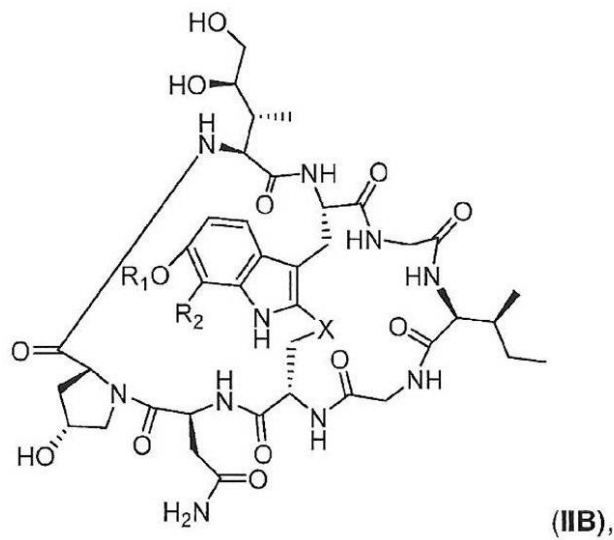
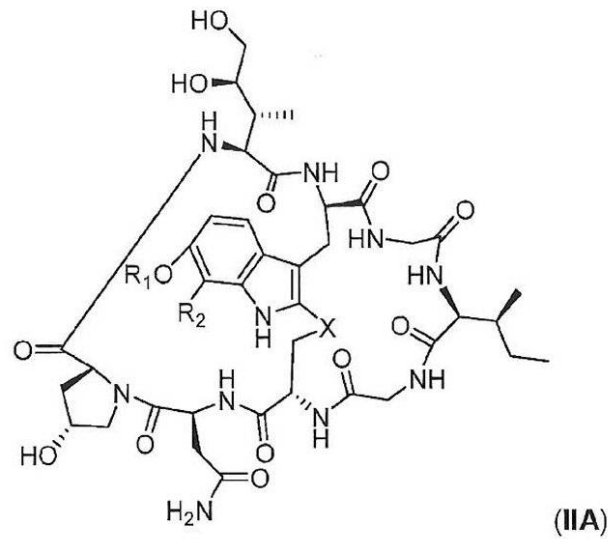
いくつかの実施形態では、Am-L-Z は、以下の式 (I I)、式 (I I A)、または式 (I I B) で表され、

50

【化 4 6 - 1】



【化 4 6 - 2】



式中、Xは、S、SO、またはSO₂であり；R₁はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；R₂はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；R₁がHである場合、R₂が前記リンカーであり、R₂がHである場合、R₁が前記リンカーである。

【0204】

いくつかの実施形態では、リンカーは-(CH₂)_n-単位を含み、ここでnは2～6の整数である。

【0205】

10

20

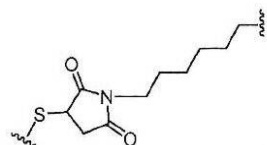
30

40

50

いくつかの実施形態では、 R_1 はリンカーであり、 R_2 はHであり、リンカーおよび化学部分は、 $L-Z$ としてまとめて、

【化47】



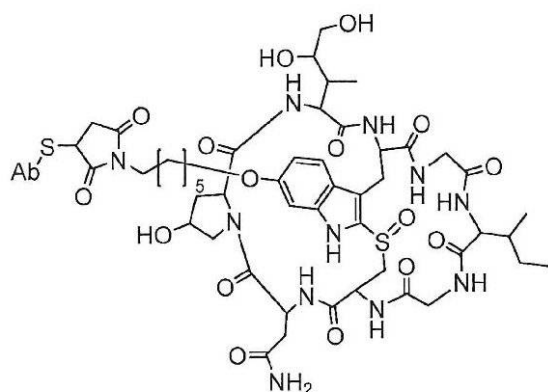
である。

【0206】

10

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z-Ab$ は、

【化48】



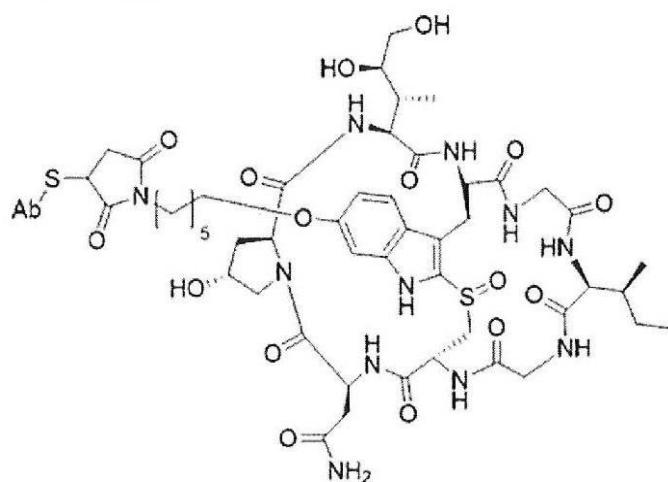
20

である。

【0207】

いくつかの実施形態では、 $Ab-Z-L-Am$ は、

【化49】



30

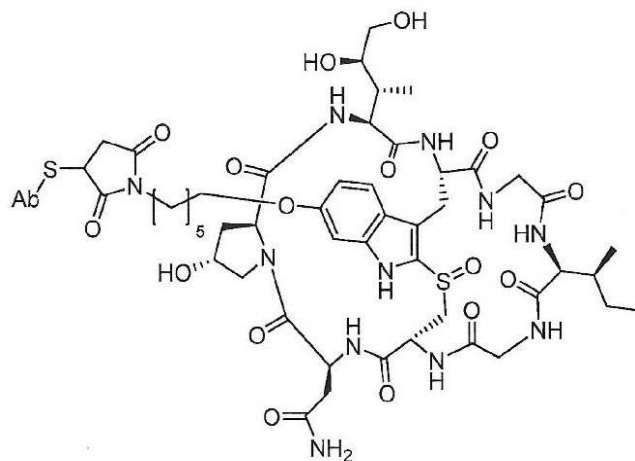
40

である。

【0208】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z-Ab$ は、

【化50】



10

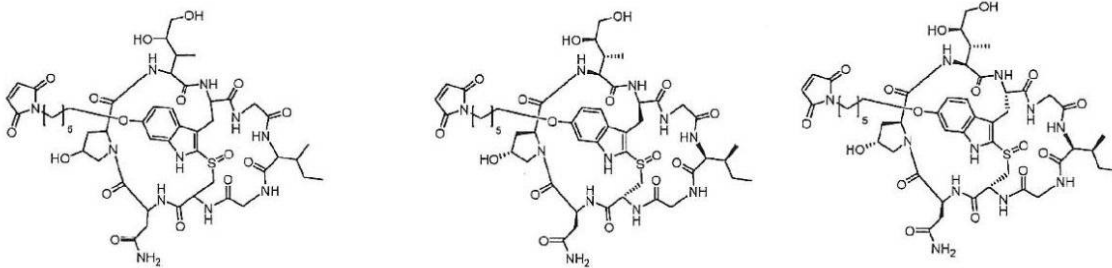
である。

【0209】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z前駆体は、以下のうちの1つであり、ここで、マレイミドは抗体中のシステイン上にあるチオール基と反応する：

【化51】

20



【0210】

30

いくつかの実施形態では、細胞毒素は α -アマニチンである。いくつかの実施形態では、 α -アマニチンは式IIIの化合物である。いくつかの実施形態では、式IIIの α -アマニチンは、リンカーLを介して抗CD252抗体に結合される。リンカーLは、式I、IA、IB、II、IIA、またはIIBの α -アマニチン-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式IIIの α -アマニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは

40

50

、 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0211】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は β -アマニチンである。いくつかの実施形態では、 β -アマニチンは式 I I I の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I I I の β -アマニチンは、リンカーLを介して抗CD252抗体に結合される。リンカーLは、式 I、I A、I B、I I、I I A、またはI I Bの β -アマニチン-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 I I I の β -アマニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-((C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0212】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は γ -アマニチンである。いくつかの実施形態では、 γ -アマニチンは式 I I I の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I I I の γ -アマニチンは、リンカーLを介して抗CD252抗体に結合される。リンカーLは、式 I、I A、I B、I I、I I A、またはI I Bの γ -アマニチン-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 I I I の γ -アマニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-((C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0213】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は ϵ -アマニチンである。いくつかの実施形態では、 ϵ -アマニチンは式 I I I の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I I I の ϵ -アマニチンは、リンカーLを介して抗CD252抗体に結合される。リンカーLは、式 I、I A、I B、I I、I I A、またはI I Bの ϵ -アマニチン-リンカーコンジュゲート

を提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 I I I の ε -アミニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Ala および Val-Cit から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Cit-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Ala-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

10

【0214】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアミニンである。いくつかの実施形態では、アミニンは式 I I I の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I I I のアミニンは、リンカー-L を介して抗 CD252 抗体に結合される。リンカー-L は、式 I、IA、IB、II、IIA、または IIB のアミニン-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 I I I のアミニンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Ala および Val-Cit から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Cit-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Ala-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

20

30

【0215】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアミニンアミドである。いくつかの実施形態では、アミニンアミドは式 I I I の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I I I のアミニンアミドは、リンカー-L を介して抗 CD252 抗体に結合される。リンカー-L は、式 I、IA、IB、II、IIA、または IIB のアミニンアミド-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 I I I のアミニンアミドに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態

40

50

では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

10

【0216】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマヌリンである。いくつかの実施形態では、アマヌリンは式 III の化合物である。いくつかの実施形態では、式 III のアマヌリンは、リンカー L を介して抗 CD252 抗体に結合される。リンカー L は、式 I、IA、IB、II、IIA、または IIB のアマヌリン-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置 (例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか) のいずれか 1 つで式 III のアマヌリンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

20

30

【0217】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマヌリン酸である。いくつかの実施形態では、アマヌリン酸は式 III の化合物である。いくつかの実施形態では、式 III のアマヌリン酸は、リンカー L を介して抗 CD252 抗体に結合される。リンカー L は、式 I、IA、IB、II、IIA、または IIB のアマヌリン酸-リンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置 (例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか) のいずれか 1 つで式 III のアマヌリン酸に結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含

40

50

む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は $1 \sim 6$ の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0218】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はプロアマヌリンである。いくつかの実施形態では、プロアマヌリンは式 III の化合物である。いくつかの実施形態では、式 III のプロアマヌリンは、リンカー L を介して抗 $CD252$ 抗体に結合される。リンカー L は、式 I 、 IA 、 IB 、 II 、 IIA 、または IIB のプロアマヌリンーリンカーコンジュゲートを提供するために、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 III のプロアマヌリンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は $1 \sim 6$ の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0219】

アマトキシシンを作製する合成方法は、参照により本明細書に援用される米国特許第9, 676, 702号に記載されている。

【0220】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて使用するための抗体または抗原結合フラグメントは、例えば当該技術分野で知られているか本明細書に記載のコンジュゲート技術を使用して、リンカー部分 (L) を介して α -アマニチンまたはそのバリエーションなどのアマトキシシンにコンジュゲートされ得る（したがって、コンジュゲート（抗体-薬物コンジュゲートとも呼ばれる）を形成する）。例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されているように、 $CD252$ を認識して結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、 α -アマニチンまたはそのバリエーションなどのアマトキシシンにコンジュゲートされ得、その開示は、例えば、 α -アマニチンおよびそのバリエーションなどのアマトキシシン、ならびに共有結合コンジュゲーションに使用することができる共有結合リンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。そのようなプロセスに有用なアマトキシシンコンジュゲーションおよびリンカーの例示的な方法は、本明細書に記載されている。当該組成物および方法による抗体または抗原結合フラグメントへのコンジュゲーションに有用な例示的なリンカー含有アマトキシシンもまた、本明細書に記載されている。アマトキシシンを作製する合成方法は、例えば、米国特許第9, 676, 702号に記載されており、米国特許第9, 676, 702号は、その中で開示されている合成方法に関して参照により本明細書に援用される。

【0221】

本明細書に記載の方法と併せて有用な例示的な抗体-薬物コンジュゲートは、抗体またはその抗原結合フラグメントと、当該抗体またはその抗原結合フラグメント上の反応性残

50

ジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)ヘキサナミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)ヘキサナミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(6-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)ヘキサナミド)-S-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(6-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)ヘキサナミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)-S-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)ヘキサナミド)メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(3-カルボキシプロパンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(6-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(マレイミド)アセチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(3-(マレイミド)プロパノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(4-(マレイミド)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(2-(マレイミド)アセトアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)ブタンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)ヘキサナミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(2-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(2-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((3-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)ヘキサナミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((2-(6-(マレイミド)-N-メチルヘキサナミド)エチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(6-(マレイミド)N-メチルヘキサナミド)ブチル(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((2-(2-(6-(マレイミド)ヘキサナミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((2-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサナカルボキサミド)ヘキサナミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(6-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサナミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(1-(アミノオキシ)-2-オキソ-6, 9, 12, 15-テトラオキサ-3-アザヘプタデカン-17-オイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(2-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)アセチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-((4-(3-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)プロパノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7'C-

10

20

30

40

50

((4- (4- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ブタノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((4- (2- (6- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ヘキサナミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((4- (2- (2- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) アセトアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((4- (2- (4- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ブタンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((4- (20- (アミノオキシ) -4, 19-ジ
 オキソ-6, 9, 12, 15-テトラオキサ-3, 18-ジアザイコシル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- (((2- (6- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) -N-メチルヘキサナミド) エチル) (メチル) アミノ) メチル) -ア
 マトキシシ; 7' C- (((4- (6- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) -N-メチルヘキサナミド) ブチル) (メチル) アミノ) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((3- ((6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサナカルボキサミド) ヘキサ
 ナミド) メチル) ピロリジン-1-イル) -S-メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((3- ((6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサナカルボキサミド) ヘキサ
 ナミド) -R-メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((4- (2- (2-プロモアセトアミド) エチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -ア
 マトキシシ; 7' C- ((4- (2- (2-プロモアセトアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシ; 7' C- ((4- (2- (3- (ピリジン-2-イ
 ルジスルファニル) プロパンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマト
 キシシ; 6' O- (6- (6- (マレイミド) ヘキサナミド) ヘキシル) -アマトキシ
 シ; 6' O- (5- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサナカルボキサミド) ペ
 ンチル) -アマトキシシ; 6' O- (2- ((6- (マレイミド) ヘキシル) オキシ) -
 2-オキソエチル) -アマトキシシ; 6' O- ((6- (マレイミド) ヘキシル) カルバ
 モイル) -アマトキシシ; 6' O- ((6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキ
 サナカルボキサミド) ヘキシル) カルバモイル) -アマトキシシ;
 6' O- (6- (2-プロモアセトアミド) ヘキシル) -アマトキシシ; 7' C- (4- (6- (アジド) ヘキサナミド) ピペリジン-1-イル) -アマトキシシ; 7' C- (4- (ヘキサ-5-イノイルアミノ) ピペリジン-1-イル) -アマトキシシ; 7' C- (4- (2- (6- (マレイミド) ヘキサナミド) エチル) ピペラジン-1-イル) -
 アマトキシシ; 7' C- (4- (2- (6- (6- (マレイミド) ヘキサナミド) ヘキサ
 ナミド) エチル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシシ; 6' O- (6- (6- (11, 12-ジデヒドロ-5, 6-ジヒドロ-ジベンゾ [b, f] アゾシン-5-イル) -6-オキソヘキサナミド) ヘキシル) -アマトキシシ; 6' O- (6- (ヘキサ-5-イノイルアミノ) ヘキシル) -アマトキシシ; 6' O- (6- (2- (アミノオキシ) アセチルアミド) ヘキシル) -アマトキシシ; 6' O- ((6-アミノオキシ) ヘキシル) -アマトキシシ; および 6' O- (6- (2-ヨードアセトアミド) ヘキシル) -アマトキシシ。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカーは、例えば、米国特許出願公開第 2015/0218220 号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

10

20

30

40

【0222】

G V H D または自己免疫疾患を直接処置する際に使用するための、C D 2 5 2 を認識して結合する抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされ得るさらなる細胞毒素には、限定されないが、とりわけ以下のものが挙げられる：5-エチニルウラシル、アビラテロン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミホスチン、アミノレプリン酸、アムルピシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、アンタレリックス、抗背側化形態形成性タンパク質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフイジコリングリシネート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレーター、

50

アプリン酸、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシシ、アザチロシン、バ
 ッカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット、BCR/ABLアンタゴニスト、
 ベンゾクロリン、ベンゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、ベーターアレチ
 ン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、bFGF阻害剤、ビカルタミド、ビスアントレン、
 ビスアジリジニルスペルミン、ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレフレー
 ト、ブレオマイシンA2、ブレオマイシンB2、プロピリミン、ブドチタン、ブチオニン
 スルホキシミン、カルシポトリオール、カルホスチンC、カンプトテシン誘導体（例えば
 、10-ヒドロキシカンプトテシン）、カペシタビン、カルボキサミドアミノトリ
 アゾール、カルボキシアミドトリアゾール、カルゼレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カ
 スタノスペルミン、セクロピンB、セトロレリックス、クロリン、クロロキノキサリンス
 ルホンアミド、シカプロスト、シスーボルフィリン、クラドリビン、クロミフェンおよび
 その類似体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンプレタスタ
 チンA4、コンプレタスタチン類似体、コナゲニン、クラムベシジン816、クリスナト
 ール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタア
 ントラキノ、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビンオクホスフェート、細胞溶解
 因子、サイトスタチン、ダクリキシマブ、デシタビン、デヒドロジデムニンB、2'デオ
 キシコホルマイシン(DCF)、デスロレリン、デキシフォスファミド、デクスラゾキサ
 ン、デクスベラパミル、ジアジコン、ジデムニンB、ジドックス、ジエチルノルスペルミ
 ン、ジヒドロ5-アザシチジン、ジヒドロタキソール、ジオキサマイシン、ジフェニル
 スピロムスチン、ディスコデルモリド、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン
 、ドロロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムス
 チン、エデルフォシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、エレメン、エミテフル、エポ
 チロン、エピチロン、エプリステリド、エストラムスチンおよびその類似体、エトボシド
 、エトボシド4'-リン酸（エトボフォスとも呼ばれる）、エキセメスタン、ファドロゾ
 ール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリ
 ドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、塩酸フルオロダウノルニシン
 、ホルフェニメックス、フォルメスタン、フォストリエシン、フォテムスチン、ガドリニ
 ウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリックス、ゼラチナーゼ阻害
 剤、ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、ヘプスルファム、ホモハリングトニン(HHT)
 、ヒベリシン、イバンドロン酸、イドキシフェン、イドラマントン、イルモホシン、イ
 ロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、ヨーベングアン、
 ヨードドキソルビシン、イボメアノール、イリノテカン、イロブラクト、イルソグラジン
 、イソベングアゾール、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-Nトリアセテー
 ト、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸、レプトルスタチ
 ン、レトロゾール、親油性白金化合物リソクリンアミド7、ロバブラチン、ロメトレキシ
 ール、ロニダミン、ロキシキサントロン、ロキシリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキ
 サフィリン、リゾフィリン、マソプロコール、マスピン、マトリックスメタロプロテイナー
 ゼ阻害剤、メノガリル、ルネルバロン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトクロブラミ
 ド、MIF阻害剤、イフェプリストン、ミルテフォシン、ミリモスチム、ミトラシン、ミ
 トグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシンおよびその類似体、ミトナフィド、ミトキ
 サントロン、モファロテン、モルグラモスチン、マイカペルオキシドB、ミリアポロン、
 N-アセチルジナリン、N-置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスチップ、ナパビ
 ン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダブラチン、ネモルビシン、ネリドロ酸、ニ
 ルタミド、ニサマイシン、ニトルリン、オクトレオチド、オキセノン、オナプリストン、
 オンダンセトロン、オラシン、オルマブラチン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン
 、パクリタキセルおよびその類似体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシシ、パミドロ
 ン酸、パナキトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガ
 ーゼ、ペルデシン、ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、
 ペルフルブロン、ペルホスファミド、フェナジノマイシン、ピシバニール、ピラルビシン

10

20

30

40

50

、ピリトレキシム、ポドフィロトキシン、ポルフィロマイシン、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ラルチトレキセド、リゾキシシ、ログレチミド、ロヒツキン、ルビギノンB 1、ルボキシシ、サフィンゴール、セイントピン、サルコフィトールA、サルグラモスチム、ソブゾキサシ、ソネルミン、スパルホシ酸、スピカマイシンD、スピロムスチン、スチピアミド、スルフィノシシ、タリムスチン、テガフル、テモゾロミド、テニポシド、タリブラスチン、チオコラリン、チラパザミン、トポテカン、トプセンチン、トリシリピン、トリメトレキサート、ベラミン、ビノレルピン、ビンキサルチン、ボロゾール、ゼニプラチン、ならびにジラスコルブ。

【0223】

＜化学的コンジュゲーション用リンカー＞

本明細書に記載の抗体または抗原結合フラグメント（例えば、CD252を認識して結合する抗体またはその抗原結合フラグメント）を細胞毒性分子にコンジュゲートするために、様々なリンカーを使用することができる。

【0224】

本明細書で使用される用語「リンカー」は、抗体またはそのフラグメント（Ab）を薬物部分（D）に共有結合させて、本開示の抗体-薬物コンジュゲート（ADC；Ab-Z-D、Dは細胞毒素）を形成する共有結合または原子鎖を含む二価化学部分を意味する。適切なリンカーは、2つの反応性末端を有し、一方は抗体へのコンジュゲーション用であり、他方は細胞毒素へのコンジュゲーション用である。リンカーの抗体コンジュゲーション用反応性末端（反応性部分、Z）は、通常、抗体上のシステインチオールまたはリジンアミン基を介して抗体にコンジュゲーション可能な部位であり、通常、二重結合（マレイミドなど）または脱離基（クロロ、ブロモ、ヨード、R-スルファニル基など）などのチオール反応性基（マレイミドなど）、またはカルボキシ基などのアミン反応性基である。一方、リンカーの抗体コンジュゲーション用反応性末端は、通常、細胞毒素上の塩基性アミンまたはカルボキシ基とのアミド結合の形成を介して細胞毒素にコンジュゲーション可能な部位であり、通常、カルボキシ基または塩基性アミン基である。「リンカー」という用語がコンジュゲートされた形態のリンカーを説明する際に使用される場合、リンカーおよび／または細胞毒素の間、ならびにリンカーおよび／または抗体もしくはその抗原結合フラグメントの間の結合の形成のため、反応性末端の一方または両方が存在しない（化学部分Zに変換された反応部分Zなど）か不完全（カルボン酸のカルボニルのみなど）である。このようなコンジュゲーション反応は、本明細書において以下にさらに記載される。

【0225】

いくつかの実施形態では、リンカーの切断により細胞内環境で抗体から薬物ユニットが放出されるように、リンカーは細胞内条件下で切断可能である。さらに他の実施形態では、リンカー単位は切断可能ではなく、薬物は、例えば抗体分解によって放出される。本ADCに有用なリンカーは、好ましくは、細胞外で安定であり、ADC分子の凝集を防止し、ADCを水性媒体および単量体状態で自由に可溶性に保つ。細胞への輸送または送達の前に、ADCは好ましくは安定であり、インタクトのままである；即ち、抗体は薬物部分に連結されたままである。リンカーは標的細胞外で安定であり、該細胞内で有効な速度で切断され得る。効果的なリンカーは、(i) 抗体の特異的結合特性を維持し、(ii) コンジュゲートまたは薬物部分の細胞内送達を可能にし、(iii) コンジュゲートがその標的部位に送達または輸送されるまで、安定かつインタクトのままであり（即ち、切断されず）、(iv) 細胞毒性部分の細胞毒性効果、殺細胞効果または細胞増殖抑制効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLCなどの標準的な分析技術、および分離／分析技術LC/MSによって測定され得る。抗体と薬物部分の共有結合は、リンカーが2つの反応性官能基を有すること、即ち反応性の意味で二価性を有することを必要とする。ペプチド、核酸、薬物、毒素、抗体、ハプテン、レポーターグループなどの2つ以上の機能的または生物学的に活性な部分を結合するのに有用な二価リンカー試薬が知られており、方法がその結果生じるコンジュゲートについて記載されている（Hermanson,

10

20

30

40

50

G. T. (1996年) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: ニューヨーク、234-242頁)。

【0226】

リンカーには、例えば、酵素加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核開裂、または有機金属開裂によって切断され得るものが挙げられる(例えば、Leriche et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 20: 571-582頁、2012年を参照し、その開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される)。

【0227】

酸性条件下で加水分解可能なリンカーには、例えば、ヒドラゾン、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、cis-アコニットアミド、オルトエステル、アセタール、ケタールなどが含まれる。例えば、米国特許第5,122,368号;米国特許第5,824,805号;米国特許第5,622,929号;Dubowchik and Walker, 1999年、*Pharm. Therapeutics* 83: 67-123頁;Neville et al., 1989年、*Biol. Chem.* 264: 14653-14661頁を参照。これらの各々の開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するため、参照によりその全体が本明細書に援用される。そのようなリンカーは、血中のような中性pH条件下では比較的安定であるが、リソソームのおおよそのpHであるpH5.5または5.0未満では不安定である。

【0228】

還元条件下で切断可能なリンカーには、例えば、ジスルフィドが含まれる。例えば、SATA(N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート)、SPDP(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート)、SPDB(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート)およびSMPT(N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ピリジル-ジチオ)トルエン)、SPDBおよびSMPTを使用して形成され得るものを含む、様々なジスルフィドリンカーが当技術分野で知られている。例えば、Thorpe et al., 1987年、*Cancer Res.* 47: 5924-5931頁;Wawrzynczak et al., *In Immunconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel編集, Oxford U. Press, 1987年を参照。また、米国特許第4,880,935号も参照。これらの各々の開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するため、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0229】

薬物-抗体コンジュゲートの合成に有用なリンカーの例には、抗体または抗原結合フラグメント内に存在する求核性置換基(アミンおよびチオール部分など)との反応に適した、マイケル受容体(例えば、マレイミド)、活性化エステル、電子不足カルボニル化合物、およびアルデヒドなどの求電子試薬を含むものが含まれる。例えば、薬物-抗体コンジュゲートの合成に適したリンカーには、限定されないが、例えばLiu et al., 18: 690-697頁(1979年)に記載のスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-L-カルボキシレート(SMCC)、N-スクシンイミジルヨード酢酸(SIA)、スルホ-SMCC、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル(MBS)、スルホ-MBS、およびスクシンイミジルヨード酢酸が含まれ、その開示は化学的コンジュゲーション用リンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。追加のリンカーには、アウリスタチンなどの微小管破壊剤のコンジュゲーションに特に有用である非開裂性マレイミドカプロイルリンカーが挙げられ、Doronina et al., *Bioconjugate Chem.* 17: 14-24頁、2006年に記載されており、その開示は、化学的コンジュゲーション

用のリンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。本明細書に記載の薬物-抗体コンジュゲートの合成に適した追加のリンカーには、1, 6-脱離プロセスによって細胞毒素を放出することができるもの（「自壊性」基）、例えば、p-アミノベンジルアルコール（PABC）、p-アミノベンジル（PAB）、6-マレイミドヘキサ酸、pH感受性炭酸塩、および Jain et al., Pharm. Res. 32: 3526-3540頁、2015年に記載の他の試薬が挙げられ、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。いくつかの実施形態では、リンカーは、前述のPABまたはPABC（パラアミノベンジルオキシカルボニル）などの自壊性基を含み、これらは、例えば、Carl et al., J. Med. Chem. (1981年) 24: 479-480頁; Chakravarty et al. (1983年) J. Med. Chem. 26: 638-644頁; US 6214345; US 20030130189; US 20030096743; US 6759509; US 20040052793; US 6218519; US 6835807; US 6268488; US 20040018194; WO 98/13059; US 20040052793; US 6677435; US 5621002; US 20040121940; WO 2004/032828に開示されている。このプロセスが可能な他のそのような化学部分（「自壊性リンカー」）には、メチレンカルバメートとアミノチアゾール、アミノイミダゾール、アミノピリミジンなどのヘテロアリアル基とが含まれる。そのような複素環式自壊性基を含むリンカーは、例えば、米国特許公開第20160303254号および第20150079114号、ならびに米国特許第7,754,681号; Hay et al. (1999年) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9: 2237頁; US 2005/0256030; de Groot et al. (2001年) J. Org. Chem. 66: 8815-8830頁; および US 7223837に開示されている。

10

20

【0230】

酵素加水分解を受けやすいリンカーは、例えば、リソソームまたはエンドソームプロテアーゼを含むがこれらに限定されない細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチド含有リンカーであり得る。治療薬の細胞内タンパク質分解放出を使用することの1つの利点は、薬剤がコンジュゲートされると一般に減弱され、かつコンジュゲートの血清安定性が一般に高いことである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも2アミノ酸長または少なくとも3アミノ酸長である。例示的なアミノ酸リンカーは、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチドまたはペンタペプチドを含む。適切なペプチドの例には、バリン、アラニン、シトルリン（Cit）、フェニルアラニン、リジン、ロイシン、およびグリシンなどのアミノ酸を含むものが含まれる。アミノ酸リンカー成分を含むアミノ酸残基には、天然に存在するもの、ならびにマイナーアミノ酸およびシトルリンなどの非天然アミノ酸類似体が含まれる。例示的なジペプチドには、バリン-シトルリン（vcまたはval-cit）およびアラニン-フェニルアラニン（afまたはalaph）が含まれる。例示的なトリペプチドには、グリシン-バリン-シトルリン（gly-val-cit）およびグリシン-グリシン-グリシン（gly-gly-gly）が含まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Cit、Ala-Val、Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg、またはTrp-Citなどのジペプチドを含む。Val-CitまたはPhe-Lysなどのジペプチドを含有するリンカーは、例えば、米国特許第6,214,345号に開示されており、その開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するので、その全体が参照により本明細書に援用される。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ジペプチドは、自壊性リンカーと組み合わせて使用される。

30

40

【0231】

本明細書における使用に適したリンカーは、C₁-C₆アルキレン、C₁-C₆ヘテロアルキレン、C₂-C₆アルケニレン、C₂-C₆ヘテロアルケニレン、C₂-C₆アル

50

キニレン、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、 C_3-C_6 シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびそれらの組み合わせから選択される1つ以上の基をさらに含み得、これらの各々は、任意に置換され得る。このような基の非限定的な例には、 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_n$ 、および $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位が含まれ、ここで n は1~6の整数であり、それぞれの場合について独立して選択される。

【0232】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジペプチド、 p -アミノベンジル(PAB)基、複素環自壊性基、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換された C_3-C_6 シクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、アシル、 $-(C=O)-$ 、または $-(CH_2CH_2O)_n-$ 基の1つ以上を含み得、ここで n は1~6の整数である。当業者は、列挙された1つ以上の基が、二価(ジラジカル)種、例えば、 C_1-C_6 アルキレンなどの形態で存在し得ることを認識するであろう。

【0233】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 p -アミノベンジル基(PAB)を含む。一実施形態では、 p -アミノベンジル基は、細胞毒性薬物とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置される。一実施形態では、 p -アミノベンジル基は、 p -アミノベンジロキシカルボニル単位の一部である。一実施形態では、 p -アミノベンジル基は、 p -アミノベンジルアミド単位の一部である。

【0234】

いくつかの実施形態では、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABを含む。

【0235】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABの1つ以上の組み合わせを含む。

【0236】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は1~6の整数である。

【0237】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は2~6の整数である。

【0238】

特定の実施形態では、ADCのリンカーは、 $N-\beta$ -マレイミドプロピル-Val-Ala-パラアミノベンジル(BMP-Val-Ala-PAB)である。

【0239】

抗体またはその抗原結合フラグメントを細胞毒性剤にコンジュゲートするために使用され得るリンカーには、リンカーの一端で細胞毒性剤に共有結合しており、リンカーの他端で、リンカー上に存在する反応性置換基と、CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分を含有するものが挙げられる。CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基には以下が挙げられるが、これらに限定されない：セ

10

20

30

40

50

リン、スレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシル部分；リジン残基のアミノ部分；アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分；およびシステイン残基のチオール部分、ならびにプロパルギル、アジド、ハロアリール（例えば、フルオロアリール）、ハロヘテロアリール（例えば、フルオロヘテロアリール）、ハロアルキル、および天然に存在しないアミノ酸のハロヘテロアルキル部分。

【0240】

薬物－抗体コンジュゲートの合成に有用なリンカーの例には、抗体または抗原結合フラグメント内に存在する求核性置換基（アミンおよびチオール部分など）との反応に適した、マイケル受容体（例えば、マレイミド）、活性化エステル、電子不足カルボニル化合物、およびアルデヒドなどの求電子試薬を含むものが含まれる。例えば、薬物－抗体コンジュゲートの合成に適したリンカーには、限定されないが、例えば *Liu et al.*, 18:690-697頁（1979年）に記載のスクシンイミジル4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサノール-L-カルボキシレート（SMCC）、N-スクシンイミジルヨード酢酸（SIA）、スルホ-SMCC、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル（MBS）、スルホ-MBS、およびスクシンイミジルヨード酢酸が含まれ、その開示は化学的コンジュゲーション用リンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。追加のリンカーには、アウリスタチンなどの微小管破壊剤のコンジュゲーションに特に有用である非開裂性マレイミドカプロイルリンカーが挙げられ、*Doronina et al.*, *Bioconjugate Chem.* 17:14-24頁、2006年に記載されており、その開示は、化学的コンジュゲーション用リンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。

10

20

【0241】

本明細書に開示される化学基、部分および特徴のいずれか1つ以上が複数の方法で組み合わせられて、本明細書に開示される抗体および細胞毒素のコンジュゲーションに有用なリンカーを形成し得ることが当業者に認識されるであろう。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なさらなるリンカーは、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0242】

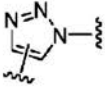
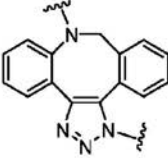
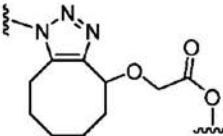
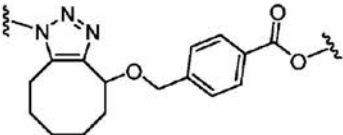
本明細書に記載の抗体－薬物と組み合わせる有用なリンカーには、以下の表1に示すようなカップリング反応によって形成された化学的部位を含むリンカーが含まれるが、これらに限定されない。曲線は、それぞれ、抗体または抗原結合フラグメントへの結合点、および細胞毒性分子への結合点を示す。

30

【0243】

【表 1 - 1】

表 1. 抗体-薬物の形成におけるカップリング反応によって形成される例示的な化学部分 Z

例示的な カップリング 反応	カップリング反応により形成される化学部分 Z
[3+2] 付加環化	
[3+2] 付加環化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

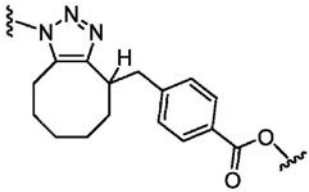
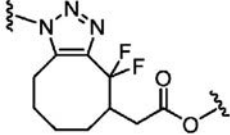
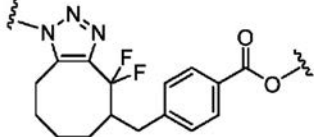
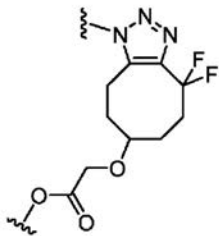
10

20

30

40

【表 1 - 2】

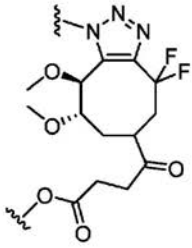
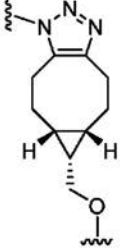
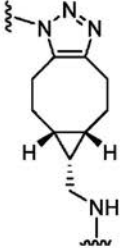
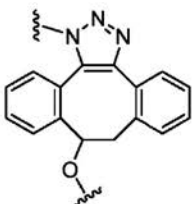
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

10

20

30

【表 1 - 3】

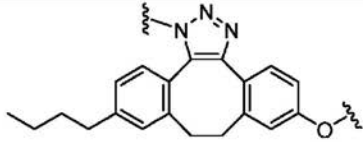
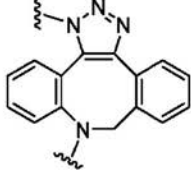
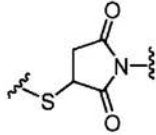
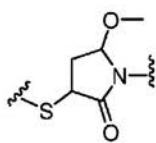
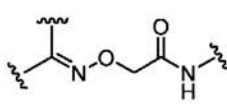
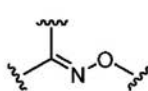
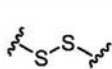
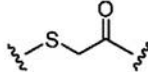
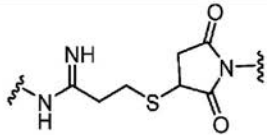
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

10

20

30

【表 1 - 4】

[3+2] 付加環化、 エーテル化	
[3+2] 付加環化	
マイケル付加	
マイケル付加	
イミン縮合、 アミド化	
イミン縮合	
ジスルフィド 形成	
チオール アルキル化	
縮合、 マイケル付加	

10

20

30

40

【0244】

当業者は、リンカーに結合した反応性置換基Zと抗体またはその抗原結合フラグメント上の反応性置換基とが、共有結合カップリング反応に関与して化学部分Zを生成することを認識し、かつ反応性置換基Zを認識するであろう。したがって、本明細書に記載の方法と併せて有用な抗体-薬物コンジュゲートは、本明細書に記載のように、抗体またはその抗原結合フラグメントとリンカーまたは細胞毒素-リンカーコンジュゲートとの反応によって形成され得、前記リンカーまたは細胞毒素-リンカーコンジュゲートは、化学部分Z

50

を形成するために、抗体またはその抗原結合フラグメント上の反応性置換基との反応に適した反応性置換基 Z を含む。

【0245】

表 1 に示すように、リンカーおよび抗体またはその抗原結合フラグメント上の適切な反応性置換基の例には、求核剤／求電子剤対（例えば、チオール／ハロアルキル対、アミン／カルボニル対、またはチオール／ α 、 β －不飽和カルボニル対など）、ジエン／ジエノフィル対（例えば、とりわけ、アジド／アルキン対、またはジエン／ α 、 β －不飽和カルボニル対）などが挙げられる。化学部分 Z を形成するための反応性置換基間のカップリング反応には、特に限定されないが、チオールアルキル化、ヒドロキシアルキル化、アミンアルキル化、アミンまたはヒドロキシアミンの縮合、ヒドラジン形成、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、付加環化（例えば、とりわけ、 $[4+2]$ ディールス－アルダー付加環化、 $[3+2]$ ヒュスゲン付加環化）、求核芳香族置換、求電子芳香族置換、および当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載の他の反応様式が含まれる。好ましくは、リンカーは、抗体またはその抗原結合フラグメント上の求核官能基との反応のための求電子官能基を含む。

【0246】

本明細書に開示される、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基には、限定されないが、(i) N 末端アミン基、(i i) 側鎖アミン基（例えば、リジン）、(i i i) 側鎖チオール基（例えば、システイン）、および (i v) 抗体がグリコシル化されている場合の糖のヒドロキシ基またはアミノ基などの求核基が含まれる。本明細書に開示される、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基には、限定されないが、セリン、スレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシ部分；リジン残基のアミノ部分；アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分；およびシステイン残基のチオール部分、ならびに非天然アミノ酸のプロパルギル、アジド、ハロアリール（例えば、フルオロアリール）、ハロヘテロアリール（例えば、フルオロヘテロアリール）、ハロアルキル、およびハロヘテロアルキル部分が含まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基は、アミンまたはチオール部分である。特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、即ち、システインブリッジを有する。抗体は、D T T（ジチオスレイトール）などの還元剤で処理することにより、リンカー試薬とのコンジュゲーションに対して反応性にすることができる。したがって、各システインブリッジは、理論的には 2 つの反応性チオール求核剤を形成する。リジンと 2－イミノチオラン（トラウト試薬）との反応により、追加の求核基を抗体に導入することができ、アミンのチオールへの変換がもたらされる。反応性チオール基は、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、またはそれ以上のシステイン残基を導入することで（例えば、1 つ以上の非天然システインアミノ酸残基を含む変異抗体を調製することで）、抗体（またはそのフラグメント）に導入され得る。米国特許第 7, 521, 541 号は、反応性システインアミノ酸の導入による抗体の操作を教示している。

【0247】

いくつかの実施形態では、リンカーに結合した反応性部分 Z は、抗体上に存在する求電子基と反応する求核基である。抗体上の有用な求電子基には、アルデヒドおよびケトンカルボニル基が含まれるが、これらに限定されない。求核基のヘテロ原子は、抗体上の求電子基と反応し、抗体への共有結合を形成することができる。有用な求核基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、カルボン酸ヒドラジン、およびアリールヒドラジドが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、Z は、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在するアミンおよびチオール部分などの反応性求核置換基と、反応性求電子置換基 Z との間の反応の生成物である。例えば、Z は、とりわけ、マイケル受容体（例えば、マレイミド）、活性化エステル、電子不足カルボニル化合物、またはアルデヒドであり得る。

【0248】

いくつかの実施形態では、ADCは、本明細書に開示される式I、IA、IB、II、IIaまたはIIBのいずれかのアマトキシシンにリンカーおよび化学部分Zを介してコンジュゲートされた抗CD252抗体を含み、ここでリンカーはヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

10

【0249】

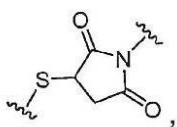
いくつかの実施形態では、リンカーは $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは2~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ であり、ここでnは6である。

【0250】

20

いくつかの実施形態では、化学部分Zは表1から選択される。いくつかの実施形態では、化学部分Zは、

【化52】



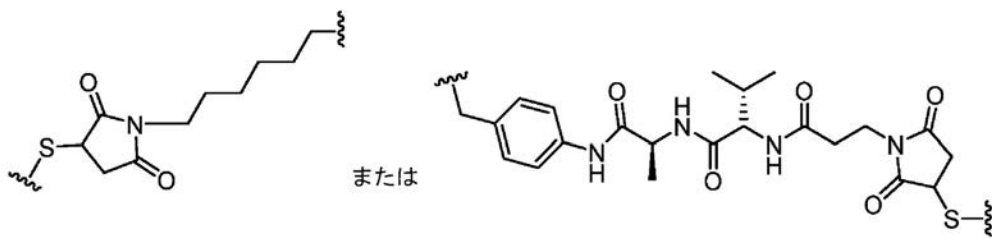
であり、上記式において、Sは、CD252に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す（例えば、システイン残基の-SH基由来の）硫黄原子である。

30

【0251】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、L-Zとしてまとめて、

【化53】



40

である。

【0252】

当業者は、抗体またはその抗原結合フラグメントとのコンジュゲーションの前のリンカー反応性置換基の構造が、Z基としてマレイミドを含むことを認識するであろう。とりわけ本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカー部分およびアマトキシシン-リンカーコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第2015/021822

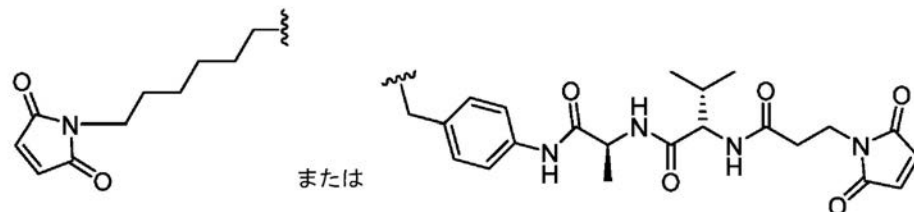
50

0号および国際公開第2017/149077号に記載されており、これらの各々の開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0253】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントとのコンジュゲーション前のリンカー反応性置換基の構造は、以下の通りである：

【化54】



10

【0254】

<抗体-薬物コンジュゲートの調製>

本明細書に開示される式I、式IA、式IB、式II、式IIAおよび式IIBのADCにおいて、抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示されるリンカーLおよび化学部分Zを介して、1つ以上の細胞毒性薬物部分(D)（例えば、抗体あたり約1～約20の薬物部分）にコンジュゲートされる。本開示のADCは、以下を含む、当業者

に公知の有機化学反応、条件、および試薬を使用して、いくつかの経路によって調製され得る：(1) 抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性置換基と二価リンカー試薬との反応により、上述したAb-Z-Lを形成してから、薬物部分Dと反応させる；または(2) 薬物部分の反応性置換基と二価リンカー試薬との反応によりD-L-Zを形成してから、上述した抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性置換基との反応により、Am-Z-L-Abなどの式D-L-Z-AbのADCを形成する。ADCを調製するためのさらなる方法は、本明細書に記載されている。

20

【0255】

別の態様では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフヒドリル基を導入するように化学的に修飾され得る1つ以上のリジン残基を有する。次に、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介したコンジュゲーションによってADCが形成される。リジンの修飾に使用され得る試薬には、N-スクシンイミジルS-アセチルチオアセテート(SATA)と2-イミノチオラン塩酸塩(トラウト試薬)が含まれるが、これらに限定されない。

30

【0256】

別の態様では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフヒドリル基を有するように化学的に修飾され得る1つ以上の炭水化物基を有することができる。次に、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介したコンジュゲーションによってADCが形成される。

【0257】

さらに別の態様では、抗体は、酸化されてアルデヒド(-CHO)基を提供し得る1つ以上の炭水化物基を有することができる(例えば、Laguzza, et al., J. Med. Chem. 1989年、32(3), 548-55頁を参照)。次に、本明細書で上述したように、対応するアルデヒドを介したコンジュゲーションによってADCが形成される。細胞毒素の結合または会合のためのタンパク質の修飾の他のプロトコルは、参照により本明細書に援用されるColigan et al., Current Protocols in Protein Science, 第2巻、John Wiley & Sons(2002年)に記載されている。

40

【0258】

リンカー薬物部分を、抗体、免疫グロブリン、またはそれらのフラグメントなどの細胞

50

標的タンパク質に結合させる方法は、例えば、米国特許第5,208,020号、米国特許第6,441,163号、WO2005037992、WO2005081711、およびWO2006/034488に見出され、これらのすべては、参照によりその全体が本明細書に明示的に援用される。

【0259】

あるいは、抗体および細胞毒性剤を含む融合タンパク質は、例えば、組換え技術またはペプチド合成によって作製され得る。DNAの長さは、コンジュゲートの2つの部分をコードするそれぞれの領域を含み得、当該2つの部分は互いに隣接しているか、またはコンジュゲートの所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離されている。

10

【0260】

(処置法)

本明細書に記載の組成物および方法を使用して、移植寛容を達成するために、移植片不全に関連する抗原提示細胞を枯渇させることができる。本明細書に記載の組成物および方法は、GVHDの予防および処置に特に有用である。本明細書に開示される方法および組成物はまた、同種移植を受けているヒト患者における移植失敗のリスクを低減するのにも有用である。好ましい対象はヒトである。投与される抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはADCの量は、GVHDを促進する細胞、例えば抗原提示細胞を枯渇させるのに十分であるべきである。治療上有効な用量の決定は、当技術分野の医師の能力の範囲内であるが、一例として、GVHDの処置のために抗体の全身投与を利用する本明細書に記載された方法の実施形態では、有効なヒト用量は0.1~150mg/kg（例えば、約5mg/kg、約10mg/kg、約25mg/kg、約50mg/kg、約75mg/kg、約100mg/kg、約150mg/kgなど）の範囲であろう。投与経路が推奨用量に影響を与える可能性がある。繰り返される全身投与が、採用される投与方法に応じて、有効レベルを維持するため、例えば、GVHDを減弱または阻害するために企図される。

20

【0261】

抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはADCは、細胞または固形臓器の患者への移植の前に、それと同時に、またはその後、必要とするヒト患者に投与され得る。一実施形態では、抗CD252ADCは、細胞または固形臓器の移植前（例えば、約5日前、約1日前、約3日前、約2日前、約1日前、約12時間前）に、それを必要とするヒト患者に投与される。一実施形態では、抗CD252ADCは、細胞または固形臓器の移植後（例えば、約1日後、約2日後、約3日後、約4日後、約5日後、約6日後、約7日後、約8日後、約9日後、または約10日後）に、それを必要とするヒト患者に投与される。抗CD252ADCの単回用量は、細胞または臓器の移植の前に、それと同時に、またはその後ヒト患者に投与され得、そのような単回用量は、GVHDまたは移植片不全を処置または予防するのに十分である。

30

【0262】

抗CD252ADCは、同種移植を含む移植の受け入れを促進するために使用される従来の薬剤（例えば、化学療法および/または放射線）の代替として使用され得る。従来の薬剤は一般に、移植された細胞または臓器の生着および受容を促進するために、患者の免疫応答を低下させる。本明細書に記載の方法および組成物は、CD252発現活性化T細胞を標的とし、枯渇させながら、患者の免疫系のほとんどをそのままにできる、より選択的な治療を提供する。したがって、細胞または固形臓器の移植を成功させるために、特にアロ活性化免疫細胞を標的とし、枯渇させることができることを考えると、本明細書に開示される抗CD252ADCが抗原提示細胞を選択的に枯渇させる能力は、移植の文脈において従来の療法よりも有利な療法を提供する。

40

【0263】

本明細書に開示される方法および組成物は、移植片不全を予防または処置するために使用され得る。同種造血幹細胞移植後の不全を含む、移植片不全または移植片拒絶は、一般的にドナー細胞の初期生着の欠如、または初期生着後のドナー細胞の喪失として現れる（

50

総説については、Mattsson et al. (2008年) Biol Blood Marrow Transplant. 14 (Suppl 1): 165-170 頁を参照)。本明細書に開示される組成物および方法は、移植片不全が懸念される移植片または移植シナリオにおいて、例えばヒト患者が固形臓器または細胞の移植後に移植片不全を発症するリスクがある場合、特に移植された細胞または臓器が同種である場合に、CD252発現抗原提示細胞を枯渇させるために使用され得る。

【0264】

一実施形態では、抗CD252抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはADCは、細胞、移植片または臓器をヒト患者に移植する前に、細胞、移植片または固形臓器を抗CD252抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはADCと接触させることによって、CD252発現ドナー細胞を枯渇させるために使用される。一実施形態では、細胞、移植片または臓器は同種である。

10

【0265】

GVHDのリスクは、現在の治療法による移植後も高いままである。本明細書に開示される方法および組成物は、ヒト患者における移植片対宿主病(GVHD)を阻害するために使用され得る。抗CD252抗体またはADCを使用して、幹細胞移植などの移植を受ける患者の抗原提示細胞(APC)を選択的に標的とすることができる。本明細書に記載の抗CD252抗体またはADCは、限定されないがHSC移植などの移植を受ける予定の、またはすでに移植を受けたヒト患者において、CD252+細胞を標的として枯渇させることによって、GVHDのリスクを軽減するためにも使用され得る。特定の実施形態において、本明細書に開示される組成物および方法は、移植療法、例えば、同種HSC後の患者においてGVHDの症状が現れる前にGvHDを処置するためのものである。

20

【0266】

本明細書に記載の方法はまた、宿主対移植片(HvG)反応を防止するためにも有用である。抗CD252抗体またはADCはまた、宿主対移植片(HvG)反応を防止するために免疫抑制剤として使用され得、それによって同種移植片不全のリスクを防止または軽減することもできる。HvG反応のリスクがある患者における抗CD252ADCの使用は、HLA不適合の度合いがより高いドナー細胞の生着を可能にする。追加の用途には、固形臓器移植における寛容誘導が含まれ、宿主対移植片反応がCD252-ADCによって防止または抑制される。これらには、臓器が非ヒト由来であり、かつ／または遺伝子改変されている異種移植を含む、造血幹細胞移植の有無にかかわらず行われる固形臓器移植が含まれる。

30

【0267】

一実施形態では、抗CD252抗体またはADCは、2人のドナーが使用される同種移植の状況で、移植片対移植片(GvG)を予防するために使用される。例としては、成人および小児患者における2人の臍帯血幹細胞ドナーの使用が含まれる。両方の幹細胞ソースが正常に生着するため、GvGの防止は、移植後のより迅速な造血(例えば、好中球および血小板)再構成を可能にする。

【0268】

いくつかの実施形態では、移植は同種移植である。いくつかの実施形態では、移植は自己移植である。

40

【0269】

いくつかの実施形態では、移植は、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植である。

【0270】

いくつかの実施形態では、移植片は造血細胞(例えば、造血幹細胞)を含む。

【0271】

本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、移植は、任意の固形臓器または皮膚移植であり得る。いくつかの実施形態では、移植は、腎臓移植、心臓移植、肝臓移植、脾臓移植、肺移植、腸移植および皮膚移植からなる群から選択される。

【0272】

50

抗CD252抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、粘度調整剤などの1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。水溶液は、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている技法を使用して滅菌することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲートは、造血幹細胞移植片を患者に投与する前に、例えば、 $0.001\text{ mg/kg} \sim 100\text{ mg/kg}$ の用量で患者に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間～約7日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日）以上前に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約3日前に投与することができる。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与と同時に患者に投与することができる。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間～約10日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）以上後に患者に投与することができる。例えば、一実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約1～約2日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約2～約3日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約3～約4日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約4～約5日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約5～約6日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約7～約8日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約8～約9日後に投与することができる。別の実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCを、移植の約9～約10日後に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCの量は、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCの濃度がいつ最大に達したかを決定するために、当技術分野で既知の方法により、患者の血漿中において定量化され得る。

【0273】

次に、患者は、外因性造血幹細胞の注入（例えば、静脈内注入）を、例えば、抗体またはその抗原結合フラグメントまたは薬物-抗体コンジュゲートを投与した同じ医師から、またはそれと異なる医師から受けてよい。医師は、自己、同系、または同種造血幹細胞の注入を、例えば、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^9$ CD34+細胞/kgの用量で患者に投与することができる。医師は、例えば、患者から血液サンプルを採取し、移植片の投与後の造血幹細胞または造血系列の細胞（巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T細胞、およびB細胞など）の濃度の増加を決定することによって、造血幹細胞移植片の生着をモニターすることができる。この分析は、造血幹細胞移植療法後に、例えば、1時間～6ヶ月以上（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、

約 19 時間、約 20 時間、約 21 時間、約 22 時間、約 23 時間、約 24 時間、約 2 日、約 3 日、約 4 日、約 5 日、約 6 日、約 7 日、約 2 週間、約 3 週間、約 4 週間、約 5 週間、約 6 週間、約 7 週間、約 8 週間、約 9 週間、約 10 週間、約 11 週間、約 12 週間、約 13 週間、約 14 週間、約 15 週間、約 16 週間、約 17 週間、約 18 週間、約 19 週間、約 20 週間、約 21 週間、約 22 週間、約 23 週間、約 24 週間、またはそれ以上)にわたって実施することができる。造血幹細胞または造血系列の細胞の濃度が、移植療法前の対応する細胞型の濃度と比較して、移植療法後に(例えば、約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 20%、約 30%、約 40%、約 50%、約 60%、約 70%、約 80%、約 90%、約 100%、約 200%、約 500%、またはそれ以上)増加したという所見は、抗 CD252 抗体、その抗原結合フラグメント、または ADC による処置が、移植された造血幹細胞移植片の生着を首尾よく促進したことを示す 1 つの指標を与える。

10

【0274】

本明細書に記載の方法は、自己免疫疾患の処置にも有用である。一実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、限定されないが、乾癬、炎症性腸疾患(クローン病、潰瘍性大腸炎)、乾癬性関節炎、多発性硬化症、関節リウマチ、または強直性脊椎炎などの自己免疫疾患を処置するために使用され得る。他の実施形態では、本明細書に開示される方法を使用して処置され得る自己免疫疾患には、例えば、強皮症、多発性硬化症(MS)、ヒト全身性エリテマトーデス(SLE)、関節リウマチ(RA)、炎症性腸疾患(IBD)、乾癬の処置、I 型真性糖尿病(I 型糖尿病)、急性散在性脳脊髄炎(AD E M)、アジソン病、汎発性脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群(APS)、再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性リンパ増殖症候群(ALPS)、自己免疫性卵巣炎、パロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、シャーガス病、慢性疲労免疫機能障害症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、クローン病、瘢痕性類天疱瘡、セリアックスブルー・疱疹状皮膚炎、寒冷凝集素症、クレスト症候群、デゴス病、円板状エリテマトーデス、自律神経失調症、子宮内膜症、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛症・線維筋炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギランバレー症候群(GBS)、橋本甲状腺炎、化膿性汗腺炎、特発性および/または急性型血小板減少性紫斑病、特発性肺線維症、IgA ニューロパチー、間質性膀胱炎、若年性関節炎、川崎病、扁平苔癬、ライム病、メニエール病、混合性結合組織病(MCTD)、重症筋無力症、神経性筋強直症、オブソクロノス・ミオクロノス運動失調(OMS)、視神経炎、オード甲状腺炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性軟骨炎、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発性動脈炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、原発性無ガンマグロブリン血症、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、全身硬直症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎(「巨細胞性動脈炎」としても知られている)、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛(「外陰部前庭炎」)、ならびにウェゲナー肉芽腫症がさらに含まれる。

20

30

【0275】

当業者の医師は、CD252 に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメントまたは ADC、例えば本明細書に記載の抗 CD252 抗体をヒト患者に投与した後、GVHD の臨床症状を評価することができる。

40

【0276】

(投与経路と投薬)

本明細書に記載の ADC、抗体またはその抗原結合フラグメントを、患者に様々な剤形で投与することができる。例えば、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントを、GVHD を処置(または阻害)するために患者に、1 つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含有する水溶液などの水溶液の形態で投与することができる。本明細書に記載の組成物および方法で使用するのに適した薬学的に許容される賦形剤としては、粘度調整剤が挙げられる。水溶液は、当該技術分野で知られている技術を用いて滅菌することができ

50

る。

【0277】

本明細書に記載の抗CD252ADCまたは抗体を含む医薬製剤は、そのようなADCまたは抗CD252抗体を凍結乾燥製剤または水溶液の形態で1つ以上の任意の薬学的に許容される担体（Remington's Pharmaceutical Sciences、第16版、Osol, A. Ed. (1980年)）と混合することによって調製される。薬学的に許容される担体は、一般に、使用される用量および濃度でレシピエントに対して無毒であり、以下が含まれるが、これらに限定されない：リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む単糖、二糖、および他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩を形成する対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；および／またはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤。

10

20

【0278】

本明細書に記載のADC、抗体、または抗原結合フラグメントは、経口的、経皮的、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内、眼内、または非経口的などの様々な経路で投与され得る。任意の所与の場合における投与に最も適した経路は、投与される特定の抗体または抗原結合フラグメント、患者、医薬製剤方法、投与方法（例えば、投与時間および投与経路）、患者の年齢、体重、性別、処置されている疾患の重症度、患者の食事、ならびに患者の排泄率に依存する。

【0279】

本明細書に記載のADC、抗体、またはその抗原結合フラグメントの有効量は、例えば、単回（例えば、ボラス）投与、複数回投与、または連続投与あたり、約0.001～約100mg/kg体重の範囲であり得るか、または、抗体、その抗原結合フラグメントの最適血清濃度（例えば、約0.0001～約5000μg/mLの血清濃度）を達成する範囲であり得る。用量は、癌、自己免疫疾患を患っているか、または造血幹細胞移植を受ける準備としてコンディショニング療法を受けている対象（例えば、ヒト）に、1日、1週、または1月あたり1回以上（例えば、約2～10回）投与され得る。造血幹細胞移植前のコンディショニング手順の場合、ADC、抗体、またはその抗原結合フラグメントは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与前の1時間～1週間（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日）、1時間～6時間、1時間～7時間、1時間～8時間、1時間～9時間、1時間～10時間、1時間～12時間、12時間～14時間、14時間～16時間、16時間～18時間、18時間～20時間、20時間～24時間、1週間～2週間、またはそれ以上前に患者に投与することができる。

30

40

【実施例】

【0280】

（実施例1：抗CD252抗体は活性化T細胞を阻害する）

抗CD252抗体は、以下の重鎖および軽鎖可変配列を有することが同定された。

VH:

50

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWRQAPGKGLEWVSTISGSGGATRYADSVKGRFTISRDNRSNTVY
LQMNSLRVEDTAVFYCTKDRILIMATVRGPYYYGMDVWGQGTITVTVSS (配列番号 1)

VL:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSETDFTLTISLQP
EDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIK (配列番号 2)

【0281】

この抗体は混合リンパ球反応アッセイで使用された。図 1 に示すように、上記配列を有する抗 CD 252 抗体は、活性化 T 細胞を阻害するのに有効であった。

【0282】

図 1 および 2 において与えられるデータは、混合リンパ球反応を用いて得られた。簡単に説明すると、CD 14+ 単球に由来する樹状細胞を、平底の 384 ウェルプレートにウェルあたり 5×10^3 で播種した。T 細胞を CFSE で染色し、樹状細胞の上にウェルあたり 5×10^4 細胞で播種した。抗体を細胞の上で滴定し ($1 \mu\text{M}$ から 0.01 nM まで)、播種時に添加した。4 日後にウェルを抗 CD 3 で染色し、フローサイトメーターにかけた。活性化 T 細胞の割合は、FSC および CFSE の明るさ (brightness) に基づいて 1 回以上の分裂を経た CD 3+ 細胞をゲーティングすることによって決定した。非活性化 T 細胞の数は、体積フローサイトメトリーを使用して CFSE ブライト (bright) 集団のイベント数によって決定した。コントロールには、培養中の T 細胞を死滅させることができる抗 CD 45-アamaniチンコンジュゲートと、関連のアイソタイプコントロールが含まれていた。

【0283】

図 1 は、上記抗 OX 40 L (CD 252) 抗体がアイソタイプコントロールと比較して T 細胞活性化を阻害したことを示す。

【0284】

図 2 A は、抗 CD 252 抗体の複数の異なるクローンが T 細胞活性化を阻害できることを示す。図 2 B は、これが活性化 T 細胞に特異的な阻害であることを示している (非活性化 T 細胞は、抗 CD 252 処理サンプルでは変化していないが、抗 CD 45-アamaniチンコンジュゲートはすべての T 細胞を殺傷するので抗 CD 45-アamaniチンサンプルでは枯渇している)。

【0285】

図 2 A および 2 B に示す抗体には、11C3.1 (Biolegend、カタログ番号 326302)、159403 (R&D Systems、カタログ番号 MAB10541)、159408 (R&D Systems、カタログ番号 MAB1054)、MM0505-8S23 (Novus、カタログ番号 NBP2-11969)、およびオキセルマブ (Novus、カタログ番号 NBP2-52687-0.1) が含まれる。

【0286】

10

20

30

【表 2 - 1】

表 2. 配列の概要

配列番号	名称	配列
配列番号 1	抗CD252 VH アミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SNYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGA TRYADSVKGRFTISRDNSTNTVYLQMNSL RVEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYYGMD VWGQGTTTVTVSS
配列番号 2	抗CD252 VL a アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSETDFTLTISLQPEDFATYYCQ QSHSVSFTFGPGTKVDIK
配列番号 3	抗CD252 CDR-H1 アミノ酸配列	GFTFSNYA
配列番号 4	抗CD252 CDR-H2 アミノ酸配列	ISGSGGAT
配列番号 5	抗CD252 CDR-H3 アミノ酸配列	TKDRLIMATVRGPYYYGMDV
配列番号 6	抗CD252 CDR-L1 アミノ酸配列	QSISSY
配列番号 7	抗CD252 CDR-L2 アミノ酸配列	AAS

10

20

30

【表 2 - 2】

配列番号 8	抗CD252 CDR-L3 アミノ酸配列	QQSHSVSFT
配列番号 9	オキセルマブ 重鎖 アミノ酸配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NSYAMSWVRQAPGKGLEWVSIISGSGGFT YYADSVKGRFTISRDNSTTLTLQMNSLRA EDTAVYYCAKDRLVAPGTFDYWGQALVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNV NPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
配列番号 10	オキセルマブ 軽鎖 アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKS FNRGEC

10

20

30

【表 2 - 3】

配列番号 1 1	オキセルマブ CDR-H1 アミノ酸配列	GFTFNSYA
配列番号 1 2	オキセルマブ CDR-H2 アミノ酸配列	ISGSGGFT
配列番号 1 3	オキセルマブ CDR-H3 アミノ酸配列	AKDRLVAPGTFDY
配列番号 1 4	オキセルマブ CDR-L1 アミノ酸配列	QGISSW
配列番号 1 5	オキセルマブ CDR-L2 アミノ酸配列	AAS
配列番号 1 6	オキセルマブ CDR-L3 アミノ酸配列	QQYNSYPYT
配列番号 1 7	オキセルマブ VH アミノ酸配列	<u>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF</u> <u>NSYAMSWVRQAPGKGLEWVSIISGSGGFT</u> <u>YYADSVKGRFTISRDNSTTLYLQMNSLRA</u> <u>EDTAVYYCAKDRLVAPGTFDYWGQGalVT</u> <u>VSS</u>
配列番号 1 8	オキセルマブ VL アミノ酸配列	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS</u> <u>SWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVP</u> <u>SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ</u> <u>QYNSYPYTFGQGTKLEIK</u>

10

20

30

【表 2 - 4】

配列番号 19	ヒト CD252 (即ち、OX40L) - アイソフォーム 1	MERVQPLEENVGNAARPRFRERNKLLLVAS VIQGLGLLLCFTYICLHFSALQVSHRYPRIQ SIKVQFTEYKKEKGFIILTSQKEDEIMKVQNN SVIINCDFYILISLKGYSQEVNISLHYQKD EEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLN VTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCV L
配列番号 20	ヒト CD252 (即ち、OX40L) - アイソフォーム 2	MVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFIILTSQK EDEIMKVQNNSVIINCDFYILISLKGYSQEV NISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVAS LTYKDKVYLNVTDDNTSLDDFHVNGGEL ILIHQNPGEFCVL

10

20

【0287】

(他の実施形態)

本明細書で言及される全ての刊行物、特許、および特許出願は、あたかもそれぞれの独立した刊行物または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み込まれることが示されるのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

30

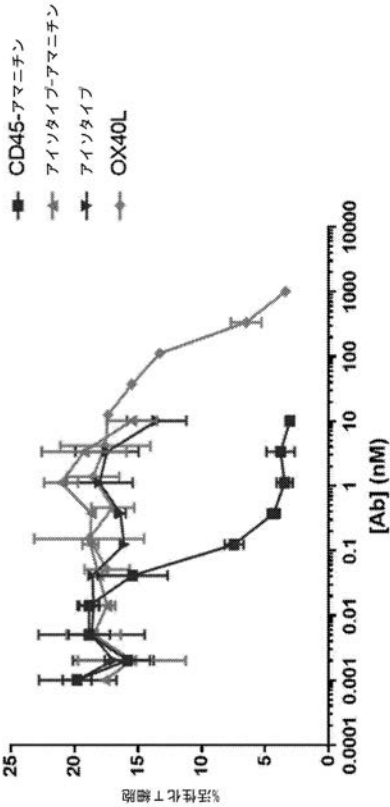
【0288】

本発明をその特定の実施形態に関連して説明してきたが、それはさらなる修正が可能であることが理解され、本出願は、概して本発明の原理に従い、当該技術分野における既知のまたは慣習的な慣行の範囲内にある本発明からのそのような逸脱を含む本発明のあらゆる変形、使用、または適合を、本発明が前述した本質的な特徴に関連してそれらに適用することができ、特許請求の範囲に従う程度に網羅することを意図している。

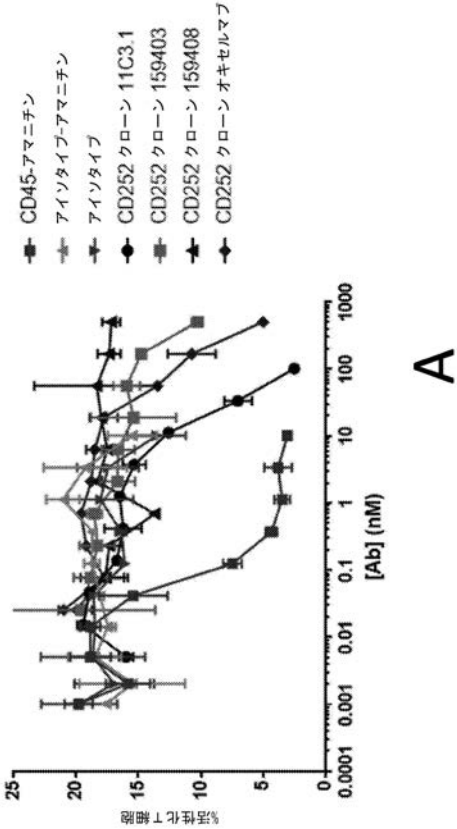
【0289】

他の実施形態は、特許請求の範囲内にある。

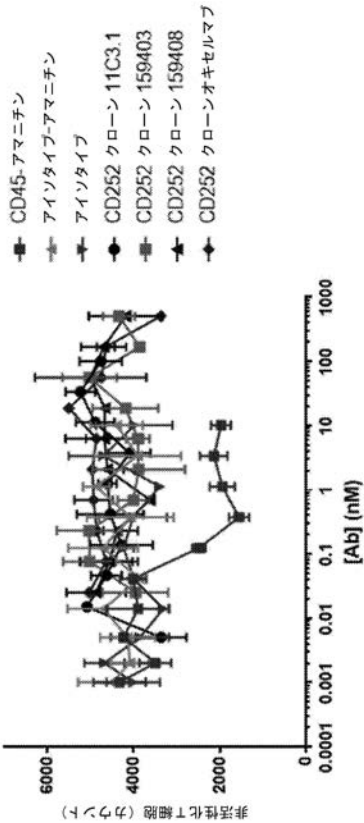
【図 1】



【図 2 A】



【図 2 B】



B

A

【配列表】

2021517133000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/21464

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C07K 7/64, C07K 16/28, A61K 39/395 (2019.01) CPC - C07K 7/64, C07K 16/32, C07K 16/2875, A61K 39/3955, A61K 2039/505		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ----- Y	US 2017/0327586 A1 (Kymab Limited) 16 November 2017 (16.11.2017) para [0048], [0049], [0421], [0463], [0469], [0541], [0543], [0680], [0808], [0904], [0908], [1017]	1-6, 26, 32-35, 75-78 25/(1-6), 30
Y	US 2016/0355598 A1 (UCB Pharma S.A.) 08 December 2016 (08.12.2016) para [0004]	25/(1-6)
Y	US 2012/0288512 A1 (Law et al.) 15 November 2012 (15.11.2012) Claim 1, Claim 9, Claim 20	30
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
05 August 2019		28 AUG 2019
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/21464

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 40, 62, 68-74, 79-80
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- see extra sheet for Box No. III Observations where unity of invention is lacking -

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-8, 25/(1-8), 26, 30, 32-35, 75-78 limited to auristatin

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/21464

Continuation of:

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

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

Groups I+: Claims 1-35, 75-78, drawn to a method of treating a human patient suffering from or at risk for graft-versus-host disease, comprising administering to the patient an anti-CD252 antibody drug conjugate (ADC). The ADC will be searched to the extent that the cytotoxin encompasses a microtubule-binding agent, auristatin (see claims 6, 26). It is believed that claims 1-6, 25(in part), 26, 30, 32-35, 75-78 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass auristatin. Additional cytotoxin(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected cytotoxin(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a cytotoxin comprising amatoxin having the formula illustrated in claim 12 (Claims 1-16, 20-24, 25(in part), 32-35, 75-78).

Groups II+: Claims 36-39, 41-61, 63-66, drawn to a composition comprising an anti-CD252 ADC. Group II+ will be searched upon payment of additional fees. The ADC may be searched, for example, to the extent that the cytotoxin encompasses a microtubule-binding agent, for an additional fee and election as such. It is believed that claims 36-39, 41-43, 63, 67 read on this exemplary invention. Additional cytotoxin(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected cytotoxin(s). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Another exemplary election would be a cytotoxin comprising amatoxin having the formula illustrated in claim 49 (Claims 36-39, 41-53, 57-61).

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

Special Technical Features

Groups I+ include the special technical feature of a method of treating a graft-versus-host disease in a human subject, not required by Groups II+.

Groups II+ includes the special technical feature of a composition comprising an anti-CD252 ADC, not required by Groups I+.

The inventions of Groups I+ and II+ each include the special technical feature of a specific cytotoxin, recited therein, not required by any of the other inventions of Groups I+ and II+.

Common Technical Features

The inventions of Groups I+ and II+ share the technical feature of an anti-CD252 ADC having the formula of Ab-Z-L-Cy. However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of US 2017/0327586 A1 to Kymab Limited (hereinafter 'Kymab').

Kymab teaches (instant claim 1) a method of depleting a population of CD252 positive cells in a human patient suffering from or at risk for graft-versus-host disease (para [0048]). The invention is useful, for example, for treating or preventing transplant rejection, e.g., graft versus host disease (GvHD) or allogeneic transplant rejection.; [0049]. An antibody or a fragment thereof that specifically binds to hOX40L for treating or preventing a hOX40L-mediated disease or condition in a human.; [0463]. A method of reducing the proportion of (e.g. of depleting or decreasing the level of) CD45RA+CCR7+CD95+OX40+ memory stem T-cells (Tscm) comprising combining said cells with an agent (such as an anti-OX40 or an anti-OX40L antibody or fragment thereof).; the method comprising administering to the patient an effective amount of an anti-CD252 antibody drug conjugate (ADC), wherein the anti-CD252 ADC represented by the formula Ab-Z-L-Cy, wherein Ab is an antibody binds to human CD252, L is a linker, Z is a chemical moiety, and Cy is a cytotoxin (para [0808]). The invention encompasses the antibody or fragment conjugated to a therapeutic moiety ("immunoconjugate"), such as a cytotoxin.; [0904], auristatin.; [0908]. In addition, an antibody of the invention can be conjugated to therapeutic moieties such as a radioactive metal ion....In certain embodiments, the macrocyclic chelator....(DOTA) which can be attached to the antibody via a linker molecule.).

Kymab teaches (instant claim 36) an anti-CD252 antibody drug conjugate (ADC) comprising an anti-CD252 antibody, or an antigen binding portion thereof, conjugated to a cytotoxin via a linker (para [0808]). The invention encompasses the antibody or fragment conjugated to a therapeutic moiety ("immunoconjugate"), such as a cytotoxin.; [0904], auristatin.; [0908]. In addition, an antibody of the invention can be conjugated to therapeutic moieties such as a radioactive metal ion....In certain embodiments, the macrocyclic chelator....(DOTA) which can be attached to the antibody via a linker molecule.).

The inventions of Groups I+ and II+ further share the technical feature of an Ab-Z-L-amatoxin conjugate, wherein the linker is attached to either R8 of formula (IA) (see claims 10, 47) or R1 of formula (II) (see claim 17, 54). However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of US 2012/0100161 A1 to Faulstich et al. (hereinafter 'Faulstich'). Faulstich teaches an Ab-Z-L-amatoxin conjugate (the present invention relates to conjugates of a toxin and a target-binding moiety, e.g. an antibody, which are useful in the treatment of cancer), wherein the linker is attached to R8 of amatoxin of formula (IA) (para [0014]), a target-binding moiety toxin conjugate comprising: (i) a target-binding moiety; (ii) at least one amatoxin; and (iii) optionally a linker L 1; wherein the at least one amatoxin is connected to the target-binding moiety or, if present, to the linker L1 via the ? C-atom of amatoxin amino acid 1 (see Figure 1 for amatoxin structure); [0016], 1.4.4 Synthesis of beta-Amanitin- hexamethylenediamide (II).; [0119], 1.4.5 Synthesis of beta-Amanitin-hexamethylenediamido-suberoyl-HERCEPTIN and beta-Amanitin-hexamethylenediamido-dithio[bis-propionate]-HERCEPTIN.).

---continued on next sheet---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/21464

Continuation of:

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

Faulstich teaches an Ab-Z-L-amatoxin conjugate, wherein the linker is attached to R1 of formula (II) (para [0012], invention relates to a target-binding moiety toxin conjugate comprising: (i) a target-binding moiety; (ii) at least one amatoxin; and (iii) optionally a linker L2; wherein the at least one amatoxin is connected to the target-binding moiety or, if present, to the linker L2 via the 6' C-atom of amatoxin amino acid 4. (see Fig. 1 for amatoxin structure).; [0132], antibody-conjugate (3)).

The inventions of Groups I+ and II+ further share the technical feature of a linker L-Z as illustrated (see claims 11, 52), which is disclosed by US 2015/0273078 A1 to ADC Therapeutics SARL (hereinafter 'ADC') (para [0019], ConjB.; [0301]-[0302], n is 0 to 6.).

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

Groups I+ and II+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Claims 40, 62, 69-74, 79-80 are improper multiple dependent claims because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Note, Claim 73 which depends from claim 77, is objected to. Claim 73 is reconstrued to depend from claim 70.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K	47/65	(2017.01)	A 6 1 K 38/08
A 6 1 K	47/55	(2017.01)	A 6 1 K 47/65
A 6 1 K	38/07	(2006.01)	A 6 1 K 47/55
A 6 1 K	31/5365	(2006.01)	A 6 1 K 38/07
A 6 1 K	31/704	(2006.01)	A 6 1 K 31/5365
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	A 6 1 K 31/704
			C 0 7 K 16/28 Z N A

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

(72)発明者 アンソニー ボイタノ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 6 8 ニュートン イブリン ロード 2 7

(72)発明者 マイケル クック
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 4 5 ブルックライン ユニバーシティ ロード
1 3 5 ナンバー 1

F ターム (参考) 4C076 CC07 EE41 FF34
4C084 AA02 AA17 BA01 BA08 BA16 BA17 BA23 BA25 BA42 CA05
CA59 DA32 DA34 NA10 NA14 ZB081 ZC201 ZC411
4C085 AA13 AA21 AA25 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB43
BB44 EE01
4C086 AA01 AA02 CB22 EA10 MA01 MA04 NA14 ZB08 ZB21 ZC41
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20