

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年3月26日(26.03.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/059772 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 11/00* (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) *A61P 15/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61K 47/65 (2017.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/036668
- (22) 国際出願日: 2019年9月19日(19.09.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
 特願 2018-175510 2018年9月20日(20.09.2018) JP
- (71) 出願人: 第一三共株式会社(DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒1038426 東

京 都 中 央 区 日 本 橋 本 町 三 丁 目 5 番
1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 小山 久美子 (KOYAMA Kumiko);
〒1038426 東京都中央区日本橋本町三丁目5
番1号 第一三共株式会社内 Tokyo (JP). 塩瀬
能伸(SHIOSE Yoshinobu); 〒1038426 東京都中
央区日本橋本町三丁目5番1号 第一三共株
式会社内 Tokyo (JP). 上野 傑(UENO Suguru);
〒1038426 東京都中央区日本橋本町三丁目5番
1号 第一三共株式会社内 Tokyo (JP).

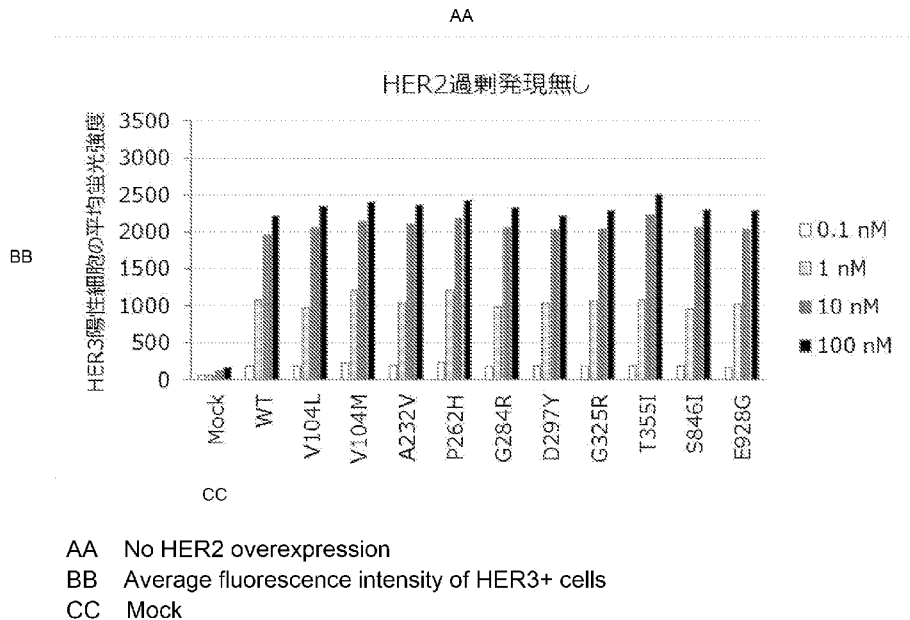
(74) 代理人: 石橋 公樹, 外 (ISHIBASHI Koki et al.);
〒1400005 東京都品川区広町一丁目2番58
号 第一三共株式会社内 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,

(54) Title: TREATMENT OF HER3 MUTANT CANCER BY ADMINISTRATION OF ANTI-HER3 ANTI-BODY-DRUG CONJUGATE

(54) 発明の名称: 抗HER3抗体-薬物コンジュゲート投与によるHER3変異がんの治療

[図6]



(57) Abstract: Provided are: a therapeutic agent for HER3 mutant cancer, the therapeutic agent containing an anti-HER3 antibody-drug conjugate as an active ingredient; and/or a cancer treatment method characterized in that said anti-HER3 antibody-drug conjugate is administered to a patient confirmed to have HER3 mutant cancer.

(57) 要約: 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを有効成分として含有する、HER3変異がんの治療剤、及び/又は、該抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、HER3変異がんを有することが確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法。



WO 2020/059772 A1

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, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

明 細 書

発明の名称：

抗HER3抗体－薬物コンジュゲート投与によるHER3変異がんの治療 技術分野

[0001] 本発明は、抗HER3抗体－薬物コンジュゲートを含有する、HER3変異がんの治療剤、及び／又は、抗HER3抗体－薬物コンジュゲートを、HER3変異がんを有することが確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法に関する。

背景技術

[0002] ヒト上皮増殖因子受容体3（HER3；ErbB3としても知られる）は、受容体蛋白質チロシンキナーゼの上皮増殖因子受容体サブファミリーに属する膜貫通受容体である。HER3は、乳がん、肺がん、大腸がん等、様々な種類の癌において発現しており、HER2やEGFR等のチロシンキナーゼ受容体等とヘテロ二量体を形成することによって、リン酸化を受け、がん細胞の増殖やアポトーシス抑制シグナルを誘導することが知られている（非特許文献1～3）。

[0003] HER3には変異体が存在し、がんのドライバー変異の一つであることが知られている（非特許文献4～6）。このようなHER3変異がんは、例えば、乳がんの4%（非特許文献7）、胃がんの10%（非特許文献8）、卵巣がんの1%（非特許文献9）、大腸がんの1%（非特許文献5）、及び頭頸部がんの1%（非特許文献10）に存在することが報告されている。

[0004] HER2が過剰発現している状況下において、トラスツズマブ（Trastuzumab）、ペルツズマブ（Pertuzumab）、及びラパチニブ（Lapatinib）等の抗HER2薬が、HER3変異がんに対し、*in vitro*及び*in vivo*で有効性を示したことが報告されている（非特許文献11）。

[0005] 一方で、抗HER2薬であるネラチニブ（Neratinib）を用いた

臨床試験では、HER3変異がんに対する有効性が認められなかったことも報告されている（非特許文献12）。

[0006] 抗HER2薬がHER3変異がんに対し有効性を示さないケースが存在する理由の一つとして、HER3変異がんがHER2の過剰発現とは独立して機能する状況が示唆されている。すなわち、HER3変異がんはHER2が過剰発現していない状況下においてもがん細胞の増殖を誘導し得ることが報告されており（非特許文献13、14）、HER2が過剰発現していない状況下においては、抗HER2薬は、HER3変異がんに対し抗腫瘍効果を及ぼすことができないと考えられている。

[0007] また、抗HER3抗体のHER3変異がんに対する有効性を検証した研究も知られている（非特許文献11）。しかし、HER2の過剰発現の有無にかかわらず抗HER3抗体がHER3変異がんに対し明確な有効性を示した旨の報告は知られていない。また、通常、HER3の変異に伴い抗HER3抗体のHER3への結合性が低下することが想定され、各種のHER3変異に対して恒常的に優れた抗腫瘍活性を示す抗HER3抗体を取得することは困難と考えられる。従って、HER3変異がんの有効な治療法は未だに確立されていない。

[0008] がん細胞表面に発現する抗原に結合し、かつ細胞に内在化できる抗体に、細胞毒性を有する薬物を結合させた抗体-薬物コンジュゲート（Antibody-Drug Conjugate；ADC）は、がん細胞に選択的に薬物を送達できることによって、がん細胞内に薬物を蓄積させ、がん細胞を死滅させることが期待できる（非特許文献15～19）。

[0009] 抗体-薬物コンジュゲートの一つとして、抗HER3抗体とトポイソメラーゼⅠ阻害剤であるエキサテカンの誘導体を構成要素とする抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが知られている（特許文献1）。抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのHER3変異がんに対する有効性に関する報告は知られていない。

先行技術文献

特許文献

[0010] 特許文献1：国際公開第2015/155998号

非特許文献

- [0011] 非特許文献1：Alimandi et al., *Oncogene* (1995) 10, 1813-1821.
非特許文献2：deFazio et al., *Int. J. Cancer* (2000) 87, 487-498.
非特許文献3：Naidu et al., *Br. J. Cancer* (1998) 78, 1385-1390.
非特許文献4：Sergina et al., *Nature* (2007) 445, 437-41.
非特許文献5：Jeong et al., *Int. J. Cancer* (2006) 119, 2986-7.
非特許文献6：Ding et al., *Nature* (2008) 455, 1069-75.
非特許文献7：Kan et al., *Nature* (2010) 466, 869-73.
非特許文献8：Wang et al., *Nat. Genet.* (2011) 43, 1219-23.
非特許文献9：Greenman et al., *Nature* (2007) 446, 153-8.
非特許文献10：Stransky et al., *Science* (2011) 333, 1157-60.
非特許文献11：Jaiswal et al., *Cancer cell* (2013) 23, 603-17.
非特許文献12：Hyman et al., *Cancer Res.* (2017) Abstract CT001.
非特許文献13：Mishra et al., *Oncotarget* (2017) 69, 114371-114392.
非特許文献14：Mishra et al., *Oncotarget* (2018) 45, 27773-27788.
非特許文献15：Ducry et al., *Bioconjugate Chem.* (2010) 21, 5-13.
非特許文献16：Alley et al., *Current Opinion in Chemical Biology* (2010) 14, 529-537.
非特許文献17：Damle, *Expert Opin. Biol. Ther.* (2004) 4, 1445-1452.
非特許文献18：Senter et al., *Nature Biotechnology* (2012) 30, 631-637.
非特許文献19：Howard et al., *J Clin Oncol* (2011) 29, 398-405.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0012] 本発明は、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを含有する、HER3変異がんの治療剤、及び／又は、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、H

HER3変異がんを有することが確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討したところ、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、HER3変異がんに対し、優れた抗腫瘍活性を示すことを見出し、本発明を完成した。

[0014] すなわち、本発明は、以下の[1]～[85]を提供する。

[1]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを有効成分として含有する、HER3変異がんの治療剤。

[2]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、[1]に記載の治療剤。

[3]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、[1]に記載の治療剤。

[4]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、[1]～[3]のいずれか1項に記載の治療剤。

[5]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、[1]～[3]のいずれか1項に記載の治療剤。

[6]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異なる、[1]～[5]のいずれか1項に記載の治療剤。

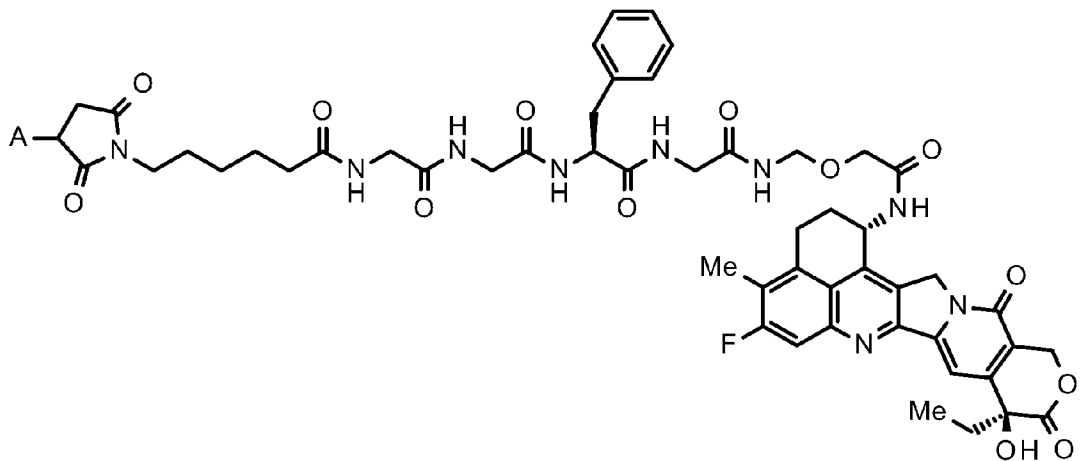
[7]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異なる、[1] ~ [6] のいずれか1項に記載の治療剤。

[8]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0015] [化1]



[0016] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

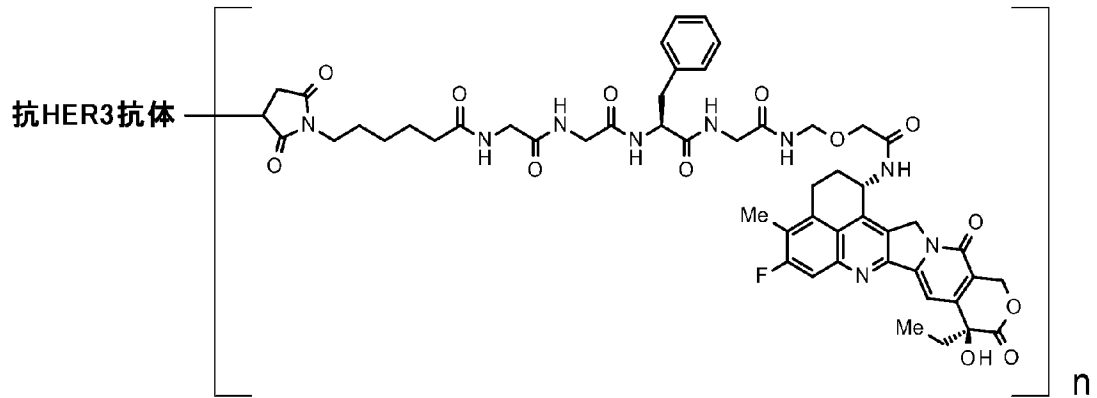
で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[1] ~ [7] のいずれか1項に記載の治療剤。

[9]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0017]

[化2]



[0018] (式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合しており、 n は1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[1]～[7]のいずれか1項に記載の治療剤。

[10]

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、[1]～[9]のいずれか1項に記載の治療剤。

[11]

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、[1]～[9]のいずれか1項に記載の治療剤。

[12]

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、

[1]～[9]のいずれか1項に記載の治療剤。

[13]

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、

[12]に記載の治療剤。

[14]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、[1]～[13]のいずれか1項に記載の治療剤。

[15]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、[1]～[13]のいずれか1項に記載の治療剤。

[16]

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、[1]～[15]のいずれか1項に記載の治療剤。

[17]

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、[1]～[15]のいずれか1項に記載の治療剤。

[18]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、HER3変異がんを有すること

が確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法。

[19]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、[18]に記載の治療方法。

[20]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、[18]に記載の治療方法。

[0019] [21]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、[18]～[20]のいずれか1項に記載の治療方法。

[22]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、[18]～[20]のいずれか1項に記載の治療方法。

[23]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異なる、[18]～[22]のいずれか1項に記載の治療方法。

[24]

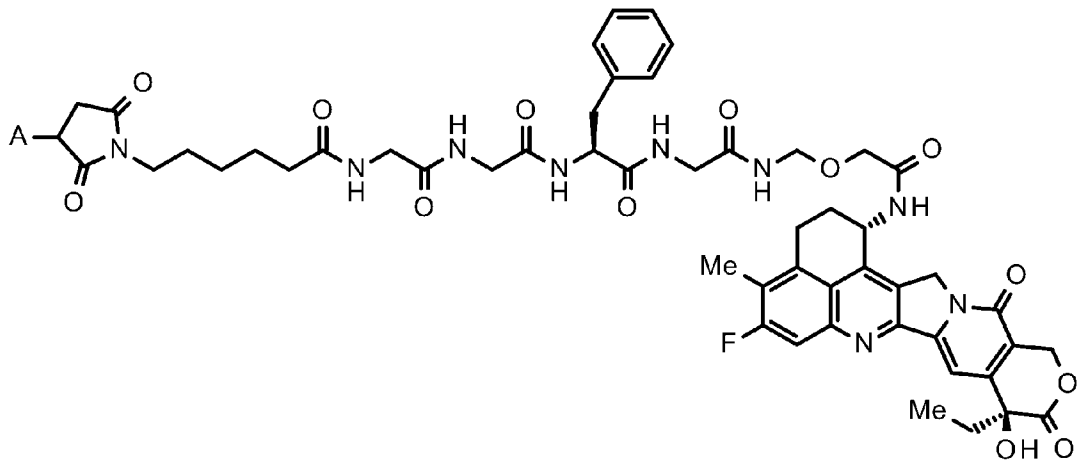
抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異なる、[18]～[23]のいずれか1項に記載の治療方法。

[25]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0020]

[化3]



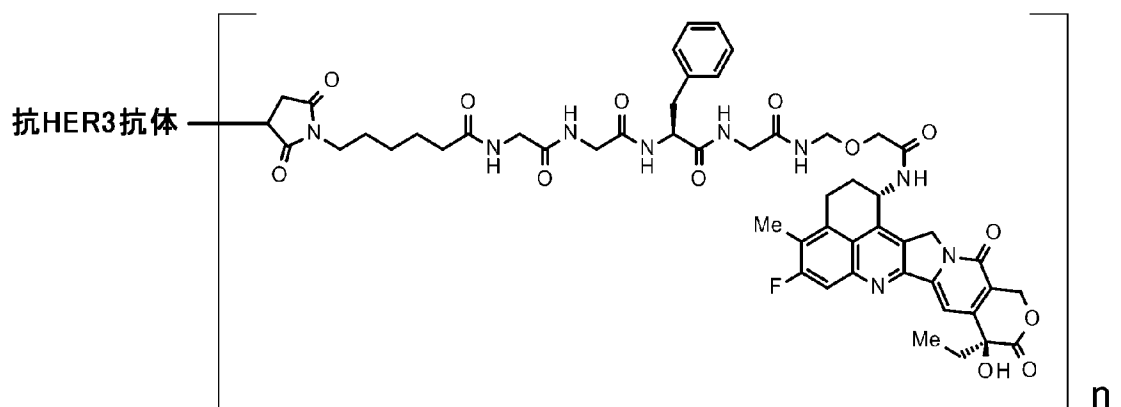
[0021] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[18]～[24]のいずれか1項に記載の治療方法。

[26]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0022] [化4]



[0023] (式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合し

ており、nは1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)

で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[18]～[24]のいずれか1項に記載の治療方法。

[27]

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、[18]～[26]のいずれか1項に記載の治療方法。

[28]

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、[18]～[26]のいずれか1項に記載の治療方法。

[29]

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、[18]～[26]のいずれか1項に記載の治療方法。

[30]

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、[29]に記載の治療方法。

[0024] [31]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、[18]～[30]のいずれか1項に記載の治療方法。

[32]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、[18]～[30]のいずれか1項に記載の治療方法。

[33]

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、[18]～[32]のいずれか1項に記載の治療方法。

[34]

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、[18]～[32]のいずれか1項に記載の治療方法。

[35]

HER3変異がんの治療のための、抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[36]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、[35]に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[37]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、[35]に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[38]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、[35]～[37]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[39]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、[35]～[37]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[40]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異なる、[35]～[39]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

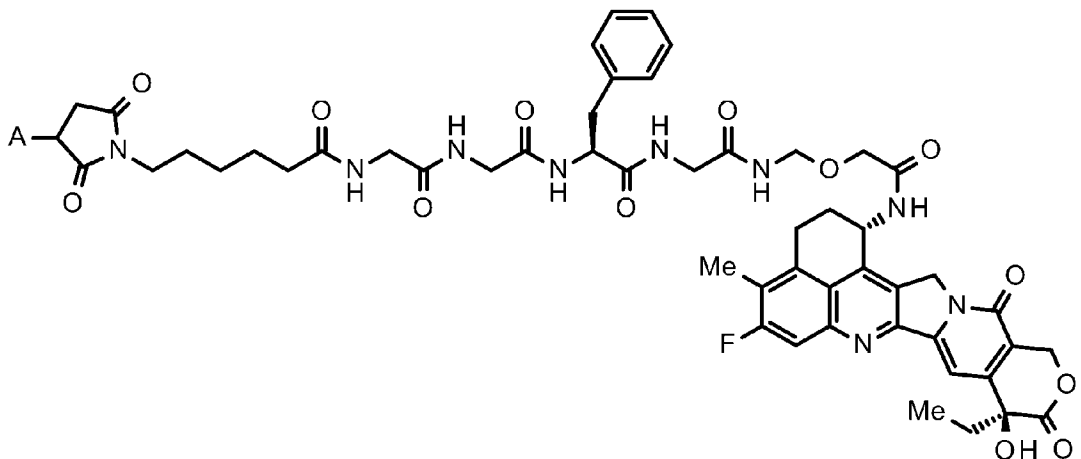
[41]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異なる、[35]～[40]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[42]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0025] [化5]



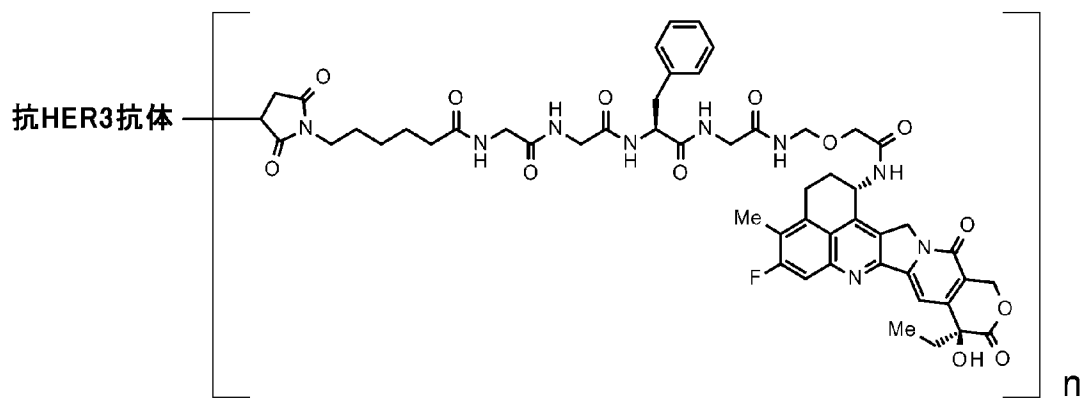
[0026] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[35]～[41]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[43]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0027] [化6]



[0028] (式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合しており、nは1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)

で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[35]～[41]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[44]

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、[35]～[43]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[4 5]

抗 H E R 3 抗体が、配列番号 7 で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号 8 で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、[3 5] ~ [4 3] のいずれか 1 項に記載の抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲート。

[4 6]

抗 H E R 3 抗体が、配列番号 9 で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 1 0 で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、[3 5] ~ [4 3] のいずれか 1 項に記載の抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲート。

[4 7]

抗 H E R 3 抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、[4 6] に記載の抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲート。

[4 8]

抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲートにおける 1 抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が 7 から 8 個の範囲である、[3 5] ~ [4 7] のいずれか 1 項に記載の抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲート。

[4 9]

抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲートにおける 1 抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が 7. 5 から 8 個の範囲である、[3 5] ~ [4 7] のいずれか 1 項に記載の抗 H E R 3 抗体-薬物コンジュゲート。

[5 0]

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、[3 5] ~ [4 9] のいずれ

れか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[0029] [51]

がんが、乳がん、非小細胞肺癌、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、[35]～[49]のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

[52]

HER3変異がんの治療用の医薬を製造するための、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの使用。

[53]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、[52]に記載の使用。

[54]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、[52]に記載の使用。

[55]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、[52]～[54]のいずれか1項に記載の使用。

[56]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、[52]～[54]のいずれか1項に記載の使用。

[57]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異なる、[52]～[56]のいずれか1項に記載の使用。

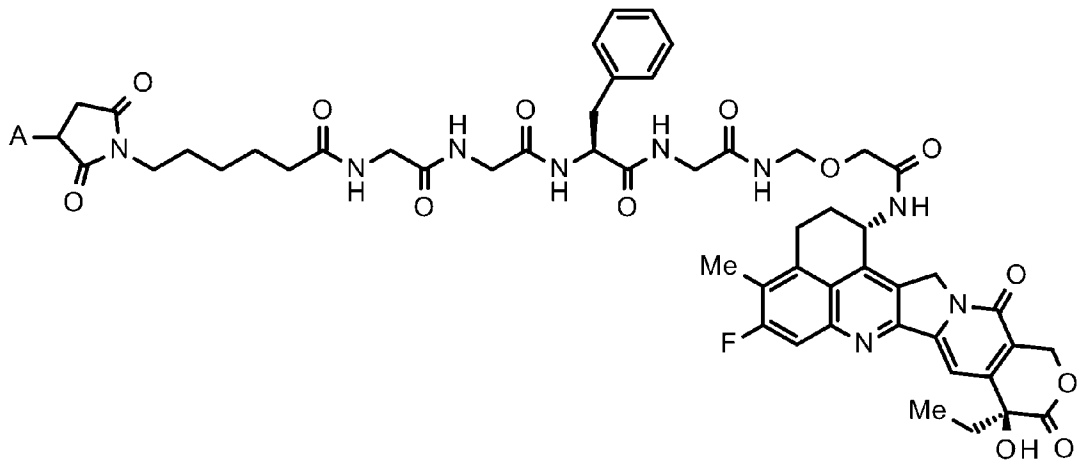
[58]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異なる、[52]～[57]のいずれか1項に記載の使用。

[59]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0030] [化7]



[0031] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

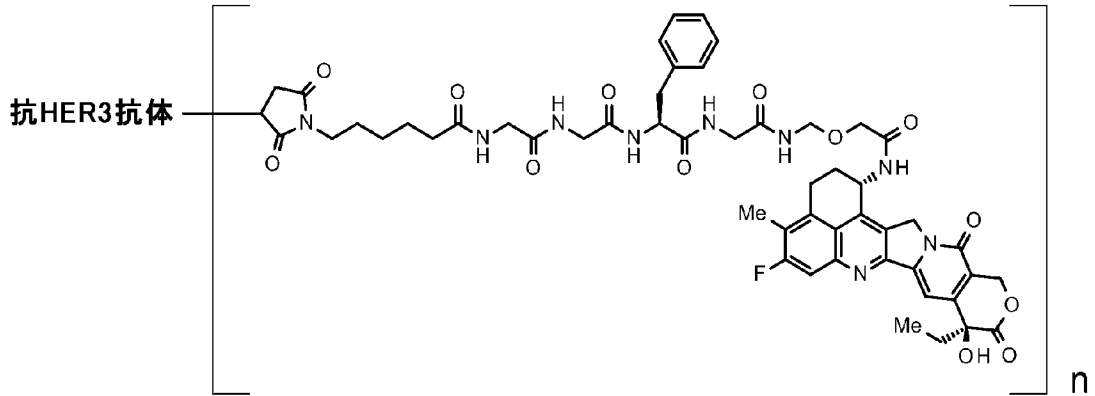
で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[52]～[58]のいずれか1項に記載の使用。

[60]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0032]

[化8]



[0033] (式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合しており、 n は1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[52]～[58]のいずれか1項に記載の使用。

[61]

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、[52]～[60]のいずれか1項に記載の使用。

[62]

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、[52]～[60]のいずれか1項に記載の使用。

[63]

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、

[52]～[60]のいずれか1項に記載の使用。

[64]

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、

[63]に記載の使用。

[65]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、[52]～[64]のいずれか1項に記載の使用。

[66]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、[52]～[64]のいずれか1項に記載の使用。

[67]

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、[52]～[66]のいずれか1項に記載の使用。

[68]

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、[52]～[66]のいずれか1項に記載の使用。

[69]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、HER3変異がんの治療を必要

とする患者に投与することを特徴とする、HER3変異がんの治療方法。

[70]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、[69]に記載の治療方法。

[0034] [71]

HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、[69]に記載の治療方法。

[72]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、[69]～[71]のいずれか1項に記載の治療方法。

[73]

HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、[69]～[71]のいずれか1項に記載の治療方法。

[74]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異なる、[69]～[73]のいずれか1項に記載の治療方法。

[75]

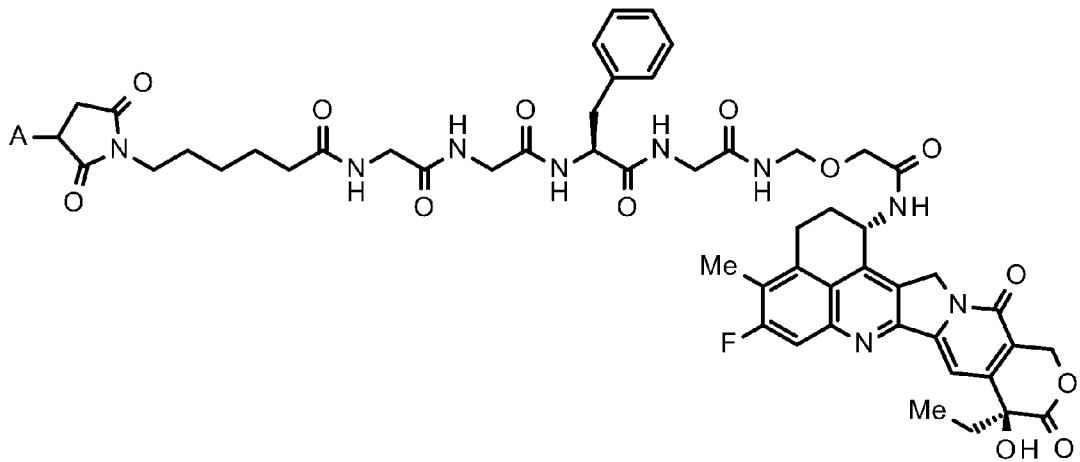
抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異なる、[69]～[74]のいずれか1項に記載の治療方法。

[76]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0035]

[化9]



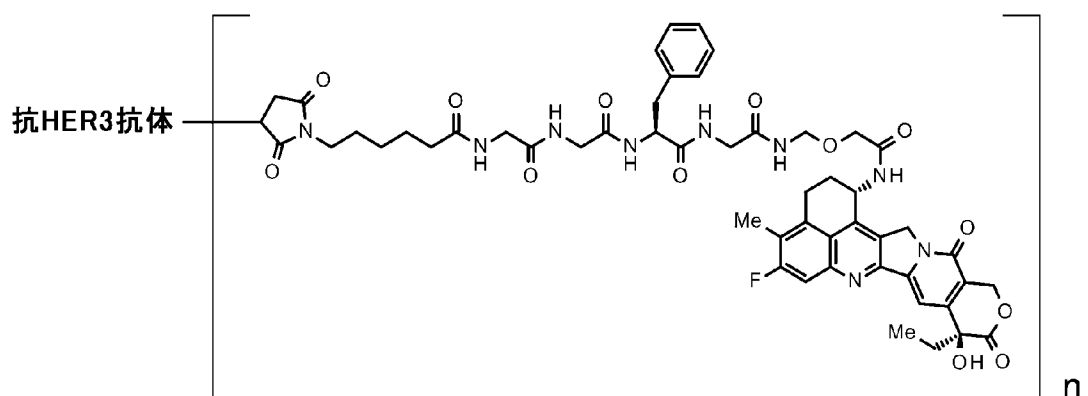
[0036] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[69]～[75]のいずれか1項に記載の治療方法。

[77]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0037] [化10]



[0038] (式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合し

ており、 n は1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)
で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、[69]～[75]
]のいずれか1項に記載の治療方法。

[78]

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、[69]～[77]のいずれか1項に記載の治療方法。

[79]

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、[69]～[77]のいずれか1項に記載の治療方法。

[80]

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、[69]～[77]のいずれか1項に記載の治療方法。

[81]

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、[80]に記載の治療方法。

[82]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、[69]～[81]のいずれか1項に記載の治療方法。

[83]

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、[69]～[81]のいずれか1項に記載の治療方法。

[84]

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、[69]～[83]のいずれか1項に記載の治療方法。

[85]

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、[69]～[83]のいずれか1項に記載の治療方法。

[0039] また、本発明は、以下の(1)～(48)の通り表すこともできる。

(1)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを有効成分として含有する、HER3遺伝子変異がんの治療剤。

(2)

HER3遺伝子変異がんが、HER2を過剰発現している、(1)に記載の治療剤。

(3)

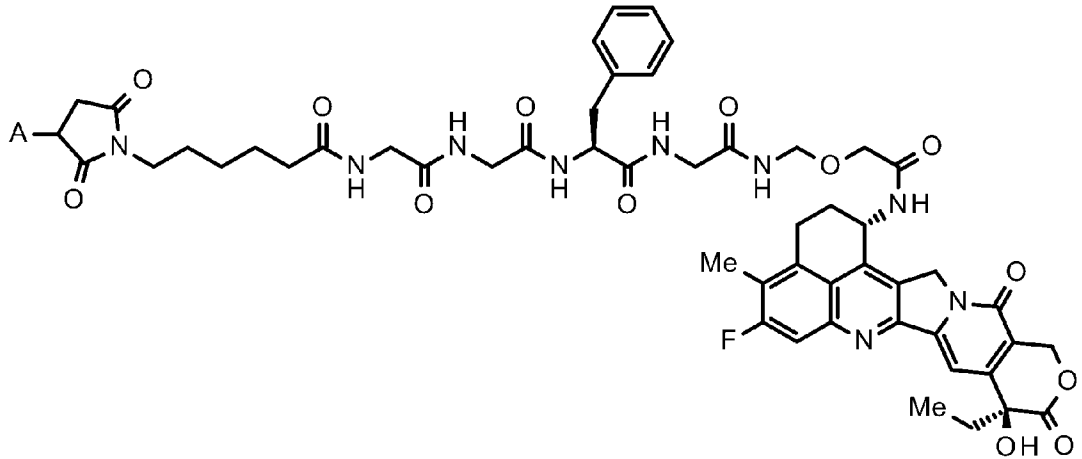
HER3遺伝子変異がんが、HER2を過剰発現していない、(1)に記載の治療剤。

(4)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0040]

[化11]



[0041] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、(1)~(3)のいずれか1項に記載の治療剤。

(5)

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、(1)~(4)のいずれか1項に記載の治療剤。

(6)

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、(1)~(5)のいずれか1項に記載の治療剤。

(7)

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、

(1)～(6)のいずれか1項に記載の治療剤。

(8)

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、

(7)に記載の治療剤。

(9)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、(1)～(8)のいずれか1項に記載の治療剤。

(10)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、(1)～(8)のいずれか1項に記載の治療剤。

(11)

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、(1)～(10)のいずれか1項に記載の治療剤。

(12)

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、(1)～(10)のいずれか1項に記載の治療剤。

(13)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、HER3遺伝子変異がんを有することが確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法。

(14)

HER3遺伝子変異がんが、HER2を過剰発現している、(13)に記載の治療方法。

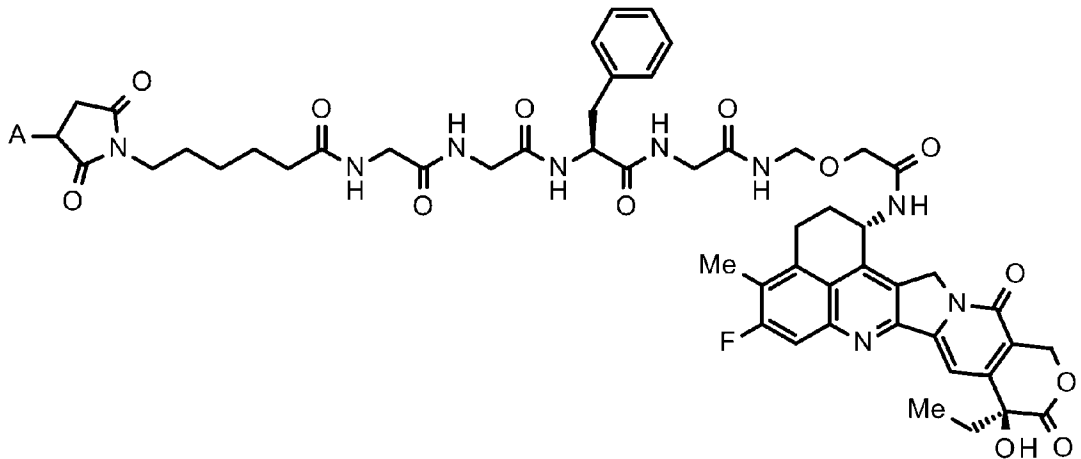
(15)

HER3遺伝子変異がんが、HER2を過剰発現していない、(13)に記載の治療方法。

(16)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0042] [化12]



[0043] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、(13)～(15)のいずれか1項に記載の治療方法。

(17)

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号

3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、(13)～(16)のいずれか1項に記載の治療方法。

(18)

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、(13)～(17)のいずれか1項に記載の治療方法。

(19)

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、(13)～(18)のいずれか1項に記載の治療方法。

(20)

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、(19)に記載の治療方法。

[0044] (21)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、(13)～(20)のいずれか1項に記載の治療方法。

(22)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、(13)～(20)のいずれか1項に記載の治療方法。

(23)

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、

膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、(13)～(22)のいずれか1項に記載の治療方法。

(24)

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、(13)～(22)のいずれか1項に記載の治療方法。

(25)

HER3遺伝子変異がんの治療のための、抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(26)

HER3遺伝子変異がんが、HER2を過剰発現している、(25)に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(27)

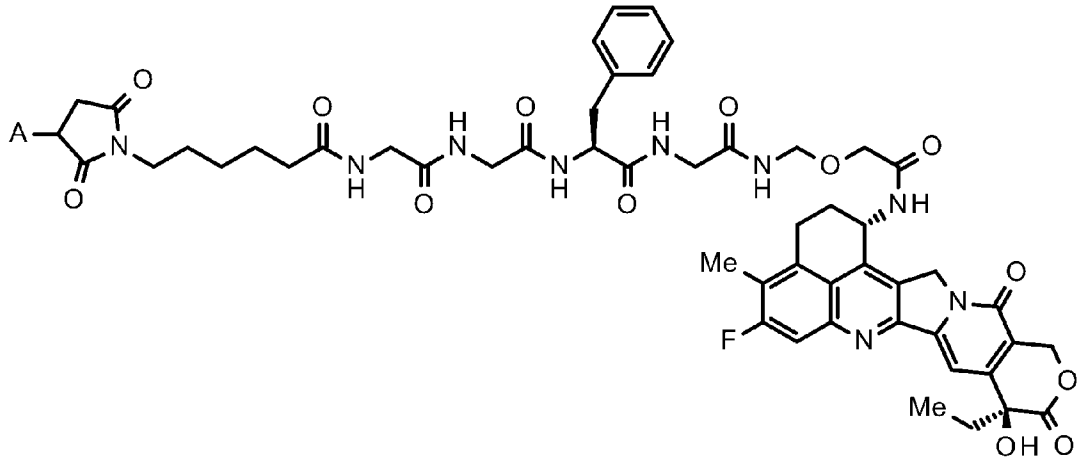
HER3遺伝子変異がんが、HER2を過剰発現していない、(25)に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(28)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[0045]

[化13]



[0046] (式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、(25)~(27)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(29)

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、(25)~(28)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(30)

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、(25)~(29)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(31)

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、

(25)～(30)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(32)

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、

(31)に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(33)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、(25)～(32)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(34)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、(25)～(33)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(35)

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、(25)～(34)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体-薬物コンジュゲート。

(36)

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、(25)～(34)のいずれか1項に記載の抗HER3抗体

－薬物コンジュゲート。

(37)

HER3 遺伝子変異がんの治療用の医薬を製造するための、抗HER3 抗体－薬物コンジュゲートの使用。

(38)

HER3 遺伝子変異がんが、HER2 を過剰発現している、(37) に記載の使用。

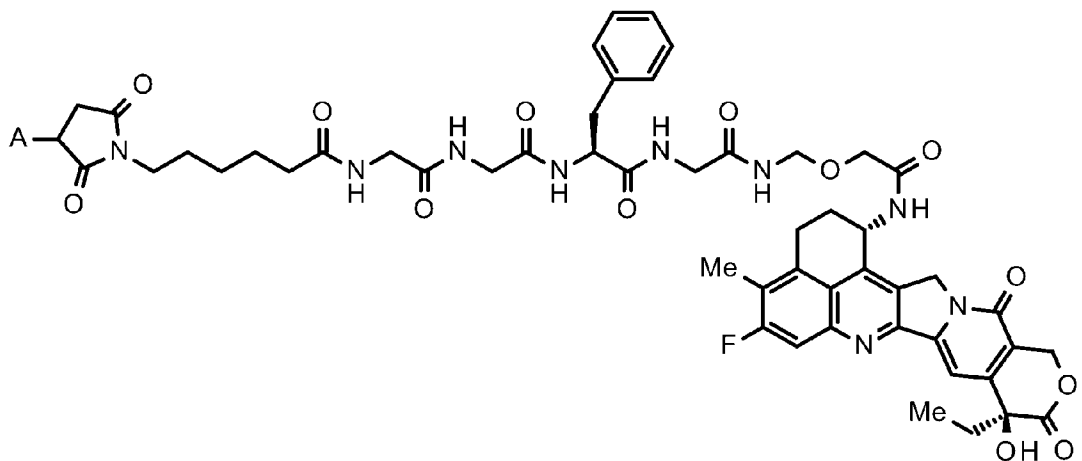
(39)

HER3 遺伝子変異がんが、HER2 を過剰発現していない、(37) に記載の使用。

(40)

抗HER3 抗体－薬物コンジュゲートが、式

[0047] [化14]



[0048] (式中、Aは抗HER3 抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3 抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3 抗体－薬物コンジュゲートである、(37)～(39)のいずれか1項に記載の使用。

(41)

抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、(37)～(40)のいずれか1項に記載の使用。

(42)

抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、(37)～(41)のいずれか1項に記載の使用。

(43)

抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、(37)～(42)のいずれか1項に記載の使用。

(44)

抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、(43)に記載の使用。

(45)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、(37)～(44)のいずれか1項に記載の使用。

(46)

抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、(37)～(44)のいずれか1項に記載の使用。

(47)

がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、(37)～(46)のいずれか1項に記載の使用。

(48)

がんが、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、(37)～(46)のいずれか1項に記載の使用。

発明の効果

[0049] 本発明により、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを含有する、HER3変異がんの治療剤、及び/又は、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、HER3変異がんを有することが確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0050] [図1]抗HER3抗体重鎖のアミノ酸配列(配列番号9)を示す。

[図2]抗HER3抗体軽鎖のアミノ酸配列(配列番号10)を示す。

[図3]各種HER3安定発現細胞のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動の結果(HER3の発現)を示す。

[図4]各種HER2過剰発現HER3安定発現細胞のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動の結果(HER3の発現)を示す。

[図5]各種HER2過剰発現HER3安定発現細胞のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動の結果(HER2の発現)を示す。

[図6]HER3安定発現細胞におけるHER3-ADC(1)の結合性を示す。

[図7]HER2過剰発現HER3安定発現細胞におけるHER3-ADC(1)

) の結合性を示す。

[図8]空ベクター導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図9]野生型HER3導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図10]変異型HER3 (V104L) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[0051] [図11]変異型HER3 (V104M) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図12]変異型HER3 (A232V) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図13]変異型HER3 (P262H) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図14]変異型HER3 (G284R) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図15]変異型HER3 (D297Y) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図16]変異型HER3 (G325R) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図17]変異型HER3 (T355I) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図18]変異型HER3 (S846I) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図19]変異型HER3 (E928G) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図20]空ベクター導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[0052] [図21]野生型HER3 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図22]変異型HER3 (V104L) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図23]変異型HER3 (V104M) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図24]変異型HER3 (A232V) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図25]変異型HER3 (P262H) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図26]変異型HER3 (G284R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に

対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図27]変異型HER3 (D297Y) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図28]変異型HER3 (G325R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図29]変異型HER3 (T355I) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図30]変異型HER3 (S846I) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[0053] [図31]変異型HER3 (E928G) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図32]空ベクター導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図33]野生型HER3 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図34]変異型HER3 (Q809R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動の結果 (HER3の発現) を示す。

[図35]変異型HER3 (Q809R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動の結果 (HER2の発現)

を示す。

[図36]変異型HER3 (Q809R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) におけるHER3-ADC (1) の結合性を示す。

[図37]変異型HER3 (Q809R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1)、HER3-Ab (1)、及びIgG-ADC (1) の細胞増殖抑制活性を示す。

[図38]空ベクター導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図39]野生型HER3 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図40]変異型HER3 (V104L) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[0054] [図41]変異型HER3 (V104M) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図42]変異型HER3 (A232V) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図43]変異型HER3 (P262H) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図44]変異型HER3 (G284R) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図45]変異型HER3 (D297Y) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図46]変異型HER3 (G325R) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図47]変異型HER3 (T355I) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図48]変異型HER3 (S846I) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

- [図49]変異型HER3 (E928G) 導入細胞 (HER2 過剰発現無し) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図50]空ベクター導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [0055] [図51]野生型HER3 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図52]変異型HER3 (V104L) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図53]変異型HER3 (V104M) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図54]変異型HER3 (A232V) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図55]変異型HER3 (P262H) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図56]変異型HER3 (G284R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図57]変異型HER3 (D297Y) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図58]変異型HER3 (G325R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図59]変異型HER3 (T355I) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図60]変異型HER3 (Q809R) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [0056] [図61]変異型HER3 (S846I) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。
- [図62]変異型HER3 (E928G) 導入細胞 (HER2 過剰発現有り) に対する、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性を示す。

[図63]空ベクター導入細胞（HER2過剰発現無し）に対する、HER3-ADC（1）のリソソーム移行性を示す。

[図64]野生型HER3導入細胞（HER2過剰発現無し）に対する、HER3-ADC（1）のリソソーム移行性を示す。

[図65]HER3蛋白のアミノ酸配列（配列番号69）を示す。

発明を実施するための形態

[0057] 以下、本発明を実施するための好適な形態について説明する。なお、以下に説明する実施形態は、本発明の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これによって本発明の範囲が狭く解釈されることはない。

[0058] [定義]

本発明において、「HER3」とは、ヒト上皮増殖因子受容体3（HER3；ErbB3としても知られる）と同義であり、HER1（EGFR、ErbB1）、HER2（ErbB2）及びHER4（ErbB4）とともに受容体蛋白質チロシンキナーゼの上皮増殖因子受容体サブファミリーに属する膜貫通受容体である。HER3は、乳がん、肺がん、大腸がん等、様々な種類の癌において発現しており、HER2やEGFR等のチロシンキナーゼ受容体等とヘテロ二量体を形成することによって、リン酸化を受け、がん細胞の増殖やアポトーシス抑制シグナルを誘導することが知られている（Alimandi et al., *Oncogene* (1995) 10, 1813-1821、deFazio et al., *Int. J. Cancer* (2000) 87, 487-498、Naidu et al., *Br. J. Cancer* (1998) 78, 1385-1390）。

[0059] 本発明において、「HER3蛋白」という語は、HER3と同じ意味で用いている。HER3蛋白の発現は、免疫組織化学（IHC）法等、当業者に周知の方法を用いて検出することができる。また、HER3蛋白にFlagペプチドを導入し、抗Flagペプチド抗体を用いることにより、HER3蛋白の発現を検出することもできる。

[0060] HER3蛋白のアミノ酸配列を配列番号69（図65）に示す。

[0061] 本発明において、「HER3遺伝子」とは、HER3蛋白をコードする遺

伝子を意味する。HER3 蛋白は、HER3 遺伝子の遺伝子産物である。

[0062] 本発明において、「HER3 変異」とは、HER3 蛋白のアミノ酸配列に変異を有することを意味する。

[0063] 本発明において、「HER3 変異がん」とは、HER3 蛋白のアミノ酸配列に変異を有するがんを意味する。また、腫瘍組織全体にHER3 変異を有さなくてもHER3 変異を有するがん細胞を含むがんであれば、HER3 変異がんに含まれる。

[0064] 本発明において、「HER3 遺伝子変異」とは、HER3 遺伝子に変異を有することを意味する。

[0065] 本発明において、「HER3 遺伝子変異がん」とは、HER3 遺伝子に変異を有するがんを意味する。また、腫瘍組織全体にHER3 遺伝子変異を有さなくてもHER3 遺伝子変異を有するがん細胞を含むがんであれば、HER3 遺伝子変異がんに含まれる。HER3 遺伝子変異は、遺伝子産物であるHER3 蛋白のアミノ酸配列に変異を及ぼし、HER3 変異を生じさせる。

[0066] HER3 変異の具体例としては、例えば、HER3 蛋白の104番目のアミノ酸であるV（バリン）がL（ロイシン）に置き換わっている変異（「V104L」とも言う）（Cancer Cell, 2013 May 13;23(5):603-17、Nat Genet, 2014 Aug;46(8):872-6、Cancer Res, 2014 Nov 1;74(21):6071-81、Cancer, 2016 Sep 1;122(17):2654-62、Nat Med, 2017 Jun;23(6):703-713、及びNature, 2018 Feb 8;554(7691):189-194等を参照）、HER3 蛋白の104番目のアミノ酸であるV（バリン）がM（メチオニン）に置き換わっている変異（「V104M」とも言う）（Hum Mutat, 2008 Mar;29(3):441-50、Cancer Cell, 2013 May 13;23(5):603-17、Genome Biol, 2014 Apr 1;15(4):R55、Cancer Res, 2014 Jun 15;74(12):3238-47、Nat Genet, 2014 Aug;46(8):872-6、及びAnn Oncol, 2016 Jan;27(1):127-33等を参照）、HER3 蛋白の232番目のアミノ酸であるA（アラニン）がV（バリン）に置き換わっている変異（「A232V」とも言う）（Nat Genet, 2013 May;45(5):478-86、Cancer Cell, 2013 May 13;23(5):603-17、Cancer Cell, 2016 Feb 8;29(2):2

29-40、Cell Rep. 2016 Apr 26;15(4):857-865等を参照)、HER3蛋白の262番目のアミノ酸であるP(プロリン)がH(ヒスチジン)に置き換わっている変異(「P262H」とも言う)(Cancer Cell. 2013 May 13;23(5):603-17、Gastroenterology. 2014 Feb;146(2):530-38.e5、及びNat Med. 2017 Jun;23(6):703-713等を参照)、HER3蛋白の284番目のアミノ酸であるG(グリシン)がR(アルギニン)に置き換わっている変異(「G284R」とも言う)(Nature. 2008 Oct 23;455(7216):1069-75、Cancer Cell. 2013 May 13;23(5):603-17、Nat Genet. 2014 Jun;46(6):573-82、及びAnn Oncol. 2015 Aug;26(8):1704-9等を参照)、HER3蛋白の297番目のアミノ酸であるD(アスパラギン酸)がY(チロシン)に置き換わっている変異(「D297Y」とも言う)(PLoS One. 2014 Mar 5;9(3):e90459、Nat Genet. 2014 Jun;46(6):573-82、Nat Genet. 2014 Oct;46(10):1097-102、Ann Oncol. 2016 Jan;27(1):127-33、及びCancer. 2016 Sep 1;122(17):2654-62等を参照)、HER3蛋白の325番目のアミノ酸であるG(グリシン)がR(アルギニン)に置き換わっている変異(「G325R」とも言う)(Nat Med. 2017 Jun;23(6):703-713等を参照)、HER3蛋白の355番目のアミノ酸であるT(トレオニン)がI(イソロイシン)に置き換わっている変異(「T355I」とも言う)(Nat Med. 2017 Jun;23(6):703-713、及びNature. 2018 Feb 8;554(7691):189-194等を参照)、HER3蛋白の809番目のアミノ酸であるQ(グルタミン)がR(アルギニン)に置き換わっている変異(「Q809R」とも言う)(Cancer Cell. 2013 May 13;23(5):603-17、Cell Rep. 2016 Apr 26;15(4):857-865、及びNat Med. 2017 Jun;23(6):703-713等を参照)、HER3蛋白の846番目のアミノ酸であるS(セリン)がI(イソロイシン)に置き換わっている変異(「S846I」とも言う)(Int J Cancer. 2006 Dec 15;119(12):2986-7、Nat Genet. 2014 Dec;46(12):1264-6、及びCell Rep. 2016 Apr 26;15(4):857-865等を参照)、及びHER3蛋白の928番目のアミノ酸であるE(グルタミン酸)がG(グリシン)に置き換わっている変異(「E928G」とも言う)(Nat Genet. 2011

Oct 30;43(12):1219-23、Clin Cancer Res. 2016 Apr 1;22(7):1583-91、Cancer. 2016 Sep 1;122(17):2654-62、Clin Cancer Res. 2016 Dec 15;22(24):6061-6068、Cancer Res. 2016 Oct 15;76(20):5954-5961、及びPLoS Med. 2016 Dec 27;13(12):e1002201等を参照)を挙げることができる。

[0067] なお、上記のHER3変異のうち、特にQ809Rを有するがんは、既存の抗HER2薬や抗HER3抗体に対し、強い抵抗性を示すことが示唆されている (Jaiswal et al., Cancer cell (2013) 23, 603-17)。

[0068] 本発明におけるHER3変異は、HER3蛋白のアミノ酸配列に変異を有するものであれば特に限定はされないが、好適には、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つを挙げることができ、より好適にはQ809Rを挙げることができる。

[0069] HER3変異の有無は、例えば、がん患者から腫瘍組織を採取し、ホルマリン固定パラフィン包埋された検体 (FFPE) をリアルタイム定量PCR (qRT-PCR) 又はマイクロアレイ解析等の方法を行うことにより確認することができる。

[0070] また、HER3変異の有無は、がん患者から無細胞血中循環腫瘍DNA (ctDNA) を採取し、次世代シーケンス (NGS) 等の方法を行うことにより確認することもできる (Sergina et al., Nature (2007) 445, 437-41、Jeong et al., Int. J. Cancer (2006) 119, 2986-7、Ding et al., Nature (2008) 455, 1069-75、Kan et al., Nature (2010) 466, 869-73、Wang et al., Nat. Genet. (2011) 43, 1219-23、Greenman et al., Nature (2007) 446, 153-8、Stransky et al., Science (2011) 333, 1157-60、Jaiswal et al., Cancer cell (2013) 23, 603-17、Hyman et al., Cancer Res. (2017) Abstract CT001、Mishra et al., Oncotarget (2017) 69, 114371-114392、Mishra et al., Oncotarget (2018) 45, 27773-27788等を参照)。

[0071] 本発明において、「HER3変異」という語は、HER3遺伝子変異と同

じ意味で用いている。

[0072] 本発明において、「野生型HER3」とは、HER3変異がないHER3蛋白を意味する。本発明において、野生型を「WT」と表すこともある。

[0073] 本発明において、「変異型HER3」とは、HER3変異があるHER3蛋白を意味する。

[0074] HER3安定発現細胞は、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、リン酸カルシウム等を利用したトランスフェクションによる化学的遺伝子導入法、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、ソノポレーション、レーザー照射等による物理的遺伝子導入法、ウイルスベクターを利用した生物学的遺伝子導入法等により作製することができる。例えば、生物学的遺伝子導入法のうち、レンチウイルスを利用した場合は、Lentiviral-X293T細胞等のパッケージング細胞にレンチウイルスタンパク質とエンベロープタンパク質の発現プラスミド及びHER3発現プラスミドを共に導入後、培養上清よりレンチウイルス溶液を調整し、これを用いて腫瘍細胞を培養することにより、作製することができる。ここで、用いるHER3発現プラスミドの種類により、野生型又は変異型HER3発現細胞を作り分けることができる。変異型HER3発現プラスミドは、HER3変異導入プライマーを用いて作製することができる。

[0075] 本発明において、「抗HER3抗体」とは、HER3に特異的に結合し、好ましくは、HER3と結合することによってHER3発現細胞に内在化する活性を有する抗体、言い換えれば、HER3と結合した後、HER3発現細胞内に移動する活性を有する抗体を示す。

[0076] 本発明において、「HER2」とは、ヒト上皮増殖因子受容体2（neu、ErbB-2と呼ばれることもある）と同義であり、HER1、HER3、及びHER4とともに受容体蛋白質チロシンキナーゼの上皮増殖因子受容体サブファミリーに属する膜貫通受容体である。HER2は、HER1、HER3、又はHER4とのヘテロ二量体形成により細胞内チロシン残基が自己リン酸化されて活性化することにより、正常細胞及び腫瘍細胞において細

胞の増殖・分化・生存に重要な役割を果たすことが知られている。

[0077] 本発明において、「HER2蛋白」という語は、HER2と同じ意味で用いている。

[0078] 本発明において、HER2の「過剰発現」とは、HER2の発現が陽性と判定されることを示し、例えば、免疫組織化学（IHC）法によりHER2の発現が3+と判定されること、又は、免疫組織化学法によりHER2の発現が2+と判定され且つ*in situ* ハイブリダイゼーション（ISH）法によりHER2の発現が陽性と判定されることを示す。免疫組織化学法や、*in situ* ハイブリダイゼーション法は、当業者に周知の方法を用いて行うことができ、例えば、HER2検査ガイド 乳癌編 第四版（乳癌HER2検査病理部会作成）等を参考に行うことができる。

[0079] HER2過剰発現細胞は、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、リン酸カルシウム等を利用したトランスフェクションによる化学的遺伝子導入法、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、ソノポレーション、レーザー照射等による物理的遺伝子導入法、ウイルスベクターを利用した生物学的遺伝子導入法等により作製することができる。例えば、生物学的遺伝子導入法のうち、レンチウイルスを利用した場合は、Lenti-X 293T細胞等のパッケージング細胞にレンチウイルスタンパク質とエンベロープタンパク質の発現プラスミド及びHER2発現プラスミドを共に導入後、培養上清よりレンチウイルス溶液を調整し、これを用いて腫瘍細胞を培養することにより、作製することができる。さらに、先のHER3発現プラスミド導入により得たレンチウイルス溶液を用いて、このHER2過剰発現細胞を培養することにより、HER2過剰発現HER3安定発現細胞を作製することができる。

[0080] [抗HER3抗体-薬物コンジュゲート]

本発明において、「抗体-薬物コンジュゲート」とは、抗体に、細胞毒性を有する薬物を、リンカーを介して結合させた複合体のことを示す。抗体-薬物コンジュゲートとしては、例えば、米国特許第6214345号、国際

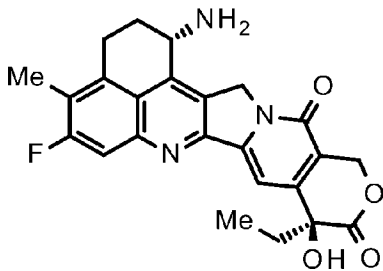
公開第2002/083067号、国際公開第2003/026577号、国際公開第2004/054622号、国際公開第2005/112919号、国際公開第2006/135371号、国際公開第2007112193号、国際公開第2008/033891号、国際公開第2009/100194号、国際公開第2009/134976号、国際公開第2009/134977号、国際公開第2010/093395号、国際公開第2011/130613号、国際公開第2011/130616号、国際公開第2013/055993号、国際公開第2014/057687号、国際公開第2014/061277号、国際公開第2014/107024号、国際公開第2014/134457号、及び国際公開第2014/145090号に記載のものを挙げることができ、好適には、国際公開第2014/057687号、及び国際公開第2014/061277号に記載のものであり、より好適には、国際公開第2014/057687号に記載のものである。これらの抗体-薬物コンジュゲートは上記文献に記載の方法により製造することができる。

[0081] 細胞毒性を有する薬物としては、抗腫瘍効果を有し、リンカーに結合できる置換基や部分構造を有するものであれば特に制限はないが、例えば、カンプトテシン (Camptothecin)、カリチアマイシン (Calicheamicin)、ドキシソルビシン (Doxorubicin)、ダウノルビシン (Daunorubicin)、マイトマイシンC (Mitomycin C)、ブレオマイシン (Bleomycin)、シクロシチジン (Cycloctidine)、ビンクリスチン (Vincristine)、ビンブラスチン (Vinblastine)、メトトレキサート (Methotrexate)、シスプラチン (Cisplatin)、アウリスチンE (Auristatin E)、メイタンシン (Maytansine)、パクリタキセル (Paclitaxel)、ピロロベンゾジアゼピン (Pyrrolobenzodiazepine)、及びこれらの誘導体を挙げる事ができ、好適には、カンプトテシン誘導体を挙げる事ができ

、より好適には、エキサテカン (Exatecan) 誘導体を挙げることができる。

[0082] トポイソメラーゼⅠ阻害剤であるエキサテカン (IUPAC名: (1S, 9S) - 1 - アミノ - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 1, 2, 3, 9, 12, 15 - ヘキサヒドロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 10H, 13H - ベンゾ [d e] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2 - b] キノリン - 10, 13 - ジオン、(化学名: (1S, 9S) - 1 - アミノ - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 2, 3 - ジヒドロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 1H, 12H - ベンゾ [d e] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2 - b] キノリン - 10, 13 (9H, 15H) - ジオンとして表すこともできる)) は、式

[0083] [化15]



[0084] で表される化合物である。

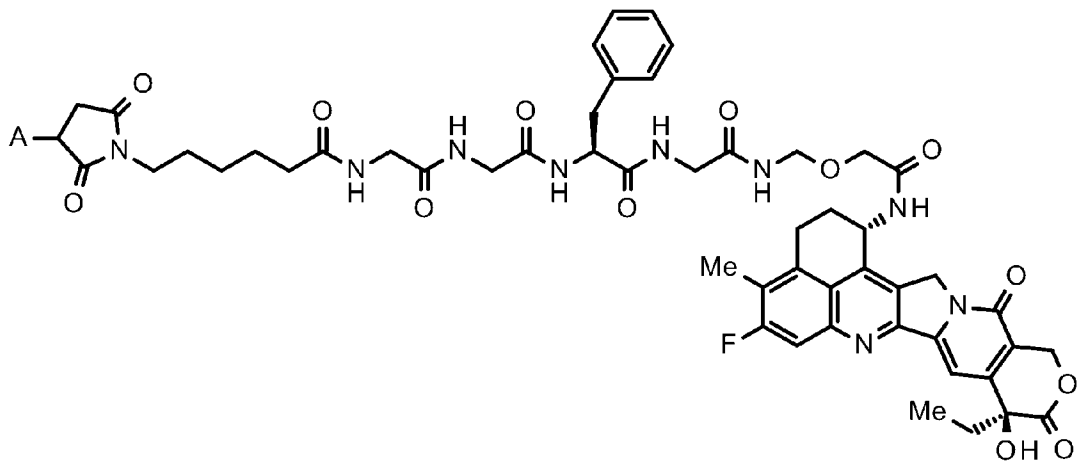
[0085] 本発明において、「薬物リンカー」とは、抗体 - 薬物コンジュゲートにおける薬物とリンカー部分、言い換えれば、抗体 - 薬物コンジュゲートにおける抗体以外の部分構造を示す。

[0086] 本発明において、「抗HER3抗体 - 薬物コンジュゲート」とは、抗体 - 薬物コンジュゲートにおける抗体が抗HER3抗体である抗体 - 薬物コンジュゲートを示す。抗HER3抗体 - 薬物コンジュゲートとしては、例えば、国際公開第2012/019024号、国際公開第2012/064733号、及び国際公開第2015/155998号に記載のものを挙げることが

でき、好適には、国際公開第2015/155998号に記載のものを挙げることができる。これらの抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、上記文献に記載の方法により製造することができる。

[0087] 本発明において好適に使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、式

[0088] [化16]



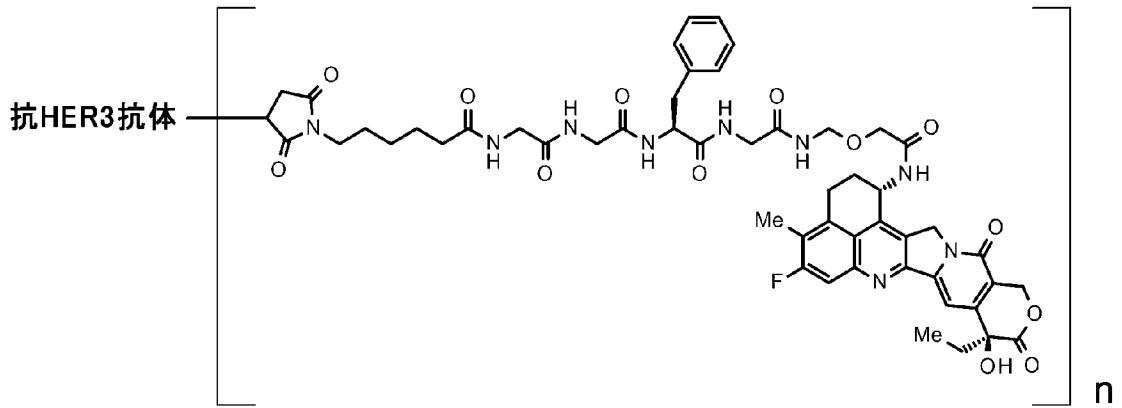
[0089] (式中、Aは抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである。この薬物リンカーは、抗体の鎖間のジスルフィド結合部位（2箇所の重鎖-重鎖間、及び2箇所の重鎖-軽鎖間）において生じたチオール基（言い換えれば、システイン残基の硫黄原子）に結合している。

[0090] 本発明において好適に使用される、上記の抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、次式で示すこともできる。

[0091]

[化17]



[0092] ここで、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合している。また、 n はいわゆる平均薬物結合数（DAR；Drug to Antibody Ratio）と同義であり、1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す。

[0093] 本発明において好適に使用される、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数は、好適には2から8であり、より好適には3から8であり、更により好適には7から8であり、更により好適には7.5から8であり、更により好適には約8である。

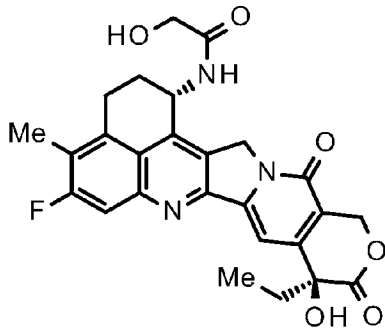
[0094] 本発明で使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの抗HER3抗体部分は、好適には、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体であり、

より好適には、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体であり、

更により好適には、配列番号 9 で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号 10 で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含む抗体、又は、前記抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体である。

[0095] 本発明において好適に使用される、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、がん細胞内に移行した後に、式

[0096] [化18]



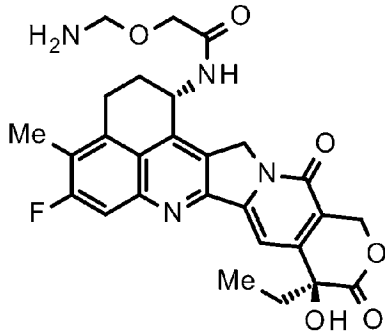
[0097] で表される化合物を遊離することにより、抗腫瘍効果を発揮する。

[0098] 上記化合物は、本発明において好適に使用される、上記の抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの抗腫瘍活性の本体であると考えられ、トポイソメラーゼ I 阻害作用を有することが確認されている (Ogitani Y. et al., *Clinical Cancer Research*, 2016, Oct 15;22(20):5097-5108, Epub 2016 Mar 29)。

[0099] 上記化合物は、上記の抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリンカー部分が切断されることにより生じると考えられる、式

[0100]

[化19]



[0101] で表される化合物のアミナル構造が分解することにより生じると考えられる。

[0102] [抗HER3抗体の製造]

本発明で用いるHER3蛋白は、ヒトのHER3発現細胞から直接精製して使用するか、或は、抗原として使用する際には、当該細胞の細胞膜画分をHER3蛋白として使用することができ、また、HER3を*in vitro*にて合成する、又は遺伝子操作によって宿主細胞に産生させることによつて得ることができる。遺伝子操作では、具体的には、HER3 cDNAを発現可能なベクターに組み込んだ後、当該ベクターを転写と翻訳に必要な酵素、基質及びエネルギー物質を含む溶液中でインキュベートすることにより、HER3を合成することができる。或は他の原核生物、又は真核生物の宿主細胞を当該ベクターにて形質転換させ、HER3を発現させることによつて、該蛋白質を得ることができる。また、前記の遺伝子操作によるHER3発現細胞、又はHER3を発現している細胞株をHER3蛋白抗原として使用することも可能である。

HER3のRNA配列、cDNA配列及びアミノ酸配列は公的データベース上に公開されており、例えばAAA35979（アミノ末端19アミノ酸残基からなるシグナル配列を含む前駆体）、M34309（NCBI）等のアクセッション番号により参照可能である。

- [0103] また、上記HER3のアミノ酸配列において、1乃至10個のアミノ酸が置換、欠失、付加及び／又は挿入されたアミノ酸配列からなり、当該蛋白質と同等の生物活性を有する蛋白質もHER3に含まれる。
- [0104] 本発明で使用される抗HER3抗体は、公知の手段によって取得することができる。例えば、この分野で通常実施される方法を用いて、抗原となるHER3又はHER3のアミノ酸配列から選択される任意のポリペプチドを動物に免疫し、生体内に産生される抗体を採取、精製することによって得ることができる。抗原の由来はヒトに限定されず、マウス、ラット等のヒト以外の動物に由来する抗原を動物に免疫することもできる。この場合には、取得された異種抗原に結合する抗体とヒト抗原との交差性を試験することによって、ヒトの疾患に適用可能な抗HER3抗体を選別できる。
- [0105] また、公知の方法（例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p. 495-497; Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p. 365-367, Plenum Press, N.Y. (1980)) に従って、抗原に対する抗体を産生する抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることによってハイブリドーマを樹立し、モノクローナル抗体を得ることもできる。
- [0106] なお、抗原は抗原蛋白質をコードする遺伝子を遺伝子操作によって宿主細胞に産生させることによって得ることができる。具体的には、抗原遺伝子を発現可能なベクターを作製し、これを宿主細胞に導入して該遺伝子を発現させ、発現した抗原を精製すればよい。上記の遺伝子操作による抗原発現細胞、又は抗原を発現している細胞株、を動物に免疫する方法を用いることによっても抗体を取得できる。
- [0107] 本発明で使用される抗HER3抗体は、ヒトに対する異種抗原性を低下させること等を目的として人為的に改変した遺伝子組換え型抗体、例えば、キメラ（Chimeric）抗体、ヒト化（Humanized）抗体であることが好ましく、又はヒト由来の抗体の遺伝子配列のみを有する抗体、すなわちヒト抗体であることが好ましい。これらの抗体は、既知の方法を用いて製造することができる。

- [0108] キメラ抗体としては、抗体の可変領域と定常領域が互いに異種である抗体、例えばマウス又はラット由来抗体の可変領域をヒト由来の定常領域に接合したキメラ抗体を挙げる事ができる (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855, (1984))。
- [0109] ヒト化抗体としては、異種抗体の相補性決定領域 (CDR ; complementarity determining region) のみをヒト由来の抗体に組み込んだ抗体 (Nature(1986) 321, p.522-525)、CDR移植法によって、異種抗体のCDRの配列に加えて、異種抗体の一部のフレームワークのアミノ酸残基もヒト抗体に移植した抗体 (国際公開第90/07861号)、遺伝子変換突然変異誘発 (gene conversion mutagenesis) ストラテジーを用いてヒト化した抗体 (米国特許第5821337号) を挙げる事ができる。
- [0110] ヒト抗体としては、ヒト抗体の重鎖と軽鎖の遺伝子を含むヒト染色体断片を有するヒト抗体産生マウスを用いて作成した抗体 (Tomizuka, K. et al., Nature Genetics(1997) 16, p.133-143;Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res.(1998) 26, p.3447-3448;Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology:Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73(Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999;Tomizuka, K. et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA(2000) 97, p.722-727等を参照。) を挙げる事ができる。或いは、ヒト抗体ライブラリーより選別したファージディスプレイにより取得した抗体 (Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002)43 (7), p.2301-2308;Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics(2002), 1(2), p.189-203;Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology(2002) 109(3), p.427-431等参照。) も挙げる事ができる。
- [0111] 本発明で使用される抗HER3抗体には、抗体の修飾体も含まれる。当該修飾体とは、本発明に係る抗体に化学的又は生物学的な修飾が施されてなるものを意味する。化学的な修飾体には、アミノ酸骨格への化学部分の結合、

N-結合又はO-結合炭水化物鎖への化学部分の結合を有する化学修飾体等が含まれる。生物学的な修飾体には、翻訳後修飾（例えば、N-結合又はO-結合型糖鎖の付加、N末端又はC末端のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化等）されたもの、原核生物宿主細胞を用いて発現させることによってN末端にメチオニン残基が付加されたもの等が含まれる。また、本発明で使用される抗HER3抗体又は抗原の検出又は単離を可能にするために標識されたもの、例えば、酵素標識体、蛍光標識体、アフィニティ標識体もかかる修飾体の意味に含まれる。このような本発明で使用される抗HER3抗体の修飾体は、抗体の安定性及び血中滞留性の改善、抗原性の低減、抗体又は抗原の検出又は単離等に有用である。

[0112] また、本発明で使用される抗HER3抗体に結合している糖鎖修飾を調節すること（グリコシル化、脱フコース化等）によって、抗体依存性細胞傷害活性を増強することが可能である。抗体の糖鎖修飾の調節技術としては、国際公開第99/54342号、国際公開第00/61739号、国際公開第02/31140号、国際公開第2007/133855号、及び国際公開第2013/120066号等が知られているが、これらに限定されるものではない。本発明で使用される抗HER3抗体には当該糖鎖修飾が調節された抗体も含まれる。

[0113] なお、哺乳類培養細胞で生産される抗体では、その重鎖のカルボキシル末端のリシン残基が欠失することが知られており（*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134(1995)）、また、同じく重鎖カルボキシル末端のグリシン、リシンの2アミノ酸残基が欠失し、新たにカルボキシル末端に位置するプロリン残基がアミド化されることが知られている（*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83(2007)）。しかし、これらの重鎖配列の欠失及び修飾は、抗体の抗原結合能及びエフェクター機能（補体の活性化や抗体依存性細胞障害作用等）には影響を及ぼさない。したがって、本発明で使用される抗HER3抗体には、当該修飾を受けた抗体及び当該抗体の機能性断片も含まれ、重鎖カルボキシル末端において1又は2のアミノ酸が欠失した欠失体、及びアミ

ド化された当該欠失体（例えば、カルボキシル末端部位のプロリン残基がアミド化された重鎖）等も包含される。但し、抗原結合能及びエフェクター機能が保たれている限り、本発明で使用される抗HER3抗体の重鎖のカルボキシル末端の欠失体は上記の種類に限定されない。本発明で使用される抗HER3抗体を構成する2本の重鎖は、完全長及び上記の欠失体からなる群から選択される重鎖のいずれか一種であってもよいし、いずれか二種を組み合わせたものであってもよい。各欠失体の量比は本発明で使用される抗HER3抗体を産生する哺乳類培養細胞の種類及び培養条件に影響を受け得るが、本発明で使用される抗HER3抗体は、好ましくは、2本の重鎖の双方でカルボキシル末端のひとつのアミノ酸残基が欠失しているものを挙げるができる。

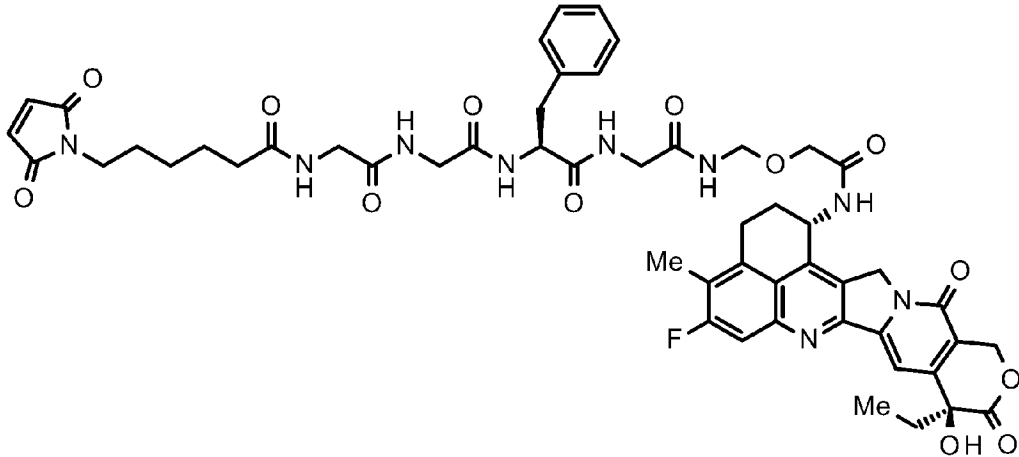
[0114] 本発明で使用される抗HER3抗体のアイソタイプとしては、例えばIgG（IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）等を挙げるができるが、好ましくはIgG1又はIgG2を挙げるができる。また、これらの改変体も本発明にかかる抗HER3抗体として利用することができる。

[0115] 本発明において使用できる抗HER3抗体としては、パトリツマブ（Patritumab, U3-1287）、U1-59（国際公開第2007/077028号）、AV-203（国際公開第2011/136911号）、LJM-716（国際公開第2012/022814号）、Duligotumab（MEHD-7945A）（国際公開第2010/108127号）、Istiratumab（MM-141）（国際公開第2011/047180号）、Lumretuzumab（RG-7116）（国際公開第2014/108484号）、Setibantumab（MM-121）（国際公開第2008/100624号）、REGN-1400（国際公開第2013/048883号）、ZW-9（国際公開第2013/063702）、及びそれらの改変体、活性断片、修飾体等を挙げるができる。これら好適には、パトリツマブ、及びU1-59を挙げるができる。これらの抗HER3抗体は、上記文献に記載の方法により製造することができる。

[0116] [抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの製造]

本発明に係る抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの製造に使用される薬物リンカー中間体は、次式で示される。

[0117] [化20]



[0118] 上記の薬物リンカー中間体は、N-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサノイル]グリシルグリシル-L-フェニルアラニル-N-[(2-{[(1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-2,3,9,10,13,15-ヘキサヒドロ-1H,12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル]アミノ}-2-オキソエトキシ)メチル]グリシンアミド、という化学名で表すことができ、国際公開第2014/057687号、国際公開第2015/155998号、及び国際公開第2019/044947号等の記載を参考に製造することができる。

[0119] 本発明で使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、前述の薬物リンカー中間体と、チオール基（又はスルフヒドリル基とも言う）を有する抗HER3抗体を反応させることによって製造することができる。

- [0120] スルフヒドリル基を有する抗HER3抗体は、当業者周知の方法で得ることができる (Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp.56-136, pp.456-493, Academic Press(1996))。例えば、トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩(TCEP)等の還元剤を、抗体内鎖間ジスルフィド1個当たりに対して0.3乃至3モル当量用い、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)等のキレート剤を含む緩衝液中で、抗HER3抗体と反応させることで、抗体内鎖間ジスルフィドが部分的若しくは完全に還元されたスルフヒドリル基を有する抗HER3抗体を得ることができる。
- [0121] さらに、スルフヒドリル基を有する抗HER3抗体1個あたり、2乃至20モル当量の薬物リンカー中間体を使用して、抗体1個あたり2個乃至8個の薬物が結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを製造することができる。
- [0122] 製造した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの抗体-分子あたりの平均薬物結合数の算出は、例えば、280nm及び370nmの二波長における抗HER3抗体-薬物コンジュゲートとそのコンジュゲーション前駆体のUV吸光度を測定することにより算出する方法(UV法)や、抗体-薬物コンジュゲートを還元剤で処理し得られた各フラグメントをHPLC測定により定量し算出する方法(HPLC法)により行うことができる。
- [0123] 抗HER3抗体と薬物リンカー中間体のコンジュゲーション、及び抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの抗体-分子あたりの平均薬物結合数の算出は、国際公開第2015/155998号等の記載を参考に実施することができる。
- [0124] [治療剤及び/又は治療方法]
- 本発明の治療剤及び/又は治療方法は、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを投与することを特徴とし、HER3変異がんの治療のために使用することができる。
- [0125] 本発明の治療剤及び/又は治療方法を使用することができるHER3変異がんにおけるがんは、好適には、乳がん、肺がん(小細胞肺がん及び非小細

胞肺がんを含む)、大腸がん(結腸直腸がんと呼ぶこともあり、結腸がん及び直腸がんを含む)、胃がん(胃腺がんと呼ぶこともある)、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つであり、より好適には、乳がん、非小細胞肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである。

[0126] 本発明の治療剤及び治療方法は、哺乳動物に対して好適に使用することができるが、より好適にはヒトに対して使用することができる。

[0127] 本発明の治療剤及び治療方法の抗腫瘍効果は、例えば、腫瘍細胞に変異型HER3を発現させ、HER2過剰発現無し、及び/又は、HER2過剰発現有り、の状況下において、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの細胞増殖抑制活性を測定することにより確認することができる。また、変異型HER3を発現した腫瘍を被検動物に移植したモデルを作成し、本発明の治療剤又は治療方法を施すことによっても確認することができる。

[0128] さらに、本発明の治療剤及び治療方法の抗腫瘍効果は、臨床試験においても確認することができる。すなわち、HER3変異が確認されたがん患者に、本発明の治療剤又は治療方法を施し、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) 評価法、WHO評価法、Macdonald評価法、体重測定、及びその他の手法により確認することができ、完全奏効(Complete response; CR)、部分奏効(Partial response; PR)、進行(Progressive disease; PD)、客観的奏効率(Objective Response Rate; ORR)、奏効期間(Duration of response; DoR)、無憎悪生存

期間 (Progression-Free Survival; PFS)、全生存期間 (Overall Survival; OS) 等の指標により判定することができる。

[0129] 上述の方法により、本発明の治療剤及び治療方法のHER3変異がんに対する抗腫瘍効果について、既存の抗がん剤に対する優位性を確認することができる。

[0130] 本発明の治療剤及び治療方法は、がん細胞の成長を遅らせ、増殖を抑え、さらにはがん細胞を破壊することができる。これらの作用によって、がん患者において、がんによる症状からの解放や、QOLの改善を達成でき、がん患者の生命を保って治療効果が達成される。がん細胞の破壊には至らない場合であっても、がん細胞の増殖の抑制やコントロールによってがん患者においてより高いQOLを達成しつつより長期の生存を達成させることができる。

[0131] 本発明の治療剤は、患者に対しては全身療法として適用する他、がん組織に局所的に適用して治療効果を期待することができる。

[0132] 本発明の治療剤は、1種以上の薬学的に適合性の成分を含む医薬組成物として投与され得る。薬学的に適合性の成分は、本発明で使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの投与量や投与濃度等に応じて、この分野において通常使用される製剤添加物その他から適宜選択して適用することができる。例えば、本発明の治療剤は、ヒスチジン緩衝剤等の緩衝剤、スクロース又はトレハロース等の賦形剤、並びにポリソルベート80又は20等の界面活性剤を含む医薬組成物（以下、「本発明の医薬組成物」という。）として投与され得る。本発明の医薬組成物は、好適には、注射剤として使用することができ、より好適には、水性注射剤又は凍結乾燥注射剤として使用することができ、更により好適には、凍結乾燥注射剤として使用することができる。

[0133] 本発明の医薬組成物が水性注射剤である場合、好適には、適切な希釈液で希釈した後、静脈内に点滴投与することができる。希釈液としては、ブドウ

糖溶液や、生理食塩液、等を挙げることができる。

[0134] 本発明の医薬組成物が凍結乾燥注射剤である場合、好適には、注射用水により溶解した後、必要量を適切な希釈液で希釈した後、静脈内に点滴投与することができる。希釈液としては、ブドウ糖溶液や、生理食塩液、等を挙げることができる。

[0135] 本発明の医薬組成物を投与するために使用され得る導入経路としては、例えば、静脈内、皮内、皮下、筋肉内、及び腹腔内の経路を挙げることができる、好適には、静脈内の経路を挙げることができる。

[0136] 本発明で使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、ヒトに対して、好適には、1週、2週、3週、又は4週に1回の間隔で投与することができ、さらにより好適には、3週に1回の間隔で投与することができる。

[0137] また、本発明で使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートは、ヒトに対して、好適には、1回あたり1.6 mg/kg~12.8 mg/kgの投与量で投与することができ、より好適には、1回あたり1.6 mg/kg、3.2 mg/kg、4.8 mg/kg、5.6 mg/kg、6.4 mg/kg、8.0 mg/kg、9.6 mg/kg、又は12.8 mg/kgの投与量で投与することができ、更により好適には、1回あたり4.8 mg/kg、5.6 mg/kg、又は6.4 mg/kgの投与量で投与することができる。

[0138] 本発明の治療剤は、本発明で使用される抗HER3抗体-薬物コンジュゲート以外のがん治療剤と併用して投与することもでき、これによって抗腫瘍効果を増強させることができる。この様な目的で使用される他のがん治療剤は、本発明の治療剤と同時に、別々に、或は連続して個体に投与されてもよいし、それぞれの投与間隔を変えて投与されてもよい。この様ながん治療剤としては、抗腫瘍活性を有する薬剤であれば限定されることはないが、例えば、イリノテカン (Irinotecan、CPT-11)、シスプラチン (Cisplatin)、カルボプラチン (Carboplatin)、オキサリプラチン (Oxaliplatin)、フルオロウラシル (Fluo

rouracil、5-FU)、ゲムシタビン (Gemcitabine)、カペシタビン (Capecitabine)、パクリタキセル (Paclitaxel)、ドセタキセル (Docetaxel)、ドキソルビシン (Doxorubicin)、エピルビシン (Epirubicin)、シクロフォスファミド (Cyclophosphamide)、マイトマイシン C (Mitomycin C)、テガフル (Tegafur)・ギメラシル (Gimeracil)・オテラシル (Oteracil) 配合剤、セツキシマブ (Cetuximab)、パニツムマブ (Panitumumab)、ベバシズマブ (Bevacizumab)、ラムシルマブ (Ramucirumab)、レゴラフェニブ (Regorafenib)、トリフルリジン (Trifluridine)・チピラシル (Tipiracil) 配合剤、ゲフィチニブ (Gefitinib)、エルロチニブ (Erlotinib)、アフアチニブ (Afatinib)、オシメルチニブ (Osimertinib)、メトトレキサート (Methotrexate)、ペメトレキセド (Pemetrexed)、タモキシフェン (Tamoxifen)、トレミフェン (Toremifene)、フルベストラント (Fulvestrant)、リユープロレリン (Leuprorelin)、ゴセレリン (Goserelin)、レトロゾール (Letrozole)、アナストロゾール (Anastrozole)、プロゲステロン製剤 (Progesterone formulation)、トラスツズマブエムタンシン (Trastuzumab emtansine)、トラスツズマブ (Trastuzumab)、ペルツズマブ (Pertuzumab)、ラパチニブ (Lapatinib)、ニボルマブ (Nivolumab)、ペムブロリズマブ (Pembrolizumab)、アテゾリズマブ (Atezolizumab)、デュルバルマブ (Durvalumab)、アベルマブ (Avelumab)、イピリムマブ (Ipilimumab)、及びトレメリムマブ (Tremelimumab) からなる群より選択される少なくとも一つを挙げることができる。

[0139] 本発明の治療剤は、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。例えば、がん患者は、本発明の治療剤による治療を受ける前及び／又は後、あるいは同時に放射線療法を受ける。

[0140] 本発明の治療剤は、外科手術と組み合わせた補助化学療法として使用することもできる。外科手術は、例えば、脳腫瘍の全部又は一部を物理的に取り除くことにより行われる。本発明の治療剤は外科手術の前に脳腫瘍の大きさを減じさせる目的で投与されてもよい（術前補助化学療法、又はネオアジュバント療法という）し、外科手術後に、脳腫瘍の再発を防ぐ目的で投与されてもよい（術後補助化学療法、又はアジュバント療法という）。

実施例

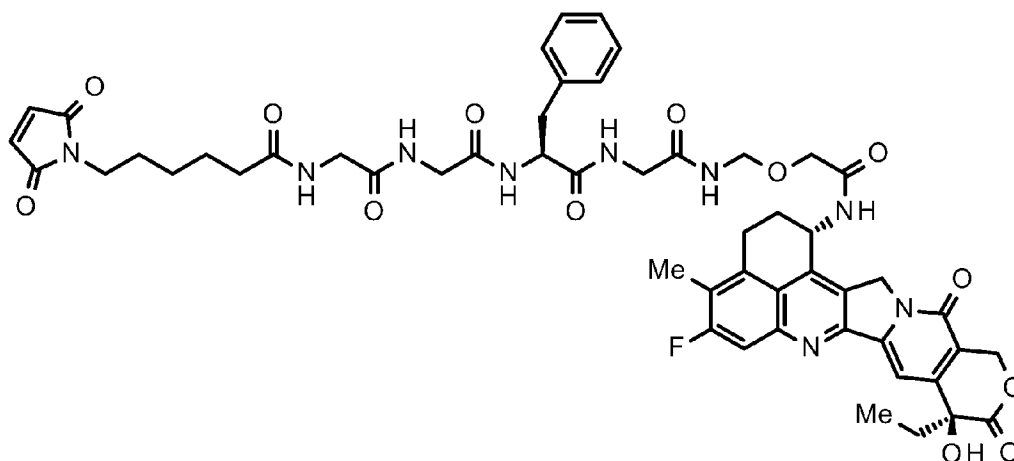
[0141] 以下に示す例によって本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。また、これらはいかなる意味においても限定的に解釈されるものではない。

[0142] [実施例1] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの製造

国際公開第2015/155998号に記載の製造方法に従って、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗HER3抗体（本発明において「HER3-Ab(1)」と称する）を用いて、式

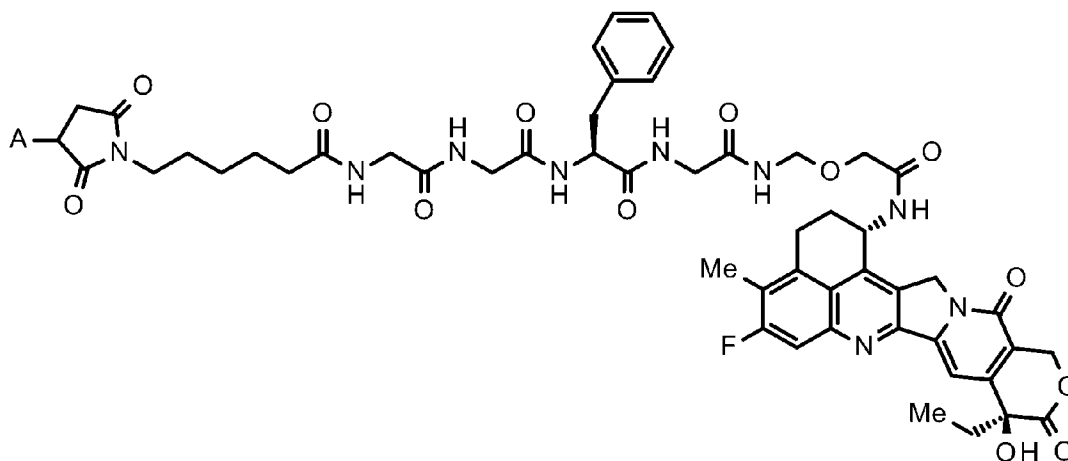
[0143]

[化21]



[0144] で示される薬物リンカー中間体（以下「薬物リンカー中間体（1）」と称する）とのコンジュゲーション反応を行い、式

[0145] [化22]



[0146] （式中、Aは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲート（本発明において「HER3-ADC（1）」と称する）を製造した。HER3-ADC（1）における

1 抗体あたりの平均薬物結合数は7～8の範囲である。

[0147] [実施例2] HER3安定発現細胞の作製

実施例2-1: HER3変異発現レンチウイルス用ベクターの作製

1. pLV SIN EF1 α HER3 (WT) Purの作製

HER3 cDNAを鋳型とし、配列番号11で示されるHER3 IF プライマー (Fw)、及び配列番号12で示されるHER3 IF プライマー (Rev) にて増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によりpLV SIN EF1 α Pur (Takara社製, #6186) のXbaIサイトに挿入した (pLV SIN EF1 α HER3 (WT) Pur)。挿入配列はDNAシーケンシングにより確認した。

[0148] 2. pLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) Purの作製

pLV SIN EF1 α HER3 (WT) Purを鋳型とし、配列番号13で示されるFlag IF プライマー (Fw)、及び配列番号14で示されるFlag IF プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationによりpLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) Purを取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (WT) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号15に、Flag-HER3 (WT) のアミノ酸配列を配列番号16に示した。

[0149] 3. 各種HER3変異体発現プラスミドの作製

i) pLV SIN EF1 α flag-HER3 (V104L) Pur

pLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号17で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号18で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pL

V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (V 1 0 4 L) P u r) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。F l a g - H E R 3 (V 1 0 4 L) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号19に、F l a g - H E R 3 (V 1 0 4 L) のアミノ酸配列を配列番号20に示した。

[0150] i i) p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (V 1 0 4 M) P u r
p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (W T) を鋳型とし、配列番号21で示されるHER3変異導入プライマー (F w) 、及び配列番号22で示されるHER3変異導入プライマー (R e v) にてプラスミド全長を増幅し、I n F u s i o n S y s t e m (C L O N T E C H 社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (V 1 0 4 M) P u r) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。F l a g - H E R 3 (V 1 0 4 M) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号23に、F l a g - H E R 3 (V 1 0 4 M) のアミノ酸配列を配列番号24に示した。

[0151] i i i) p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (A 2 3 2 V) P u r
r
p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (W T) を鋳型とし、配列番号25で示されるHER3変異導入プライマー (F w) 、及び配列番号26で示されるHER3変異導入プライマー (R e v) にてプラスミド全長を増幅し、I n F u s i o n S y s t e m (C L O N T E C H 社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (A 2 3 2 V) P u r) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。F l a g - H E R 3 (A 2 3 2 V) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号27に、F l a g - H E R 3 (A 2 3 2 V) のアミノ酸配列を配列番号28に示した。

[0152] i v) p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (P 2 6 2 H) P u r
p L V S I N E F 1 α f l a g - H E R 3 (W T) を鋳型とし、配列番号29で示されるHER3変異導入プライマー (F w) 、及び配列番号3

0で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLV SIN EF1 α flag-HER3 (P262H) Pur) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (P262H) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号31に、Flag-HER3 (P262H) のアミノ酸配列を配列番号32に示した。

[0153] v) pLV SIN EF1 α flag-HER3 (G284R) Pur
pLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号33で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号34で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLV SIN EF1 α flag-HER3 (G284R) Pur) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (G284R) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号35に、Flag-HER3 (G284R) のアミノ酸配列を配列番号36に示した。

[0154] vi) pLV SIN EF1 α flag-HER3 (D297Y) Pur
pLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号37で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号38で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLV SIN EF1 α flag-HER3 (D297Y) Pur) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (D297Y) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号39に、Flag-HER3 (D297Y) のアミノ酸配列を配列番号40に示した。

[0155] vii) pLV SIN EF1 α flag-HER3 (G325R) Pu

r

pLVSIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号41で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号42で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLVSIN EF1 α flag-HER3 (G325R) Pur) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (G325R) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号43に、Flag-HER3 (G325R) のアミノ酸配列を配列番号44に示した。

[0156] viii) pLVSIN EF1 α flag-HER3 (T355I) Pur

pLVSIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号45で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号46で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLVSIN EF1 α flag-HER3 (T355I) Pur) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (T355I) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号47に、Flag-HER3 (T355I) のアミノ酸配列を配列番号48に示した。

[0157] ix) pLVSIN EF1 α flag-HER3 (S846I) Pur

pLVSIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号49で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号50で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLVSIN EF1 α flag-HER3 (S846I) Pur) を取得し

た。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (S8461) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号51に、Flag-HER3 (S8461) のアミノ酸配列を配列番号52に示した。

[0158] x) pLV SIN EF1 α flag-HER3 (E928G) Pur
pLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) を鋳型とし、配列番号53で示されるHER3変異導入プライマー (Fw)、及び配列番号54で示されるHER3変異導入プライマー (Rev) にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド (pLV SIN EF1 α flag-HER3 (E928G) Pur) を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3 (E928G) をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号55に、Flag-HER3 (E928G) のアミノ酸配列を配列番号56に示した。

[0159] 実施例2-2: HER2発現レンチウイルス用ベクターの作製

1. pLV SIN EF1 α HER2 Neoの作製

HER2 cDNAを鋳型とし、配列番号57で示されるHER2 IFプライマー (Fw)、及び配列番号58で示されるHER2 IFプライマー (Rev) にて増幅し、InFusion System (CLONTECH社製) によりpLV SIN EF1 α Neo (Takara社製, #6184) のNotIサイトに挿入した (pLV SIN EF1 α HER2 Neo)。挿入配列はDNAシーケンシングにより確認した。HER2をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号59に、HER2のアミノ酸配列を配列番号60に示した。

[0160] 実施例2-3: HER3安定発現細胞の作製

Lenti-X 293T細胞 (CLONTECH社) を 1×10^6 cells/wellで6 well plateに播種し、一夜培養を行った。ViraPower (ThermoFisher社製) と、実施例2-1にて作製した各種HER3発現プラスミド (pLV SIN EF1 α fla

g-HER3 (WT) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (V104L) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (V104M) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (A232V) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (P262H) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (G284R) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (D297Y) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (G325R) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (T355I) Pur、pLVSIN EF1 α flag-HER3 (S846I) Pur、及びpLVSIN EF1 α flag-HER3 (E928G) Pur) それぞれをLipofectamine 2000 (ThermoFisher社製) を用いて、Lenti-X 293T細胞に導入した。また、空ベクター導入細胞を作製する目的で、上記と同様な方法により、プラスミド (pLVSIN EF1 α Pur) をLenti-X 293T細胞に導入した。導入2日後に培養上清を回収し、MILLEX-HP 0.45 μ mフィルター (メルク社製) に通し、レンチウイルス溶液を調製した。調製したレンチウイルス溶液の1/2量をRetroNectin Coating plate (12 well plate) へ移し、37°Cで一夜静置した。PBSで洗浄後、MDA-MB-231細胞を 1×10^5 cells/wellで播種し、3日間培養した。培養終了後、細胞を剥がして全量を6 well plateに播種し、0.5 μ g/mL puromycin (ThermoFisher社製) 存在下での薬剤耐性を指標に安定発現細胞 (polyclone) を取得した。取得した細胞よりtotal RNAを抽出し、600ngのtotal RNAを用いて逆転写反応を行った。次に、逆転写反応産物の1/20容量を鋳型とし、配列番号61で示されるHER3 プライマー (Fw)、及び配列番号62で示されるHER3 プライマー (Rev) を用いてPCR反応を行った。PCRは94°Cで2分加熱後に、98°Cで10秒、68°Cで1分を25サイクルの条件で行った。

RT-PCR産物を1%アガロースゲル電気泳動に供し、HER3遺伝子発現を確認した。

[0161] 実施例2-4：HER2過剰発現HER3安定発現株の作製

1. HER2過剰発現細胞の作製

Lenti-X 293T細胞 (CLONTECH社) を 1×10^6 cells/well で 6 well plate に播種し、一夜培養を行った。ViraPower (ThermoFisher社製) と実施例2-2にて作製したHER2発現プラスミド (pLV SIN EF1 α HER2 Neo) を Lipofectamine 2000 (ThermoFisher社製) を用いて、Lenti-X 293T細胞に導入した。導入2日後に培養上清を回収し、MILLEX-HP 0.45 UMフィルター (メルク社製) に通し、レンチウイルス溶液を調製した。調製したレンチウイルス溶液を RetroNectin (TAKARA) でコーティングしたプレート (6 well plate) へ移し、37°Cで一夜静置した。PBSで洗浄後、MDA-MB-231細胞を 4×10^5 cells/well で播種し、3日間培養した。培養終了後、細胞を剥がして全量をT25フラスコに播種し、800 μ g/mL geneticin (ThermoFisher社製) 存在下での薬剤耐性を指標にHER2安定発現細胞 (polyclone) を取得した。取得した細胞より total RNA を抽出し、600ngの total RNA を用いて逆転写反応を行った。次に、逆転写反応産物の1/20容量を鋳型とし、配列番号63で示されるHER2プライマー (Fw)、及び配列番号64で示されるHER2プライマー (Rev) を用いてPCR反応を行った。PCRは94°Cで2分加熱後に、98°Cで10秒、68°Cで1分を23サイクルの条件で行った。RT-PCR産物を1%アガロースゲル電気泳動に供し、HER2遺伝子発現を確認した。

[0162] 2. HER2過剰発現HER3安定発現細胞の作製

Lenti-X 293T細胞 (CLONTECH社) を 1×10^6 cells/well で 6 well plate に播種し、一夜培養を行った。

Virapower (ThermoFisher社製) と、実施例2-1にて作製した各種HER3発現プラスミド (pLV SIN EF1 α flag-HER3 (WT) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (V104L) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (V104M) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (A232V) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (P262H) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (G284R) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (D297Y) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (G325R) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (T355I) Pur、pLV SIN EF1 α flag-HER3 (S846I) Pur、及びpLV SIN EF1 α flag-HER3 (E928G) Pur) それぞれをLipofectamine 2000 (ThermoFisher社製) を用いて、Lenti-X 293T細胞に導入した。また、空ベクター導入細胞を作製する目的で、上記と同様な方法により、プラスミド (pLV SIN EF1 α Pur) をLenti-X 293T細胞に導入した。導入2日後に培養上清を回収し、MILLEX-HP 0.45 μ mフィルター (メルク社製) に通し、レンチウイルス溶液を調製した。調製したレンチウイルス溶液の1/2量をRetroNextin (TAKARA) でコーティングしたプレート (12 well plate) へ移し、37°Cで一夜静置した。PBSで洗浄後、HER2を過剰発現させたMDA-MB-231細胞を 1×10^5 cells/wellで播種し、3日間培養した。培養終了後、細胞を剥がして全量を6 well plateに播種し、0.5 μ g/mL puromycin (ThermoFisher社製) 存在下での薬剤耐性を指標に安定発現細胞 (polyclone) を取得した。取得した細胞よりtotal RNAを抽出し、600ngのtotal RNAを用いて逆転写反応を行った。次に、逆転写反応産物の1/20容量を鋳型とし、配列番号61で示されるHER3プライマー (Fw)、及

び配列番号62で示されるHER3 プライマー (Rev) を用いてPCR 反応を行った。PCRは94℃で2分加熱後に、98℃で10秒、68℃で1分を25サイクルの条件で行った。RT-PCR産物を1%アガロースゲル電気泳動に供し、HER3 遺伝子発現を確認した。また、上記記載の方法によりHER2 遺伝子発現も確認した。

[0163] 結果を図3～図5に示す。図3は各種HER3 安定発現細胞のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動、図4及び図5は各種HER2 過剰発現HER3 安定発現細胞のRT-PCR産物の1%アガロースゲル電気泳動の結果を示す。

[0164] HER3 安定発現細胞では、HER3 野生型及び変異型のいずれにおいても、HER3 遺伝子発現を認めた。HER2 過剰発現HER3 安定発現細胞では、HER2 の過剰発現を認めるとともに、HER3 野生型及び変異型のいずれにおいても、HER3 遺伝子発現を認めた。

[0165] 実施例2-5：細胞表面HER3 発現陽性率の確認

HER3 安定発現MDA-MB-231細胞は10%FBS (HyClone製) を含有するRPMI1640メディウム (ThermoFisher製) にて培養した。細胞をTrypLE (商標登録) Express Enzyme (ThermoFisher製) にて培養プレートから剥離し、トリパンブルー処理により生細胞数を測定した。同数の生細胞を96穴U底プレートに添加し、遠心分離により細胞を沈殿させ、メディウムをStain Buffer (BD製) に置換した。再度、遠心分離により細胞を沈殿させ、1μg/mLに希釈調製したPE anti-DYKDDDDK Tag Antibody (BioLegend、#637310) を100μL添加して細胞を懸濁した。PE anti-DYKDDDDK Tag Antibodyを添加しないStain Bufferにて処理した細胞をコントロール群とした。各細胞を暗闇氷上にて60分間反応させた後、Stain Bufferで洗浄した。再度、100μLのStain Bufferに懸濁したのち、等量の4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液

(和光純薬製)を添加し、暗闇氷上で20分間反応させた。Stain Bufferで洗浄したのち、Attune NxT Flow Cytometer (ThermoFisher製)を用いて蛍光シグナルを測定し、測定結果はFlowJo software (BD, Version 10.5.0)を用いて解析した。表1は、PE anti-DYKDDDDK Tag Antibodyで処理した各種変異型HER3導入細胞株のHER3発現陽性率を示す。

[0166] [表1]

細胞株	細胞表面のHER3発現陽性率(%)	
	HER2過剰発現無し	HER2過剰発現有り
Mock	—	—
WT	65.4	76.3
V104L	79.3	75.8
V104M	67.2	61.8
A232V	76.8	70.7
P262H	79.0	65.0
G284R	82.6	79.7
D297Y	79.8	83.9
G325R	76.8	79.0
T355I	75.9	72.8
S846I	81.6	80.3
E928G	81.8	73.3

[0167] 細胞表面のHER3発現率は65.0%~83.9%であり、これらの細胞間で抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの特性を比較する分には支障ない範囲であると判断した。

[0168] [実施例3] HER3-ADC(1)の野生型および各種変異型HER3導入細胞株に対する結合性の確認

野生型および各種変異型HER3導入MDA-MB-231細胞は10% FBS (HyClone製) を含有するRPMI 1640メディウム (ThermoFisher製) にて培養した。細胞をTrypLE (商標登録) Express Enzyme (ThermoFisher製) にて培養プレートから剥離し、トリパンプルー処理により生細胞数を測定した。同数の生細胞を96穴U底プレートに添加し、遠心分離により細胞を沈殿させ、メディウムをStain Buffer (BD製) に置換した。再度、遠心分離により細胞を沈殿させ、100 μ Lの氷冷したHER3-ADC (1) 希釈液 (Stain Bufferを用いた1/10の段階希釈により100 nM~0.1 nMに調製) に懸濁した。HER3-ADC (1) を添加しないStain Bufferにて処理した細胞をコントロール群とした。各細胞氷上にて60分間反応させた後、Stain Bufferで洗浄した。さらにStain Buffer、又は10 μ g/mLに希釈調製した二次抗体 (Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 647, ThermoFisher, #A-21445) を100 μ L添加して細胞を懸濁した。暗闇氷上で60分間反応させた後、Stain Bufferで洗浄した。100 μ LのStain Bufferに懸濁したのち、等量の4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液 (和光純薬製) を添加し、暗闇氷上で20分間反応させた。Stain Bufferで洗浄したのち、Attune NxT Flow Cytometer (ThermoFisher製) を用いて蛍光シグナルを測定し、測定結果はFlowJo software (BD, Version 10.5.0) を用いて解析した。なお、細胞でのHER3-ADC (1) 由来の蛍光シグナルを定量するため、Stain Bufferにて処理したコントロール群とのシグナルを差し引いた値を使用した。

[0169] 結果を図6及び図7に示す。縦軸は、各濃度におけるHER3-ADC (1) の野生型および各種変異型HER3導入細胞株に対する結合性 (HER

3陽性細胞の平均蛍光強度)を示す。

[0170] 各種変異型HER3安定発現細胞に対するHER3-ADC(1)の結合は濃度依存的に増加し、野生型HER3と同様の結合性を示した(図6)。HER2過剰発現HER3安定発現細胞におけるHER3-ADC(1)の結合も濃度依存的に増加し、野生型HER3と同様の結合性を示した(図7)。また、この時に比較対象として、再度、HER2過剰発現無しの細胞を用いて結合性を測定し、HER2発現レベルによりHER3-ADC(1)の結合性に差異が認められないことを確認した(図7)。

[0171] [実施例4] HER3-ADC(1)による野生型および各種変異型HER3導入細胞株における*in vitro*細胞増殖抑制

野生型および各種変異型HER3導入MDA-MB-231細胞に対するHER3-ADC(1)の増殖阻害活性は、10%FBS(Hyclone製)を含有するRPMI1640メディウム(ThermoFisher製)存在下で測定した。細胞の増殖は、非処理、HER3-ADC(1)、及びHER3-Ab(1)処理群のadenosine triphosphate(ATP)活性を測定することで評価した。陰性対照として、IgG抗体と薬物リンカー中間体(1)とのコンジュゲーション反応により製造したIgG抗体-薬物コンジュゲート(本発明において「IgG-ADC(1)」と称する)を用いた。

[0172] 実施例4-1:細胞の処理

野生型および各種変異型HER3導入MDA-MB-231細胞株は、500cells/100 μ L/wellの細胞懸濁液として、96マイクロウェルプレート(コーニング, #3904、黒壁透明ボトム)に播種した。翌日、HER3-ADC(1)、HER3-Ab(1)、及び陰性対照としてIgG-ADC(1)の10倍濃縮液を10%FBS含有RPMI1640メディウムにて調製し、その10 μ Lを添加し、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下で6日間培養を行った。コントロールのウェルには10 μ Lのメディウムのみを添加した。測定は、1条件あたり3ウェルないしは5ウェルで実施した。

[0173] 実施例4-2：細胞増殖抑制効果の判定

6日間培養時における各種薬剤の細胞増殖抑制活性は、代謝活性のある生細胞を、ATP活性を基準に評価した。100 μ LのCellTiter-Glo（登録商標）reagent（Promega, #G7573）あるいは100 μ LのATP-lite 1step Luminescence Assay System（PerkinElmer, #6016739）を96マイクロウェルプレートの各ウェルに加え、EnVision Workstation（Ultra-sensitive luminescence measurement protocol, h=0.9）で測定した。ATP活性の低下を測定するため、各条件3ウェルないしは5ウェルずつの平均発光値を算出した。発光残存率（%）は無処理群の細胞と比較することで算出し、この値を細胞生存率（%）として解釈した。

[0174] 結果を図8～図33に示す。図8～図19はHER2過剰発現無しの野生型および各種変異型HER3導入細胞における各種薬剤の細胞増殖抑制活性を示した図である。図20～図31はHER2過剰発現有りの野生型および各種変異型HER3導入細胞における各種薬剤の細胞増殖抑制活性を示した図である。HER3-ADC（1）は、野生型HER3導入細胞と同様に各種変異型HER3導入細胞に対しても細胞増殖抑制活性を示すことが判明した（図8～図19）。HER2過剰発現HER3安定発現細胞においても、HER3-ADC（1）は、野生型HER3導入細胞と同様に各種変異型HER3導入細胞に対しても細胞増殖抑制活性を示すことが判明した（図20～図31）。また、この時に比較対象として、再度、HER2過剰発現無しの細胞における各種薬剤の細胞増殖抑制活性を測定し（図32、33）、HER2発現レベルにより、HER3-ADC（1）の細胞増殖抑制活性に差異は認められないことを確認した。

[0175] [実施例5] 変異型HER3（Q809R）導入細胞の作製と薬理評価

実施例5-1：HER3変異体発現プラスミドの作製

pLV SIN EF1 α flag-HER3（WT）を鋳型とし、配列

番号65で示されるHER3変異導入プライマー（Fw）、及び配列番号66で示されるHER3変異導入プライマー（Rev）にてプラスミド全長を増幅し、InFusion System（CLONTECH社製）によるself-ligationにより、HER3変異体発現プラスミド（pLVSEF1 α flag-HER3（Q809R）Pur）を取得した。配列はDNAシーケンシングにより確認した。Flag-HER3（Q809R）をコードするcDNAのヌクレオチド配列を配列番号67に、Flag-HER3（Q809R）のアミノ酸配列を配列番号68に示した。

[0176] 実施例5-2：変異型HER3（Q809R）導入細胞（HER2過剰発現有り）の作製

実施例5-1にて作製したHER3変異体発現プラスミド（pLVSEF1 α flag-HER3（Q809R）Pur）を用いて、実施例2-4と同様の方法により、HER2過剰発現HER3安定発現細胞（polyclone）として、変異型HER3（Q809R）導入細胞を取得した。実施例2-4と同様の方法により、取得した細胞よりtotal RNAを抽出し、RT-PCR産物を1%アガロースゲル電気泳動に供し、HER3遺伝子発現（図34）及びHER2遺伝子発現（図35）を確認した。

[0177] 実施例5-3：細胞表面HER3発現陽性率の確認

実施例5-2で作製された変異型HER3（Q809R）導入細胞（HER2過剰発現有り）について、実施例2-5と同様の方法により、細胞表面HER3発現陽性率を確認した。細胞表面のHER3発現率は58.8%であり、抗HER3抗体-薬物コンジュゲートの特性を比較する分には支障ない値であると判断した。

[0178] 実施例5-4：変異型HER3（Q809R）導入細胞（HER2過剰発現有り）に対する結合性確認

実施例5-2で作製された変異型HER3（Q809R）導入細胞（HER2過剰発現有り）について、実施例3と同様の方法により、各濃度におけるHER3-ADC（1）の野生型および変異型HER3（Q809R）導

入細胞株に対する結合性評価を行った。変異型HER3（Q809R）導入細胞株に対するHER3-ADC（1）の結合は濃度依存的に増加し、野生型HER3と同様の結合性を示した（図36）。

[0179] 実施例5-5：変異型HER3（Q809R）導入細胞（HER2過剰発現有り）における*in vitro*細胞増殖抑制

実施例5-2で作製された変異型HER3（Q809R）導入細胞（HER2過剰発現有り）について、実施例4と同様の方法により、HER3-ADC（1）、HER3-Ab（1）、及びIgG-ADC（1）の野生型および変異型HER3（Q809R）導入細胞株に対する*in vitro*細胞増殖抑制評価を行った。HER3-ADC（1）は、野生型HER3導入細胞と同様に変異型HER3（Q809R）導入細胞に対しても細胞増殖抑制活性を示すことが判明した（図37）。

[0180] [実施例6] 野生型および各種変異型HER3導入細胞におけるHER3-ADC（1）のリソソーム移行性の確認

野生型および各種変異型HER3導入細胞におけるHER3-ADC（1）のリソソーム移行は、10%FBS（HyClone製）を含有するRPMI1640メディアム（ThermoFisher製）存在下で測定した。HER3-ADC（1）は、pH感受性を有する蛍光色素pHrodoにて標識し、リソソーム移行により発する蛍光シグナルを測定することで評価した。

[0181] 実施例6-1：pHrodo標識化HER3-ADC（1）の調製

pHrodo標識には、pHrodo（商標登録）iFL Microscale Protein Labeling Kitを使用した。HER3-ADC（1）を10mM Acetate/5% sorbitol（pH5.5，ナカライテスク製）にて1mg/mLに調製した。その100μL（100μg相当）を反応チューブに添加した。pHrodo（商標登録）iFL Red STP esterをDMSOに溶解し、HER3-ADC（1）のタンパク質モル数に対して10倍量に相当する量を反応チュ

ープに加えて混和したのち、室温で60分間反応させた。反応液をZeba-spin (商標登録) 脱塩カラム (ThermoFisher製) 及びAmicon Ultra-0.5 (Merk-Millipore社製) を用いて遠心することにより、pHrodo標識化HER3-ADC (1) を精製した。280nm及び566nmにおける吸光度をNanoDrop (商標登録) 8000 Spectrophotometerを用いて測定し、標識効率を算出した。

[0182] 実施例6-2: 培養細胞におけるリソソーム移行

野生型および各種変異型HER3導入細胞は、 5×10^4 cells / 100 μ L / wellの細胞懸濁液として、96マイクロウェルプレート (Cellcarrier-96 Ultra, ThermoFisher製) に播種した。翌日、メディウムを吸引したのち、10%FBS含有RPMI 1640メディウムにて100ng/mLに希釈したHoechst 33342 (Life Technologies製) を50 μ L添加した。30分後に、100ng/mLのHoechst 33342を含有する10%FBS含有RPMI 1640メディウムにて調製したpHrodo標識化HER3-ADC (1) の2倍濃縮液を50 μ L、陰性対照にはpHrodo標識化HER3-ADC (1) の代わりにメディウムを添加した。蛍光シグナルをOpera Phenix (商標登録) ハイスループット・ハイコンテンツイメージングシステム (Perkin Elmer製) を用いて、10時間に亘って30分毎にライブセルイメージング画像を取得した。測定は、1条件あたり3スポット/ウェルで実施した。取得した画像は、イメージ解析ソフトウェアHarmony (商標登録) (Perkin Elmer製) を用いて定量解析した。なお、定量値は1細胞当たりの蛍光ドット数に対して1ドット当たりの蛍光強度を乗じた値 (Trafficking index) として示した。

[0183] 結果を図38~64に示す。図38~49はHER3安定発現細胞 (HER2過剰発現無し) の結果、図50~62はHER3安定発現細胞 (HER

2 過剰発現有り)の結果を示す。

[0184] pHrodol 標識化HER3-ADC (1) は、野生型HER3 導入細胞と同様に各種変異型HER3 導入細胞に対しても濃度依存的なリソソーム移行性を示した(図38~図49)。これにより、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性は、野生型HER3 発現細胞と、変異型HER3 発現細胞との間で実質的に異なることが判明した。

[0185] また、pHrodol 標識化HER3-ADC (1) は、HER2 過剰発現HER3 安定発現細胞においても、濃度依存的なリソソーム移行性を示すことが判明した(図50~図62)。また、この時に比較対象として、再度、HER2 過剰発現無しの細胞におけるHER3-ADC (1) のリソソーム移行性を確認した(図63、64)。これにより、HER3-ADC (1) のリソソーム移行性は、HER2 を過剰発現しているHER3 発現細胞と、HER2 を過剰発現していないHER3 発現細胞との間で実質的に異なることが判明した。

[0186] 以上の結果より、HER3-ADC (1) は、HER2 の過剰発現の有無にかかわらず各種変異型HER3 導入細胞に対し細胞増殖抑制活性を示すことが確認された。

[0187] 現在、HER3-ADC (1) の臨床試験が進行中であるが、野生型HER3 の症例と同様に、変異型HER3 の症例に対しても臨床有効性が期待できることが示唆された。

配列表フリーテキスト

- [0188] 配列番号1 : 抗HER3 抗体のCDRH1 のアミノ酸配列
配列番号2 : 抗HER3 抗体のCDRH2 のアミノ酸配列
配列番号3 : 抗HER3 抗体のCDRH3 のアミノ酸配列
配列番号4 : 抗HER3 抗体のCDRL1 のアミノ酸配列
配列番号5 : 抗HER3 抗体のCDRL2 のアミノ酸配列
配列番号6 : 抗HER3 抗体のCDRL3 のアミノ酸配列
配列番号7 : 抗HER3 抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列

配列番号 8 : 抗HER3抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列

配列番号 9 : 抗HER3抗体の重鎖のアミノ酸配列

配列番号 10 : 抗HER3抗体の軽鎖のアミノ酸配列

配列番号 11 : HER3 IF プライマー (Fw) のヌクレオチド配列

配列番号 12 : HER3 IF プライマー (Rev) のヌクレオチド配列

配列番号 13 : Flag IF プライマー (Fw) のヌクレオチド配列

配列番号 14 : Flag IF プライマー (Rev) のヌクレオチド配列

配列番号 15 : Flag-HER3 (WT) をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号 16 : Flag-HER3 (WT) のアミノ酸配列

配列番号 17 : HER3変異導入プライマー (Fw) のヌクレオチド配列

配列番号 18 : HER3変異導入プライマー (Rev) のヌクレオチド配列

配列番号 19 : Flag-HER3 (V104L) をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号 20 : Flag-HER3 (V104L) のアミノ酸配列

配列番号 21 : HER3変異導入プライマー (Fw) のヌクレオチド配列

配列番号 22 : HER3変異導入プライマー (Rev) のヌクレオチド配列

配列番号 23 : Flag-HER3 (V104M) をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号 24 : Flag-HER3 (V104M) のアミノ酸配列

配列番号 25 : HER3変異導入プライマー (Fw) のヌクレオチド配列

配列番号 26 : HER3変異導入プライマー (Rev) のヌクレオチド配列

配列番号 27 : Flag-HER3 (A232V) をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号 28 : Flag-HER3 (A232V) のアミノ酸配列

配列番号 29 : HER3変異導入プライマー (Fw) のヌクレオチド配列

配列番号 30 : HER3変異導入プライマー (Rev) のヌクレオチド配列

[0189] 配列番号 31 : Flag-HER3 (P262H) をコードするcDNAの

ヌクレオチド配列

配列番号32 : F l a g - H E R 3 (P 2 6 2 H) のアミノ酸配列

配列番号33 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号34 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号35 : F l a g - H E R 3 (G 2 8 4 R) をコードするcDNAの
ヌクレオチド配列

配列番号36 : F l a g - H E R 3 (G 2 8 4 R) のアミノ酸配列

配列番号37 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号38 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号39 : F l a g - H E R 3 (D 2 9 7 Y) をコードするcDNAの
ヌクレオチド配列

配列番号40 : F l a g - H E R 3 (D 2 9 7 Y) のアミノ酸配列

配列番号41 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号42 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号43 : F l a g - H E R 3 (G 3 2 5 R) をコードするcDNAの
ヌクレオチド配列

配列番号44 : F l a g - H E R 3 (G 3 2 5 R) のアミノ酸配列

配列番号45 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号46 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号47 : F l a g - H E R 3 (T 3 5 5 I) をコードするcDNAの
ヌクレオチド配列

配列番号48 : F l a g - H E R 3 (T 3 5 5 I) のアミノ酸配列

配列番号49 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号50 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

[0190] 配列番号51 : F l a g - H E R 3 (S 8 4 6 I) をコードするcDNAの
ヌクレオチド配列

配列番号52 : F l a g - H E R 3 (S 8 4 6 I) のアミノ酸配列

配列番号53 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号54 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号55 : F l a g - H E R 3 (E 9 2 8 G) をコードする c D N A の
ヌクレオチド配列

配列番号56 : F l a g - H E R 3 (E 9 2 8 G) のアミノ酸配列

配列番号57 : H E R 2 I F プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号58 : H E R 2 I F プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号59 : H E R 2 をコードする c D N A のヌクレオチド配列

配列番号60 : H E R 2 のアミノ酸配列

配列番号61 : H E R 3 プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号62 : H E R 3 プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号63 : H E R 2 プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号64 : H E R 2 プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号65 : H E R 3 変異導入プライマー (F w) のヌクレオチド配列

配列番号66 : H E R 3 変異導入プライマー (R e v) のヌクレオチド配列

配列番号67 : F l a g - H E R 3 (Q 8 0 9 R) をコードする c D N A の
ヌクレオチド配列

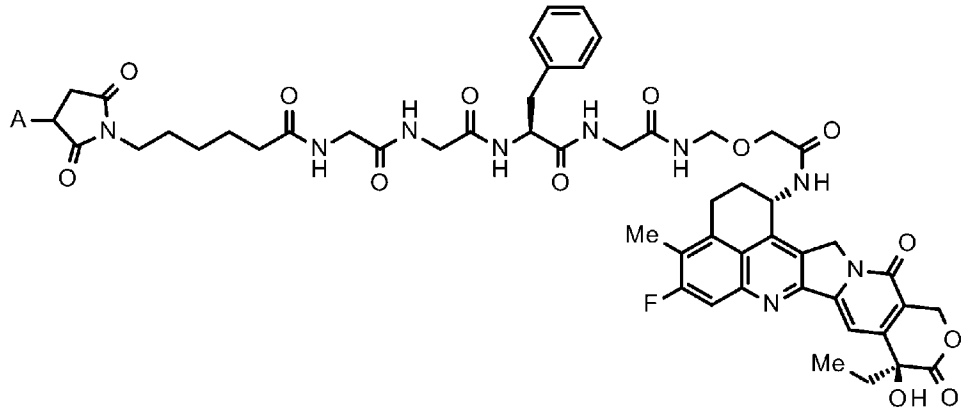
配列番号68 : F l a g - H E R 3 (Q 8 0 9 R) のアミノ酸配列

配列番号69 : H E R 3 蛋白のアミノ酸配列

請求の範囲

- [請求項1] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを有効成分として含有する、HER3変異がんの治療剤。
- [請求項2] HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項1に記載の治療剤。
- [請求項3] HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、請求項1に記載の治療剤。
- [請求項4] HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、請求項1～3のいずれか1項に記載の治療剤。
- [請求項5] HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、請求項1～3のいずれか1項に記載の治療剤。
- [請求項6] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異ならない、請求項1～5のいずれか1項に記載の治療剤。
- [請求項7] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異ならない、請求項1～6のいずれか1項に記載の治療剤。
- [請求項8] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[化1]

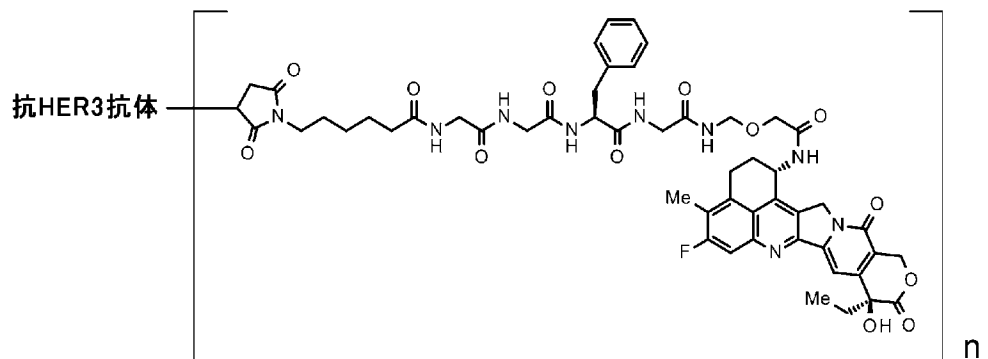


(式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、請求項1～7のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項9] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[化2]



(式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合しており、nは1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)

で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、請求項1～

7のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項10] 抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、請求項1～9のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項11] 抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、請求項1～9のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項12] 抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、請求項1～9のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項13] 抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項12に記載の治療剤。

[請求項14] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、請求項1～13のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項15] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、請求項1～13のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項16] がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝

癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項1～15のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項17] がんが、乳がん、非小細胞肺癌、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項1～15のいずれか1項に記載の治療剤。

[請求項18] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートを、HER3変異がんを有することが確認された患者に投与することを特徴とする、がんの治療方法。

[請求項19] HER3変異がんにおけるHER3変異が、V104L、V104M、A232V、P262H、G284R、D297Y、G325R、T355I、Q809R、S846I、及びE928Gからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項18に記載の治療方法。

[請求項20] HER3変異がんにおけるHER3変異が、Q809Rである、請求項18に記載の治療方法。

[請求項21] HER3変異がんが、HER2を過剰発現している、請求項18～20のいずれか1項に記載の治療方法。

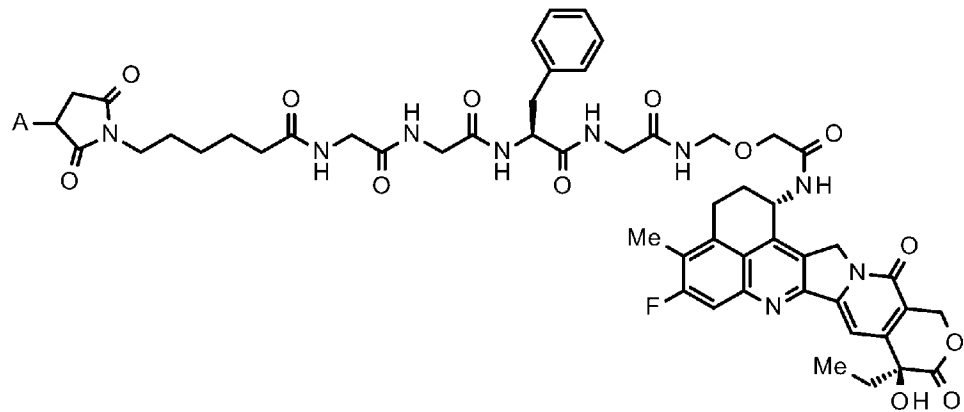
[請求項22] HER3変異がんが、HER2を過剰発現していない、請求項18～20のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項23] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、野生型HER3発現細胞と、変異型HER3発現細胞との間で実質的に異なる、請求項18～22のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項24] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートのリソソーム移行性が、HER2を過剰発現しているHER3発現細胞と、HER2を過剰発現していないHER3発現細胞との間で実質的に異なる、請求項18～23のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項25] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[化3]

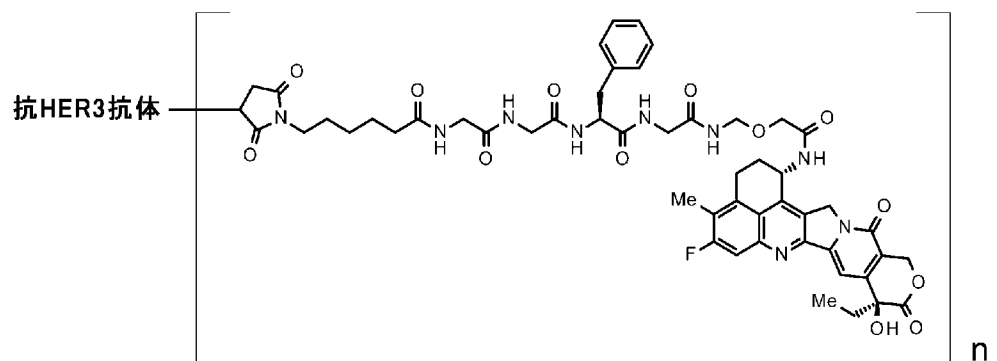


(式中、Aは抗HER3抗体との結合位置を示す)

で示される薬物リンカーと、抗HER3抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、請求項18~24のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項26] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートが、式

[化4]



(式中、薬物リンカーは抗HER3抗体とチオエーテル結合によって結合しており、nは1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す)

で示される抗HER3抗体-薬物コンジュゲートである、請求項18

～24のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項27] 抗HER3抗体が、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号3で示されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖、並びに、配列番号4で示されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号5で示されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号6で示されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、を含む抗体である、請求項18～26のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項28] 抗HER3抗体が、配列番号7で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体である、請求項18～26のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項29] 抗HER3抗体が、配列番号9で示されるアミノ酸配列からなる重鎖、及び配列番号10で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖、を含む抗体である、請求項18～26のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項30] 抗HER3抗体の、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項29に記載の治療方法。

[請求項31] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7から8個の範囲である、請求項18～30のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項32] 抗HER3抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が7.5から8個の範囲である、請求項18～30のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項33] がんが、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、メラノーマ、腎がん、尿路上皮がん、前立腺がん、膵がん、膀胱がん、胃腸間質腫瘍、子宮頸がん、食道がん、扁平上皮がん、腹膜がん、多形グリア芽細胞腫、肝臓がん、肝細胞がん、子宮内膜がん、子宮がん、唾液腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝

癌腫、肛門癌腫、及び陰茎がんからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項18～32のいずれか1項に記載の治療方法。

[請求項34]

がんが、乳がん、非小細胞肺癌、大腸がん、胃がん、卵巣がん、頭頸部がん、多形神経膠芽腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項18～32のいずれか1項に記載の治療方法。

[図1]

配列番号1：抗HER3抗体重鎖のアミノ酸配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVAVYGGSFSGYYWSWIR
 QPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRTISVETSKN
 QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVT
 VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS
 SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
 VLTVHLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKKGQ
 PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

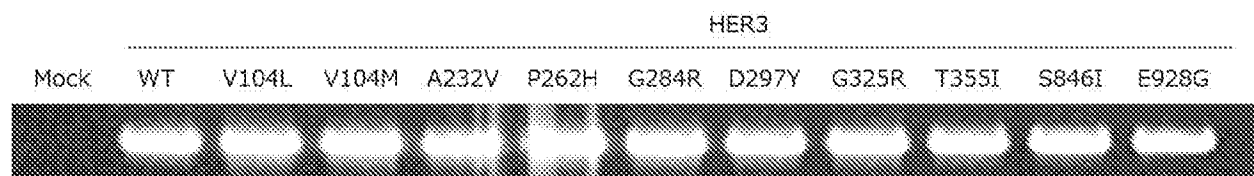
[図2]

配列番号2：抗HER3抗体軽鎖のアミノ酸配列

DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNY
 LAWYQQNPGQPPLLIIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD
 FTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKR
 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKA
 DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

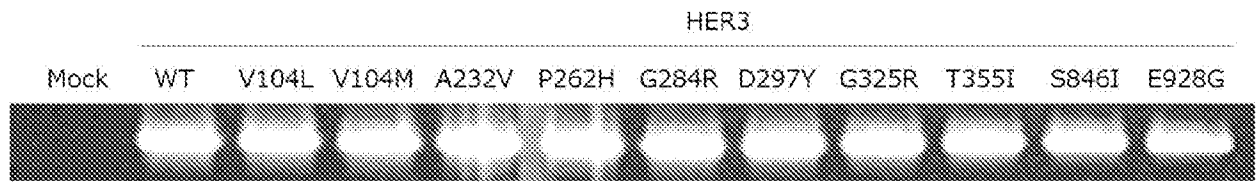
[図3]

HER3 expression



[図4]

HER3 expression

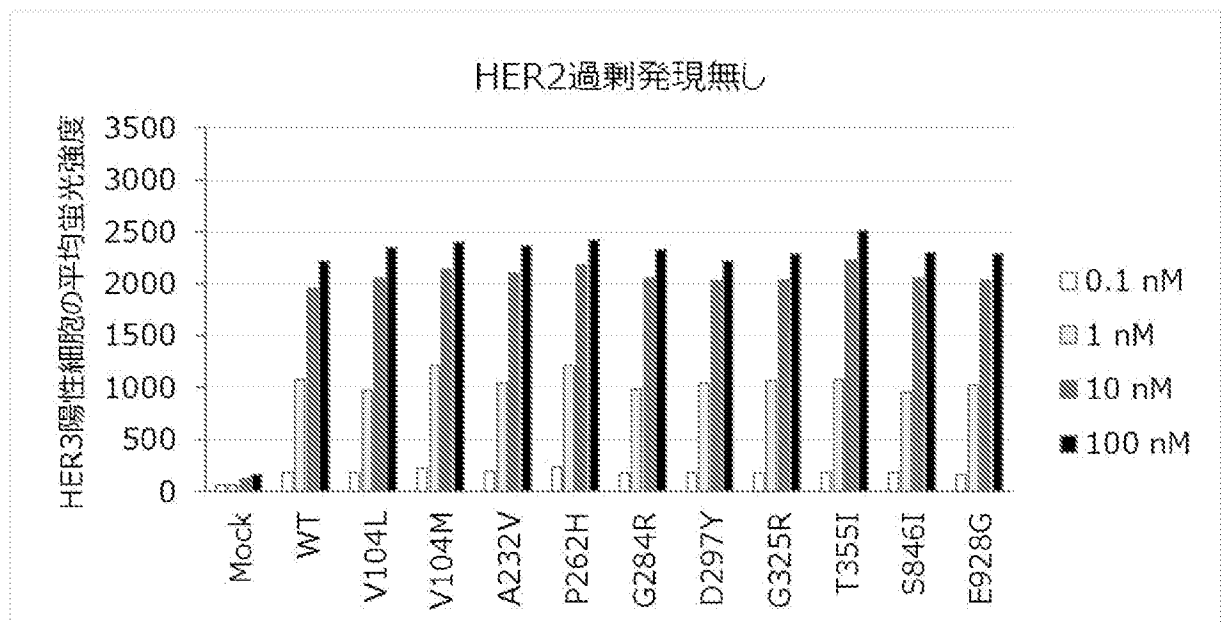


[図5]

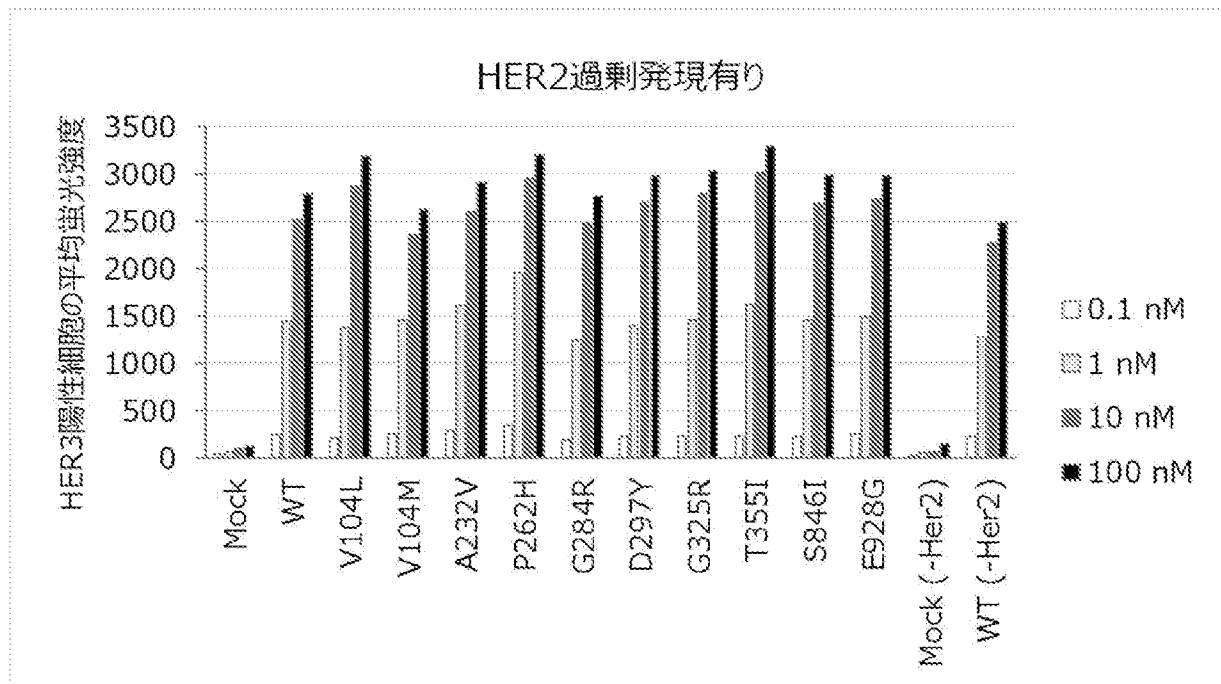
HER2 expression



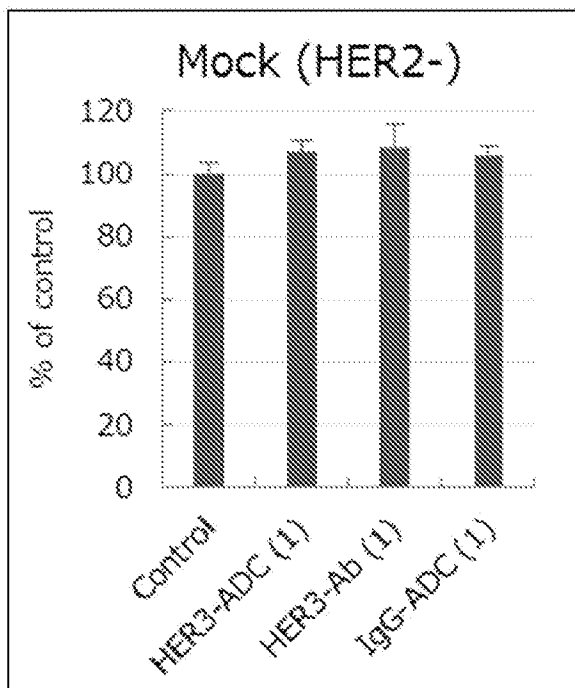
[図6]



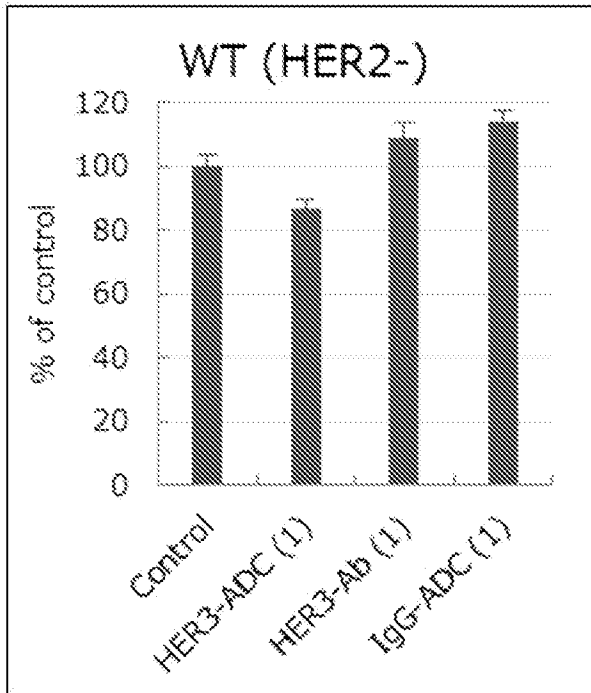
[図7]



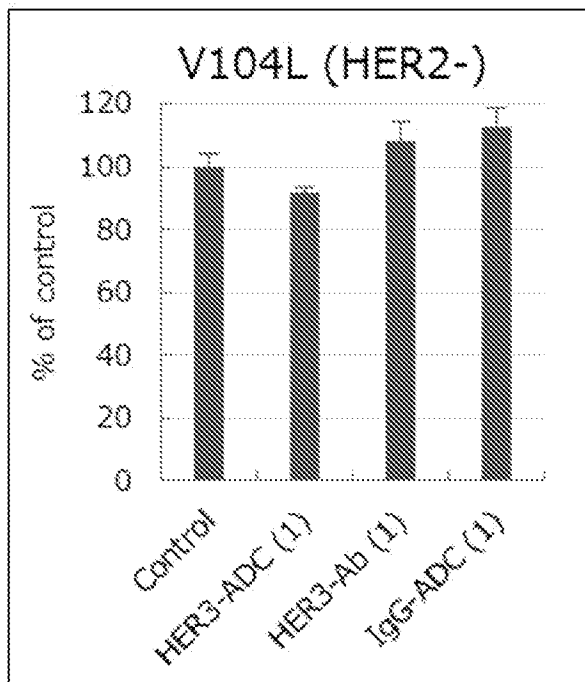
[図8]



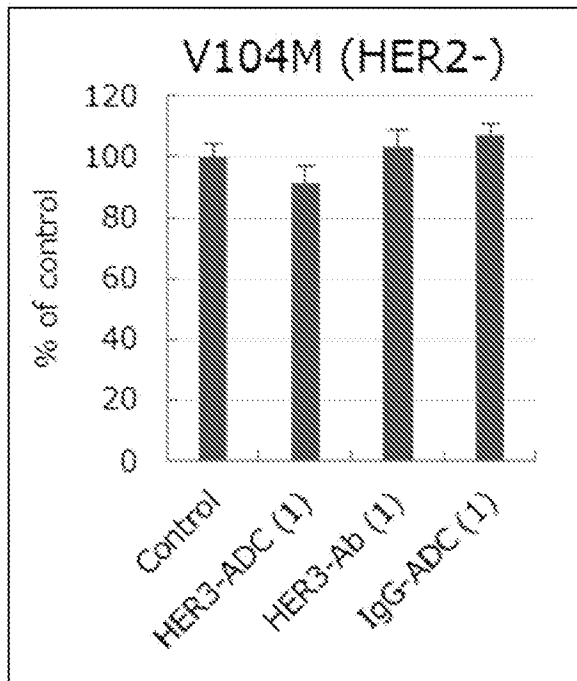
[図9]



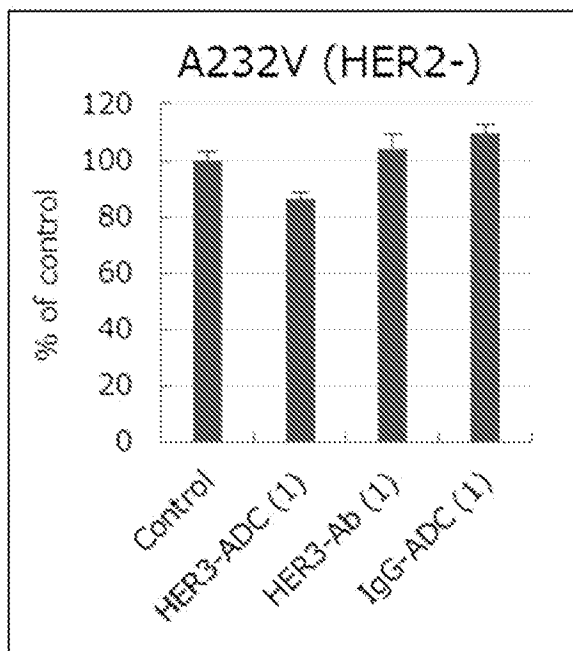
[図10]



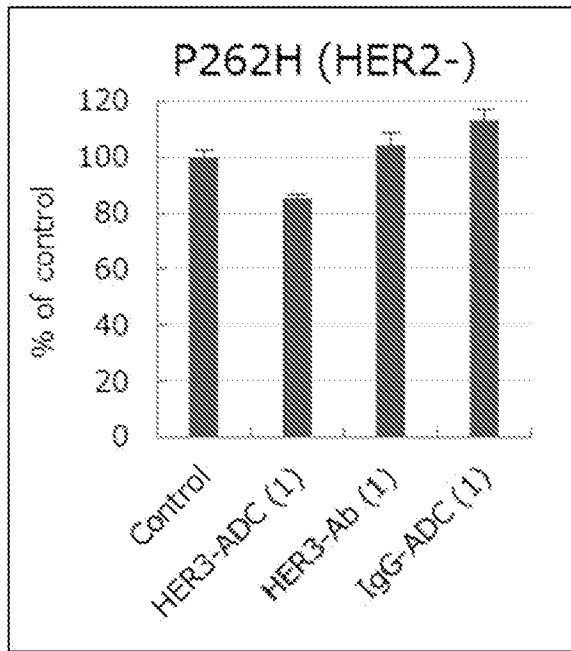
[圖11]



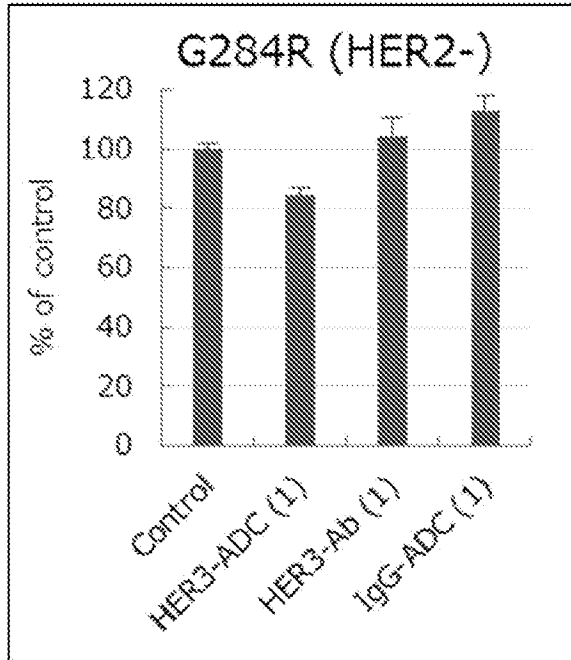
[圖12]



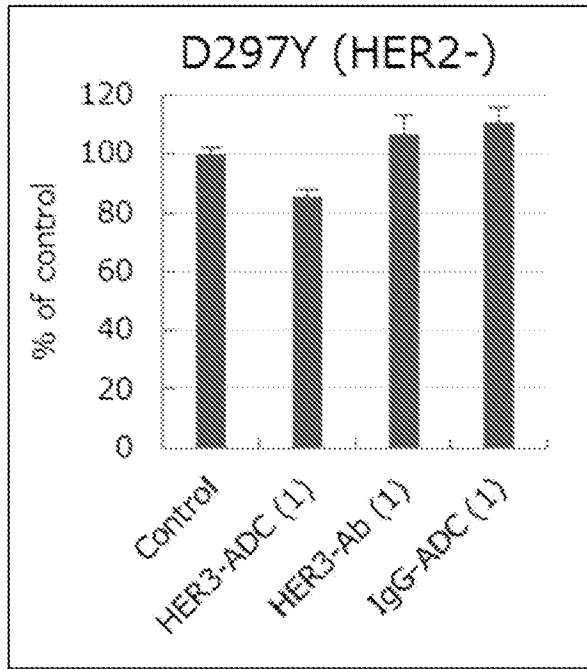
[圖13]



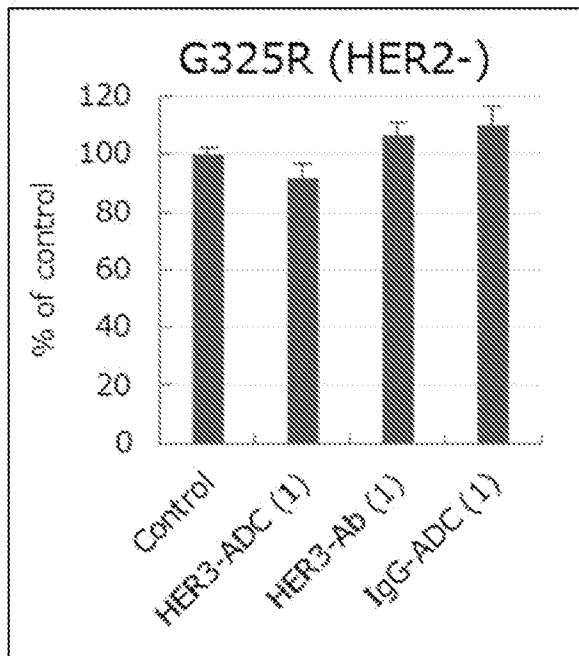
[圖14]



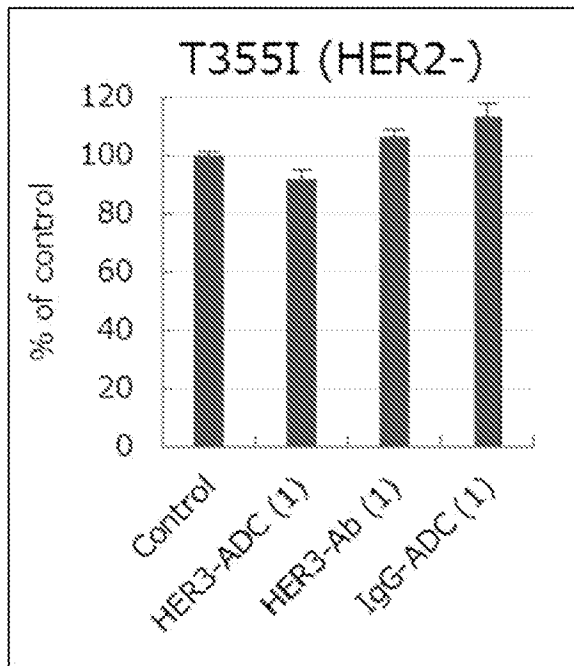
[15]



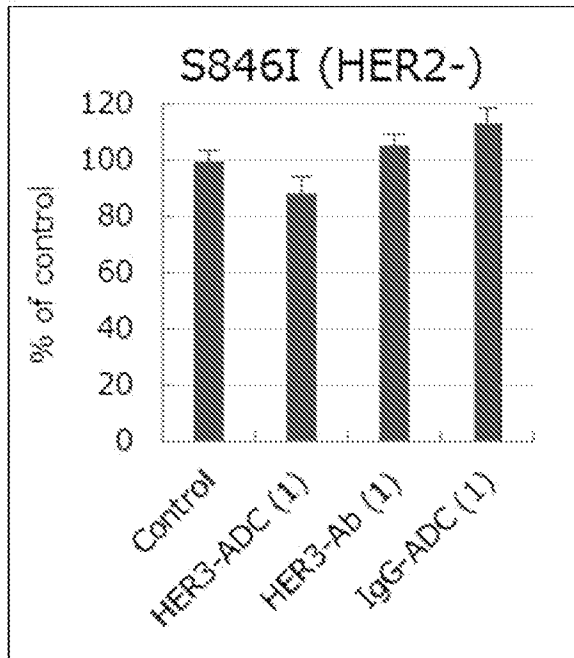
[16]



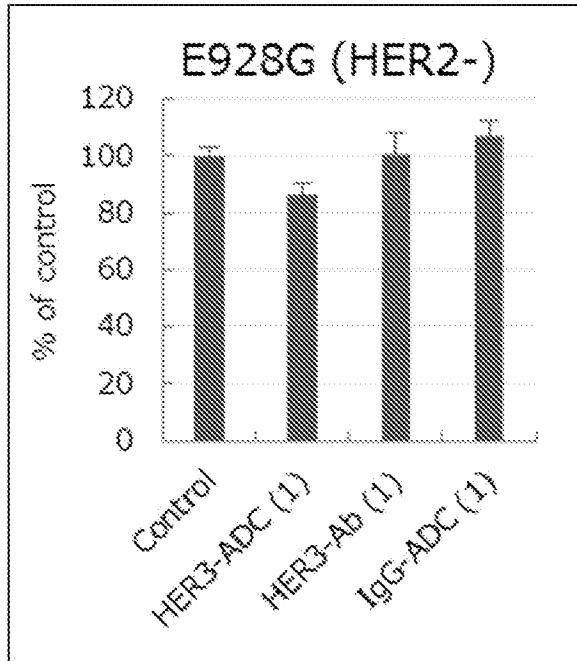
[17]



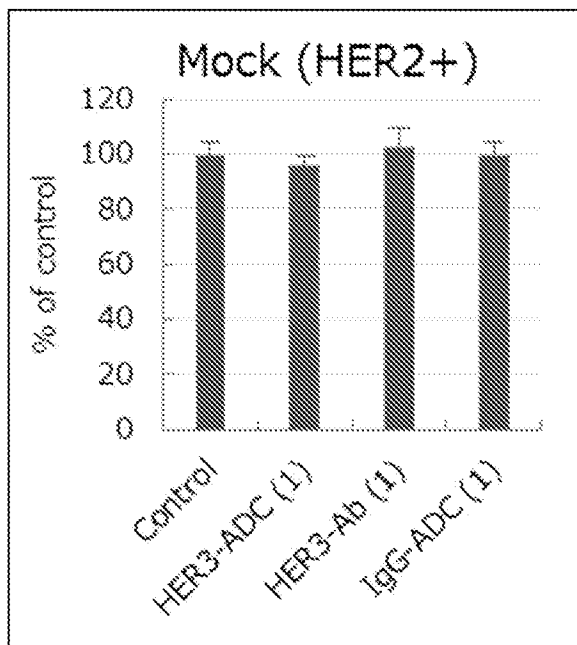
[18]



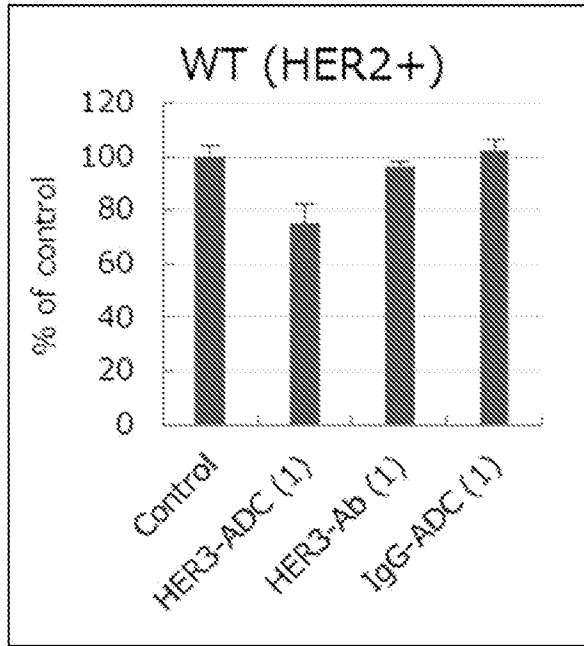
[圖19]



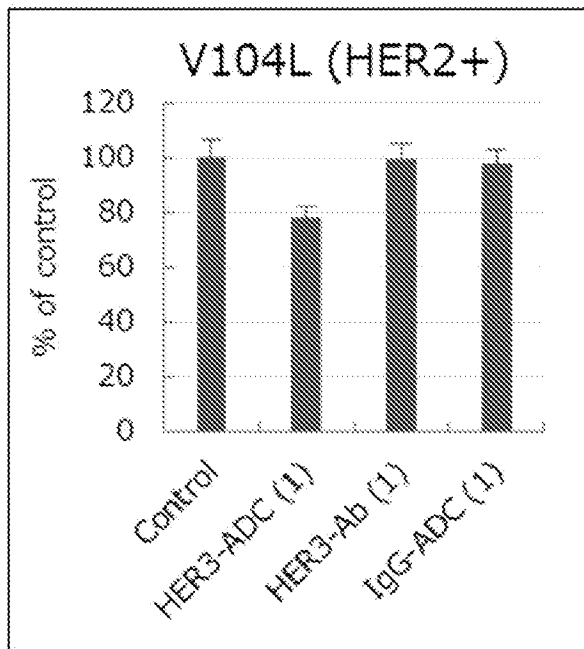
[圖20]



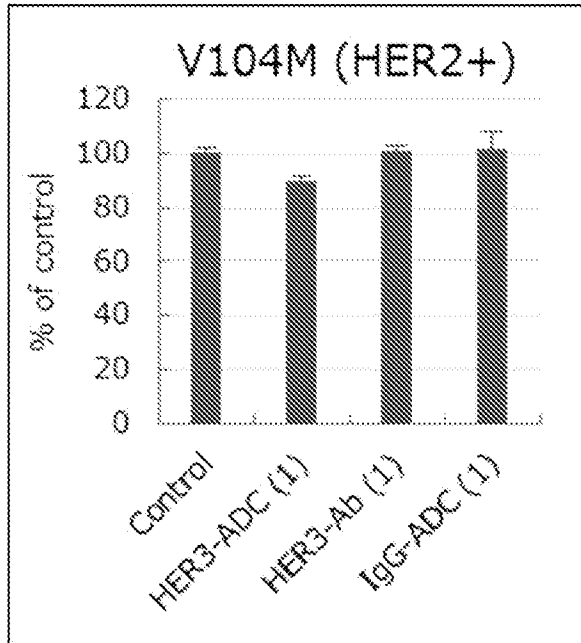
[圖21]



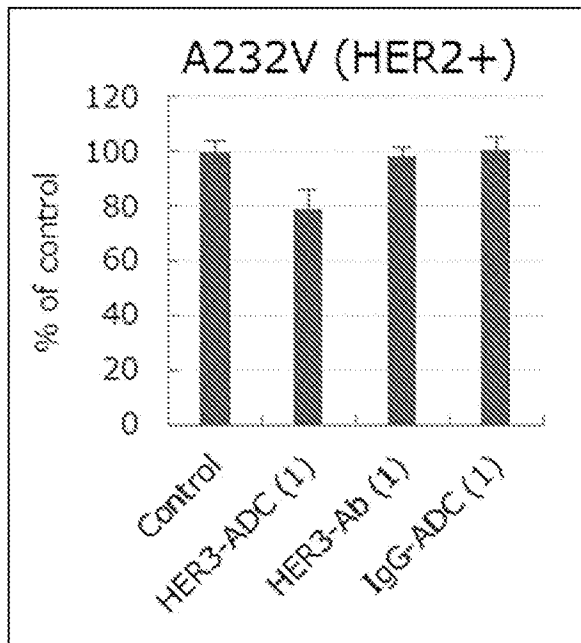
[圖22]



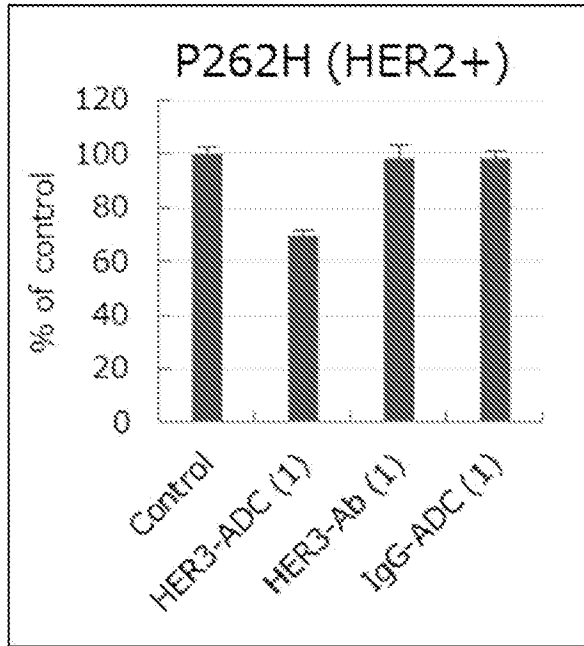
[23]



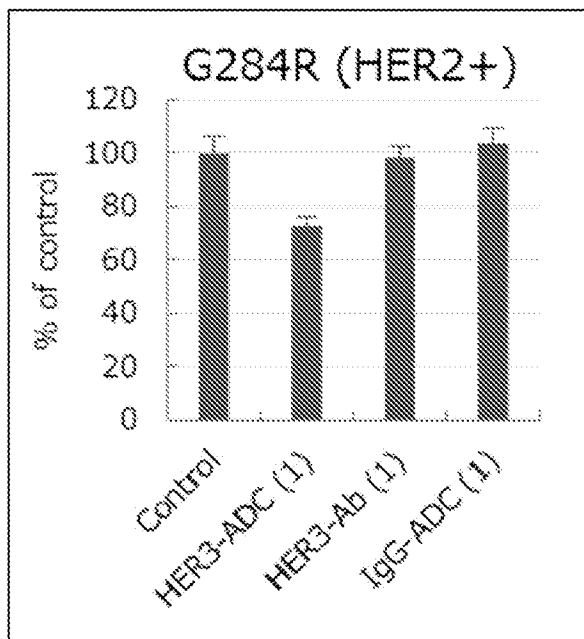
[24]



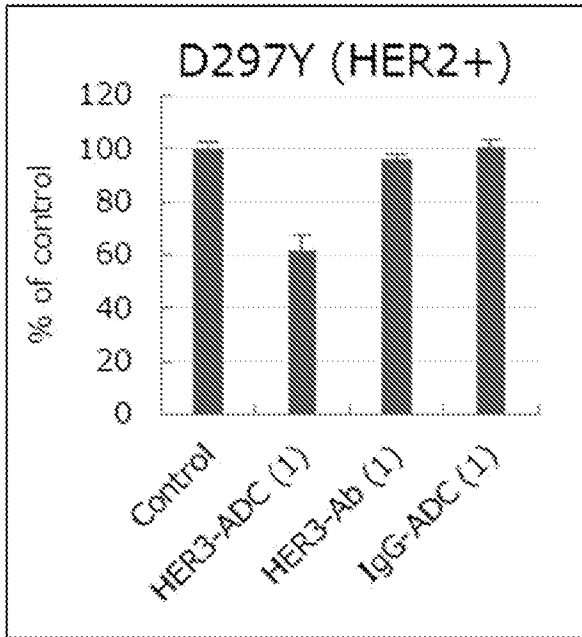
[圖25]



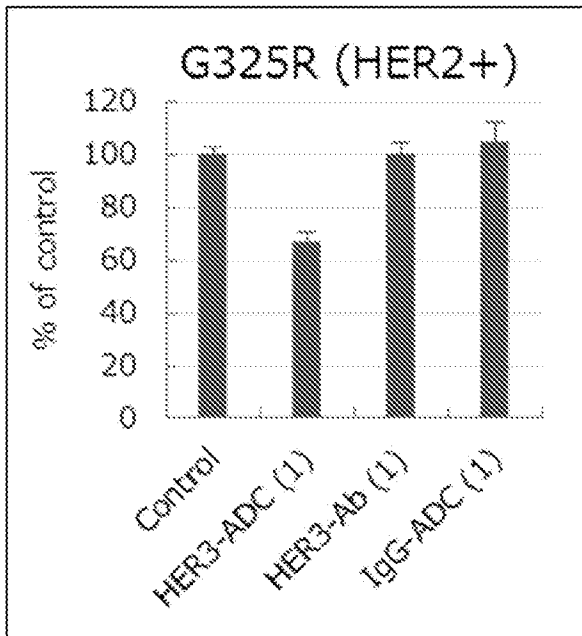
[圖26]


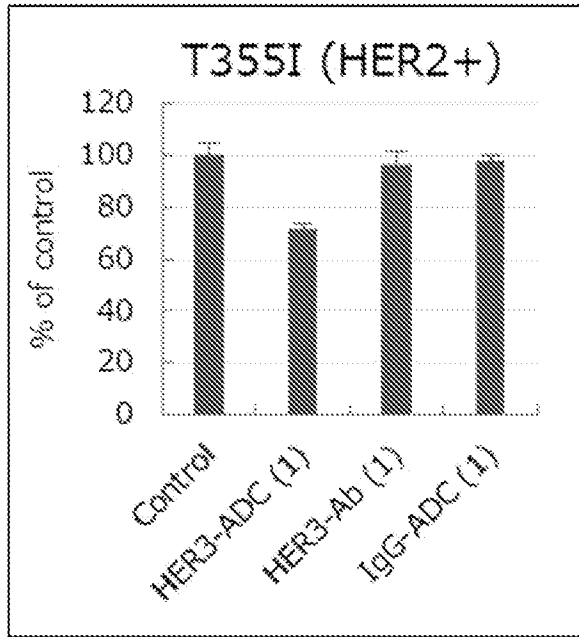
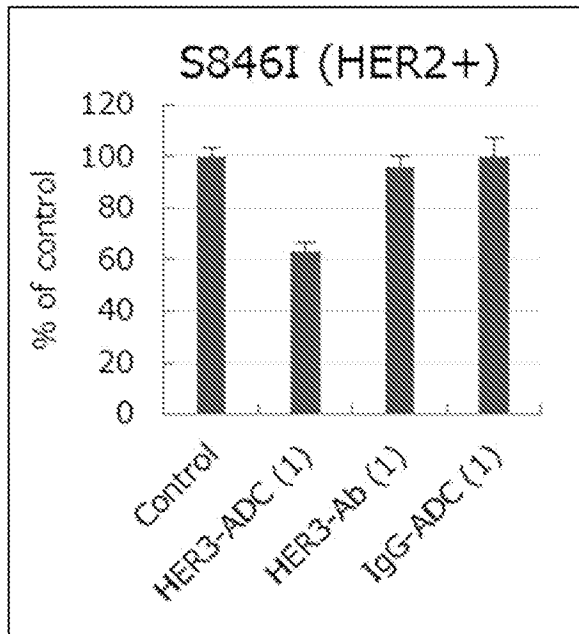



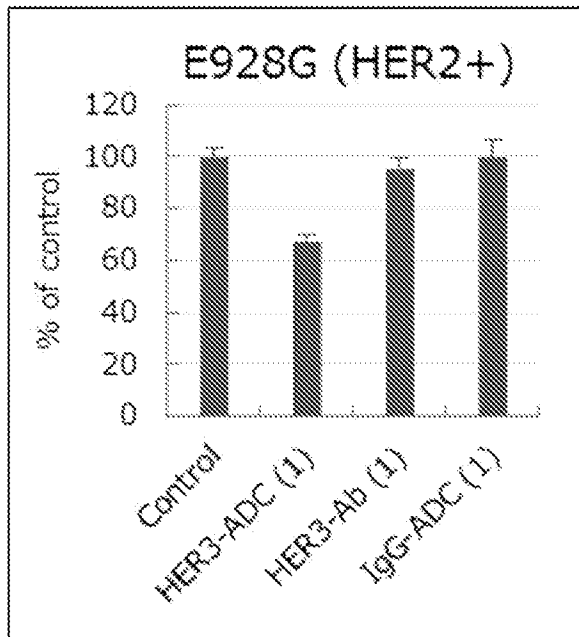

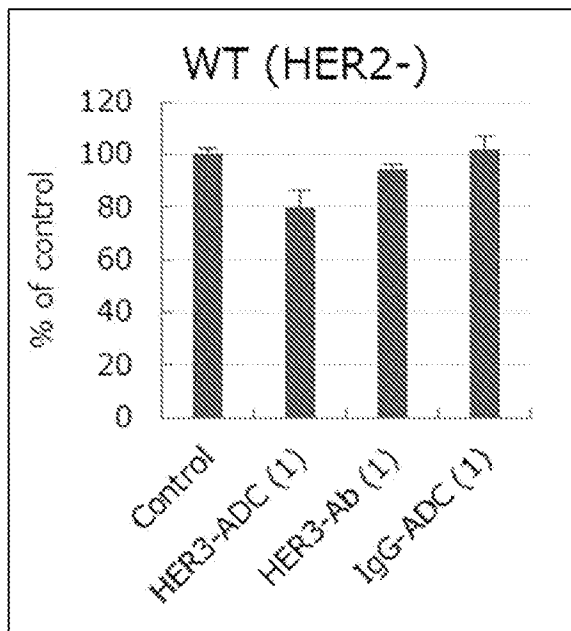
[圖27]



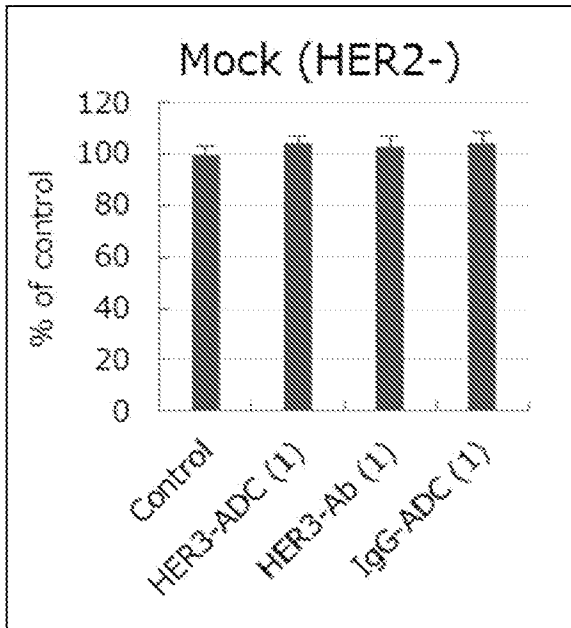
[圖28]



[29][30]

[31][32]

[圖33]



[圖34]

HER3 expression

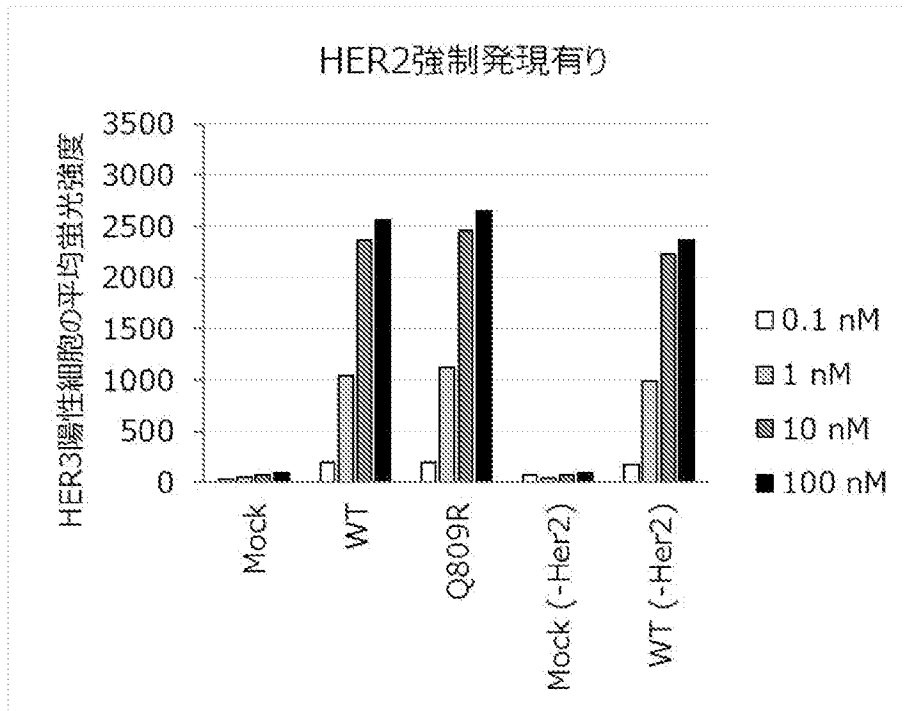


[圖35]

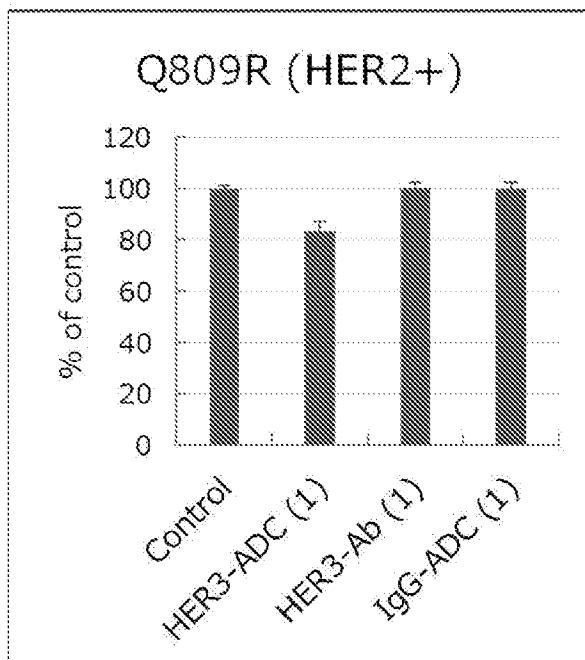
HER2 expression



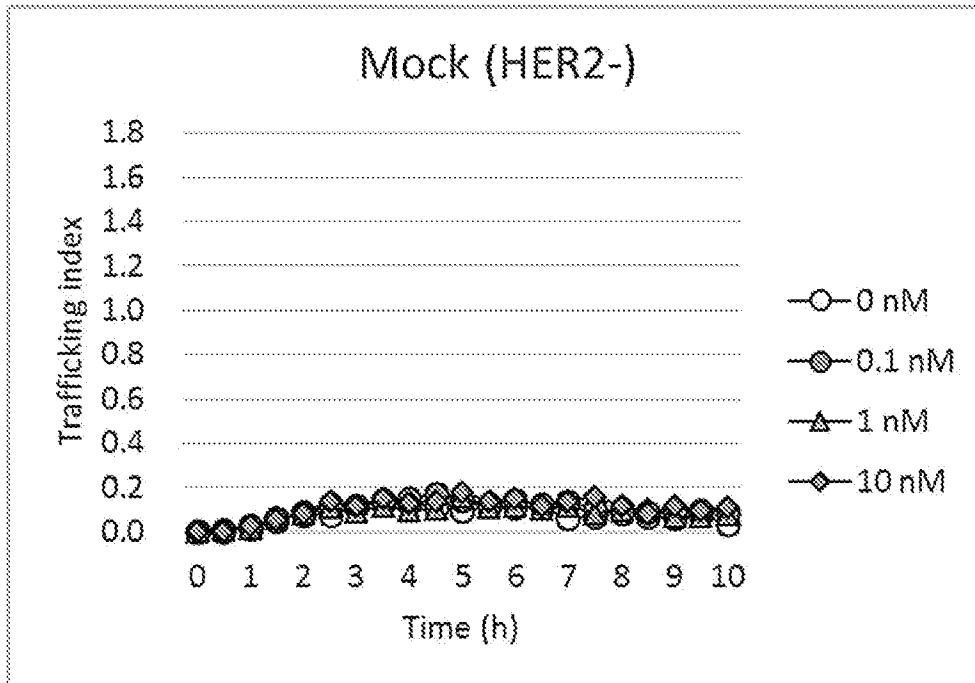
[図36]



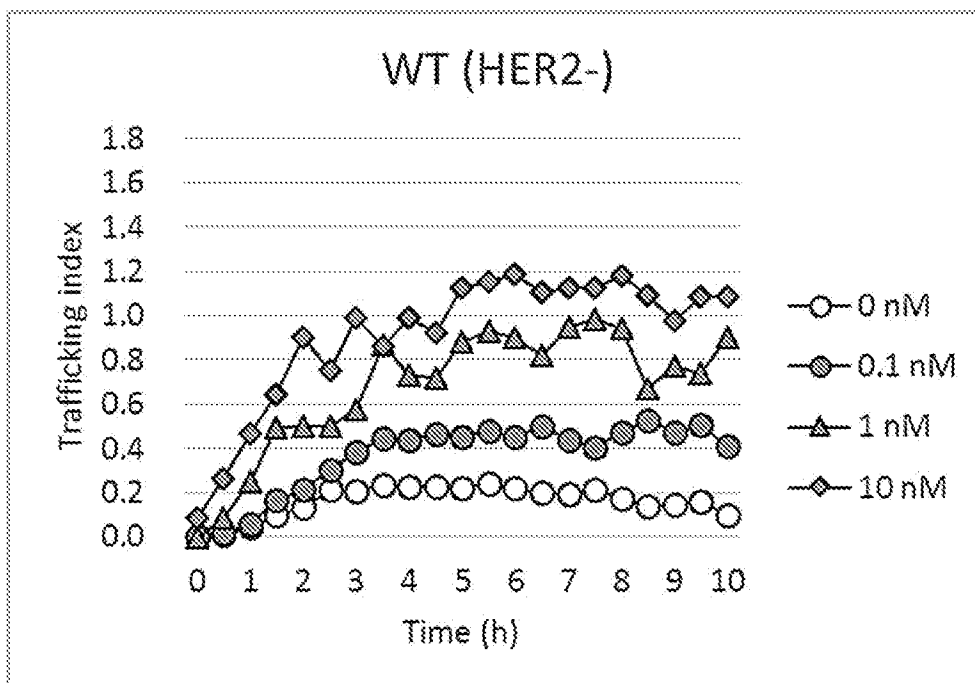
[図37]



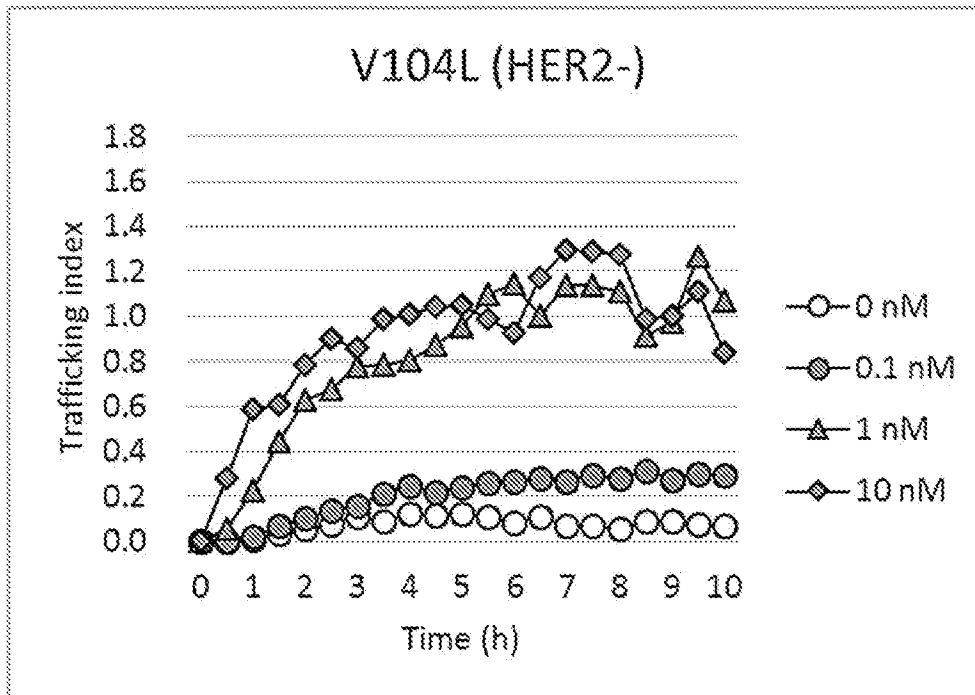
[38]



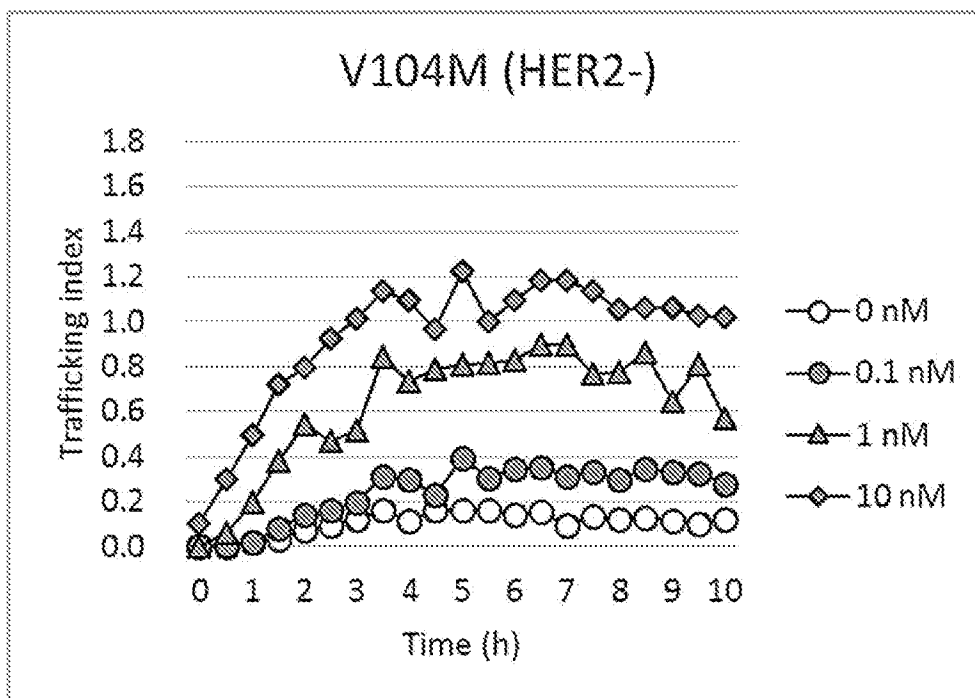
[39]



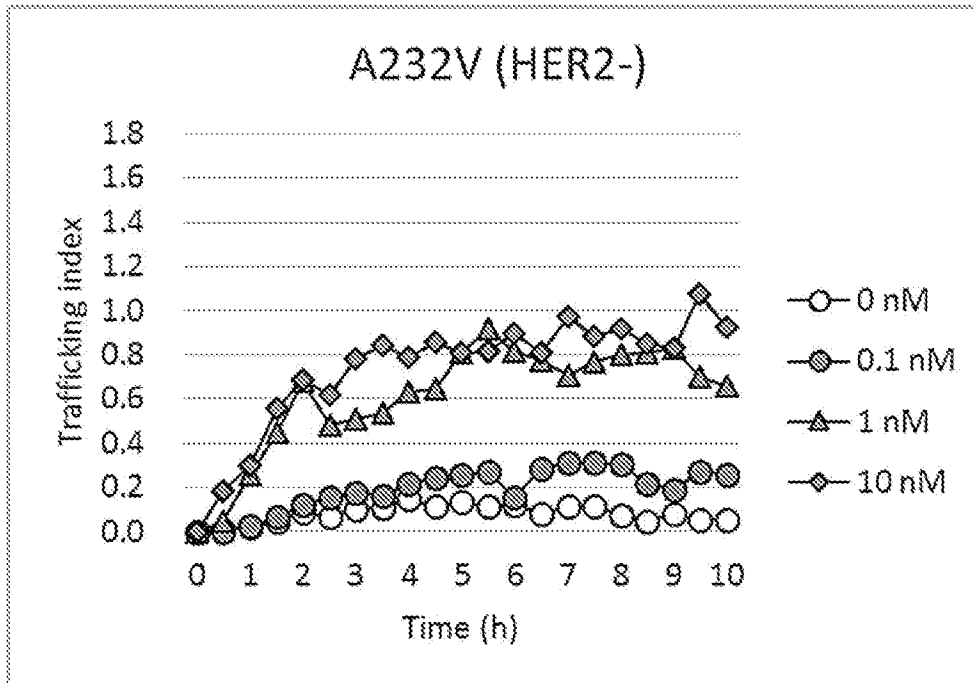
[図40]



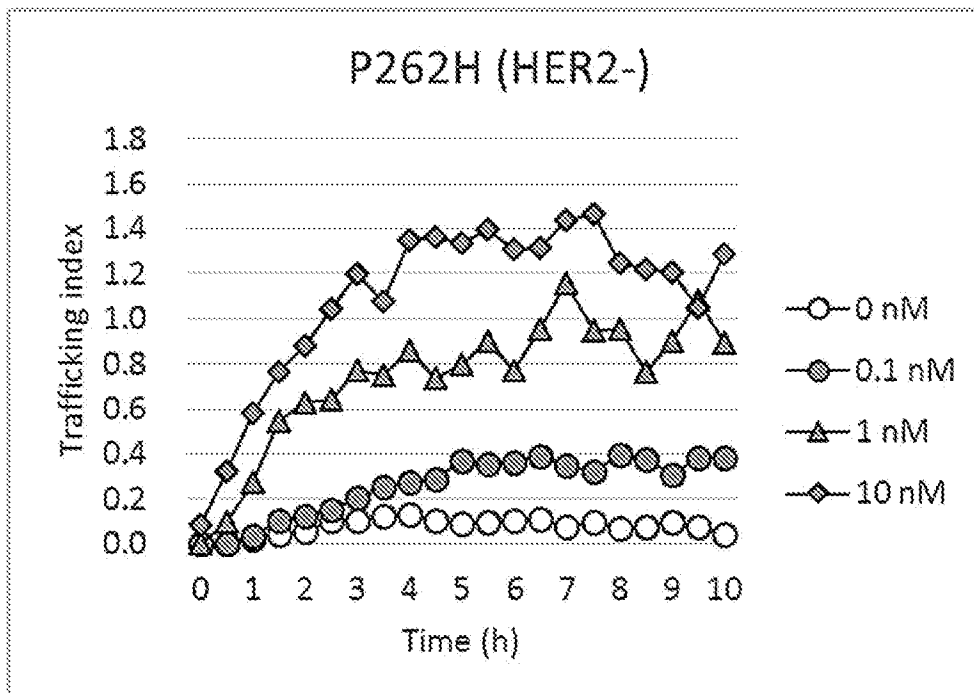
[図41]



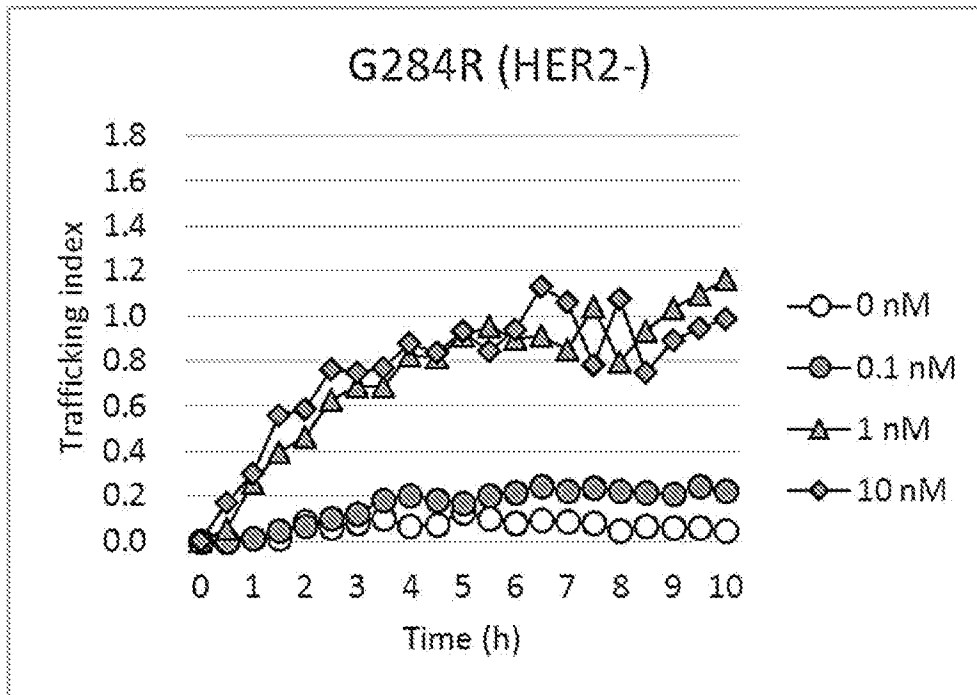
[圖42]



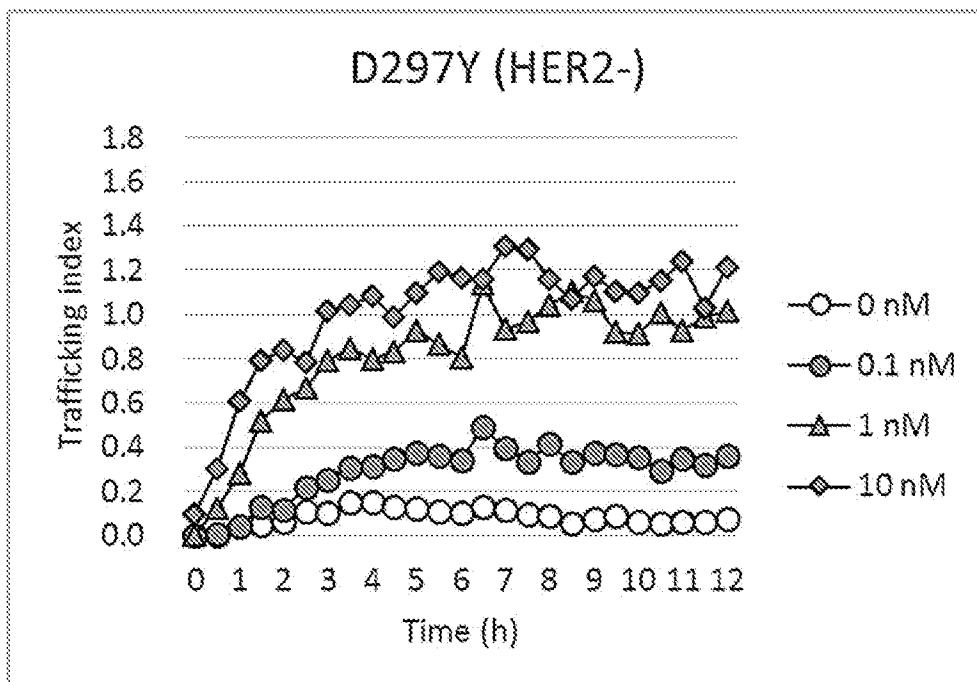
[圖43]



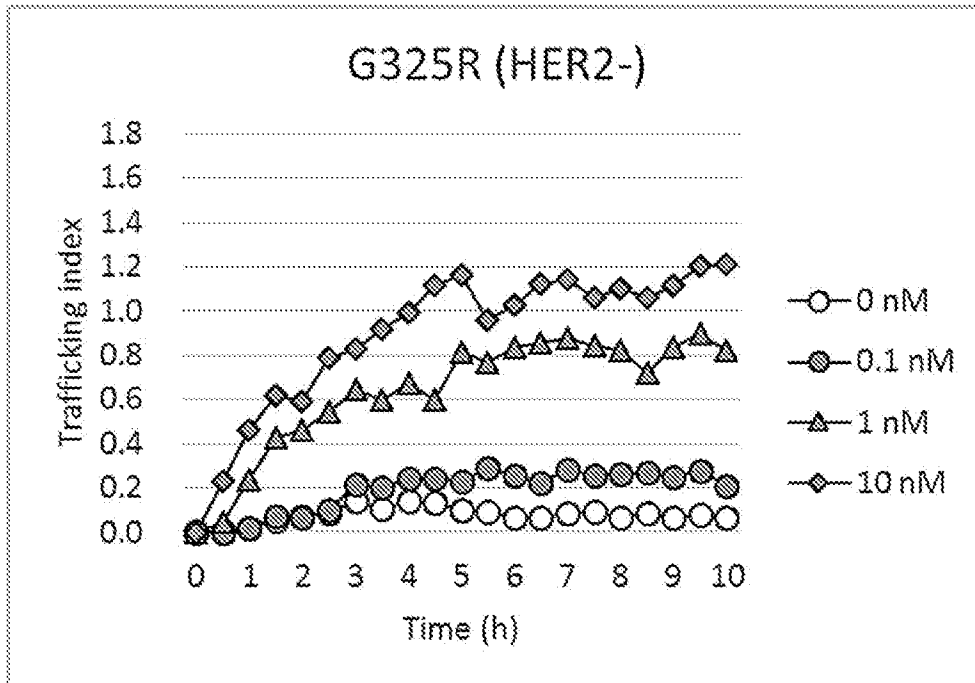
[図44]



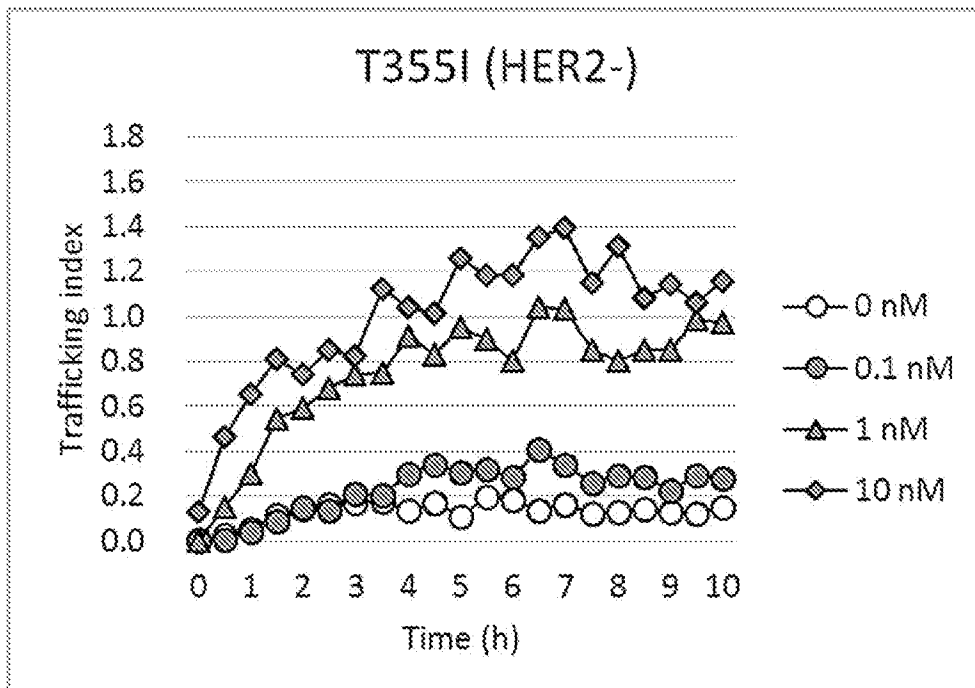
[図45]



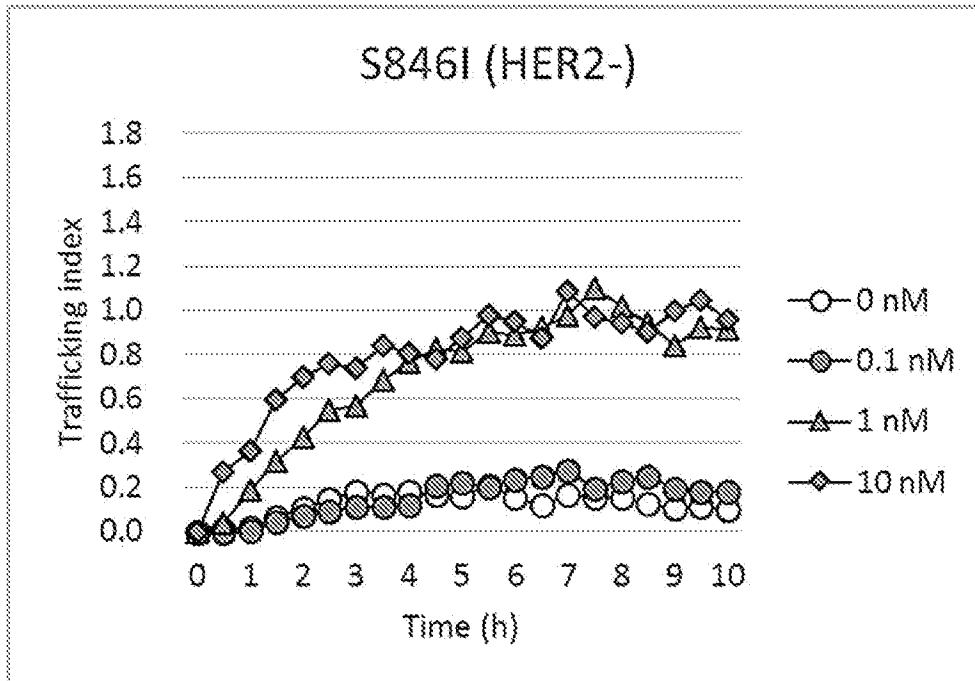
[圖46]



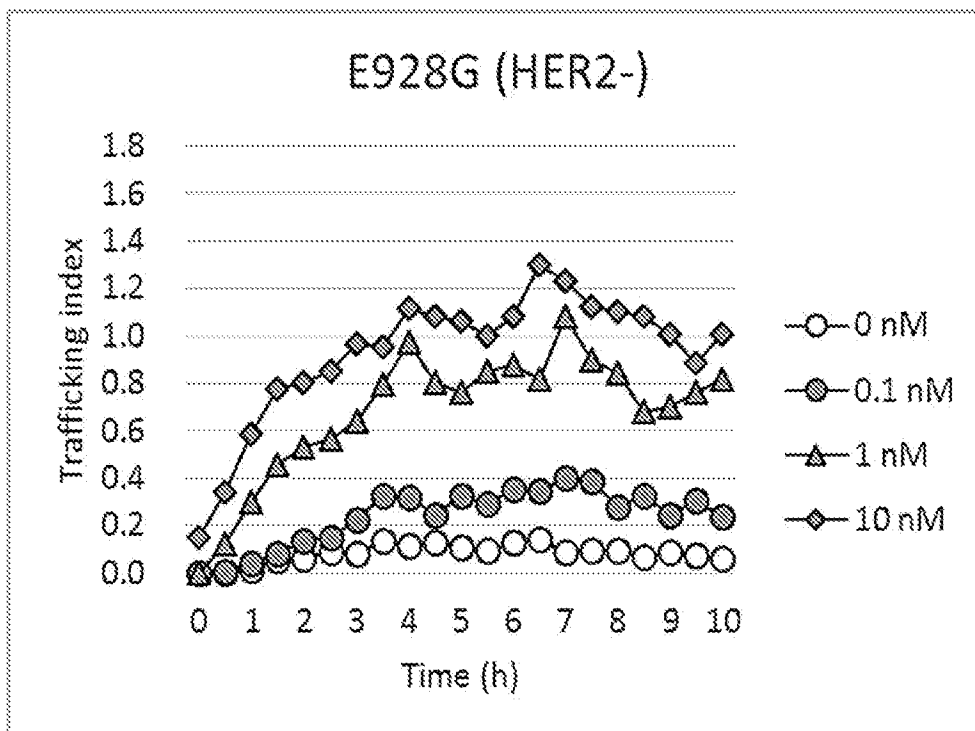
[圖47]



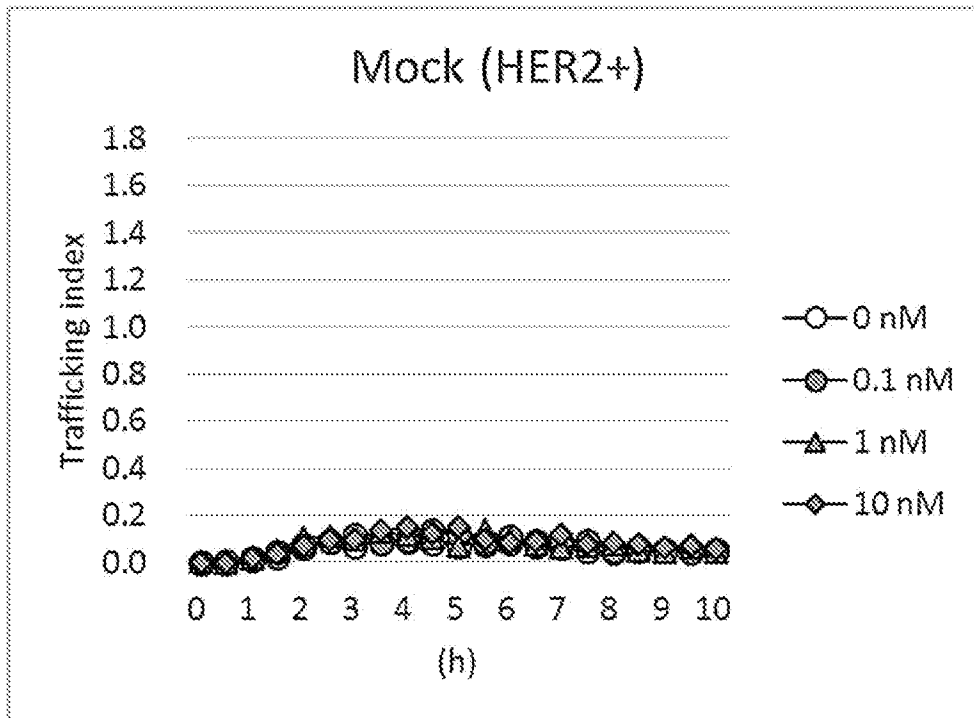
[圖48]



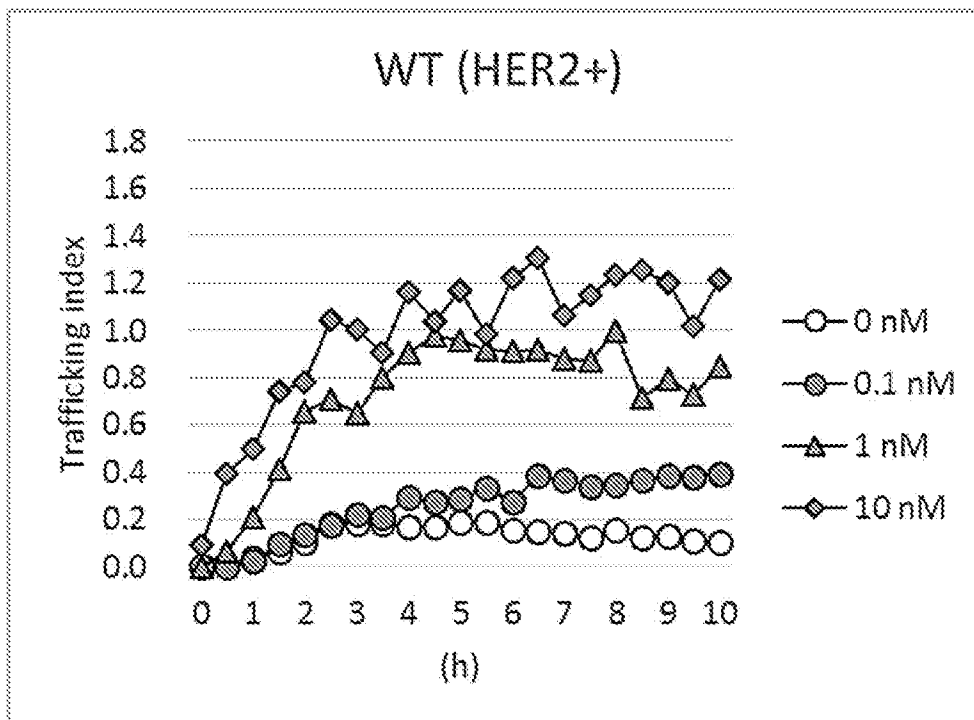
[圖49]



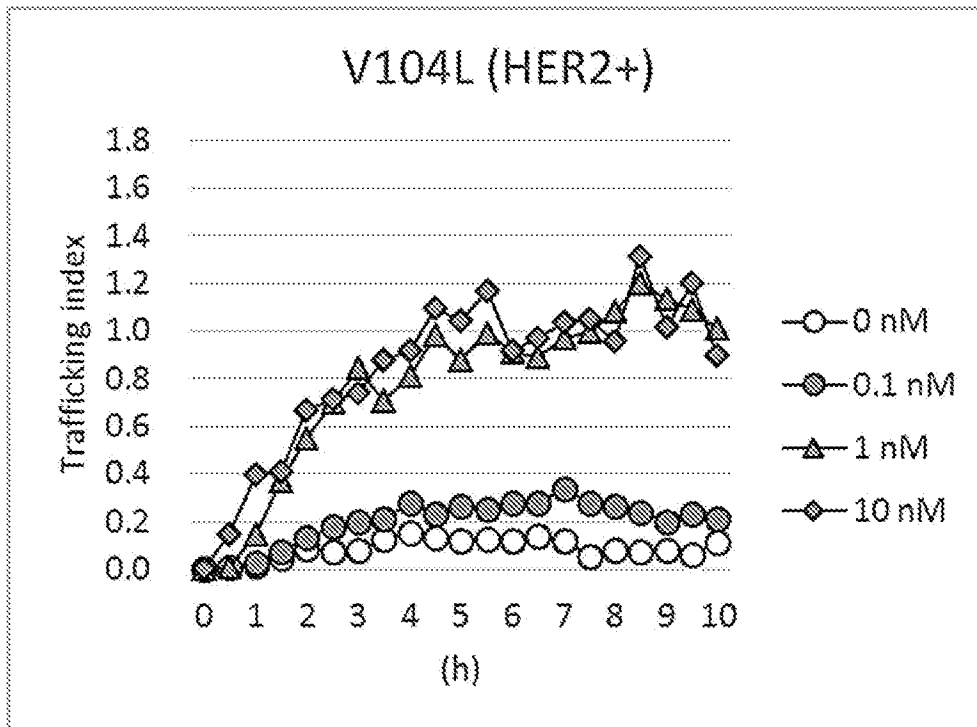
[図50]



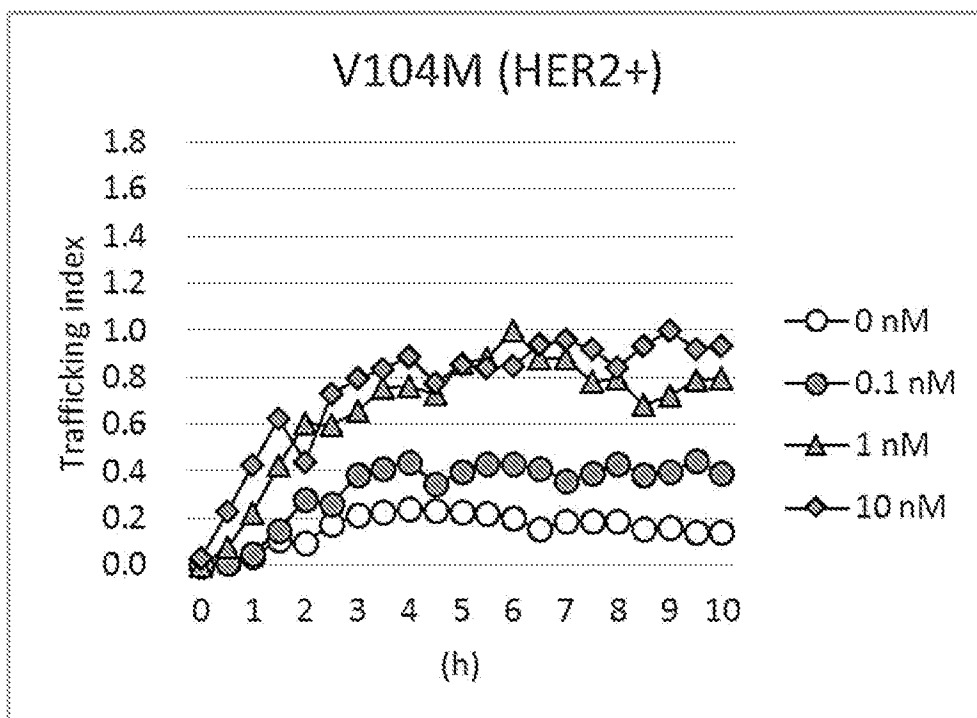
[図51]



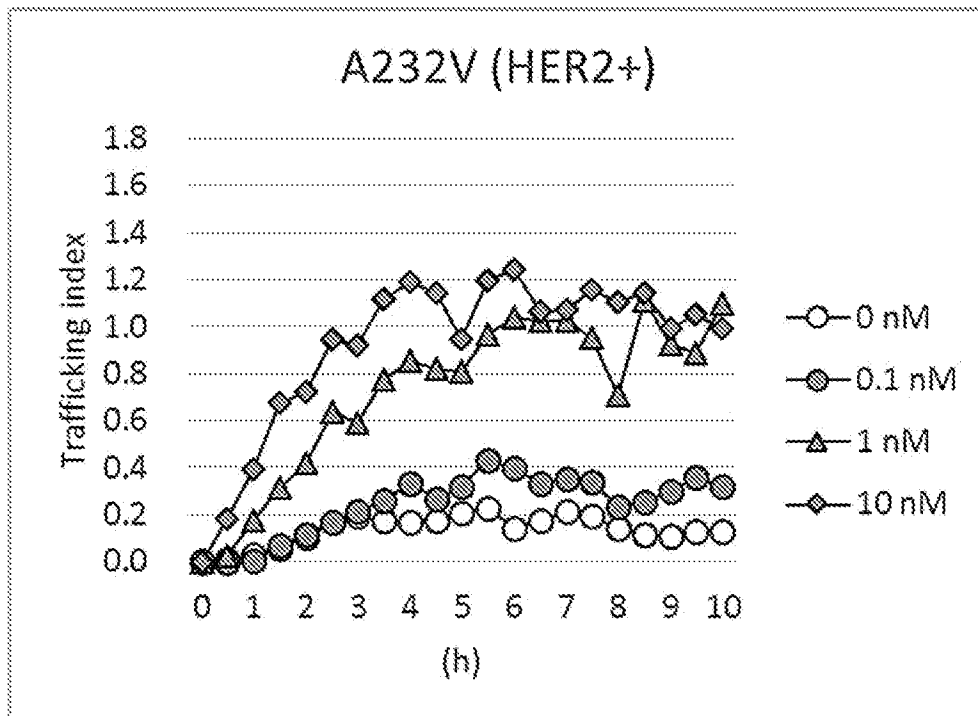
[図52]



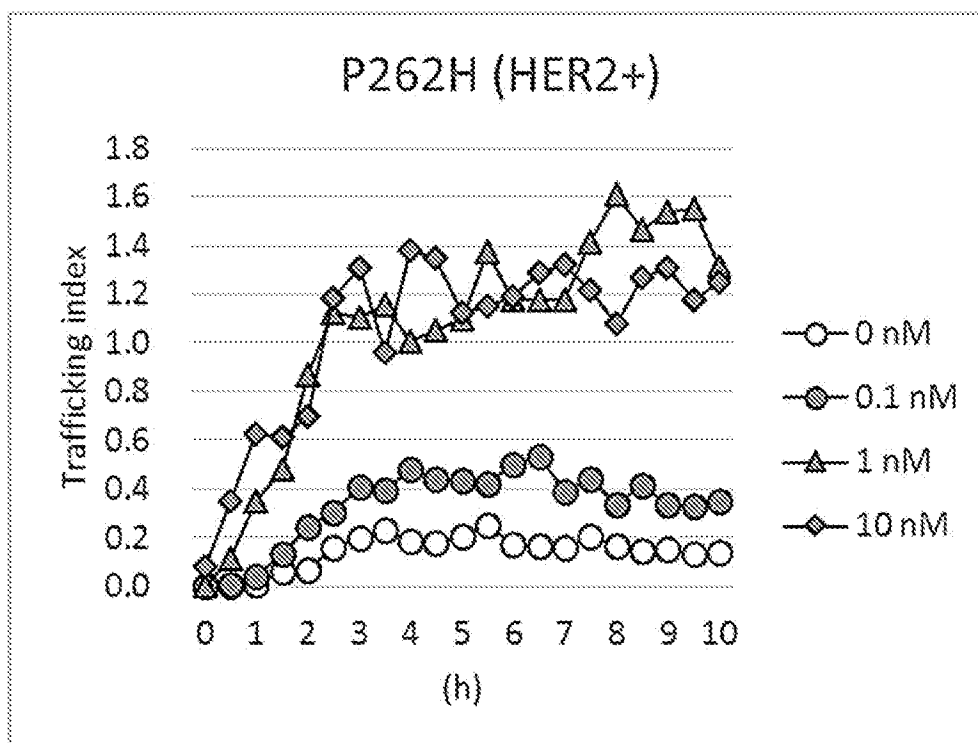
[図53]



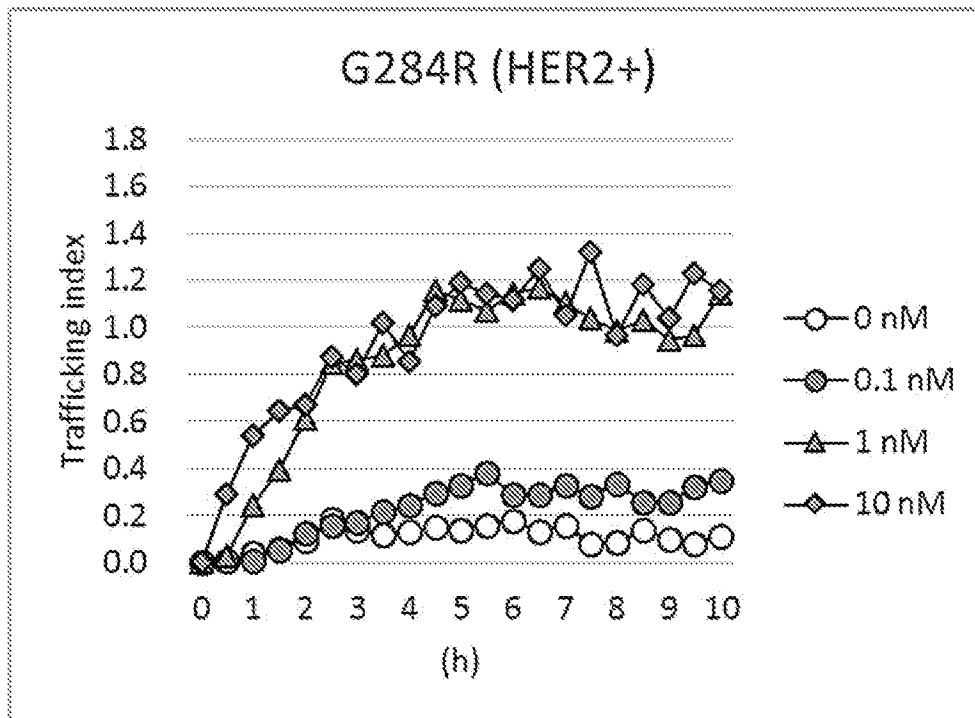
[図54]



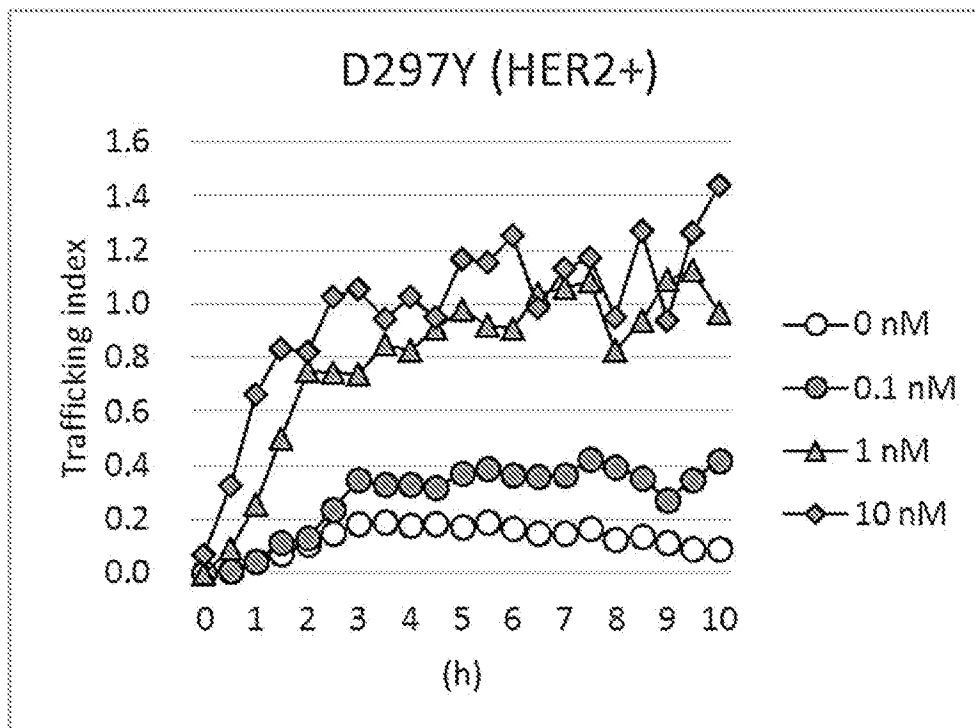
[図55]



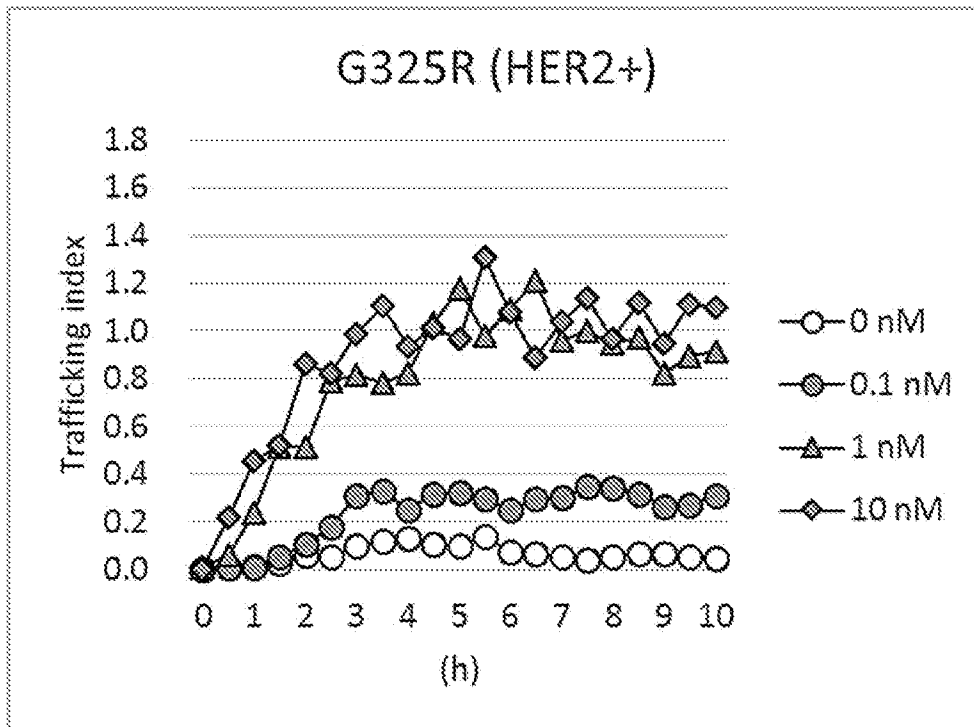
[図56]



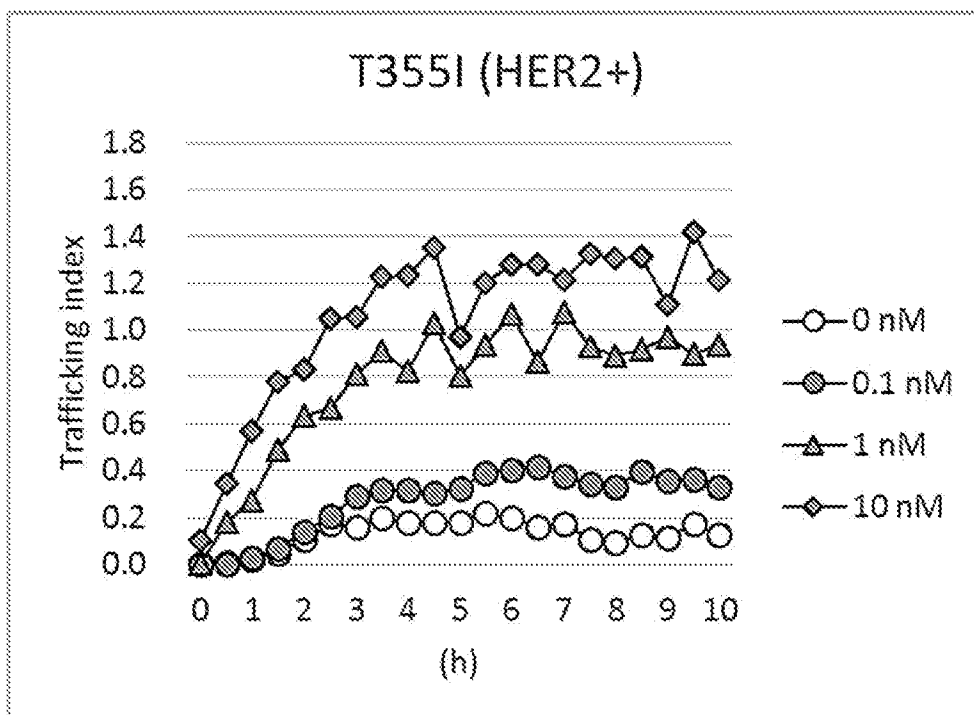
[図57]



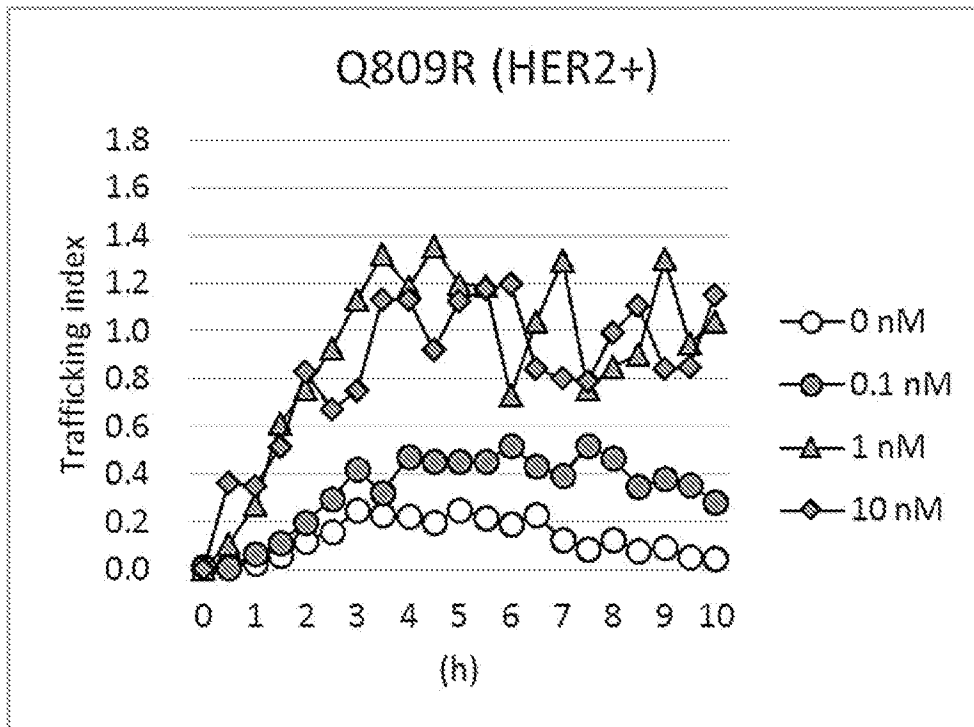
[図58]



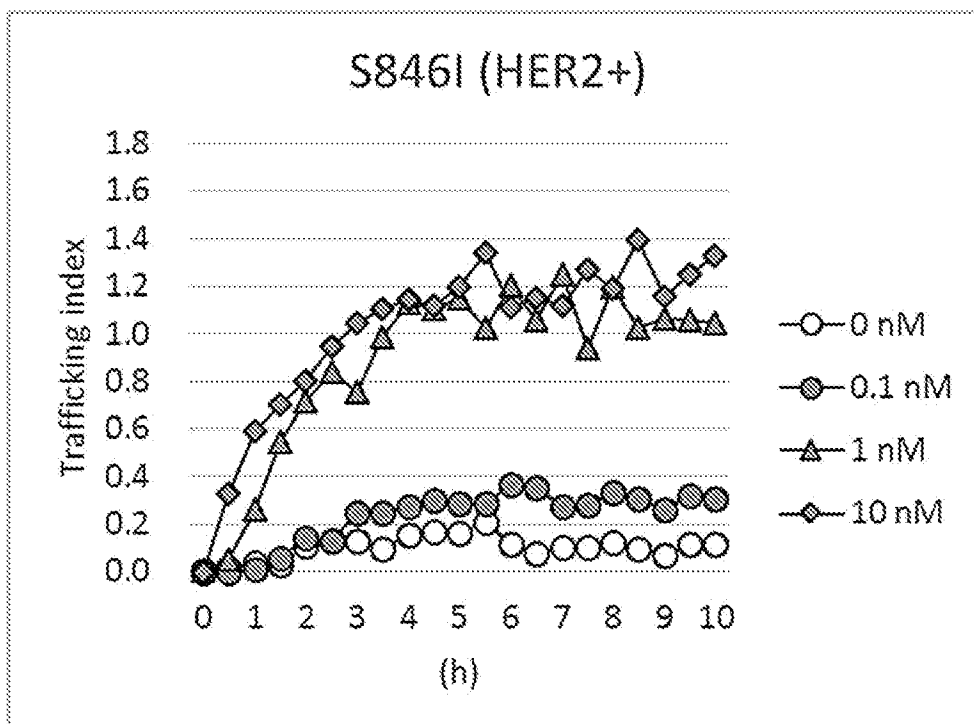
[図59]



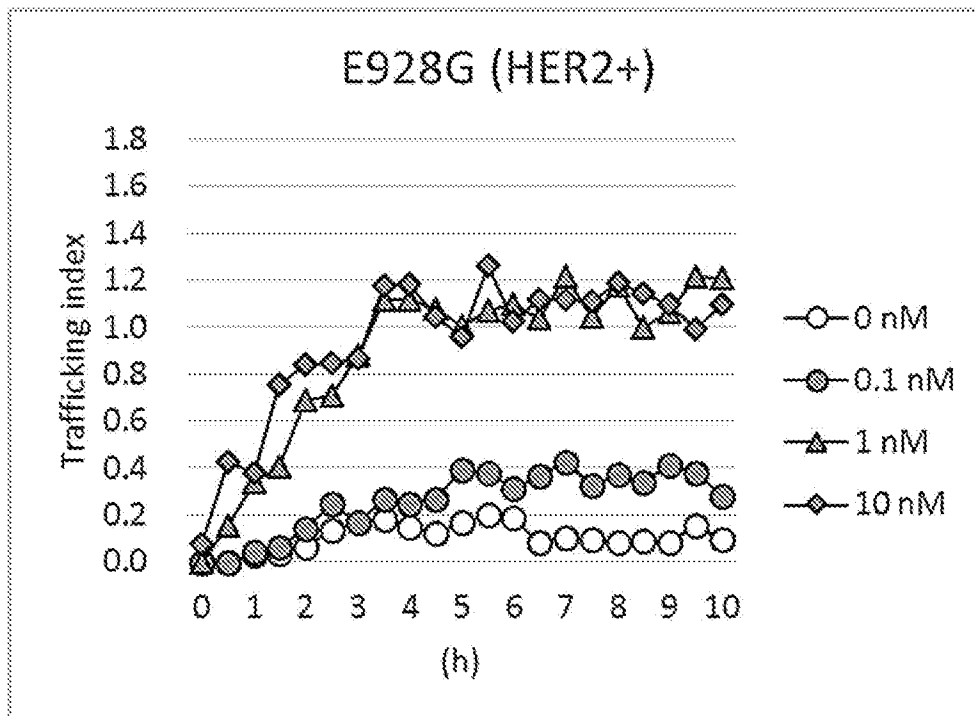
[図60]



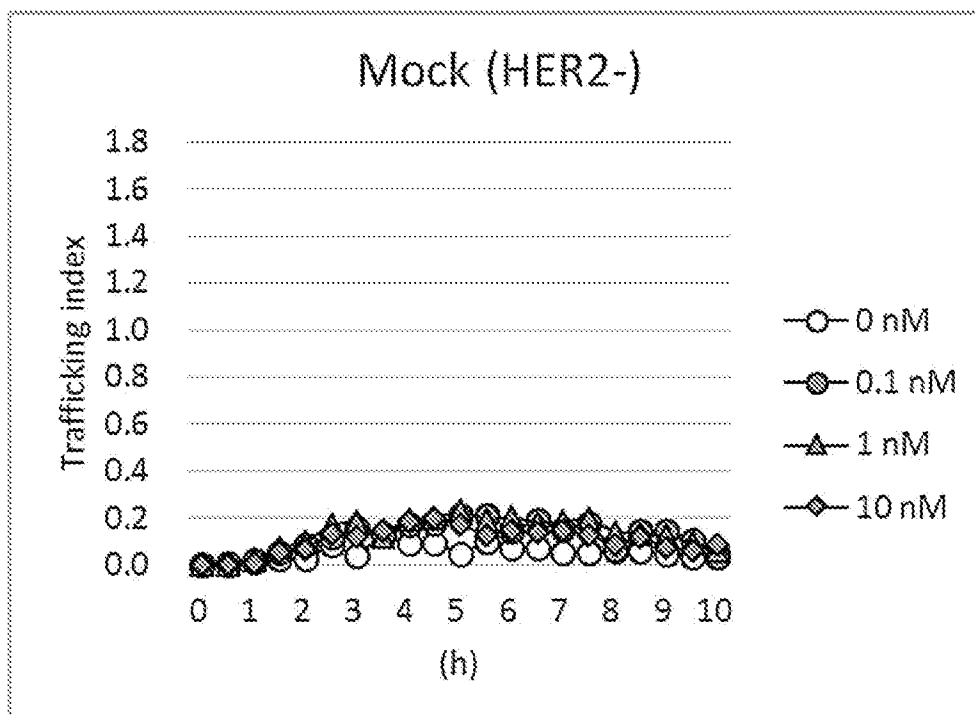
[図61]



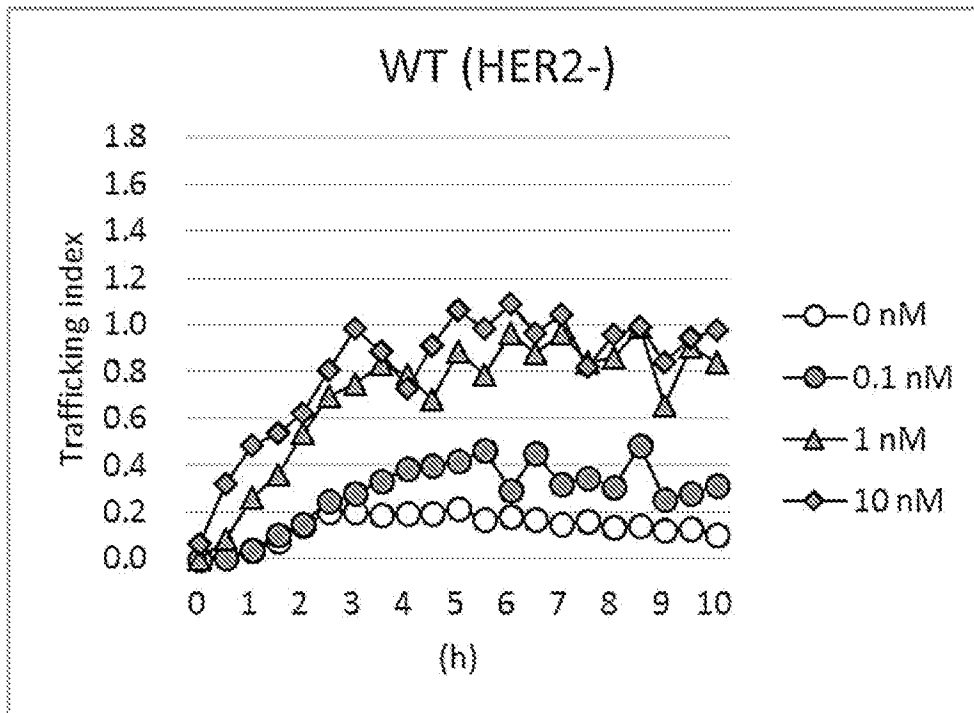
[図62]



[図63]



[図64]



[図65]

配列番号69 : HER3 蛋白のアミノ酸配列

MRANDALQVLGLLFSLARGSEVGN SQAVCPGTLNGLSVTG
DAENQYQTLYKLYERCEVVMGNLEIVLTGHNADLSFLQWI
REVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVM
LNYNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDT
IDWRDIVRDRDAEIVVKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGE
DCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQCCHECAGGCSPQD
TDCFACRHFNDSGACVPRCPQPLVYNKLTFFQLEPNPHTKY
QYGGVCVASCPHNFVVDQTSVVRACPPDKMEVDKNGLKMC
EPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGN
LDFLITGLNGDPWHKIPALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQ
SWPPHMHNFVFSNLTTIGGRSLYNRGFSLIMKNLNVTS
LGFRLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTKVLRGPTEE
RLDIKHNRRPRDCVAEGKVCDPLCSSGGCWGPGPGQCLSC
RNYSRGGVCVTHCNFLNGEPREFAHEAECFSCHPECQPM
GTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGP HCVSSCPHGVLGAKGPI
YKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLIGKT
HLTMA LTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRY
LARGESIEPLDPSEKANKV LARIFKETELRKLKVLGSGVF
GTVHKG VWIPEGESIKIPVCIKVI EDKSGRQSFQAVTDHM
LAIGSLDHAHIVRL LGLCPGSSLQLVTQYLPLGSLLDHVR
QHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNV
LLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMAL
ESIHF GK YTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLRLAEV
PDLLEKGERLAQPQICTIDVYMMVMVKCWMIDENIRPTFKE
LANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIAPGPEPHGLTNKKL
EEVELEPELDDLDDLEAEEDNLATTTLGSALS L PVGTLNR
PRGSQSL LSPSSGYMPMNQGNLGESCQESAVSGSSERCPR
PVSLHPMPRGCLASESSEGHVTGSEAELQEKVSMCRSRSR
SRSPRPRGDSAYHSQRHSL LTPVTPLSPPGLEEEDVNGYV
MPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEM
NRRRRHSPPHPPRPSSLEELGYEYMDVGS DLSASLGSTQS
CPLHPVPIMPTAGTTPDEDYEYMNRRQRDGGGPGGDYAAMG
ACPASEGGYEEMRAFQGGPGHQAPHVHYARLKT LRSLEATD
SAFDNPDYWHSRLFPKANAGR T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/036668

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K47/68 (2017.01) i, A61K31/437 (2006.01) i,
 A61K39/395 (2006.01) i, A61K47/65 (2017.01) i, A61P1/00 (2006.01) i,
 A61P11/00 (2006.01) i, A61P15/00 (2006.01) i, A61P17/00 (2006.01) i,
 A61P25/00 (2006.01) i, A61P35/00 (2006.01) i

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)

Int.Cl. A61K47/68, A61K31/437, A61K39/395, A61K47/65, A61P1/00,
 A61P11/00, A61P15/00, A61P17/00, A61P25/00, A61P35/00

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/159582 A1 (KINDAI UNIVERSITY) 07 September 2018, claims, paragraph [0106], examples (examples	1, 6, 8-18, 23, 25-34
Y	2, 3) (Family: none)	1-34

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
 31 October 2019 (31.10.2019)

Date of mailing of the international search report
 26 November 2019 (26.11.2019)

Name and mailing address of the ISA/
 Japan Patent Office
 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
 Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

 Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/036668

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2015-500638 A (GENENTECH INC.) 09 January 2015, paragraphs [0095], [0096] & US 2013/0195870 A1 & WO 2013/081645 A2 (page 31, line 25 to page 32, line 14)	2-5, 7, 19-22, 24
Y	第一三共株式会社, DS-8201 の非小細胞肺癌患者を対象とした第 2 相試験の開始について, 第一三共株式会社ニュースリリース(2018.5.31), [オンライン], 31 May 2018, [retrieval date 30 October 2019] <URL:www.daiichisankyo.co.jp/news/detail/006860.html>, entire text, non-official translation (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED, "About starting of second phase test for non-small-cell lung cancer patients of DS-8201", DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED News Release (31 May 2018), [online])	4, 5, 7, 21, 22, 24
X		1, 6, 8-18, 23, 25-34
Y	JP 2017-503784 A (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 02 February 2017, claims, paragraph [0049], examples (test example 11, etc.) & US 2017/0021031 A1 (claims, paragraph [0116], examples (example 11, etc.) & WO 2015/155998 A1	1-34
X		1-7, 16-24, 33, 34
Y		8, 9, 14, 15, 25, 26, 31, 32
X	JP 2017-521050 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 03 August 2017, claims (claims 1, 9), paragraphs [0074], [0154]-[0160], [0171]-[0180], examples (example 11, etc.) & US 2016/0002338 A1 & WO 2015/173250 A1 (claims (claims 1, 9), page 20, lines 2-3, page 46, line 1 to page 48, line 4, page 50, line 21 to page 53, line 29, examples (example 11, etc.))	1-7, 16-24, 33, 34
Y		8, 9, 14, 15, 25, 26, 31, 32
Y	JP 2015-536336 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 21 December 2015, claims (claims 1, 21, 22), examples (example 11, etc.) & US 2014/0186354 A1 & WO 2014/072305 A1 (claims (claims 1, 21, 22), examples (example 11, etc.))	1-34
	JP 2018-522822 A (THE BROAD INSTITUTE, INC.) 16 August 2018, claims (claim 85), examples (example 6, etc.) & US 2018/0153975 A1 & WO 2016/187508 A2 (claims (claim 85), examples (example 6, etc.))	

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A61K47/68(2017.01)i, A61K31/437(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K47/65(2017.01)i, A61P1/00(2006.01)i, A61P11/00(2006.01)i, A61P15/00(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野
 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A61K47/68, A61K31/437, A61K39/395, A61K47/65, A61P1/00, A61P11/00, A61P15/00, A61P17/00, A61P25/00, A61P35/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの
 日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2019年
 日本国実用新案登録公報 1996-2019年
 日本国登録実用新案公報 1994-2019年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2018/159582 A1 (学校法人近畿大学) 2018.09.07, 特許請求の範囲、段落 [0106]、実施例 (実施例2及び3) (ファミリーなし)	1, 6, 8-18, 23, 25-34
Y		1-34

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献
 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 31.10.2019	国際調査報告の発送日 26.11.2019
--------------------------	--------------------------

国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 磯部 洋一郎 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C	4432
--------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------	----	------

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2015-500638 A (ジェネンテック インコーポレイテッド) 2015. 01. 08, 段落 [0095] 及び [0096] & US 2013/0195870 A1 & WO 2013/081645 A2 (第31頁第25行目-第32頁第14行目)	2-5, 7, 19-22, 24
Y	第一三共株式会社, DS-8201の非小細胞肺癌患者を対象とした第2相試験の開始について, 第一三共株式会社ニュースリリース(2018. 5. 31), [オンライン], 2018. 5. 31, [検索日 2019. 10. 30] <URL: www.daiichisankyo.co.jp/news/detail/006860.html >, 全文	4, 5, 7, 21, 22, 24
X	JP 2017-503784 A (第一三共株式会社) 2017. 02. 02, 特許請求の範囲、段落 [0049]、実施例(試験例11等) & US 2017/0021031 A1 (特許請求の範囲、段落 [0116]、実施例(実施例11等)) & WO 2015/155998 A1	1, 6, 8-18, 23, 25-34
Y		1-34
X	JP 2017-521050 A (エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・アクチェンゲゼルシャフト) 2017. 08. 03, 特許請求の範囲(請求項1及び9)、段落 [0074]、[0154] - [0160]、[0171] - [0180]、実施例(実施例11等) & US 2016/0002338 A1 & WO 2015/173250 A1(特許請求の範囲(請求項1及び9)、第20頁第2行目-3行目、第46頁第1行目-第48頁第4行目、第50頁第21行目-第53頁第29行目、実施例(実施例11等))	1-7, 16-24, 33, 34
Y		8, 9, 14, 15, 25, 26, 31, 32
X	JP 2015-536336 A (エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・アクチェンゲゼルシャフト) 2015. 12. 21, 特許請求の範囲(請求項1、21及び22)、実施例(実施例11等) & US 2014/0186354 A1 & WO 2014/072305 A1 (特許請求の範囲(請求項1、21及び22)、実施例(実施例11等))	1-7, 16-24, 33, 34
Y		8, 9, 14, 15, 25, 26, 31, 32
Y	JP 2018-522822 A (ザ・ブロード・インスティテュート・インコーポレイテッド) 2018. 08. 16, 特許請求の範囲(請求項85)、実施例(実施例6等) & US 2018/0153975 A1 & WO 2016/187508 A2(特許請求の範囲(請求項85)、実施例(実施例6等))	1-34