

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和3年3月11日(2021.3.11)

【公表番号】特表2020-506703(P2020-506703A)

【公表日】令和2年3月5日(2020.3.5)

【年通号数】公開・登録公報2020-009

【出願番号】特願2019-541414(P2019-541414)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/537 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/13

C 0 7 K 16/28 Z N A

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 39/395 L

A 6 1 K 47/68

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 31/537

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/00

G 0 1 N 33/53 D

【手続補正書】

【提出日】令和3年1月27日(2021.1.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒトCCR7タンパク質に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであって、同じアイソタイプの野生型抗体と比較して、低下されたエフェクター機能を有するかまたは有意なエフェクター機能を有さない抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項2】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)活性の低下したレベルを有するか、または有意なレベルを有さない、請求項1に記載の抗体。

【請求項3】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、サイレンシングされたFc領域を含む、請求項1または2に記載の抗体。

【請求項4】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、D265A; P329A; P329G; N297A; D265AおよびP329A; D265AおよびN297A; L234およびL235A; P329A、L234AおよびL235A; およびP329G、L234AおよびL235Aから選択されるFc領域における突然変異を含む、請求項3に記載の抗体。

【請求項5】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、有意な細胞殺滅活性を有さない、請求項1～4のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項6】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、より低いレベルのCCR7を発現する細胞より高いレベルのCCR7を発現する細胞により高い親和性で結合する、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項7】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、より低いレベルのCCR7を発現する正常細胞より高いレベルのCCR7を発現する癌細胞により高い親和性で結合する、請求項6に記載の抗体。

【請求項8】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、CCR7を発現する正常な造血細胞を実質的に枯渇させない、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項9】

a. 配列番号1のHC DR1(重鎖相補性決定領域1)、配列番号2のHC DR2(重鎖相補性決定領域2)、および配列番号3のHC DR3(重鎖相補性決定領域3)を含む重鎖可変領域; ならびに配列番号17のLC DR1(軽鎖相補性決定領域1)、配列番号18のLC DR2(軽鎖相補性決定領域2)、および配列番号19のLC DR3(軽鎖相補性決定領域3)を含む軽鎖可変領域;

b. 配列番号4のHC DR1、配列番号5のHC DR2、および配列番号6のHC DR3を含む重鎖可変領域; ならびに配列番号20のLC DR1、配列番号21のLC DR2、および配列番号22のLC DR3を含む軽鎖可変領域;

c. 配列番号7のHC DR1、配列番号8のHC DR2、および配列番号9のHC DR3を含む重鎖可変領域; ならびに配列番号23のLC DR1、配列番号24のLC DR2、および配列番号25のLC DR3を含む軽鎖可変領域;

d. 配列番号10のHC DR1、配列番号11のHC DR2、および配列番号12のHC DR3を含む重鎖可変領域; ならびに配列番号26のLC DR1、配列番号27のLC DR2、および配列番号28のLC DR3を含む軽鎖可変領域;

e. 配列番号33のHC DR1、配列番号34のHC DR2、および配列番号35のHC DR3を含む重鎖可変領域; ならびに配列番号49のLC DR1、配列番号50のLC DR2、および配列番号51のLC DR3を含む軽鎖可変領域;

f. 配列番号36のHC DR1、配列番号37のHC DR2、および配列番号38のHC DR3を含む重鎖可変領域; ならびに配列番号52のLC DR1、配列番号53のLC

D R 2、および配列番号 5 4 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

g . 配列番号 3 9 の H C D R 1、配列番号 4 0 の H C D R 2、および配列番号 4 1 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 5 5 の L C D R 1、配列番号 5 6 の L C D R 2、および配列番号 5 7 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

h . 配列番号 4 2 の H C D R 1、配列番号 4 3 の H C D R 2、および配列番号 4 4 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 5 8 の L C D R 1、配列番号 5 9 の L C D R 2、および配列番号 6 0 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

i . 配列番号 6 5 の H C D R 1、配列番号 6 6 の H C D R 2、および配列番号 6 7 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 8 1 の L C D R 1、配列番号 8 2 の L C D R 2、および配列番号 8 3 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

j . 配列番号 6 8 の H C D R 1、配列番号 6 9 の H C D R 2、および配列番号 7 0 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 8 4 の L C D R 1、配列番号 8 5 の L C D R 2、および配列番号 8 6 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

k . 配列番号 7 1 の H C D R 1、配列番号 7 2 の H C D R 2、および配列番号 7 3 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 8 7 の L C D R 1、配列番号 8 8 の L C D R 2、および配列番号 8 9 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

l . 配列番号 7 4 の H C D R 1、配列番号 7 5 の H C D R 2、および配列番号 7 6 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 9 0 の L C D R 1、配列番号 9 1 の L C D R 2、および配列番号 9 2 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

m . 配列番号 5 9 6 の H C D R 1、配列番号 5 9 7 の H C D R 2、および配列番号 5 9 8 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 6 1 2 の L C D R 1、配列番号 6 1 3 の L C D R 2、および配列番号 6 1 4 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

n . 配列番号 5 9 9 の H C D R 1、配列番号 6 0 0 の H C D R 2、および配列番号 6 0 1 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 6 1 5 の L C D R 1、配列番号 6 1 6 の L C D R 2、および配列番号 6 1 7 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

o . 配列番号 6 0 2 の H C D R 1、配列番号 6 0 3 の H C D R 2、および配列番号 6 0 4 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 6 1 8 の L C D R 1、配列番号 6 1 9 の L C D R 2、および配列番号 6 2 0 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；または

p . 配列番号 6 0 5 の H C D R 1、配列番号 6 0 6 の H C D R 2、および配列番号 6 0 7 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 6 2 1 の L C D R 1、配列番号 6 2 2 の L C D R 2、および配列番号 6 2 3 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域

を含む、C C R 7 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 1 0】

a . 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)；

b . 配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)；

c . 配列番号 7 7 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)；または

d . 配列番号 6 0 8 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 6 2 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)

を含む、C C R 7 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 1 1】

a . 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖；

b . 配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖；

c . 配列番号 7 9 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖；または

d . 配列番号 6 1 0 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 6 2 6 のアミノ酸配列

を含む軽鎖

を含む、CCR7に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項12】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、1つまたは複数のシステイン置換を含む、請求項1～11のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項13】

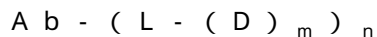
前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記重鎖のS152C、S375C、またはS152CおよびS375Cの両方から選択される1つまたは複数のシステイン置換を含み、ここで、位置が、EU体系にしたがって番号付けされる、請求項12に記載の抗体。

【請求項14】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項1～13のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項15】

式



(式中、

A bが、請求項1～14のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合抗原結合フラグメントであり；

Lがリンカーであり；

Dが薬物部分であり；

mが、1～8の整数であり；

nが、1～12の整数である)

またはその薬学的に許容できる塩を含む抗体薬物コンジュゲート。

【請求項16】

前記mが1である、請求項15に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項17】

前記nが、約3～約4である、請求項15または16に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項18】

前記リンカーが、切断性リンカー、非切断性リンカー、親水性リンカー、プロチャージリンカー、およびジカルボン酸に基づくリンカーからなる群から選択される、請求項15～17のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

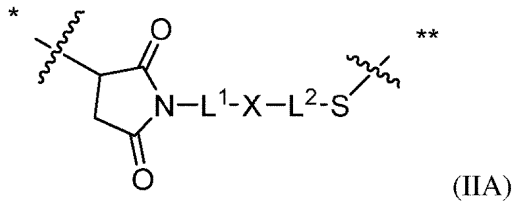
【請求項19】

前記リンカーが、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPD P)、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート(SPP)、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート(SPDB)、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホ-ブタノエート(スルホ-SPDB)、N-スクシンイミジルヨードアセテート(SIA)、N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート(SIAB)、マレイミドPEG NHS、N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(SMCC)、N-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(スルホ-SMCC)、および2,5-ジオキソピロリジン-1-イル17-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5,8,11,14-テトラオキソ-4,7,10,13-テトラアザヘプタデカン-1-オエート(CX1-1)からなる群から選択される架橋試薬に由来する、請求項18に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項20】

前記リンカーが、下式(IIA)：

【化 1】



(式中、* が、前記抗体におけるチオール官能基に結合され、** が、薬物部分のチオール官能基に結合され；ここで：

L¹ が、C₁ - 6 アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L² が、C₁ - 6 アルキレンであるか、または -(CH₂CH₂O)_y-CH₂-CH₂-であり、ここで、y が、1 ~ 11 であり；

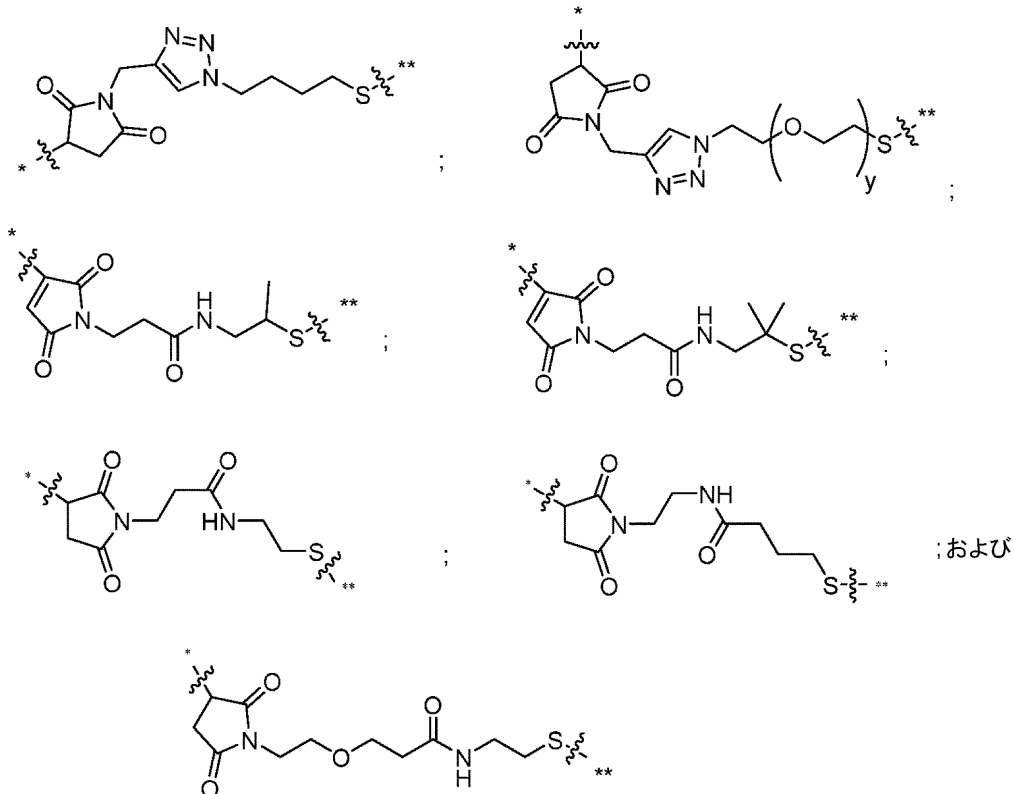
X が、-C(O)-NH-、-NHC(O)-またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

で表される、請求項 18 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 21】

前記リンカーが、下式：

【化 2】



(式中、y が、1 ~ 11 であり；* が、前記抗体におけるチオール官能基に結合され、* が、前記薬物部分のチオール官能基に結合される)

で表される、請求項 20 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 22】

前記薬物部分が、V - A T P a s e 阻害剤、プロアポトーシス剤、B c l 2 阻害剤、M C L 1 阻害剤、H S P 9 0 阻害剤、I A P 阻害剤、m T o r 阻害剤、微小管安定化剤、微小管不安定化剤、オーリスタチン、ドラスタチン、メイタンシノイド、M e t A P (メチオニンアミノペプチダーゼ)、オーリスタチン、アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、R N A ポリメラーゼ阻害剤、タンパク質C R M 1の核輸送の阻害剤、D P P I V 阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ミトコンドリアにおけるホスホリル転移反応の阻害剤、タンパク質合成阻害剤、キナーゼ阻害剤、C D K 2 阻害剤、C D K 9 阻害剤、キネシン阻害剤、H D A C 阻害剤、D N A 損傷剤、D N A アルキル化剤、D N A 挿入剤、D N A 小溝結合剤およびD H F R 阻害剤からなる群から選択される、請求項15～21のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項23】

前記細胞毒性剤が、メイタンシノイドである、請求項22に記載の抗体薬物コンジュゲート。

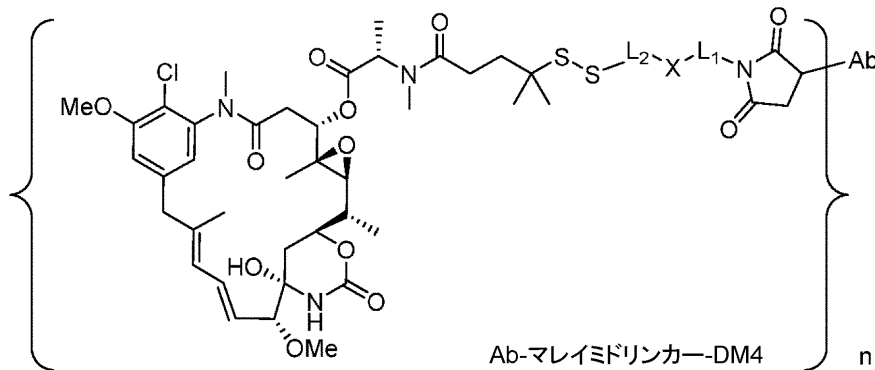
【請求項24】

前記メイタンシノイドが、N (2 ') - デアセチル - N (2 ') - (3 - メルカプト - 1 - オキソプロピル) - メイタンシン (D M 1)、N (2 ') - デアセチル - N (2 ') - (4 - メルカプト - 1 - オキソペンチル) - メイタンシン (D M 3) または N (2 ') - デアセチル - N 2 - (4 - メルカプト - 4 - メチル - 1 - オキソペンチル) - メイタンシン (D M 4) である、請求項23に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項25】

下式 (V I I I) :

【化3】



(VIII)

(式中、L¹が、C₁～6アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

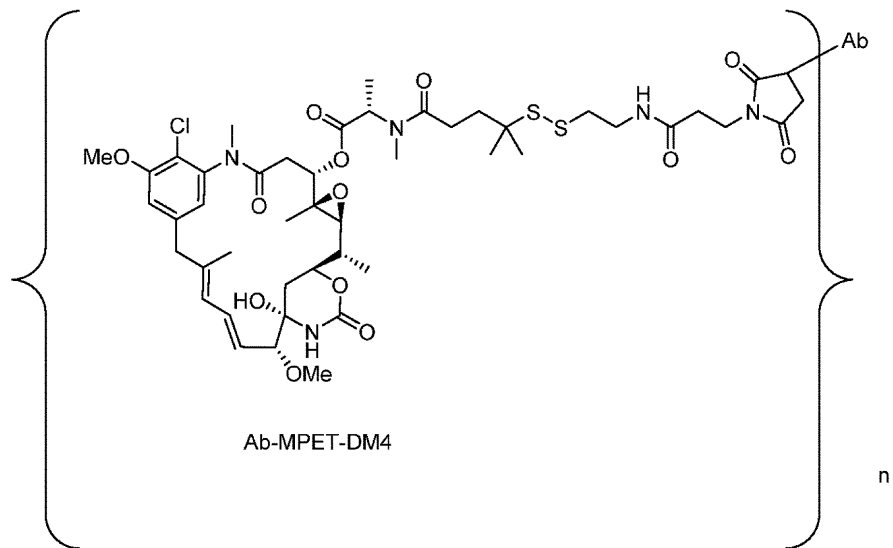
L²が、C₁～6アルキレンであるか、または-(CH₂CH₂O)_y-CH₂-CH₂-であり、ここで、yが、1～11であり；

Xが、-C(O)-NH-、-NHC(O)-またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状であり；ここで、nが、約3～約4である)；またはその薬学的に許容できる塩を有する、請求項15～24のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項26】

下式：

【化 4】



(式中、 n が、約3～約4であり、 Ab が、配列番号47のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号63のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体である)；またはその薬学的に許容できる塩を有する抗体薬物コンジュゲート。

【請求項27】

請求項1～14のいずれか一項に記載の抗体、またはその抗原結合フラグメントと、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

【請求項28】

請求項15～26のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

【請求項29】

癌の治療または予防のための医薬組成物であって、前記癌がCCR7を発現する、請求項27または28に記載の医薬組成物。

【請求項30】

前記抗体薬物コンジュゲートまたは医薬組成物が、1つまたは複数のさらなる治療化合物と組み合わせて患者に投与される、請求項29に記載の医薬組成物。

【請求項31】

前記1つまたは複数のさらなる治療化合物が、標準治療化学療法剤、共刺激分子、またはチェックポイント阻害剤から選択される、請求項30に記載の医薬組成物。

【請求項32】

前記共刺激分子が、OX40、CD2、CD27、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、Nkp80、CD160、B7-H3、STING、またはCD83リガンドのアゴニストから選択される、請求項31に記載の医薬組成物。

【請求項33】

前記チェックポイント阻害剤が、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4および/またはTGFRの阻害剤から選択される、請求項31に記載の医薬組成物。

【請求項34】

薬剤として使用するための、請求項15～26のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート、または請求項27もしくは28に記載の医薬組成物。

【請求項 35】

CCR7 発現癌の治療または予防を、それを必要とする患者において行うのに使用する
ための、請求項 15 ~ 26 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート、または請求
項 27 もしくは 28 に記載の医薬組成物。

【請求項 36】

CCR7 発現癌の治療または予防を、それを必要とする患者において行うのに使用する
ための、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 37】

薬剤の製造における、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合
フラグメント、または請求項 15 ~ 26 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート
、または請求項 27 もしくは 28 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 38】

前記癌が CCR7 を発現する、請求項 29 ~ 33 のいずれか一項に記載の医薬組成物、
請求項 34 もしくは 35 に記載の抗体薬物コンジュゲート、請求項 36 に記載の抗体もし
くはその抗原結合フラグメント、または請求項 37 に記載の使用。

【請求項 39】

前記癌が、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL)、例
えば成人 T 細胞白血病 / リンパ腫 (ATLL) および未分化大細胞型リンパ腫 (ALCL
)、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、例えばマントル細胞リンパ腫 (MCL)、パーキッ
トリンパ腫およびびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、胃癌、非小細胞肺癌
、小細胞肺癌、頭頸部癌、鼻咽頭癌 (NPC)、食道癌、大腸癌、膵臓癌、甲状腺癌、乳
癌、腎細胞癌、および子宮頸癌からなる群から選択される、請求項 38 に記載の医薬組成
物、抗体薬物コンジュゲート、または使用。

【請求項 40】

前記癌が、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL)、例
えば成人 T 細胞白血病 / リンパ腫 (ATLL) および未分化大細胞型リンパ腫 (ALCL
)、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、例えばマントル細胞リンパ腫 (MCL)、パーキッ
トリンパ腫およびびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、および非小細胞肺癌
からなる群から選択される、請求項 39 に記載の医薬組成物、抗体薬物コンジュゲート、
または使用。

【請求項 41】

請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメントをコードする
核酸。

【請求項 42】

前記核酸が、配列番号 14、16、30、32、46、48、62、64、78、80
、94、96、481、483、497、または 499 のヌクレオチド配列を含む、請求
項 41 に記載の核酸。

【請求項 43】

請求項 41 または 42 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 44】

請求項 43 に記載のベクター、または請求項 41 もしくは 42 に記載の核酸を含む宿主
細胞。

【請求項 45】

抗体または抗原結合フラグメントを製造するための方法であって、請求項 44 に記載の
宿主細胞を培養し、細胞培養物から前記抗体を回収することを含む方法。

【請求項 46】

細胞培養物から前記抗体を回収することが、

- a) 細胞を除去し、前記培養物をろ過する工程と；
- b) アフィニティークロマトグラフィーによって、前記培養物を精製する工程と；
- c) pH を 3.4 ~ 3.6 に調整し、次に、pH を 5.8 ~ 6.2 に再調整することに

よって前記培養物中のあらゆるウイルスを不活化し、前記培養物をろ過する工程と；

d) カチオン交換クロマトグラフィーによって前記培養物を精製し、前記培養物のオンカラム還元を行う工程と；

e) 前記培養物におけるアニオン交換クロマトグラフィーを行う工程と；

f) ナノろ過によってウイルスを除去する工程と；

g) 前記抗体を含有する前記培養物をろ過する工程と；

h) 精製された抗体を得る工程と

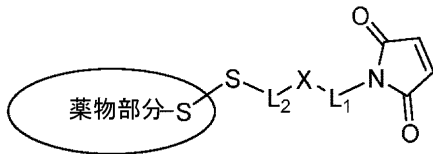
を含む、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

抗 C C R 7 抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) 下式：

【化 5】



(式中：

前記薬物部分が、DM 1、DM 3 または DM 4 であり、前記薬物部分が、そのチオール官能基を介して前記リンカーに結合され；

L¹ が、C₁ - 6 アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の 1 つが、酸素で置換されてもよく；

L² が、C₁ - 6 アルキレンであるか、または -(CH₂CH₂O)_y-CH₂-CH₂- であり、ここで、y が、1 ~ 11 であり；

X が、-C(O)-NH-、-NH-C(O)- または トリアゾール であり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

のリンカー - 薬物部分を予め形成することと；

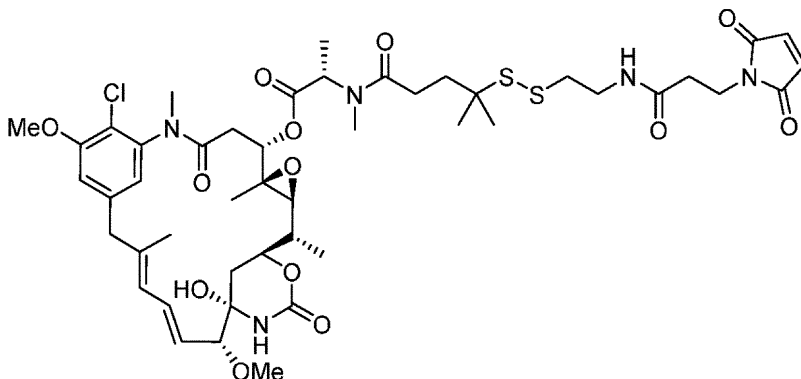
(b) 前記リンカー - 薬物部分を、請求項 4 6 に記載の細胞培養物から回収された抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

【請求項 4 8】

(b) 下式：

【化 6】



のリンカー - 薬物部分を予め形成することと、

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、請求項 46 に記載の細胞培養物から回収された抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

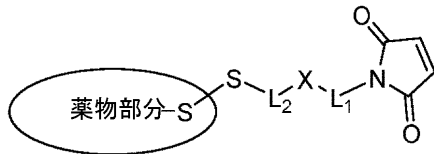
(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) 下式：

【化7】



(式中：

前記薬物部分が、DM1、DM3またはDM4であり、前記薬物部分が、そのチオール官能基を介して前記リンカーに結合され；

L^1 が、 C_{1-6} アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L^2 が、 C_{1-6} アルキレンであるか、または $-(CH_2CH_2O)_y-CH_2-CH_2-$ であり、ここで、 y が、1~11であり；

X が、 $-C(O)-NH-$ 、 $-NHC(O)-$ またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

のリンカー - 薬物部分を予め形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、請求項 1~14 のいずれか一項に記載の抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

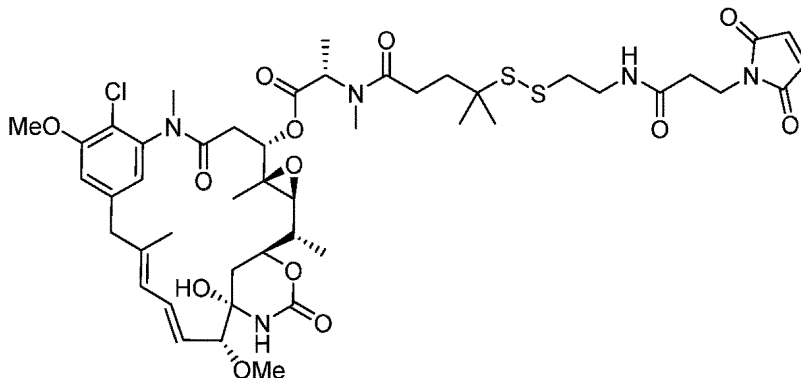
(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

【請求項 50】

抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) 下式：

【化8】



のリンカー - 薬物部分を予め形成することと、

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

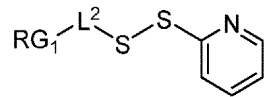
(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

【請求項 5 1】

前記リンカー - 薬物部分を予め形成する工程が、

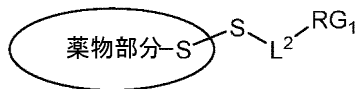
c) 薬物部分を、そのチオール官能基を介して、

【化 9】



と反応させて；

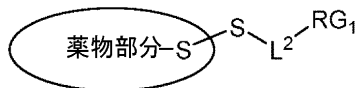
【化 1 0】



を形成することと；

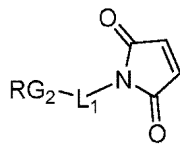
d) 前記形成された

【化 1 1】



を、

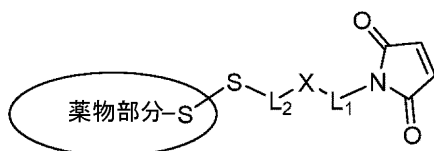
【化 1 2】



と反応させて；

前記リンカー - 薬物部分：

【化 1 3】



(式中：

L^1 が、 C_{1-6} アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L^2 が、 C_{1-6} アルキレンであるか、または $-(CH_2CH_2O)_y-CH_2-CH_2-$ であり、ここで、 y が、1~11であり；

X が、 $-C(O)-NH-$ 、 $-NHC(O)-$ またはトリアゾールであり；

ここで、前記アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状であり；

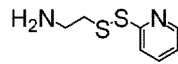
$RG1$ および $RG2$ が、基 X を形成する2つの反応性基である) を形成することを含む、請求項47または49に記載の方法。

【請求項52】

前記リンカー-薬物部分を予め形成する工程が、

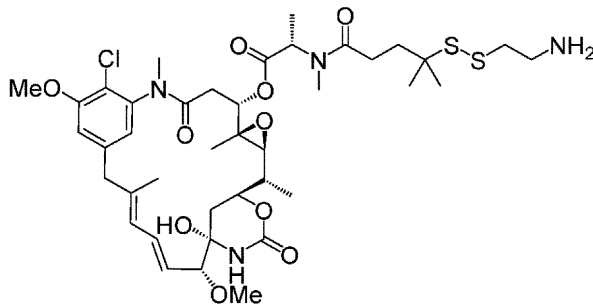
e) 前記薬物部分を、そのチオール官能基を介して、

【化14】



と反応させて；

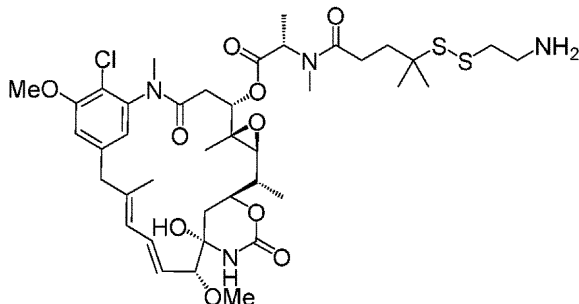
【化15】



を形成することと；

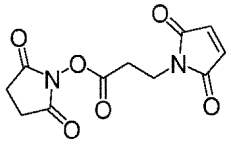
f) 前記形成された

【化16】



を、

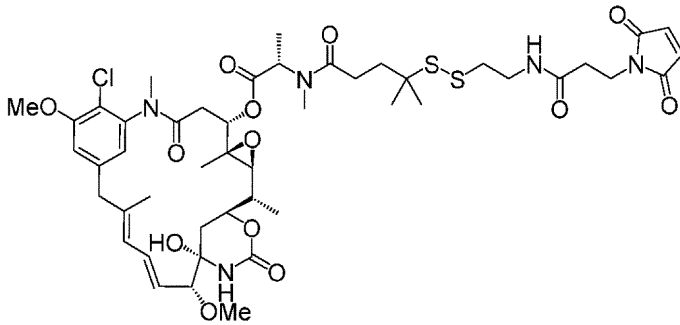
【化 1 7】



と反応させて；

前記リンカー - 薬物部分；

【化 1 8】



を形成することを含む、請求項 4 8 または 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 3】

UV 分光光度計で測定される、約 3 ~ 約 4 の平均 D A R を有する、請求項 4 7 ~ 5 2 のいずれか一項にしたがって作製される抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5 4】

抗 C C R 7 抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) S M C C または M P E T を、薬物部分 D M - 1 または D M - 4 に化学的に結合して、リンカー - 薬物を形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物を、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の抗体にコンジュゲートすることと；

(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

【請求項 5 5】

UV 分光光度計で測定される、約 3 ~ 約 4 の平均 D A R を有する、請求項 5 4 にしたがって作製される抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5 6】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントを含む診断試薬。

【請求項 5 7】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、放射性標識、フルオロフォア、発色団、イメージング剤、または金属イオンで標識される、請求項 5 6 に記載の診断試薬。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0032

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0032】

本出願は、本明細書に開示される抗体または抗原結合フラグメントをコードする核酸も開示する。一実施形態において、核酸は、配列番号14、16、30、32、46、48、62、64、78、80、94、96、481、483、497、または499のヌクレオチド配列を含む。本出願は、核酸を含むベクター、およびベクターまたは核酸を含む宿主細胞も開示する。本出願は、本明細書に開示される抗体または抗原結合フラグメントを製造するための方法であって、宿主細胞を培養し、細胞培養物から抗体を回収することを含む方法も開示する。一実施形態において、細胞培養物から抗体を回収する方法は、

- a) 細胞を除去し、培養物をろ過する工程と；
 - b) アフィニティークロマトグラフィーによって、培養物を精製する工程と；
 - c) pHを3.4～3.6に調整し、次に、pHを5.8～6.2に再調整することによって培養物中のあらゆるウイルスを不活化し、培養物をろ過する工程と；
 - d) カチオン交換クロマトグラフィーによって培養物を精製し、培養物のオンカラム還元を行う工程と；
 - e) 培養物におけるアニオン交換クロマトグラフィーを行う工程と；
 - f) ナノろ過によってウイルスを除去する工程と；
 - g) 抗体を含有する培養物をろ過する工程と；
 - h) 精製された抗体を得る工程と
- を含む。

【手続補正3】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0033

【補正方法】 変更

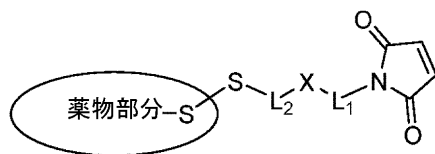
【補正の内容】

【0033】

さらに別の実施形態において、本明細書に開示されるのは、抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) 下式：

【化5】



(式中：

薬物部分が、DM1、DM3またはDM4であり、薬物部分が、そのチオール官能基を介してリンカーに結合され；

L¹が、C₁～6アルキレンであり、ここで、メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L²が、C₁～6アルキレンであるか、または-(CH₂CH₂O)_y-CH₂-CH₂-であり、ここで、yが、1～11であり；

Xが、-C(O)-NH-、-NH-C(O)-またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

のリンカー - 薬物部分を予め形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、本明細書に開示される細胞培養物から回収された抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

(c) 抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法である。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

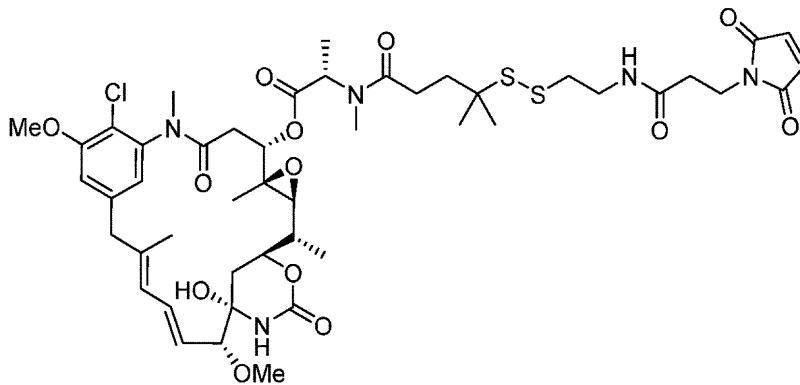
【補正の内容】

【0034】

一実施形態において、本方法は、

(a) 下式：

【化 6】



のリンカー - 薬物部分を予め形成することと、

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、本明細書に開示される細胞培養物から回収された抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

(c) 抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

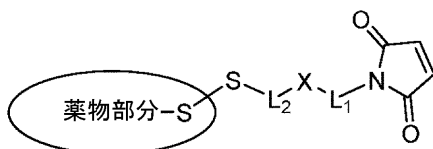
【補正の内容】

【0035】

別の実施形態において、抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法は、

(a) 下式：

【化 7】



(式中：

薬物部分が、DM1、DM3またはDM4であり、薬物部分が、そのチオール官能基を介してリンカーに結合され；

L^1 が、 C_{1-6} アルキレンであり、ここで、メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L^2 が、 C_{1-6} アルキレンであるか、または $-(CH_2CH_2O)_y-CH_2-CH_2-$ であり、ここで、 y が、 $1 \sim 11$ であり；

X が、 $-C(O)-NH-$ 、 $-NHC(O)-$ またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

のリンカー - 薬物部分を予め形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、本明細書に開示される抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

(c) 抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

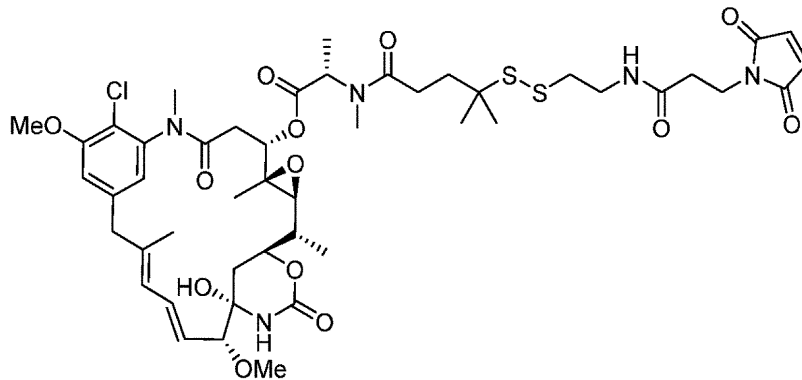
【補正の内容】

【0036】

別の実施形態において、抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法は、

(a) 下式：

【化8】



のリンカー - 薬物部分を予め形成することと、

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

(c) 抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0040

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 0 4 0 】

別の実施形態において、本出願は、抗 C C R 7 抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) S M C C または M P E T を、薬物部分 D M - 1 または D M - 4 に化学的に結合して、リンカー - 薬物を形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物を、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートすることと；

(c) 抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法を開示する。

【 手 続 補 正 8 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 0 7 0

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 0 7 0 】

本明細書において使用される際の「最適化された」という用語は、生産細胞 (production cell) または生物、一般に、真核細胞、例えば、酵母細胞、ピチア属 (*P i c h i a*) 細胞、真菌細胞、トリコデルマ属 (*T r i c h o d e r m a*) 細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (C H O) またはヒト細胞において好ましいコドンを用いてアミノ酸配列をコードするように変化されたヌクレオチド配列を指す。最適化されたヌクレオチド配列は、「親」配列としても知られている、出発ヌクレオチド配列によって元々コードされるアミノ酸配列を完全にまたはできるだけ多く保持するように操作される。

【 手 続 補 正 9 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 2 6 9

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 2 6 9 】

3 . C C R 7 抗体の製造

抗 C C R 7 抗体およびその抗体フラグメント (例えば、抗原結合フラグメント) は、限定はされないが、組み換え発現、化学合成、および抗体四量体の酵素的消化を含む、当該技術分野において公知の任意の手段によって製造され得るが、完全長モノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマまたは組み換え生成によって得られる。組み換え発現は、当該技術分野において公知の任意の適切な宿主細胞、例えば、哺乳動物宿主細胞、細菌宿主細胞、酵母宿主細胞、昆虫宿主細胞などに由来し得る。

【 手 続 補 正 1 0 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 2 7 4

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 2 7 4 】

上述される抗 C C R 7 抗体を製造するための発現ベクターおよび宿主細胞も、本発明において提供される。様々な発現ベクターが、抗 C C R 7 抗体鎖または結合フラグメントをコードするポリヌクレオチドを発現するのに用いられ得る。ウイルスに基づく発現ベクターおよび非ウイルス発現ベクターの両方が、哺乳動物宿主細胞内で抗体を製造するのに使用され得る。非ウイルスベクターおよび系としては、典型的に、タンパク質または R N A を発現するための発現カセットを含む、プラスミド、エピソームベクター、およびヒト人

工染色体（例えば、Harrington et al., Nat Genet 15: 345, 1997を参照）が挙げられる。例えば、哺乳動物（例えば、ヒト）細胞内での抗CCR7ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの発現に有用な非ウイルスベクターとしては、pThioHis A、B & C、pcDNA（商標）3.1/His、pEBVHis A、B & C（Invitrogen, San Diego, CA）、MP5Vベクター、および他のタンパク質を発現するための当該技術分野において公知の多くの他のベクターが挙げられる。有用なウイルスベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルスに基づくベクター、SV40に基づくベクター、パピローマウイルス、HBPEプスタインパーウイルス、ワクシニアウイルスベクターおよびセムリキ森林ウイルス（SFV）が挙げられる。Brent et al., 上掲；Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49: 807, 1995；およびRosenfeld et al., Cell 68: 143, 1992を参照されたい。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0382

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0382】

組み換え抗体（IgG1、 ）を、トランスフェクション試薬としてPEI（ポリエチレンイミン、MW25,000線形、Polysciences, USA, cat# 23966）を用いた、Freestyle（商標）293発現細胞（Invitrogen, USA）中へのベクターの共トランスフェクションによって製造した。PEIストックを、室温（RT）で900mlの細胞培養等級の水に1gのPEIを溶解させることによって調製した。PEIの溶解を容易にするために、溶液を、HClの添加によってpH3~5になるまで酸性化した後、7.05の最終pHになるまでNaOHで中和した。最後に、体積を1Lに調整し、溶液を、0.22umのフィルタに通して過滅菌し、一定分量に分け、さらなる使用まで-80 で凍結した。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0562

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0562】

実施例17：121G12・CysMab・DAPA抗体の製造のための方法

この実施例は、細胞培養物からCCR7抗体121G12・CysMab・DAPAを製造するための方法を説明し、ここで、Abは、Abをコードするベクターから発現される。Abが細胞培養物において発現されたら、Abを、以下のように細胞培養物から精製する：

121G12・CysMab・DAPA抗体薬物原料中間体の精製方法の第1の工程は、インライン深層ろ過、続いて0.2µmろ過による細胞除去からなる。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0580

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0580】

より低い用量のコンジュゲート A b では有意な抗腫瘍有効性は観察されなかったが、部分的退縮または病状の安定が、5 mg / kg の 1 2 1 G 1 2 . C y s M a b . D A P A . M P E T . D M 4 処理で観察された。持続的な腫瘍有効性が、第 2 の投与の 2 週間後に観察され、処理の 3 0 日目に 1 . 3 % の T / C 値が得られた (p < 0 . 0 0 1 ; 一元配置 A N O V A / テューキーの多重比較検定) (図 1 8) 。全ての処理は、明らかな体重減少を伴わず、良好な忍容性を示した。

本発明は次の実施態様を含む。

[1]

ヒト C C R 7 タンパク質に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであって、同じアイソタイプの野生型抗体と比較して、低下されたエフェクター機能を有するかまたは有意なエフェクター機能を有さない抗体またはその抗原結合フラグメント。

[2]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、抗体依存性細胞介在性細胞毒性 (A D C C) 活性の低下したレベルを有するか、または有意なレベルを有さない、上記 [1] に記載の抗体。

[3]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、サイレンシングされた F c 領域を含む、上記 [1] または [2] に記載の抗体。

[4]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、D 2 6 5 A ; P 3 2 9 A ; P 3 2 9 G ; N 2 9 7 A ; D 2 6 5 A および P 3 2 9 A ; D 2 6 5 A および N 2 9 7 A ; L 2 3 4 および L 2 3 5 A ; P 3 2 9 A 、 L 2 3 4 A および L 2 3 5 A ; および P 3 2 9 G 、 L 2 3 4 A および L 2 3 5 A から選択される F c 領域における突然変異を含む、上記 [3] に記載の抗体。

[5]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、有意な細胞殺滅活性を有さない、上記 [1] ~ [4] のいずれかに記載の抗体。

[6]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、より低いレベルの C C R 7 を発現する細胞より高いレベルの C C R 7 を発現する細胞により高い親和性で結合する、上記 [1] ~ [5] のいずれかに記載の抗体。

[7]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、より低いレベルの C C R 7 を発現する正常細胞より高いレベルの C C R 7 を発現する癌細胞により高い親和性で結合する、上記 [6] に記載の抗体。

[8]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、C C R 7 を発現する正常な造血細胞を実質的に枯渇させない、上記 [1] ~ [7] のいずれかに記載の抗体。

[9]

a . 配列番号 1 の H C D R 1 (重鎖相補性決定領域 1) 、配列番号 2 の H C D R 2 (重鎖相補性決定領域 2) 、および配列番号 3 の H C D R 3 (重鎖相補性決定領域 3) を含む重鎖可変領域 ; ならびに配列番号 1 7 の L C D R 1 (軽鎖相補性決定領域 1) 、配列番号 1 8 の L C D R 2 (軽鎖相補性決定領域 2) 、および配列番号 1 9 の L C D R 3 (軽鎖相補性決定領域 3) を含む軽鎖可変領域 ;

b . 配列番号 4 の H C D R 1 、配列番号 5 の H C D R 2 、および配列番号 6 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域 ; ならびに配列番号 2 0 の L C D R 1 、配列番号 2 1 の L C D R 2 、および配列番号 2 2 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域 ;

c . 配列番号 7 の H C D R 1 、配列番号 8 の H C D R 2 、および配列番号 9 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域 ; ならびに配列番号 2 3 の L C D R 1 、配列番号 2 4 の L C D R 2

、および配列番号 25 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

d . 配列番号 10 の H C D R 1、配列番号 11 の H C D R 2、および配列番号 12 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 26 の L C D R 1、配列番号 27 の L C D R 2、および配列番号 28 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

e . 配列番号 33 の H C D R 1、配列番号 34 の H C D R 2、および配列番号 35 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 49 の L C D R 1、配列番号 50 の L C D R 2、および配列番号 51 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

f . 配列番号 36 の H C D R 1、配列番号 37 の H C D R 2、および配列番号 38 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 52 の L C D R 1、配列番号 53 の L C D R 2、および配列番号 54 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

g . 配列番号 39 の H C D R 1、配列番号 40 の H C D R 2、および配列番号 41 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 55 の L C D R 1、配列番号 56 の L C D R 2、および配列番号 57 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

h . 配列番号 42 の H C D R 1、配列番号 43 の H C D R 2、および配列番号 44 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 58 の L C D R 1、配列番号 59 の L C D R 2、および配列番号 60 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

i . 配列番号 65 の H C D R 1、配列番号 66 の H C D R 2、および配列番号 67 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 81 の L C D R 1、配列番号 82 の L C D R 2、および配列番号 83 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

j . 配列番号 68 の H C D R 1、配列番号 69 の H C D R 2、および配列番号 70 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 84 の L C D R 1、配列番号 85 の L C D R 2、および配列番号 86 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

k . 配列番号 71 の H C D R 1、配列番号 72 の H C D R 2、および配列番号 73 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 87 の L C D R 1、配列番号 88 の L C D R 2、および配列番号 89 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

l . 配列番号 74 の H C D R 1、配列番号 75 の H C D R 2、および配列番号 76 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 90 の L C D R 1、配列番号 91 の L C D R 2、および配列番号 92 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

m . 配列番号 596 の H C D R 1、配列番号 597 の H C D R 2、および配列番号 598 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 612 の L C D R 1、配列番号 613 の L C D R 2、および配列番号 614 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

n . 配列番号 599 の H C D R 1、配列番号 600 の H C D R 2、および配列番号 601 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 615 の L C D R 1、配列番号 616 の L C D R 2、および配列番号 617 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；

o . 配列番号 602 の H C D R 1、配列番号 603 の H C D R 2、および配列番号 604 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 618 の L C D R 1、配列番号 619 の L C D R 2、および配列番号 620 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域；または

p . 配列番号 605 の H C D R 1、配列番号 606 の H C D R 2、および配列番号 607 の H C D R 3 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 621 の L C D R 1、配列番号 622 の L C D R 2、および配列番号 623 の L C D R 3 を含む軽鎖可変領域

を含む、C C R 7 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント。

[10]

a . 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 29 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)；

b . 配列番号 45 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 61 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)；

c . 配列番号 77 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 93 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)；または

d . 配列番号 608 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 624 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L)

を含む、CCR7に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント。

[1 1]

a . 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖；

b . 配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖；

c . 配列番号 7 9 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖；または

d . 配列番号 6 1 0 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 6 2 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖

を含む、CCR7に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント。

[1 2]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、1つまたは複数のシステイン置換を含む、上記 [1] ~ [1 1] のいずれかに記載の抗体。

[1 3]

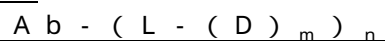
前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの前記重鎖の S 1 5 2 C、S 3 7 5 C、または S 1 5 2 C および S 3 7 5 C の両方から選択される1つまたは複数のシステイン置換を含み、ここで、位置が、EU体系にしたがって番号付けされる、上記 [1 2] に記載の抗体。

[1 4]

前記抗体が、モノクローナル抗体である、上記 [1] ~ [1 3] のいずれかに記載の抗体。

[1 5]

式



(式中、

A b が、上記 [1] ~ [1 4] のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合抗原結合フラグメントであり；

L がリンカーであり；

D が薬物部分であり；

m が、1 ~ 8 の整数であり；

n が、1 ~ 1 2 の整数である)

またはその薬学的に許容できる塩を含む抗体薬物コンジュゲート。

[1 6]

前記 m が 1 である、上記 [1 5] に記載の抗体薬物コンジュゲート。

[1 7]

前記 n が、約 3 ~ 約 4 である、上記 [1 5] または [1 6] に記載の抗体薬物コンジュゲート。

[1 8]

前記リンカーが、切断性リンカー、非切断性リンカー、親水性リンカー、プロチャージリンカー、およびジカルボン酸に基づくリンカーからなる群から選択される、上記 [1 5] ~ [1 7] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート。

[1 9]

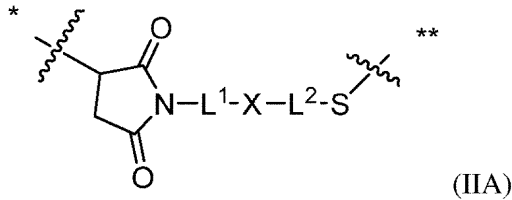
前記リンカーが、N - スクシンイミジル - 3 - (2 - ピリジルジチオ) プロピオネート (S P D P)、N - スクシンイミジル 4 - (2 - ピリジルジチオ) ペントノエート (S P P)、N - スクシンイミジル 4 - (2 - ピリジルジチオ) ブタノエート (S P D B)、N - スクシンイミジル - 4 - (2 - ピリジルジチオ) - 2 - スルホ - ブタノエート (スルホ - S P D B)、N - スクシンイミジルヨードアセテート (S I A)、N - スクシンイミジル (4 - ヨードアセチル) アミノベンゾエート (S I A B)、マレイミド P E G N H S、N - スクシンイミジル 4 - (マレイミドメチル) シクロヘキサンカルボキシレート (S

MCC)、N-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(スルホ-SMCC)、および2,5-ジオキソピロリジン-1-イル17-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5,8,11,14-テトラオキソ-4,7,10,13-テトラアザヘプタデカン-1-オエート(CX1-1)からなる群から選択される架橋試薬に由来する、上記[18]に記載の抗体薬物コンジュゲート。

[20]

前記リンカーが、下式(IIA)：

【化66】



(式中、*が、前記抗体におけるチオール官能基に結合され、**が、薬物部分のチオール官能基に結合され；ここで：

L¹が、C₁-₆アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L²が、C₁-₆アルキレンであるか、または-(CH₂CH₂O)ᵧ-CH₂-CH₂-であり、ここで、yが、1~11であり；

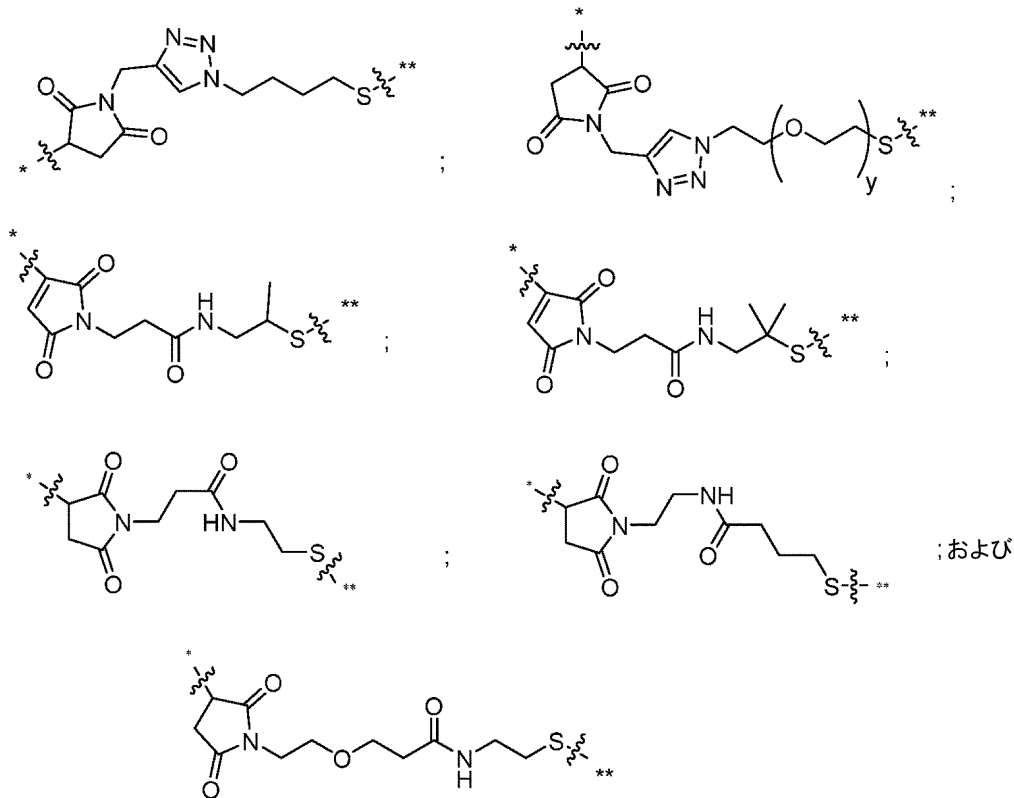
Xが、-C(O)-NH-、-NH-C(O)-またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

で表される、上記[18]に記載の抗体薬物コンジュゲート。

[21]

前記リンカーが、下式：

【化67】



(式中、 y が、1 ~ 11 であり；* が、前記抗体におけるチオール官能基に結合され、* が、前記薬物部分のチオール官能基に結合される)

で表される、上記 [20] に記載の抗体薬物コンジュゲート。

[22]

前記薬物部分が、V - A T P a s e 阻害剤、プロアポトーシス剤、B c l 2 阻害剤、M C L 1 阻害剤、H S P 9 0 阻害剤、I A P 阻害剤、m T o r 阻害剤、微小管安定化剤、微小管不安定化剤、オーリスタチン、ドラスタチン、メイタンシノイド、M e t A P (メチオニンアミノペプチダーゼ)、オーリスタチン、アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、RNAポリメラーゼ阻害剤、タンパク質CRM1の核輸送の阻害剤、D P P I V 阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ミトコンドリアにおけるホスホリル転移反応の阻害剤、タンパク質合成阻害剤、キナーゼ阻害剤、C D K 2 阻害剤、C D K 9 阻害剤、キネシン阻害剤、H D A C 阻害剤、DNA損傷剤、DNAアルキル化剤、DNA挿入剤、DNA小溝結合剤およびD H F R 阻害剤からなる群から選択される、上記 [15] ~ [21] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート。

[23]

前記細胞毒性剤が、メイタンシノイドである、上記 [22] に記載の抗体薬物コンジュゲート。

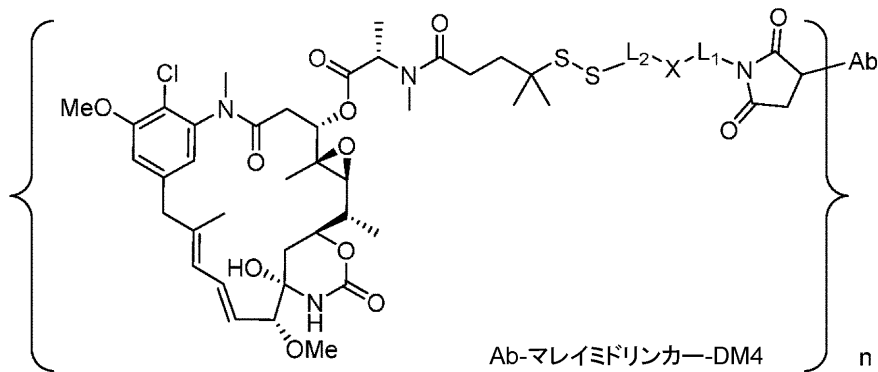
[24]

前記メイタンシノイドが、N (2 ') - デアセチル - N (2 ') - (3 - メルカプト - 1 - オキソプロピル) - メイタンシン (D M 1)、N (2 ') - デアセチル - N (2 ') - (4 - メルカプト - 1 - オキソペンチル) - メイタンシン (D M 3) または N (2 ') - デアセチル - N 2 - (4 - メルカプト - 4 - メチル - 1 - オキソペンチル) - メイタンシン (D M 4) である、上記 [23] に記載の抗体薬物コンジュゲート。

[25]

下式 (V I I I) :

【化 6 8】



(VIII)

(式中、 L^1 が、 C_{1-6} アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

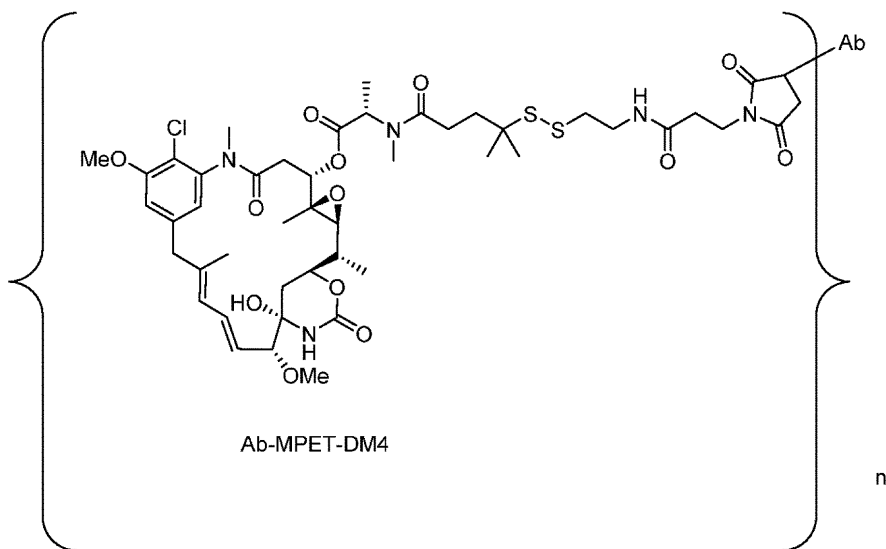
L^2 が、 C_{1-6} アルキレンであるか、または $-(CH_2CH_2O)_y-CH_2-CH_2-$ であり、ここで、 y が、 $1 \sim 11$ であり；

X が、 $-C(O)-NH-$ 、 $-NHC(O)-$ またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状であり；ここで、 n が、約3～約4である)；またはその薬学的に許容できる塩を有する、上記 [1 5] ～ [2 4] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート。

[2 6]

下式：

【化 6 9】



(式中、 n が、約3～約4であり、 Ab が、配列番号47のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号63のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体である)；またはその薬学的に許容できる塩を有する抗体薬物コンジュゲート。

[2 7]

上記 [1] ～ [1 4] のいずれかに記載の抗体、またはその抗原結合フラグメントと、

薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

[2 8]

上記 [1 5] ~ [2 6] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

[2 9]

癌の治療または予防を、それを必要とする患者において行う方法であって、上記 [1 5] ~ [2 6] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート、または上記 [2 7] もしくは [2 8] に記載の医薬組成物を前記患者に投与することを含み、前記癌が C C R 7 を発現する方法。

[3 0]

前記抗体薬物コンジュゲートまたは医薬組成物が、1つまたは複数のさらなる治療化合物と組み合わせて前記患者に投与される、上記 [2 9] に記載の方法。

[3 1]

前記1つまたは複数のさらなる治療化合物が、標準治療化学療法剤、共刺激分子、またはチェックポイント阻害剤から選択される、上記 [3 0] に記載の方法。

[3 2]

前記共刺激分子が、O X 4 0、C D 2、C D 2 7、C D S、I C A M - 1、L F A - 1 (C D 1 1 a / C D 1 8)、I C O S (C D 2 7 8)、4 - 1 B B (C D 1 3 7)、G I T R、C D 3 0、C D 4 0、B A F F R、H V E M、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、S L A M F 7、N K p 8 0、C D 1 6 0、B 7 - H 3、S T I N G、または C D 8 3 リガンドのアゴニストから選択される、上記 [3 1] に記載の方法。

[3 3]

前記チェックポイント阻害剤が、P D - 1、P D - L 1、P D - L 2、C T L A 4、T I M 3、L A G 3、V I S T A、B T L A、T I G I T、L A I R 1、C D 1 6 0、2 B 4 および / または T G F R の阻害剤から選択される、上記 [3 1] に記載の方法。

[3 4]

薬剤として使用するための、上記 [1 5] ~ [2 6] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート、または上記 [2 7] もしくは [2 8] に記載の医薬組成物。

[3 5]

C C R 7 発現癌の治療または予防を、それを必要とする患者において行うのに使用するための、上記 [1 5] ~ [2 6] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート、または上記 [2 7] もしくは [2 8] に記載の医薬組成物。

[3 6]

C C R 7 発現癌の治療または予防を、それを必要とする患者において行うための、上記 [1] ~ [1 4] のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、または上記 [1 5] ~ [2 6] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート、または上記 [2 7] もしくは [2 8] に記載の医薬組成物の使用。

[3 7]

薬剤の製造における、上記 [1] ~ [1 4] のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、または上記 [1 5] ~ [2 6] のいずれかに記載の抗体薬物コンジュゲート、または上記 [2 7] もしくは [2 8] に記載の医薬組成物の使用。

[3 8]

前記癌が C C R 7 を発現する、上記 [2 9] ~ [3 3] のいずれかに記載の方法、上記 [3 4] もしくは [3 5] に記載の抗体薬物コンジュゲート、または上記 [3 6] もしくは [3 7] に記載の使用。

[3 9]

前記癌が、慢性リンパ球性白血病 (C L L)、末梢性 T 細胞リンパ腫 (P T C L)、例えば成人 T 細胞白血病 / リンパ腫 (A T L L) および未分化大細胞型リンパ腫 (A L C L)、非ホジキンリンパ腫 (N H L)、例えばマントル細胞リンパ腫 (M C L)、バーキットリンパ腫およびびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (D L B C L)、胃癌、非小細胞肺癌

、小細胞肺癌、頭頸部癌、鼻咽頭癌（NPC）、食道癌、大腸癌、膵臓癌、甲状腺癌、乳癌、腎細胞癌、および子宮頸癌からなる群から選択される、上記〔38〕に記載の方法、抗体薬物コンジュゲート、または使用。

〔40〕

前記癌が、慢性リンパ球性白血病（CLL）、末梢性T細胞リンパ腫（PTCL）、例えば成人T細胞白血病/リンパ腫（ATLL）および未分化大細胞型リンパ腫（ALCL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、例えばマンツル細胞リンパ腫（MCL）、バーキットリンパ腫およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、および非小細胞肺癌からなる群から選択される、上記〔39〕に記載の方法、抗体薬物コンジュゲート、または使用。

〔41〕

上記〔1〕～〔14〕のいずれかに記載の抗体または抗原結合フラグメントをコードする核酸。

〔42〕

前記核酸が、配列番号14、16、30、32、46、48、62、64、78、80、94、96、481、483、497、または499のヌクレオチド配列を含む、上記〔41〕に記載の核酸。

〔43〕

上記〔41〕または〔42〕に記載の核酸を含むベクター。

〔44〕

上記〔43〕に記載のベクター、または上記〔41〕もしくは〔42〕に記載の核酸を含む宿主細胞。

〔45〕

抗体または抗原結合フラグメントを製造するための方法であって、上記〔44〕に記載の宿主細胞を培養し、細胞培養物から前記抗体を回収することを含む方法。

〔46〕

細胞培養物から前記抗体を回収することが、

a) 細胞を除去し、前記培養物をろ過する工程と；

b) アフィニティークロマトグラフィーによって、前記培養物を精製する工程と；

c) pHを3.4～3.6に調整し、次に、pHを5.8～6.2に再調整することによって前記培養物中のあらゆるウイルスを不活化し、前記培養物をろ過する工程と；

d) カチオン交換クロマトグラフィーによって前記培養物を精製し、前記培養物のオンカラム還元を行う工程と；

e) 前記培養物におけるアニオン交換クロマトグラフィーを行う工程と；

f) ナノろ過によってウイルスを除去する工程と；

g) 前記抗体を含有する前記培養物をろ過する工程と；

h) 精製された抗体を得る工程と

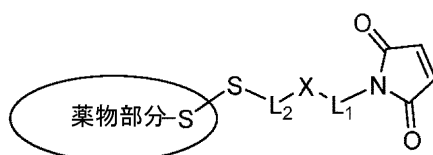
を含む、上記〔45〕に記載の方法。

〔47〕

抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) 下式：

【化70】



(式中：

前記薬物部分が、DM1、DM3またはDM4であり、前記薬物部分が、そのチオール官能基を介して前記リンカーに結合され；

L¹が、C₁-6アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L²が、C₁-6アルキレンであるか、または-(CH₂CH₂O)_y-CH₂-CH₂-であり、ここで、yが、1~11であり；

Xが、-C(O)-NH-、-NH-C(O)-またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である)

のリンカー-薬物部分を予め形成することと；

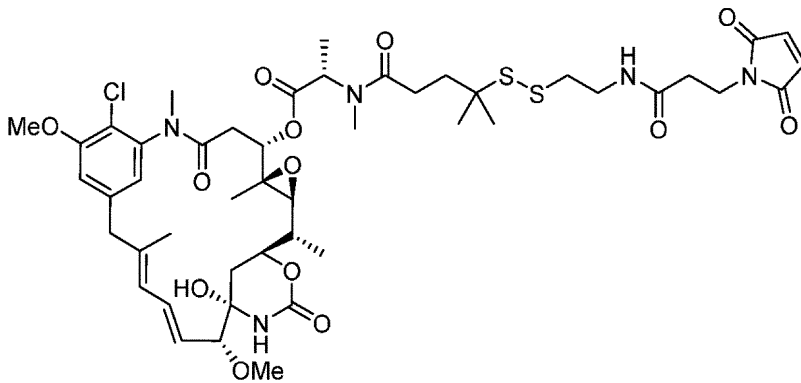
(b)前記リンカー-薬物部分を、上記[46]に記載の細胞培養物から回収された抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

(c)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

[48]

(b)下式：

【化71】



のリンカー-薬物部分を予め形成することと、

(b)前記リンカー-薬物部分を、上記[46]に記載の細胞培養物から回収された抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

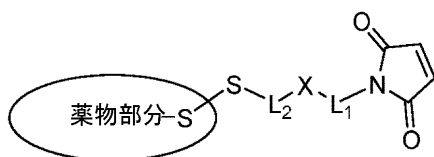
(c)前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む、上記[47]に記載の方法。

[49]

抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a)下式：

【化72】



(式中：

前記薬物部分が、DM1、DM3またはDM4であり、前記薬物部分が、そのチオール

官能基を介して前記リンカーに結合され；

L^1 が、 C_{1-6} アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の1つが、酸素で置換されてもよく；

L^2 が、 C_{1-6} アルキレンであるか、または $-(CH_2CH_2O)_y-CH_2-CH_2-$ であり、ここで、 y が、1~11であり；

X が、 $-C(O)-NH-$ 、 $-NHCO-$ またはトリアゾールであり；アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状である）

のリンカー - 薬物部分を予め形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、上記 [1] ~ [14] のいずれかに記載の抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

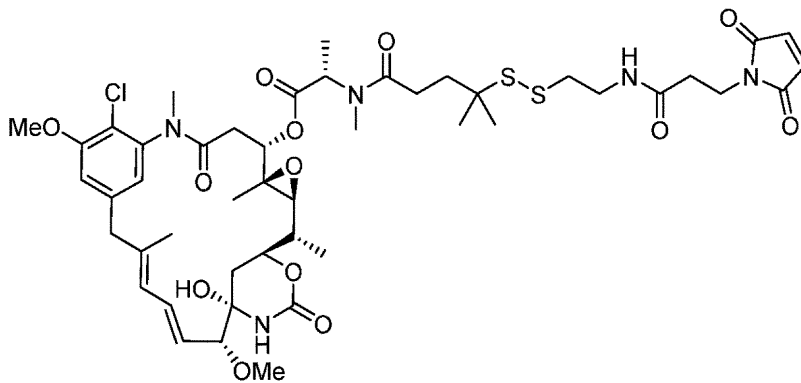
(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

[50]

抗CCR7抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) 下式；

【化73】



のリンカー - 薬物部分を予め形成することと、

(b) 前記リンカー - 薬物部分を、上記 [1] ~ [14] のいずれかに記載の抗体にコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲートを製造することと；

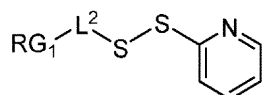
(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することとを含む方法。

[51]

前記リンカー - 薬物部分を予め形成する工程が、

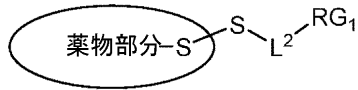
c) 薬物部分を、そのチオール官能基を介して、

【化74】



と反応させて；

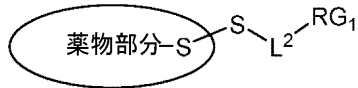
【化 7 5】



を形成することと；

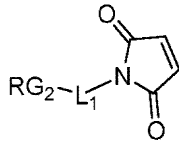
d) 前記形成された

【化 7 6】



を、

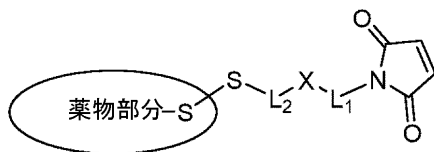
【化 7 7】



と反応させて；

前記リンカー - 薬物部分：

【化 7 8】



(式中：

L^1 が、 C_{1-6} アルキレンであり、ここで、前記メチレン基の 1 つが、酸素で置換されてもよく；

L^2 が、 C_{1-6} アルキレンであるか、または $-(CH_2CH_2O)_y-CH_2-CH_2-$ であり、ここで、 y が、1 ~ 11 であり；

X が、 $-C(O)-NH-$ 、 $-NH-C(O)-$ または トリアゾール であり；

ここで、前記アルキレンが、直鎖状または分枝鎖状であり；

RG_1 および RG_2 が、基 X を形成する 2 つの反応性基である)

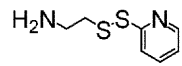
を形成することを含む、上記 [4 7] または [4 9] に記載の方法。

[5 2]

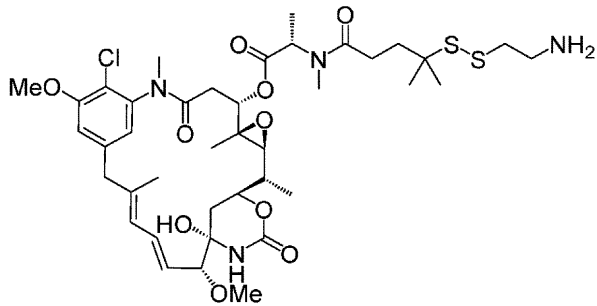
前記リンカー - 薬物部分を予め形成する工程が、

e) 前記薬物部分を、そのチオール官能基を介して、

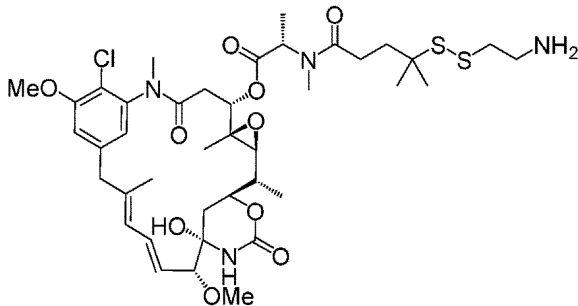
【化 7 9】

と反応させて；

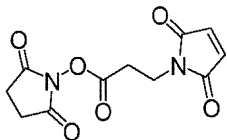
【化 8 0】

を形成することと；f) 前記形成された

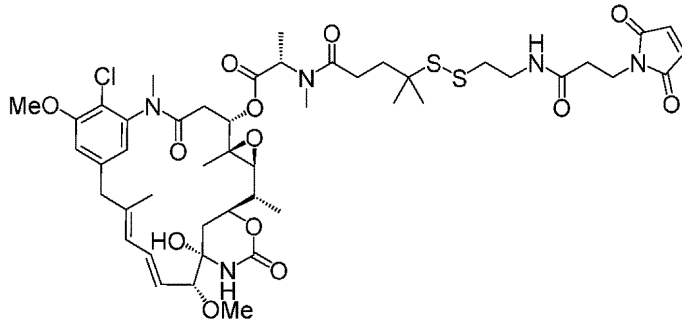
【化 8 1】

を、

【化 8 2】

と反応させて；前記リンカー - 薬物部分；

【化 8 3】



を形成することを含む、上記 [4 8] または [5 0] に記載の方法。

[5 3]

UV分光光度計で測定される、約 3 ~ 約 4 の平均 D A R を有する、上記 [4 7] ~ [5 2] のいずれかにしたがって作製される抗体薬物コンジュゲート。

[5 4]

抗 C C R 7 抗体薬物コンジュゲートを製造するための方法であって、

(a) S M C C または M P E T を、薬物部分 D M - 1 または D M - 4 に化学的に結合して、リンカー - 薬物を形成することと；

(b) 前記リンカー - 薬物を、上記 [1] ~ [1 4] のいずれかに記載の抗体にコンジュゲートすることと；

(c) 前記抗体薬物コンジュゲートを精製することと

を含む方法。

[5 5]

UV分光光度計で測定される、約 3 ~ 約 4 の平均 D A R を有する、上記 [5 4] にしたがって作製される抗体薬物コンジュゲート。

[5 6]

上記 [1] ~ [1 4] のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合フラグメントを含む診断試薬。

[5 7]

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、放射性標識、フルオロフォア、発色団、イメージング剤、または金属イオンで標識される、上記 [5 6] に記載の診断試薬。