

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-180110

(P2020-180110A)

(43) 公開日 令和2年11月5日(2020.11.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/5517 (2006.01)	A 6 1 K 31/5517	4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/66 (2017.01)	A 6 1 K 47/66	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	
	A 6 1 P 35/00	
審査請求 未請求 請求項の数 78 O L 外国語出願 (全 103 頁)		

(21) 出願番号	特願2020-58049 (P2020-58049)	(71) 出願人	000002956
(22) 出願日	令和2年3月27日 (2020.3.27)		田辺三菱製薬株式会社
(31) 優先権主張番号	特願2019-66035 (P2019-66035)		大阪府大阪市中央区道修町三丁目2番10号
(32) 優先日	平成31年3月29日 (2019.3.29)	(74) 代理人	100145403
(33) 優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)		弁理士 山尾 憲人
(特許庁注：以下のものは登録商標)		(74) 代理人	100106518
1. プルロニック			弁理士 松谷 道子
		(74) 代理人	100138911
			弁理士 櫻井 陽子
		(74) 代理人	100165892
			弁理士 坂田 啓司
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 c M E Tモノクローナル結合剤の薬物複合体を含む医薬組成物

(57) 【要約】

【課題】 がんの処置に有用な新規医薬組成物を提供する

【解決手段】 ピロロベンゾジアゼピン毒素に結合された新規モノクローナル c M E T 結合剤および薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、添加剤またはキャリアを含む医薬組成物が本明細書に提示される。この組成物はがんの処置に有用である。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

結合剤およびペイロードを含む結合剤－薬物複合体、および薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、添加剤またはキャリアを含む医薬組成物であって、
結合剤が、

(i) 軽鎖相補性決定領域 (CDR-L) のポリペプチド配列である CDR-L 1、CDR-L 2 および CDR-L 3 の 2 つ以上、および

(ii) 重鎖相補性決定領域 (CDR-H) のポリペプチド配列である CDR-H 1、CDR-H 2 および CDR-H 3 の 2 つ以上を含み、

CDR-L 1 は配列番号 1～15 のアミノ酸配列から選択され、CDR-L 2 は配列番号 16～25 のアミノ酸配列から選択され、および CDR-L 3 は配列番号 26～36 のアミノ酸配列から選択され、

CDR-H 1 は配列番号 50～61 のアミノ酸配列から選択され、CDR-H 2 は配列番号 62～78 のアミノ酸配列から選択され、および CDR-H 3 は配列番号 79～93 のアミノ酸配列から選択され；および

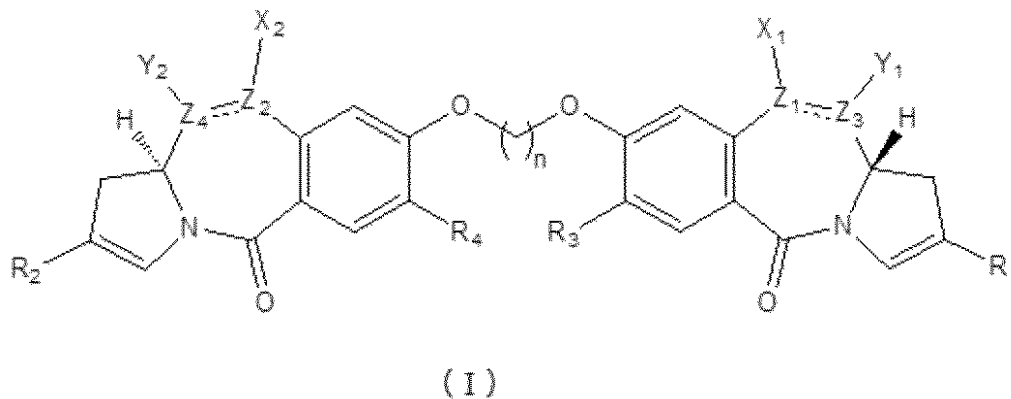
ペイロードはピロロベンゾジアゼピン毒素および連結基を含み；

ピロロベンゾジアゼピン毒素は連結基に共有結合で連結され、連結基は結合剤に共有結合で連結され、および結合剤は間葉上皮転換因子 (cMET) の細胞外ドメインに特異的に結合する、医薬組成物。

【請求項 2】

ピロロベンゾジアゼピン毒素が、化学式 I：

【化 1】



[式中、

Z₁ および Z₂ は両方とも N であり；

Z₃ および Z₄ は両方とも C であり；

【化 2】

二重破線  は単結合または二重結合を表し；

n は 1～10 であり；R₃ および R₄ のそれぞれは独立して H または C₁₋₄ アルコキシルであり；および R₁ および R₂ のそれぞれは独立して H、C₁₋₅ アルキル、C₃₋₆ シクロアルキル、C₂₋₅ アルケニルおよび R₅ で置換されていてもよいフェニルからなる群より選択され、

R₅ は、-NH₂、-NHR₆ および構造：

【化 3】



10

20

30

40

50

を有する R_7 で置換されたピペラジニルからなる群より選択され、

R_6 は連結基を含み、および R_7 は H または C_{1-5} アルキルであり；

X_1 はヌルであるか、保護基であるか、または連結基を含み； X_2 はヌルであるか、保護基であるか、または連結基を含み； X_1 、 X_2 、 R_1 および R_2 の 1 つだけが連結基を含み；および Y_1 および Y_2 のそれぞれが独立してヌル、OH または SO_3H のいずれかであり；

ただし、

【化 4】

(i) X_1 が連結基を含む場合、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、

10

(ii) X_2 が連結基を含む場合、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、

(iii) X_1 が保護基を含む場合、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、および

(iv) X_2 が保護基を含む場合、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、

ヌルは、部分が存在しないこと、または必要とされる原子価を完全にするための 1 つまたは複数の水素が存在することを示す]

の構造を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

n が 3、4 または 5 である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 4】

R_3 および R_4 が両方とも $O\text{---}CH_3$ である、請求項 2 または 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

R_1 および R_2 が両方ともメチルである、請求項 2～4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

R_1 および R_2 が両方とも $\text{---}CH=CH\text{---}CH_3$ である、請求項 2～4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

R_2 がシクロプロピルである、請求項 2～4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

30

【請求項 8】

R_2 が 4-メチルピペラジン-1-イルで置換されたフェニルである、請求項 2～4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

R_1 が R_5 で置換されていてもよいフェニルであり、 R_5 が $\text{---}NHR_6$ であり、および R_6 が連結基を含む、請求項 7 または 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

X_1 がヌルであり、 Y_1 がヌルであり、

【化 5】

$Z_1 \text{---} Z_3$ が $N=C$ であり、 X_2 がヌルであり、 Y_2 がヌルであり、および $Z_2 \text{---} Z_4$ が $N=C$ である

40

請求項 2～9 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

X_1 が連結基を含み、 Y_1 が OH であり、

【化 6】

$Z_2 \text{---} Z_4$ が $N=C$ であり、 X_2 がヌルであり、および Y_2 がヌルである

請求項 2～8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

X_1 が連結基を含み、 Y_1 が OH であり、

50

【化 7】

$Z_2 \sim Z_4$ が N-C であり、 X_2 が保護基であり、および Y_2 が OH である

請求項 2 ～ 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 3】

連結基がカルバメート基によってピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

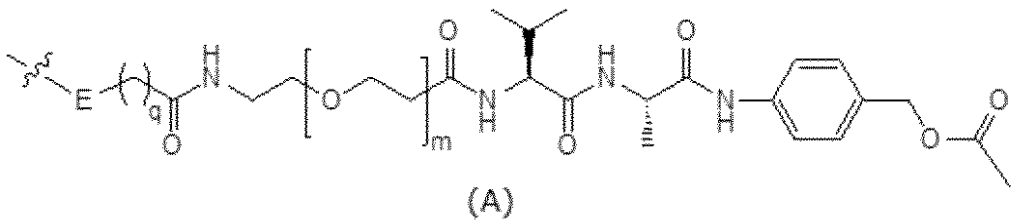
【請求項 1 4】

連結基がアミド基によってピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 5】

連結基が化学式 A :

【化 8】



[式中、

アスタリスクはピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている点を示し；

波線は結合剤に取着されている点を示し；m は 1 ～ 2 0 であり；q は 0 ～ 1 0 であり；および E は結合基である]

の構造を含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

m は 4 または 8 である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 7】

q は 0、1 または 2 である、請求項 1 5 または 1 6 に記載の医薬組成物。

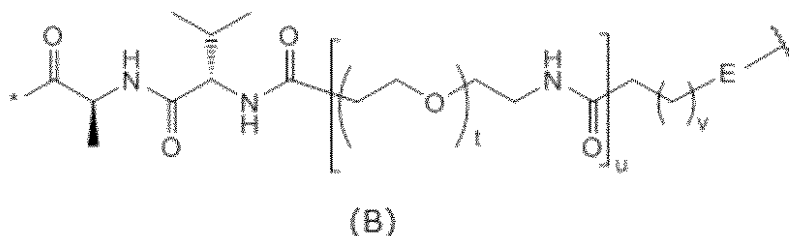
【請求項 1 8】

m は 8 であり、および q は 2 である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

連結基が化学式 B :

【化 9】



[式中、

アスタリスクはピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている点を示し；波線は結合剤に取着されている点を示し；E は結合基であり；v は 0 ～ 1 0 であり；および u は 0 または 1 であり；u が 1 である場合、t は 1 ～ 1 0 である]

の構造を含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

v が 1 である、請求項 1 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

u が 1 であり、および t が 8 である、請求項 1 9 または 2 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

u が 0 であり、および v が 4 である、請求項 1 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

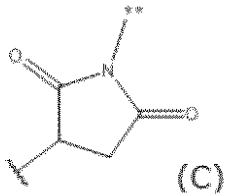
結合剤のシステインチオール残基と E との間に形成されたチオエーテル結合によって、結合剤は E に結合されている、請求項 1 5 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 4】

E は化学式 C :

【化 1 0】

10



〔式中、波線は結合剤に取着されている点を示し、ダブルアスタリスクは連結基に取着されている点を示す〕

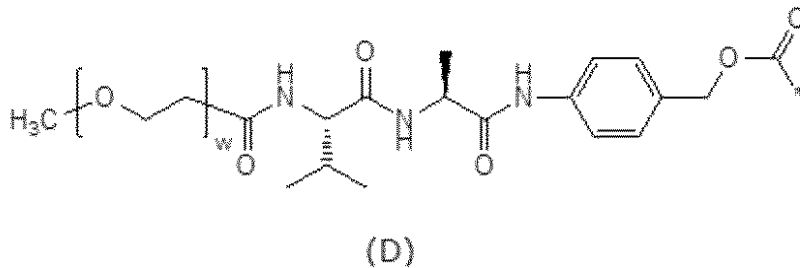
の構造を含む、請求項 1 5 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【請求項 2 5】

保護基が以下の構造 (D) :

【化 1 1】



30

〔式中、アスタリスクはピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている点を示し；および w は 1 ～ 5 である〕

を有する、請求項 2 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 6】

w は 2 である、請求項 2 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 7】

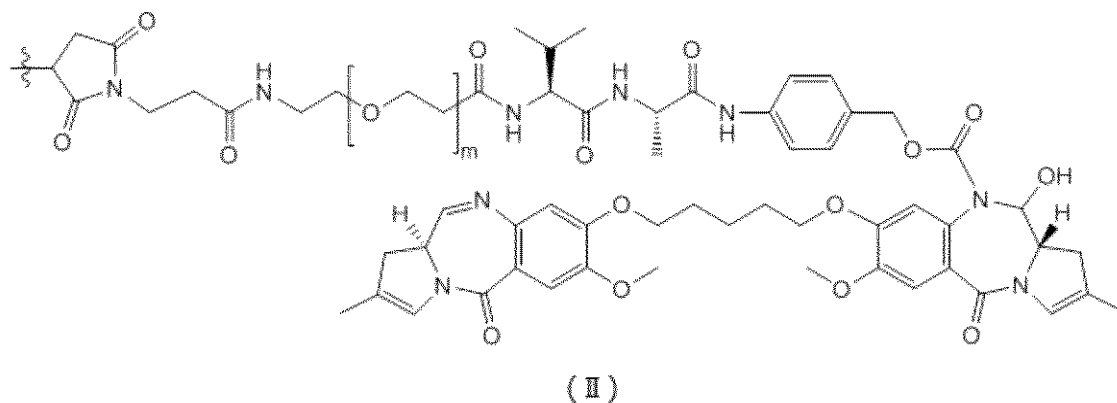
保護基が切断可能な保護基である、請求項 2 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 8】

ペイロードが

40

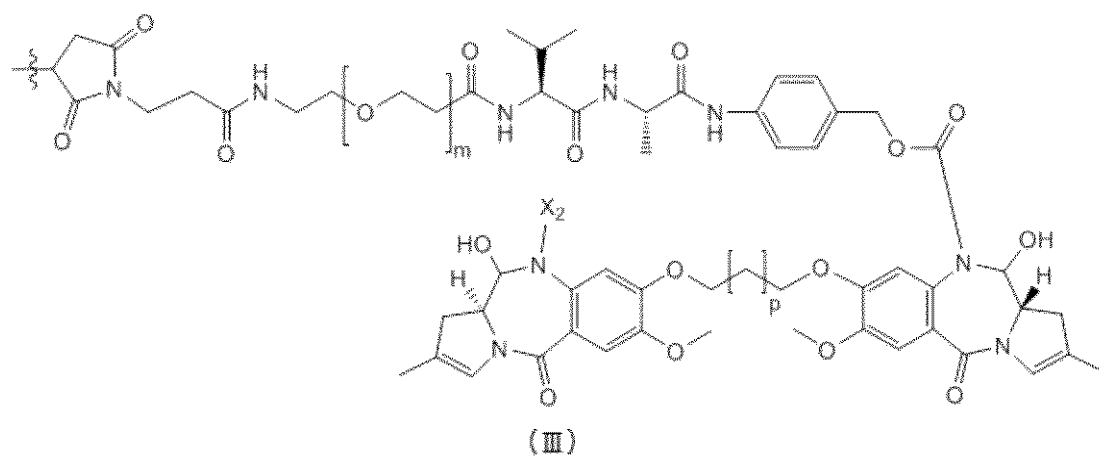
【化 1 2】



10

〔式中、mは8である〕；

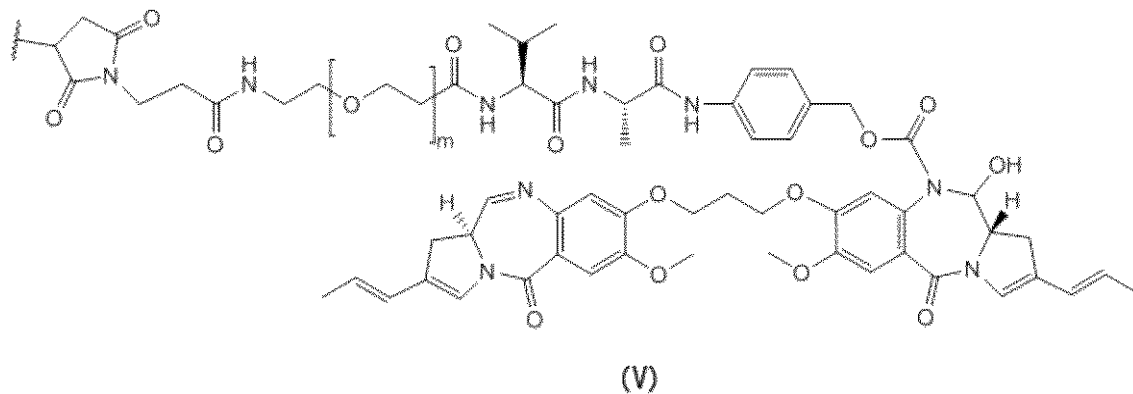
【化 1 3】



20

〔式中、mは8であり、pは3であり、およびX₂は保護基である〕；

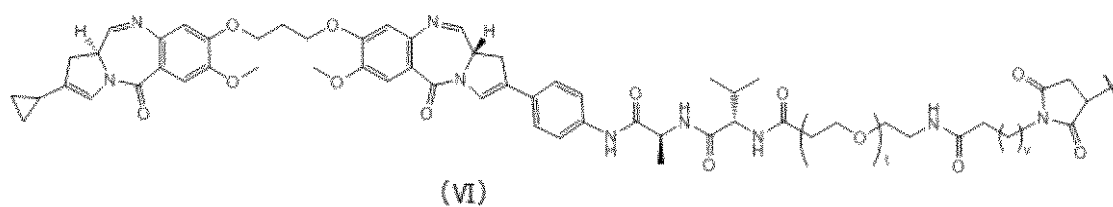
【化 1 4】



40

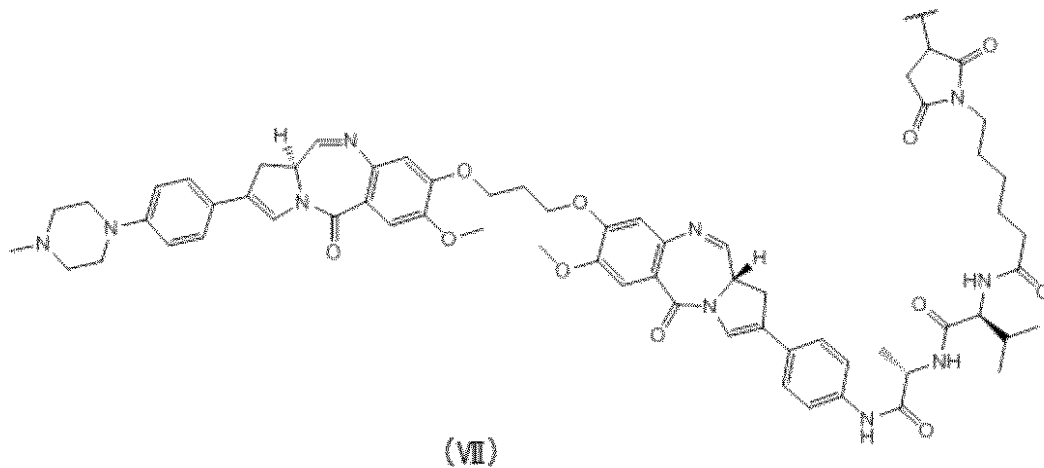
〔式中、mは8である〕；

【化 1 5】



50

[式中、t は 8 であり、および v は 1 である] ; および
【化 1 6】



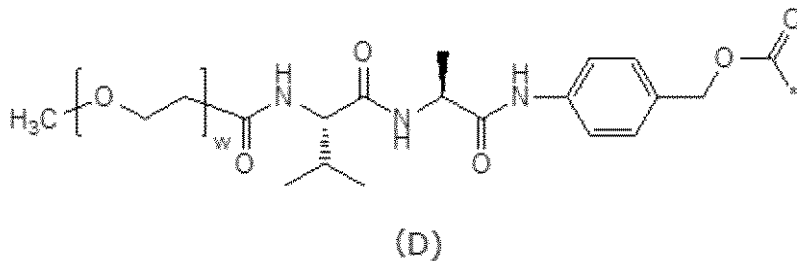
10

[式中、波線は結合剤に到着されている点を示す]
からなる群より選択される構造を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 9】

X₂ の保護基が以下の構造 (D) :

20



[式中、アスタリスクはペイロードに到着されている点を示し ; および w は 1 ~ 5 である
]

30

を有する、請求項 2 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 0】

C D R - L 1 が配列番号 2、4、6、8、9、10、12、14 および 15 のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 1】

C D R - L 2 が配列番号 17、19、21、23、24 および 25 のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 2】

C D R - L 3 が配列番号 27、29、31、33、34 および 35 のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

40

【請求項 3 3】

C D R - H 1 が配列番号 51、53、55、57、58 および 59 のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

C D R - H 2 が配列番号 63、65、67、69、70、71、73、75 および 78 のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 5】

C D R - H 3 が配列番号 80、82、84、86、87、88、91 および 93 のアミノ酸配列から選択される、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

50

【請求項 36】

結合剤が抗体またはその結合断片である、請求項 1～35 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 37】

結合剤がモノクローナル抗体またはその結合断片である、請求項 36 に記載の医薬組成物。

【請求項 38】

結合剤が Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3 または Ig G 4 の定常領域を含む、請求項 1～37 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 39】

結合剤が Ig G 2 の定常領域を含む、請求項 38 に記載の医薬組成物。

【請求項 40】

結合剤が Ig D、Ig E、Ig A または Ig M の定常領域を含む、請求項 1～37 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 41】

結合剤がヒト化されている、請求項 1～40 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 42】

結合剤が少なくとも 1 つのヒト化されたまたはヒトフレームワーク領域を含む、請求項 1～41 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 43】

結合剤が少なくとも 3 つのヒト化されたまたはヒトフレームワーク領域を含む、請求項 42 に記載の医薬組成物。

【請求項 44】

結合剤が少なくとも 1 つのマウスフレームワーク領域を含む、請求項 1～43 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 45】

結合剤が少なくとも 3 つのマウスフレームワーク領域を含む、請求項 44 に記載の医薬組成物。

【請求項 46】

結合剤が抗体の Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv または scFv 断片である、請求項 1～45 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 47】

結合剤が一本鎖ポリペプチドからなる、請求項 1～46 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 48】

結合剤が配列番号 37～44 のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項 1～47 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 49】

結合剤が配列番号 94～103 のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む、請求項 1～48 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 50】

結合剤が配列番号 46～49 のアミノ酸配列のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の配列同一性または 100 % の配列同一性を有する軽鎖配列を含む、請求項 1～49 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 51】

結合剤が配列番号 105～108 のアミノ酸配列のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の配列同一性または 100 % の配列同一性を有する重鎖配列を含む、請求項 1～50 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 52】

軽鎖配列または重鎖配列が、アミノ酸付加、アミノ酸欠失およびアミノ酸置換から選択

10

20

30

40

50

される１個～５個のアミノ酸修飾を含む、請求項５０または５１に記載の医薬組成物。

【請求項５３】

結合剤がヒトがん細胞上のｃＭＥＴの内在化を誘起する、請求項１～５２のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項５４】

結合剤がヒトがん細胞上のｃＭＥＴの分解を誘起する、請求項１～５３のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項５５】

結合剤がｃＭＥＴアゴニストではない、請求項１～５４のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項５６】

結合剤が哺乳類ｃＭＥＴに特異的に結合する、請求項１～５５のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項５７】

哺乳類ｃＭＥＴがヒトｃＭＥＴ、サルｃＭＥＴまたはラットｃＭＥＴである、請求項５６に記載の医薬組成物。

【請求項５８】

結合剤がヒトｃＭＥＴに特異的に結合する、請求項５７に記載の医薬組成物。

【請求項５９】

結合剤がヒトｃＭＥＴ、サルｃＭＥＴおよびラットｃＭＥＴに特異的に結合する、請求項５７または５８に記載の医薬組成物。

【請求項６０】

結合剤が野生型ｃＭＥＴの細胞外ドメインに特異的に結合する、請求項１～５９のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項６１】

結合剤がｃＭＥＴ変異体の細胞外ドメインに特異的に結合する、請求項１～６０のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項６２】

ｃＭＥＴ変異体がｃＭＥＴのＥ１６８ＤまたはＮ３７５Ｓ変異体を含む、請求項６１に記載の医薬組成物。

【請求項６３】

結合剤の少なくとも１つのアミノ酸がシステインに変異されており、システインがチオールエーテル結合によって連結基に共有結合で連結されている、請求項１～６２のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項６４】

結合剤が

配列番号１０または１４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；

配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；

配列番号３５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３；

配列番号５９のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；

配列番号７１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；および

配列番号８８のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３

を含む、請求項１～６３のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項６５】

結合剤が

配列番号９または１５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；

配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；

配列番号３４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３；

配列番号５８のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；

配列番号７０または７８のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；および

配列番号８１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項１～６４のいずれか一項に記載の医薬組成物。

配列番号 87 のアミノ酸配列を含む C D R－H 3
を含む、請求項 64 に記載の医薬組成物。

【請求項 66】

結合剤が

配列番号 9 または 10 のアミノ酸配列を含む C D R－L 1 ；
配列番号 24 または 25 のアミノ酸配列を含む C D R－L 2 ；
配列番号 34 または 35 のアミノ酸配列を含む C D R－L 3 ；
配列番号 58 または 59 のアミノ酸配列を含む C D R－H 1 ；
配列番号 70 または 71 のアミノ酸配列を含む C D R－H 2 ；および
配列番号 87 または 88 のアミノ酸配列を含む C D R－H 3
を含む、請求項 1～63 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 67】

配列番号 105、106、107 および 108 から選択されたアミノ酸配列を含む重鎖
可変領域、および配列番号 46、47、48 および 49 から選択されたアミノ酸配列を含
む軽鎖可変領域を有する、請求項 1～66 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 68】

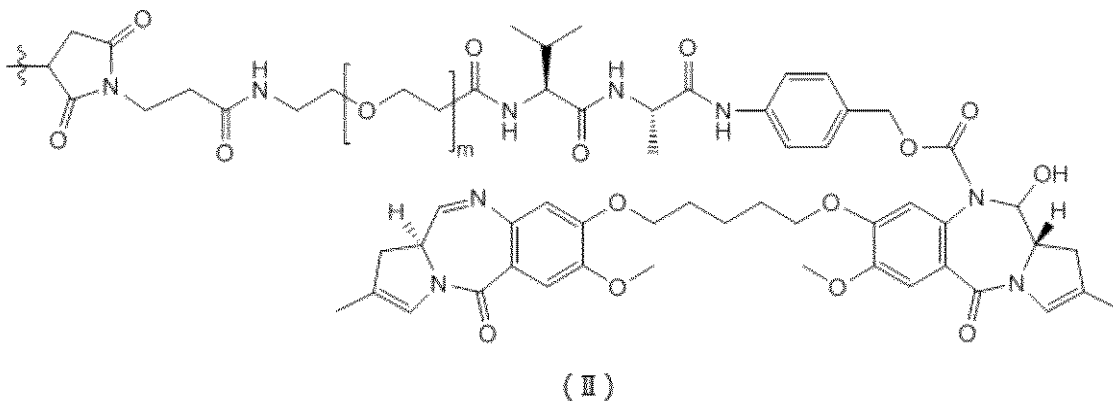
軽鎖配列が配列番号 47 を含み、重鎖配列が配列番号 108 を含み、請求項 1～67 の
いずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 69】

化学式 (I I)：

20

【化 18】



30

[式中、m は 8 であり、波線は結合剤のチオール基に取着されている点を示す]
の構造を有するペイロードを含む、請求項 1～68 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 70】

結合剤が

配列番号 9 または 10 のアミノ酸配列を含む C D R－L 1 ；
配列番号 24 または 25 のアミノ酸配列を含む C D R－L 2 ；
配列番号 34 または 35 のアミノ酸配列を含む C D R－L 3 ；
配列番号 58 または 59 のアミノ酸配列を含む C D R－H 1 ；
配列番号 70 または 71 のアミノ酸配列を含む C D R－H 2 ；および
配列番号 87 または 88 のアミノ酸配列を含む C D R－H 3
を含む、請求項 69 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 71】

結合剤が配列番号 114 または配列番号 116 の重鎖および配列番号 115 の軽鎖を含
む、請求項 69 に記載の医薬組成物。

【請求項 72】

腫瘍性障害またはがんを有する対象を処置するための、請求項 1～71 のいずれか一項
に記載の医薬組成物。

50

【請求項 7 3】

がんの成長、生存率または転移を妨害し、阻害し、改善し、廃棄しまたは抑制する、請求項 7 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 7 4】

がんの一部または全部の死、ネクロシスまたはアポトーシスを誘起するための、請求項 7 2 または 7 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 7 5】

腫瘍性障害またはがんが、癌腫、肉腫、神経芽腫、膠芽細胞腫、骨髄腫、リンパ腫、黒色腫または固形もしくは軟組織腫瘍を含む、請求項 7 2 ～ 7 4 のいずれか一項記載の医薬組成物。

10

【請求項 7 6】

腫瘍性障害またはがんが、膀胱がん、乳がん、結腸直腸がん、胃がん、膵臓がん、食道がん、肝臓がん、肝細胞がん、下咽頭がん、肺がん、腺がん、卵巣がんまたは腎臓がんを含む、請求項 7 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7 7】

腫瘍性障害またはがんが、膵臓腺がん、膵神経内分泌がん、結腸直腸腺がん、小腸悪性腫瘍、胆管がん、非小細胞肺癌（NSCLC）、甲状腺がん、食道もしくは食道胃接合部（EGJ）がん、胃腺がん、肝臓肝細胞がん、頭頸部扁平上皮がん、女性生殖器悪性腫瘍、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、肺小細胞がん、卵巣表面上皮がん、後腹膜もしくは腹膜肉腫、前立腺腺がん、神経内分泌腫瘍、消化管間質腫瘍、膠芽細胞腫または非上皮性卵巣がんを含む、請求項 7 5 または 7 6 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 7 8】

結合剤およびペイロードを含む結合剤－薬物複合体を含む医薬組成物であって、結合剤が 2019 年 3 月 20 日に ATCC に寄託されたハイブリドーマ細胞株 F6B1P3D12 により産生された抗体の重鎖および軽鎖のそれぞれの CDR と同じ CDR をそれぞれ有する重鎖および軽鎖を含み、および

ペイロードがピロロベンゾジアゼピン毒素および連結基を含み；

ピロロベンゾジアゼピン毒素は連結基に共有結合で連結され、連結基は結合剤に共有結合で連結され、および結合剤は間葉上皮因子（cMET）の細胞外ドメインに特異的に結合する、医薬組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の実施形態は、ピロロベンゾジアゼピン毒素に結合された cMET 結合剤を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

タンパク質 cMET は MET または肝細胞増殖因子受容体（HGF R）と呼ばれることもある、ヒトにおいて MET 遺伝子（MET プロトオンコジーン、レセプターチロシンキナーゼ）によってコードされるタンパク質である。cMET はチロシンキナーゼ活性を有するシングルパス細胞表面受容体である。MET 翻訳産物の一次一本鎖前駆体タンパク質は翻訳後に切断されて α および β サブユニットを産生し、これらはジスルフィドで連結されて成熟した細胞表面 cMET 受容体を形成する。cMET は上皮性起源の細胞、ならびに幹細胞、前駆細胞およびその他の細胞型（例えば、種々のがん細胞型）に発現する。肝細胞増殖因子／分散因子（HGF／SF）およびそのスプライシングアイソフォーム（NK1、NK2）は cMET のリガンドとして同定されている。

40

【0003】

cMET は正常な胚発育、器官形成および創傷治癒に必要なものと考えられている。cMET の異常な発現および／または活性は、ある種の腫瘍性障害およびがん（たとえば腎、肝、胃、乳腺、および脳のがん）に関連しており、cMET は腫瘍の成長、血管新生、

50

および転移に関与している。c M E T の過発現ならびにそのリガンドの共発現による自己活性化も、腫瘍形成に関与している。

【0004】

細胞毒性ペイロードに結合された新規坑 c M E T 結合剤（たとえばモノクローナル抗体）、その医薬組成物およびそれを使用する方法が本明細書に提示される。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

いくつかの態様では、結合剤およびペイロードを含む結合剤－薬物複合体であって、ペイロードがピロロベンゾジアゼピン毒素を含み、結合剤は間葉上皮転換因子（c M E T）に特異的に結合する結合剤－薬物複合体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、ペイロードは連結基を含み、ピロロベンゾジアゼピン毒素は連結基に共有結合で連結され、および連結基は結合剤に共有結合で連結されている。いくつかの実施形態では、結合剤はモノクローナル抗体またはその抗原結合部分である。

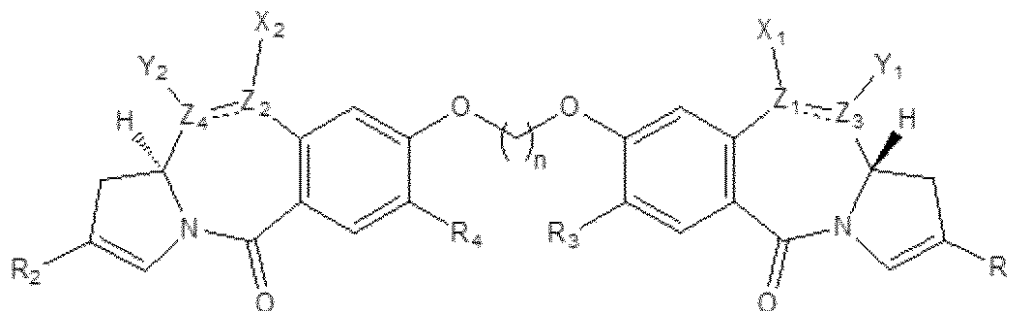
【0006】

いくつかの態様では、結合剤およびペイロードを含む結合剤－薬物複合体が本明細書に提示される。結合剤は（i）軽鎖相補性決定領域（C D R－L）のポリペプチド配列である C D R－L 1、C D R－L 2 および C D R－L 3 の 2 つ以上、および（i i）重鎖相補性決定領域（C D R－H）のポリペプチド配列である C D R－H 1、C D R－H 2 および C D R－H 3 の 2 つ以上を含み、C D R－L 1 は配列番号 1～15 のアミノ酸配列から選択され、C D R－L 2 は配列番号 16～25 のアミノ酸配列から選択され、および C D R－L 3 は配列番号 26～36 のアミノ酸配列から選択され、C D R－H 1 は配列番号 50～61 のアミノ酸配列から選択され、C D R－H 2 は配列番号 62～78 のアミノ酸配列から選択され、および C D R－H 3 は配列番号 79～93 のアミノ酸配列から選択され；およびペイロードはピロロベンゾジアゼピン毒素および連結基を含み；ピロロベンゾジアゼピン毒素は連結基に共有結合で連結され、連結基は結合剤に共有結合で連結され、および結合剤は間葉上皮転換因子（c M E T）の細胞外ドメインに特異的に結合する。

【0007】

ある実施形態では、ピロロベンゾジアゼピン毒素は、化学式（I）：

【化1】



(I)

[式中、

Z₁ および Z₂ は両方とも N であり；

Z₃ および Z₄ は両方とも C であり；

【化2】

二重破線  は単結合または二重結合を表し；

n は 1～12 であり；

R₃ および R₄ のそれぞれは独立して H または C₁₋₄ アルコキシルであり；および

R_1 および R_2 のそれぞれは独立して H、 $C_1 - 5$ アルキル、 $C_3 - 6$ シクロアルキル、 $C_2 - 5$ アルケニルおよび R_5 で置換されていてもよいフェニルからなる群より選択され、

R_5 は、 $-NH_2$ 、 $-NHR_6$ および構造：

【化 3】



を有する R_7 で置換されたピペラジニルからなる群より選択され、

10

R_6 は連結基を含み、および

R_7 は H または $C_1 - 5$ アルキルであり；

X_1 はヌルであるか、保護基であるか、または連結基を含み；

X_2 はヌルであるか、保護基であるか、または連結基を含み；

X_1 、 X_2 、 R_1 および R_2 の 1 つだけが連結基を含み；および

Y_1 および Y_2 のそれぞれが独立してヌル、OH または SO_3H のいずれかであり；

ただし、

【化 4】

(i) X_1 が連結基を含む場合、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、

20

(ii) X_2 が連結基を含む場合、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、

(iii) X_1 が保護基を含む場合、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、および

(iv) X_2 が保護基を含む場合、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、

ヌルは、部分が存在しないこと、または必要とされる原子価を完全にするための 1 つまたは複数の水素が存在することを示す]

構造を含む。

【0008】

化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のいくつかの実施形態では、 n は 3 または 5 である。化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のいくつかの実施形態では、 R_3 および R_4 が両方とも $-O-CH_3$ である。化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のある実施形態では、 R_1 および R_2 が両方ともメチルであるか、または R_1 および R_2 が両方とも $-CH=CH-CH_3$ である。化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のいくつかの実施形態では、 R_2 がシクロプロピルである。化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のある実施形態では、 R_2 が 4-メチルピペラジン-1-イルで置換されたフェニルまたは R_5 で置換されていてもよいフェニルであり、 R_5 が $-NHR_6$ であり、および R_6 が連結基を含む。

30

【化 5】

化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のいくつかの実施形態では、 X_1 はヌルであり、

40

Y_1 はヌルであり、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、 X_2 はヌルであり、 Y_2 はヌルであり、および

$Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ である。化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のある実施形態では、

X_1 は連結基を含み、 Y_1 は OH であり、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、 X_2 はヌルであり、および

Y_2 はヌルである。化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のいくつかの実施形態では、

Y_1 は OH であり、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、 X_2 は保護基であり、および Y_2 は OH である。

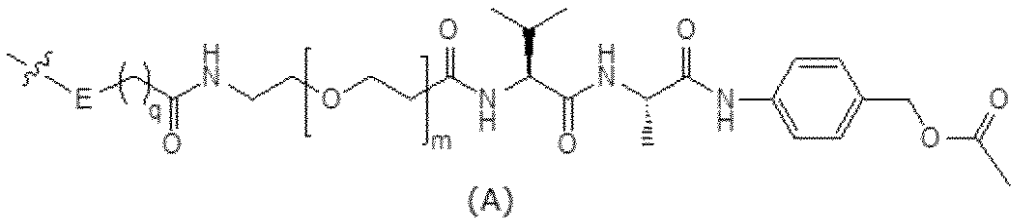
化学式 I の構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のある実施形態では、連結基がカルバメート基またはアミド基によってピロロベンゾジアゼピン毒素に到着されている。

【0009】

ある実施形態では、連結器は化学式 A：

50

【化 6】



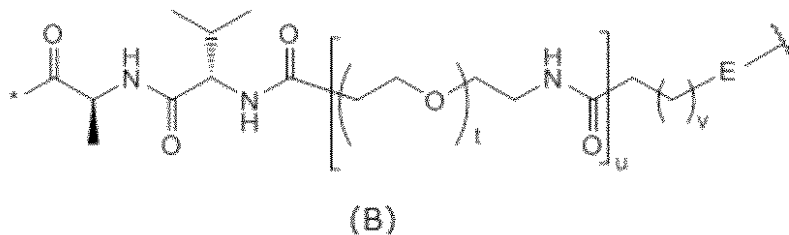
〔式中、アスタリスクはピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている点を示し；波線は結合剤に取着されている点を示し；mは1～20であり；qは0～10であり；およびEは結合基である〕の構造を含む。化学式Aの連結基のある実施形態では、mは4または8であり、およびqは0、1または2である。いくつかの実施形態では、mは8であり、およびqは2である。

10

【0010】

ある実施形態では、連結基が化学式B：

【化 7】



〔式中、アスタリスクはピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている点を示し；波線は結合剤に取着されている点を示し；Eは結合基を含み；vは0～10であり；およびuは0または1であり；uが1である場合、tは1～10である〕の構造を含む。化学式Bの連結基のある実施形態では、vが1である。化学式Bの連結基のある実施形態では、uが1であり、およびtが8である。化学式Bの連結基のある実施形態では、uが0であり、およびvが4である。

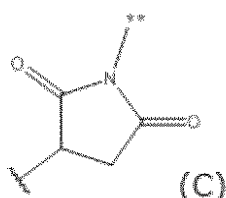
20

30

【0011】

化学式AおよびBの連結基のある実施形態では、結合剤のシステインチオール残基とEとの間に形成されたチオエーテル結合によって、結合剤はEに結合されている。いくつかの実施形態では、Eは化学式C：

【化 8】



〔式中、波線は結合剤に取着されている点を示し、ダブルアスタリスクは連結基に取着されている点を示す〕の構造を含む。

40

【0012】

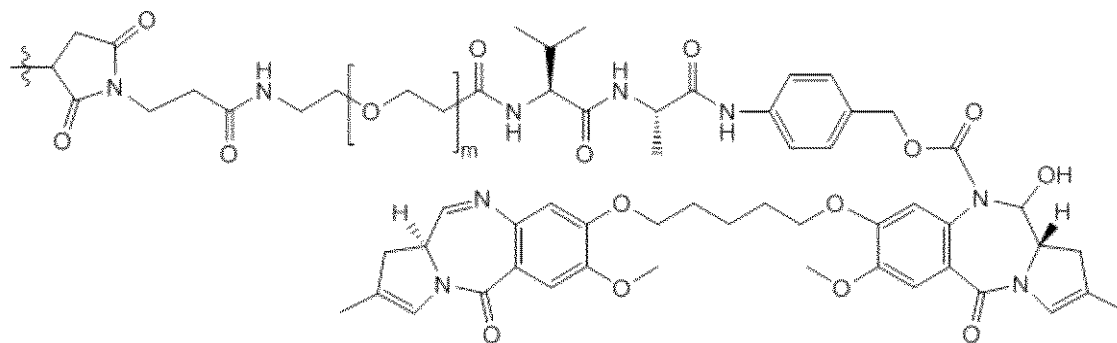
化学式Iの構造のピロロベンゾジアゼピン毒素のいくつかの実施では、保護基は以下の構造(D)：

COP(=O)(OC)Cc1ccc(NC(=O)[C@H](N(C)C)C(=O)NC(=O)CCOC)cc1

10

【 0 0 1 3 】

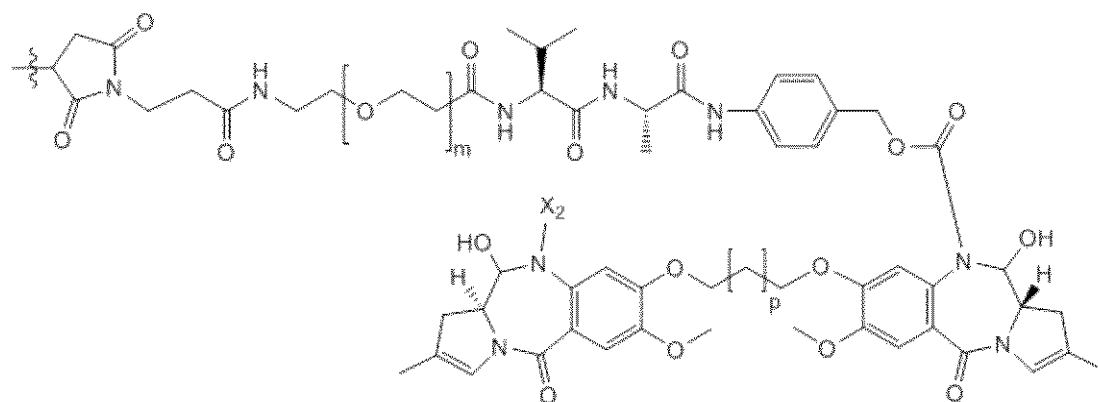
【化 1 0】



20

30

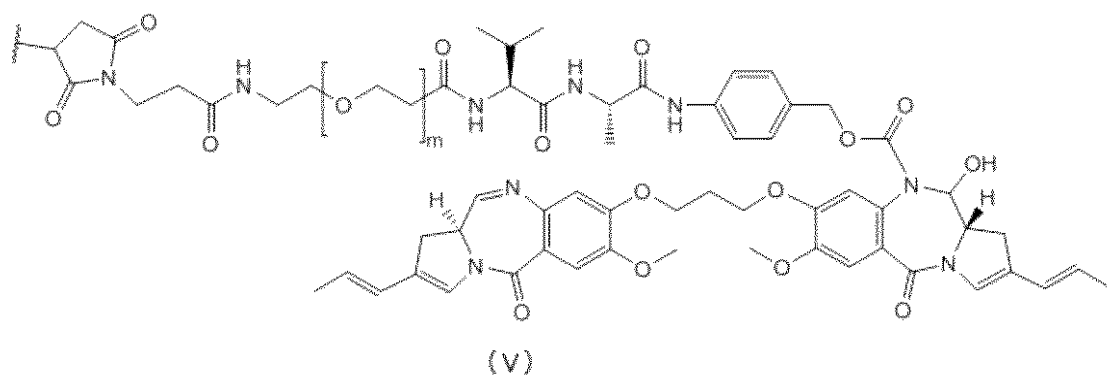
【化 1 1】



40

化学式 V は構造：

【化 1 2】

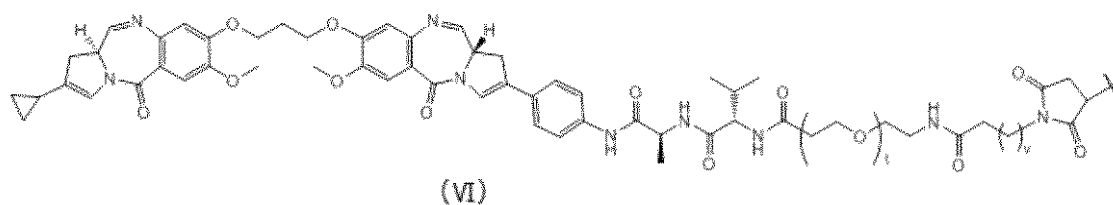


10

[式中、mは8であり、波線は結合剤に取着されている点を示す] を含み；

化学式 V I は構造：

【化 1 3】

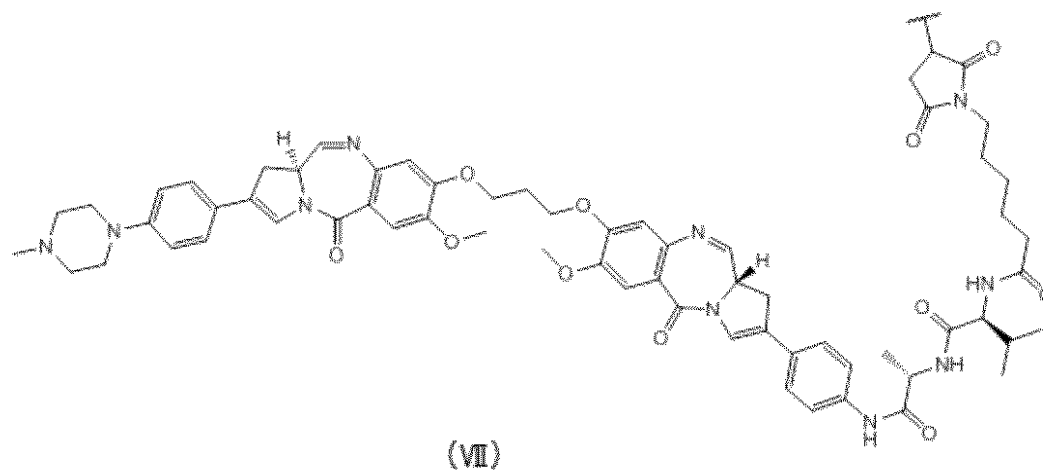


20

[式中、tは8であり、vは1であり、波線は結合剤に取着されている点を示す] を含み；

化学式 V I は構造：

【化 1 4】



30

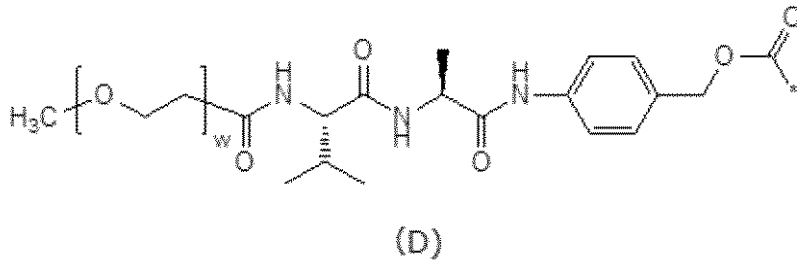
[式中、波線は結合剤に取着されている点を示す] を含む。

40

【0 0 1 4】

ある実施形態では、X₂の保護基は以下の構造(D)：

【化 15】



〔式中、アスタリスクはペイロードに取着されている点を示し；およびwは1～5である〕を有する。 10

【0015】

ある態様では、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分およびペイロードを含む結合剤－薬物複合体が本明細書に提示される。モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、配列番号2、4、6、8、10、12および14のアミノ酸配列から選択されるCDR-L1、配列番号17、19、21、23および25のアミノ酸配列を含むCDR-L2、配列番号27、29、31、33および35のアミノ酸配列を含むCDR-L3、配列番号51、53、55、57および59のアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号63、65、67、69、73および75のアミノ酸配列を含むCDR-H2、および配列番号80、82、84、86、88、91および93のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む。 20

【0016】

ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤－薬物複合体の結合剤は、配列番号10または14のアミノ酸配列を含むCDR-L1；配列番号25のアミノ酸配列を含むCDR-L2；配列番号35のアミノ酸配列を含むCDR-L3；配列番号59のアミノ酸配列を含むCDR-H1；配列番号71のアミノ酸配列を含むCDR-H2；および配列番号88のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む。

【0017】

ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤－薬物複合体の結合剤は、配列番号9または15のアミノ酸配列を含むCDR-L1；配列番号24のアミノ酸配列を含むCDR-L2；配列番号34のアミノ酸配列を含むCDR-L3；配列番号58のアミノ酸配列を含むCDR-H1；配列番号70または78のアミノ酸配列を含むCDR-H2；および配列番号87のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む。 30

【0018】

いくつかの実施形態では、結合剤は、配列番号37～44のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を含む可変軽鎖領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は、配列番号45～49のアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも90%の配列同一性または100%の配列同一性を有する軽鎖可変配列を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は、配列番号37～49のアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも90%の配列同一性を有する軽鎖可変配列を含み、軽鎖可変配列がアミノ酸付加、アミノ酸欠失およびアミノ酸置換から選択される1個～5個のアミノ酸修飾を含む。 40

【0019】

いくつかの実施形態では、結合剤は、配列番号94～103のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は配列番号104～108のアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも90%の配列同一性または100%の配列同一性を有する重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は、配列番号94～108のアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも90%の配列同一性を有する重鎖可変配列を含み、重鎖可変配列がアミノ酸付加、アミノ酸欠失およびアミノ酸置換から選択される1個～5個のアミノ酸修飾を含む。

【0020】

ある実施形態では、結合剤は、配列番号 37～49 のアミノ酸配列のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の配列同一性を有する軽鎖可変配列および配列番号 94～108 のアミノ酸配列のいずれか 1 つと少なくとも 90 % の配列同一性を有する重鎖可変配列を含む。

【0021】

ある実施形態では、結合剤、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、キメラであるか、またはヒト化されている。例えば、いくつかの実施形態では、結合剤は、1 つまたは複数のヒト化されたもしくはヒトフレームワーク領域および／または 1 つまたは複数のマウスフレームワーク領域を含む。

【0022】

ある実施形態では、結合剤、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、2019 年 3 月 20 日に ATCC に寄託されたハイブリドーマ細胞株 F6B1P3D12 により産生された抗体の重鎖および軽鎖のそれぞれの CDR と同じ CDR をそれぞれ有する重鎖および軽鎖を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、cMET またはその部分に特異的に結合する結合剤は、抗体の抗原結合部分または一本鎖抗体を含む。たとえば、ある実施形態では、結合剤-薬物複合体の結合剤は抗体の Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv または scFv 断片を含む。

【0024】

ある実施形態では、結合剤は哺乳類 cMET に特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤はヒト cMET、サル cMET および／またはラット cMET に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、野生型または変異型 cMET の細胞外ドメインに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、cMET に特異的に結合する結合剤は、ヒトがん細胞上の cMET の内在化および／または分解を含む結合剤である。いくつかの実施形態では、cMET に特異的に結合する結合剤は、cMET アゴニストではない結合剤である。したがって、cMET アゴニストではない cMET 結合剤は、cMET アゴニストではない cMET 結合剤は、細胞表面の cMET に結合すると、細胞表面の cMET を介したシグナル伝達を実質的に誘起しない結合剤です。

【0025】

ある態様では、本明細書に記載した結合剤-薬物複合体および薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、添加剤またはキャリアを含む医薬組成物が本明細書に提示される。

【0026】

ある態様では、腫瘍性障害またはがんを有する対象を処置するための医薬組成物である。処置される対象は、腫瘍性障害またはがんを有するか、有する疑いのある対象である。ある実施形態では、組成物の投与はがんの成長、生存率または転移を妨害し、阻害し、改善し、廃棄しまたは抑制する。ある実施形態では、組成物の投与はがんの一部または全部の死、ネクロシスまたはアポトーシスを誘起する。ある実施形態では、腫瘍性障害またはがんは癌腫、肉腫、神経芽腫、膠芽細胞腫、骨髄腫、リンパ腫、黒色腫または固形もしくは軟組織腫瘍を含む。ある実施形態では、腫瘍性障害またはがんは膀胱がん、乳がん、結腸直腸がん、胃がん、膵臓がん（たとえば外分泌の膵臓がんおよび膵神経内分泌がん）、食道がん、肝臓がん、肝細胞がん、下咽頭がん、肺がん、腺がん、卵巣がんまたは腎臓がんを含む。ある実施形態では、腫瘍性障害またはがんは膵臓腺がん、結腸直腸腺がん、小腸悪性腫瘍、胆管がん、非小細胞肺がん（NSCLC）、甲状腺がん、食道もしくは食道胃接合部（EGJ）がん、胃腺がん、肝臓肝細胞がん、頭頸部扁平上皮がん、女性生殖器悪性腫瘍、乳がん、肺小細胞がん、卵巣表面上皮がん、後腹膜もしくは腹膜肉腫、前立腺腺がん、神経内分泌腫瘍、消化管間質腫瘍、膠芽細胞腫または非上皮性卵巣がんを含む。ある実施形態では、本明細書に記載した組成物によって処置することができるがんは、cMET ポリペプチド（たとえば cMET、たとえば細胞表面上に発現する）を発現する細胞（たとえば悪性または腫瘍性細胞）を含むがんである。

【0027】

本技術のある態様を以下の記述、実施例、特許請求の範囲および図面においてさらに説明する。

【0028】

図面は本技術の実施形態を説明するものであって制限するものではない。説明を明瞭かつ容易にするため、図面はスケール通りではなく、いくつかの場合には特定の実施形態の理解を助けるために種々の態様を誇張してまたは拡大して示すことがある。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】図1はcMETに特異的に結合するモノクローナル抗体（例示的な結合剤）の生成のために用いたワークフローの概要を示す。リードモノクローナルAb P3D12は、ヒトFcに融合させたcMETの組み換え未変性細胞外ドメインで免疫したマウスから生成させた。

10

【0030】

【図2】図2はcMETに特異的に結合するモノクローナル抗体（例示的な結合剤）の生成のために用いた免疫スキームを示す。マウスを指示されたように最初に100μgのヒトcMET-Fc融合タンパク質（cMET-Fc）またはフロイント完全アジュバント（CFA）中の50~100μgのKLH複合体cMETペプチドの腹腔内投与（i.p.）によって免疫した。cMET-Fcは抗体のFc部分に融合したヒトcMETの細胞外ドメインを含む。cMETペプチドはcMET細胞外ドメインの一部から戦略的に選択した。免疫されたマウスに、指示されたように不完全フロイントアジュバント（IFA）中の25μgまたは50μgのcMET-Fcまたはペプチドを含む1回または複数回のブースター免疫を行なった。数匹のマウスには多数部位で繰り返し免疫（RIMMS）を行なった。免疫にはMet-Fc融合、ペプチド、従来およびRIMMSが含まれていた。免疫されたマウスの脾臓を採取し、好適な融合パートナーと融合させた。2万を超えるハイブリドーマクローンを得てスクリーニングした。

20

【0031】

【図3】図3はアゴニストMet-mAb抗体のFab（5D5 Fab）およびHGFベータサブユニット（HGFβまたはHGFb）と結合したMET SEMAドメインの3D構造を示す。下の矢印はペプチド3を設計するために用いたcMETの部分の位置を示す。

30

【0032】

【図4】図4は例示的な融合（FUSION 6B1、プレート3）からの特性解析の結果を示す。抗cMetハイブリドーマを、一つにはELISAによってアッセイしたcMetへの特異的結合の存在について（「MET結合ELISA OD450nm」とラベルした欄を参照）、またフローサイトメトリーによって測定したヒトがん細胞株におけるcMETの内在化を誘起する能力について（「FACS Geom. Mean」とラベルした欄を参照）、選択した。陰性対照より低いFACS Geom. Mean値はcMetの内在化を示す。矢印はリードハイブリドーマF6B1P3D12を示す。

【図5】図5はMET分解アッセイの結果を示す。指示されたウェル（x軸）から単離された抗cMet抗体を試験し、メソスケール（MSD）cMetタンパク質定量によって測定したヒトがん細胞株におけるcMETの分解を誘起する能力について選択した。Met分解の相対値を%対照（対照の%）としてy軸に示す。100%対照（陰性対照レベル）より低い値はcMetの内在化および分解を示す。分解は内在化のみでなく、抗体薬物複合体の重要な特性であるリソソームトラフィッキングを示す。矢印はリードハイブリドーマF6B1P3D12についての結果を示す。

40

【図6】図6はERKリン酸化アッセイ（P-ERKアッセイ）の結果を示す。これは、細胞表面上のcMETへの抗cMET抗体の結合によって誘起されるERKのリン酸化を間接的に測定することによって抗cMET抗体のアゴニスト活性を測定する方法である。生きた細胞を抗cMET抗体で処理した後の細胞溶解液中に検出されたリン酸化ERKの量（対照の%として示す、y軸）を示している。種々の抗cMETハイブリドーマ（x軸

50

）から産生された抗cMET抗体を $6\mu\text{g}/\text{ml}$ または $30\mu\text{g}/\text{ml}$ （x軸上に示す）で試験し、ERKの有意なリン酸化を誘起する活性のないこと（即ち増殖を誘起しない活性、即ちアゴニスト活性がないこと）によって選択した。リードモノクローナル抗体（mAb）P3D12を矢印で示す。

【0033】

【図7】図7はヒト、サル（シノモルガス・マカク（*Cynomolgus Macaque*）、「Cyno」）、イヌ、ラット、およびマウスのcMETへの結合についてのELISAによってアッセイした6つのcMETモノクローナル抗体（mAb）の結果を示す。全てのモノクローナル抗体はヒトおよびサルのcMETに結合した。P3D12はラットのcMETと有意な交差反応性を示した。それぞれの抗体の種々の濃度をx軸に示す。相対的結合量をy軸に示す（OD450nm）。

10

【0034】

【図8】図8Aは9種のマウスモノクローナル抗cMET抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列の配置を示し、その名称を各配列の左側に示す。配列番号は各配列の右側に示す。LC F6B1P1E2とF6BP3E2の軽鎖可変領域のアミノ酸配列は100%同一である。また、LC F6B1P3D12とF6B1P3E9の軽鎖可変領域のアミノ酸配列は100%同一である。

【0035】

図8Bは9種のマウスモノクローナル抗cMET抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列の配置を示し、その名称を各配列の左側に示す。配列番号は各配列の右側に示す。F6B1P3D12H7913とF6B1P3E9の重鎖可変領域のアミノ酸配列は100%同一である。また、F6B1P1E2H7819とF6BP3E2の重鎖可変領域のアミノ酸配列は100%同一である。

20

【0036】

【図9】図9Aおよび9Bは、ヌードマウスにおけるMKN45腫瘍モデル（cMet＋胃がんモデル）を用いた、指示された抗cMET抗体薬物複合体（ADC）の効果を評価するインビボ（in vivo）キセノグラフトマウスモデルの結果を示す。動物を $2.5\text{mg}/\text{kg}$ （9A）または $5.0\text{mg}/\text{kg}$ （9B）のADCで1回処置した。それぞれの薬物複合体抗cMET結合剤の効果を、PBSまたは無関係な非ターゲットモノクローナル抗体（IgG-ADC）と比較する。移植後の種々の時点（x軸、日（移植後））で腫瘍体積（y軸）を測定した。腫瘍成長の阻害は陽性の効果を示す。抗cMET結合剤および非ターゲット対照モノクローナル抗体（IgG）はモノメチルアウリスチンF（MMAF）と複合体化させた。

30

【0037】

【図10】図10はERKリン酸化アッセイ（P-ERKアッセイ）の結果を示す。これは、細胞表面上のcMETへの抗cMET抗体の結合によって誘起されるERKのリン酸化を間接的に測定することによって抗cMET抗体のアゴニスト活性を測定する方法である。生きた細胞を抗cMET抗体で処理した後の細胞溶解液中に検出されたリン酸化ERKの量（対照の%として示す、y軸）を示している。P3D12と指定された単離されたマウスモノクローナル抗体の重鎖および軽鎖の定常領域を、x軸に示すヒトIgG1（P3D12（hIgG1））またはヒトIgG2（P3D12（hIgG2））の抗体定常領域に置き換えた。それぞれの抗体を、x軸に示す $0.00064\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.0032\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.016\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.08\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.4\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ および $50\mu\text{g}/\text{ml}$ で試験した。「対照」は未処理の陰性対照を示す。HGF（EC90）は陽性対照であり、cMET受容体の天然のリガンドである肝細胞増殖因子（HGF）で処理した細胞を示す。このデータは、ヒトIgG2アイソタイプが検出可能なアゴニスト活性を示さないことを示している。

40

【0038】

【図11】図11はMET分解アッセイの結果を示す。分解は抗体結合の際のcMET受容体の内在化の尺度である。キメラ抗cMET抗体を、メソスケール（MSD）cMET

50

タンパク質定量によって測定したヒトがん細胞株における c M E T の分解を誘起する能力について試験した。M e t 分解の相対値を % 対照 (対照の %) として y 軸に示す。100 % 対照より低い値は c M e t の内在化および分解を示す。キメラ抗体は、P 3 D 1 2 と指定された単離されたマウスモノクローナル抗体 (P 3 D 1 2 (マウス)) の重鎖および軽鎖の定常領域を、x 軸に示すヒト I g G 1 (P 3 D 1 2 (h I g G 1)) またはヒト I g G 2 (P 3 D 1 2 (h I g G 2)) の抗体定常領域に置き換えることによって生成させた。それぞれの抗体を、x 軸に示す 0.00064 μ g/ml、0.0032 μ g/ml、0.016 μ g/ml、0.08 μ g/ml、0.4 μ g/ml、2 μ g/ml、10 μ g/ml および 50 μ g/ml で試験した。P 3 D 1 2 のキメラ c M E T 抗体は、親のマウス P 3 D 1 2 抗体と同様の内在化/分解活性を示した。

10

【0039】

【図12】図12はリード抗 c M E T モノクローナル結合剤の試験および選択のプロセス開発のフローチャートを示す。

【0040】

【図13】図13はネズミ抗 c M E T クローン P 3 D 1 2 のヒト化バージョンの5種のヒト化軽鎖可変領域の配置を示し、その名称および配列番号を各配列の左側に示す。ネズミ抗 c M E T m A b をヒト化するために5種の独立した方法を用いた。方法のうち2つは同じ結果を生じた。したがって4種の異なった軽鎖を示している。

【0041】

【図14】図14はネズミクローン P 3 D 1 2 のヒト化バージョンの5種のヒト化重鎖可変領域の配置を示し、その名称および配列番号を各配列の左側に示す。ネズミ抗 c M E T m A b をヒト化するために5種の独立した方法を用いた。方法のうち2つは同じ結果を生じた。したがって4種の異なった軽鎖 (図13を参照) および4種の異なった重鎖が存在し、それにより16種の異なった結合剤の組合せができる。

20

【0042】

【図15】図15は、M K N 4 5 腫瘍モデル (c M e t + 胃がんモデル) を用いて示された、指示されたヒト化抗 c M e t 抗体薬物複合体 (A D C) の 2.5 mg/kg (2.5 mpk) または 5 mg/kg (5 mpk) での効果を試験するインビボキセノグラフトマウスモデルの結果を示す。動物を指示された 2.5 mg/kg または 5.0 mg/kg の A D C で1回処置した。それぞれの抗 c M E T 結合剤の効果を P B S または非ターゲットモノクローナル抗体リツキシマブ (R e t u x) と比較する。リツキシマブは免疫系 B 細胞の表面に一次的に見出される C D 20 をターゲットとする抗がんモノクローナル抗体である。移植後の種々の時点 (x 軸) で腫瘍体積 (y 軸) を測定した。腫瘍成長の障害は陽性の効果を示す。抗 c M E T 結合剤はモノメチルアウリスチン F (M M A F) と複合体化させた。

30

【0043】

【図16】図16は抗 c M E T モノクローナル結合剤 h D 1 2 および陰性対照抗体 (デノスマブ) の c M E T - F c および変異体 c M E T (E 1 6 8 D) F c 組み換え融合タンパク質への結合を示す。抗 c M E T モノクローナル結合剤 h D 1 2 は配列番号 108 および 47 の重鎖および軽鎖可変領域とヒト I g G 2 の定常領域を有する。デノスマブは c M E T に結合しない。E 1 6 8 D 変異は小細胞肺癌 (S C L C) で見出される体細胞変異である。変異は S e m a ドメインに存在し、c M e t 受容体の構成的活性化をもたらす。c M e t の体細胞変異の存在量は極めて少ない。E 1 6 8 D は S C L C 患者の 0.8 % ~ 3 % に起こる。ヒト I g G 1 - F c と融合したヒト c M E T または E 1 6 8 D - c M E T 細胞外ドメインについて結合 E L I S A を行なった。c M E T タンパク質をプレートに一夜コートし、試料を滴定してヤギ抗ヒト I g G (H + L) - H R P で検出した。E C 50 はシグモイドドースレスポンスフィットによって決定した。

40

【0044】

【図17】図17AはE L I S A ベースの c M E T 結合アッセイの結果を示す。簡潔には、5つの代表的な抗体薬物複合体 (すなわち h D 1 2 - V I、h D 1 2 - I I、h D 1 2

50

－V I I、h D 1 2－I Vおよびh D 1 2－X I（実施例3で説明する抗体命名法を参照）をプレート結合ヒトc M E Tに結合する能力について漸増濃度にて試験した（x軸、抗体－薬物複合体の濃度（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ））。相対的な結合力をルミネセンス（y軸）にて示す。c M E Tに結合しない陰性対照抗体（デノスマブ）を5種のペイロード（すなわち化学式V I、I I、I V、V I IおよびX Iのペイロード）それぞれに対して複合体化し（デノスマブV I、デノスマブI I、デノスマブI V、デノスマブV I IおよびデノスマブX Iとそれぞれ指定される）、陰性対照として試験した。図17Bは図17Aで試験した各抗体のI C 5 0値を示す。

【0045】

【図18-1】図18A～18Dは、異なる量のc M E Tをその細胞表面に発現する4種の細胞株（S N U－1、c M E Tの発現なし（図18A）、S N U－16、c M E Tの中程度の発現（図18B）、S N U－620、c M E Tの高発現（図18C）およびM K N－45、c M E Tの高発現（図18D））に対する5つの代表的な抗体薬物複合体（h D 1 2－V I、h D 1 2－I I、h D 1 2－V I I、h D 1 2－I Vおよびh D 1 2－X I）の細胞毒性アッセイの結果を示す。生存率をy軸に示し、加えた抗体薬物複合体の量をx軸（pM）に示す。

10

【0046】

【図18-2】図18Eに、相対的なI C 5 0値を示す前記結果を要約する。

【0047】

【図19-1】図19A～19Eは、異なる量のc M E Tをその細胞表面に発現する5種の細胞株（H 4 4 1、c M E Tの中程度の発現（図19A）、H 1 3 7 3、c M E Tの中程度の発現（図19B）、H 1 9 7 5、c M E Tの中程度の発現（図19C）、S N U－5、c M E Tの高発現（図19D）およびH 1 5 7 3、c M E Tの中程度の発現（図19E））に対する5つの代表的な抗体薬物複合体（h D 1 2－V I、h D 1 2－I I、h D 1 2－V I I、h D 1 2－I Vおよびh D 1 2－X I）の細胞毒性アッセイの結果を示す。図19-1は図19A～19Dを提供する。

20

【図19-2】図19Eが提供される。生存率をy軸に示し、加えた抗体薬物複合体の量をx軸（pM）に示す。図19Fに、相対的なI C 5 0値を示す前記結果を要約する。

【0048】

【図20-1】図20はi n v i v o異種移植研究の結果を示す。マウスにH 1 9 7 5腫瘍細胞（c M E Tの中程度の発現）を注射し、h D 1 2－X I（図20A、20Bおよび20C）、h D 1 2－V I（図20A、20Bおよび20D）、h D 1 2－I I（図20A、20Bおよび20E）、h D 1 2－V I I（図20A、20Bおよび20F）およびh D 1 2－I V（図20A、20Bおよび20G）のいずれかで処置して、腫瘍体積（y軸、図20Aおよび20C～20G）または体重（図20B）を経時的（すなわち日数、x軸）に測定した。5種のペイロード（すなわちV I、I I、I V、V I IおよびX I）のそれぞれに複合体化した陰性対照抗体（デノスマブ）を陰性対照として試験した。図20-1は図20Aを提供する。

30

【図20-2】図20-2は図20Bを提供する。

【図20-3】図20-3は図20Cを提供する。

40

【図20-4】図20-4は図20Dを提供する。

【図20-5】図20-5は図20Eを提供する。

【図20-6】図20-6は図20Fを提供する。

【図20-7】図20-7は図20Gを提供する。

【0049】

【図21-1】図21は、i n v i v o異種移植研究の結果を示す。マウスにH 1 3 7 3腫瘍細胞（c M E Tの中程度の発現）を注射し、h D 1 2－X I（図21A）、h D 1 2－V I（図21B）、h D 1 2－I I（図21C）、h D 1 2－V I I（図21D）およびh D 1 2－I V（図21E）で処置して、腫瘍体積（y軸）を経時的（すなわち日数、x軸）に決定した。I Iに複合体化した陰性対照抗体（デノスマブ）を陰性対照として

50

試験した。図 2 1 - 1 は図 2 1 A および図 2 1 B を提供する。

【図 2 1 - 2】図 2 1 - 2 は図 2 1 C を提供する。

【図 2 1 - 3】図 2 1 - 3 は図 2 1 D を提供する。

【図 2 1 - 4】図 2 1 - 4 は図 2 1 E を提供する。

【0 0 5 0】

【図 2 2】図 2 2 は図 2 1 で処置したマウスの体重 (y 軸) を経時的 (x 軸) に示す。

【0 0 5 1】

【図 2 3】図 2 3 は、マウスにて静脈内 (i. v.) 注射後の h D 1 2 - X I、h D 1 2 - V I、h D 1 2 - I I、h D 1 2 - V I I、h D 1 2 - I V およびデノスマブ - I I の血清濃度 (y 軸) を示す。注射後の時間 (時間) を X 軸に示す。各抗体薬物複合体の濃度を E L I S A にて決定した。

10

【0 0 5 2】

【図 2 4】図 2 4 は E L I S A ベースの c M E T 結合アッセイの結果を示し、プレート結合ヒト c M E T について、h D 1 2 およびペイロード I I に共有結合で連結された h D 1 2 の 4 種の変異型 (h D 1 2 - T 2 8 9 C、h D 1 2 - V 4 4 2 C および h D 1 2 - V 2 8 2 C) の相対的親和性を示す。h D 1 2 - I I は無作為にスルフヒドリル基のペイロードに確率的に連結させた。h D 1 2 - T 2 8 9 C - I I、h D 1 2 - V 4 4 2 C - I I および h D 1 2 - V 2 8 2 C - I I は、変異させたシステイン残基 (すなわち、それぞれ T 2 8 9 C、V 4 4 2 C および V 2 8 2 C) の位置でペイロードに部位特的に連結させた。抗体薬物複合体をプレート結合ヒト c M E T に結合する能力について漸増濃度にて試験した (x 軸、抗体薬物複合体の濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$))。相対的な結合強度をルミネセンス (y 軸) にて示す。陰性対照抗体 (デノスマブ - I I) を陰性対照として試験した。図 2 4 B は図 2 4 A で試験した各抗体の I C 5 0 値を示す。

20

【0 0 5 3】

【図 2 5 - 1】図 2 5 は異なる量の c M E T をその細胞表面上に発現する 4 種の細胞株 (S N U - 1、c M E T の発現なし (図 2 5 A)、S N U - 1 6、c M E T の中程度の発現 (図 2 5 B)、S N U - 6 2 0、c M E T の高発現 (図 2 5 C)、M K N - 4 5、c M E T の高発現 (図 2 5 D) および N 8 7、c M E T の低発現 (図 2 5 E)) に対する図 2 4 の抗体複合体 (すなわち h D 1 2 - I I、h D 1 2 - T 2 8 9 C - I I、h D 1 2 - V 4 4 2 C - I I および h D 1 2 - V 2 8 2 C - I I) の細胞毒性アッセイの結果を示す。生存率を y 軸に示し、加えた抗体薬物複合体の量を x 軸 (p M) に示す。図 2 5 F に、相対的な比較 I C 5 0 値を示す前記結果を要約する。試験した抗体薬物複合体の濃度を図 2 5 G に示す。図 2 5 - 1 は図 2 5 A を提供する。

30

【図 2 5 - 2】図 2 5 - 2 は図 2 5 B を提供する。

【図 2 5 - 3】図 2 5 - 3 は図 2 5 C を提供する。

【図 2 5 - 4】図 2 5 - 4 は図 2 5 D を提供する。

【図 2 5 - 5】図 2 5 - 5 は図 2 5 E を提供する。

【図 2 5 - 6】図 2 5 - 2 は図 2 5 F および図 2 6 G を提供する。

【0 0 5 4】

【図 2 6】図 2 6 A は c M E T 高発現細胞株 (すなわち S N U - 5) に対する図 2 4 の抗体複合体 (すなわち h D 1 2 - I I、h D 1 2 - T 2 8 9 C - I I、h D 1 2 - V 4 4 2 C - I I および h D 1 2 - V 2 8 2 C - I I) の細胞毒性アッセイの結果を示す。生存率を y 軸に示し、加えた抗体薬物複合体の量を x 軸 (p M) に示す。図 2 6 B に、相対的な I C 5 0 値を示す前記結果を要約する。試験した抗体薬物複合体の濃度を図 2 6 C に示す。

40

【0 0 5 5】

【図 2 7 - 1】図 2 7 は中程度の c M E T をその細胞表面上に発現する 3 種の細胞株 (H 1 3 7 3、図 2 7 A、H 1 5 7 3、図 2 7 B、および H 1 9 7 5、図 2 7 C) に対する図 2 4 の抗体複合体 (すなわち h D 1 2 - I I、h D 1 2 - T 2 8 9 C - I I、h D 1 2 - V 4 4 2 C - I I および h D 1 2 - V 2 8 2 C - I I) の細胞毒性アッセイの結果を示す

50

。生存率を y 軸に示し、加えた抗体薬物複合体の量を x 軸 (pM) に示す。図 27D に試験した抗体薬物複合体の濃度を示す。図 27E に比較 IC50 値を示す前記結果を要約する。図 27-1 は図 27A を提供する。

【図 27-2】図 27-2 は図 27B を提供する。

【図 27-3】図 27-3 は図 27C を提供する。

【図 27-4】図 27-4 は図 27D および図 27E を提供する。

【0056】

【図 28-1】図 28 は *in vivo* 異種移植研究の結果を示す。マウスに H1975 腫瘍細胞 (cMET の中程度の発現) を注射し、指定した濃度の hD12-V442C-II (図 28A)、hD12-T289C-II (図 28B) および hD12-V282C-II (図 28C) で処置した。マウスを確率的に複合体化させた hD12-II を陽性対照として用いて処置した。マウスをビヒクル (PBS) またはデノスマブ-II を陰性対照として用いて処置した。腫瘍体積 (y 軸) を経時的 (すなわち日数、x 軸) に決定した。図 28-1 は図 28A を提供する。

【図 28-2】図 28-2 は図 28B を提供する。

【図 28-3】図 28-3 は図 28C を提供する。

【0057】

【図 29】図 29 は図 28 で処置したマウスの体重 (y 軸) を経時的 (x 軸) に示す。

【0058】

【図 30】図 30 はラットにおける静脈内注射後の hD12-V442C-II (図 28A)、hD12-T289C-II (図 28B) および hD12-V282C-II (図 28C) の血清濃度 (y 軸) を示す。注射後の時間 (時間) を X 軸に示す。各抗体薬物複合体の濃度は ELISA にて決定した。

【0059】

【図 31】図 31 は図 30 の試験から得られた薬物動態データを要約した表を示す。

【0060】

【図 32】図 32 はヒトの原発性胃がん組織 (図 32A)、ヒトの原発性結腸直腸がん組織 (図 32B) およびヒトの頭頸部がん組織 (図 32C) を用いた *in vivo* 患者由来異種移植 (PDX) 研究の結果を示す。腫瘍成長阻害の割合 (TGI%) を y 軸に示し、投与した抗体複合体 (hD12-T289C-II) の濃度を x 軸に示す。TGI% を実施例 12 に記載したように算出した。

【0061】

【図 33-1】図 33A は、ヒト cMET タンパク質に関する胃がん PDX モデル GA3121 の断面の免疫組織化学染色を示す。図 33B は、図 33A の白い挿入枠で示される領域の拡大図を示す。

【図 33-2】図 33C は、患者由来の *in vivo* 異種移植 (PDX) モデル GA3121 の腫瘍成長阻害の結果を示す。各データポイントは 10 匹のマウスからなる 1 つのグループを表す。マウスを陰性対照として媒体 (PBS) またはセクキヌマブ (sekkinumab) II を用いて処置した。腫瘍体積 (y 軸) を経時的 (すなわち日数、x 軸) に決定した。

【発明を実施するための形態】

【0062】

いくつかの実施形態では、結合剤 (たとえばモノクローナル抗体またはその抗原結合部分) およびペイロード (たとえば細胞障害性ペイロード) を含む結合剤-薬物複合体が本明細書に提示される。いくつかの実施形態では、結合剤は cMET に特異的に結合する新規モノクローナル抗体またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、ペイロードはピロロベンゾジアゼピン (PBD) 毒素および特定の連結基を含む。本明細書に記載した新規結合剤-薬物複合体はがんおよび/または腫瘍性障害を処置するために有用である。

【0063】

10

20

30

40

50

本明細書に記載した結合剤はそれらの抗原結合領域（たとえば重鎖および軽鎖可変領域）のアミノ酸配列だけでなく、それらの機能的特徴においても新規である。たとえば本明細書に記載した抗cMET結合剤は、他のcMET抗体には見られない明確な特徴の組み合わせを持つ。第1に、本明細書に記載した抗cMET結合剤は、結合する際にcMET受容体からの有意なシグナル伝達（たとえば受容体チロシンキナーゼ活性）を誘起しない。したがって、結合する際に、本明細書に記載したcMET結合剤は、結合する際に望ましくない発がん活性（たとえば成長、増殖、転移または血管新生）を誘起しない。第2に、本明細書に記載した抗cMET結合剤は、結合した後にcMETの分解を誘起することができ、内部移行される。この特性の利点は、抗cMET結合剤に到着された任意の毒性ペイロードが標的細胞の内部に持ち込まれ、それによりペイロードの標的外的非特異的な毒性を低減させることである。この機能は、毒性ペイロードの活性を制御または調整することも可能にする。たとえば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した毒性ペイロードは細胞内プロテアーゼと接触するまで実質的に不活性である。第3に、本明細書に記載した特定の抗cMET結合剤は、非ヒト霊長類、ラットおよび／またはマウスと交差反応し、非ヒト動物モデルを使用して抗体薬物複合体を試験しおよび最適化することを可能にする。第4に、本明細書に記載した抗cMET結合剤は可溶性であり、*in vivo*での長期の半減期を示し、保存時に安定である。

【0064】

多くの細胞障害性ペイロードが知られており、それらを既知のリンカーを使用して抗体に附着させて、抗体薬物複合体（ADC）を生成することができる（たとえば米国特許出願公開第2014/0120118号、米国特許出願公開第2014/0127239号、米国特許出願公開第2016/0250344号、米国特許出願公開第2016/0250345号およびTiberghien, et al., (2016) ACS Medicinal Chemistry Letters 7 (11):983-987を参照）。しかしながら抗体結合剤の生化学的機能は、ペイロードへの複合体化後に変化することが多い。同様に、抗体への複合体化後のペイロードの生化学的特性は常に予測できるとは限らない。たとえば、既知のペイロードの*in vivo*活性は、使用するリンカーの種類およびリンカーが抗体に附着している場所に応じて、致死から治療効果なしの範囲で大きく異なり得る。したがって、特定のcMET結合剤を理想的なリンカー、選択した毒性ペイロードおよび抗体へのリンカーの最適な複合体化部位を組合せて抗体薬物複合体を生成することで、最適な毒素の送達を提供し、一方で、有害事象（たとえば標的外的毒性）を最小化し、結合剤の望ましい生体機能特性を維持することは、非常に困難で時間を消費するものであり、相当な発明努力を要する。本明細書に提示したADCは、毒素、リンカーおよび新規cMET結合剤の独自の組合せを提供し、最適な治療効果を提供し、一方で、標的外的毒性を実質的に低減または排除する非常に効果的なADCを結果的にもたらす。

【0065】

cMET

METは本明細書で用語「cMET」と同義に用いる。cMETは肝細胞増殖因子受容体（HGFR）としても知られている。ヒトcMET（たとえば配列番号109）は、1390アミノ酸の非成熟ポリペプチド配列を含み、N末端からC末端に数えてアミノ酸1～24のN末端単一配列、アミノ酸約24～932のヒトcMETの細胞外ドメイン、アミノ酸約933～955の膜貫通ドメイン、およびアミノ酸約956～1390の細胞質ドメインを含む。cMET受容体のリーダー配列、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞質ドメインを同定する方法は知られており、好適な哺乳類種に由来するcMETポリペプチド配列内のそのようなドメインまたは領域を同定するために任意の好適な方法を用いることができる。ヒトcMETポリペプチドはいくつかの既知の変異体を含み得る（たとえば2016年5月5日にアクセスしたURL：<http://www.uniprot.org/uniprot/P08581>を参照。そこに開示されたcMET変異体および代替の配列は参照により本明細書に組み込まれる）。ヒトcMETの天然産生変異体の非限定的な例には、ヒトcMET（配列番号109）の143、150、156、

168、238、316、320、375、385、773、970、991、および／または992におけるアミノ酸置換が含まれる。いくつかの実施形態では、cMETまたはcMETの細胞外ドメインは本明細書ではE168Dと称するヒトcMETの168位のEからDへの置換を含む。いくつかの実施形態ではcMETまたはcMETの細胞外ドメインは本明細書ではN375Sと称するヒトcMETの375位のNからSへの置換を含む。

【0066】

いくつかの実施形態では、cMETは哺乳類cMETである。いくつかの実施形態では、cMETは霊長類cMETである。いくつかの実施形態では、cMETはヒトcMETである。いくつかの実施形態では、cMETはサルcMETである。いくつかの実施形態では、cMETはげっ歯類cMET（たとえばラットおよび／またはマウス）である。いくつかの実施形態では、cMETはイヌ科cMET（たとえばイヌcMET）である。哺乳類cMETの非限定的な例は実施例5および／または本出願の配列表で提供される。ある実施形態では、cMETの細胞外ドメインは典型的には未変性の哺乳類細胞の細胞表面上に発現したcMETポリペプチドのN末端部分を含む。cMETの細胞外ドメインはMET翻訳産物に由来する2つ以上のポリペプチド鎖を含み得る。ある実施形態ではcMETの細胞外ドメインは細胞質ドメインおよび／または膜貫通ドメインを含まない可溶性形および／または非膜結合形で発現され得る。ある実施形態では、cMETの細胞外ドメインは融合タンパク質として発現され、単離され、および／または精製される。たとえば、哺乳類cMETの細胞外ドメインは免疫グロブリンのFc部分を含む融合タンパク質として操作され、発現され得る（たとえばcMET-Fc）。ある実施形態では、cMETおよび／またはcMETの細胞外ドメインは1つまたは複数のアミノ酸付加、欠失または置換を含む。cMETポリペプチドは本明細書に開示したcMETポリペプチドに対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%であってよい。ある実施形態では、cMETポリペプチドはcMETタンパク質の部分（たとえばそのサブ配列）を含む。いくつかの実施形態では、cMETの部分はcMETの細胞外ドメインまたはその部分を含む。

【0067】

結合剤

ある実施形態では、結合剤はcMETまたはその部分に特異的に結合する1つもしくは複数のポリペプチドまたは1つもしくは複数のタンパク質を含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤はcMETまたはその部分に特異的に結合する1つもしくは複数のタンパク質を含むかまたはからなる。結合剤は少なくとも1つの抗原結合部分（即ち結合部分）を含むことが多い。結合剤の抗原結合部分は抗原に特異的に結合する部分である。ある実施形態では、結合剤の結合部分は単一のポリペプチド（たとえば一本鎖抗体）を含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤の結合部分は2つのポリペプチドを含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤の結合部分は2つ、3つ、4つまたはそれ以上のポリペプチドを含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤は1つまたは複数の構造部分（たとえばスカフォールド、構造ポリペプチド、定常領域および／またはフレームワーク領域）を含む。いくつかの実施形態では、結合剤またはその結合部分は基材（たとえばポリマー、非有機材料、シリコン、ビーズ、その他）に附着されている。

【0068】

結合剤は1つの抗原結合部分または複数の抗原結合部分を含んでよい。たとえば、1つの結合部分を含む結合剤は1価と称されることがある。2つの結合部分を含む結合剤は2価と称されることがある。いくつかの実施形態では、結合剤は1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10またはそれ以上の結合部分を含む。ある実施形態では、多価結合剤の結合部分の全ては同じ抗原に結合する。ある実施形態では、多価結合剤の結合部分の全ては少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%同一である1つまたは複数のポリペプチド配列を含む。

【0069】

ある実施形態では、結合剤の2つ以上の結合部分は異なった抗原に結合する。そのような結合剤は二重特異性または多重特異性結合剤（たとえば抗体）と称されることがある。したがって、ある実施形態では、結合剤はc M E Tまたはその部分に特異的に結合する第1の抗原結合部分と、別の抗原（たとえばc M E Tではないポリペプチドまたはその部分）に特異的に結合する第2の抗原結合部分とを含む。c M E Tに特異的に結合する結合剤は、いくつかの実施形態では、c M E Tまたはその部分に特異的に結合しない別の結合剤に共有結合でまたは非共有結合で取着される。ある実施形態では、c M E Tに特異的に結合する結合剤は別の抗原に特異的に結合する第2の結合剤を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、結合剤は抗体またはその部分（たとえばその結合部分）を含む。ある実施形態では、結合剤は好適な抗体または抗体の抗原結合部分を含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤は抗体（たとえばモノクローナル抗体および／または組み換え抗体）である。結合剤または抗体は好適な方法で生成させ、製造し、または産生することができる。いくつかの実施形態では、結合剤はモノクローナルである。いくつかの実施形態では、結合剤は好適な種に由来するモノクローナル抗体である。結合剤のある非限定的な例には、モノクローナル抗体、キメラ抗体、抗体結合断片（たとえば抗体の抗原結合部分）、C D R－グラフト抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、またはそれらの部分が含まれる。ヒト抗体は任意の好適な方法で得ることができる。たとえば、ヒト抗体は完全にヒト型の抗体を産生するように操作されたトランスクロモソーマル動物から得ることができる。ある実施形態では、結合剤はポリクローナルではなく、ポリクローナル抗体ではなく、「結合剤」という用語はポリクローナル抗体を意味しない。

【0071】

いくつかの実施形態では、結合剤は好適な種に由来し、これから産生され、得られ、単離され、および／または精製される。いくつかの実施形態では、結合剤はたとえばウサギ、ヤギ、ウマ、ウシ、ラット、マウス、魚、鳥、またはラマに由来し、これらから産生され、得られ、単離され、および／または精製される。いくつかの実施形態では、結合剤は鳥（たとえばニワトリ、または鳥の卵）に由来し、これから産生され、得られ、単離され、および／または精製される。いくつかの実施形態では、結合剤は植物に由来し、これから産生され、得られ、単離され、および／または精製される（たとえば遺伝子操作された植物によって産生される組み換え結合剤）。いくつかの実施形態では、結合剤は好適な哺乳類に由来し、これから産生され、得られ、単離され、および／または精製される。ある実施形態では、好適な哺乳類はヒト重鎖および／もしくはヒト軽鎖またはそれらの部分を含む抗体を産生するように操作された遺伝的に改変された哺乳類（たとえばトランスクロモソーマルまたはトランスジェニック哺乳類）である。いくつかの実施形態では、結合剤は原核細胞または真核細胞から産生され、得られ、単離され、または精製される（たとえば遺伝子操作された細胞によって産生される組み換え結合剤）。いくつかの実施形態では、結合剤はウイルスから産生され、得られ、単離され、または精製される（たとえば遺伝子操作されたウイルスによって産生される組み換え結合剤）。結合剤は好適な発現システムから発現し、単離し、および／または精製することができる。その非限定的な例には好適な細菌、ファージ、昆虫、ウイルス、植物または哺乳類の発現システムが含まれる。たとえば、結合剤をコードする核酸を好適な哺乳類細胞株に導入し、結合剤を発現させて細胞培養培地中に分泌させることができる。

【0072】

ある実施形態では、結合剤は天然には見出されず、天然には産生されない。たとえばある実施形態では、結合剤は外来の組み換え抗原、強力なアジュバント、およびしばしば鉱油および／または界面活性剤を含む乳化したカクテルを投与し、それにより外来の組み換え抗原（たとえばc M E T、c M E T－F c）への人工的な免疫応答を誘起することによって動物で人工的に生成される。

【0073】

ある実施形態では、モノクローナル抗体またはモノクローナル結合剤は、モノクローナル結合剤の産生中に発生するかも知れない変異体を例外として、結合剤またはその結合断片の実質的に同種の集団であって、集団中のそれぞれの個別の結合剤は実質的に同一であり、および／または同じエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、そのような変異体は一般に存在しないか、微量で存在し得る。典型的には異なった決定基（エピトープ）を指向する異なった抗体の集団を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル結合剤の集団のそれぞれの結合剤は、抗原の単一の決定基と結合することが多い。モノクローナル結合剤は他の免疫グロブリンが混入していないことが多い。1つまたは複数の異なったモノクローナル結合剤を意図的に組成物に加えて混合物を形成させてもよい。

10

【0074】

修飾語「モノクローナル」は、結合剤を何らかの特定の方法で産生することが必要であると解釈すべきではない。モノクローナル結合剤は任意の好適な方法で産生することができる。たとえばある実施形態では、モノクローナル抗体はKohler et al., Nature, (1975) 256: 495に記載されているハイブリドーマ法またはその変形によって作られる。いくつかの実施形態では、モノクローナル結合剤は好適な組み換えDNA法によって作られる。たとえば、モノクローナル結合剤は任意の好適な方法で産生することができる。たとえばある実施形態では、モノクローナル抗体は米国特許第5, 225, 539号および／またはDaugherty et al. (1991) Nucleic Acids Research 19(9): 2471-2476に記載されている方法によって作ることまたは改変することができる。モノクローナル結合剤はたとえば好適な発現系（たとえばファージディスプレイ発現系）を用いて組み換えライブラリーをスクリーニングすることによって作ることができる。いくつかの実施形態では、モノクローナル結合剤は、たとえばClackson et al., (1991) Nature, 352: 624-628および／もしくはMarks et al., (1991) J. Mol Biol, 222: 581-597に記載されている手法またはその変形によって結合剤のファージライブラリーから単離される。

20

【0075】

ある実施形態では、結合剤は、スカフォールドと称されることもある1つまたは複数の構造または骨格部分を含む。結合剤はスカフォールドを含んでよく、その非限定的な例には抗体、プロテインAのZドメイン、ガンマーB結晶、ユビキチン、シスタチン、Sac7d、三重らせんコイルドコイル、リポカリン、アンキリン繰り返しモチーフ、FynのSH3ドメイン、好適なプロテアーゼ阻害剤のKunitzドメイン、フィブロネクチンドメイン、核酸ポリマー、その他、それらの部分またはそれらの組合せに由来するスカフォールドが含まれる。いくつかの実施形態では、結合剤はスカフォールドを含まない。ある実施形態では、結合剤は哺乳類抗体の1つまたは複数の構造部分を含む。

30

【0076】

ある実施形態では、結合剤は1つまたは複数の定常領域（たとえば抗体、たとえば哺乳類抗体に由来する定常領域）を含む。ある実施形態では、結合剤は抗体軽鎖の定常領域および／または抗体重鎖の定常領域を含む。哺乳類抗体では少なくとも2種の免疫グロブリン軽鎖が存在し、これらはラムダ（ λ ）およびカッパ（ κ ）と称される。結合剤は抗体の任意の好適な定常領域またはその1つまたは複数の部分を含んでよい。いくつかの実施形態では、結合剤はラムダ軽鎖定常領域またはその部分を含む。いくつかの実施形態では、結合剤はカッパ軽鎖定常領域またはその部分を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は哺乳類抗体の軽鎖の定常領域またはその部分のポリペプチド配列と少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一であるポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、結合剤はヒト抗体の抗体軽鎖の定常領域のポリペプチド配列と少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一であるポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、結合剤は軽鎖定常領域を含まない。

40

【0077】

ある実施形態では、結合剤は抗体重鎖の定常領域を含む。哺乳類では、抗体はIgA、

50

I g D、I g E、I g G、および I g M と称される少なくとも 5 種／クラスの I g 重鎖を有することができ、これらは異なった重鎖定常領域またはその部分（たとえば C H 1、C L、C H 2、C H 3 ドメイン）の存在によって決定される。結合剤は任意の好適な重鎖定常領域またはその部分を含み得る。いくつかの実施形態では、結合剤は I g G 1、I g G 2、I g G 3 もしくは I g G 4 の重鎖定常領域、またはその 1 つもしくは複数の部分を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は I g M、I g D、I g A、または I g E アイソタイプの 1 つまたは複数の重鎖定常領域またはその部分を含む。

【0078】

本明細書で特に明記しない限り、抗体の定常領域におけるアミノ酸残基の番号付けは、Edelman, G. M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85(1969). PMID:5257969 に記載されている E U 番号付けシステムによる。

10

【0079】

いくつかの実施形態では、結合剤は哺乳類抗体の重鎖の定常領域またはその部分のポリペプチド配列と少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 99%、または 100% 同一であるポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、結合剤はヒト抗体の抗体重鎖の定常領域のポリペプチド配列と少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 99% 同一または 100% 同一であるポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、結合剤は定常領域の 1 つまたは複数の付加、欠失および／または改変を含む。結合剤は抗体のクラス、または結合剤のアイソタイプを変更させるために改変されることがある。いくつかの実施形態では、結合剤は、結合剤の 1 つまたは複数の機能を改変するため、たとえば血清半減期、F c 受容体結合、補体結合（たとえば C 1 q 結合）、グリコシル化、シアリル化、細胞毒性、抗体依存性細胞介在ファゴサイトーシス（A D C P）、抗体依存性細胞毒性（A D C C）、その他を阻害し、強化し、または低減させるための 1 つまたは複数の付加、欠失および／または改変（1 つまたは複数のアミノ酸置換、欠失または付加）を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は重鎖定常領域または軽鎖定常領域の 1 つまたは複数の部分を含まない。いくつかの実施形態では、結合剤は重鎖定常領域を含まない。

20

【0080】

いくつかの実施形態では、結合剤は抗体の 1 つまたは複数の可変領域またはその部分を含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤は 1 つまたは複数の軽鎖可変領域またはその部分を含む。いくつかの実施形態では、結合剤は 1 つまたは複数の重鎖可変領域またはその部分を含む。ある実施形態では、結合剤は少なくとも 1 つの軽鎖可変領域および少なくとも 1 つの重鎖可変領域を含む。軽鎖可変領域と重鎖可変領域は同じまたは異なったポリペプチドの上にあってよい。ある実施形態では、結合剤の抗原結合部分は 1 つまたは複数の重鎖可変領域からなる。ある実施形態では、結合剤の抗原結合部分は 1 つまたは複数の軽鎖可変領域からなる。ある実施形態では、結合剤の抗原結合部分は 1 つまたは複数の軽鎖可変領域および 1 つまたは複数の重鎖可変領域からなる。

30

【0081】

いくつかの実施形態では、結合剤は F a b、F a b'、F (a b')₂、F v 断片、一本鎖 F v (s c F v)、ダイアボディ (D a b)、シンボディ、その他、および／またはそれらの組合せもしくは部分を含むかまたはからなる。いくつかの実施形態では、結合剤は F a b、F a b'、F (a b')₂、F v 断片、一本鎖 F v (s c F v)、ダイアボディ (D a b)、シンボディ、その他、および／またはそれらの組合せもしくは部分を含むかまたはからなる（たとえば米国特許第 6 0 9 9 8 4 2 号および第 5 9 9 0 2 9 6 号を参照）。いくつかの実施形態では、結合剤は 1 つまたは複数の抗原結合部分を含む一本鎖ポリペプチドを含む。たとえば、一本鎖結合剤は組み換え分子生物学プロセスによって重鎖可変領域またはその抗原結合部分を軽鎖可変領域またはその抗原結合部分とリンカー（たとえばアミノ酸、ポリペプチドリンカー）で接合することによって構築することができる。そのような一本鎖結合剤は抗原に対して親の二本鎖モノクローナル結合剤と同様の特異

40

50

性および親和性を示すことが多い。結合剤はC D R グラフト化部分またはヒト化部分等の操作された領域を含むことが多い。ある実施形態では、結合剤は未変性の二本鎖免疫グロブリンであり、他の実施形態では、結合剤はF a b モノマーまたはF a b ダイマーである。

【0082】

結合剤のポリペプチドをコードする核酸またはその部分は、好適なクローン化手順によって組み換え発現のためにクローン化、サブクローン化、再配列または改変され、続いて当業者には公知の方法によって好適な発現系で発現される（たとえばManiatis et al. (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook et al. (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 and annual updates); *Methods in molecular biology*, edited by Benny K. C. Lo, Springer Science & Business Media, 2004; *Antibody Engineering*, Vol. 1, Roland E. Kontermann, Stefan Duebel, Edition 2, Publisher Springer Science & Business Media, 2010; *Antibody Phage Display: Methods and Protocols*, Biomed Protocols, Vol. 178 of *Methods in molecular biology*, Editors Philippa M. O'Brien, Robert Aitken, Springer Science & Business Media, 2004を参照）。

【0083】

哺乳類では、抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域はそれぞれ、共通してC D R 1、C D R 2 およびC D R 3 と称され、フレームワーク領域（たとえばF R 1、F R 2、F R 3 およびF R 4）によって分離され、および／またはこれらが側面にある3つのC D R（相補性決定領域）に寄与している。本明細書で用いる「C D R」という用語は、相補性決定領域として同定されるポリペプチドのアミノ酸配列を意味する。ある実施形態では、C D R ポリペプチド配列の確実な説明および結合剤の結合部位を含む残基の同定は、結合剤の構造を解明することおよび／または結合剤-抗原複合体の構造を解明することによって達成される。ある実施形態では、これはX線結晶学および／またはコンピュータモデリング等の任意の好適な方法によって達成することができる。ある実施形態では、結合剤または抗体のC D R 配列を同定しまたは近似するために種々の分析方法を用いることができる。たとえば、結合剤、抗体、その結合部分またはその可変領域のポリペプチド配列におけるC D R のアミノ酸配列および／または位置は好適な方法によって同定することができる。その非限定的な例には、K a b a t システム（たとえばKabat, E. A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication No. 91-3242, as well as Johnson, G. and Wu, T. T. (2000) *Nucleic Acids Research* 28(1):214-8、および／またはC h o t h i a 番号付けスキーム（たとえばChothia & Lesk, (1987) *J. Mol. Biol.*, 196:901-917; Chothia et al. (1989) *Nature* 342:878-883; and Al-Lazikani et al. (1997) *JMB* 273,927-948）を参照）が含まれる。いくつかの実施形態では、抗体のC D R のアミノ酸配列および／または位置は、A b M 法および／または接触法によって同定することができる。「A b M」定義には、抗体構造をモデル化してO x f o r d M o l e c u l a r G r o u p によって作成されたコンピュータプログラムの統合されたパッケージを用いる（たとえばMartin et al, (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 86:9268-9272; “AbMTM, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies,” Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd.を参照）。A b M 定義はSamudrala et al., (1999) *Proteins, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198 およびXia Y, et al. (2000) *J Mol Biol.* 300(1):171-85によって記述された知識データベースとアブイニシオ法との組合せを用いた一次配列からの抗体の三次構造をモデルとしている。ある実施形態では、接触定義は入手可能な複結晶構造の解析に基づいている（たとえばMacCallum et al, (1996) *J. Mol. Biol.*, 5:732-45を参照）。

【0084】

いくつかの実施形態では、結合剤および／または結合剤の抗原結合部分は、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つまたは少なくとも6つのCDRを含む。いくつかの実施形態では、結合剤は3～60個のCDRを含む（たとえば複数の抗原結合部分を有する結合剤について）。いくつかの実施形態では、結合剤は3～12個のCDRを含む。いくつかの実施形態では、結合剤の抗原結合部分は1～6個のCDRポリペプチド配列を含む。

【0085】

ある実施形態では、結合剤および／または結合剤の抗原結合部分は、軽鎖可変領域の1つ、2つまたは3つのCDRを含む。いくつかの実施形態では、結合剤の軽鎖可変領域は1つまたは複数のCDR（たとえば1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のCDR）を含む。抗体または結合剤の軽鎖可変領域におけるCDRを表わすアミノ酸配列はCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3と称され、これらは軽鎖可変領域のアミノ末端（N末端）からカルボキシ末端（C末端）への方角で連続的に（即ちL1、L2およびL3）番号を付している。たとえば、結合剤の軽鎖可変領域を表わすポリペプチドにおいて、CDR-L1は存在する場合には最もN末端側の軽鎖CDRであり、CDR-L3は存在する場合には最もC末端側の軽鎖CDRであり、CDR-L2は存在する場合には結合剤の軽鎖可変領域または結合部分の（i）CDR-L1とCDR-L3との間、（ii）CDR-L3のN末端側、または（iii）CDR-L1のC末端側に位置している。「CDR-L1」、「CDR-L2」および「CDR-L3」という用語は一つには結合剤の相補性決定領域（たとえば軽鎖可変領域のCDR）として同定され、または本明細書において開示されるポリペプチドのアミノ酸配列を意味する。CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3のアミノ酸配列の非限定的な例を、それぞれ表1～表3に示す。本明細書に記載した結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分は、本明細書に開示したCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3の任意の組合せを含んでよく、結合剤はcMETまたはその部分への特異的結合を保持している。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分は、表3から選択されるCDR-L3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含む一本軽鎖CDRを含む。

【0086】

ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分は、表3から選択されるCDR-L3、および他の任意の好適なCDR-L2および／またはCDR-L1ポリペプチド配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含み、結合剤はcMETまたはその部分への特異的結合を保持している。ある実施形態では、結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分の軽鎖CDRはCDR-L3およびCDR-L2からなり、CDR-L3は表3から選択されるCDR-L3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含み、CDR-L2は表2から選択されるCDR-L2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含む。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分は、表3から選択されるCDR-L3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列および表2から選択されるCDR-L2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列および任意の他の好適なCDR-L1ポリペプチド配列を含み、結合剤はcMETまたはその部分への特異的結合を保持している。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分は、表3から選択されるCDR-L3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、表2から選択されるCDR-L2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、および表1から選択されるCDR-L1と少なくとも70%同一のアミノ酸配列からなる3つの軽鎖CDRを含む。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の軽鎖可変領域または抗原結合部分は、表3から選択されるCDR-L3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、表2から選択されるCDR-L2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、および表1から選択されるCDR-L1と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含み、結合剤はcMETまたはその部分への特異的結合を保持している。

【0087】

いくつかの実施形態では、結合剤は表1、表2または表3に列挙したCDR配列の任意

の１つと少なくとも７０％、７５％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または少なくとも９９％同一である１つまたは複数の軽鎖ＣＤＲを含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表１に示す配列の任意の１つと少なくとも７０％、７５％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または少なくとも９９％同一であるＣＤＲ－Ｌ１を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は表１に示す配列の任意の１つのＣＤＲ－Ｌ１を含む。

【表１】

表１
CDR-L1配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:1	F5_P5_B9_L	RSSQTIVHGTGNTYLE
SEQ ID NO:2	F5_P5_B9_L	QTIVHGTGNTY
SEQ ID NO:3	F6A_P8_E2_L	KASENVGTYVS
SEQ ID NO:4	F6A_P8_E2_L	ENVGTY
SEQ ID NO:5	F6AP12F12_L	RSSQSLLYSINQKNYLA
SEQ ID NO:6	F6AP12F12_L	QSLLYSINQKNY
SEQ ID NO:7	F6B_P1_H5_L	RASENIYNTLA
SEQ ID NO:8	F6B_P1_H5_L	ENIYNT
SEQ ID NO:9	F6B1_P3_D12_L / F6B1_P3_E9_L	SASSSVTSNYLY
SEQ ID NO:10	F6B1_P3_D12_L / F6B1_P3_E9_L	SSVTSNY
SEQ ID NO:11	F6B_P2_D4_L / F6B1_P1_E2_L/ F6B_P3_E2_L	SASSSVSSNYLY
SEQ ID NO:12	F6B_P2_D4_L / F6B1_P1_E2_L/ F6B_P3_E2_L	SSVSSNY
SEQ ID NO:13	Consensus	SASSSV(S/T)SNLY
SEQ ID NO:14	P3D12 VL-abb/sdr	QSVTSNY
SEQ ID NO:15	P3D12 VL-abb/sdr	RASQSVTSNYLY

【００８８】

表１～表１０で参照したクローン名は、クローンがそれに由来するフュージョン番号（「Ｆ」）、プレート番号（「Ｐ」）および９６ウェルプレートのウェル番号（Ａ１～Ｈ１２）を示す。したがって、たとえばクローンＦ６ＡＰ１２Ｆ１２はフュージョン６Ａ、プレート１２、ウェルＦ１２に由来するものである。それぞれのクロンのフュージョン番号は図２に示すフュージョンに対応する。

【００８９】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表２に示す配列の任意の１つと少なくとも７０％、７５％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または少なくとも９９％同一であるＣＤＲ－Ｌ２を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表２に示す配列の任意の１つのＣＤＲ－Ｌ２を含む。

【表 2】

表 2

CDR-L2配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:16	F5_P5_B9_L	KVSNRFS
SEQ ID NO:17	F5_P5_B9_L	KVS
SEQ ID NO:18	F6A_P8_E2_L	GASNRYT
SEQ ID NO:19	F6A_P8_E2_L	GAS
SEQ ID NO:20	F6AP12F12_L	WASTRES
SEQ ID NO:21	F6AP12F12_L	WAS
SEQ ID NO:22	F6B_P1_H5_L	AATNLAD
SEQ ID NO:23	F6B_P1_H5_L	AAT
SEQ ID NO:24	F6B1_P3_D12_L / F6B1_P3_E9_L / F6B_P2_D4_L / F6B1_P1_E2_L / F6B_P3_E2_L	STSNLAS
SEQ ID NO:25	F6B1_P3_D12_L / F6B1_P3_E9_L / F6B_P2_D4_L / F6B1_P1_E2_L / F6B_P3_E2_L	STS

10

20

【0090】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 3 に示す配列の任意の 1 つと少なくとも 70 %、75 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または少なくとも 99 % 同一である CDR-L3 を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 3 に示す配列の任意の 1 つの CDR-L3 を含む。

30

【表 3】

表 3

CDR-L3配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:26	F5_P5_B9_L	FQGSHVPYTFGGGTKLEIKR
SEQ ID NO:27	F5_P5_B9_L	FQGSHVPYT
SEQ ID NO:28	F6A_P8_E2_L	GQSYSYPLTFGAGTKLELKR
SEQ ID NO:29	F6A_P8_E2_L	GQSYSYPLT
SEQ ID NO:30	F6AP12F12_L	QQYYTYPLTFGAGTKLELK
SEQ ID NO:31	F6AP12F12_L	QQYYTYPLT
SEQ ID NO:32	F6B_P1_H5_L /	QHFWGTPYTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:33	F6B_P1_H5_L /	QHFWGTPYT
SEQ ID NO:34	F6B1_P3_D12_L / F6B1_P3_E9_L / F6B_P2_D4_L / F6B1_P1_E2_L / F6B_P3_E2_L	HQWSSYPPTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:35	F6B1_P3_D12_L / F6B1_P3_E9_L / F6B_P2_D4_L / F6B1_P1_E2_L / F6B_P3_E2_L	HQWSSYPPT
SEQ ID NO:36	Consensus	(X ₁)Q(X ₂)(X ₃)(X ₄)YP(X ₅)T where X ₁ is H, Q, or G; X ₂ is W, S or Y; X ₃ is S or Y; X ₄ is S or T; and X ₅ is P or L.

10

20

【0091】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表4のアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または少なくとも99%の同一性を有する軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表4の軽鎖可変領域配列を含む。

30

【表 4】

表 4

軽鎖可変領域配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:37	F5_P5_B9_L	DVLMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTIVHGTG NTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIYCFQGSHPYPT FGGGTKLEIKR
SEQ ID NO:38	F6A_P8_E2_L	DIVMTQSPKSMMSVGERVTLSCKASENVGTYVS WYQQKPDQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGS ATDFTLTISSVQAEDLADYHCGQSYSPPLTFGAG TKLELKR
SEQ ID NO:39	F6AP12F12_L	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCRSSQSLLYSINQ KNYLAWYQQIPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFT GSGSGTDFTLTISRKAEDLALYYCQQYYTYPLT FGAGTKLELKR
SEQ ID NO:40	F6B_P1_H5_L	RCDIQTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYNTL AWYLQKQKSPQLLVYAATNLADGVPSRFSGSG SGTQYSLKINSLSQSEDFGSYYCQHFWGTPYTFG GGTKLEIKR
SEQ ID NO:41	F6B1_P3_D12_L & F6B1_P3_E9_L	QIVLTQSPAISASPGKVTLTCSASSSVTSNYLY WYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGT KLEIKR
SEQ ID NO:42	F6B_P2_D4_L	QIVLTQSPAISASPGKVTLTCSASSSVSSNYLY WYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGT KLEIKR
SEQ ID NO:43	F6B1_P1_E2_L& F6B_P3_E2_L	QIVLTQSPAISASPGKVTLTCSASSSVSSNYLY WYHQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPVRFSGSGSG TSYSLTISSMEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGT KLEIKR
SEQ ID NO:44	Consensus	QIVLTQSPAISASPGKVTLTCSASSSVSSNYL YWY(H/Q)QKPGSSPKLWIYSTSNLASGVP(A/R)FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAASYFCHQWSS YPPTFGSGTKLEIKR

10

20

30

40

【0092】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表5の配列と少なくとも70%、75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または少なくとも99%の同一性を有するヒト化軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表5のヒト化軽鎖可変領域配列を含む。

【表 5】

表 5

ヒト化P3D12軽鎖

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:45	P3D12 VL	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTLTCSASSSVTSNYLYW YQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTS YSLTISSMEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEI KR
SEQ ID NO:46	P3D12 VL-ven	QIVLTQSPATMSASPGERVTLSCSASSSVTSNYLYW YQQKPGSSPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSY TLTISRMEPEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEI KR
SEQ ID NO:47	P3D12 VL-fra	QIVLTQSPAILSLSPGERATLSCSASSSVTSNYLYWY QQKPGSSPKLLIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYT LTISSLEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIKR
SEQ ID NO:48	P3D12 VL-abb/s dr	QIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTSNYLY WYQQKPGSSPRLLIYSTSNLASGVPARFSGSGSGT DYTLTISRLEPEDFASYFCHQWSSYPPTFGSGTKL EIKR
SEQ ID NO:49	P3D12 VL-cdr	QIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVTSNYLYW YQQKPGSSPRLLIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSY TLTISRLEPEDFASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK R

10

20

【0093】

ある実施形態では、結合剤および／または結合剤の抗原結合部分は、重鎖可変領域の1つ、2つまたは3つのCDRを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変領域は1つまたは複数のCDR（たとえば1つ、2つ、3つまたはそれ以上のCDR）を含む。抗体または結合剤の重鎖可変領域におけるCDRを表わすアミノ酸配列はCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3と称され、これらは重鎖可変領域のアミノ末端（N末端）からカルボキシ末端（C末端）への方

向で連続的に（即ちH1、H2およびH3）番号を付している。たとえば、結合剤の重鎖可変領域を表わすポリペプチドにおいて、CDR-H1は存在する場合には最もN末端側のCDRであり、CDR-H3は存在する場合には最もC末端側のCDRであり、CDR-H2は存在する場合には重鎖可変領域の（i）CDR-H1とCDR-H3との間、（i i）CDR-H3のN末端側、または（i i i）CDR-HのC末端側に位置している。「CDR-H1」、「CDR-H2」および「CDR-H3」という用語は一つには結合剤の相補性決定領域（たとえば結合剤の重鎖可変領域のCDR）として同定され、または本明細書において開示されるポリペプチドのアミノ酸配列を意味する。CDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3のアミノ酸配列の非限定的な例を、それぞれ表6～表8に示す。本明細書に記載した結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分は、本明細書に開示したCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3の任意の組合せを含んでよく、結合剤はcMETまたはその部分への特異的結合を保持している。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分は、表8から選択されるCDR-H3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列からなる一本重鎖CDRを含む。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分は、表8から選択されるCDR-H3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、および他の任意の好適なCDR-H2および／またはCDR-H1ポリペプチド

30

40

50

配列を含み、結合剤はc M E Tまたはその部分への特異的結合を保持している。ある実施形態では、結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分の重鎖C D RはC D R-H 3およびC D R-H 2からなり、C D R-H 3は表8から選択されるC D R-H 3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含み、C D R-H 2は表7から選択されるC D R-H 2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含む。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分は、表8から選択されるC D R-H 3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列および表7から選択されるC D R-H 2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、ならびに任意の他の好適なC D R-H 1ポリペプチド配列を含み、結合剤はc M E Tまたはその部分への特異的結合を保持している。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分は、表8から選択されるC D R-H 3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、表7から選択されるC D R-H 2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、および表6から選択されるC D R-H 1と少なくとも70%同一のアミノ酸配列からなる3つの重鎖C D Rを含む。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤の重鎖可変領域または抗原結合部分は、表8から選択されるC D R-H 3と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、表7から選択されるC D R-H 2と少なくとも70%同一のアミノ酸配列、および表6から選択されるC D R-H 1と少なくとも70%同一のアミノ酸配列を含み、結合剤はc M E Tまたはその部分への特異的結合を保持している。

10

【0094】

いくつかの実施形態では、結合剤は表6、表7または表8のC D Rの任意の1つと少なくとも70%、75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または少なくとも99%の同一性を有する1つまたは複数の重鎖C D Rを含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表6に示す配列の任意の1つと少なくとも70%、75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または少なくとも99%同一であるC D R-H 1を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は表6に示す配列の任意の1つのC D R-H 1を含む。

20

【表 6】

表 6

CDR-H1配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:50	F5_P5_B9_H	GFSLTNYGVN
SEQ ID NO:51	F5_P5_B9_H	GFSLTNYG
SEQ ID NO:52	F6A_P8_E2_H	GFNINDYFMH
SEQ ID NO:53	F6A_P8_E2_H	FNINDYF
SEQ ID NO:54	F6A_P12_F12_H	GFTFTDYMS
SEQ ID NO:55	F6A_P12_F12_H	GFTFTDYY
SEQ ID NO:56	F6B_P1_H5_H	GYTFTDYNMD
SEQ ID NO:57	F6B_P1_H5_H	YTFTDYN
SEQ ID NO:58	F6B1_P3_D12_H / F6 B1P3E9_H / F6_B1_P1 _E2_H / F6B_P3_E2_H / F6B_P2_D4_H	GYTFTSYWMH
SEQ ID NO:59	F6B1_P3_D12_H / F6 B1P3E9_H / F6_B1_P1 _E2_H / F6B_P3_E2_H / F6B_P2_D4_H	YTFTSYW
SEQ ID NO:60	Consensus	GYTFT(D/S)Y(N/W)
SEQ ID NO:61	Consensus	G(Y/F)TFT(D/S)Y(N/W/Y)M(H/S)

10

20

【0095】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 7 に示す配列の任意の 1 つと少なくとも 70 %、75 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または少なくとも 99 % 同一である CDR-H2 を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 7 に示す配列の任意の 1 つの CDR-H2 を含む。

30

【表 7】

表 7

CDR-H2配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:62	F5_P5_B9_H	LIWGGGDTDYNSALKS
SEQ ID NO:63	F5_P5_B9_H	IWGGGDT
SEQ ID NO:64	F6A_P8_E2_H	WIDPENGNTIYDPKFQG
SEQ ID NO:65	F6A_P8_E2_H	IDPENGNT
SEQ ID NO:66	F6A_P12_F12_H	FIRNKANGYTTKYSASVKG
SEQ ID NO:67	F6A_P12_F12_H	IRNKANGYTT
SEQ ID NO:68	F6B_P1_H5_H	DINPNNGGTIYNQKFKG
SEQ ID NO:69	F6B_P1_H5_H	INPNNGGT
SEQ ID NO:70	F6B1_P3_D12_H / F6 B1P3E9_H	YIKPSTDNTEYNQKFKD
SEQ ID NO:71	F6B1_P3_D12_H / F6 B1P3E9_H	IKPSTDNT
SEQ ID NO:72	F6_B1_P1_E2_H / F6B _P3_E2_H	YINPSTDYTEYNQKFKD
SEQ ID NO:73	F6_B1_P1_E2_H / F6B _P3_E2_H	INPSTDYT
SEQ ID NO:74	F6B_P2_D4_H	YINPSTDYIEYNQKFKD
SEQ ID NO:75	F6B_P2_D4_H	INPSTDYI
SEQ ID NO:76	Consensus	INPSTDY(I/T)
SEQ ID NO:77	Consensus	(Y/D)I(K/N)PSTD(N/Y)(T/I)EY(A/N)QKF(Q/K) (G/D)
SEQ ID NO:78	P3D12 VH-abb/sdr	YIKPSTDNTEYAQKFQG

10

20

30

【0096】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 8 に示す配列の任意の 1 つと少なくとも 70 %、75 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または少なくとも 99 % 同一である CDR-H3 を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 8 に示す配列の任意の 1 つの CDR-H3 を含む。

【表 8】

表 8

CDR-H3 配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:79	F5_P5_B9_H	CARDYYGFDY
SEQ ID NO:80	F5_P5_B9_H	DYYGFDY
SEQ ID NO:81	F6A_P8_E2_H	CARGGNYLRESYYYAMDY
SEQ ID NO:82	F6A_P8_E2_H	RGGNYLRESYYYAMDY
SEQ ID NO:83	F6A_P12_F12_H	CSKDRGYFDY
SEQ ID NO:84	F6A_P12_F12_H	DRGYFDY
SEQ ID NO:85	F6B_P1_H5_H	RARGDYYGSSRYYYAMDY
SEQ ID NO:86	F6B_P1_H5_H	RGDYYGSSRYYYAMDY
SEQ ID NO:87	F6B1_P3_D12_H / F6 B1P3E9_H	CARSYGNYPMLDY
SEQ ID NO:88	F6B1_P3_D12_H / F6 B1P3E9_H & F6_B1_P 1_E2_H / F6B_P3_E2_ H	SYGNYPMLDY
SEQ ID NO:89	F6_B1_P1_E2_H / F6B _P3_E2_H	CVRSYGNYPMLDY
SEQ ID NO:90	F6B_P2_D4_H	CARSYGNFPLMDY
SEQ ID NO:91	F6B_P2_D4_H	RSYGNFPLMDY
SEQ ID NO:92	Consensus	C(A/V)RSYGN(F/Y)PLMDY
SEQ ID NO:93	Consensus	RSYGN(F/Y)PLMDY

10

20

【0097】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 9 の配列と少なくとも 70 %、75 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有する重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 9 の重鎖可変領域配列を含む。

30

【表 9】

表 9

重鎖可変領域配列

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:94	F5_P5_B9_H	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTN YGVNWVRQPPGKGLEWLGLIWGGGDTDYN SALKSRLSISKDNSKSQVFLKMETNSLQTDD TARYYCARDYYGFDYWGQGTTTLTVSS
SEQ ID NO:95	F6A_P12_F12_H	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFT DYYMSWVRQPPGKALEWLGFI RNKANGYT TKYSASVKGRFTISRDNQSILYLQMNLTAE DSATYYCSKDRGYFDYWGQGTTTLTVSS
SEQ ID NO:96	F6A_P8E2_H	VNSEVQLQQSGAELVRPGALVKLSCKASGF NINDYFMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENG TIYDPKFQGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSE DTAVYYCARGGNYLRESYYYAMDYWGQGT SVTVSS
SEQ ID NO:97	F6B_P1_H5_H	VLSEVLLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYT FTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGG TIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTS EDTAVYYRARGDYYGSSRYYYAMDYWGQG TSVTSS
SEQ ID NO:98	F6B1_P3_D12_H	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCRASGYTF TSYWMHWVKQRPGQGLDWIGYIKPSTDNT EYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYYCARSYGNYP LMDYWGQGTSVTSS
SEQ ID NO:99	F6B1P3E9_H	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCRASGYTF TSYWMHWVKQRPGQGLDWIGYIKPSTDNT EYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYYCARSYGNYP LMDYWGQGTSVTSS
SEQ ID NO:100	F6B1_P1_E2_H	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTF TSYWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTDYTE YNQKFKDKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSE DSAVYYCVRSYGNYP LMDYWGQGTSVTSS
SEQ ID NO:101	F6B_P3_E2_H	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTF TSYWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTDYTE YNQKFKDKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSE DSAVYYCVRSYGNYP LMDYWGQGTSVTSS
SEQ ID NO:102	F6B_P2_D4_H	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTF TSYWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTDYIE YNQKFKDKATLTAGKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYYCARSYGNFPLMDYWGQGTSVTSS
SEQ ID NO:103	Consensus	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSC(K/R)AS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGL(E/D)WIG YI(K/N)PSTD(Y/N)(T/I)EYNQKFKDKATL TADKSS(S/T)TAYMQLSSLTSEDSAVYYC (A/V)RSYGN(Y/F)PLMDYWGQGTSVTSS

10

20

30

40

50

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 1 0 の配列と少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するヒト化重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表 1 0 のヒト化重鎖可変領域配列を含む。

【表 1 0】

表 1 0

ヒト化P3D12重鎖

配列番号	クローン	アミノ酸配列
SEQ ID NO:104	P3D12 VH	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCRASGYTFT SYWMHWVKQRPGQGLDWIGYIKPSTDNTEY NQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCARSYGNYPMDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:105	P3D12 VH-fra	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFT SYWMHWVKQRPGQGLDWIGYIKPSTDNTEY NQKFKDRVTLTADKSTSTAYMQLSNLISED AVYYCARSYGNYPMDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:106	P3D12 VH-ven	QVQLVQSGAEVAKPGASVKMSCASGYTFT SYWMHWVKQAPGQGLDWIGYIKPSTDNTEY NQKFKDKATLTADKSTSTAYMQLSSLRSED AVYYCARSYGNYPMDYWGQGTTTVTVSS
SEQ ID NO:107	P3D12 VH-abb/sdr	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YWMHWVKQAPGQGLDWIMGYIKPSTDNTEY AQKFQGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSED AVYYCARSYGNYPMDYWGQGTTTVTVSS
SEQ ID NO:108	P3D12 VH-cdr	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YWMHWVKQAPGQGLDWIGYIKPSTDNTEYN QKFKDKATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARSYGNYPMDYWGQGTTTVTVSS

【 0 0 9 9 】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号 2 6 ～ 3 6 のアミノ酸配列の任意の 1 つと少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む C D R - L 3 （たとえば表 3 から選択される C D R - L 3 配列）および配列番号 7 9 ～ 9 3 のアミノ酸配列の任意の 1 つと少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む C D R - H 3 （たとえば表 8 から選択される C D R - H 3 配列）を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号 3 4

または35のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L3および配列番号87、88、92または93のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む。

【0100】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号26~36のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L3（たとえば表3から選択されるCDR-L3配列）、配列番号16~25のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L2（たとえば表2から選択されるCDR-L2配列）、配列番号79~93のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H3（たとえば表8から選択されるCDR-H3配列）、および配列番号62~78のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H2（たとえば表7から選択されるCDR-H2配列）を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号34または35のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L3、配列番号24または25のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L2、配列番号87、88、92または93のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H3、および配列番号70、71または78のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H2を含む。

【0101】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号26~36のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L3（たとえば表3から選択されるCDR-L3配列）、配列番号16~25のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L2（たとえば表2から選択されるCDR-L2配列）、配列番号1~15のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L1（たとえば表1から選択されるCDR-L1配列）、配列番号79~93のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H3（たとえば表8から選択されるCDR-H3配列）、配列番号62~78のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H2（たとえば表7から選択されるCDR-H2配列）、および配列番号50~61のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H1（たとえば表6から選択されるCDR-H1配列）を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号34または35のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L3、配列番号24または25のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L2、配列番号9、10または15のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-L1、配列番号87または88のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H3、配列番号70、71または78のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H2、および配列番号58または59のアミノ酸配列と少なくとも70%、少なくとも90%、または100%同一のアミノ酸配列を含むCDR-H1を含む。

【0102】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号94～108のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（たとえば表9および表10から選択される重鎖可変領域）および配列番号37～49のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（たとえば表4および表5から選択される軽鎖可変領域）を含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、配列番号104～108のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（たとえば表10から選択される重鎖可変領域）および配列番号45～49のアミノ酸配列の任意の1つと少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（たとえば表5から選択される軽鎖可変領域）を含む。

【0103】

本明細書で用いる略語「abb」、「sdr」、「fra」、「ven.」および「cdr」を以下に説明する。略語「cdr」または「CDR」は相補性決定領域を意味する。略語「abb」はたとえばPadlan et al. (1995) FASEB J 9:133-139に記載されている短縮したCDRを意味する。いくつかの実施形態では、短縮したCDRは適当なヒトスカフォールドにグラフトされた軽鎖の残基27D～34、50～55、および89～96、ならびに重鎖の31～35B、50～58、および95～101として定義される。重要なフレームワーク残基は保存されることが多い。略語「sdr」はたとえばPadlan et al. (1995)に記載されている、抗原結合に関与していると考えられる残基である「特異性決定残基」を意味する。略語「fra」はたとえばWu and Kabat (1992) Mol Immunol 29:1141-1146に記載されている「フランケンシュタインアプローチ」を意味する。略語「ven」はたとえばPadlan (1991), Mol Immunol 28:489-498に記載されている「ベニア化」を意味する。

【0104】

「%同一」または「%同一性」という用語は、2つのアミノ酸配列の間の配列同一性を意味する。同一性は、比較の目的のために配置された各配列における位置を比較することによって決定することができる。比較される配列における等価の位置が同じアミノ酸によって占有される場合には、分子はその位置において同一である。等価の部位が同じまたは同様（たとえば立体的および／または電子的性質において同様）のアミノ酸残基によって占有される場合には、分子はその場所において同種（同様）であると称することができる。相同性、同様性、または同一性の百分率としての表現は、比較される配列によって共有される位置における同一または同様のアミノ酸の数の関数を意味する。相同性、同様性、または同一性の百分率としての表現は、比較される配列によって共有される位置における同一または同様のアミノ酸の数の関数を意味する。FASTA、BLAST、またはENTREZ等の種々の配置アルゴリズムおよび／またはプログラムを用いることができる。FASTAおよびBLASTはGCG配列解析パッケージ（University of Wisconsin, Madison, Wis.）の一部として入手可能であり、たとえばデフォルトセッティングとともに用いることができる。ENTREZはNational Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Bethesda, Md.を通して入手可能である。1つの実施形態では、2つの配列の%同一性は、ギャップウェイトを1として、たとえば2つの配列の間に単一のアミノ酸またはヌクレオチドのミスマッチがあるかのように各アミノ酸ギャップに重み付けした

GCGプログラムによって決定することができる。

【0105】

配置のための他の手法はMethods in Enzymology, vol. 266: Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis (1996), ed. Doolittle, Academic Press, Inc., a division of Harcourt Brace & Co., San Diego, Calif., USAに記載されている。いくつかの実施形態では、配列を配置するために配列におけるギャップを許容する配置プログラムが利用される。Smith-Watermanは配列の配置におけるギャップを許容するアルゴリズムの1つの型である。Meth. Mol. Biol. 70:173-187 (1997)を参照のこと。NeedlemanおよびWunsch配置法を用いるGAPプログラムも、配列を配置するために用いることができる。代替のサーチ戦略はMASPARコンピュータの上で作動するMPSEARCHソフトウェアを用いる。MPSEARCHは大規模並列コンピュータ上で配列を記録するためにSmith-Watermanアルゴリズムを用いる。このアプローチにより、隔たって関連する組合せを捕捉する能力が改善され、特に小さなギャップおよびヌクレオチド配列エラーを許容することができる。核酸にコードされたアミノ酸配列を用いて、タンパク質およびDNAの両方のデータベースをサーチすることができる。

10

【0106】

いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表4および表5の軽鎖可変領域から選択される1つまたは複数のCDRを含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表9および表10の重鎖可変領域から選択される1つまたは複数のCDRを含む。いくつかの実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表4および表5の軽鎖可変領域から選択される1つまたは複数のCDRならびに表9および表10の重鎖可変領域から選択される1つまたは複数のCDRを含む。ある実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、表4および表5の軽鎖可変領域の任意の1つからそれぞれ選択されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3、ならびに表9および表10の重鎖可変領域の任意の1つからそれぞれ選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む。CDR（たとえばCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3）のアミノ酸配列は、本明細書に開示した重鎖または軽鎖可変領域の中で、本明細書に記載した任意の好適な方法または当業者には公知の方法によって同定することができる。

20

【0107】

ある実施形態では、cMETに特異的に結合する結合剤は、(i)軽鎖相補性決定領域(CDR-L)のポリペプチド配列であるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3、および(ii)重鎖相補性決定領域(CDR-H)のポリペプチド配列であるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含み、CDR-L1は配列番号1-15のアミノ酸配列から選択され、CDR-L2は配列番号16-25のアミノ酸配列から選択され、CDR-L3は配列番号26-36のアミノ酸配列から選択され、CDR-H1は配列番号50-61のアミノ酸配列から選択され、CDR-H2は配列番号62-78のアミノ酸配列から選択され、およびCDR-H3は配列番号79-93のアミノ酸配列から選択される。

30

【0108】

いくつかの実施形態では、結合剤は表1～表10から選択される1つまたは複数の好適な配列を含み、選択されるポリペプチド配列は0～5、1～5、0～10、1～10、0～15、または1～15のアミノ酸改変を含み、アミノ酸改変はアミノ酸の付加、アミノ酸の欠失、および/またはアミノ酸の置換であってよい。いくつかの実施形態では、結合剤は表4、5、9または10から選択される1つまたは複数の好適な配列を含み、選択されるポリペプチド配列はフレームワーク領域または定常領域に0～5、1～5、0～10、1～10、0～15、または1～15のアミノ酸改変を含み、アミノ酸改変はアミノ酸の付加、アミノ酸の欠失、および/またはアミノ酸の置換であってよい。いくつかの実施形態では、アミノ酸改変は保存的アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示した結合剤は1つまたは複数のアミノ酸類似体、非天然アミノ酸またはアミノ酸

40

50

誘導体を含む。

【0109】

ある実施形態では、結合剤または結合剤の抗原結合部分は、1つまたは複数のフレームワーク領域（FR）を含む。フレームワーク領域はCDRの間に位置し、および／または抗体もしくは結合剤の重鎖もしくは軽鎖可変領域のCDR配列の側面にあることが多い。哺乳類では、重鎖可変領域は4つのフレームワーク領域を含むことが多く、軽鎖可変領域は4つのフレームワーク領域を含むことが多い。抗体において、抗体の可変領域において、または結合剤において、任意の好適な方法を用いて1つまたは複数のフレームワーク領域を同定することができる。以下に考察するように、結合剤は改変されていない、または改変された（たとえば最適化された）、合成または天然産生のフレームワーク領域を含んでよい。

10

【0110】

いくつかの実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分はキメラ化、グラフト化、および／またはヒト化されている。キメラ化、グラフト化、および／またはヒト化された結合剤は改変されまたは置換された定常領域および／またはフレームワーク領域を含むことが多いが、一方、cMETまたはその部分への結合特異性は維持されている。いくつかの実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は、ヒト抗体由来の定常領域、フレームワーク領域、またはそれらの部分を含む。いくつかの実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は、天然の抗体分子には見出されない完全合成部分、1つまたは複数のアミノ酸、またはアミノ酸の配列を含む。

20

【0111】

天然産生のフレームワーク領域またはその部分は、任意の好適な種から得られる。ある実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分の軽鎖および重鎖可変領域の相補性決定領域（CDR）は、同じまたは別の種からのフレームワーク領域にグラフトされる。たとえば、結合剤の1つまたは複数のフレームワーク領域はげっ歯類（たとえばマウスまたはラット）または霊長類（たとえばヒト）に由来するものでよい。

【0112】

ある実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分の軽鎖および／または重鎖可変領域のCDRは、コンセンサスヒトフレームワーク領域にグラフトすることができる。コンセンサスヒトフレームワーク領域を創成するために、ある実施形態では、いくつかのヒト重鎖または軽鎖アミノ酸配列からのフレームワーク領域を配置してコンセンサス配列を同定することができる。ある実施形態では、抗体または結合剤の重鎖または軽鎖フレームワーク領域は、異なった重鎖または軽鎖可変領域からの1つまたは複数のフレームワーク領域またはその部分で置き換えられる。いくつかの実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は、1つまたは複数のヒトフレームワーク領域を含む。ある実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のヒトフレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は1つまたは複数のマウスフレームワーク領域を含む。ある実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のマウスフレームワーク領域を含む。ある実施形態では、結合剤またはその抗原結合部分は1つまたは複数のヒトフレームワーク領域および1つまたは複数のマウスフレームワーク領域を含む。

30

40

【0113】

たとえばフレームワーク領域またはその部分を改変し、置換し、または欠失させることによってキメラ化、ヒト化、および／または最適化された抗体または結合剤を生成させる方法は既知である。CDRグラフト化の非限定的な例は、たとえば米国特許第6180370号、第6054297号、第5693762号、第5859205号、第5693761号、第5565332号、第5585089号および第5530101号、ならびにJones et al, Nature, (1986)321 :522-525; Verhoeyen et al, (1988)Science, 239:1534-1536、ならびにWinter, (1998)FEBS Letts., 430:92-94に記載されている。キメラ化、

50

グラフト化、および／またはヒト化された結合剤を生成するさらなる非限定的な例には、米国特許第5530101号、第5707622号、第5994524号、第6245894号、Queen et al., (1988) PNAS 86:10029-10033、Riechmann et al., (1988) Nature 332:323-327、Antibody Engineering: Methods and Protocols, Methods in molecular biologyの248巻、Benny K. C. Lo編、Springer Science & Business Media, (2004)、およびAntibody Engineering, Vol. 1, Roland E. Kontermann, Stefan Duebel, 2版, Publisher Springer Science & Business Media, (2010)が含まれる。いくつかの実施形態では、結合剤は1つまたは複数のフレームワーク領域またはその部分（たとえば1つまたは複数のアミノ酸）をヒト抗体からの1つまたは複数のフレームワーク領域またはその部分と交換することによってヒト化することができる。ある実施形態では、抗体または結合剤は、ドナー結合剤の結合特異性を保持しながらドナー結合剤（たとえばマウスモノクローナル抗体）からの1つまたは複数のCDR（たとえば1、2、3、4、5または6個全てのCDR）をアクセプター結合剤（たとえばヒト抗体）に移動させることによって、ヒト化またはグラフト化することができる。ある実施形態では、キメラ化、グラフト化またはヒト化結合剤を作製するプロセスは、結合剤の定常領域またはフレームワーク領域に1つまたは複数のアミノ酸置換、付加または欠失を作製することを含む。ある実施形態では、「リシェーピング」、「超キメラ化」、または「ベニア化／リサーフェシング」等の手法を用いてヒト化結合剤を産生することができる（たとえばVaswami et al, (1998) Annals of Allergy, Asthma, & Immunol. 81:105; Roguska et al, (1996) Prot. Engin., 9:895-904; および米国特許第6072035号を参照）。いくつかの態様では、結合剤は免疫原性を低減させるために上で考察した方法によって、または別の好適な方法によって改変される（たとえばGilliland et al, (1999) J. Immunol, 62(6):3663-71を参照）。

【0114】

ある実施形態では、結合剤のアミノ酸配列は、標的（たとえばcMET）に対する結合親和性、種間の交差反応性、溶解性および／または機能（たとえばアゴニスト活性、またはその欠落）を最適化するために改変される。いくつかの実施形態では、cMETへの結合のために、および／または本明細書に開示した結合剤の機能または特徴を最適化するために本明細書に開示したCDRの特定の組合せを最適化することができる。たとえば、本明細書に開示した特徴付けられた軽鎖可変領域（たとえば配列番号48の軽鎖可変領域）を、好適な発現系を用いて、特徴付けられた重鎖可変領域（たとえば配列番号107の重鎖可変領域）のCDR-H1およびCDR-H2を含む重鎖可変領域のライブラリーとともに共発現することができ、CDR-H3は、たとえば表8の1つまたは複数のCDR-H3領域を含んでもよいCDR-H3配列のライブラリーで置き換えられる。得られる軽鎖／重鎖結合剤は、cMETへの結合について、および／または特定の機能について、スクリーニングすることができる。最適化された結合剤は同定され、CDR-H3のアミノ酸配列は好適な方法によって同定される。上記のスクリーニング法を用いて、結合剤の結合特異性、結合親和性、および／または機能を改善させ得るCDRの特定の組合せ、または特定の最適化されたCDR配列（たとえばアミノ酸置換、付加または欠失を含むCDR配列）を含む結合剤を同定することができる。結合剤をスクリーニングし最適化するそのような方法は既知である（たとえばPortolano et al. (1993) Journal of Immunology 150:880-887; およびClarkson et al. (1991) Nature 352:624-628)を参照）。そのような参考文献は、相補性可変領域のライブラリーをスクリーニングすることによって、既知の軽鎖可変領域、既知の重鎖可変領域、またはそれらの部分（たとえばそれらのCDR）を用いて特異的抗原と結合する抗体を産生させる方法を教示している。

【0115】

ある実施形態では、結合剤の親和性および／または機能を最適化するために結合剤が改変され、グリコシル化部位が除去または付加される（たとえばCo et al. (1993) Mol. Immunol. 30:1361-1367を参照）。いくつかの実施形態では、結合剤におけるグリコシル化部位の数および／または型が改変されまたは変更される。N連結グリコシル化部位は配列Asn-X-SerまたはAsn-X-Thrによって特徴付けられることが多い。ここ

でXと指定されたアミノ酸残基はプロリン以外の任意のアミノ酸残基であってよい。この配列を創成するためのアミノ酸の置換は、N連結炭水化物鎖の付加のための新たな可能な部位を提供する。あるいは、この配列を除外する置換は、存在するN連結炭水化物鎖を除去することになる。ある実施形態では、1つまたは複数のN連結グリコシル化部位（典型的には天然産生の）が除外され、1つまたは複数の新たなN連結部位が創成されるN連結炭水化物鎖の再配列も提供される。いくつかの実施形態では、結合剤は、改変されない結合剤と比較して1つまたは複数のシステイン残基が欠失することまたは1つまたは複数のシステイン残基が別のアミノ酸（たとえばセリン）によって置換されることによって改変される。ある実施形態では、システイン変異体は発現、分泌、および／または溶解性を最適化するために有用であり得る。

10

【0116】

ある実施形態では、結合剤は、たとえばタンパク質分解に対する結合剤の感受性を低減させるため、酸化に対する結合剤の感受性を低減させるため、血清半減期を増大させるため、および／または結合剤のその他の物理化学的、薬物動態もしくは機能的特性を付与または改変するために設計されまたは意図されたある種のアミノ酸付加、置換または欠失を含むように改変される。

【0117】

いくつかの実施形態では、結合剤は哺乳類cMETまたはその部分に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、結合剤は哺乳類cMETの細胞外ドメインもしくは細胞外領域またはその部分に特異的に結合する。ある態様では、結合剤は天然に見出される非変性の（遺伝的に改変されていない）哺乳類の細胞によって産生される野生型cMETに特異的に結合する。ある態様では、結合剤は天然に発生するcMET変異体に特異的に結合する。ある態様では、結合剤は1つまたは複数のアミノ酸置換、付加または欠失を含むcMETに特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤はヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、またはげっ歯類（たとえばマウスまたはラット）の細胞の表面で産生されおよび／または発現されるcMETに特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤は配列番号109～113の任意の1つのアミノ酸配列を有する1つまたは複数のcMETポリペプチドまたはその部分に特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤はヒトcMETに特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤はヒトcMETの細胞外ドメインに特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤はヒトcMETおよび／またはその細胞外ドメインに特異的に結合し、ヒトcMETはE168からD168への置換（即ちcMETのE168D変異体）を含む。ある実施形態では、結合剤はヒトcMETおよび／またはその細胞外ドメインに特異的に結合し、ヒトcMETはN375からS375への置換（即ちcMETのN375S変異体）を含む。

20

30

【0118】

「特異的に結合する」という用語は、他の分子または他のペプチドより優先的に標的のペプチドに結合する結合剤を意味し、これはたとえば好適なインビトロ（*in vitro*）アッセイ（たとえばELISA、イムノブロット、フローサイトメトリー、その他）によって決定される。特異的結合相互作用は約2倍以上、しばしば約10倍以上、時には約100倍以上、1000倍以上、10,000倍以上、100,000倍以上、または1,000,000倍以上、非特異的結合相互作用を識別する。

40

【0119】

いくつかの実施形態では、cMETまたはその部分に特異的に結合する結合剤は、100nM以下、50nM以下、25nM以下、10nM以下、5nM以下、1nM以下、900pM以下、800pM以下、750pM以下、700pM以下、600pM以下、500pM以下、400pM以下、300pM以下、200pM以下、または100pM以下の結合親和性定数（KD）でcMETまたはその部分（たとえばcMETの細胞外ドメイン）に結合する結合剤である。いくつかの実施形態では、cMETまたはその部分に特異的に結合する結合剤は、100nM以下、50nM以下、25nM以下、10nM以下、5nM以下、1nM以下、900pM以下、800pM以下、750pM以下、700

50

pM以下、600 pM以下、500 pM以下、400 pM以下、300 pM以下、200 pM以下、または100 pM以下の結合親和性定数（KD）でヒトcMETまたはその部分（たとえばヒトcMETの細胞外ドメイン）に結合する結合剤である。いくつかの実施形態では、cMETまたはその部分に特異的に結合する結合剤は、100 nM以下、50 nM以下、25 nM以下、10 nM以下、5 nM以下、1 nM以下、900 pM以下、800 pM以下、750 pM以下、700 pM以下、600 pM以下、500 pM以下、400 pM以下、300 pM以下、200 pM以下、または100 pM以下の結合親和性定数（KD）で非ヒト種（たとえば非ヒト霊長類またはげっ歯類、たとえばマウスもしくはラット）由来のcMETまたはその部分に特異的に結合する結合剤である。ある実施形態では、本明細書に開示した結合剤はヒトcMETまたはその部分に特異的に結合し、非ヒト霊長類由来のcMETまたはその部分に特異的に結合する。ある実施形態では、本明細書に開示した結合剤はヒトcMETまたはその部分に特異的に結合し、げっ歯類（たとえばマウスまたはラット）由来のcMETまたはその部分に特異的に結合する。ある実施形態では、結合剤は（i）10 nM以下、または1 nM以下のKDでヒトcMETまたはその部分（たとえばヒトcMETの細胞外ドメイン）に特異的に結合し、（ii）100 nM以下、90 nM以下、80 nM以下、70 nM以下、60 nM以下、50 nM以下、40 nM以下、30 nM以下、20 nM以下、または10 nM以下のKDでラットもしくはマウスcMETまたはその部分（たとえばラットまたはマウスcMETの細胞外ドメイン）に特異的に結合する。

【0120】

ある実施形態では、結合剤は1つまたは複数の機能的特徴を含む。したがって、結合剤は構造的および機能的に記述することができる（たとえばそれが何をするのかによって、またはそれが何をできるのかによって）。本明細書に開示した結合剤はcMETの細胞外部分、たとえば細胞の表面に存在するcMETの細胞外部分に特異的に結合することができる。いくつかの実施形態では、細胞はcMETを発現するヒトがん細胞またはヒト腫瘍性細胞である。ある実施形態では、本明細書に開示した結合剤は細胞表面のcMETに結合するとcMETの内部移行を誘起する。cMETの内部移行および／または分解を誘起するcMET結合剤の能力は、この能力を欠く他のcMET結合剤に対して利点を提供する。結合後にcMETの内部移行および／または分解を誘起するcMET結合剤－薬物複合体は、細胞毒性薬の局所的な細胞内送達を提供する。さらにいくつかの実施形態では、結合剤－薬物複合体は、たとえば連結基に組み込まれたリソソーム酵素切断部位によって、内部移行後にのみ結合剤からPBD毒素を放出するように構成される。したがって、本明細書に記載した結合剤－薬物複合体は対象においてcMETを発現する癌細胞の内部に対して毒素を特異的に送達することができるが、一方、対象の健全な細胞（healthy cells）に対する非特異的な細胞毒性を最小限に抑えることができる。結果的に、本明細書に記載した抗cMET結合剤－薬物複合体は、より高い有効性（例えば、標的特異的な細胞毒性）およびより小さい有害な副作用（例えば、より小さい非特異的な細胞毒性）を提供する。したがって、ある実施形態では、結合剤－薬物複合体は細胞の細胞表面上のcMETに特異的に結合し、結合後にcMETの内部移行を誘起する結合剤を含む。いくつかの実施形態では、結合剤はcMETまたはその部分に特異的に結合し、cMETの分解を誘起する。したがって、ある実施形態では、結合剤－薬物複合体は細胞の細胞表面上のcMETに特異的に結合し、結合後にcMETの内部移行および／または分解を誘起する結合剤を含む。リガンドまたは結合剤の結合により誘起された細胞表面の結合型受容体（cell surface-bound receptor）の内部移行および／または分解は、本分野で公知の公的なアッセイを用いて検出し、測定し、および／または定量化することができる。したがって、cMET内部移行および／または分解を誘起する結合剤の能力は公的な実験的アッセイの使用により過度の負担なく決定することができる。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載した結合剤は細胞表面上のcMETまたはその部分に特異的に結合し、cMETの内部移行および／または分解を誘起する結合剤である。

【0121】

その類似リガンドの結合による c M E T の活性化は腫瘍の成長、血管新生および転移に
関与する。アゴニスト拮抗 c M E T 抗体は c M E T 受容体に架橋結合し、c M E T の活性化
を誘起することによるリガンド結合を模倣することが多い。したがって、c M E T 受容体
を活性化せずに細胞表面 c M E T に結合する結合剤は抗がん治療の用途により好適である
。いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体の結合剤は細胞表面上の c M E T または
その部分に特異的に結合し、シグナル伝達（たとえばチロシンキナーゼ活性）を検出可能
に誘起せずまたは促進しない。いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体の結合剤は
細胞表面上の c M E T またはその部分に特異的に結合し、実質的に c M E T （たとえばチ
ロシンキナーゼ活性）を活性化しない。ある実施形態では、本明細書に開示した抗 c M E
T 結合剤は検出可能な c M E T アゴニスト活性を有しない。ある実施形態では、抗 c M E
T 結合剤は細胞表面上における c M E T の結合に際してアゴニスト活性を欠き、および/
または細胞表面上における c M E T の結合に際して検出可能なチロシンキナーゼ活性を誘
起しまたは促進することができない。いくつかの実施形態では、抗 c M E T 結合剤は c M
E T アンタゴニストである。ある実施形態では、抗 c M E T 結合剤は c M E T 受容体を経
由するシグナル伝達を低下させ、阻害し、低減し、妨害し、もしくは防止し、および/
または c M E T 受容体が検出可能なチロシンキナーゼ活性を誘起しまたは促進することを低
下させ、阻害し、低減し、妨害し、もしくは防止する。いくつかの実施形態では、本明細
書に開示した抗 c M E T 結合剤は c M E T がその天然の類似リガンド（たとえば肝細胞増
殖因子、またはそのアイソフォーム）に結合することを低下させ、阻害し、低減し、防止
し、または妨害する。

10

20

【0122】

いくつかの実施形態では、結合剤はラベルを含む。本明細書で用いる「ラベル」または
「ラベルされた」という用語は、たとえばラベルされたアミノ酸の組み込みまたはラベル
されたアビジン（たとえば光学法または比色法で検出できる蛍光マーカーまたは酵素活性
を含むストレプトアビジン）によって検出できるビオチン部分のポリペプチドへの取着に
よる検出可能なマーカーの組み込みを意味する。ある実施形態では、ラベルまたはマー
カーを結合剤に取着して治療薬または診断薬を生成することができる。結合剤は共有結合
または非共有結合で任意の好適なラベルまたはマーカーに取着することができる。ポリペ
プチドおよび糖タンパク質をラベルする種々の方法は当業者に公知であり、用いることが
できる。ポリペプチドへのラベルの非限定的な例には、これだけに限らないが、以下の放射
性同位元素または放射性核種（たとえば ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）、蛍光ラベル、酵素ラベル（たとえばホースラディッシュペル
オキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、ケ
ミルミネッセントラベル、金属ラベル、クロモフォア、エレクトロケミルミネッセンスラ
ベル、燐光ラベル、クエンチャー（たとえばフルオロフォアクエンチャー）、蛍光共鳴エ
ネルギー移動（FRET）ペア（たとえばドナーおよびアクセプター）、染料、酵素基質
、小分子、質量タグ、量子ドット、ナノ粒子、ビオチニル基、二次レポーターによって認
識される所定のポリペプチドエピトープ（たとえばロイシンジッパーペア配列、二次抗体
の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）、その他およびそれらの組合せが含ま
れる。

30

40

【0123】

いくつかの実施形態では、結合剤は好適なキャリアを含む。結合剤は共有結合または非
共有結合で好適なキャリアに取着することができる。ある実施形態では、キャリアは、結
合剤のインビボ半減期を変化させまたは延長する、またはその薬物動態特性を改善する薬
剤または分子である。キャリアの非限定的な例には、ポリエチレングリコール、グリコー
ゲン（たとえば結合剤のグリコシル化による）、デキストラン、および米国特許第 6 6 6
0 8 4 3 号に記載されたキャリアまたは媒体、その他およびそれらの組合せが含まれる。

【0124】

ペイロード

P B D 毒素

50

ある実施形態では、結合剤－薬物複合体は本明細書に記載した結合剤（たとえば c M E T に特異的に結合する結合剤）およびペイロード（たとえば細胞障害性ペイロード）を含む。結合剤－薬物複合体は結合剤に共有結合で連結されていることが多い。いくつかの実施形態では、ペイロードはピロロベンゾジアゼピン（P B D）毒素を含む。いくつかの実施形態では、ペイロードは連結基または好適なリンカーを含む。いくつかの実施形態では、ペイロードはピロロベンゾジアゼピン（P B D）毒素および連結基を含む。ある実施形態では、ペイロードはピロロベンゾジアゼピン（P B D）毒素および連結基を含み、ピロロベンゾジアゼピンは連結基に共有結合で連結され、連結基は本明細書に記載した結合剤に共有結合で連結されている。

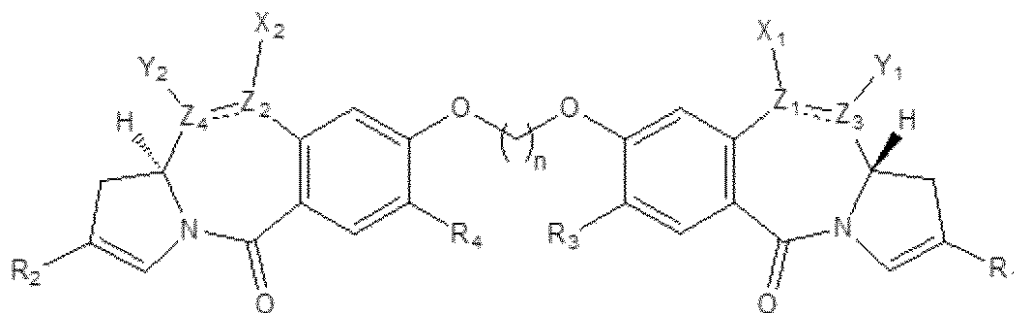
【0125】

P B D 毒素および P B D 毒素を製造する方法の非限定的な例は、以下の特許出願公報に記載されている：米国特許出願公開第 2011/0256157 号、国際公開第 2015/052322 号、米国特許出願公開第 2016/0106861 号、米国特許出願公開第 2007/0072846 号、米国特許出願公開第 2011/0201803 号、米国特許出願公開第 2010/0113425 号、米国特許出願公開第 2008/0167293 号、米国特許出願公開第 2014/0127239 号、米国特許出願公開第 2015/0158869 号、米国特許出願公開第 2015/0344482 号、米国特許出願公開第 2015/0111880 号、米国特許出願公開第 2015/0315196 号、米国特許出願公開第 2016/0015828 号、米国特許出願公開第 2014/0088089 号、米国特許出願公開第 2013/0035484 号、米国特許出願公開第 2011/0196148 号、米国特許出願公開第 2013/0028919 号、米国特許出願公開第 2013/0059800 号、米国特許出願公開第 2014/0274907 号、米国特許出願公開第 2014/0275522 号、米国特許出願公開第 2014/0234346 号、米国特許出願公開第 2013/0266595 号、米国特許出願公開第 2014/0302066 号、米国特許出願公開第 2014/0286970 号、米国特許出願公開第 2014/0294868 号、米国特許出願公開第 2016/0144052 号、米国特許出願公開第 2016/0031887 号、米国特許出願公開第 2014/0120118 号、米国特許出願公開第 2016/0250344 号、国際公開第 2017/137553 号、国際公開第 2017/137555 号および国際公開第 2017/186894 号（これらの全内容は参照によりその全体が本明細書に組込まれる）。

【0126】

いくつかの実施形態では、ピロロベンゾジアゼピン毒素は式 I：

【化16】



(I)

【0127】

〔式中、Z₁ および Z₂ は両方とも N であり；Z₃ および Z₄ は両方とも C であり、

【化17】

二重破線 は単結合または二重結合を表し；

10

20

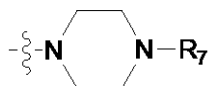
30

40

50

n は 1 ～ 12 であり； R_3 および R_4 のそれぞれは独立して H または C_{1-4} アルコキシルであり；および R_1 および R_2 のそれぞれは独立して H、 C_{1-5} アルキル、 C_{3-6} シクロアルキル、 C_{2-5} アルケニルおよび R_5 で置換されていてもよいフェニルからなる群より選択され、 R_5 は、 $-NH_2$ 、 $-NHR_6$ および構造：

【化 18】



を有する R_7 で置換されたピペラジニルからなる群より選択され、

R_6 は連結基を含み、および R_7 はヌルまたは C_{1-5} アルキルであり； X_1 はヌルであるか、保護基であるか、または連結基を含み； X_2 はヌルであるか、保護基であるか、または連結基を含み； X_1 、 X_2 、 R_1 および R_2 の 1 つだけが連結基を含み；および Y_1 および Y_2 のそれぞれが独立してヌル、OH または SO_3H のいずれかであり；ただし、

【化 19】

(i) X_1 が連結基を含む場合、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、(ii) X_2 が連結基を含む場合、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ であり、(iii) X_1 が保護基を含む場合、 $Z_1 \text{---} Z_3$ は $N\text{---}C$ であり、および (iv) X_2 が保護基を含む場合、 $Z_2 \text{---} Z_4$ は $N\text{---}C$ である]

の構造を含む。

【0128】

ある実施形態では、PBD 毒素は 1 つだけ連結基を含む。たとえば、化学式 I では、 X_1 、 X_2 、 R_1 および R_2 の 1 つだけが連結基を含んでよい。たとえば、 X_1 が連結基を含む場合、 X_2 、 R_1 および R_2 は連結基を含まない。

【0129】

化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 n は 1 ～ 12 である。化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 n は 1 ～ 10、1 ～ 9、1 ～ 7、1 ～ 5 または 1 ～ 3 である。化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 n は 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 または 12 である。いくつかの実施形態では、 n は 1、3 または 5 である。いくつかの実施形態では、 n は 3 または 5 である。

【0130】

化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 R_3 および R_4 は独立して C_{1-4} アルコキシルである。化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 R_3 および R_4 は独立して $-O-CH_2CH_3$ または $-O-CH_3$ から選択される。化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 R_3 および R_4 は両方とも $-O-CH_3$ である。

【0131】

化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 R_1 および R_2 は独立して H、 C_{1-5} アルキル、 C_{3-6} シクロアルキルおよび C_{2-5} アルケニルからなる群より選択される。 R_1 および R_2 は同一であってよく、または異なっていてよい。いくつかの実施形態では、 R_1 および R_2 は独立して C_1-C_3 アルキルおよび C_2-C_3 アルケニルから選択される。ある実施形態では、 R_1 および R_2 は独立して $-CH_2CH_2CH_3$ および $-CH_3$ から選択される。ある実施形態では、 R_1 および R_2 は両方とも $-CH_2CH_2CH_3$ または $-CH_3$ である。

【0132】

化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 R_1 および R_2 は独立して C_{3-6} シクロアルキルおよび R_5 で置換されていてもよいフェニルから選択され、 R_5 は $-NH_2$ 、 $-NHR_6$ および構造：

【化 2 0】

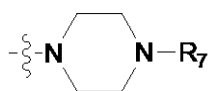


を有する R_7 で置換されたピペラジニルからなる群より選択され、

R_6 は連結基を含み、および R_7 はヌルまたは $C_1 - C_5$ アルキルである。ある実施形態では、 R_1 および R_2 は異なり、かつ (i) $C_3 - C_6$ シクロアルキルおよび (ii) R_5 で置換されていてもよいフェニルから独立して選択され、 R_5 は $-NH_2$ および $-NH$ R_6 から選択され、 R_6 は連結基を含む。ある実施形態では、 R_1 および R_2 は異なり、かつ (i) C_3 シクロアルキルおよび (ii) $-NH_2$ または $-NHR_6$ で置換されたフェニルから独立して選択され、 R_6 は連結基を含む。ある実施形態では、 R_1 および R_2 は異なり、かつ (i) R_5 で置換されていてもよいフェニル（ここで、 R_5 は $-NH_2$ および $-NHR_6$ であり、 R_6 は連結基を含む）および (ii) 構造を有する R_7 で置換されたピペラジニル（ここで、 R_7 はヌルまたは $C_1 - C_2$ アルキルである）から独立して選択される。ある実施形態では、 R_1 および R_2 は異なり、かつ (i) R_5 で置換されたフェニル（ここで、 R_5 は $-NH_2$ および $-NHR_6$ であり、 R_6 は連結基を含む）および (ii) 構造

10

【化 2 1】



20

[R_7 は $-CH_3$ である]

を有する R_7 で置換されたピペラジニルから独立して選択される。ある実施形態では、 R_2 は 4-メチルピペラジン-1-イルで置換されたフェニルである。

【0 1 3 3】

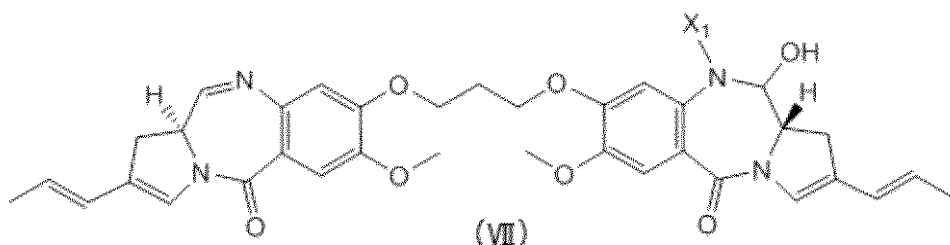
化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 X_1 はヌルであり、 Y_1 はヌルであり、 Z_1 Z_3 は $N=C$ であり、 X_2 はヌルであり、 Y_2 はヌルであり、および Z_2 Z_4 は $N=C$ である。化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 X_1 は連結基を含み、 Y_1 は OH であり、 Z_2 Z_4 は $N=C$ であり、 X_2 はヌルであり、および Y_2 はヌルである。化学式 I の PBD 毒素のある実施形態では、 X_1 は連結基を含み、 Y_1 は OH であり、 Z_2 Z_4 は $N-C$ であり、 X_2 は保護基であり、および Y_2 は OH である。

30

【0 1 3 4】

いくつかの実施形態では、PBD 毒素は以下に示した化学式 VII :

【化 2 2】



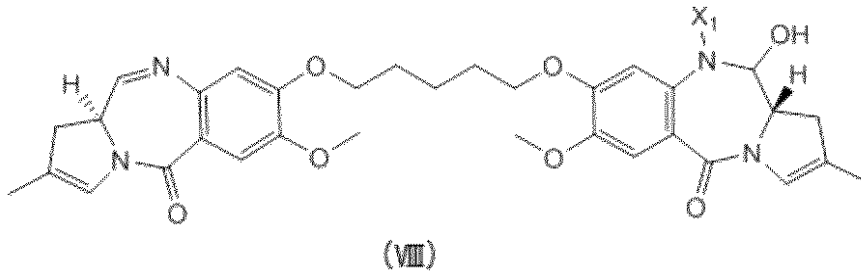
40

[式中、 X_1 は連結基を含む] の構造を含む。

【0 1 3 5】

いくつかの実施形態では、PBD 毒素は以下に示した化学式 VIII :

【化 2 3】



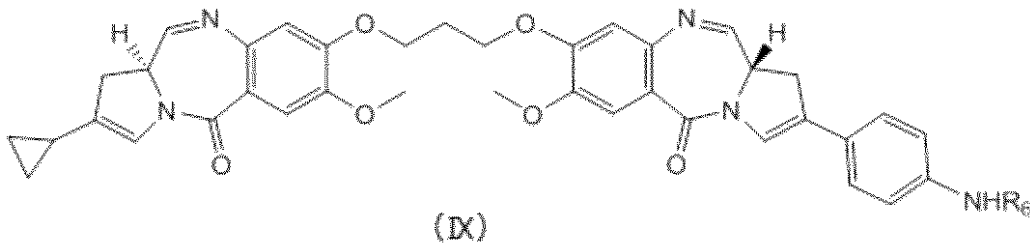
〔式中、 X_1 は連結基を含む〕の構造を含む。

10

【0136】

いくつかの実施形態では、PBD毒素は以下に示した化学式IX：

【化 2 4】



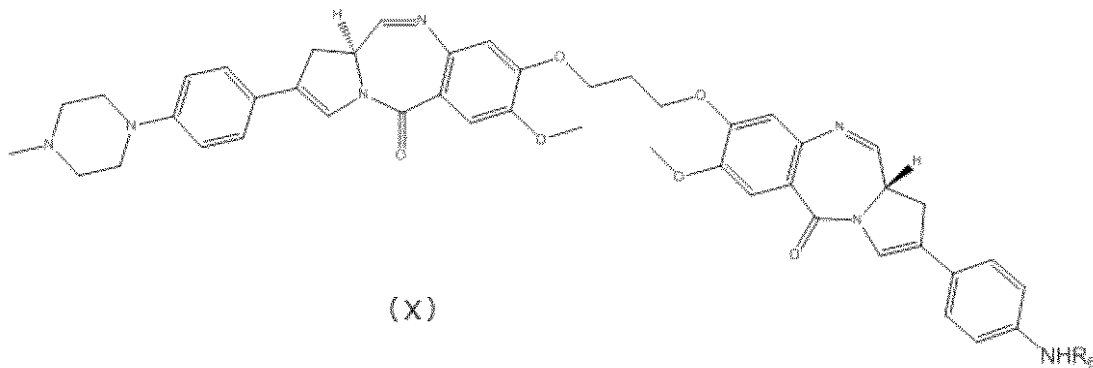
20

〔式中、 R_6 は連結基を含む〕の構造を含む。

【0137】

いくつかの実施形態では、PBD毒素は以下に示した化学式X：

【化 2 5】



30

〔式中、 R_6 は連結基を含む〕の構造を含む。

【0138】

いくつかの実施形態では、PBD毒素は好適な結合、部分または基によって連結基に取
 着（たとえば共有結合で連結）されている。いくつかの実施形態では、PBD毒素はカル
 ボニル結合またはアミド結合によって連結基に取着（たとえば共有結合で連結）されてい
 る。いくつかの実施形態では、PBD毒素はカルバメート基によって連結基に取着（た
 とえば共有結合で連結）されている。いくつかの実施形態では、PBD毒素はアミド基によ
 って連結基に取着（たとえば共有結合で連結）されている。PBD毒素の連結基への取着
 の非限定的な例は、米国特許出願公開第2017/0002096号、米国特許出願公開
 第2016/0331842号、米国特許出願公開第2015/0250896号、米国
 特許出願公開第2017/0080103号、米国特許出願公開第2016/01363
 00号、米国特許出願公開第2017/0152274号、米国特許出願公開第2015
 /0209444号、米国特許出願公開第2013/0274091号、米国特許出願公
 開第2017/0095570号、米国特許出願公開第2017/0157264号、米

40

50

国特許出願公開第2015/0125474号、米国特許出願公開第2011/0256157号、国際公開第2015/052322号、米国特許出願公開第2016/0106861号、米国特許出願公開第2007/0072846号、米国特許出願公開第2011/0201803号、米国特許出願公開第2010/0113425号、米国特許出願公開第2008/0167293号、米国特許出願公開第2014/0127239号、米国特許出願公開第2015/0158869号、米国特許出願公開第2015/0344482号、米国特許出願公開第2015/0111880号、米国特許出願公開第2015/0315196号、米国特許出願公開第2016/0015828号、米国特許出願公開第2014/0088089号、米国特許出願公開第2013/0035484号、米国特許出願公開第2011/0196148号、米国特許出願公開第2013/0028919号、米国特許出願公開第2013/0059800号、米国特許出願公開第2014/0274907号、米国特許出願公開第2014/0275522号、米国特許出願公開第2014/0234346号、米国特許出願公開第2013/0266595号、米国特許出願公開第2014/0302066号、米国特許出願公開第2014/0286970号、米国特許出願公開第2014/0294868号、米国特許出願公開第2016/0144052号、米国特許出願公開第2016/0031887号、米国特許出願公開第2014/0120118号、米国特許出願公開第2016/0250344号、国際公開第2017/137553号、国際公開第2017/137555および国際公開第2017/186894（これらの全内容は参照によりその全体が本明細書に組込まれる）に記載されている。

10

20

【0139】

本明細書で用いる「ヌル」という用語は、示された部分が構造に存在しないことである、示された部分が必要とされる原子価を完全にするための1つまたは複数の水素原子で置換されまたは占有されていてもよいことを意味する。さらに、本明細書に示した任意の構造に関して、1つまたは複数の水素が、構造に示される炭素、窒素または酸素原子の必要とされる原子価を完全にするために存在してもよい。したがって、明示的に示されていない場合、1つまたは複数の水素原子が存在してもよい。

【0140】

連結基

いくつかの実施形態では、ペイロードは、結合剤とPBD毒素との間の連結を部分的に促進する連結基を含む。ある実施形態では、任意の好適な連結基はPBD毒素を結合剤に連結するために用いることができる。連結基および連結基を作製する方法の非限定的な例は、国際公開第2015/052322号、米国特許出願公開第2015/0158869号、米国特許出願公開第2015/0344482号、米国特許出願公開第2014/0127239号、米国特許出願公開第2017/0002096号、米国特許出願公開第2016/0331842号、米国特許出願公開第2015/0250896号、米国特許出願公開第2017/0080103号、米国特許出願公開第2016/0136300号、米国特許出願公開第2017/0152274号、米国特許出願公開第2015/0209444号、米国特許出願公開第2013/0274091号、米国特許出願公開第2017/0095570号、米国特許出願公開第2017/0157264および米国特許出願公開第2015/0125474号（これらは参照によりその全体が本明細書中に組込まれる）に記載されている。いくつかの実施形態では、連結基はC1～C20アルキル、C1～C20アルケニル、C1～C20アルコキシル、1つまたは複数のアミノ酸もしくはアミノ酸誘導体、1個～20個のアミノ酸を含むペプチド、フェニル基、好適なポリマー（たとえばポリエチレングリコール）またはそれらの組合せを含む。

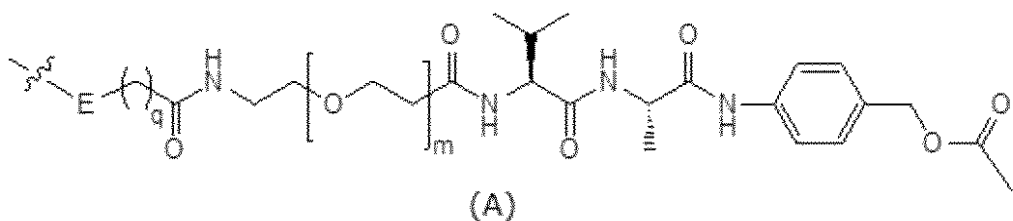
30

40

【0141】

いくつかの実施形態では、連結基は化学式A：

【化 2 6】



〔アスタリスクは連結基のピロロベンゾジアゼピン毒素への取着点を示し、波線は連結基の結合剤への取着点を示し、 m は0～20であり、 q は0～10であり、およびEは結合基である〕の構造を含む。化学式Aの連結基のいくつかの実施形態では、 m は1～20、1～10、1～8、1～6、1～4、2～8または4または8である。化学式Aの連結基のいくつかの実施形態では、 m は1、2、3、4、5、6、7、8、9または10から選択される。化学式Aの連結基のいくつかの実施形態では、 q は1～10、1～8、1～6または1～4である。化学式Aの連結基のいくつかの実施形態では、 q は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10から選択される。化学式Aの連結基のいくつかの実施形態では、 q は0、1または2、18である。化学式Aの連結基のいくつかの実施形態では、 m は8であり、および q は2である。

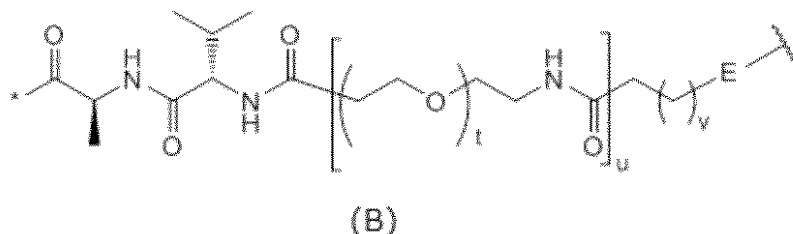
10

【0142】

いくつかの実施形態では、連結基は化学式B：

20

【化 2 7】



30

〔式中、アスタリスクは連結基のピロロベンゾジアゼピン毒素への取着点を示し、波線は連結基の結合剤への取着点を示し、 v は0～10であり、および u は0または1であり、 u が1である場合、 t は1～10であり、およびEは結合基である〕の構造を含む。化学式Bの連結基のいくつかの実施形態では、 v は1～10、1～8、1～4または0～4、21である。化学式Bの連結基のいくつかの実施形態では、 v は0、1、2、3、4、5、6、7または8から選択される。化学式Bの連結基のいくつかの実施形態では、 u が1である場合、 t は1～8、1～5、1～4または2～5である。化学式Bの連結基のいくつかの実施形態では、 u が1である場合、 t は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10から選択される。化学式Bの連結基のいくつかの実施形態では、 t は8であり、 u は1であり、および v は2である。化学式Bの連結基のいくつかの実施形態では、 u

40

【0143】

化学式AおよびBの連結基Eは、任意の好適な結合、リンカーまたは部分を含んでいてよく、その非限定的な例には、ジスルフィド結合、チオエーテル結合、チオエステル結合、アミド結合、アミン、ケトン、カルボキシラートエーテル、カルバメート、エステル、チオエステル、その他、またはそれらの組み合わせが含まれる。ある実施形態では、Eは連結基と結合剤との間の共有結合を含む。いくつかの実施形態では、Eは共有結合を含む。いくつかの実施形態では、Eは好適な複合体化反応が行われた後に残る反応した部分を含む。多くの複合体化反応が本分野で公知であり、そのいずれかを用いて、本明細書中で開示した連結基を本明細書中で開示した結合剤に共有結合で連結させるために用いること

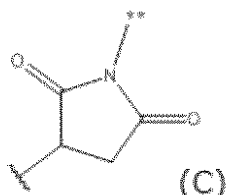
50

ができる。任意の好適な複合体化化学を用いて、確率的または部位特異的のいずれかで結合基を結合基に共有結合で取捨させることができ、その非限定的な例には、Shan S. Wong (1991年6月18日出版) Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking, CRC Press; Greg T. Hermanson (著作権2013) Bioconjugate Techniques, Third Edition, Elsevier Inc.; およびThiol-X Chemistries in Polymer and Materials Science, RSC Polymer Chemistry Series No. 6 (2013) Andrew B. Lowe およびChristopher N. Bowman編, RCS Publishing、国際公開第2015/052322号、米国特許出願公開第2015/0158869号、米国特許出願公開第2015/0344482号、米国特許出願公開第2014/0127239号、米国特許出願公開第2017/0002096号、米国特許出願公開第2016/0331842号、米国特許出願公開第2015/0250896号、米国特許出願公開第2017/0080103号、米国特許出願公開第2016/0136300号、米国特許出願公開第2017/0152274号、米国特許出願公開第2015/0209444号、米国特許出願公開第2013/0274091号、米国特許出願公開第2017/0095570号、米国特許出願公開第2017/0157264号および米国特許出願公開第2015/0125474号(これらの全内容は参照によりその全体が本明細書に組込まれる)に記載された複合体化反応が含まれる。ペイロードまたは連結基を結合剤に複合体化する他の非限定的な例には、アミンまたはアミノ基を、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)エステル、スクシンイミジルスクシネート、スクシンイミジルスクシンアミド、スクシンイミジルプロピオネート、スクシンイミジルカルボネート、オキシカルボニルイミダゾール、ニトロフェニルカーボネート、トリクロロフェニルカーボネート、トレシレート、無水マレイン酸、無水メチルマレイン酸、イミドエステル、ペンタフルオロフェニル(PFP)エステル、ヒドロキシメチルホスフィン、オキシランまたはその他のカルボニル部分と反応させること；カルボキシル部分をカルボジイミドと反応させること；スルフヒドリル部分をマレイミド、ハロアセチル、ピリジルジスルフィド、オルトピリジルジスルフィドおよび/またはビニルスルホンと反応させること；アルデヒド部分をヒドラジンまたはヒドラジドと反応させること；非選択的な基をジアジリンおよび/またはアリールアジドと反応させること；ヒドロキシル部分をイソシアネートと反応させること；ヒドロキシルアミン部分をカルボニル部分と反応させること；その他、およびこれらの組合せが含まれる。

【0144】

したがって、Eは連結基を結合剤に複合体化するために用いられる化学によって定義されることが多い。いくつかの実施形態では、Eは連結基を結合剤に取捨するように構成された好適な部分を含む。いくつかの実施形態では、連結基は、好適なスルフヒドリル-スルフヒドリル反応によって、たとえば還元されたシステインと反応し、安定したチオエーテル結合を形成するマレイミドまたはピリジルジチオール反応基の使用により、結合剤に共有結合される。反応性スルフヒドリル反応性部分のさらなる非限定的な例には、ハロアセチル、アジリジン、アクリロイル、アリール化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィドおよびTNB-チオールが含まれる。ある実施形態では、結合剤は、結合剤のシステインチオール残基(たとえばチオール)とEとの間に形成されたチオエーテル結合によって、Eに結合される。したがって、ある実施形態では、Eはジスルフィド結合またはチオエーテル結合を含む。いくつかの実施形態では、たとえばマレイミド反応を用いて、結合剤を結合基に共有結合で連結され、Eは化学式C:

【化28】



〔式中、波線は結合剤に取着されている点を示し、ダブルアスタリスク（**）は連結基に取着されている点を示す〕の構造を含む。ある実施形態では、化学式Cのダブルアスタリスクはチオエーテル結合を表す。

【0145】

ペイロード、連結基または連結基は結合剤の任意の好適なアミノ酸に確率的または部位特異的に結合され得る。いくつかの実施形態では、ペイロード、連結基または連結基は結合剤の1つまたは複数の好適なシステインに複合体化される。いくつかの実施形態では、ペイロード、連結基または連結基は結合剤の1つまたは複数の好適なリジン残基に複合体化される。ある実施形態では、結合剤の1つまたは複数のアミノ酸がペイロード、連結基または連結基への複合体化に好適なアミノ酸で置換される。チオールを含有するアミノ酸残基またはリジン残基で置換できるアミノ酸の非限定的な例には、IgG2のA118、S119、S239、V282、T289、N361およびV422、IgG1のS115、S252、V289、T306およびN384、またはIgG1、IgG2、IgG3もしくはIgG4における対応する位置が含まれる。突然変異誘発によるシステインの抗体への組み込みにより、ペイロード、連結基または連結基を抗体の特定の部位に、例えばジスルフィド結合またはチオエーテル結合を介して、直接複合体化させることが可能になる。たとえば、結合剤の1つまたは複数のアミノ酸をシステインで置換することができ、システインは適切な化学反応を用いてペイロード、連結基または連結基の部位特異的複合体化に用いることができる。抗体の定常領域の任意の好適なアミノ酸を、ペイロード、連結基または連結基への部位特異的複合体化のためにシステインまたはリジンに変異させることができる。部位特異的複合体化から生じる抗体薬物複合体の安定性は、本分野で公知の方法によって評価することができる。

【0146】

いくつかの実施形態では、連結基は好適な酵素切断部位を含む。ある実施形態では、酵素切断部位は哺乳動物プロテアーゼの酵素認識部位を含む。したがって、いくつかの実施形態では、連結基またはその一部は哺乳動物プロテアーゼによって切断され得る。連結基は標的部位にまたはその近くに（たとえばcMETタンパク質にまたはその近くに）存在する酵素によって切断され得る。標的部位にまたはその近くに存在する酵素は、細胞内、膜結合型、膜会合型（membrane associated）または細胞外（たとえば分泌型）であってよい。例えば、連結基は、細胞表面プロテアーゼ、分泌プロテアーゼまたは細胞内プロテアーゼ（たとえばリソソームプロテアーゼ）によって切断されるように構成されてよい。酵素切断部位の非限定的な例には、リソソームシステインプロテアーゼおよび／またはリソソームアスパラギン酸プロテアーゼのプロテアーゼ認識部位が含まれる。リソソームプロテアーゼの非限定的な例には、カテプシンB、C、H、I、J、K、L、M、N、O、P、S、TおよびX、ならびにカテプシンD、E、F、Gおよび／またはカテプシンA（カルボキシペプチダーゼA）が含まれる。

【0147】

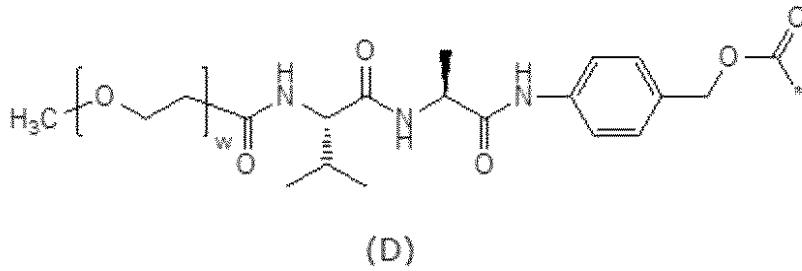
保護基

いくつかの実施形態では、PBD毒素は好適な保護基を含む。保護基および保護基を作製する方法の非限定的な例は、以下の特許出願公開公報：米国特許出願公開第2011/0256157号、国際公開第2015/052322号、米国特許出願公開第2011/0201803号、米国特許出願公開第2008/0167293号、米国特許出願公開第2014/0127239号、米国特許出願公開第2015/0158869号、米国特許出願公開第2015/0344482号、米国特許出願公開第2015/0315196号、米国特許出願公開第2014/0302066号、米国特許出願公開第2006/0264622号および米国特許出願公開第2015/0133435号（これらの全内容は参照によりその全体が本明細書に組込まれる）に記載されている。

【0148】

いくつかの実施形態では、保護基は以下の化学式D：

【化 2 9】



〔式中、アスタリスクはピロロベンゾジアゼピン毒素に取着されている点を示し；および w は 0～10 である〕の構造を含む。いくつかの実施形態では、 w は 0～8、0～6、0～4、1～10、1～8、1～5 または 1～4 である。ある実施形態では、 w は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 および 10 から選択される。いくつかの実施形態では、 w は 2 である。

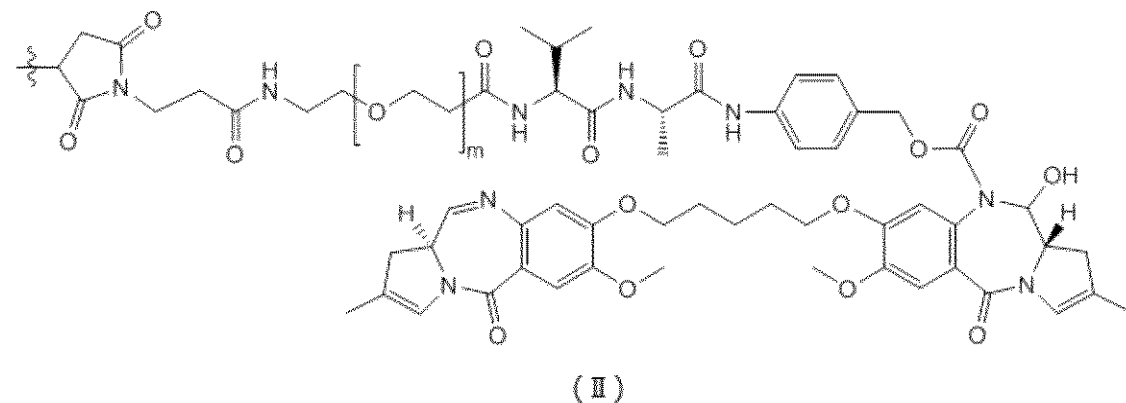
【0149】

いくつかの実施形態では、保護基は除去可能である。ある実施形態では、保護基は好適な化学を用いて切断可能である。

【0150】

いくつかの実施形態では、ペイロードは化学式 I I：

【化 3 0】

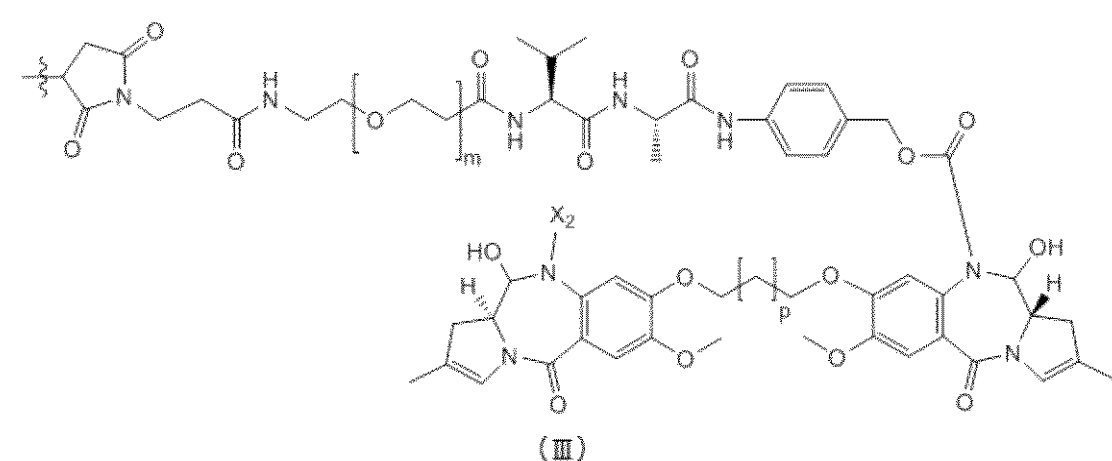


〔式中、 m は 8 であり、および波線は結合剤に取着されている点を示す〕の構造を含む。

【0151】

いくつかの実施形態では、ペイロードは化学式 I I I：

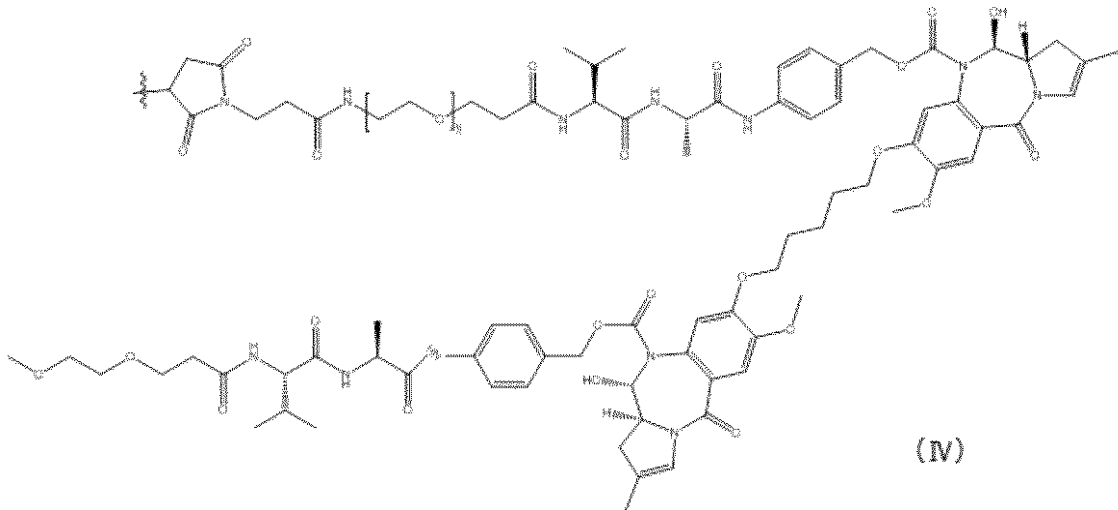
【化 3 1】



〔式中、 m は 8 であり、 p は 1 または 3 であり、 X_2 はヌルまたは保護基であり、および

波線は結合剤に取着されている点を示す] の構造を含む。ある実施形態では、ペイロードは化学式 I V :

【化 3 2】



10

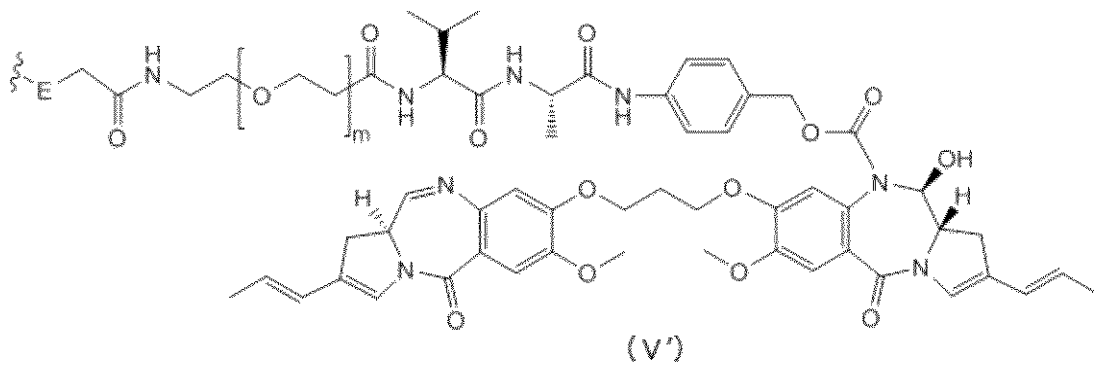
[波線は結合剤に取着されている点を示す] の構造を含む。

【0 1 5 2】

20

いくつかの実施形態では、ペイロードは化学式 V ' :

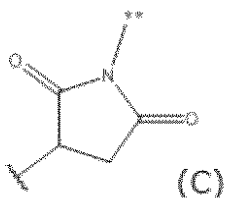
【化 3 3】



30

[式中、mは8であり、Eは好適な結合基であり、および波線は結合剤に取着されている点を示す] の構造を含む。いくつかの実施形態では、Eは構造 C :

【化 3 4】



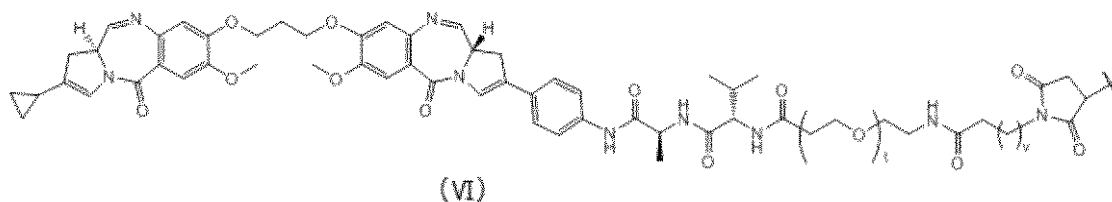
40

[式中、波線は結合剤に取着されている点を示し、およびダブルアスタリスクは化学式 V のペイロードに取着されている点を示す] のスクシンアミド部分を含む。構造 C の結合基を含む化学式 V のペイロードは、本明細書中、化学式 X I と称されることがある。

【0 1 5 3】

いくつかの実施形態では、ペイロードは化学式 V I :

【化 3 5】



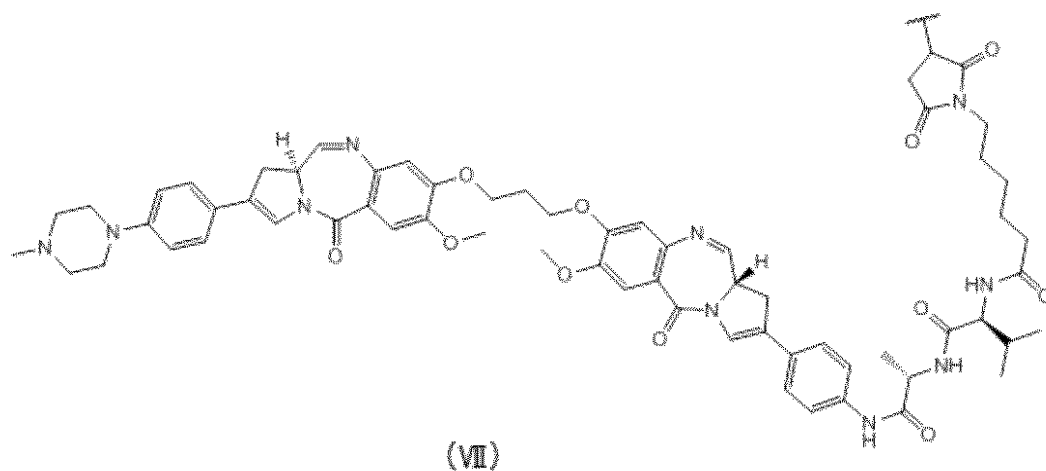
[式中、t は 8 であり、v は 1 であり、および波線は結合剤に取着されている点を示す] の構造を含む。

10

【0154】

いくつかの実施形態では、ペイロードは化学式 V I I :

【化 3 6】



20

[式中、波線は結合剤に取着されている点を示す] の構造を含む。

【0155】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式 I I、I I I、I V、V、V I、V I I および X I のいずれか 1 つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号 2、4、6、8、10、12 および 14 のアミノ酸配列から選択された C D R-L 1、配列番号 17、19、21、23 および 25 のアミノ酸配列から選択された C D R-L 2、配列番号 27、29、31、33 および 35 のアミノ酸配列から選択された C D R-L 3、配列番号 51、53、55、57 および 59 のアミノ酸配列から選択された C D R-H 1、配列番号 63、65、67、69、71、73 および 75 のアミノ酸配列から選択された C D R-H 2、および配列番号 80、82、84、86、88、91 および 93 のアミノ酸配列から選択された C D R-H 3 を含む結合剤を含む。

30

【0156】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式 I I、I I I、I V、V、V I、V I I および X I のいずれか 1 つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号 10 または 14 のアミノ酸配列を含む C D R-L 1、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む C D R-L 2、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む C D R-L 3、配列番号 59 のアミノ酸配列を含む C D R-H 1、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む C D R-H 2、および配列番号 88 のアミノ酸配列を含む C D R-H 3 を含む結合剤を含む。

40

【0157】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式 I I、I I I、I V、V、V I、V I I および X I のいずれか 1 つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号 9 のアミノ酸配列を含む C D R-L 1、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む C D R-L 2、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む C D R-L 3、配列番号 58 のアミノ酸配列

50

を含むCDR-H1、配列番号70のアミノ酸配列を含むCDR-H2、および配列番号87のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む結合剤を含む。

【0158】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式II、III、IV、V、VI、VIIおよびXIのいずれか1つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号37~44のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号94~103のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する重鎖可変領域を含む結合剤を含む。

【0159】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式II、III、IV、V、VI、VIIおよびXIのいずれか1つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号37~44のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、および配列番号94~103のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む結合剤を含む。

【0160】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式II、III、IV、V、VI、VIIおよびXIのいずれか1つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号45~49のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する軽鎖可変領域、および配列番号104~108のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する重鎖可変領域を含む結合剤を含む。

【0161】

いくつかの実施形態では、結合剤-薬物複合体は、化学式II、III、IV、V、VI、VIIおよびXIのいずれか1つから選択された構造を含むペイロード、ならびに配列番号45~49のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号104~108のアミノ酸配列から選択されたアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む結合剤を含む。

【0162】

医薬組成物

いくつかの実施形態では、組成物または医薬組成物は本明細書に記載した結合剤-薬物複合体を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、結合剤-薬物複合体および薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、添加剤またはキャリアを含む。

【0163】

医薬組成物は好適な投与経路のために製剤化することができる。いくつかの実施形態では、医薬組成物は皮下(s.c.)、皮内、筋肉内、腹腔内および/または静脈内投与のために製剤化される。ある実施形態では、医薬組成物は、組成物のたとえばpH、浸透圧、粘度、透明性、色、等張性、臭気、無菌性、安定性、溶解もしくは放出の速度、吸着もしくは浸透を改変し、維持し、または保存するための製剤材料を含んでもよい。ある実施形態では、好適な製剤材料には、これだけに限らないが、アミノ酸(グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン等)、抗微生物剤、抗酸化剤(アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムまたは亜硫酸水素ナトリウム等)、緩衝剤(ホウ酸塩、重炭酸塩、トリスHCl、クエン酸塩、リン酸塩(たとえばリン酸塩緩衝食塩液)、または好適な有機酸)、増量剤(マニトールまたはグリシン等)、キレート化剤(エチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA)等)、錯化剤(カフェイン、ポリビニルピロリドン、ベーターシクロデキストリンまたはヒドロキシプロピルベーターシクロデキストリン等)、タンパク質(血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン等)、着色剤、香料および希釈剤、乳化剤、親水性ポリマー(ポリビニルピロリドン等)、低分子量ポリペプチド、塩形成カウンターイオン(ナトリウム等)、溶媒(グリセリン、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコール等)、希釈剤、賦形剤および/または医薬アジュバントが含まれる。特

に、医薬組成物は“Remington: The Science And Practice Of Pharmacy” Mack Publishing Co., Easton, PA, 19th Edition, (1995)(以下、Remington '95)または“Remington: The Science And Practice Of Pharmacy”, Pharmaceutical Press, Easton, PA, 22nd Edition, (2013)(以下、Remington 2013)(その内容は参照により本明細書に組み込まれる)に列挙されたような任意の好適なキャリア、製剤または成分、その他またはそれらの組合せを含むことができる。本明細書に列挙した種々の材料は単独または組合せてRemington '95またはRemington 2013に記載された材料に組み込むことまたは共に用いることができる。当業者に理解される手法、キャリアおよび賦形剤、たとえばRemington '95またはRemington 2013に記載されたものを含む任意の好適な手法、キャリアおよび賦形剤を用いることができる。

10

【0164】

ある実施形態では、医薬組成物は好適な賦形剤を含み、その非限定的な例には、付着防止剤(たとえばステアリン酸マグネシウム)、バインダー、フィラー、単糖類、二糖類、その他の炭水化物(たとえばグルコース、マンノースまたはデキストリン)、糖アルコール(たとえばマンニトールまたはソルビトール)、コーティング(たとえばセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、微結晶セルロース、合成ポリマー、シェラック、ゼラチン、トウモロコシタンパク質ゼイン、腸溶性またはその他の多糖類)、デンプン(たとえばジャガイモ、メイズまたはムギのデンプン)、シリカ、着色剤、崩壊剤、香料、潤滑剤、保存剤、吸着剤、甘味剤、媒体、懸濁剤、界面活性剤および/または湿潤剤(プルロニック、PEG、ソルビタンエステル、ポリソーベート20、ポリソーベート80等のポリソーベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパル等)、安定性向上剤(シュクロースまたはソルビトール等)、ならびに等張性向上剤(アルカリ金属ハライド、塩化ナトリウムもしくは塩化カリウム、マンニトール、ソルビトール)、および/またはRemington '95またはRemington 2013に開示された任意の賦形剤が含まれる。本明細書で用いる「バインダー」という用語は、医薬混合物を組み合わされた状態に保つことを補助する化合物または成分を意味する。医薬製剤を作製するために医薬錠剤、カプセルおよび顆粒の調製においてしばしば用いられる好適なバインダーは当業者には公知である。明らかにするため、本明細書で用いる「結合剤」という用語は、ある種の医薬製剤で用いられる「バインダー」を意味しない。しかしある実施形態では、医薬組成物はcMETに特異的に結合する結合剤ならびにバインダーを含んでもよい。

20

30

【0165】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は薬学的に許容される好適な添加剤および/またはキャリアを含む。好適な添加剤の非限定的な例には、好適なpH調整剤、緩和剤、緩衝剤、硫黄含有還元剤、抗酸化剤その他が含まれる。硫黄含有還元剤の非限定的な例には、N-アセチルシステイン、N-アセチルホモシステイン、チオクト酸、チオジグリコール、チオエタノールアミン、チオグリセロール、チオソルビトール、チオグリコール酸およびその塩、チオ硫酸ナトリウム、グルタチオン、およびC1~C7チオアルカン酸等のスルフヒドリル基(たとえばチオール)を有する還元剤が含まれる。抗酸化剤の非限定的な例には、エリソルビン酸、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、アルファートコフェロール、トコフェロールアセテート、L-アスコルビン酸およびその塩、L-アスコルビルパルミテート、L-アスコルビルステアレート、重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、トリアミルガレートおよびプロピルガレート、ならびにエチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA)ジナトリウム、ピロリン酸ナトリウムおよびメタリン酸ナトリウム等のキレート化剤が含まれる。さらに、希釈剤、添加剤および賦形剤は、一般に用いられる他の成分、たとえば塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、リン酸ナトリウム、リン酸カリウムおよび重炭酸ナトリウム等の無機塩、ならびにクエン酸ナトリウム、クエン酸カリウムおよび酢酸ナトリウム等の有機塩を含んでもよい。

40

【0166】

本明細書で用いる医薬組成物は長期間、たとえば数か月または数年にわたって安定であ

50

り得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は1つまたは複数の好適な保存剤を含む。保存剤の非限定的な例には、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、過酸化水素、その他、および／またはそれらの組合せが含まれる。保存剤は塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゾキソニウム、塩化ベンゼトニウム、セトリミド、塩化セパゾニウム、塩化セチルピリジニウム、または臭化ドミフェン（BRADOSOL（登録商標））等の四級アンモニウム化合物を含み得る。保存剤はチメロサル等のチオサリチル酸のアルキル水銀塩、硝酸フェニル水銀、酢酸フェニル水銀またはホウ酸フェニル水銀を含み得る。保存剤はメチルパラベンまたはプロピルパラベン等のパラベンを含み得る。保存剤はクロロブタノール、ベンジルアルコールまたはフェニルエチルアルコール等のアルコールを含み得る。保存剤はクロルヘキシジンまたはポリヘキサメチレンピグアニド等のピグアニド誘導体を含み得る。保存剤は過ホウ酸ナトリウム、イミダゾリジニル尿素、および／またはソルビン酸を含み得る。保存剤は商品名PURITE（登録商標）として知られ、市販されている安定化オキシクロロ複合体を含み得る。保存剤は商品名POLYQUART（登録商標）として知られ、Henkel KGaAから市販されているポリグリコールーポリアミン縮合レジンを含み得る。保存剤は安定化過酸化水素を含み得る。保存剤は塩化ベンザルコニウムであってよい。いくつかの実施形態では、医薬組成物は保存剤を含まない。

10

【0167】

いくつかの実施形態では、組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は実質的に混入物（たとえば血液細胞、血小板、ポリペプチド、ミネラル、血液由来化合物または化学製品、ウイルス、細菌、他の病原体、毒素、その他）を含まない。いくつかの実施形態では、組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は実質的に血清および血清混入物（たとえば血清タンパク質、血清脂質、血清炭水化物、血清抗原、その他）を含まない。いくつかの実施形態では、組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は実質的に病原体（たとえばウイルス、寄生虫または細菌）を含まない。いくつかの実施形態では、組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は実質的にエンドトキシンを含まない。いくつかの実施形態では、組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は無菌である。ある実施形態では、組成物または医薬組成物はcMETの細胞外ドメインに特異的に結合する結合剤－薬物複合体および好適な希釈剤（たとえばリン酸塩緩衝食塩液）を含む。

20

30

【0168】

本明細書に記載した医薬組成物は、それらを用いる治療による任意の好適な形態および／または量で対象に投与するために構成され得る。たとえば非経口投与（たとえば注射または注入による）のために構成された医薬組成物は、油性または水性媒体中の懸濁液、溶液またはエマルジョンの形態を取ってよく、水性または非水性溶媒、共溶媒、懸濁液、保存剤、安定化剤および／または分散剤等の製剤化剤、賦形剤、添加剤および／または希釈剤を含んでよい。いくつかの実施形態では、非経口投与に適した医薬組成物は1つまたは複数の賦形剤を含んでよい。いくつかの実施形態では、医薬組成物は凍結乾燥によって乾燥粉末形態にされる。いくつかの実施形態では、医薬組成物は凍結乾燥によって好適な医薬溶媒（たとえば水、食塩液、等張緩衝溶液（たとえばPBS）、その他）による再構成に適した乾燥粉末形態にされる。ある実施形態では、凍結乾燥された医薬組成物の再構成された形態は哺乳類への非経口投与（たとえば静脈内投与）に適している。

40

【0169】

ある実施形態では、医薬組成物は経口投与のために構成され、錠剤、マイクロ錠剤、ミニ錠剤、マイクロペレット、粉末、顆粒、カプセル（たとえばマイクロ錠剤、マイクロペレット、粉末または顆粒が充填されたカプセル）、エマルジョンまたは溶液として製剤化されてよい。経口投与のために構成された医薬組成物は、活性成分（たとえば結合剤）の放出を遅延させまたは持続させる好適なコーティングを含んでよく、その非限定的な例には、脂肪酸、ワックス、シェラック、プラスチック、アクリル酸メチルーメタクリル酸共重合体、酢酸フタル酸セルロース（CAP）、酢酸コハク酸セルロース、フタル酸ヒドロ

50

キシプロピルメチルセルロース、コハク酸ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテート（コハク酸ヒプロメロース）、ポリ酢酸ビニルフタル酸（P V A P）、メタクリル酸メチルーメタクリル酸共重合体、酢酸セルローストリメリテート、アルギン酸ナトリウム、ゼイン、植物繊維、その他およびそれらの組合せ等の腸溶コーティングが含まれる。

【0170】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した医薬組成物は局所投与のために構成されてよく、結合剤および／または潤滑剤、ポリマーグリコール、ゼラチン、ココアバターまたは他の好適なワックスもしくは脂肪の1つまたは複数を含んでよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した医薬組成物は、一般に局所的薬剤投与に適する局所的キャリアを含み、当業者には公知の任意の好適な材料を含む局所的製剤の中に組み込まれる。ある実施形態では、医薬組成物の局所的製剤は局所パッチからの結合剤の投与のために製剤化される。

10

【0171】

ある実施形態では、最適な医薬組成物は、たとえば意図された投与経路、デリバリーフォーマットおよび所望の用量に基づいて当業者によって決定されることになる（たとえば上記のRemington '95またはRemington 2013,を参照）。ある実施形態では、そのような組成物は本発明の抗体の物理的状态、安定性、インビボ放出の速度およびインビボクリアランスの速度に影響し得る。医薬組成物は、たとえば従来の混合、溶解、顆粒化、糖衣錠製造、摩砕、乳化、カプセル化、トラップ化、または錠剤化プロセスによる方法（たとえばRemington '95またはRemington 2013に記載された方法を参照）を含む任意の好適な方式で製造することができる。

20

【0172】

第二医薬用途

いくつかの実施形態では、対象のがんまたは腫瘍性障害の処置用の医薬として使用するための組成物または医薬組成物が本明細書に提示され、組成物または医薬組成物は本明細書に記載した結合剤－薬物複合体を含む。いくつかの実施形態では、がんまたは腫瘍性障害の処置に使用するための本明細書に記載した結合剤－薬物複合体を含む組成物または医薬組成物が本明細書に提示される。

【0173】

処置方法

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は、腫瘍性障害またはがんを有するか、有する疑いのある対象を処置するために用いられる。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤－薬物複合体または医薬組成物は対象における腫瘍性障害またはがんの処置において用いられ、結合剤－薬物複合体はヒトcM E Tの細胞外ドメインに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、腫瘍性障害またはがんを有するか、有する疑いのある対象を処置する方法が本明細書に提示される。ある実施形態では、腫瘍性障害またはがんを有するか、有する疑いのある対象を処置する方法は、治療有効量の本明細書に記載した組成物、医薬組成物または結合剤を対象に投与することを含む。ある実施形態では、方法は対象の細胞（たとえば1つまたは複数の細胞）を治療有効量の本明細書に記載した組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体と接触させることを含む。ある実施形態では、方法は対象のがん細胞または腫瘍性細胞を治療有効量の本明細書に記載した組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体と接触させることを含む。ある実施形態では、方法は対象の細胞（たとえば1つまたは複数の細胞）をヒトcM E Tの細胞外ドメインまたはその変異体に特異的に結合する治療有効量の結合剤－薬物複合体と接触させることを含む。ある実施形態では、方法はがん細胞または腫瘍性細胞をヒトcM E Tの細胞外ドメインまたはその変異体に特異的に結合する治療有効量の結合剤－薬物複合体と接触させることを含む、細胞はその細胞表面上にcM E Tを発現する。対象の細胞はcM E Tの細胞外部分を発現する細胞であることが多い。結合剤－薬物複合体と接触される細胞は対象の内部（たとえばインビボ）で見出されてもよく、対象の外部（たとえばインビトロまたはエクシボ（e x v i v o））で見出されてもよい。

30

40

50

【0174】

ある実施形態では、結合剤－薬物複合体はがんまたはがん細胞の成長、成長率または転移を妨害し、阻害し、改善し、廃棄または抑制する。ある実施形態では、結合剤－薬物複合体は、がんまたはがん細胞の死、ネクロシスまたはアポトーシスを誘起する。ある実施形態では、対象の細胞を本明細書に開示した結合剤－薬物複合体と接触させることが細胞の死、ネクロシスまたはアポトーシスを誘起または促進する。ある実施形態では、対象の細胞を本明細書に開示した結合剤－薬物複合体と接触させることがADC、ADCPまたは補体依存性細胞障害（CDC）プロセスによる細胞の死を誘起または促進する。ある実施形態では、対象の細胞を本明細書に開示した結合剤－薬物複合体と接触させることが、細胞の有糸分裂を低下し、阻害し、または低減させる。ある実施形態では、対象のがんまたはがん細胞を本明細書に開示した結合剤－薬物と接触させることが、がんまたはがん細胞の転移を低下し、阻害または低減させる。

10

【0175】

対象

「対象」という用語は哺乳類を意味する。任意の好適な哺乳類を本明細書に記載した方法または組成物によって処置することができる。哺乳類の非限定的な例には、ヒト、非ヒト霊長類（たとえば類人猿、テナガザル、チンパンジー、オランウータン、サル、マカク、その他）、家庭内動物（たとえばイヌ、ネコ）、家畜（たとえばウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）および実験動物（たとえばマウス、ラット、ウサギ、モルモット）が含まれる。いくつかの実施形態では、哺乳類はヒトである。哺乳類は任意の年齢または任意の成長段階であってよい（たとえば成体、十代、子供、新生児、または子宮内の哺乳類）。哺乳類は雌雄いずれでもよい。哺乳類は妊娠した雌であってよい。

20

【0176】

いくつかの実施形態では、対象は本明細書に記載した処置または組成物を必要としている。ある実施形態では、対象は腫瘍性障害またはがんを有しているか、有している疑いがある。いくつかの実施形態では、本明細書に記載した処置または組成物を必要としている対象は腫瘍性障害またはがんを有しているか、有している疑いがある。ある実施形態では、本明細書に記載した結合剤－薬物複合体または組成物は、腫瘍性障害またはがんを有しているか、有している疑いがある対象を処置するために用いられる。

【0177】

がんの種類

本明細書に開示した組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体は、腫瘍性障害またはがんを処置するために用いることができ、その非限定的な例には、癌腫、肉腫、神経腫瘍症、リンパ腫、骨髄腫、白血病、黒色腫、中皮腫、固形もしくは軟組織腫瘍および二次がん（例えば、原発部位から派生したがん）が含まれる。癌腫の非限定的な例には、呼吸器系がん、消化器系がん、泌尿生殖器系がん、精巣がん、前立腺がん、内分泌系がん、皮膚の基底細胞がん、原発不明のがん、胆管癌、非浸潤性乳管癌（DCIS）、メルケル細胞がん、肺がん、胸腺がんおよび胸腺がん、正中線癌、肺小細胞がん、甲状腺がん、肝細胞がん、扁平上皮がん、頭頸部扁平上皮がん、乳がん、上皮がん、副腎皮質がん、卵巣表面上皮がん、その他が含まれ、さらに子宮、子宮頸部、結腸、膵臓、腎臓、食道、胃および卵巣の癌腫が含まれる。肉腫の非限定的な例には、ユーイング肉腫、リンパ肉腫、脂肪肉腫、骨肉腫、乳肉腫、軟組織肉腫、カポジ肉腫、横紋筋肉腫、子宮肉腫、軟骨肉腫、平滑筋肉腫、線維肉腫、その他が含まれる。神経腫瘍症の非限定的な例には、神経膠腫、膠芽細胞腫、髄膜腫、神経芽腫、網膜芽細胞腫、星状細胞腫、乏突起神経膠腫、その他が含まれる。リンパ腫、骨髄腫および白血病の非限定的な例には、急性および慢性リンパ芽球性白血病、骨髄芽球性白血病、多発性骨髄腫、低分化型急性白血病（例：赤芽球性白血病および急性巨核芽球性白血病）、急性前骨髄性白血病（APML）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、B系統ALLおよびT系統ALLを含む急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ性白血病（CLL）、前リンパ球性白血病（PLL）、有毛細胞白血病（HLL）、ウォルデンストロームマクログロブリン血症（WM

30

40

50

）、非ホジキンリンパ腫およびそのバリエーション、末梢T細胞リンパ腫、成人T細胞白血病／リンパ腫（ATL）、皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）、大顆粒リンパ球性白血病（LGF）、ホジキン病、リードシュテルンベルク病が含まれる。軟組織腫瘍または固形組織腫瘍の非限定的な例には、内臓腫瘍、セミノーマ、肝細胞癌、ならびに乳房、肝臓、肺、膵臓、子宮、卵巣、睾丸、頭、首、目、脳、口、咽頭、声帯、耳、鼻、食道、胃、腸、結腸、副腎、腎臓、骨、膀胱、尿道、癌腫、肺、筋肉、皮膚、足、手、および軟組織の他の腫瘍が含まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示した医薬組成物または結合剤－薬物複合体により処置され得る腫瘍性障害またはがんは、膀胱がん、乳がん、結腸直腸がん、子宮頸がん、胃がん、肝臓がん、肝細胞がん、下咽頭がん、肺がん、腺がん、卵巣がんおよび腎臓がんから選択される。いくつかの実施形態では、本明細書に開示した医薬組成物または結合剤－薬物複合体によって処置され得る腫瘍性障害またはがんは、膵臓がん（たとえば膵臓腺がん、外分泌膵臓がんまたは膵神経内分泌がん）、結腸直腸がん（たとえば結腸直腸腺がん）、小腸悪性腫瘍、胆管がん、非小細胞肺がん（NSCLC）、甲状腺がん、食道もしくは食道胃接合部（EGJ）がん、胃腺がん、肝臓肝細胞がん、頭頸部扁平上皮がん、女性生殖管悪性腫瘍、乳がん、肺小細胞がん、卵巣表面上皮がん、後腹膜もしくは腹膜肉腫、前立腺腺がん、神経内分泌腫瘍、消化管間質腫瘍、神経膠芽腫または非上皮性卵巣がんから選択される。いくつかの実施形態では、本明細書に開示した医薬組成物または結合剤－薬物複合体によって処置され得る腫瘍性障害またはがんは、乳がんであり、その非限定的な例には、非浸潤性乳管がん（DCIS）、浸潤性乳管がん（IDC）（たとえば乳房の管状がん、乳房の髄様がん、乳房の粘液性がん、乳房の乳頭がんおよび乳房の篩状がん）、浸潤性小葉がん（ILC）、炎症性乳がん、非浸潤性小葉がん（LCIS）、男性の乳がん、乳がんの分子サブタイプ（管腔B乳がんもしくはホルモン受容体陽性乳がん、トリプルネガティブ乳がん、HER₂に富んだ乳がんおよび正常様乳がん）、乳頭のバジレット病、乳房の葉状腫瘍、および転移性乳がんが含まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示した医薬組成物または結合剤－薬物複合体によって処置され得る腫瘍性障害またはがんはトリプルネガティブ乳がんである。

【0178】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載した処置の有効性は、がんまたは腫瘍症が発現するcMETの量によって、部分的に、決定または予測することができる。多くのがんおよび腫瘍タイプはcMETを発現することが知られており、その非限定的な例には、特定の膀胱がん、乳がん、結腸直腸がん、胃がん、肝細胞がん、HNSCC、下咽頭がん、肺がん、腺がん、卵巣がんおよび腎臓がん（たとえばAriyawutyakorn et al. (2016) Journal of Cancer 7(6):633-649を参照）が含まれ、および多くの癌タイプで発現されるcMETの量が知られている（たとえばArguello et al. (2013) Annual Meeting of Association for Molecular Pathology (AMP) Abstract No. 294319を参照）。加えて、腫瘍性細胞またはがん細胞は、好適な方法（たとえば全細胞ELISA、FAC、任意の好適なイムノアッセイ、その他）を用い、適切な抗cMET結合剤（たとえば抗体）を用いて、cMETの発現について迅速にアッセイすることができる。したがって、いくつかの実施形態では、がんを有するか、有する疑いのある対象を処置する方法は、本明細書に記載した治療有効量の結合剤－薬物複合体または本明細書に記載した結合剤－薬物複合体を含む医薬組成物を対象に投与することを含み、がんは検出可能なレベルのcMETを発現する。ある実施形態では、検出可能なレベルのcMETを発現するがんは、cMETを発現することが知られている、または報告されているがん、または（たとえばcMETを発現することが知られている別のがんと類似の遺伝子型または表現型を有することによって）cMETを発現する疑いのあるがんであってよい。いくつかの実施形態では、cMETを発現するがん、またはcMETを発現する疑いのあるがんは、cMETをコードするRNA転写物またはその一部を発現するがんである。いくつかの実施形態では、cMETを発現するがん、またはcMETを発現する疑いのあるがんは、細胞表面にcMETを発現するがんである。

【0179】

投与経路

組成物、医薬組成物または結合剤－薬物複合体を対象に投与する任意の好適な方法を用いることができる。本明細書に記載した本発明の方法による使用のための組成物の正確な製剤処方および投与経路は、患者の病状を考慮して医療従事者（たとえば医師）によって選択することができる（たとえば参照により全体として本明細書に組み込まれるFingl et al. 1975、「The Pharmacological Basis of Therapeutics」を参照）。本明細書に記載した医薬組成物または結合剤－薬物複合体の投与のため、任意の好適な投与経路を用いることができる。投与経路の非限定的な例には、局所または局所（たとえば経皮または皮膚（たとえば皮膚上もしくは表皮）、眼中または眼上、鼻内、経粘膜、耳中、耳の内側（たとえば鼓膜の後ろ））、腸内（たとえば胃腸管を経由する送達、たとえば経口（たとえば錠剤、カプセル、顆粒、液体、乳化、トローチ、またはそれらの組合せ）、舌下、経胃栄養チューブ、直腸、その他）、非経口投与（たとえば非経口、たとえば静脈内、動脈内、筋肉内、腹腔内、皮内、皮下、腔内、頭蓋内、関節内、関節スペース内、心筋内（心臓内）、空洞内注射、病巣内（皮膚病巣内）、骨内注入（骨髄内）、髄腔内（脊柱管内）、子宮内、腔内、膀胱内注入、硝子体内）、その他またはそれらの組合せが含まれる。

10

【0180】

いくつかの実施形態では、本明細書の組成物は対象に提供される。対象に提供される組成物は自己投与のため、または別人（たとえば医療従事者以外の者）によって対象に投与されるために提供されることがある。たとえば、本明細書に記載した組成物は、患者が本明細書に記載した組成物または処置を受けることを許可する臨床医によって書かれた指示書（たとえば処方箋）として提供され得る。別の例では、組成物は対象に提供され、対象は組成物を経口、静脈内またはたとえば吸入によって自己投与する。

20

【0181】

あるいは、全身的ではなくたとえば持続性薬剤または持続放出製剤を用いることを含めて、皮膚、粘膜または治療のための目的の領域への直接適用による局所での本発明の方法に従う使用のために組成物を投与してもよい。

【0182】

いくつかの実施形態では、結合剤－薬物複合体を含む医薬組成物は単独で（たとえば単一活性成分（A Iまたはたとえば単一活性医薬成分（A P I））として）投与することができる。他の実施形態では、結合剤－薬物複合体を含む医薬組成物は1つまたは複数の追加のA I／A P Iと組み合わせて、たとえば2つの異なった組成物として、または1つまたは複数の追加のA I／A P Iが医薬組成物中で結合剤－薬物複合体とともに混合されまたは製剤化される単一組成物として、投与することができる。

30

【0183】

ある実施形態では、c M E T結合剤－薬物複合体は細胞（たとえば哺乳動物細胞）に送達される。c M E T結合剤－薬物複合体は任意の好適な方法を用いて細胞に送達することができる。ある実施形態では、c M E T結合剤－薬物複合体を細胞に送達することは、哺乳動物細胞をc M E T結合剤－薬物複合体とin vitroまたはin vivoにて結合剤－薬物複合体が細胞に結合できる条件下で接触させることを含む。

【0184】

用量および治療有効量

いくつかの実施形態では、組成物中の結合剤－薬物複合体の量は治療有効量である。いくつかの実施形態では、結合剤－薬物複合体の治療有効量が対象に投与される。いくつかの実施形態では、組成物中の結合剤－薬物複合体の治療有効量は効果的な治療結果を得るために必要な量である。ある実施形態では、組成物（たとえば医薬組成物）中の結合剤－薬物複合体の量は、本明細書で意図するように、腫瘍性障害またはがんを予防し、処置し、その重篤度を低減し、その発症を遅らせ、および／またはその症状を緩和するために十分な量である。

40

【0185】

「治療有効量」は、効果的な治療結果を得るために十分な量および／または腫瘍性障害

50

またはがんを予防し、処置し、その重篤度を低減し、その発症を遅らせ、および／またはその症状を緩和するために十分な量である。ある実施形態では、「治療有効量」は、腫瘍またはがんの増殖を停止させ、および／またはその増殖を遅延させるために十分な量を意味する。ある実施形態では、「治療有効量」は、1つまたは複数の腫瘍細胞またはがん細胞の複製を阻害し、および／またはその死を誘起するために十分な量を意味する。治療有効量の決定は、特に本明細書に提供した詳細な開示を考慮すれば、十分に当業者の能力の範囲内である。

【0186】

ある実施形態では、治療有効量は、効果的な治療効果を提供するために十分に高い量であり、望ましくない副反応を最小化するのに十分に低い量である。したがって、ある実施形態では、結合剤－薬物複合体の治療有効量は、対象の年齢、体重、および一般症状、治療すべき病状の重篤度、ならびに投与される薬剤の特定の組合せによって多くの場合、対象ごとに変動し得る。したがって、いくつかの実施形態では、治療有効量は経験的に決定される。したがって、対象を処置するために用いられる結合剤－薬物複合体の治療有効量は、たとえば動物試験または臨床試験で効果的であると見出された量、医師の経験、および示唆された用量範囲または投薬ガイドラインに基づいて、当業者が決定することができる。

10

【0187】

ある実施形態では、結合剤－薬物複合体（たとえば医薬組成物中の結合剤）の量は、好適な治療有効量または用量で（たとえば部分的に特定の投与経路によることがある好適な容量および濃度で）投与される。ある実施形態の中では、結合剤－薬物複合体の治療有効量は、約0.01mg/kg（たとえば対象の体重1kgあたり）～500mg/kg、0.1mg/kg～500mg/kg、0.1mg/kg～400mg/kg、0.01mg/kg～300mg/kg、0.1mg/kg～300mg/kg、0.1mg/kg～200mg/kg、0.1mg/kg～150mg/kg、0.1mg/kg～100mg/kg、0.1mg/kg～75mg/kg、0.1mg/kg～50mg/kg、0.1mg/kg～25mg/kg、0.1mg/kg～10mg/kg、0.1mg/kg～5mg/kg、0.1mg/kg～1mg/kg、間の量およびそれらの組合せの1つまたは複数の用量から選択される。いくつかの態様では、結合剤－薬物複合体の治療有効量は約10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kg、1mg/kg、0.9mg/kg、0.8mg/kg、0.7mg/kg、0.6mg/kg、0.5mg/kg、0.4mg/kg、0.3mg/kg、0.2mg/kgおよび0.1mg/kg、間の量およびそれらの組合せの1つまたは複数の用量を含む。いくつかの実施形態では、結合剤－薬物複合体の治療有効量は約0.1mg/kg～100mg/kg、または約1mg/kg～約50mg/kgである。

20

30

【0188】

いくつかの実施形態では、治療有効量の結合剤－薬物複合体または結合剤－薬物複合体を含む医薬組成物を投与することは、効果的な治療結果を得るために必要な頻度または間隔で好適な用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、治療有効量の結合剤－薬物複合体または結合剤－薬物複合体を含む医薬組成物を投与することは、毎時、2時間ごと、4時間ごと、6時間ごと、1日3回、1日2回、1日1回、週6回、週5回、週4回、週3回、週2回、毎週、それらの組み合わせで、および／または規則的または不規則な間隔で、および／または単に医療従事者によって必要とされまたは推奨される頻度または間隔で、好適な用量を投与することを含む。

40

【0189】

キット

結合剤－薬物複合体の量または用量を含む医薬組成物は、所望であれば結合剤の1つまたは複数の用量を含み得るキット、パックまたは分注デバイスで提供され得る。いくつかの実施形態では、キットはパックおよび／または分注デバイスを含む。パックの非限定的

50

な例は、本明細書中に記載した結合剤－薬物複合体または組成物を含む金属、ガラスまたはプラスチック容器もしくはプリスターパックを含む。ある実施形態では、キットは注射器または吸入器等の分注デバイスを含む。パックまたは分注デバイスは投与のための説明書を伴ってもよい。パックまたは分注器は、医薬品の製造、使用または販売を規制する政府官庁によって規定された形態で容器に付随し、ヒトまたは獣医用投与のための薬剤の形態の官庁による承認を反映する注意書を伴ってもよい。そのような注意書は、たとえば処方薬として米国食品医薬品局によって承認されたラベル、または承認された製品添付文書であってよい。

【0190】

いくつかの実施形態では、キットまたはパックは、1日～1年、1日～180日、1日～120日、1日～90日、1日～60日、1日～30日、1時間～24時間、1時間～12時間、1時間～4時間、またはその間の時間で、患者を処置するために十分な量の結合剤－薬物複合体を含む。

【0191】

キットは、製品ラベルおよび／またはその中の成分の説明もしくは成分のインビトロ、インビボ、もしくはエクスピボの使用のための指示書を提供する1つもしくは複数の添付文書を含んでもよい。例示的な指示書には、診断法、処置プロトコルまたは治療計画の指示書が含まれる。ある実施形態では、キットは包装材料を含み、これはキットの成分を収容する物理的な構造を意味する。包装材料は成分を無菌に保つことができ、そのような目的に一般的に用いられる材料（たとえば紙、波形繊維、ガラス、プラスチック、箔、アンプル、バイアル、チューブ、その他）から作られてよい。製品ラベルまたは添付文書は「印刷物」、たとえば個別の、または成分、キットもしくは包装材料（たとえば箱）に貼付された、またはキット成分を含むアンプル、チューブもしくはバイアルに装着された紙もしくはボール紙を含む。ラベルまたは添付文書はさらに、コンピュータで読み取り可能な媒体、CDもしくはDVD-ROM/RAM、DVD、MP3等の光学ディスク、磁気テープまたはRAMおよびROMまたは磁気／光学保存媒体等のこれらの混成物等の電子保存媒体、FLASH媒体またはメモリー型カード等を含んでよい。製品ラベルまたは添付文書は、その中の1つまたは複数の成分の同定情報、用量、作用機序、薬物動態（PK）および薬力学（PD）を含む活性成分の臨床薬理学を含んでよい。製品ラベルまたは添付文書は、メーカー情報、ロット番号、製造場所、製造日を同定する情報、キット成分が用いられる適応病状、障害、疾患または症状に関する情報を含んでよい。製品ラベルまたは添付文書は、方法、処置プロトコルまたは治療計画において1つまたは複数のキット成分を用いるための医師または対象者のための指示書を含んでよい。指示書は、用量、頻度もしくは期間、および本明細書で説明した方法、処置プロトコルまたは治療計画のいずれかを実施するための指示書を含んでよい。したがって本発明のキットは、本明細書に述べた本発明の方法および使用のいずれかを実施するためのラベルまたは指示書をさらに含んでよい。製品ラベルまたは添付文書は、起こり得る副作用に関する情報および／または警告を含んでよい。

〔実施例〕

【0192】

実施例1－抗体の生成

cMETに対する抗体応答を誘起するため、図1および図2に示すようにcMET-FcまたはcMETペプチドでマウスを免疫した。いくつかの実施形態では、戦略領域に由来するペプチドを免疫のために選択した。ペプチド3の設計を着想させたMET上の構造ループの例を図3に示す。免疫されたマウスの脾臓を得て、脾臓細胞を好適な融合パートナーと融合させ、標準的なプロトコルでハイブリドーマを産生させた。ハイブリドーマクローンを単離し、ハイブリドーマ培地をMETへの結合および／またはフローサイトメトリーで測定したヒトがん細胞株上のcMETの内在化を誘起する能力について試験した（図4）。選択されたハイブリドーマ抗体を、METの分解を誘起する能力（図5）、またはERKのリン酸化を誘起する能力の欠如（図6）について選択した。リードハイブリド

ーマ F 6 B 1 P 3 D 1 2 は、2 0 1 9 年 3 月 2 0 日 に、アメリ カ 合衆 国 バージニア 州 2 0 1 1 0 - 2 2 0 9、マナサス、ユニヴァーシ ティ ・ ブルーバード 1 0 8 0 1 のアメリ カ ン タイ プ カル チャー コレ クシ ョ ン 特 許 微 生 物 寄 託 機 関 (A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n , P a t e n t D e p o s i t o r y) に 寄 託 さ れ た。寄 託 は、特 許 手 続 上 の 微 生 物 の 寄 託 の 国 際 的 承 認 に 関 す る ブ ダ ペ ス ト 条 約 お よ び そ の 規 則 (ブ ダ ペ ス ト 条 約) の も と で 行 わ れ た。A T C C 番 号 は ま だ 割 り 当 て ら れ て い な い。

【 0 1 9 3 】

理 想 的 な 抗 c M E T 抗 体 の 候 補 を 選 択 す る た め に 追 加 的 な ア ッ セ イ を 行 な っ た。た と え ば、抗 c M E T 抗 体 の 種 間 交 差 反 応 性 を、E L I S A で 測 定 し た 抗 体 の ヒ ト c M E T、サ ル c M E T (た と え ば マ カ カ ・ フ ァ シ ク ラ リ ス (M a c a c a f a s c i c u l a r i s)、す な わ ち シ ノ モ ル ガ ス ・ マ カ ク (C y n o m o l g u s M a c a q u e))、ラ ッ ト c M E T お よ び マ ウ ス c M E T へ の 結 合 能 力 を 測 定 す る こ と に よ っ て 試 験 し た (図 7 お よ び 表 1 1)。イ ン ビ ボ 半 減 期 お よ び そ の 他 の 薬 物 動 態 特 性 も 評 価 し た (デ ー タ は 示 し て い な い)。抗 体 薬 物 複 合 体 (A D C) の 有 効 性 お よ び 特 異 性 も、M M A F に 複 合 体 化 さ せ た 抗 c M E T 抗 体 を 用 い て、c M E T の 高 度、中 度 の 発 現 お よ び 非 発 現 の 細 胞 株 に つ い て 決 定 し た (図 9 お よ び 図 1 5、表 1 1 お よ び 表 1 2)。A D C の イ ン ビ ボ 効 果 を、M K N 4 5 キ セ ノ グ ラ フ ト モ デ ル を 用 い て 試 験 し た。

【表 1 1】

インビトロ 順位	抗体	平均細胞毒性 EC50, pM SNU16 細胞 (Met 中発現)	平均細胞毒性 EC50, pM SNU620 細胞 (Met 高発現)	Met 結合 KD (pM) SPR w/hMet-Fc	Met 分解 (pM) MSD	細胞増殖 (アゴニズム) ERK ホスホーアッセイ	交差反応性		
							NHP	ラット	マウス
	5D5			800		あり/強い	あり	なし	なし
	ABF46	450	67	700	10,000	無し	あり	なし	なし
1	F6B1P3D12	25	60	750	140	無し	あり	あり	なし
2	F6BP2D4	60	33	480	3,000	無し	あり	なし	なし
2	F6B1P1E2	70	55	890	1,920	非常に低い	あり	低	なし
3	F6AP12F12	180	97	110	450	無し	試験せず	試験せず	試験せず
3	F5P5B9	20	3	80	255	非常に低い	あり	なし	なし
3	F6AP8E2	351	102	160	7,000	高濃度で非常に低い	あり	なし	なし
3	F6BP1H5/H6	80	63	340	3,000	高濃度で可能性あり	あり	なし	なし

S P R = 表面 プラスモン共鳴

10

20

30

40

50

M S D = メソスケールディスカバリープラットフォーム

N H P = 非ヒト霊長類（即ちシノモルガス・マカク）

5 D 5 = アゴニスト陽性対照

A B F 4 6 = M E T A D C、陽性対照

【0194】

実施例 2－選択したヒト化モノクローナル結合剤の特性のまとめ

マウスモノクローナル抗体 P 3 D 1 2 の重鎖 C D R および軽鎖 C D R を含むヒト化してアイソタイプスイッチされたモノクローナル結合剤を生成させた。16 種の異なった重鎖（H C）および軽鎖（L C）の組合せを、P B S への溶解性、ヒト c M E T への結合、ラット c M E T への結合、表面プラスモン共鳴（S P R）で測定したヒトおよびラットの c M E T への結合親和性、メソスケールディスカバリープラットフォーム（M S D）として報告されたアゴニスト活性の存在および c M E T の分解について試験した。結果を以下の表 1 2 にまとめる。

【0195】

【表 1 2】

ラング	HC	配列 番号	LC	配列 番号	Clone	PBSへの 溶解性	ELISA hMET vs	ELISA rMET vs	vc-MMAF ADC IC50, pM, SNU-16 (n=1)	SPR kD, nM, hMET-Fc	SPR kD nM, rMET-Fc	pERK (METアゴニス ト活性, MSD)	MET分解が 経口投与と同等? (MSD)
	VH-abb/sdr	107	VL-abb/sdr	48	G2aka		0.9	1.1	352	0.9	26	陰性	yes
			VL-fra	47	G2akf		1.0	0.5	368	0.6	23	陰性	yes
			VL-ven	46	G2akv	不溶	1.6	1.3				陰性	yes
			VL-cdr	49	G2akc		1.3	0.7	382	0.7	38	陰性	yes
	VH-fra	105	VL-abb/sdr	48	G2fka		1.8	3.8				陰性	yes
3			VL-fra	47	G2fkf		1.7	1.4	266	0.4	30	陰性	yes
			VL-ven	46	G2fkv	不溶	1.7	1.2				陰性	yes
			VL-cdr	49	G2fkf		1.7	2.3				陰性	yes
	VH-ven	106	VL-abb/sdr	48	G2vka		0.9	2.7				陰性	yes
2			VL-fra	47	G2vkf		1.1	1.0	380	0.3	8	陰性	yes
			VL-ven	46	G2vkv	不溶	1.6	1.6				陰性	yes
			VL-cdr	49	G2vkc		1.1	1.9				陰性	yes
4	VH-cdr	108	VL-abb/sdr	48	G2cka		1.3	2.7	238	0.4	29	陰性	yes
1			VL-fra	47	G2ckf		0.7	0.9	302	0.3	7	陰性	yes
			VL-ven	46	G2ckv	不溶	1.1	1.0				陰性	yes
			VL-cdr	49	G2ckc		1.0	2.0	169	0.9	31	陰性	yes
	キメラ P3D12	104		45					249	0.7	30		
	マウス P3D12	98		41					42	0.9	16		

10

20

30

40

50

本発明者らは、配列番号47のヒト化軽鎖可変領域および配列番号108のヒト化重鎖可変領域を含むIgG2アイソタイプのヒト化モノクローナル抗体を、代表的なヒト化抗cMET抗体として選択し、hD12と称し、以下の実施例にて抗体を用いた。

【0196】

実施例3ー結合アッセイ

配列番号108のヒト化重鎖および配列番号47のヒト化軽鎖配列を含む代表的なヒト化抗cMET抗体であるhD12は、5つの代表的なペイロード（すなわち化学式II、IV、VI、VIIおよびXIのペイロード）に確率的に複合体化される。各ペイロードはピロロベンゾジアゼピン毒素と連結基を含む。この実施例では、ペイロードの連結基をhD12抗体にジスルフィド化学を用いて確率的に連結した。簡潔には、hD12抗体をまずグルタチオン（GSH）を用いて還元し、未反応のGSHを除去し、反応性マレイミド基を含む連結基を抗体上の1つまたは複数の遊離スルフヒドリル基（すなわちチオール基）と反応させる。このアプローチを用い、1つまたは複数のペイロードを、システイン残基によって占められたランダムな位置でhD12抗体に共有結合で連結されている。したがってこの方法は確率的な複合体化と称する。

【0197】

得られたhD12抗体薬物複合体（すなわちhD12-II（化学式IIのペイロードに取着られた抗体hD12））；hD12-IV（化学式IVのペイロードに取着られた抗体hD12）；hD12-VI（化学式VIのペイロードに取着られた抗体hD12）；hD12-VII（化学式VIIのペイロードに取着られた抗体hD12）；およびhD12-XI（化学式XIのペイロードに取着られた抗体hD12）をELISAによってプレート結合cMETへの結合についてアッセイした。5つの各ペイロードに複合体化させたデノスマブを、陰性対照として用いた。これは、モノクローナル抗体デノスマブが特異的にRANKリガンド（RANKL）に結合し、cMETには結合しないためである。ELISA結合試験の結果を図17Aおよび17Bに示す。5種のhD12薬物複合体間に、cMETに対する結合に有意差はなかった。予想されたように、デノスマブのアイソタイプ対照複合体はcMETに結合しなかった。

【0198】

材料：ハイバインディング384ウェルプレート（サーモフィッシャー#：8755）、ブロッキングバッファー（SkyTek Lab#AAA500）、組換えヒトc-Met-10X His（1.04mg/ml、社内製、ロット#140924TA）、HRP複合体化坑ヒトカップ軽鎖（1mg/ml、Brthyl#AP80-219P）、水での1×KPL洗浄バッファー（20×、200ml、KPL#50-63-01）、TMB（100ml、KPL#53-00-00）、および停止液（セルシグナリング#7002L）。

【0199】

実施例4ー細胞毒性アッセイ

実施例3の5つのhD12抗体薬物複合体の細胞毒性を、異なるレベルで表面cMETを発現する細胞に対して試験した。5つの代表的なペイロードのそれぞれに複合体化させたデノスマブを陰性対照として用いた（データは示さず）。デノスマブ複合体は、cMET発現細胞株での細胞致死作用をまったくまたはほとんど示さなかった。

【0200】

細胞毒性アッセイの結果を図18A～18Eおよび図19A～19Fに示す。試験した細胞株はSNU-1（ATCC、cMETの発現なし、図18A）、SNU-16（ATCC、cMETの中程度の発現、図18B）、SNU-620（KCLB、cMET高発現、図18C）、MKN-45（DSMZ、cMET高発現、図18D）、H441（ATCC、cMETの中程度の発現、図19A）、H1373（ATCC、cMETの中程度の発現、図19B）、H1975（ATCC、cMETの中程度の発現、図19C）、SNU-5（ATCC、cMET高発現、図19D）、およびH1573（ATCC、c

METの中程度の発現、図19E)であった。hD12-I IおよびhD12-V I Iは、いくつかの培地およびcMETを高発現する細胞株においてわずかに高い効果を示した。

【0201】

実施例5－異種移植研究

2つのin vivo異種移植研究を行い、実施例3の5つのhD12抗体薬物複合体（すなわち、hD12-V I、hD12-I I、hD12-V I IおよびhD12-X I）の効果を評価した。図20～22に示したD12-vc-X I、hD12-vc-V I、hD12-vc-I I、hD12-vc-V I IおよびhD12-vc-I Vという用語は、それぞれhD12-X I、hD12-V I、hD12-I I、hD12-V I IおよびhD12-I Vと同義的に用いられることに留意されたい。また、デノスマブ＊（たとえばデノスマブ-I I）は、図に示したデノスマブ-vc＊（たとえばデノスマブ-vc-I I）という用語と同義的に用いられる。「vc」という指定は重要な意味を与えない。「デノスマブ-I I」という用語は、化学式I Iのペイロードに装着されたモノクローナル抗体「デノスマブ」を示す。

10

【0202】

第1のH1975 in vivo異種移植研究が設計され、各グループに10匹のマウス(Nu/nu: (Charles River))を用いた。各マウスにH1975細胞を接種し、次いで、指定された抗体薬物複合体の1つでまたはPBSで処理した。1日目に、抗体薬物複合体を尾静脈i.v.注射により1回投与として投与した。2種の用量(0.5mg/kgおよび0.125mg/kg)の各抗体薬物複合体を試験した。デノスマブ-I Iを陰性対照として用いた。腫瘍体積および重量を週に3回測定した。H1975 in vivo異種移植研究の結果を図20A～20Gに示す。

20

【0203】

動物はすべて抗体薬物複合体を十分に許容した。どのグループでも有意な体重減少は観察されなかった（たとえば図20Bを参照）。hD12-V I Iは、試験したすべてのADCのうち両方の用量濃度にて最も高い効果を示した（図20Aおよび20F）。hD12-I IおよびhD12-V Iは、hD12-V I Iよりも低用量グループ(0.125mg/kg)でわずかに効果が小さかった（図20Eおよび20D）。hD12-3315およびhD12-X Iは低用量グループで最も効果が小さかった（図20Gおよび20C）。アイソタイプ対照デノスマブ-I Iは0.5mg/kg用量である程度効果を示した。H1975にはRANK-RANKLシグナル伝達経路を有するため(Journal of Thoracic Oncol., 2014, 9(3) 345-54)、デノスマブは腫瘍増殖阻害を示した可能性がある。要約すると、5つのhD12薬物複合体はすべてH1975異種移植に対して有意な効果を示した。hD12-V I I、hD12-I IおよびhD12-V Iが最も高い治療効果を示し、V I Iはその他の2つをわずかに優れていた。

30

【0204】

第2のH1373 in vivo異種移植研究は、実施例3の5つのhD12抗体薬物複合体（すなわちhD12-V I、hD12-I I、hD12-V I IおよびhD12-X I）の効果をさらに評価するために実施した。H1373 in vivo異種移植研究が設計され、各グループに10匹のマウス(Nu/nu: (Charles River))を用いた。各マウスにH1373細胞を接種し、次いで、指定された抗体薬物複合体の1つでまたはPBSで処理した。抗体薬物複合体は7日目に尾静脈i.v.注射により1回投与として投与した。2種の用量(0.5mg/kgおよび0.125mg/kg)の各抗体薬物複合体を試験した。デノスマブ-I Iは陰性対照として用いた。腫瘍体積および重量を週に3回測定した。H1373 in vivo異種移植研究の結果を図21A～213および図22に示す。

40

【0205】

動物はすべて抗体薬物複合体を十分に許容した。どのグループでも有意な体重減少は観察されなかった（たとえば図22を参照）。第1のH1975異種移植モデルで見られた

50

ように、h D 1 2 - V I I は h D 1 2 - I I および h D 1 2 - V I (図 2 1 C および 2 1 B) と比較して、低用量グループ (0. 1 2 5 m g / k g) でわずかに優れた有効性を示した (図 2 1 D)。以前に観察されたように (図 2 1 E)、h D 1 2 - I V は最も有効性の低い薬物であった。

【0206】

実施例 6 - マウスでの PK 研究

実施例 3 の h D 1 2 薬物複合体 (すなわち h D 1 2 - V I、h D 1 2 - I I、h D 1 2 - V I I および h D 1 2 - X I) の循環半減期を、7 2 時間にわたって 3 匹のマウスの 5 つのグループで評価した。各グループのマウスに 1 m g / k g の h D 1 2 - I I、h D 1 2 - I V、h D 1 2 - V I、h D 1 2 - X I またはデノスマブ - I I のいずれかの 1 回静脈内注射した。0. 5 時間、2 時間、6 時間、2 4 時間、4 8 時間、7 2 時間後に採血した。血清試料を調製し、指定された抗体薬物複合体のそれぞれの量について分析した (図 2 3)。血清抗体を抗 F c 特異的抗体で捕捉し、ヤギ抗ヒト I g G (H + L) - H R P を用いて検出した。

【0207】

実施例 7 - ペイロードの h D 1 2 への部位特異的複合体化

h D 1 2 のコード領域を様々な部位で変異させ、I g G 2 抗体の重鎖定常領域にシステイン残基を導入して、h D 1 2 変異抗体である h D 1 2 - T 2 8 9 C (2 8 9 位の T がシステインに変異)、h D 1 2 - V 4 4 2 C (4 4 2 位の V がシステインに変異)、h D 1 2 - V 2 8 2 C (2 8 2 位の V がシステインに変異)、h D 1 2 - S 1 1 9 C (1 1 9 位の S がシステインに変異) を得た。変異点は h D 1 2 の定常領域にあり、Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969). PMID: 5257969 に記載された EU 番号付け方法に従って定義される。化学式 I I のペイロードを、マレイミド化学を用いて変異したシステイン残基のそれぞれに部位特異的に複合体化させた。複合体化の質および程度を、総回収率、凝集体含有量、単量体含有量および薬物 - 抗体比 (D A R) の測定によって評価した。最適な複合体化が、h D 1 2 複合体である h D 1 2 - T 2 8 9 C - I I、h D 1 2 - V 4 4 2 C - I I および h D 1 2 - V 2 8 2 C - I I について観察された。これら 3 つの部位特異的複合体の c M E T に対する相対的結合親和性を、実施例 3 に記載した c M E T 結合 E L I S A を用い、確率的に複合体化させた h D 1 2 - I I と比較した。c M E T 結合アッセイの結果を図 2 4 A および 2 4 B に示す。部位特異的化合物はすべて類似の親和性をもってヒト c M E T に首尾よく結合した。部位特異的複合体は、確率的に結合させた h D 1 2 - I I と類似のまたはわずかに良好な親和性をもって結合した。

【0208】

実施例 8 - c M E T 発現細胞株への部位特異的複合体化の細胞毒性評価。

本発明者らは、部位特異的に結合させた I I 複合体 (すなわち h D 1 2 - T 2 8 9 C - I I、h D 1 2 - V 4 4 2 C - I I および h D 1 2 - V 2 8 2 C - I I) の細胞毒性効力を、ベンチマークとして確率的に結合した h D 1 2 - I I と比較して、8 つの c M E T 発現細胞株 S N U - 1 6 (図 2 5 B)、S N U - 6 2 0 (図 2 5 C)、M K N - 4 5 (図 2 5 D)、N C I - N 8 7 (図 2 5 E)、S N U - 5 (図 2 6 A)、H 1 3 7 3 (図 2 7 A)、H 1 5 7 3 (図 2 7 B)、H 1 9 7 5 (図 2 7 C) および c M E T 陰性細胞株 S N U - 1 (図 2 5 A) に対し、アッセイした。細胞毒性の結果を図 2 5 F、2 6 B および 2 7 E にまとめる。投与した用量を図 2 5 G、2 6 C および 2 7 D に示す。

【0209】

部位特異的に複合体化させた抗体はすべて、M K N - 4 5、S N U - 6 2 0、S N U - 5、S N U - 1 6、N C I - N 8 7 および H 1 9 7 5 細胞株に対して確率的に結合させた h D 1 2 - I I 対照に匹敵する細胞毒性を示した。H 1 3 7 3 および H 1 5 7 3 細胞株についての部位特異的複合体の E C 5 0 は、シグモイド曲線とは大幅に異なる複雑な死滅曲線のために決定できなかった。殺傷曲線の複雑な形状は、部位特異的複合体でより顕著であり、重複実験で再現可能であった。全体として、部位特異的 h D 1 2 複合体の細胞毒性の効力は、確率的に複合体化させた h D 1 2 - I I よりも優れているようであった。

【0210】

実施例9－部位特異的複合体の *in vivo* 異種移植分析

部位特異的複合体である $hD12-T289C-II$ 、 $hD12-V442C-II$ および $hD12-V282C-II$ ならびに確率的に結合させた $hD12-II$ を、 $H1975$ (cMET の中程度の発現) 異種移植腫瘍モデルにて評価した。デノスマブ II を陰性対照として用いた。各マウスに $H1975$ 細胞 (0 日目) を接種し、次いで、指定された抗体薬物複合体の 1 つまたは PBS で処理した。抗体薬物複合体を、腫瘍細胞接種後 14 日目に 1 回投与として尾静脈 *i.v.* 注射により投与した。各抗体薬物複合体の 2 種の用量 (0.5 mg/kg および 0.125 mg/kg) を試験した。10 匹のマウスを各処置について試験した。腫瘍の体積および重量を週に 3 回測定した。 $H1975$ *in vivo* 異種移植研究の結果を図 28A～28C に示す。

10

【0211】

部位特異的 ADC を用いたすべての高用量グループおよび確率的に結合させた II (0.5 mg/kg) は、 $H1975$ モデルにて高い有効性を示した。腫瘍は完全に退行した (図 28A～28C)。低用量グループ (0.125 mg/kg) は $hD12-II$ (確率的) および $hD12-T289C-II$ で腫瘍の退行を示し、 $hD12-V442C-II$ が最も効果的でした。 $hD12-V282C-II$ は最も効果的ではなかった。デノスマブ対照は高用量で緩やかな効果を示しました。これは、確率的に複合体化させた ADC を用いて実施した前の $H1975$ モデルでも見られた。投与された試験品はすべて十分に許容され、有意な体重減少は観察されなかった (図 29)。

20

【0212】

実施例10－ $hD12$ 部位特異的複合体を用いたラットにおける薬物動態 (総抗体検出)

部位特異的 $hD12$ 複合体である $hD12-V442C-II$ 、 $hD12-V282C-II$ および $hD12-T289C-II$ の循環半減期を 21 日間ラットにて評価した。各グループのラット (3 ラット/グループ) に 1 mg/kg の指定された抗体薬物複合体を 1 回静脈内注射した (図 30)。注射後 0.5 時間、2 時間、6 時間、24 時間、48 時間、72 時間、168 時間、312 時間および 480 時間に採血した。血清試料中の抗体レベルを、キャプチャー抗体 (抗 Fc 特異的) およびヤギ抗ヒト IgG ($H+L$) - HRP 検出抗体を用いた $PK-ELISA$ にて分析した。その結果を図 31 にまとめた。部位特異的複合体の薬物動態 (PK) パラメータを、 $WinNonlin$ ソフトウェアを用いて決定した。3 つの部位特異的複合体はすべて同様の形状の濃度-時間曲線を示した。算出された半減期は 12～18 日であった。変異体を、総抗体薬物動態データのみに基づいて互いに区別することはできなかった。この実験結果に基づけば、 $hD12-V442C-II$ 、 $hD12-V282C-II$ および $hD12-T289C-II$ 間に薬物動態の有意差はなかった。

30

【0213】

実施例11－非ヒト霊長類の許容度

確率的に結合させた $hD12-II$ および部位特異的変異体である $hD12-V282C-II$ および $hD12-T289C-II$ を、非ヒト霊長類における許容度について最大量 1 mg/kg まで試験した。概して、すべての抗体薬物複合体は十分に許容された。試験終了 (21 日目) までに重度の体重減少は観察されなかった。

40

【0214】

実施例12－ PDX モデル、方法および結果

患者由来の異種移植 (PDX) は癌のモデルであり、患者の腫瘍由来の組織または細胞が免疫不全マウスに移植される。 PDX モデルは、がんの進行および処置の研究のために、がんの自然な増殖に似た環境を作り出すために用いられることが多い。 $Multiple Crown Bio HuPrime$ (登録商標) 胃、結腸直腸、頭頸部 ($H\&N$) PDX モデルを実施して、 $hD12-T289C-II$ の有効性を評価した。 PDX モデルは *c-Met* 発現 (低～高) の範囲で選択した。

【0215】

50

簡潔には、14～15週齢の雌BALB/cヌードマウスの右側腹部に、腫瘍形成のためにヒトの原発腫瘍断片（胃、結腸直腸またはH&Nがん、サイズ2～3mm）を皮下接種した。腫瘍サイズが平均体積 200mm^3 に達したときに、マウスを無作為化してグループ分けした（6つの治療グループ）。各グループは10匹のマウスからなる。試験品を0日目に腫瘍を有するマウスに1回投与として静脈内投与した。必要に応じて2回目の用量を投与した。化学式IIのペイロードにリンクした非標的性の抗体（Secukinumab）（Secukinumab-III）を、 1mg/kg の用量で投与し、hD12-T289C-IIIを、図34で注記した場合を除き、 1.0mg/kg 、 0.5mg/kg 、 0.25mg/kg および 0.125mg/kg の1回用量として投与した。媒体対照グループには、 $1\times\text{PBS}$ の1回静脈内用量を投与した。

10

【0216】

無作為化後、腫瘍サイズを、カリスパを用いて週2回2次元にて測定した。腫瘍体積（ mm^3 ）は $TV = 0.5a \times b^2$ により算出した。aおよびbは腫瘍表面の長径および短径である。体重を測定し、腫瘍測定値とともに更新した。

【0217】

次に、腫瘍サイズを用い、以下の式に従ってTGI%を算出した： $TGI\% = \left(\left(\text{平均値}(C) - \text{平均値}(C_0) \right) - \left(\text{平均値}(T) - \text{平均値}(T_0) \right) \right) / \left(\text{平均値}(C) - \text{平均値}(C_0) \right) \times 100\%$ [Tは現在のグループ値であり；T₀は現在のグループの初期値であり；Cは対照グループの値であり；C₀は対照グループの初期値である]。

【0218】

PDX研究の結果を図1および2に示す。各データポイントは、単一のPDX腫瘍を接種した10匹のマウスからなる1つのPDXモデルグループを表す。TGI%は上記したように算出した。マウスを陰性対照として溶媒（PBS）またはSecukinumab-IIIを用いて処理した。腫瘍体積（y軸）は経時的に決定した（すなわち日数、x軸；図33C）。図32および33の結果は、hD12-T289C-IIIが胃がん、結腸直腸がんまたはH&Nがん由来するヒト腫瘍組織の増殖を用量依存的に効果的に阻害することを示す。

20

【0219】

実施例13

ヒト対象は肝および肺に存在する2cm以上の多数転移癌を有している。癌細胞がその細胞表面上にcMETを発現しているかを判断するため生検を行なう。細胞表面のcMET発現の存在は生検の結果で確認される。

30

【0220】

ヒトcMETの細胞外ドメインに特異的に結合する本明細書に記載した結合剤-薬物複合体をヒト対象に投与する。結合剤はヒトカップおよびIgG2重鎖定常領域、配列番号41の軽鎖可変領域、および配列番号98の重鎖可変領域を含んでもよい。結合剤-薬物複合体は用量 15mg/kg とし、1時間かけて100mlの容量を1日1回で6週間、静脈内投与することができる。フォローアップ生検および超音波により、腫瘍の存在、サイズおよび生存率を判断する。2週間の処置の後、腫瘍サイズおよび数は実質的に低下する。6週間の処置の後、対象者は寛解していると判断される。

40

【0221】

実施例14

ヒト対象は直径2cmの固形腫瘍を有する結腸直腸腺癌を示す。ヒト対象は本明細書に記載した結合剤-薬物複合体が投与される。結合剤-薬物複合体の結合剤は、配列番号47の軽鎖可変領域および配列番号108のヒト化重鎖可変領域を含むIgG2アイソタイプのヒト化モノクローナル抗体である。結合剤-薬物複合体の薬物は化学式IIの構造を有するペイロードである。結合剤は、用量 1mg/kg とし、30分間かけて50mlの容量を1日1回で6週間、静脈内投与する。2週間の処置の後、腫瘍サイズは50%以上減少する。6週間の処置の後、対象者は寛解していると判断される。

【0222】

50

実施例 15 - cMET 配列

配列番号 109 (ヒト cMET - UniProtKB - P08581 (MET__HUMAN)) * 残基 E168 および N375 を太字で下線を付している

MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFCPCQDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDTYYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPHNHTADIQSEVHCIF
SPQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRR
LKETKDGMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTQVQRETLD AQT
FHTRIIRFCSINSGLHSEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAYVSKPGAQL
ARQIGASLND DILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKYVNDFFNKIVNKNNV
RCLQHFYGPNHEHC FNRTLRLNSSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEV
LLTSISTFIKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLD SHPVSPEVIVEH
TLNQNGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRS
EECLSGTWTQQICLPAIYKVFPNSAPLEGGTRLTICGWDFGFRRNNKFDLKKTRV

10

LLGNESCTLT LSESTMNTLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPV
ITSISPKYGP MAGGTLLTLTGNYLNSGNSRHHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQ
TISTEFAVKLKIDLANRETSIFS YREDPIVY EIHPTKSFISGGSTITGVGKNLNSVSV
PRMVINVHEAGRNF TVACQHRSNSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDGIL
SKYFDLIYVHN PVFKPF EK PVMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGNKS
CENIHLHSEAVLCTVPNDLLKL NSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFTGLIA
GVVSISTALLLLLGFFLWLKKRKQIKDLGSELVRYDARVHTPHLDRLVSARSVSP
TTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQNGSCRQVQYPLTDMSPILTSGDSDISSPLL
QNTVHIDLSALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTL LDND
GKKIHC AVKSLNRITDIGEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGSP LVVLP
YMKHGD LRLNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDLAARNC
MLDEKFTVKVADFG LARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALES LQTQKFT
TKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITVYLLQGRRL LQPEYCPDPLYE
VMLKCWHPKAEMRPSFSELVSRISAIFSTFGEHYVHV NATYVNVKCVAPYPSLL
SSEDNADDEV DTRPASFWETS

20

30

【0223】

40

配列番号 110 (ラット cMET - UniProtKB - P97523 (MET__RAT))

MKAPTALAPGILLLLLTLAQRSHGECKEALVKSEMNVMKYQLPNFTAETPIHN
VVLPGHHIYLGATNYIYVLNDKDLQKVSEFKTGPPVEHPDCFCQDCSSKANVS
GGVWKDNVNMALLVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVLPPDNAADIQSEVHC
MFSPLAEEESGQCPDCVVSALGAKVLLSEKDRFINFFVGNTINSSYPDPYSLHSIS
VRRKLTQDGFKFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKIYHAFESNHFIYFLTQKETLDA
QTFHTRIIRFCSVDSGLHSYMEMPLECILTEKRRKRSTREEVFNILQAAYVSKPG
ANLAKQIGASPYDDILYGVFAQSKPDSAEPMNRSVCAFPKIYVNDFFNKIVNK
NNVRCLQHIFYGPNHEHCFNRLLRNSSGCEVRSDEYRTEFTTALQRVDLFMGR
LNHVLLTSISTFIKGLTIANLGTSEGRFMQVVLSTAHFTPHVNFLLDSYPVSPE
VIVEHPSNQNGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCGHFQSCSQCLSPPYFIQCGWCHNR
CVHSNECPSGTWTQEICLPAVYKVFPTSAPLEGGTMLTICGWDFGFKKNNKFDL
RKTKVLLGNESCTLTLESTTNTLKCTVGPAMSEHFNVSVIVSNSRETTQYSAFS
YVDPVITSISPRYGPHAGGTLLTLTGKYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSDSILEC
YTPGHTVSAEFPVKLKIDLADRVTSFSYREDPVVSEIHPTKSFISGGSTITGIGKN
LNSVSTPKLVIEVHDVGVNYTVACQHRSSSEIICCTTPSLRQLDLQLPLKTKAFFL
LDGILSKHFDLTYVHDPMFKPFKEKPMISMGNENVVEIKGDDIDPEAVKGEVLK
VGNKSCENLHWHSEALLCTVPSDLLKLNGGELNIEWKQAVSSTVLGKVIVQPD
QNFAGLIIGAVSISVVLLVSGLFLWLRKRKHKDLGSELVRYDARVHTPHLDRLV
SARSVSPTTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQNGACRQVQYLLTDLSPILTSGD

10

20

SDISSPLLQNTVHIDLSALNPELVQAVPHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHG
TLLDSDGKKIHCAYKSLNRITDIEEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGS
PLVVLPMKHHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLVSKKFVHRDL
AARNCMLDEKFTVKVADFGFLARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESQ
TQKFTTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITIYLLQGRRLQPEYCPD
ALYEVMLKCVHWPKAEMRPSVSELVSRISIFSTFIGEHYVHVNATYVNVKCVAP
YPSLLPSQDNIDGEANT

30

【 0 2 2 4 】

配列番号 1 1 1 (マウス cMET - UniProtKB - P16056 (MET__MOUSE))

40

MKAPTVLAPGILVLLLSLVQRSHGECKEALVKSEMNVMKYQLPNFTAETPIQN
VVLHGHHIYLGATNYIYVLNDKDLQKVSEFKTGPVLEHPDCLPCRDCSSKANSS
GGVWKDNINMALLVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVLPPDNSADIQSEVHC
MFSPEEESGQCPDCVVSALGAKVLLSEKDRFINFFVGNTINSSYPPGYSLHSISVR
RLKETQDGFKFLTDQSYIDVLPEFLDSYPIKYIHAFESNHFIYFLTQKETLDAQT
FHTRHIRFCSVDSGLHSYMEMPLECILTEKRRKRSTREEVFNILQAAYVSKPGAN
LAKQIGASPSDDILFGVFAQSKPDSAEPVNRSACAFPIKYVNDFFNKIVNKNNV
RCLQHFYGPNHEHCFNRTLLRNSSGCEARSDEYRTEFTTALQRVDLFMGRLNQ
VLLTSISTFIKGLTIANLGTSEGRFMQVVLSRTAHLTPHVNFLLDShpvsPEVIVE
HPSNQNGYTLVVVTGKKITKIPLNGLGCGHFQSCSQCLSAPYFIQCGWCHNQCVR
FDECPSGTWTQEICLPAVYKVFPTSAPLEGGTVLTICGWDFGFRKNNKFDLRKT
KVLLGNESCTLTLESTTNTLTKCTVGPAMSEHFNVSVIISNSRETTQYSAFSYVDP
VITSISPRYGPQAGGTLTLTGKYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSDSILECYTPAQ
TTSDEFPVKLKIDLANRETSSFSYREDPVVYIEHPTKSFISGGSTITGIGKTLNSVS
LPKLVIDVHEVGVNYTVACQHRSNSEIICCTTPSLKQLGLQLPLKTKAFFLLDGIL
SKHFDLTYVHNPFEPFEKPMISMGNENVVEIKGNNIDPEAVKGEVLKVGNQS
CESLHWHSGAVLCTVPSDLLKLNSSELNIEWKQAVSSTVLGKVIVQPDQNFAGLII
GAVSISVVVLLLSGLFLWMRKRKHKDLGSELVRYDARVHTPHLDRLVSARSVSP
TTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQNGACRQVQYPLIDLSPILTSGDSDISSPLL
QNTVHIDLSALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTLLDND
GKKIHCAVKSLNRITDIEEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGSPLVVLP
YMKHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDLAARNC
MLDEKFTVKVADFGGLARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESQTQKFT
TKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITIYLLQGRLLQPEYCPDALYEV
MLKCWHPKAEMRPSFSELVSRISIFSTFIGEHYVHV NATYVNVKCVAPYPSLLP
SQDNIDGEGNT

10

20

30

【 0 2 2 5 】

配列番号 1 1 2 (イヌ c M E T)

MKAPAVLAPGILVLLFTLVQKSYGECKEALVKSEMNVMKYQLPNFTAETPIQN
VVLHKHHIYLGAVNYIYVLNDKDLQKVAEYKTGPVLEHPDCSPCQDCSHKANL
SGGVWEDNINMALLVDITYDDQLISCGSVHRGTCQRHILPPSNIADIQSEVHCM
YSSQADEEPSQCPDCVVSALGTKVLISEKDRFINFFVGNTINSSDHPDHSLSISV
RRLKETQDGFKFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNHFIYFLTVQRETLDA
QTFHTRIIRFCSVDSGLHSYMEMPLECILTEKRRKRSTREEVFNILQAAYVSKPG
AHLAKQIGANLNDDILYGVFAQSKPDSAEPMNRSVCAFFIKYVNEFFNKIVNK
NNVRCLQHFYGPNEHCNRTLLRNSSGCEARNDEYRTEFTTALQRVDLFMGQ
FNQVLLTSISTFIKGLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGLSTPHVNFRLDSHPVSPE
AIVEHPLNQNGYTLVVTGKKITRIPLNGLGCEHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHD
RCVHLEECPTGAWTQEVCLPAIYEVFPTSAPLEGGTVLTVCGWDFGFRRNNKFD
LKKTKVFLGNESCTLTSESTTNMLKCTVGPAVNEHFNISIIISNGRGTAQYSTFS
YVDPIITSISPSYGPKNGGTLLTLTGKYLNSGNSRHISMGGKTCTLKSVSDSILEC
YTPAQATATEFPIKLIKIDLANREMNSFSYQEDPIVYAIHPTKSFISGGSTITAVGKN
LNSVSVLRMVIDVHETRRNFTVACQHRSNSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFF
MLDGIHSKYFDLIYVHNPVFKPFKPVMSIGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLK
VGNKSCETIYSDSKAVLCKVPNDLLKLNNELNIEWKQAVSSTVLGKVIVQPDQN
FTGLIAGVISISTIVLLLLGLFLWLKRKKQIKDLGSELVRYDARVHTPHLDRLVSA
RSVSPTTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQNGSCRQVQYPLTDLSPMLTSGDS
DISSPLLQNTVHIDLSALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGT
LLDNDDKKIHCAVKSLNRITDIGEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGS
PLVVLPMYKHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDL
AARNCMLDEKFTVKVADFGGLARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESQ
TQKFTTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITVYLLQGRRLQPEYCP
DPLYEVMLKCWHPRAELRPSFSELVSRISAIFSTFIGEHYVHV NATYVNVKCVAP
YPSLLSSQDNIDGEGDT

10

20

30

【 0 2 2 6 】

配列番号 1 1 3 (マカカ・ムラッタ (Macaca mulatta)、リーサス c M E
T-N C B I リファレンスシーケンス: N P _ 0 0 1 1 6 2 1 0 0 . 1)

MKAPAVLVPILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVMKYQLPNFTAETAION
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPQDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHHTADIQSEVHCIF
SPQIEEPNQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPHHPLHSISVRR
LKETKDGMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYIHAFESNNFIYFLTVQRETLNAQTF
HTRIIRFCSLNSGLHSYMEMPLECILTEKRRKRSTKKEVFNILQAAYVSKPGAQL

40

ARQIGASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKIYVNDFFNKIVNKNNV
RCLQHFYGPNEHEHCFNRTLRLNSSGCEARRDEYRAEFTTALQRVDLFMGQFSE
VLLTSISTFVKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSDHPVSPEVIV
EHPLNQNGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKC
VRSEECPSGTWTQQICLPAIYKVFPTSAPLEGGTRLTICGWDFGFRRNNKFDLKK
TRVLLGNESCTLTILSESTMNTLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYV
DPIITSISPKYGPMAAGGTLTLTGNYLNSGNSRHRISIGGKTCTLKSVSNSILECYTP
AQTISTEFAVKLKIDLANRETSIFS YREDPIVYEIHPTKSFISGGSTITGVGKNLHSV
SVPRMVINVHEAGRNFTVACQHRSNSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDG
ILSKYFDLIYVHNPVFKPFKPVMMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGN
KSCENIHLHSEAVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFTGL
IAGVVSISIALLLLLLGLFLWLKRRKQIKDLGSELVRYDARVHTPHLDRLVSARSV
SPTTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQNGSCRQVQYPLTDMSPILTS GDS DISSP
LLQNTVHIDLSALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTLLDN
DGKKIHC AVKSLNRITDIGEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGSPLVVL
PVMKHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDLAARN
CMLDEKFTVKVADFG LARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALES LQTQKF
TTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITVYLLQGRRLQPEYCPDPLYE
VMLKCWHPKAEMRPSFSELVSRISAIFSTFIGEHYVHV NATYVNVKCVAPYPSLL
SSEDNADDEVDT

10

20

【 0 2 2 7 】

実施例 16－ヒト化モノクローナル抗体 h D 1 2

配列番号 1 1 4 h D 1 2 の重鎖配列

30

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVKQAPGQGLDWIGYI
KPSTDNTEYNQKFKDKATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYGNYP
MDYWGGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKV
DKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT TVVHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPMLDS DGSFFLYSKLTV DKS R WQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

40

【 0 2 2 8 】

配列番号 1 1 5 h D 1 2 の軽鎖配列

QIVLTQSPAILS LSPGERATLSCSASSSVTSNYLYWYQQKPGSSPKLLIYSTSNLAS
GVPARFSGSGSGTSYTLTISSLEAEDAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIKRTVAA

50

PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0229】

配列番号116 h D 1 2 T 2 8 9 Cの重鎖配列（残基C 2 8 9は下線を付している）

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQAPGQGLDWIGYI
KPSTDNTEYNQKFKDKATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYGNYPL
MDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKV
DKTVERKCCVECPGPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVQFNWYVDGVEVHNAKCKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC
KVSNGKLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

10

【0230】

本明細書に引用したそれぞれの特許、特許出願、公開または他のいずれかの参照もしくは文献の全体が参照により本明細書に組み込まれる。矛盾が生じた場合には、定義を含む本明細書が優先する。

20

【0231】

いずれの特許、特許出願、公開または他のいずれかの文献の引用はこれらのいずれも妥当な先行技術であると承認するものではなく、これらの出版物または文献の内容または日付に関するいかなる承認を構成するものでもない。

【0232】

他に定義しない限り、本明細書で用いた全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術における当業者によって共通に理解される同じ意味を有する。本発明の実施または試験において本明細書に記載したものと同等または等価の方法および材料を用いることができるが、本明細書には好適な方法および材料を記載している。

30

【0233】

本明細書に開示した特徴の全ては任意の組合せで組み合わせることができる。本明細書に開示したそれぞれの特徴は、同一、等価または同様の目的を果たす代替の特徴に置き換えてもよい。したがって、他に明示的に述べない限り、開示した特徴（たとえば抗体）は等価または同様の特徴の属の例である。

【0234】

本明細書で用いる場合、全ての数値または数値範囲は、文脈から明らかに他が指示されない限り、その範囲内の整数および値の分数または範囲内の整数を含む。さらに、本明細書に値のリストが記載されている場合には（たとえば約50%、60%、70%、80%、85%または86%）、リストには全ての中間値およびその分数値が含まれる（たとえば54%、85.4%）。したがって、説明すると80%またはそれ以上の同一性への言及は、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%等、ならびに81.1%、81.2%、81.3%、81.4%、81.5%等、82.1%、82.2%、82.3%、82.4%、82.5%等、等々を含む。

40

【0235】

超（より大）または未満を伴う整数への言及は、それぞれ参照する数より大きいまたは小さい任意の数を含む。したがって、たとえば100未満への言及は99、98、97等、数字1までの全てを含み、10未満への言及は9、8、7等、数字1までの全てを含む

50

10

20

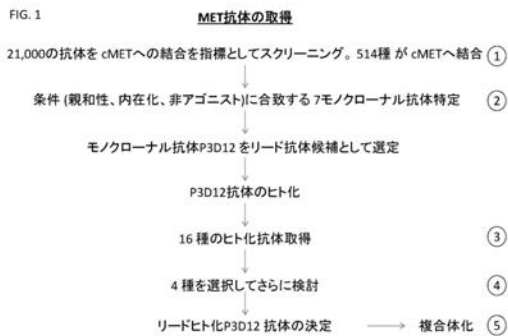
30

40

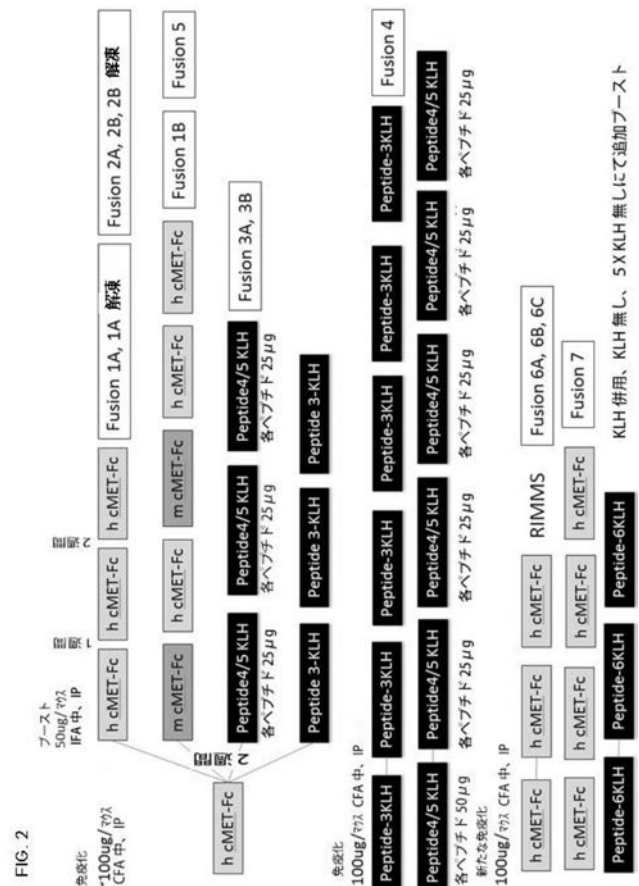
50

【 0 2 4 1 】

【 図 1 】



【図 2】



【図 3】

【図 4】

FIG. 3

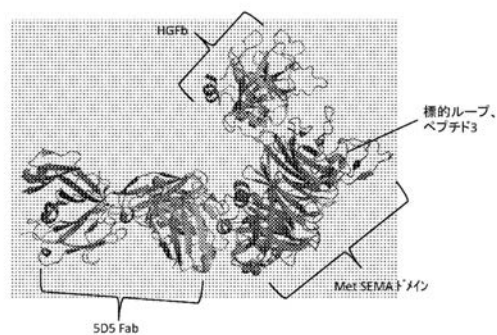
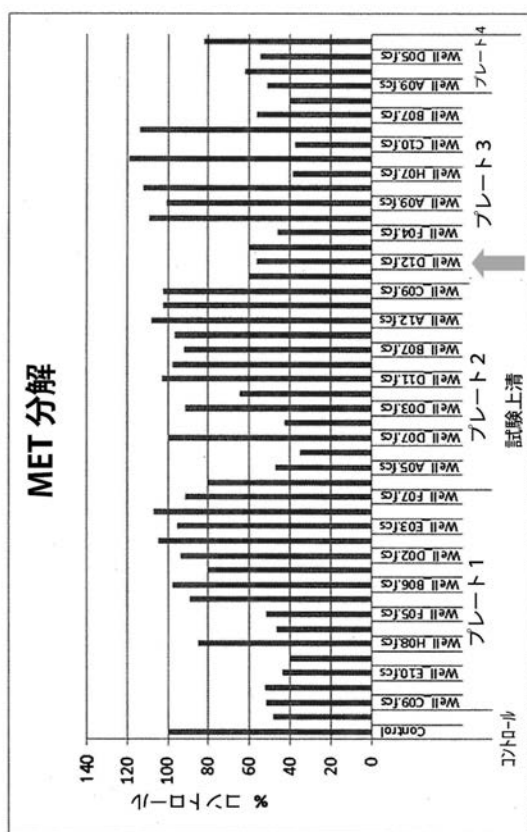


FIG. 4

Well 名	詳細	FACS Geom. 平均	MET 割合 ELISA 450nm
Well_E01_5x	本邦タイプコントロール	103000	NA
Well_E02_5x	本邦タイプコントロール	114000	NA
Well_A03_5x	ポジティブコントロール	83500	NA
Well_B03_5x	ポジティブコントロール	81800	NA
Well_E05_5x	ハイズビードマ	61000	4.5319
Well_G12_5x	ハイズビードマ	67200	4.3803
Well_G02_5x	ハイズビードマ	69800	4.57%
Well_F06_5x	ハイズビードマ	77300	3.0801
Well_B10_5x	ハイズビードマ	97200	0.0211
Well_H05_5x	ハイズビードマ	97600	5.1209
Well_F06_5x	ハイズビードマ	97800	-0.0005
Well_G10_5x	ハイズビードマ	98800	0.0078
Well_G07_5x	ハイズビードマ	98900	0.0011
Well_H10_5x	ハイズビードマ	98900	1.7738
Well_F06_5x	ハイズビードマ	99300	5.2925
Well_F10_5x	ハイズビードマ	99700	0.0185
Well_F07_5x	ハイズビードマ	99800	0.235

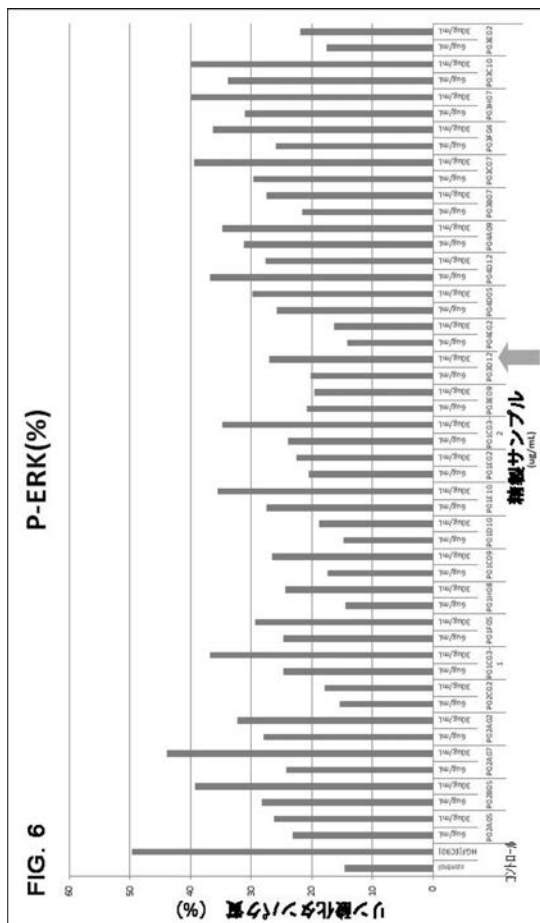
【 図 5 】

FIG. 5



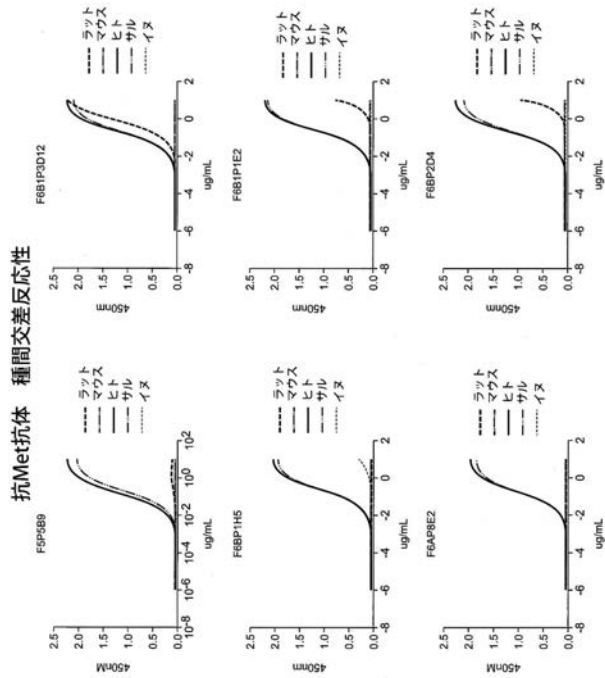
【図 6】

FIG. 6



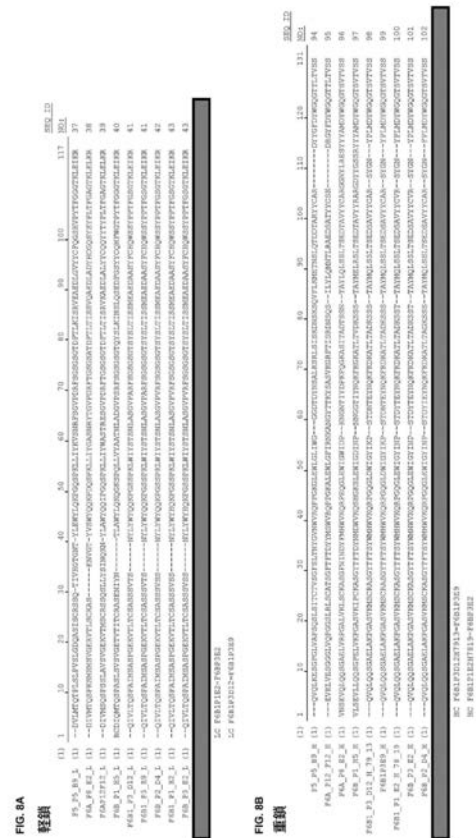
②

【図 7】

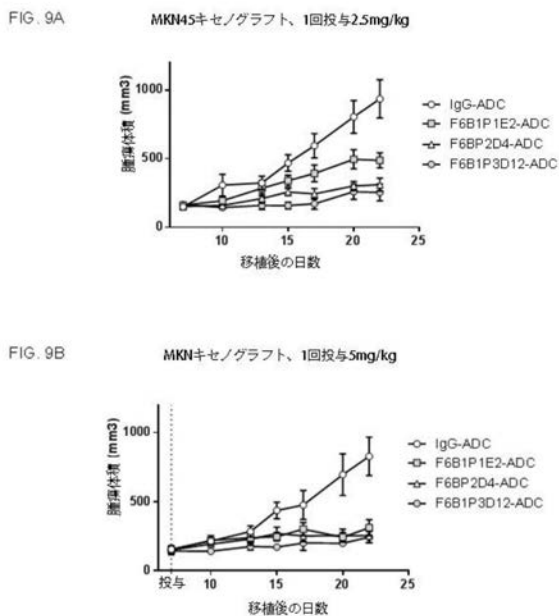


【図 8】

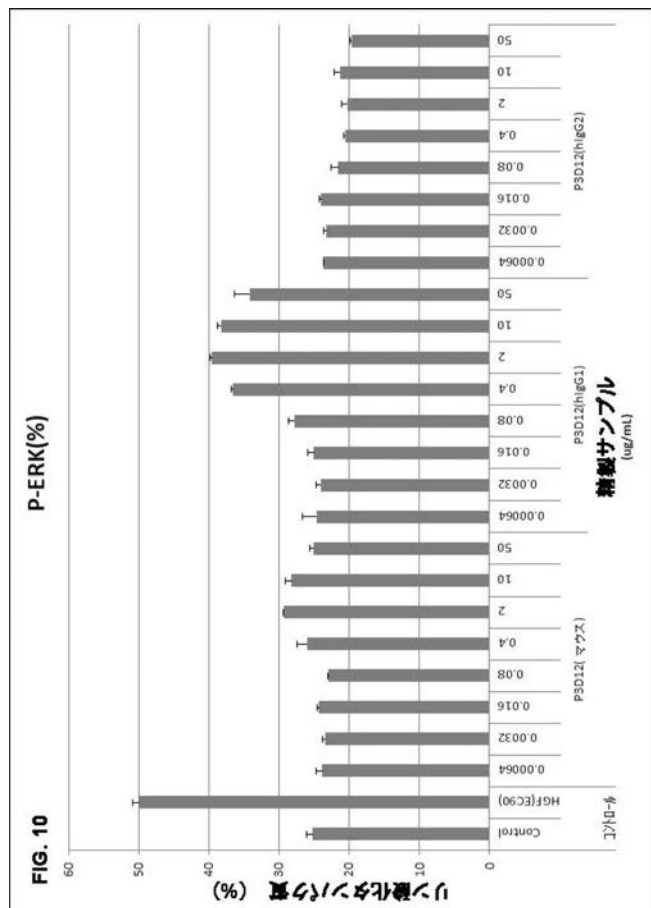
上位9クローンの配列。2クローン配列は重複。
合計7種の配列



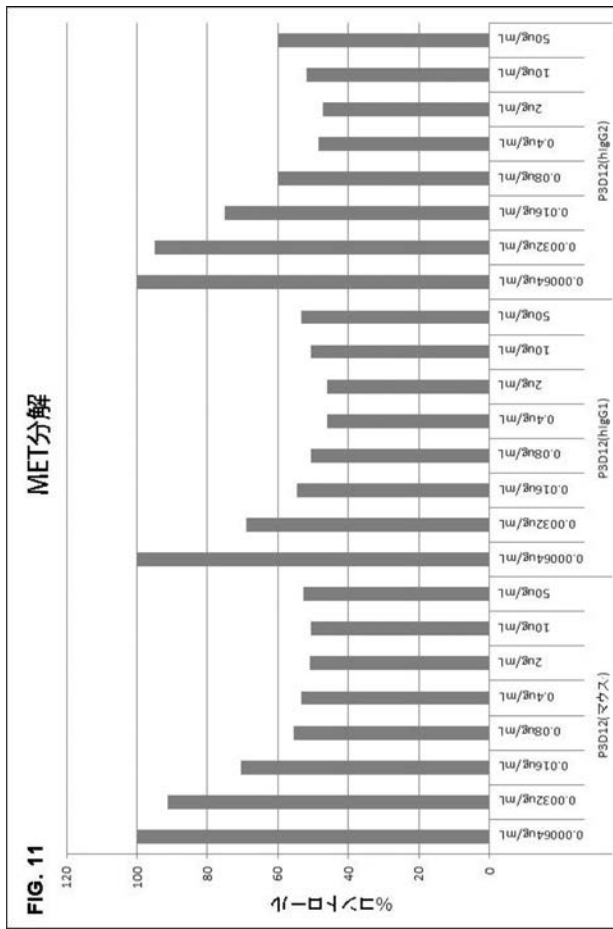
【図 9】



【図 10】



【図 1 1】



【図 1 3】

FIG. 13

ヒト抗体軽鎖可変領域

③

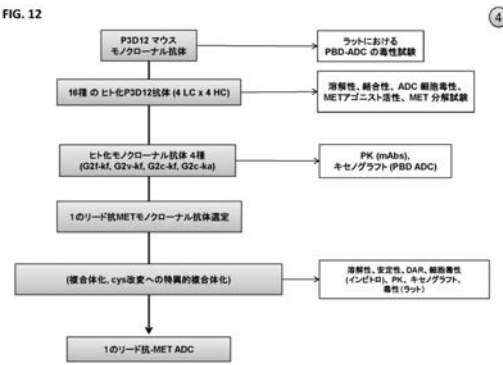
```

SEQUENCE 1 50
P3D12 VL 45 (1) QIVLTQSPAILASPGKRVTLCSASSVTNYLYWQKPGSSPRLMIY
P3D12 VL-ven 46 (1) QIVLTQSPAILASPGKRVTLCSASSVTNYLYWQKPGSSPRLMIY
P3D12 VL-fra 47 (1) QIVLTQSPAILASPGKRVTLCSASSVTNYLYWQKPGSSPRLMIY
P3D12 VL-abb/sdr 48 (1) QIVLTQSPAILASPGKRVTLCSASSVTNYLYWQKPGSSPRLMIY
P3D12 VL-cdr 49 (1) QIVLTQSPAILASPGKRVTLCSASSVTNYLYWQKPGSSPRLMIY
51 100
P3D12 VL (51) STENIASGVPARFSGSGSTYLTISRLSEEDFASIFCHOMSYPTFG
P3D12 VL-ven (51) STENIASGVPARFSGSGSTYLTISRLSEEDFASIFCHOMSYPTFG
P3D12 VL-fra (51) STENIASGVPARFSGSGSTYLTISRLSEEDFASIFCHOMSYPTFG
P3D12 VL-abb/sdr (51) STENIASGVPARFSGSGSTYLTISRLSEEDFASIFCHOMSYPTFG
P3D12 VL-cdr (51) STENIASGVPARFSGSGSTYLTISRLSEEDFASIFCHOMSYPTFG
101
P3D12 VL (101) SOTKLEIR
P3D12 VL-ven (101) SOTKLEIR
P3D12 VL-fra (101) SOTKLEIR
P3D12 VL-abb/sdr (101) SOTKLEIR
P3D12 VL-cdr (101) SOTKLEIR

```

【図 1 2】

FIG. 12



【図 1 4】

FIG. 14

ヒト抗体重鎖可変領域

③

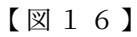
```

SEQUENCE 1 50
P3D12 VH 104 (1) QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCHASGCTFTSYNHWYQRPQGLDWMIGY
P3D12 VH-fra 105 (1) QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCHASGCTFTSYNHWYQRPQGLDWMIGY
P3D12 VH-ven 106 (1) QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCHASGCTFTSYNHWYQRPQGLDWMIGY
P3D12 VH-abb/sdr 107 (1) QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCHASGCTFTSYNHWYQRPQGLDWMIGY
P3D12 VH-cdr 108 (1) QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCHASGCTFTSYNHWYQRPQGLDWMIGY
51 100
P3D12 VH (51) IKPSTMTNINQKFDKRLTAKSTSTAYMGLSLSEIDAVYICARSY
P3D12 VH-fra (51) IKPSTMTNINQKFDKRLTAKSTSTAYMGLSLSEIDAVYICARSY
P3D12 VH-ven (51) IKPSTMTNINQKFDKRLTAKSTSTAYMGLSLSEIDAVYICARSY
P3D12 VH-abb/sdr (51) IKPSTMTNINQKFDKRLTAKSTSTAYMGLSLSEIDAVYICARSY
P3D12 VH-cdr (51) IKPSTMTNINQKFDKRLTAKSTSTAYMGLSLSEIDAVYICARSY
101 119
P3D12 VH (101) GNYPLMDYWGQQTIVTVSS
P3D12 VH-fra (101) GNYPLMDYWGQQTIVTVSS
P3D12 VH-ven (101) GNYPLMDYWGQQTIVTVSS
P3D12 VH-abb/sdr (101) GNYPLMDYWGQQTIVTVSS
P3D12 VH-cdr (101) GNYPLMDYWGQQTIVTVSS

```

【图 17】

MKN-45キセノグラフト



MET結合 ELISA

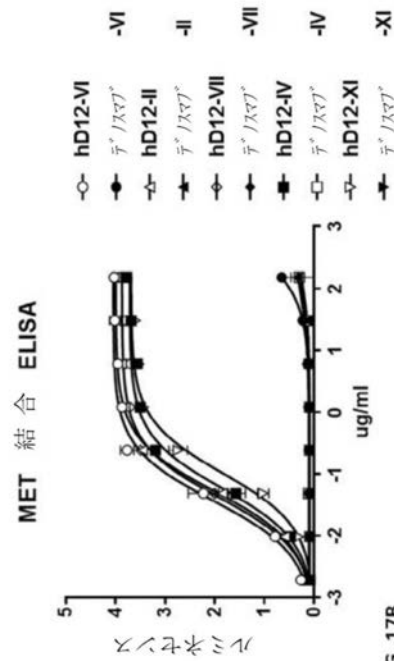


FIG. 17B

【図 18-2】

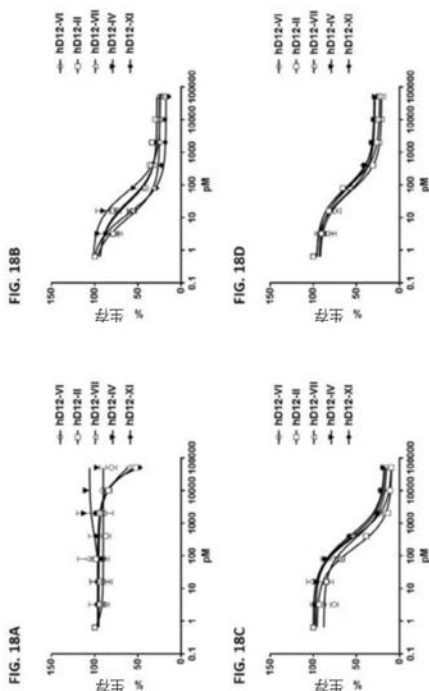
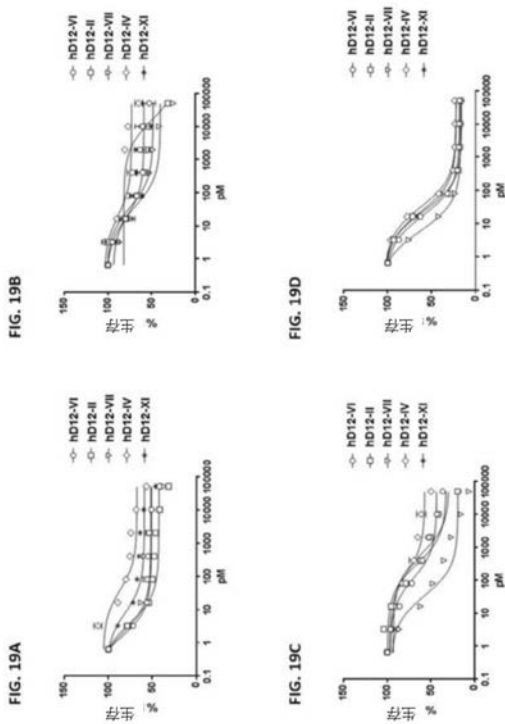


FIG. 18E

	Antibody Payload	hD12 VI	hD12 II	hD12 VII	hD12 IV	hD12 XI
SNU-1	Max % kill / IC50(uM)	19% / ---	47% / ---	39% / ---	3% / ---	52% / ---
SNU-16	Max % kill / IC50(uM)	76% / 27.3	80% / 30.9	81% / 9.0	78% / 58.7	86% / 13.5
SNU-620	Max % kill / IC50(uM)	64% / 339.4	90% / 174.8	89% / 363.5	81% / 326.6	80% / 405.9
MRN-45	Max % kill / IC50(uM)	74% / 47.7	77% / 86.9	81% / 64.2	71% / 72.2	73% / 82.0
Ave DAR (HC):		1.82	1.98	0.84	1.88	2.99
DAR 0% (HC):		35.82%	23.25%	58.02%	23.95%	5.88%
Free Drug (RP):		161%	0.71%	1.89-1.98%	N/A	N/A

【図 19 - 1】



【図 19 - 2】

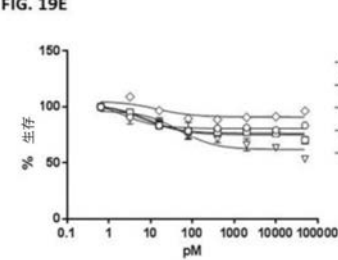
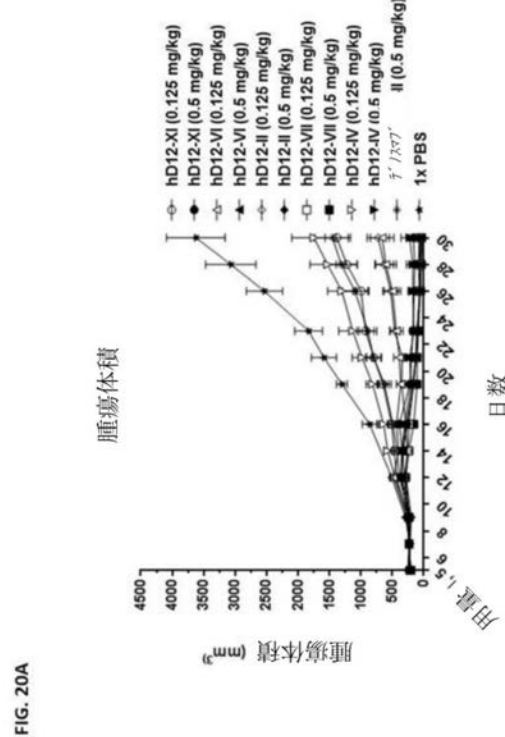


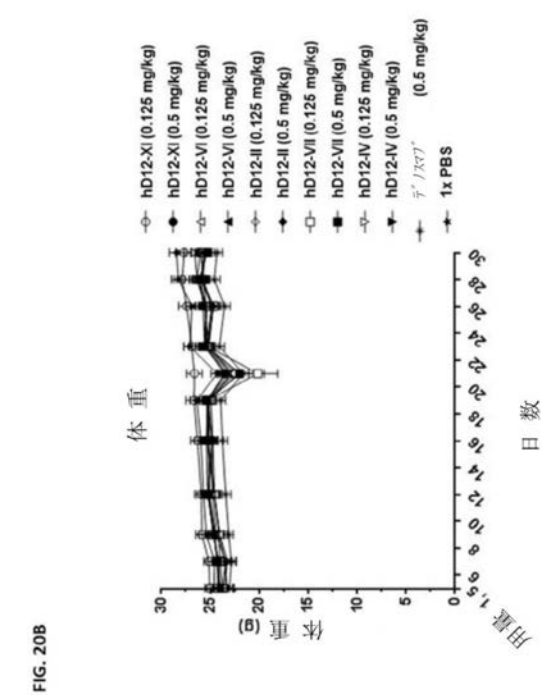
FIG. 19F

	抗 体 hD12	hD12	hD12	hD12	hD12	
		VI	II	VII	IV	XI
H441	Max %kill / IC50(uM)	58% / 1.3	68% / 3.8	63% / 2.1	43% / 38.5	54% / 8.0
H1373	Max %kill / IC50(uM)	47% / 16.7	68% / 35.6	75% / 42.66	35% / 19.7	68% / —
H1573	Max %kill / IC50(uM)	16% / 2.0	50% / 8.7	47% / 49.5	4% / 14.4	29% / 6.2
H1975	Max %kill / IC50(uM)	64% / 111.8	81% / 311.1	94% / 33.8	50% / 174.3	82% / 622.9
SNU-5	Max %kill / IC50(uM)	81% / 17.1	83% / 22.4	84% / 5.9	76% / 30.5	77% / 22.3
Ave DAR (hIC):		1.82	1.98	0.84	1.88	2.99
DAR 0% (hIC):		35.82%	23.25%	58.02%	23.95%	5.88%
Free Drug (RP):		1.61%	0.71%	1.89-1.98%	N/A	N/A

【図 20 - 1】



【図 20 - 2】



【図 20-3】

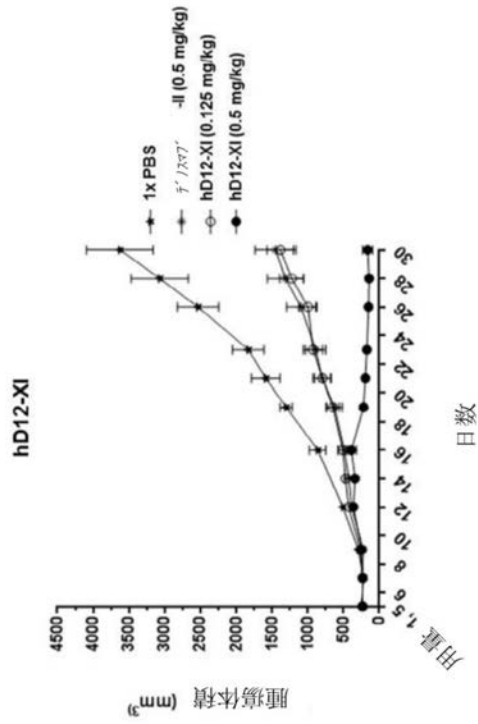


FIG. 20C

【図 20-4】

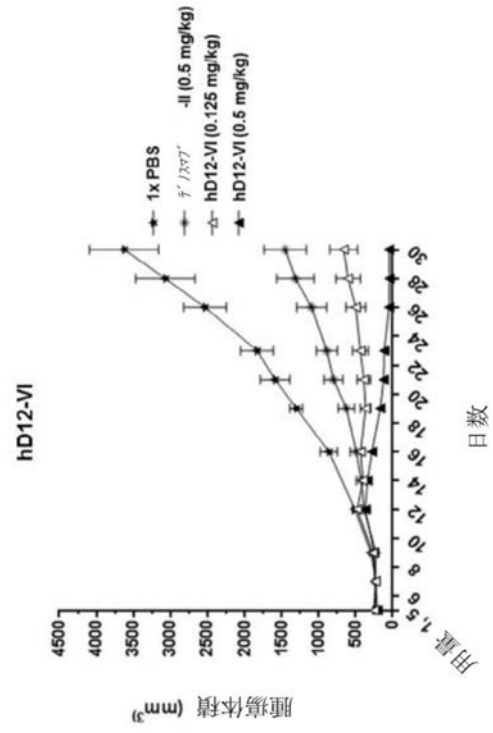


FIG. 20D

【図 20-5】

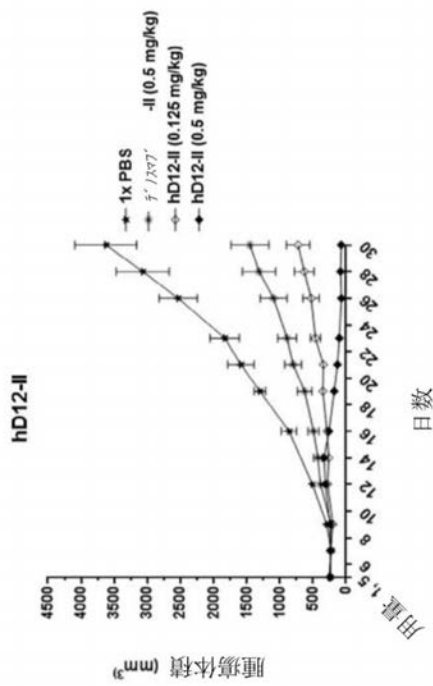


FIG. 20E

【図 20-6】

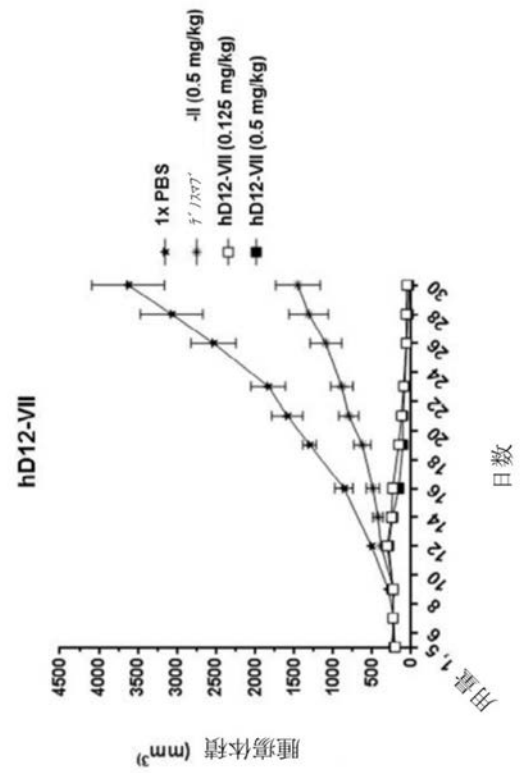


FIG. 20F

【図 20-7】

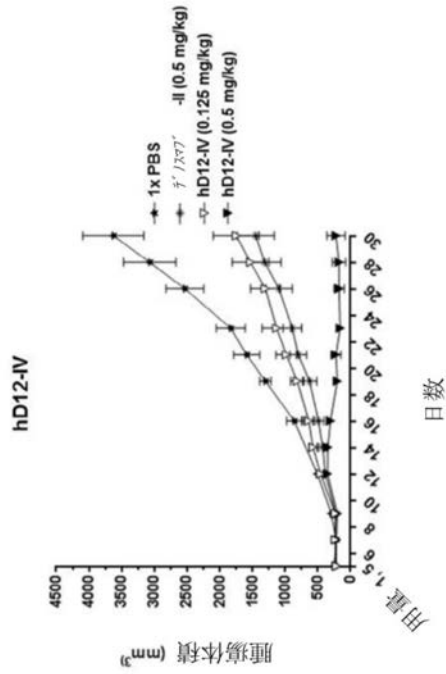


FIG. 20G

【図 21-2】

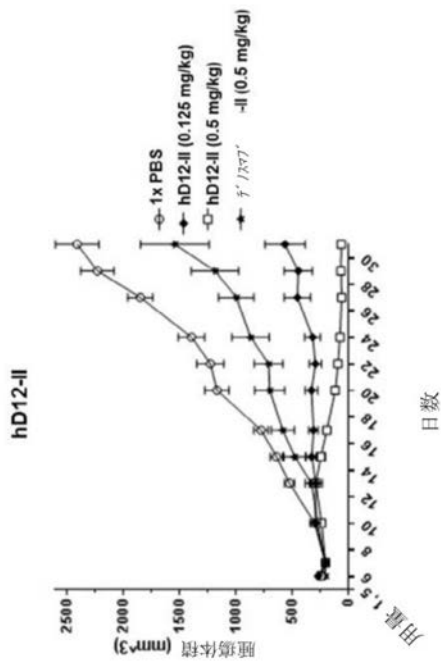


FIG. 21C

【図 21-1】

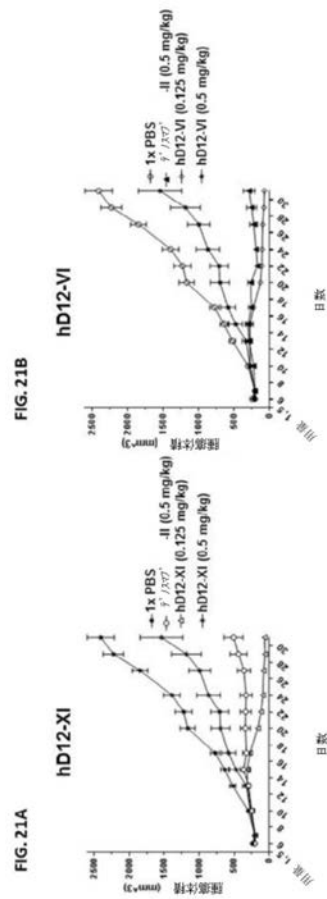


FIG. 21A

FIG. 21B

【図 21-3】

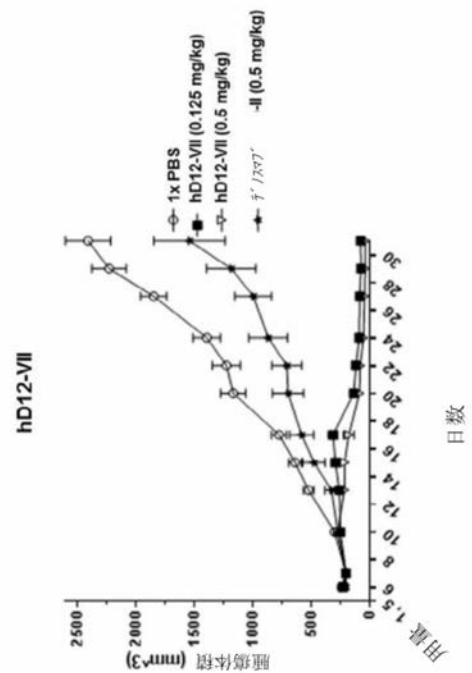
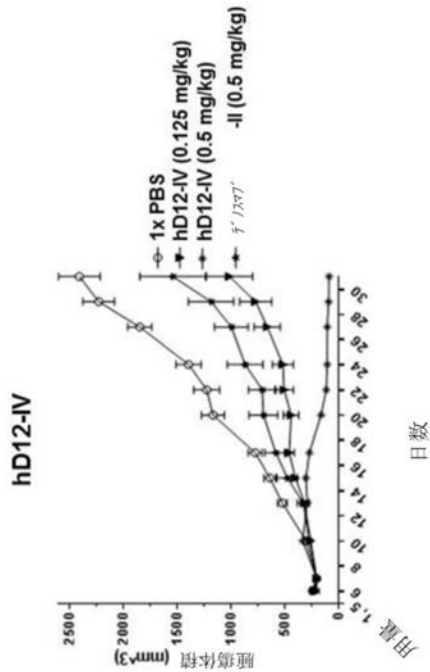


FIG. 21D

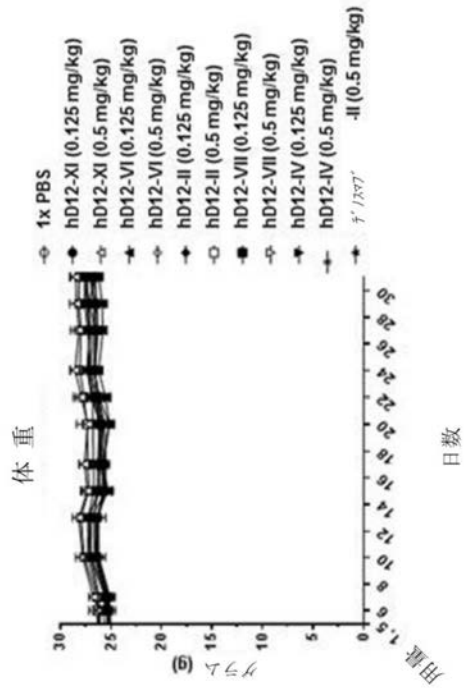
【 図 2 1 - 4 】

FIG. 21E



【 図 2 2 】

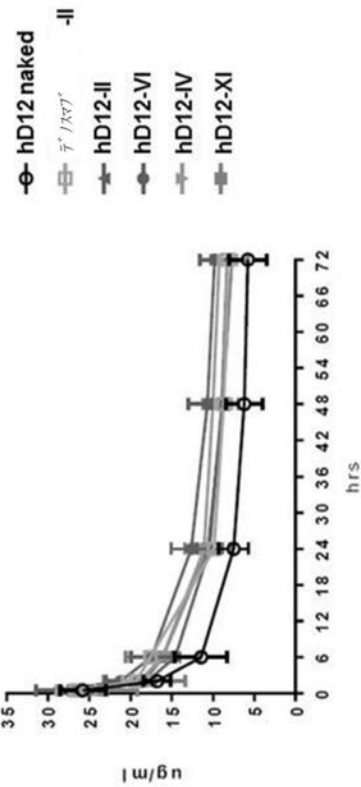
FIG. 22



【 図 2 3 】

FIG. 23

MET: マウスPKアッセイ w/確率的ADCs



【 図 2 4 】

FIG. 24A

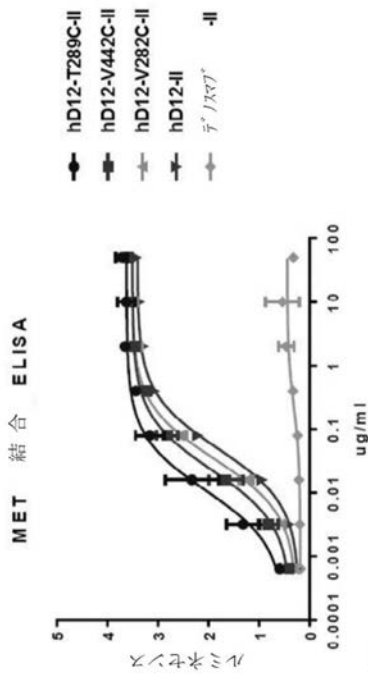
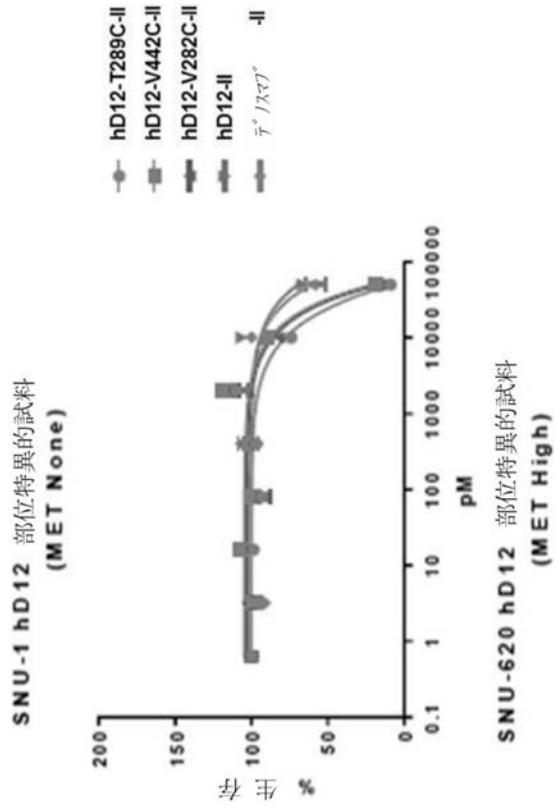


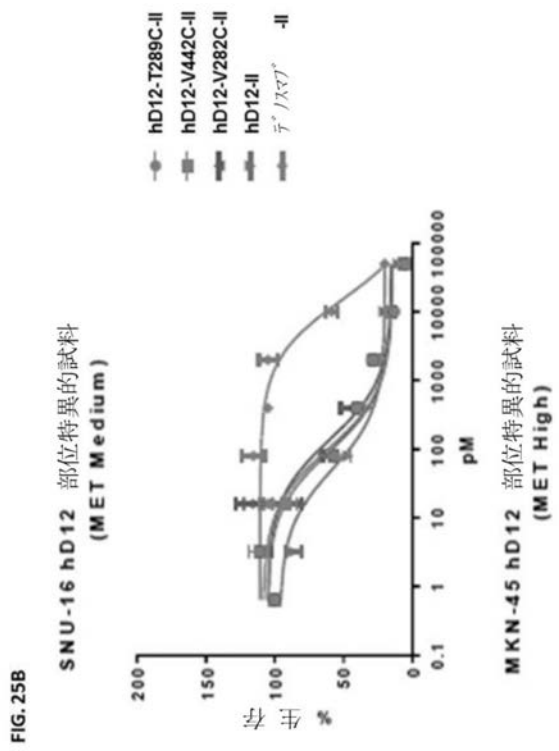
FIG. 24B

抗体	hD12	T289C	V442C	V282C	hD12	-II	hD12	-II
IC50(ug/ml)	0.011	0.023	0.034	0.049	0.049	0.235	0.049	0.235

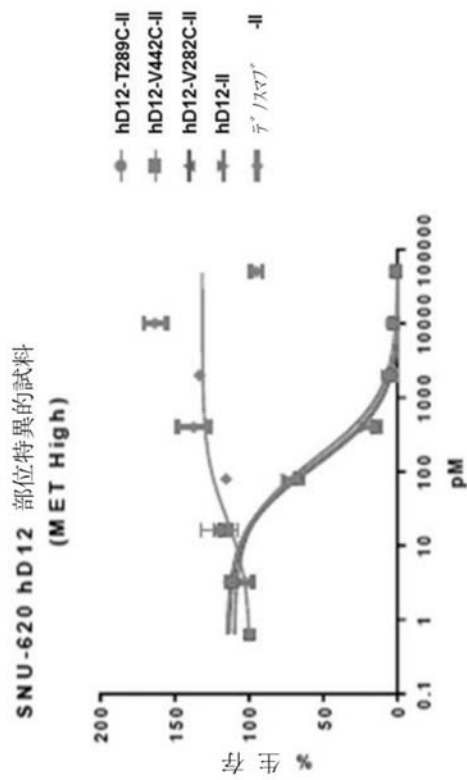
【図 25-1】



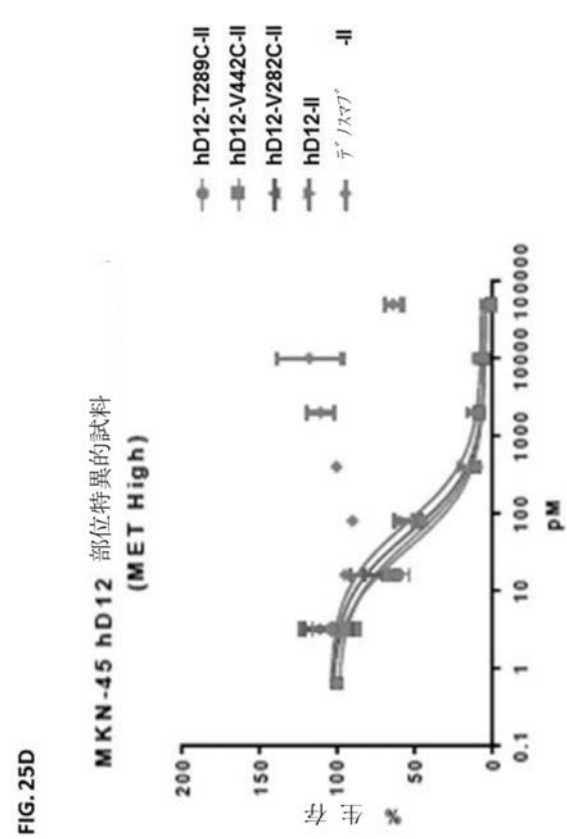
【図 25-2】



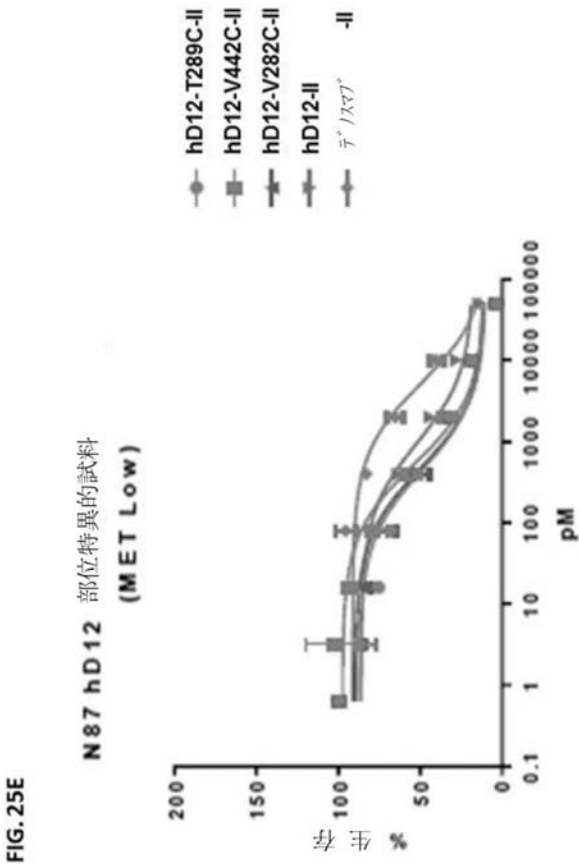
【図 25-3】



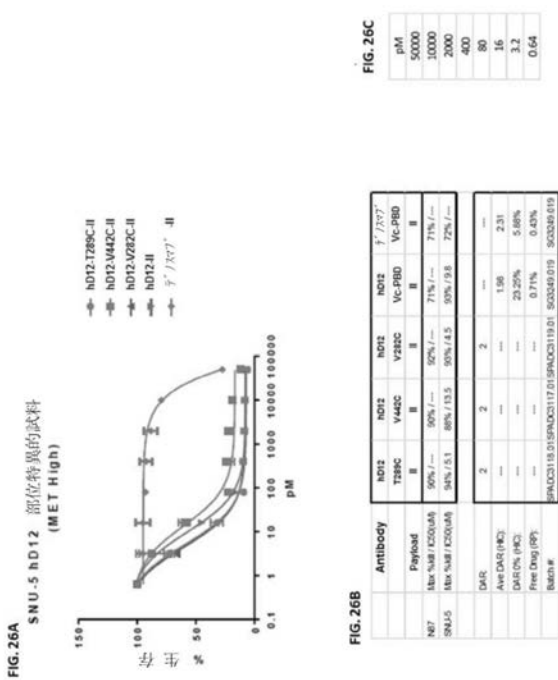
【図 25-4】



【 図 2 5 - 5 】



【 図 2 6 】

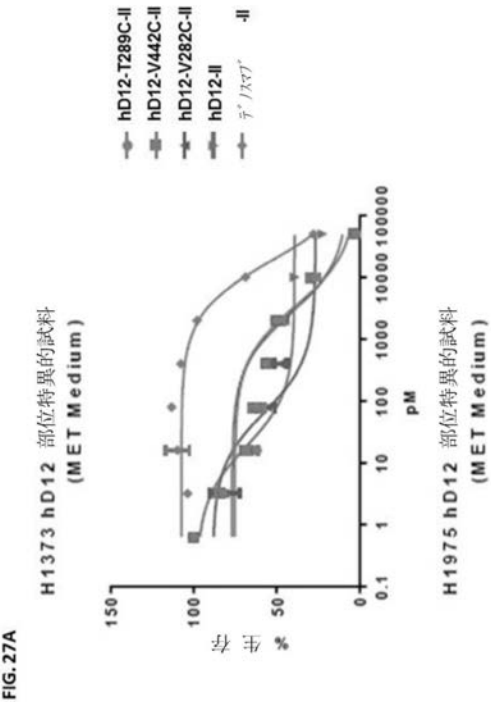


【 図 2 5 - 6 】

	抗体	hD12-T289C-II	hD12-V442C-II	hD12-V282C-II	hD12-Vc-PBD	7' / 137'
	h' d d	II	II	II	II	II
SNU-1	Max %kill / IC50(uM)	91% / ---	81% / ---	84% / ---	33% / ---	42% / ---
SNU-16	Max %kill / IC50(uM)	95% / 100.3	94% / 91.9	95% / 140.9	90% / 51.6	80% / ---
SNU-620	Max %kill / IC50(uM)	99% / 122.9	99% / 116.3	99% / 123.7	98% / 155.1	5% / ---
MKN-45	Max %kill / IC50(uM)	99% / 34.9	99% / 46.6	99% / 54.5	96% / 72.9	36% / ---
N87	Max %kill / IC50(uM)	96% / 440.0	96% / 518.3	97% / 472.2	86% / 979.8	86% / ---
DAR		2	2	2	---	---
Ave DAR (HC)		---	---	---	1.98	2.31
DAR 0% (HC)		---	---	---	23.25%	5.88%
Free Drug (RP)		---	---	---	0.71%	0.43%
Batch #		SPADC3118.01	SPADC3117.01	SPADC3119.01	SG3249.019	SG3249.019

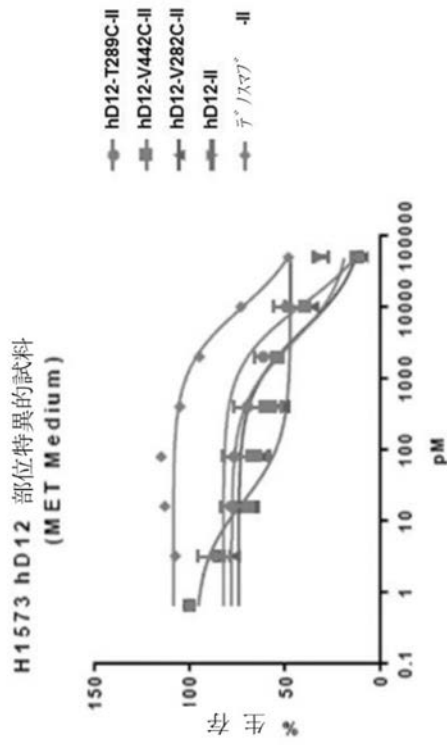


【 図 2 7 - 1 】



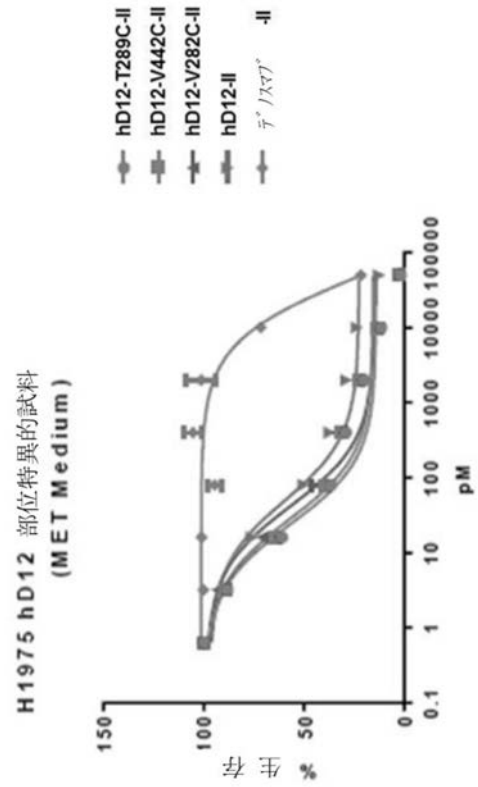
【図 27-2】

FIG. 27B



【図 27-3】

FIG. 27C



【図 27-4】

FIG. 27D

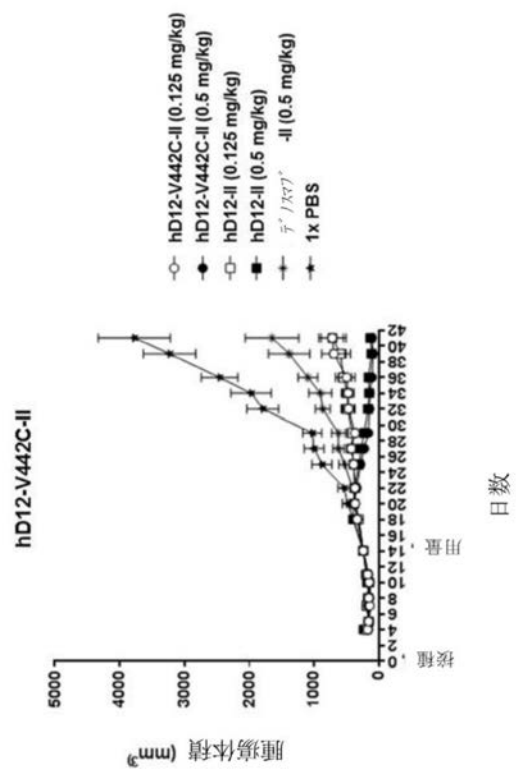
pM
5000
10000
2000
400
80
16
3.2
0.64

FIG. 27E

	試料	hD12 T289C	hD12 V442C	hD12 V282C	hD12 Vc-PBD	7°/X37° Vc-PBD
H1573	Max %AB / IC50(μM)	98% / ...	96% / ...	97% / 65.0	77% / 17.5	72% / ...
H1573	Max %AB / IC50(μM)	89% / ...	88% / ...	91% / ...	69% / 18.3	52% / ...
H1975	Max %AB / IC50(μM)	98% / 23.9	97% / 27.8	98% / 41.5	87% / 49.2	78% / ...
	DAR	2	2	2	...	...
	Ave DAR (HC)	...	...	...	1.98	2.31
	DAR 0% (HC)	...	...	...	23.25%	5.88%
	Free Drug (RP)	...	...	...	0.71%	0.43%
	Batch #:	SPAD03118.01	SPAD03117.01	SPAD03119.01	SPAD03119.01	SPAD03119.01

【図 28-1】

FIG. 28A



【図 28-2】

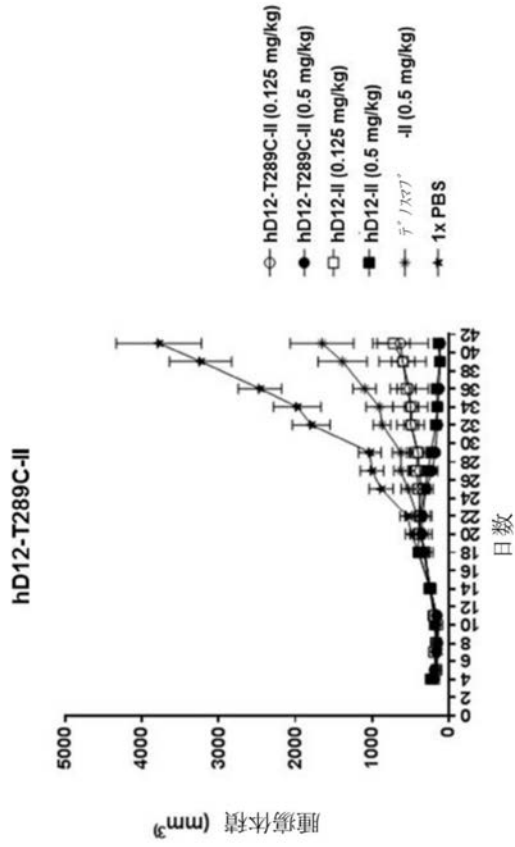


FIG. 28B

【図 28-3】

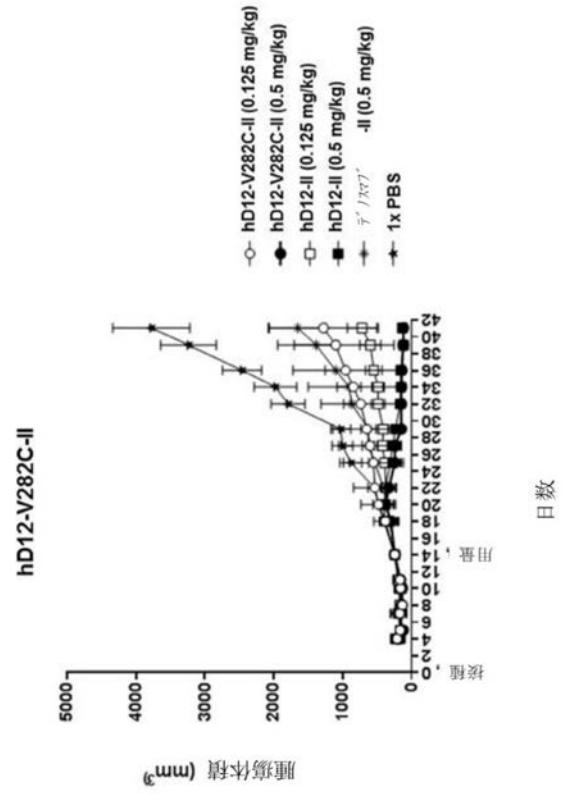


FIG. 28C

【図 29】

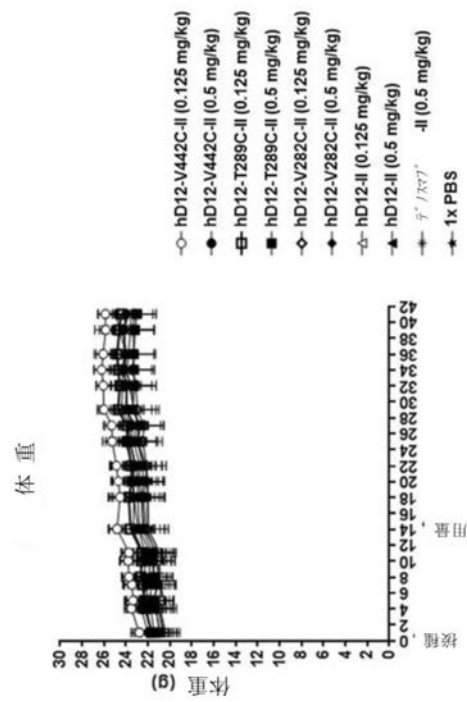


FIG. 29

【図 30】

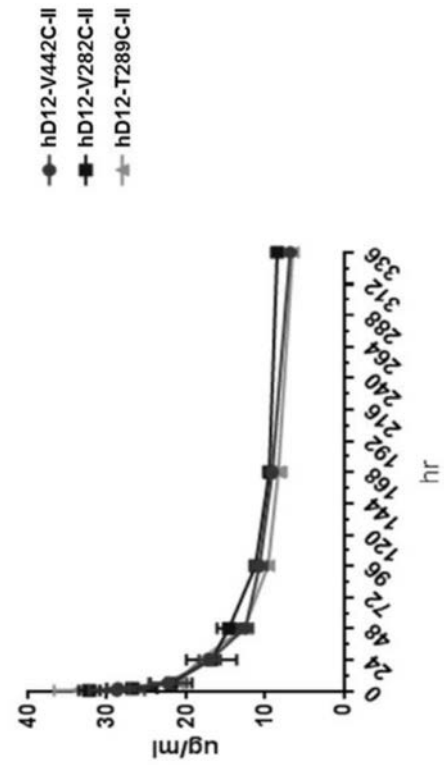


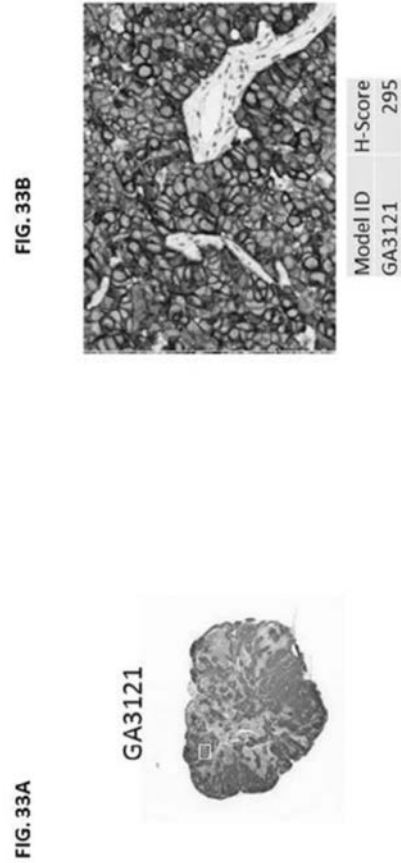
FIG. 30

【図 3 1】

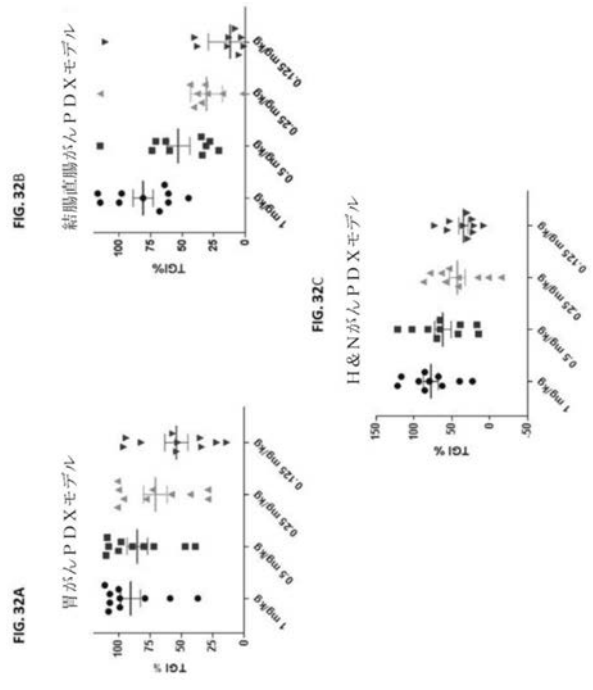
FIG. 31

試験品	T _{1/2} (hour)	AUC _{LAST} (μg × h/ml)	C _{L_E_OBS} (ml/h/kg)	C _{max} (μg/ml)
hd12-V282C-II 1 mg/kg	273.5 (11.4d)	3777	0.0007	32.9
hd12-T289C-II 1 mg/kg	431.6 (18d)	3152	0.0007	34.9
hd12-V442C-II 1 mg/kg	337.0 (14 d)	3712	0.0007	32.1

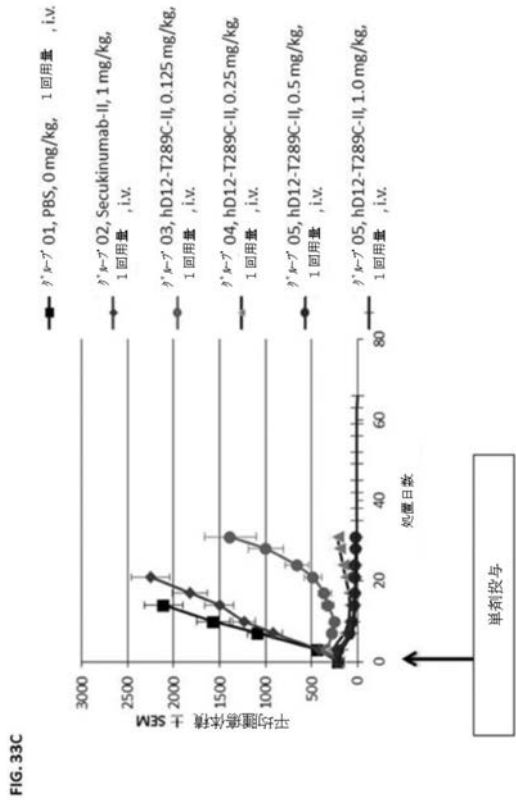
【図 3 3 - 1】



【図 3 2】



【図 3 3 - 2】



【配列表】

20201801100000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 ジュリア・コロネラ
アメリカ合衆国 9 2 0 0 9 カリフォルニア州カールスバッド、ケブラーダ・サークル 3 1 1 0 番
- (72)発明者 マルコ・ギムノプロス
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・コート 4 5 4 0 番
、タナベ・リサーチ・ラボラトリーズ・ユーエスエイ・インコーポレイテッド内
- (72)発明者 ビンセント・ブロット
アメリカ合衆国 9 4 1 1 5 カリフォルニア州サンフランシスコ、ブッシュ・ストリート 2 2 6 1 番
、アパートメント 3
- (72)発明者 藤田 領
大阪府大阪市中央区道修町三丁目 2 番 1 0 号 田辺三菱製薬株式会社内
- (72)発明者 ローランド・ニューマン
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・コート 4 5 4 0 番
、タナベ・リサーチ・ラボラトリーズ・ユーエスエイ・インコーポレイテッド内
- F ターム(参考) 4C076 AA95 EE41 EE59
4C085 AA14 AA15 AA27 BB36 BB41 BB43 CC23 EE03
4C086 AA01 AA02 CB11 MA02 MA05 NA13 ZB26

【外国語明細書】
20201801100000001.pdf