

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017 年 10 月 12 日(12.10.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/175874 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/09 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01) *C12N 5/16* (2006.01)
A61K 47/50 (2017.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2017/014600
- (22) 国際出願日: 2017 年 4 月 4 日(04.04.2017)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2016-076565 2016 年 4 月 6 日(06.04.2016) JP
- (71) 出願人: 株式会社オーダーメイドメディカルリサーチ (ORDER-MADE MEDICAL RESEARCH INC.) [JP/JP]; 〒2770882 千葉県柏市柏の葉五丁目 4 番 1 9 号 Chiba (JP).
- (72) 発明者: 里深 博幸 (SATOYUKA, Hiroyuki); 〒2770882 千葉県柏市柏の葉五丁目 4 番 1 9 号株式会社オーダーメイドメディカルリサーチ内 Chiba (JP). 岡部 洋子 (OKABE, Youko); 〒2770882 千葉県柏市柏の葉五丁目 4 番 1 9 号株式会社オーダーメイドメディカルリサーチ内 Chiba (JP). 加藤 大 (KATO, Dai); 〒2770882 千葉県柏市柏の葉五丁目 4 番 1 9 号株式会社オーダーメイドメディカルリサーチ内 Chiba (JP).
- (74) 代理人: 小林 浩, 外 (KOBAYASHI, Hiroshi et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目 8 番 7 号

福岡ビル 9 階 阿部・井窪・片山法律事務所
Tokyo (JP).

- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

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

(54) Title: CANCER TREATMENT PHARMACEUTICAL COMPOSITION USING ANTI-MCT5 ANTIBODY

(54) 発明の名称: 抗 MCT5 抗体を用いた癌治療用医薬組成物

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a novel pharmaceutical composition that is cancer-specific and has few side-effects. Provided by the present invention is a pharmaceutical composition containing a monoclonal antibody that recognizes a polypeptide in an extracellular region of native MCT5.

(57) 要約: 本発明は癌特異的で副作用の少ない新たな医薬組成物の提供を目的とする。本発明は、ネイティブな MCT5 の細胞外領域のポリペプチドを認識するモノクローナル抗体を含む医薬組成物を提供する。



WO 2017/175874 A1

明 細 書

発明の名称

抗MCT5抗体を用いた癌治療用医薬組成物

5

技術分野

[0001]

本発明は、乳癌、大腸癌をはじめとする癌に対し、MCT5の細胞外ドメインを認識するモノクローナル抗体を、癌などの過剰増殖性疾患に対して活性を有する化合物とコンジュゲートさせた抗体コンジュゲートからなる治療用医薬組成物に関する。また、本発明は、抗体と該化合物の併用、又は抗体コンジュゲートと該化合物の併用による治療のための使用方法に関する。

10

背景技術

15 [0002]

世界の死因の上位は、癌である。特に乳癌は、英国、米国及び日本において、最も一般的にみられる女性の癌である。現在国内の乳癌罹患者数は4万人を超えており、その数は未だに増加傾向にある。近年、マンモグラフィー又は他の画像診断法を用いた医療機器の進歩により、乳癌の早期診断が可能になり、乳癌の治癒率は徐々に上昇していくことが見込まれている。

20

[0003]

早期診断により、乳癌の初期ステージで外科的摘出や放射線治療を受けたにもかかわらず、再発又は転移に至る患者は少なくない。実際、初発乳癌の切除手術後の5年生存率が90%以上であるにも関わらず、乳癌罹患者の約40%は死に至ることが報告されている（非特許文献1：Weigelt B, et al., Nature Reviews, 2005, 5, 591-602）。また、生存が20年を越え寛解したと判断される患者は、全体で2~3%に過ぎないことも報告されている。すなわち、乳癌の治療には、再発又は転移を抑制できる新しい医薬品の開発が望まれている。

25

[0004]

乳癌の中には、再発又は転移しないケースも存在するが、あらかじめ予測することが難しいため、再発又は転移のリスクを抑える目的で、多くの患者に治療薬の投与が行われている。このことは、再発又は転移をしない患者にとっては副作用のある不要な治療を受けていることになる。

- 5 この一方で、乳癌手術においては、術後の生活の質（クオリティ・オブ・ライフ、QOL）を高めることを目的として、温存治療が行われている。2001年の時点でも、全体の40%以上の患者で実施されているが、温存療法を実施した患者の中には再発又は転移のリスクが高い患者も含まれている。

[0005]

- 10 癌の「再発」とは、原発巣を手術で摘出した後に、取りきれなかった目に見えない小さな癌が残されて再び腫瘍を形成する場合や、薬物療法（抗癌剤治療）や放射線治療でいったん縮小した癌が再び大きくなる場合を言い、最初に発生した癌の近傍で起きる。一方、「転移」は、癌細胞が原発巣とは異なる臓器に達し、同一種類の癌を二次的に生じさせることを言う。例えば、乳癌が乳房で
- 15 再び腫瘍を形成した場合は「再発」であり、肺に転移した二次癌は悪性の乳癌細胞によって形成された乳癌肺「転移」である。

「再発」又は「転移」が起きるメカニズムとしては、浸潤能の高い癌細胞が原発巣と同じ組織内の別の部位又は癌周辺組織に局所的に浸潤し、手術等を行っても取り残されることが大きな原因と考えられる。

- 20 [0006]

- 癌部を外科的に除去した後でも、癌細胞が再発又は転移する場合には、癌細胞が有する性質が重要である。癌細胞の性質の悪さや進行の程度を表す指標としては、異型度と深達度が用いられている。異型度は癌細胞が正常な細胞と形態的にどの程度異なっているかを表したものである。一方、深達度は、癌の深
- 25 さを示しており、癌細胞の浸潤能が高い場合は深達度が深まり、より悪性度の高い癌細胞として分類され、悪性腫瘍の病期分類に用いられている。よって、浸潤能の高い癌細胞は悪性度が高く、再発又は転移リスクの高い癌と考えられている。すなわち、高い浸潤能を有する癌細胞は、再発や転移のリスクが上昇

する。よって、浸潤能の高い癌細胞を標的とした治療を行えば、再発や転移の症例を減少させることが可能になり、死亡率を低下させることが期待できる。

[0007]

乳癌や大腸癌等の様々な癌に関しては、外科治療と化学療法が一般的であるが、近年の分子標的薬の出現によって、癌特異的な新たな治療法が模索されるようになった。

乳癌に対する分子標的薬として日本で承認された抗体医薬品としてはハーセプチンが知られている。ハーセプチンは、HER2 (ERBB2, Her2/neu と呼ばれる) という受容体をターゲットとした抗体医薬品であり、HER2 過剰発現が確認された転移性乳癌に対する治療薬での使用が承認されており、細胞膜上の HER2 に結合し、ナチュラルキラー細胞 (NK 細胞) やマクロファージなどによる抗体依存性細胞障害 (ADCC, Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity) により癌細胞を死滅させる作用機序で細胞を死滅させていると考えられている。

大腸癌に対する抗体医薬品としては、アバスチンやアービタックスが知られている。これらは、VEGF や EGF という増殖因子をターゲットとした抗体医薬品である。アバスチンは治癒切除が不可能な進行・再発の大腸癌での使用が承認されており、VEGF に結合し、VEGF 受容体との結合を抑制することで血管新生を抑制して、腫瘍組織への栄養を絶つという作用機序で抗癌作用を発揮する。アービタックスは、EGF 受容体に結合し、EGF による細胞増殖シグナルが働かないようにすることで癌細胞の増殖を停止させるのが狙いである。

[0008]

このように、抗体に代表される分子標的薬は、癌を特異的に認識すれば癌細胞を殺傷する点で優れた物質である。しかし、抗体が正常細胞にも結合した場合、重篤な副作用を示す場合がある。例えば、乳癌治療薬であるハーセプチンは頭痛や無力症、吐き気・嘔吐だけでなく、間質性肺炎や骨髄抑制、肝障害、腎障害、脳血管障害を引き起こす場合がある。また、組織染色では、正常な心筋細胞とも強く反応し重篤な心障害を引き起こすことが知られている (非特許文献 2 : British Journal of Cancer, 94, 1016-1020, 2006)。さらに、ハー

セプチンは HER2 を標的とした抗体医薬品であるため、HER2 を発現している患者にしか奏効性を示さないという課題が残されている。

[0009]

大腸癌治療薬であるアバスチンでは、副作用として出血、血栓症、消化管穿孔、創傷治療の遅延、血圧上昇などが挙げられ、このうち血栓症と消化管穿孔は生命にかかわる副作用である（非特許文献3：Cancer Research, 57, 4593-4599, 1997）。アービタックスでは、副作用としては皮膚障害等が知られており、生命を脅かすものではないが痒みや白色の膿泡等が起き、患者への精神的、肉体的な負担が存在する（非特許文献4：Journal of Clinical Oncology, 22, 1201-1208, 2004）。また、EGF 受容体下流のシグナル変化（例えば K-ras 変異）による癌化には作用を示さないという問題も存在している。

[0010]

したがって、癌に対する抗体医薬品は、重篤な副作用が発生することや、奏効性を示す患者が限定されるなどの課題が残されており、癌特異的な分子標的及び副作用が少ない医薬品の新たな開発が求められている。

[0011]

癌細胞は、正常細胞に比べ、高い増殖力を有するとともに細胞分裂の回数に制限がなく、周辺組織への浸潤や転移を起こすという特徴を持っている。近年、癌組織の中の癌細胞全てがこのような性質を持つのではなく、一部の限られた細胞がこのような性質を持つと考えられるようになった。すなわち、これらの一部の癌細胞は、自らと全く同じ細胞を作り出す自己複製能と、多種類の細胞に分化しうる多分化能という、胚性幹細胞や体性幹細胞などの幹細胞に共通して見られる特徴を有し、これらの特徴によって癌組織中で自己複製により自分と同じ細胞を維持しながら、分化によって周辺の大数の癌細胞を生み出すものになっていると考えられている。このような一部の癌細胞は、癌幹細胞と呼ばれており、癌はこの幹細胞様の細胞から発生・進行するという仮説（癌幹細胞仮説）が提唱されている。

[0012]

現在、癌幹細胞マーカーとしては、CD133、CD24、CD44などの分子マーカーが知られている（非特許文献5：GASTROENTEROLOGY, 138, 2151-2162, 2010）が、これらに対する抗体は、一部の癌幹細胞に結合するに過ぎず、治療薬として有効性がないといわれている。また、LGR5と呼ばれるマーカーが知られている。このマーカーはR-スポンジンと相互作用し、Wnt/ β -カテニンシグナルを活性化する機構を持っており、癌幹細胞マーカーとして利用できる可能性が示唆されている（特許文献1：特表2010-532169公報）。

[0013]

癌幹細胞は、癌の再発や転移の主要な原因と考えられており、癌治療において癌幹細胞を標的にすることの重要性が指摘されている。しかし、腫瘍組織内における癌幹細胞の比率はわずかしがなく、癌幹細胞のみをターゲットとした治療薬では、癌細胞全体を殺傷することが出来ないとも考えられている。すなわち、正常組織に比べ、癌幹細胞で極めて高く発現しており、かつ、一般的な癌細胞でも発現しているようなマーカーを標的とする新たな治療法の開発が、癌医療にとって重要な課題である。

[0014]

特定の癌細胞に特異的に発現する分子に対するモノクローナル抗体が、抗体細胞表面上の抗原である膜タンパク質に結合した後、細胞内に取り込まれる機構が存在する。この現象はインターナリゼーション（internalization）と呼ばれる。インターナリゼーションは本来、リガンドが受容体に結合した際に生じる細胞シグナル伝達機構の一種であり、ホルモンやサイトカイン受容体の他、トランスポーターでも報告されている。抗体が結合することによってインターナリゼーションが起きる事を利用し、抗体に薬物を結合させることで、標的分子を特異的に発現する細胞を標的とした、新たな分子標的薬-薬剤混合医薬の開発が進められ、これらはAntibody-Drug Conjugate（ADC）と呼ばれる。

[0015]

ADCの中では、ハーセプチン（trastuzumab）とDM1（faxane系薬剤）を結合させたkadcyla（trastuzumab emtansine 又はT-DM1）がHER2陽性進行乳癌に対する治療薬として承認されている。この治療メカニズムとして、抗癌剤で

ある DMI が細胞内に取り込まれることにより、HER2 陽性細胞を効果的に殺傷することが出来ると報告されている（非特許文献 6 : Cancer Res 2008; 68: (22). November 15, 2008）。

[0016]

- 5 膜タンパク質には、リガンドと結合する受容体だけでなく、アミノ酸や糖等の低分子化合物を能動的あるいは受動的に輸送する輸送タンパク質（以下、トランスポーターと記載する）も存在する。これらの分子は、細胞の内外の分子を透過させる役割を持つため、Internalization を起こさないと考えられてきた。しかし、非特許文献 7（The Journal of Biological Chemistry, 285, 27289-27301, 2010）に示されるように、SLC6A3（Sodium depended dopamine transporter）は恒常的に internalization を引き起こしていることが報告されており、受容体だけでなくトランスポーターも抗体に結合させた薬剤を効率良く細胞内へ輸送できる可能性がある。

[0017]

- 15 MCT5（Monocarboxylate transporter 5）は、487 アミノ酸からなる膜タンパク質であり、NCBI（米国生物工学情報センター）Reference Sequences [RefSeq] ID:NM_004696.2, NP_004687.1 として登録されている（配列番号 1 : 塩基配列、配列番号 2 : アミノ酸配列）。MCT5 は輸送する物質が同定されていないオーファントランスポーターであり、アミノ酸配列の相同性から MCT グループに分類
- 20 されている。

[0018]

[特許文献]

特許文献 1 : 特表 2010-532169 公報

[0019]

- 25 [非特許文献]

非特許文献 1 : Nature Reviews, 5, 591-602, 2005

非特許文献 2 : British Journal of Cancer, 94, 1016-1020, 2006

非特許文献 3 : Cancer Research, 57, 4593-4599, 1997

非特許文献 4 : Journal of Clinical Oncology, 22, 1201-1208, 2004

非特許文献 5 : GASTROENTEROLOGY, 138, 2151-2162, 2010

非特許文献 6 : Cancer Research, 68, 9280-90, 2008

非特許文献 7 : The Journal of Biological Chemistry, 285, 27289-27301, 2010

5 発明の開示

[0020]

一般的に癌の手術による治療は、転移巣の治療が困難であるばかりでなく、侵襲と合併症の併発を伴うことが問題である。また、化学療法や放射線治療は副作用が問題となっている。さらに、既存の抗体医薬品は副作用の発生に加えて、奏効性を全く示さない癌が存在する。そこで、癌特異的な分子標的及び副作用の少ない新たな医薬品の開発が求められていた。

[0021]

本発明者らは、上記課題を解決すべく研究を重ねた結果、通常のカリシウムよりも浸潤能の高い癌に高く発現している MCT5 の細胞外ドメインを認識する抗 MCT5 モノクローナル抗体を細胞と反応させた場合に、少なくともクラスリン経路を通して細胞内にインターナリゼーションすることを見出した。すなわち、抗 MCT5 モノクローナル抗体と抗癌剤とをコンジュゲートすることで効果的に癌細胞を殺傷することができることを見出し、本発明を完成させた。

[0022]

20 すなわち、本発明は以下の通りである。

- (1) MCT5 又はその断片に対するモノクローナル抗体。
- (2) MCT5 の断片が、MCT5 の細胞外領域の断片である (1) に記載の抗体。
- (3) MCT5 の細胞外領域の断片が、配列番号 4 で示されるアミノ酸配列からなるものである (1) 又は (2) に記載の抗体。
- 25 (4) 抗体が、キメラ抗体、ヒト型化抗体又はヒト化抗体である、(1) ~ (3) のいずれか 1 項に記載の抗体。
- (5) (1) ~ (4) のいずれか 1 項に記載の抗体が結合する抗原決定基に結合する抗体。
- (6) (1) ~ (5) のいずれか 1 項に記載の抗体の断片。

(7) (1) ~ (4) のいずれか 1 項に記載の抗体を産生するハイブリドーマ。

(8) (1) ~ (5) のいずれか 1 項に記載の抗体又は (6) に記載の断片を含む、癌治療用医薬組成物。

5 (9) (1) ~ (5) のいずれか 1 項に記載の抗体又は (6) に記載の断片と、化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープとの組み合わせを含む、癌治療用医薬組成物。

(10) (1) ~ (5) のいずれか 1 項に記載の抗体又は (6) に記載の断片に化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープが結合した複合体を含む、
10 癌治療用医薬組成物。

[0023]

本発明により、MCT5 モノクローナル抗体又は抗原結合断片、当該抗体又は抗原結合断片と抗癌剤をコンジュゲートさせた物質を含む医薬組成物が提供される。当該医薬組成物は、特に乳癌、大腸癌治療用医薬組成物として有用である。
15

[0024]

また、MCT5 は、正常組織に比べ、浸潤能の高い癌細胞で高く発現しているため、本発明によって、悪性度の高いがん細胞を標的とすることができ、癌の進行、転移、再発を抑制する新たな癌の治療薬又は治療法が提供される。

20

図面の簡単な説明

[0025]

図1：ハイブリドーマ細胞が生産するモノクローナル抗体が、マウスを免疫した抗原である ICD4 に反応するか解析した結果を示す図である。

25 図2：ヒト乳癌細胞である MCF7 細胞に MCT5 を過剰発現させた細胞

(MCF7-MCT5 細胞)、高転移性のヒト乳癌細胞である MDA-MB231 細胞及びヒト大腸癌細胞である HCT116 細胞と、抗 MCT5 抗体との反応を細胞免疫染色で解析した結果を示す図である。MCF7-MCT5 細胞の場合は、二次抗体として Alexa555 標識された二次抗体を、MDA-MB231 細胞及び HCT116 細胞では、Alexa488 標識

された二次抗体を用いて解析を行った。MCF7-MCT5 細胞は、MCT5 と同時に EGFP が発現するよう設計した遺伝子が組み込まれているため、488 nm の励起では EGFP の蛍光が見られた。

図 3 : 抗 MCT5 モノクローナル抗体であるクローン番号 IMI4C4a 抗体が、ヒ
5 ト大腸癌細胞である HCT116 細胞の細胞表面に結合することを、Flow-cytometry を用いて解析した結果である。細胞と抗体とを反応後、Alexa488 標識された二次抗体を反応させ、解析した結果を示す図である。

図 4 : ヒト乳癌細胞である SK-BR3 細胞、MDA-MB231 細胞及びヒト大腸癌細胞である HCT116 細胞と IMI4C4a 抗体を反応させ、Alexa488 標識された二次抗体と
10 反応後、抗体の細胞内への取り込みを継時的に解析した結果を示す図である。図左側に示した時間は、抗体と反応させた後の培養時間を示している。また、図右はハーセプチンと SK-BR3 細胞とを同様に解析した結果を示す図である。抗体 (緑の蛍光) が継時的に細胞の内部に取り込まれることが示されている。また、Lysosome (赤の蛍光) は、pH 感受性の蛍光色素である LysoTracker DND-99
15 で染色された部分である。

図 5 : HCT116 細胞を図上部に示した濃度の Concanavalin A で 1 時間処理した後、IMI4C4a 抗体と反応させ、継時的な細胞内の取り込みを解析した結果を示す図である。

図 6 : HCT116 細胞を 0.5 mg/ml の Concanavalin A で 1 時間処理した後、
20 IMI4C4a 抗体、107 抗体、217 抗体、221 抗体、223 抗体、303 抗体、306 抗体、及び 301 抗体と反応させ、細胞内への取り込みを阻害した状態で、抗体と細胞との反応性を解析した結果を示す図である。

図 7 : 抗体-saporin 複合体により MCF7-MCT5 細胞の増殖が抑制されるか解析を行った結果を示す図である。図下に記載の濃度は、培地中に添加した
25 Streptavidin-ZAP (Streptavidin-saporin 複合体) の濃度を示した。また、使用したビオチン化抗体は全て 50 nM である。

発明を実施するための形態

[0026]

以下、本発明を詳細に説明する。なお、本発明は、以下の形態に限定されるものではなく、本発明の要旨の範囲内で適宜変形して実施することができる。

[0027]

本発明は、MCT5 に結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。また、本発明は、当該抗体、抗原結合断片、及びそれらを含有する医薬組成物、並びに当該抗体を産生するハイブリドーマ細胞、当該抗体及び断片を製造するための核酸、組換え発現ベクター、及び細胞に関する。

本発明者は、以前の研究において、MCT5 が乳癌及び大腸癌に発現すること、並びに、MCT5 を認識するモノクローナル抗体が大腸癌の検出薬及び診断薬として利用できることを見出した。さらに、従来、細胞内ドメインと考えられていた MCT5 の塩基配列 751~774 の領域(AATTTAACAGTCTCACAAAATCAA(配列番号3))、アミノ酸残基 251~258 の領域 (NLTVSQNQ(配列番号4)) が、細胞外に存在している事を示した。加えて、MCT5 を過剰発現させたヒト乳癌細胞の浸潤能が増加すること、抗 MCT5 抗体(クローン番号 IMI4C4a) は腫瘍組織の一部のみに結合すること、及び抗 MCT5 抗体陽性組織は、乳癌組織の進行ステージが進むにつれて発現する割合が上昇することから、MCT5 は浸潤能の高い乳癌に特異的に発現し、抗 MCT5 抗体は悪性度の高い乳癌を検出することが出来る事を示した。さらに、IMI4C4a 抗体は MCT5 タンパク質の 251~258 番目(配列番号4: アミノ酸配列) をエピトープとしていることを示した。

20 [0028]

本発明は、MCT5 に結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合断片に抗癌剤を結合させた、抗体-抗癌剤複合体を含有する医薬組成物に関する。

[0029]

25 MCT5 (Monocarboxylate transporter 5) は、複数回膜貫通型の膜タンパク質であり、輸送する物質が確定していないオーファントランスポーターである。細胞内外の乳酸濃度の調節に係る MCT1 及び MCT4 とのアミノ酸配列の相同性から、同様な機能を有すると予測されている。

[0030]

本発明は、膜タンパク質である MCT5 が、癌の組織において過剰発現されるタンパク質であり、通常の癌細胞よりも、癌の再発や転移の主要な原因である浸潤性の高い癌細胞に高く発現しているという知見に基づくものである。

[0031]

- 5 本発明は、MCT5 の細胞外領域を認識するモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を提供する。MCT5 は乳癌及び大腸癌等の癌細胞で発現するため、この抗体は、乳癌及び大腸癌等の癌細胞に特異的に結合する。

[0032]

1. 本発明の抗 MCT5 抗体

- 10 本発明のモノクローナル抗体（以下「本発明の抗 MCT5 抗体」ともいう）は、ネイティブな MCT5 を認識することができる。「ネイティブな」とは、そのタンパク質が生体内の環境で有するインタクトな立体構造の状態にあることをいう。

[0033]

- 15 また、本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、MCT5 の細胞外領域を認識することができる。詳しくは、本発明の抗 MCT5 抗体は、MCT5 の細胞外領域内の立体構造の少なくとも一部をエピトープとして認識する。特に、細胞外領域は、MCT5 遺伝子の塩基配列 751～774 の領域の塩基配列（配列番号 3）によりコードされ、アミノ酸残基 251～258 の領域（配列番号 4）を認識
20 することができる。

[0034]

- 本発明の抗 MCT5 抗体は、配列番号 4 に示すアミノ酸配列を有するポリペプチドへの結合活性が保たれる範囲、すなわち結合対象のポリペプチドが MCT5 の細胞外領域としての機能を有する限りにおいて、配列番号 4 に示すアミノ酸
25 配列の 1 個若しくは数個（例えば 2、3、4 又は 5 個）のアミノ酸の置換、欠失若しくは挿入が行われている変異型ポリペプチド、配列番号 4 に示すアミノ酸配列に 50%以上、好ましくは 62.5%以上、75%以上、あるいは 87.5%以上の同一性を有する変異型ポリペプチドを認識するものであってもよい。

[0035]

また、本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、MCT5 の細胞外領域としての機能を有するポリペプチドであって、配列番号 3 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドでコードされるポリペプチド、配列番号 3 に記載の塩基配列を含むポリヌクレオチドでコードされるポリペプチド、配列番号 3 に記載の塩基配列に 70%以上、好ましくは 75%以上、79%以上、83%以上、87.5%以上、91%以上、あるいは 95%以上の同一性を有するポリヌクレオチドでコードされる変異型ポリペプチド又は配列番号 3 に記載の塩基配列と高ストリンジエントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を含むポリヌクレオチドでコードされる変異型ポリペプチドを認識するものであってもよい。ここで、ハイブリダイゼーションは、公知の方法(例えば、Molecular Cloning 2nd Ed (Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に従って行うことができる。高ストリンジエントな条件は、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいい、例えば、ナトリウム濃度が 10 mM~300 mM、好ましくは 20 mM~100 mM であり、温度が 25℃~70℃、好ましくは 42℃~55℃での条件をいう。あるいは、本発明の抗 MCT5 抗体は MCT5 に結合するものであるから、上記変異型ポリペプチドにおいて、本発明の抗 MCT5 抗体が結合することができるものは、抗体の配列番号 4 のアミノ酸配列を有するポリペプチドへの結合活性が保たれることを示し、すなわち MCT5 の細胞外領域としての機能を有するポリペプチドに含まれる。

[0036]

変異型ポリペプチドが MCT5 の細胞外ドメインとしての機能を有しているかどうかは、動物細胞などで変異型ポリペプチドを強制発現させ、浸潤能が増加するかどうかを、マトリゲルインベーションチャンバー等の浸潤アッセイを用いることにより確認することができる。また、MCT5 の細胞外領域は、浸潤能の高い癌細胞において発現が上昇するマーカータンパク質の細胞表面部位である。変異型ポリペプチドが MCT5 の細胞外ドメインとしての機能を有しているかどうかは、正常細胞と癌細胞における変異型ポリペプチドの発現を、免疫染色、ELISA、免疫沈降、ウエスタンブロッティング、Flow cytometryなどで比較することにより確認することができる。

[0037]

本発明の抗 MCT5 抗体とエピトープ又は変異型ポリペプチドとの結合は、ELISA、免疫沈降、ウエスタンブロッティングなどにより確認することができる。

5 [0038]

また、本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、MCT5 の mRNA バリエントがコードするタンパク質をも認識する。全長の MCT5 だけでなく、一部を欠損した変異体にも結合することができるため、MCT5 を発現する癌細胞と広範に結合することが可能である。

10 [0039]

本発明において、「抗体」は、2つの重鎖及び2つの軽鎖よりなる免疫グロブリン分子である。各重鎖は、重鎖可変領域 (VH) 及び重鎖定常領域 (CH) よりなる。この重鎖定常領域は、3つのドメイン CH1、CH2 及び CH3 よりなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域 (VL) 及び軽鎖定常領域 (CL) よりなる。軽鎖定常領域は、1つのドメイン CL よりなる。重鎖可変領域及び軽鎖可変領域は、更に、フレームワーク領域 (FR) と呼ばれる比較的保存されている領域と相補性決定領域 (CDR) と呼ばれる超可変領域よりなる。各 VH 及び VL は、3つの CDR と4つの FR よりなり、アミノ末端からカルボキシ末端まで FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 の順で配置されている。本発明の抗 MCT5 抗体は、完全長であ
15 ってもよいし、抗原結合断片であってもよい。

[0040]

本発明において、抗体の「抗原結合部分」（又は単に「抗体部分」）は、抗原（例えば、MCT5）に特異的に結合する能力を保持する抗体の1つ以上の断片をいう。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片により遂行され得ることが
25 知られている。抗体の「抗原結合部分」の例として、限定されるわけではないが、Fab、F(ab')₂、Fd 断片、Fv、dAb、CDR、scFv、ディアボディなどが挙げられる。Fab 及び F(ab')₂ 断片等の抗体部分は、慣用の技術、例えば、それぞれ、全抗体のパパイン又はペプシン消化を用いて、完全長抗体から調製することが

できる。また、抗体及び抗原結合断片は、標準的な組換え DNA 技術を用いて得ることができる。

[0041]

本発明においては、種々の遺伝子工学的及びタンパク質工学的な手法により、
5 モノクローナル抗体の一部である抗原結合断片若しくは抗体断片、低分子化抗体、遺伝子組換え抗体、抗体修飾物などの抗体様分子、又はモノクローナル抗体が融合したタンパク質を作製することができる。具体的には、限定されるわけではないが、例えば、H鎖、L鎖、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、sdFv、sc(Fv)₂、(scFv)₂、ディアボディ、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、一本鎖抗体、二
10 重特異性抗体などの多重特異性抗体などが挙げられる。いずれも、MCT5 の細胞外領域への結合能を有している分子であれば、本発明の抗 MCT5 抗体に含まれる。

[0042]

本発明の抗 MCT5 抗体が認識する MCT5 は、検出対象となる細胞集団において、
15 正常細胞では発現せず、浸潤能の高い癌細胞で発現の高い分子マーカーである。したがって、当該抗体は、悪性度の高い癌細胞に結合する。

[0043]

本発明における「癌細胞」とは、正常細胞に比べ、高い増殖力や細胞分裂の回数に制限がない、周辺組織への浸潤や転移を起こすなどの特徴を持っている
20 細胞集団のことをいう。

[0044]

本発明における「浸潤能の高い癌細胞」とは、癌細胞のうち当初の存在場所から離れた部位へ浸潤する能力を持つ細胞をいう。例えば、ヒト乳癌細胞である MCF7 細胞の浸潤能は極めて低いかほとんどない。一方、MCF7 細胞から浸潤
25 能を亢進させた MCF7-14 細胞は浸潤能が高く、移植部位から他の臓器へと浸潤するため、浸潤能の高い性質を有する細胞である (BMC Cancer (2010), 10, 414)。浸潤能の高い細胞は、マトリゲルインベージョンチャンバー等を用いた浸潤能試験により評価することが出来る。マトリゲルは基底膜を模倣しており、マト

リゲル層の上部に細胞を播種し、培養することで、マトリゲル層を通過（浸潤）しやすい細胞集団として検出することが出来る。

[0045]

本発明における「正常細胞」とは、生体又は組織の活動において、正常な機能
5 能を有する細胞のことを指す。正常細胞は、体性幹細胞を含んでもよいが、好ましくは成熟細胞である。

[0046]

本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、浸潤能の高い癌細胞に強く結合するとともに、1 又は複数の癌種の癌細胞に結合することが出来る。
10 好ましくは、当該癌種及び癌細胞は、心臓、脳、胎盤、肺、肝臓、骨格筋、腎臓、膵臓、脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、白血球、結腸、胃、骨髄、大腸及び末梢血単核球などの細胞または組織由来の 1 又は複数の癌種であり、より好ましくは乳癌、大腸癌の癌細胞である。

[0047]

さらに、本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、正常細胞には結合しない。好ましくは、例えば、心臓、脳、胎盤、肺、骨格筋、腎臓、脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、白血球、結腸、骨髄、大腸及び末梢血
15 単核球などの少なくとも 1 つ以上において、正常細胞に結合しない。

[0048]

本発明の抗 MCT5 抗体は、下記ハイブリドーマにより產生される抗 MCT5 モノクローナル抗体が好ましい。本発明のモノクローナル抗体を產生する細胞株（ハイブリドーマ）としては、例えば、「Mouse-Mouse hybridoma IMI4C4a」（以下「IMI4C4a」という）、「Mouse-Mouse hybridoma IMI4C12a」（以下「IMI4C12a」という）が挙げられる。
20

25 [0049]

本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、キメラ抗体である。「キメラ抗体」は、重鎖定常領域及び軽鎖定常領域がヒトに由来し、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域がヒト以外（例、マウス）に由来する抗体を意味する。本明細書において、定常領域がヒトに由来し、可変領域がマウスに由来する抗

体又は抗原結合断片を、マウスーヒトキメラ抗体又は抗原結合断片と称することもある。

[0050]

これらの特徴を有する本発明の抗 MCT5 抗体は、MCT5 の細胞外ドメインの部分タンパク質を用いて免疫することで得る事が出来る。データベースにおける MCT5 は 12 回膜貫通型のタンパク質であり、IMI4C4a 抗体の抗原である ICD4 は細胞内ドメインと予測されていた。しかしながら、特願 2014-203162 号公報に開示されるように、MCT5 の膜貫通回数及び／又は細胞外ドメインはデータベースと一致せず、少なくとも ICD4 は細胞外に露出されている。すなわち、MCT5 の細胞外ドメインを認識するモノクローナル抗体は、細胞外ドメインである領域を同定し、その部分に対するモノクローナル抗体を作製することが必要である。このようにして新たに予測された細胞外ドメインを含むアミノ酸配列を抗原として作製したモノクローナル抗体は抗 MCT5 抗体として利用できる。

[0051]

15 本発明の一態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、以下の特徴を有する。

本発明の抗体は、MCT5 の立体構造がデータベースとは異なる事を見出したことにより、新たに得られた抗体であるために、細胞表面上のネイティブな MCT5 を認識することができる。また、抗 MCT5 抗体である IMI4C4a のエピトープの近傍を抗原とした従来のモノクローナル抗体 (HPA046986) は、ネイティブな MCT5 を認識することが出来ず、細胞表面上の MCT5 に結合しない。これに対して、本発明の抗体の認識部位は MCT5 の細胞外ドメインに結合し、生きた細胞に結合することができる。そのため、本発明の抗 MCT5 抗体は、MCT5 を発現する癌細胞を標的とする治療薬として有効である。

[0052]

25 加えて、従来の抗体はポリクローナル抗体であり、均質な抗体を継続的に生産することが困難であったが、本発明の抗体はモノクローナル抗体であるため、再現性よく量産することが可能である。これらの特徴から、本発明の抗体は、癌の治療に利用することが出来る。

[0053]

また、MCT5 に対する抗体又は抗原結合断片は、上記ハイブリドーマ IMI4C4a により産生される MCT5 に対するマウスモノクローナル抗体そのものに限られず、これらのハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体が認識するエピトープに結合する限り、本発明の抗 MCT5 抗体に含まれる。ここでいう「エ
5 ピトープ」とは、上記ハイブリドーマが産生するモノクローナル抗体が認識するエピトープ (MCT5 のアミノ酸配列のうち、第 196 番目から第 299 番目までのアミノ酸残基のほか、これらの領域の一部であってもよい。) を指す。さらに、MCT5 の領域、第 38 番目から第 87 番目までのアミノ酸残基のほか、これらの領域の一部、又は第 416 番目から第 458 番目までのアミノ酸残基のほか、これら
10 の領域の一部、であってもよい。

[0054]

本発明の抗体は、組換え手段により調製され、発現される遺伝子組換え抗体又は抗原結合断片であってもよい。例えば、本発明の抗 MCT5 抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、または完全ヒト抗体であってもよい。本発明の組換え抗体
15 は、重鎖及び軽鎖の組換え発現によって製造することができる。例えば、マウスーヒトキメラ抗体であれば、MCT5 タンパク質に対する抗体を産生するマウス細胞から抗体遺伝子を単離し、その重鎖 (H 鎖) 定常領域をヒト IgG の H 鎖定常領域遺伝子に組換え、マウス骨髓腫細胞に導入することにより調製できる。ヒト化抗体は、例えば、MCT5 タンパク質に対する抗体を産生するマウス細胞か
20 ら単離した抗体の抗原結合部位の遺伝子をヒト由来の抗体分子に移植することにより調製できる。また、ヒト抗体は、免疫系をヒトと入れ換えたマウスを MCT5 タンパク質で免疫することにより調製することが可能である。また、モノクローナル抗体が融合したタンパク質は、抗原に結合する抗体の可変領域とその他のタンパク質を既存の遺伝子組み換えの手法を用いることにより作製す
25 ることが出来る。あるいは、モノクローナル抗体とタンパク質とをクロスリンカーを用いて架橋することにより作製することが出来る。

[0055]

遺伝子組換え抗体を発現させるには、例えば、該抗体の重鎖及び軽鎖をコードする核酸を有する組換え発現ベクターを、宿主細胞に導入し、当該ベクター

が導入された宿主細胞を培養する。当該宿主細胞の培養物から目的の抗体を回収することができる。これらの核酸、組換え発現ベクター、当該ベクターが導入された宿主細胞、当該宿主細胞を用いる抗体又は抗原結合断片の製造方法は、本発明に含まれる。抗体の重鎖及び軽鎖の遺伝子を入手し、これらの核酸を発
5 現ベクターに組み込み、宿主細胞に導入するには、当分野で標準的な組換え DNA 方法（Sambroock ら、Molecular Cloning, Cold Spring Harbor, N. Y. など）を採用することができる。

[0056]

VH 及び VL をコードする DNA 断片は、当分野で標準的な組換え DNA 方法によ
10 って、例えば、Fab 遺伝子、scFv 遺伝子、完全長抗体遺伝子とするために、さらに操作することができる。

[0057]

また、VH をコードする核酸（例えば DNA）は、VH をコードする DNA と重鎖定常領域（CH1、CH2 及び CH3）をコードする DNA と発現可能に結合することによ
15 って、完全長の重鎖遺伝子へと変換することができる。ヒト、マウス等由来の重鎖定常領域の核酸配列は、当分野で公知である。

[0058]

本発明の抗 MCT5 抗体としては、例えば、重鎖可変領域（VH）の相補性決定領域（CDR）1～3 のアミノ酸配列がそれぞれ配列番号 7、8、及び 9 で示される
20 アミノ酸配列を含むもの若しくは当該アミノ酸配列からなるもの、及び／又は軽鎖可変領域（VL）の相補性決定領域（CDR）1～3 のアミノ酸配列がそれぞれ配列番号 12、13 及び 14 で示されるアミノ酸配列を含むもの若しくは当該アミノ酸配列からなるものが好ましい。また別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体としては、例えば、重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列が、配列番号 6 で
25 示されるアミノ酸配列を含むもの若しくは当該アミノ酸配列からなるもの（配列番号 5 に示す塩基配列によりコードされる）、及び／又は軽鎖可変領域（VL）のアミノ酸配列が、配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含むもの若しくは当該アミノ酸配列からなるもの（配列番号 10 に示す塩基配列によりコードされる）が好ましい。

[0 0 5 9]

H鎖のV領域配列 DNA 配列 (配列番号 5)

ATGAAATGCAGCTGGGTCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGCTG
CAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGGCCTTAGTCAAGTTGTCCTGCAAAGCTTCTGGCTTC
5 AACATTAAAGACTACTATATGTTCTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGG
ATTGATCCTGAGAATGGTAATACTATATTTGACCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCAGTATAACAGCAGAC
ACATCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTACTGT
GCTAGAATGATTACGACCTATTACTATGCTATGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCC
TCAGCC

10 [0 0 6 0]

アミノ酸配列 (配列番号 6)

MKCSWVIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGAELVRPGALVKLSCKASGFNIKDYIMFWVKQRPEQGLEWIGW
IDPENGNTIFDPKFQGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCARMITTYYYAMDFWQGQTSVTVS
SA

15 [0 0 6 1]

H鎖のCDR領域 VH-CDR1 : FNIKDYIMF (46-54) (配列番号 7)

VH-CDR2 : WIDPENGNTIFDPKFQGK (69-86) (配列番号 8)

VH-CDR3 : MITTYYYAMDFW (118-129) (配列番号 9)

[0 0 6 2]

20 L鎖のV領域配列 DNA 配列 (配列番号 10)

ATGGCCTGGACTCCTCTCTTCTTCTTCTTTGTTCTTCATTGCTCAGGTTCTTTCTCCCAACTTGTGCTC
ACTCAGTCATCTTCAGCCTCTTTCTCCCTGGGAGCCTCAGCAAACTCACGTGCACCTTGAGTAGTCAG
CACAGTACGTACACCATTTGAATGGTATCAGCAACAGCCACTCAAGCCTCCTAAGTATGTGATGGAGCTT
AAGAAAGATGGAAGCCACAGCACAGGTGATGGGATTCTGATCGCTTCTCTGGATCCAGCTCTGGTGCT
25 GATCGTACCTTAGCGTTTCCAGCATCCAGCCTGAAGATGAAGCAATATACATCTGTGGTGTGGGTTAT
ACAATTAAGGAACAATTTGTGTATGTTTTCGGCGGTGGAACCAAG

[0 0 6 3]

アミノ酸配列 (配列番号 11)

MAWTPLFFFFVLHCSGSFSQLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQQQPLKPPKYVMEL
KKDGSHTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSVSSIQPEDEAIYICGVGYTIKEQFVYVFGGGTK

[0064]

L鎖のCDR領域VL-CDR1 : SQHSTYT (45-51) (配列番号 12)

5 VL-CDR2 : ELKKGSHST (68-77) (配列番号 13)

VL-CDR3 : GYTIKEQ (114-120) (配列番号 14)

[0065]

ここで、VH及びVLコードする核酸が、例えばマウスに由来する核酸であり、
重鎖及び軽鎖定常領域をコードする核酸がヒトに由来する核酸を使用すれば、

10 マウスーヒトキメラの抗体又は抗原結合断片を取得することができる。

[0066]

本発明の抗体又は抗原結合断片を発現するには、上記のとおり得た部分又は
完全長の重鎖遺伝子及び軽鎖遺伝子を発現ベクターに挿入する。重鎖遺伝子及
び軽鎖遺伝子は、別個のベクターに挿入するか、あるいは、両遺伝子とも同じ
15 発現ベクターに挿入する。抗体遺伝子は標準的な方法によって、発現ベクター
内に挿入することができる。また、発現ベクターには、宿主細胞からの抗体鎖
の分泌を促すシグナルペプチドをコードさせることもできる。シグナルペプチ
ドは、免疫グロブリンシグナルペプチドであってもよいし、異種のシグナルペ
プチドであってもよい。また、発現ベクターはその他の調節配列を含有してい
20 てもよく、当業者であれば公知の技術に基づき、調節配列を選択し、発現ベク
ターに導入することができる。

[0067]

抗MCT5抗体のエピトープ

本発明の抗MCT5抗体のエピトープ（抗原決定基）は、抗原であるMCT5の少
25 なくとも一部であればよく限定はされないが、MCT5の細胞外領域の少なくとも
一部が好ましく、例えば、配列番号2で示されるMCT5のアミノ酸配列のうち、
第196番目～第299番目のアミノ酸からなる領域（配列番号15）の少なくとも
一部であることが好ましい。なかでも、第227番目～第258番目のアミノ酸か
らなる領域（配列番号16）の少なくとも一部がより好ましく、特に好ましくは、

第 251 番目～第 258 番目のアミノ酸（配列番号 4）からなる領域の少なくとも一部である。当該領域を認識する（当該領域と結合する）抗 MCT5 抗体は、例えば、生体試料中の MCT5 の検出感度が高く、後述する癌の検出及び診断の用途に極めて有用なものである。

5 [0068]

ICD4（配列番号 15）

RPIHIKSENNSGIKDKGSSLSAHGPEAHATETHCHETEESTIKDSTTQKAGLPSKNLTVSQNQSEEFYN

GPNNRRLLLKSDEESDKVISWSCKQLFDISLFRNP

ICD4_227-258（配列番号 16）

10 THCHETEESTIKDSTTQKAGLPSKNLTVSQNQ

[0069]

また、MCT5 には mRNA のスプライシングの違いにより、6 種類のアイソフォームが存在する。具体的には、ヒト MCT5 の場合、(i) MCT5 の代表的な配列であり、最も長いアミノ酸配列を持つ isoform 1（配列番号 2）、(ii) isoform

15 1 の第 74 番目から第 121 番目までのアミノ酸が欠如したペプチド (isoform 2)、(iii) isoform 1 における N 末端から第 62 番目までのアミノ酸が欠如し、

isoform 1 の第 63 番目から第 73 番目のアミノ酸配列（配列番号 17）とは異なるアミノ酸配列（配列番号 18）を有するペプチド (isoform 3)、(iv) isoform 1 における N 末端から第 110 番目までのアミノ酸が欠如し、isoform 1 の第 111

20 番目から第 120 番目のアミノ酸配列とは異なる配列（配列番号 19）を有し、及び

第 446 番目から C 末端のアミノ酸配列が isoform 1（配列番号 2）とは異なる配列（配列番号 20）を有するペプチド (isoform 4)、(v) isoform 1 の第 176 番目から第 343 番目のアミノ酸配列が欠如したペプチド (isoform 5)、(vi)

isoform 1 における N 末端から第 62 番目までのアミノ酸が欠如し、isoform 1

25 の第 63 番目から第 73 番目のアミノ酸配列（配列番号 17）とは異なるアミノ酸配列（配列番号 18）を有し、isoform 1 の第 176 番目から 343 番目が欠如したペプチド (isoform 6)、などが存在する。

[0070]

これらのペプチドの中で isoform 2、isoform 3 および isoform 4 の 3 種類は、配列番号 2 で示される MCT5 の isoform 1 のアミノ酸配列のうち、第 196 番目～第 299 番目のアミノ酸からなる領域において、MCT5 の isoform 1 と共通する。従って、本発明の抗体は isoform 1 以外のこれら 3 種の isoform も検出することができる。

また、配列番号 17 を含む抗原を用いて作製した抗体は、isoform 1 に加え、isoform 2 及び isoform 5 も検出することが出来る。さらに、配列番号 19 を用いて作製した抗体は、isoform 3、isoform 4 及び isoform 6 も検出することが出来る。

10 [0071]

また、本発明の抗 MCT5 抗体のエピトープ（抗原決定基）には、他の動物由来の MCT5 における上記領域に相当する領域の少なくとも一部が含まれる。

本発明の MCT5 に対する抗体には、当該抗体が結合する部位（例えばエピトープ）に結合する抗体、例えば、本発明のハイブリドーマが産生する抗体が結合する部位に結合する抗体が含まれる。

[0072]

Isoform 1 の第 63 番目から第 73 番目のアミノ酸配列（配列番号 17）

GSIMSSLRFCA

Isoform 3 と Isoform 6 が有する配列番号 17 とは異なる配列（配列番号 18）

20 MGMDDCDSFFP

Isoform 4 が有する Isoform 1 の 111 番目から 120 番目とは異なるアミノ酸配列（配列番号 19）

MGMDDCDSFF

Isoform 4 が有する、Isoform 1 の第 446 番目から C 末端とは異なるアミノ酸配列（配列番号 20）

EIIPSFQAGYMIIPRHTMALSTSLAYAISSLQFPFFLYHWPKGKTV

[0073]

遺伝子組換え抗体の作製

本発明の抗体の好ましい態様の一つとして、遺伝子組換え抗体が挙げられる。遺伝子組換え抗体としては、限定はされないが、例えば、キメラ抗体、ヒト型化抗体及びヒト化抗体等が挙げられる。

キメラ抗体（すなわちヒト型キメラ抗体）は、マウス由来抗体の可変領域を
5 ヒト由来の定常領域に連結（接合）した抗体であり（Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 81, 6851-6855, (1984) 等を参照）、キメラを作製する場合は、そのように連結した抗体が得られるよう、遺伝子組換え技術によって容易に構築できる。

[0074]

10 ここで、マウス由来抗体の可変領域としては、重鎖可変領域が、例えば配列番号6で示されるアミノ酸配列を含むもの若しくは当該アミノ酸配列からなるものが好ましく、軽鎖可変領域が、例えば配列番号11で示されるアミノ酸配列を含むもの若しくは当該アミノ酸配列からなるものが好ましい。

マウス-ヒトキメラ抗体としては、重鎖可変領域をヒトの定常領域と結合さ
15 せたアミノ酸配列（配列番号29）、軽鎖可変領域をヒトの定常領域と結合させたアミノ酸配列（配列番号32）を含むもの若しくは当該アミノ酸からなるものが好ましい。

[0075]

ヒト型化抗体を作製する場合は、いわゆる CDR グラフティング（CDR 移植）
20 と呼ばれる手法を採用することができる。CDR グラフティングとは、マウス抗体の可変領域から相補性決定領域（CDR）をヒト可変領域に移植して、フレームワーク領域（FR）はヒト由来のもので CDR はマウス由来のものからなる、再構成した可変領域を作製する方法である。次に、これらのヒト型化された再構成ヒト可変領域をヒト定常領域に連結する。このようなヒト型化抗体の作製法
25 は、当分野において周知である（Nature, 321, 522-525 (1986) ; J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987) ; Queen C et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86: 10029-10033 (1989) ; 特許第 2828340 号公報等を参照）。ここで、本発明のヒト型化抗 MCT5 抗体に用いることができるマウス由来の CDR のアミノ酸配列としては、限定されるものではないが、例えば、重鎖可変領域の CDR1~3 として、

それぞれ配列番号 7、8 及び 9 で示されるアミノ酸配列が好ましく、軽鎖可変領域の CDR1~3 として、それぞれ配列番号 12、13 及び 14 で示されるアミノ酸配列が好ましい。

[0076]

- 5 ヒト抗体（完全ヒト抗体）は、一般に可変領域（V 領域）の抗原結合部位である超可変領域（hyper variable region）、V 領域のその他の部分及び定常領域の構造が、ヒトの抗体と同じ構造を有するものである。ヒト抗体を作製する技術も公知であり、ヒトに共通の遺伝子配列については遺伝子工学的手法によって作製する方法が確立されている。ヒト抗体は、例えば、ヒト抗体の重鎖（H
- 10 鎖）及び軽鎖（L 鎖）の遺伝子を含むヒト染色体断片を有するヒト抗体産生マウスを用いた方法（Tomizuka, K. et al., *Nature Genetics*, (1977) 16, 133-143; Kuroiwa, Y. et al., *Nuc. Acids Res.*, (1998) 26, 3447-3448; Yoshida, H. et al., *Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects*, (1999) 10, 69-73 (Kitagawa, Y., Matuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic
- 15 Publishers; Tomizuka, K. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (2000) 97, 722-727 等を参照）や、ヒト抗体ライブラリーより選別したファージディスプレイ由来のヒト抗体を取得する方法（Wormstone, I. M. et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, (2002) 43 (7), 2301-8; Carmen, S. et al., *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*, (2002) 1 (2), 189-203;
- 20 Siriwardena, D. et al., *Ophthalmology*, (2002) 109 (3), 427-431 等を参照）により取得することができる。

[0077]

- また、本発明においては、ハイブリドーマ又は当該ハイブリドーマから抽出した DNA 若しくは RNA などを原料として、上述した周知の方法に準じてキメラ
- 25 抗体、ヒト型化抗体、ヒト化抗体を作製することができる。

さらに、本発明の抗体が融合したタンパク質は、抗体の可変領域とその他のタンパク質を公知の遺伝子組換え方法を用いることにより作製することができる。また、当該融合タンパク質は、モノクローナル抗体と他のタンパク質とをクロスリンカーを用いて架橋することにより作製することができる。

[0078]

抗体断片の作製

本発明で使用される MCT5 に対する抗体の断片は、MCT5 に特異的に結合する。

- 抗体の断片は、本発明の抗体の一部分の領域を意味し、例えば、Fab、Fab'、
5 F(ab')₂、Fv、diabody (dibodies)、dsFv、scFv (single chain Fv) などが挙げられる。上記抗体断片は、本発明の抗体を目的に応じて各種タンパク質分解酵素で切断することにより得ることができる。

- 例えば、Fab は、抗体分子をパパインで処理することにより、F(ab')₂ は、抗体分子をペプシンで処理することによりそれぞれ得ることができる。また、
10 Fab' は、上記 F(ab')₂ のヒンジ領域のジスルフィド結合を切断することで得ることができる。

[0079]

- scFv の場合は、抗体の重鎖可変領域 (H 鎖 V 領域) 及び軽鎖可変領域 (L 鎖 V 領域) をコードする cDNA を取得し、scFv をコードする DNA を構築する。こ
15 の DNA を発現ベクターに挿入し、当該発現ベクターを宿主生物に導入して発現させることにより、scFv を製造することができる。

- diabody の場合は、抗体の H 鎖 V 領域及び L 鎖 V 領域をコードする cDNA を取得し、ペプチドリinkerのアミノ酸配列の長さが8残基以下となるように scFv をコードする DNA を構築する。この DNA を発現ベクターに挿入し、当該発現ベ
20 クターを宿主生物に導入して発現させることにより、diabody を製造することができる。

[0080]

- dsFv の場合は、抗体の H 鎖 V 領域及び L 鎖 V 領域をコードする cDNA を取得し、dsFv をコードする DNA を構築する。この DNA を発現ベクターに挿入し、当
25 該発現ベクターを宿主生物に導入して発現させることにより、dsFv を製造することができる。

本発明において、重鎖可変領域をコードする DNA の塩基配列としては、例えば配列番号5で示される塩基配列を含むもの又は当該塩基配列からなるものが挙げられ、軽鎖可変領域をコードする DNA の塩基配列としては、例えば配列番

号 10 で示される塩基配列を含むもの又は当該塩基配列からなるものが挙げられる。

[0081]

また、本発明の抗体断片の具体例としては、限定されるものではないが、例
5 えば、VH CDR1～3 のアミノ酸配列としてそれぞれ配列番号 7、8 及び 9 で示されるアミノ酸配列を含み、かつ／又は VL CDR1～3 のアミノ酸配列としてそれぞれ配列番号 12、13 及び 14 で示されるアミノ酸配列を含む、抗体断片が挙げられる。さらに、VH として配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含み、かつ／又は VL として配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含む、抗体断片が挙げら
10 れる。

[0082]

CDR を含む抗体断片（ペプチド）は、VH 又は VL の CDR（CDR1～3）の少なくとも 1 領域以上を含んで構成される。複数の CDR を含む抗体断片は、直接又は
15 適当なペプチドリンカーを介して結合させることができる。CDR を含む抗体断片は、抗体の VH 及び VL の CDR をコードする DNA を構築し、該 DNA を原核生物用発現ベクター又は真核生物用発現ベクターに挿入して、該発現ベクターを原核生物又は真核生物へ導入することにより発現させて、製造することができる。
また、CDR を含むペプチドは、Fmoc 法（フルオレニルメチルオキシカルボニル法）及び tBoc 法（*t*-ブチルオキシカルボニル法）等の化学合成法によって
20 製造することもできる。

[0083]

VH の CDR1～3 をコードする塩基配列としては、例えば、それぞれ配列番号
21、22 及び 23 で示される塩基配列が好ましく、VL の CDR1～3 をコードする塩
基配列としては、例えば、それぞれ配列番号 24、25 及び 26 で示される塩基配
25 列が好ましい。

[0084]

VH-CDR1 塩基配列 (配列番号 21)

TTCAACATTAAAGACTACTATATGTTC

VH-CDR2 塩基配列 (配列番号 22)

TGGATTGATCCTGAGAATGGTAATACTATATTTGACCCGAAGTCCAGGGCAAG

VH-CDR3 塩基配列 (配列番号 23)

ATGATTACGACCTATTACTATGCTATGGACTTCTGG

[0085]

5 VL-CDR1 塩基配列 (配列番号 24)

AGTCAGCACAGTACGTACACC

VL-CDR2 塩基配列 (配列番号 25)

GAGCTTAAGAAAGATGGAAGCCACAGCACA

VL-CDR3 塩基配列 (配列番号 26)

10 GGTATACAATTAAGGAACAA

[0086]

IMI4C4a 抗体のマウス-ヒトキメラ抗体のH鎖塩基配列 (配列番号 27)

ATGAAATGCAGCTGGGTCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTAGCTG

CAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGGCCTTAGTCAAGTTGCTCTGCAAAGCTTCTGGCTTC

15 AACATTAAAGACTACTATATGTTCTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGG

ATTGATCCTGAGAATGGTAATACTATATTTGACCCGAAGTCCAGGGCAAGGCCAGTATAACAGCAGAC

ACATCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTACTGT

GCTAGAATGATTACGACCTATTACTATGCTATGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCC

GCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA

20 GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC

CTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG

GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC

ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA

CCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCC

25 CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG

TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC

CGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTC

TCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA

CAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC

AAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAG
ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG
AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

5 [0087]

IMI4C4a 抗体のマウス-ヒトキメラ抗体の H 鎖アミノ酸配列 (配列番号 28)

MKCSWVIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGAELVRPGALVKLSCKASGFNIKDYMFVVKQRPEQGLEWIGW
IDPENGNTIFDPKFQGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCARMITTYYYAMDFWGQGSTVTVS
AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
10 VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0088]

15 IMI4C4a 抗体のマウス-ヒトキメラ抗体の L 鎖塩基配列 (配列番号 29)

ATGGCCTGGACTCCTCTCTTCTTCTTCTTGTTCCTTCATTGCTCAGGTTCTTCTCCCAACTTGTGCTC
ACTCAGTCATCTTCAGCCTCTTCTCCCTGGGAGCCTCAGCAAACTCACGTGCACCTTGAGTAGTCAG
CACAGTACGTACACCATTGAATGGTATCAGCAACAGCCACTCAAGCCTCCTAAGTATGTGATGGAGCTT
AAGAAAGATGGAAGCCACAGCACAGGTGATGGGATTCCTGATCGCTTCTCTGGATCCAGCTCTGGTGCT
20 GATCGCTACCTTAGCGTTTCCAGCATCCAGCCTGAAGATGAAGCAATATACATCTGTGGTGTGGGTTAT
ACAATTAAGGAACAATTTGTGTATGTTTTCGGCGGTGGAACCAAGGTCAGTGTCTAGGTCAGCCCAAG
GCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTG
TGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG
GCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGC
25 CTGACGCCTGAGCAGTGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCCTG
GAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTTCATAG

[0089]

IMI4C4a 抗体のマウス-ヒトキメラ抗体の L 鎖アミノ酸配列 (配列番号 30)

MAWTPLFFFFVLHCSGSFSQLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQQQLKPPKYVMEL
 KKDGSHSTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSVSSIQPEDEAIYICGVGYTIKEQFVYVFGGGTKVTVLGQPK
 AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLS
 LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS*

5 [0 0 9 0]

結合親和性

結合親和性は、結合定数 (KA) 及び解離定数 (KD) により決定することができる。
 親和性平衡定数 (K) は KA/KD の比で表される。その結合親和性は、以下のよう
 にして検出することができる。

- 10 結合親和性は、少なくとも 1×10^{-10} M の解離定数 (KD) を有しており、この解
 離定数に対し、例えば 2～5 倍、5～10 倍、10～100 倍、100～1000 倍又は 1000
 ～10,000 倍高い親和性を有する。具体的には、本発明の抗体は、MCT5 の結合
 親和性に関する解離定数 (KD) が、 1×10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 1×10^{-11} M、 5×10^{-12} M、
 1×10^{-12} M、 5×10^{-13} M、 1×10^{-13} M、 5×10^{-14} M、 1×10^{-14} M、 5×10^{-15} M、又は 1×10^{-15} M
 15 であり、 1×10^{-10} M～ 1×10^{-13} M であることがより好ましい。あるいはこれらの
 KD よりも低い値であり高親和性であってもよい。

[0 0 9 1]

- ここで、親和性の測定対象となる抗体の解離定数 (KD) が、本発明の抗体の KD
 の約 1～100 倍以内であるときは、当該抗体は、本発明の抗体と実質的に同一
 20 であるとして本発明に含まれる。

結合定数 (KA) 及び解離定数 (KD) は、表面プラズモン共鳴 (SPR) を用いて測定
 することができ、結合率をリアルタイムで検出し、さらにモニタリングする公
 知の機器及び方法を採用することができる(例えば Biacore(登録商標) T200 (GE
 Healthcare 社)、ProteON XPR36 (Bio-Rad 社) など)。

25 [0 0 9 2]

癌の治療用試薬 (抗癌剤)

本発明の組換え抗体を発現するのに好ましい哺乳動物細胞としては、チャイ
 ニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞)、COS 細胞、293 細胞、HeLa 細胞、3T3
 細胞などが挙げられる。抗体重鎖及び軽鎖をコードする組換え発現ベクターを

公知の遺伝子導入方法によって、好ましい宿主細胞に導入する。得られた形質転換体を培養し、培養物から目的の抗体又は抗原結合断片を回収する。公知の精製技術により、抗体又は抗原結合断片を精製してもよい。

[0093]

- 5 本発明の別の態様において、本発明の抗 MCT5 抗体は、キメラ抗体である。
- 「キメラ抗体」は、重鎖定常領域及び軽鎖の定常領域がヒトに由来し、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域がヒト以外 (例、マウス) に由来する抗体を意味する。本明細書において、定常領域がヒトに由来し、可変領域がマウスに由来する抗体又は抗原結合断片を、ヒト-マウスキメラ抗体又は抗原結合断片と称することもある。
- 10

[0094]

本発明の抗体コンジュゲート

- 本発明の別の態様において、本発明のモノクローナル抗体 (その抗原結合断片を含む) は、少なくとも 1 種類の化学療法剤 (抗がん剤を含む)、トキシン、
- 15 又はラジオアイソトープをコンジュゲートして複合体とすることができ、そのような複合体 (本発明の抗体コンジュゲートともいう) も、本発明の範囲に含まれる。

[0095]

- 例えば、本発明の別の態様において、本発明のモノクローナル抗体とラジオ
- 20 アイソトープを含む抗体コンジュゲートであって、本発明のモノクローナル抗体が検出可能なラジオアイソトープとコンジュゲート形成している抗体コンジュゲートが提供される。検出可能なラジオアイソトープは、例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 又は ^{153}Sm である。

[0096]

- 25 例えば、本発明の別の態様において、本発明のモノクローナル抗体と抗がん剤又はトキシンとを含む抗体コンジュゲートであって、本発明のモノクローナル抗体が抗がん剤またはトキシンと複合体を形成している抗体コンジュゲートが提供される。前記化学療法剤は好ましくは抗がん剤である。また、トキシンは、好ましくはサポニン、DM1 (N2'-Deacetyl-N2'-(3-mercapto-1-

oxopropyl)-maytansine)、DM4 (N2'-Deacetyl-N2'-(4-mercapto-4-methyl-1-oxopentyl)-maytansine)、MMAE (Monomethyl auristatin E)、SN38 である。

[0097]

癌の化学療法を実施する場合の化学療法剤の作用機構には限定されず、「化学療法剤」は癌の治療において有用な化学化合物である。化学療法剤の種類には、限定するものではないが、アルキル化剤 (alkylating agent)、アンチメタボライ、紡錘体阻害剤植物アルカロイド、細胞障害性/抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害薬、抗体、光増感剤及びキナーゼ阻害薬が含まれる。化学療法剤は、「ターゲティング療法」と従来の化学療法とに用いられる化合物を含む。化学療法剤の例には、エルロチニブ (TARCEVA (登録商標), Genentech/OSI Pharm.)、ドセタキセル (TAXOTERE (登録商標), Sanofi-Aventis)、5-FU (フルオロウラシル、5 - フルオロウラシル、CAS 番号 51-21-8)、ゲムシタビン (GEMZAR (登録商標), Lilly)、PD-0325901 (CAS 番号 391210-10-9, Pfizer)、シスプラチン (シス-ジアミン、ジクロロ白金 (II)、CAS 番号 15, 663-27-1)、カルボプラチン (CAS 番号 41575-94-4)、パクリタキセル (TAXOL (登録商標), Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、トラスツズマブ (HERCEPTIN (登録商標), Genentech)、テモゾロミド (4-メチル-5-オキソ-2, 3, 4, 6, 8-ペントアザ二環式 [4. 3. 0] ノナ-2, 7, 9-トリエン-9-カルボキシアミド、CAS 番号 85622-93-1, TEMODAR (登録商標), TEMODAL (登録商標), Schering Plough)、タモキシフェン ((Z)-2-[4-(1,2-ジフェニルブト-1-エニル)フェノキシ]-N,N-ジメチル-エタンアミド, NOLVADEX (登録商標), ISTUBAL (登録商標), VALODEX (登録商標))、及びドキソルビシン (ADRIAMYCIN (登録商標))、Akti-1/2、HPPD 及びラパマイシンが含まれる。

[0098]

化学療法剤の他の例には、オキサリプラチン (ELOXATIN (登録商標), Sanofi)、ボルテゾミブ (VELCADE (登録商標), Millennium Pharm.)、スーテント (SUNITINIB (登録商標), SU11248, Pfizer)、レトロゾール (FEMARA (登録商標), Novartis)、メシル酸イマチニブ (GLEEVEC (登録商標), Novartis)、XL-518 (Mek インヒビター, Exelixis, 国際公開 2007/044515)、ARRY-886 (Mek

インヒビター, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126 (PI3K
インヒビター, Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K インヒビター,
Novartis)、XL-147 (PI3K インヒビター, Exelixis)、PTK787/ZK 222584
(Novartis)、フルベストラント (FASLODEX (登録商標), AstraZeneca)、
5 リューコボリン (フォリン酸)、ラパマイシン (シロリムス, RAPAMUNE (登録
商標), Wyeth)、ラパチニブ (TYKERB (登録商標), GSK572016, Glaxo Smith
Kline)、ロナファーニブ (SARASAR TM, SCH 66336, Schering Plough)、ソ
ラフェニブ (NEXAVAR (登録商標), BAY43-9006, Bayer Labs)、ゲフィチニ
ブ (IRESSA (登録商標), AstraZeneca)、イリノテカン (CAMPTOSAR (登録商
10 標), CPT-11, Pfizer)、ティピファニブ (ZARNESTRA TM, Johnson & Johnson)、
ABRAXANE TM (Cremophor-free)、パクリタキセルのアルブミン-変更ナノ粒子
製剤 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL)、バンデタニブ
(rINN, ZD6474, ZACTIMA (登録商標), AstraZeneca)、クロラムブシル、AG1478、
AG1571 (SU5271; Sugen)、テムシロリムス (TORISEL (登録商標), Wyeth)、
15 パゾパニブ (GlaxoSmithKline)、カンフォスファミド (TELCYTA (登録商標),
Telik)、チオテパ、及びシクロフォスファミド (CYTOXAN (登録商標)、NEOSAR
(登録商標)) ; ブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファンのよ
うなスルホン酸アルキル類 ; ベンゾドーパ (benzodopa)、カルボコン、メツ
レドーパ (meturedopa)、及びウレドーパ (uredopa) のようなアジリジン類 ;
20 アルトレートアミン (altretamine)、トリエチレンメラミン、トリエチレン
ホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド
(triethylenethiophosphoramidate) 及びトリメチローロメラミン
(trimethylolomelamine) を含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類 ; ア
セトゲニン (acetogenins) (特にブラタシン (bullatacin) 及びブラタシノ
25 ン (bullatacinone)) ; カンプトセシン (合成類似体トポテカン (topotecan)
を含む) ; プリオスタチン ; カリスタチン (callistatin) ; CC-1065 (そのア
ドゼレシン (adozelesin)、カルゼレシン (carzelesin) 及びバイゼレシン
(bizelesin) 合成類似体を含む) ; クリプトフィシン (cryptophycin) (特
にクリプトフィシン1 及びクリプトフィシン8) ; ドラスタチン (dolastatin) ;

- デュオカルマイシン (duocarmycin) (合成類似体、KW-2189 及び CBI-TM1 を含む) ; エレトロビン (eleutherobin) ; パンクラチスタチン (pancratistatin) ; サルコディクチン (sarcodictyin) ; スポンジスタチン (spongistatin) ; クロランブシル、クロルナファジン (chlornaphazine) 、
- 5 チョロホスファミド (cholophosphamide) 、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンビチン (novembichin) 、フェネステリン (phenesterine) 、プレドニムスチン (prednimustine) 、トロフォスファミド (trofosfamide) 、ウラシルマスタート等のナイトロジェンマスタート;ニトロスレアス (nitrosureas)、
- 10 例えばカルムスチン (carmustine) 、クロロゾトシン (chlorozotocin) 、フォテムスチン (fotemustine) 、ロムスチン (lomustine) 、ニムスチン、ラニムスチン;エネジイン (enediynes) 抗生物質等の抗生物質 (例えば、カリケアマイシン (calicheamicin) 、カリケアマイシガンマ II 及びカリケアマイシンオメガ II、例えば、Agnew Chem Intl. Ed. Engl., 33 : 183-186 (1994)
- 15 を参照のこと;ダイネミシン (dynemicin) 、ダイネミシン A (dynemicin A) ; クロドロネート (clodronate) などのビスホスホネート (bisphosphonates) ; エスペラマイシン (esperamicin) ; 同様にネオカルチノスタチン発光団及び関連色素蛋白エネジイン (enediynes) 抗生物質発光団)、アクラシノマイシン (aclacinomysins) 、アクチノマイシン、オースラマイシン (authramycin) 、
- 20 アザセリン、ブレオマイシン (bleomycins) 、カクチノマイシン (cactinomycin) 、カラビシン (carabycin) 、カルミノマイシン (carminomycin) 、カルジノフィリン (carzinophilin) 、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン (detorubicin) 、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、モルフォリノードキソルビシン、シアノモルフォリノードキソルビシン、2-ピ
- 25 ロリノードキソルビシン及びデオキシドキソルビシンを含む)、エピルビシン、エソルビシン (esorubicin) 、イダルビシン、マセロマイシン (marcellomycin) 、マイトマイシン C などのマイトマイシン (mitomycins) 、マイコフェノール酸 (mycophenolic acid) 、ノガラマイシン (nogalamycin) 、オリボマイシン (olivomycins) 、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (potfiromycin) 、

ピューロマイシン、クエラマイシン(quelamycin)、ロドルビシン(rodorubicin)、
ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン(tubercidin)、ウベ
ニメクス、ジノスタチン(zinostatin)、ゾルビシン(zorubicin)；メトト
レキセート及び5-フルオロウラシル(5-FU)のような抗-代謝産物；デノプテ
5 リン(denopterin)、メトトレキセート、プテロプテリン(pteropterin)、
トリメトレキセート(trimetrexate)のような葉酸類似体；フルダラビン
(fludarabine)、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンのよう
なプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン(azacitidine)、6-アザウリ
ジン(azauridine)、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキ
10 シフルリジン、エノシタビン(enocitabine)、フロキシウリジン(floxuridine)
のようなピリミジン類似体；カルステロン(calusterone)、プロピオン酸ド
ロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン
(testolactone)のようなアンドロゲン類；アミノグルテチミド、ミトタン、
トリロスタンのような抗副腎剤；フロリン酸(frolinic acid)のような葉酸
15 リプレニッシャー(replenisher)；アセグラトン；アルドホスファミドグリ
コシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル(eniluracil)；アムサクリン
(amsacrine)；ベストラブシル(bestrabucil)；ビスアントレン(bisantrene)；
エダトラキセート(edatraxate)；デフォファミン(defofamine)；デメコル
シン(demecolcine)；ジアジコン(diaziquone)；エルフォルニチン
20 (elfornithine)；酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate)；エポチロ
ン(epothilone)；エトグルシド(etoglucid)；硝酸ガリウム；ヒドロキシ
尿素；レンチナン；ロニダミン(lonidamine)；メイタンシン(maytansine)
及びアンサマイトシン(ansamitocin)のようなメイタンシノイド
(maytansinoid)；ミトグアゾン(mitoguazone)；ミトキサントロン；モピ
25 ダモール(mopidamol)；ニトラクリン(nitracrine)；ペントスタチン；フ
ェナメット(phenamet)；ピラルビシン；ポドフィリン酸(podophyllinic acid)；
2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK(登録商標)多糖類複合体(JHS
Natural Products, Eugene, OR)；ラゾキサン(razoxane)；リゾキシ
(rhizoxin)；シゾフィラン；スピロゲルマニウム(spirogermanium)；テニ

ュアゾン酸 (tenuazonic acid) ; トリアジコン (triaziquone) ; 2, 2', 2''-
 トリクロロトリエチルアミン ; トリコテセン (trichothecenes) (T-2 トキシ
 ン、ベラキュリンA (verracurin A)、ロリデンA (roridin A) 及びアングイ
 デン (anguidine)) ; ウレタン ; ビンデシン ; ダカルバジン ; マンノムスチ
 5 ン (mannomustine) ; ミトブロニトール ; ミトラクトール (mitolactol) ; ピ
 ポブロマン (pipobroman) ; ガシトシン (gacytosine) ; アラビノシド (「Ara-C」) ;
 シクロホスファミド ; チオテパ ; 6-チオグアニン ; メルカプトプリン ; メトト
 レキセート ; シスプラチン及びカルボプラチンのようなプラチナ類似体 ; ビン
 プラスチン ; エトポシド (VP-16) ; ミトキサントン ; ビンクリスチン ; ビノ
 10 レルビン (NAVELBINE (登録商標)) ; ナベルビン (Navelbine) ; ノバントロ
 ン (novantrone) ; テニポシド ; エダトレキセート ; ダウノマイシン ; アミノ
 プテリン ; カペシタビン (XELODA (登録商標), Roche) ; イバンドロナート
 (ibandronate) ; CPT-11 ; トポイソメラーゼインヒビターRFS2000 ; ジフルオ
 ロメチロールニチン (DMF0) ; レチノイン酸などのレチノイド類 ; 並びに上述
 15 したものの製薬的に許容可能な塩類、酸類及び誘導体が含まれる。

[0099]

また、「化学療法剤」の定義には、(i) 腫瘍に対するホルモン作用を調節又
 は阻害するように働く抗ホルモン剤、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン
 レセプターモジュレーター (SERM) など、例えばタモキシフェン (NOLVADEX (登
 20 録商標) タモキシフェンクエン酸塩)、ラロキシフェン (raloxifene)、ドロ
 ロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン (trioxifene)、
 ケオキシフェン (keoxifene)、LY117018、オナプリストーン (onapristone)、
 及びFARESTON (登録商標) (クエン酸トレミフェン) ; (ii) アロマターゼ酵
 素を阻害するアロマターゼ阻害物質、それらは副腎でのエストロゲン産生を調
 25 節するものであり、例えば4(5)-イミダゾール類、アミノグルテチミド、MEGASE
 (登録商標) (メゲストロールアセテート)、AROMASIN (登録商標) (エキセ
 メスタン, Pfizer)、ホルメスタイン (formestane)、ファドロゾール、RIVISOR
 (登録商標) (ゾロゾール (vorozole))、FEMARA (登録商標) (レトロゾー
 ル, Novartis) 及びARIMIDEX (登録商標) (アナストロゾール, AstraZeneca) ;

- (iii) 抗アンドロゲン、例えばフルタミド (flutamide)、ニルタミド (nilutamide)、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；並びにトロキサシタビン (troxycitabine) (1, 3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体)；(iv) プロテインキナーゼインヒビター、例えばMEKインヒビター (国際公開 2007/044515)；(v) 脂質キナーゼインヒビター；(vi) アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に不粘着性細胞増殖に関係するシグナル伝達経路の遺伝子の発現を抑制するもの、例えばPKC- α 、Raf 及びH-Ras、オブリメルセン (GENASENSE (登録商標), Genta Inc.)；(vii) リボザイム、例えばVEGF発現インヒビター (例えばANGIOZYME (登録商標)) 及びHER2発現インヒビター；(viii) 遺伝子治療ワクチン、例えばALLOVECTIN (登録商標)、LEUVECTIN (登録商標) 及びVAXID (登録商標) などのワクチン；PROLEUKIN (登録商標) r IL-2；LURTOTECAN (登録商標) などのトポイソメラーゼ1インヒビター；ABARELIX (登録商標) r mRH；(ix) ベバシズマブ (AVASTIN (登録商標), Genentech) などの抗血管形成剤；並びに上記のものの製薬的に許容可能な塩類、酸類又は誘導体が含まれる。また、「化学療法剤」の定義には、治療的抗体、例として、アレムツズマブ (Campath)、ベバシズマブ (アバステイン (登録商標), Genentech)；セツキシマブ (ERBITUX (登録商標), Imclone)；パニツムマブ (VECTIBIX (登録商標), Amgen)、リツキシマブ (RITUXAN (登録商標), Genentech/Biogen Idec)、ペルツズマブ (OMNITARG TM, 2C4, Genentech)、トラスツズマブ (HERCEPTIN (登録商標), Genentech)、トシツモマブ (Bexxar, Corixa)、及び抗体薬剤コンジュゲート、ゲムツズマブ オゾガマイシン (MYLOTARG (登録商標), Wyeth) が含まれる。

[0100]

- MCT5 モノクローナル抗体及びそれと組み合わされる化学療法剤としての治療的能力を有するヒト化モノクローナル抗体には、アレムツズマブ、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ベバシズマブ、ビバツズマブ・メルタンシン、カンツズマブ・メルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブ・ペゴール、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エピラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、

フォントリズマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、イノツズマブ・オゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メボリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコ
5 リズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、パーツズマブ、パキセリズマブ、
ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、
ロベリズマブ、ルプリズマブ、シブロットズマブ、シプリズマブ、ソんツズマブ、
タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、
トシリズマブ、トラリズマブ、トラスツズマブ、ツコツズマブ・セルモロイキ
10 ン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ及びビシリズマブが含まれる。

[0101]

「代謝産物」は、特定の化合物又は塩の体内の代謝によって生産される生成物である。化合物の代謝産物は当分野で公知の慣例技術を使用して同定されて
15 もよく、それらの活性は本明細書中に記載のものなどの試験を用いて決定されてもよい。このような生成物は、例えば、投与される化合物の酸化、還元、加水分解、アミド化、アミド分解、エステル化、エステル分解、酵素の切断などから生じうる。したがって、本発明は、代謝産物が得られるために十分な時間、
本発明の化合物を哺乳動物と接触させることを含む方法によって産生される
20 化合物を含む、本発明の化合物の代謝産物を含む。

[0102]

本発明のモノクローナル抗体は、化学療法剤（抗がん剤を含む）、トキシン又はラジオアイソトープと直接又は間接的に結合（コンジュゲーション）することができる。間接的な結合には、リンカーを介した結合や本発明のモノクロー
25 ーナル抗体に結合する抗体または抗体断片を介する結合が含まれる。例えば、蛍光標識などの標識物質でコンジュゲートされた抗体と本発明のモノクローナル抗体との結合によって形成された抗体コンジュゲートも、本発明に含まれる。

[0103]

さらに、本発明のモノクローナル抗体は、ナチュラルキラー細胞（NK 細胞）やマクロファージなどの、殺腫瘍活性又は腫瘍抑制活性を有するエフェクター細胞に対して特異的な抗原結合領域を含むことが望ましい。

- ここで、「殺腫瘍活性」とは、腫瘍細胞を破壊又は死滅させる活性を意味し、
- 5 「腫瘍抑制活性」とは腫瘍細胞の数を減少させる活性又は腫瘍細胞の増殖速度を抑制させる活性を意味する。

- エフェクター細胞に対して特異的な抗原結合領域を含む本発明のモノクローナル抗体ががん細胞に結合すると、エフェクター細胞が当該抗体に結合し、抗体依存性細胞傷害（ADCC、Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity）活
- 10 性によりがん細胞を死滅させることが可能となる。

同様に、このような領域を含む本発明のモノクローナル抗体ががん細胞に結合すると、補体系が活性化し、CDC（Complement-Dependent Cytotoxicity：補体依存性細胞傷害）活性によってがん細胞を死滅させることが可能となる。

[0104]

- 15 本発明の医薬組成物

- 本発明において、本発明の抗 MCT5 抗体（抗原結合断片を含む）を含む医薬組成物が提供される。本発明の抗 MCT5 抗体は、がん細胞に発現する MCT5 を認識する。本発明の抗 MCT5 抗体を含む本発明の医薬組成物は、MCT5 を発現するがん細胞を殺傷するために使用することが可能である。すなわち、本発明の医
- 20 薬組成物は、がん治療用医薬組成物、好ましくは大腸がん治療用医薬組成物として有用である。また、本発明の医薬組成物は、がん治療剤として使用することができる。

[0105]

- 本発明のモノクローナル抗体は、化学療法剤、トキシン又はラジオアイソト
- 25 ープとコンジュゲートされていてもよい。したがって、本発明の別の態様において、本発明の抗体コンジュゲートを含む、医薬組成物が提供される。

[0106]

本発明のモノクローナル抗体はがん細胞に発現する MCT5 を認識するため、本発明のモノクローナル抗体（抗体コンジュゲートを含む）を含む本発明の医

薬組成物は、がん治療用医薬組成物、好ましくは大腸がん治療用医薬組成物として有用である。

[0107]

また、本発明の医薬組成物は、がん治療剤としても使用することができる。

- 5 本発明のがん治療剤には、抗 MCT5 抗体単独、あるいは、必要に応じて薬学的に許容される抗がん剤や担体を適宜抗 MCT5 抗体に結合させたものが含まれる。あるいは本発明の癌治療剤は他の治療様式と組み合わせて用いることができる。

[0108]

- 10 また、本発明のモノクローナル抗体は、がん細胞に発現する MCT5 を認識し、かつ、細胞膜上の MCT5 に結合した後、Internalization（内在化）機構を介して、細胞内に取り込まれる。したがって、本発明の医薬組成物は、MCT5 を発現するがん細胞を殺傷するために使用することが可能である。特に、化学療法剤と本発明のモノクローナル抗体を含む抗体コンジュゲートを含む場合、抗体に
- 15 コンジュゲートした化学療法剤もがん細胞に取り込まれ得るため、本発明の医薬組成物は、がん患者におけるがん細胞を殺傷するために有用である。

[0109]

- 本発明において、がんの治療には、がん細胞を殺傷すること、がんの大きさを減少させること、がんの増殖速度を抑制若しくは停止させること、又はがん
- 20 の進行を抑制もしくは停止させることなどが含まれる。

[0110]

- 本発明の医薬組成物は、本発明の抗体と、化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープとを組み合わせた医薬組成物とすることができる。併用させる抗がん剤として、本発明の医薬組成物に含まれる化学療法剤と同じものを用いて
- 25 もよいし、あるいは異なる化学療法剤を用いてもよい。抗がん剤の投与量及び投与方法は、当業者であれば適宜設定することができる。

[0111]

本発明の医薬組成物の治療対象のがんの種類は特に限定されず、MCT5 を発現していればよく、例えば、悪性黒色腫、悪性リンパ腫、消化器がん、肺がん、

- 食道がん、胃がん、大腸がん、直腸がん、結腸がん、尿管腫瘍、胆嚢がん、胆管がん、胆道がん、乳がん、肝がん（肝臓がん）、膵臓がん、睾丸腫瘍、上顎がん、舌がん、口唇がん、口腔がん、咽頭がん、喉頭がん、腎臓がん、卵巣がん、子宮がん、前立腺がん、甲状腺がん、脳腫瘍、カポジ肉腫、血管腫、白血病、真性多血症、神経芽腫、網膜芽腫、骨髄腫、膀胱腫、肉腫、骨肉腫、筋肉腫、皮膚がん、基底細胞がん、皮膚付属器がん、皮膚転移がん、皮膚黒色腫などが挙げられる。好ましくは、大腸がん、胃がん、膀胱がん、腎がん、子宮がん、乳がんであり、さらに好ましくは大腸がん、乳がん、子宮がんである。

[0 1 1 2]

- 10 本発明の医薬組成物の投与方法は、経口投与、非経口投与（例えば、皮下投与、皮内投与、粘膜投与、直腸内投与、腔内投与、患部への局所投与、皮膚投与など）、又は患部への直接投与などが挙げられる。

[0 1 1 3]

- 15 本発明の医薬組成物の投与量は、一般には、投与対象（患者）の年齢、体重、病気の種類・進行状況や、投与経路、投与回数、投与期間等を勘案し、適宜設定することができる。

[0 1 1 4]

- 20 本発明の医薬組成物の投与量は、一般には、製剤中の有効成分の配合割合を考慮した上で、投与対象（患者）の年齢、体重、病気の種類・進行状況や、投与経路、投与回数、投与期間等を勘案し、適宜設定することができる。有効成分としては、本発明のモノクローナル抗体にコンジュゲートされる化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープ等が挙げられる。

[0 1 1 5]

- 25 本発明の医薬組成物を非経口剤として用いる場合について、以下に具体的に説明する。

非経口剤として用いる場合、一般にその形態は限定されるものではなく、例えば、静脈内注射剤（点滴を含む）、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤、皮下注射剤、坐剤等のいずれであってもよい。

[0 1 1 6]

各種注射剤の場合は、例えば、単位投与量アンプル又は多投与量容器の状態や、使用時に溶解液に再溶解させる凍結乾燥粉末の状態を提供され得る。当該非経口剤には、前述した活性成分（本発明の抗 MCT5 抗体又はその抗原結合断片）のほかに、各種形態に応じ、公知の各種賦形剤や添加剤を上記活性成分の
5 効果が損なわれない範囲で含有することができる。例えば、各種注射剤の場合は、水、グリセロール、プロピレングリコールや、ポリエチレングリコール等の脂肪族ポリアルコール等が挙げられる。

[0117]

非経口剤の投与量（1日あたり）は、限定はされないが、例えば各種注射剤
10 であれば、一般には、前述した活性成分は、適用対象（患者）の体重 1 kg あたり 1 mg～15 mg/日であることが好ましく、より好ましくは 2～12 mg/日である。

[0118]

経口剤として用いる場合、一般にその形態は限定されず、例えば、錠剤、カ
15 プセル剤、顆粒剤、散剤、丸剤、トローチ剤、内用水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤等のいずれであってもよいし、使用する際に再溶解させる乾燥生成物にしてもよい。

[0119]

本発明の医薬組成物は、必要に応じて薬学的に許容可能な添加剤を配合する
20 ことができる。薬学的に許容可能な添加剤の具体例としては、抗酸化剤、保存剤、着色料、風味料、及び希釈剤、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィラー、増量剤、緩衝剤、送達ビヒクル、希釈剤、キャリア、賦形剤及び／又は薬学的アジュバントなどが挙げられるが、これらに限定されない。

[0120]

25 本発明は、がん、例えば大腸がんを治療するための本発明の抗 MCT5 抗体を含むキットを提供する。本発明のキットは、本発明の抗 MCT5 抗体を含むものであれば、それを構成する材料は特に限定されない。本発明の抗 MCT5 抗体のほか、水、緩衝液、容器、シリンジ、取扱説明書などを具備すればよい。本発明の抗 MCT5 抗体は、水溶液、凍結乾燥状態などにて提供され、使用前に適切

な状態に調製してもよい。本発明のキットを用いることにより、がんを効果的に治療することが可能となる。

[0 1 2 1]

また、本発明は、本発明の抗 MCT5 抗体を対象（例えば、ヒト）に投与することを含む、がんの治療方法も提供する。また、本発明は、がんの治療に使用するための本発明の抗 MCT5 抗体をも提供する。抗 MCT5 抗体の投与量、投与方法などは、本発明の医薬組成物の記載を参照することができる。

[0 1 2 2]

本発明は、本発明のモノクローナル抗体を対象に投与することを含む、がんの治療方法も提供する。本発明の治療方法において、本発明のモノクローナル抗体は化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープとコンジュゲートを形成していてもよい。すなわち、本発明の治療方法は、本発明の抗体コンジュゲートを対象に投与することを含むものであってもよい。また、本発明のがん治療方法において、さらなる抗がん剤を併用してもよい。

15 [0 1 2 3]

本発明の医薬組成物の投与量は、一般には、投与対象（患者）の年齢、体重、病気の種類・進行状況や、投与経路、投与回数、投与期間等を勘案し、適宜設定することができる。

[0 1 2 4]

20 本発明の医薬組成物を非経口剤として用いる場合について、以下に具体的に説明する。

非経口剤として用いる場合、一般にその形態は限定されるものではなく、例えば、静脈内注射剤（点滴を含む）、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤、皮下注射剤、坐剤等のいずれであってもよい。

25 [0 1 2 5]

各種注射剤の場合は、例えば、単位投与量アンプル又は多投与量容器の状態や、使用時に溶解液に再溶解させる凍結乾燥粉末の状態を提供され得る。当該非経口剤には、前述した活性成分（本発明の抗 MCT5 抗体又はその抗原結合断片）のほかに、各種形態に応じ、公知の各種賦形剤や添加剤を上記活性成分の

効果が損なわれない範囲で含有することができる。例えば、各種注射剤の場合は、水、グリセロール、プロピレングリコールや、ポリエチレングリコール等の脂肪族ポリアルコール等が挙げられる。

[0126]

- 5 非経口剤の投与量（1日あたり）は、限定はされないが、例えば各種注射剤であれば、一般には、前述した活性成分は、適用対象（患者）の体重1 kgあたり1 mg～15 mg/日であることが好ましく、より好ましくは2-12 mg/日である。

[0127]

- 10 経口剤として用いる場合、一般にその形態は限定されず、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、丸剤、トローチ剤、内用水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤等のいずれであってもよいし、使用する際に再溶解させる乾燥生成物にしてもよい。

15

実施例

[0128]

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。ただし、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

- 20 [0129]

実施例1

（1）細胞

- 25 HCT116はDSファーマより、MDA-MB231はAmerican Type Culture collection (ATCC 受託番号 HTB-26) より入手した。MCF7細胞にMCT5を過剰発現させた細胞は、特願2014-203162公報に記載された細胞を用いた。

[0130]

（2）モノクローナル抗体

（i）抗体産生細胞の採取

MCT5 と結合するモノクローナル抗体であるクローン番号 IMI4C4a は、MCT5
又は部分ペプチドをそれ自体で、あるいは担体及び希釈剤と共に哺乳動物に投
与することにより免疫し得ることが出来る。例えば MCT5 の第 196 番目～第 299
番目のアミノ酸からなる領域 (配列番号 32) が利用できる。この領域を以下では

- 5 「ICD4」と称す。動物 1 匹当たりの抗原の投与量、用いられるアジュバントの
種類、免疫方法、免疫の間隔はポリクローナル抗体の作製と同様である。最終
の免疫日から 1～30 日後、好ましくは 2～5 日後に、抗体価の認められた個体
を選択し抗体産生細胞を採集する。抗体産生細胞としては、脾臓細胞、リンパ
節細胞、末梢血細胞等が挙げられるが、脾臓細胞又はリンパ節細胞が好ましい。

10 [0 1 3 1]

ICD4 のアミノ酸配列 (配列番号 32)

RPIHIKSENNSGIKDKGSSLSAHGPEAHATETHCHETEESTIKDSTTQKAGLPSKNLTVSQNQSEEFYN
GPNRRNRLLLKSDEESDKVISWSCKQLFDISLFRNP

ICD4 の塩基配列 (配列番号 31)

- 15 agacccatccatatcaaaagtgagaacaattctggtattaaagataaaggcagcagtttgtctgcacat
ggtccagaggcacatgcaacagaaacacactgccatgagacagaagagcttaccatcaaggacagtact
acgcagaaggctggactacctagcaaaaatttaacagctctcacaaaatcaaagtgaagagttctacaat
gggcctaacaggaacagactgttattaaagagtgatgaagaaagtataagggtatttctgtggagctgc
aaacaactgtttgacatttctctcttttagaaatcct

20 [0 1 3 2]

(ii) 細胞融合

ハイブリドーマを得るため、抗体産生細胞とミエローマ細胞との細胞融合を
行う。融合操作は既知の方法、例えば Kohler らの方法に従い実施できる。抗
体産生細胞と融合させるミエローマ細胞として、マウスなどの動物の一般に入
25 手可能な株化細胞を使用することができる。使用する細胞株としては、薬剤選
択性を有し、未融合の状態では HAT 選択培地 (ヒポキサンチン、アミノプテリ
ン、チミジンを含む) で生存できず、抗体産生細胞と融合した状態でのみ生存
できる性質を有するものが好ましい。ミエローマ細胞としては、例えば

P3X63-Ag8、P3X63-Ag8U. 1、SP2/0-Ag14、PAI、P3U1、NSI/1-Ag4-1、NS0/1 など

のマウスミエローマ細胞株、YB2/0などのラットミエローマ細胞株などが挙げられる。

[0133]

- 上記ミエローマ細胞と抗体産生細胞との細胞融合は、血清を含まない DMEM、
- 5 RPMI-1640 培地などの動物細胞培養用培地中で、 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ 個の抗体産生細胞と $2 \times 10^7 \sim 10 \times 10^7$ 個のミエローマ細胞とを混合し（抗体産生細胞とミエローマ細胞との細胞比 10 : 1 ~ 1 : 1）、細胞融合促進剤存在のもとで融合反応を行う。細胞融合促進剤として、平均分子量 1000 ~ 6000 ダルトンのポリエチレングリコール又はセンダイウイルス等を使用することができる。また、電気
- 10 刺激（例えばエレクトロポレーション）を利用した市販の細胞融合装置を用いて抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることもできる。

[0134]

(iii) ハイブリドーマの選別及びクローニング

- 細胞融合処理後の細胞から目的とするハイブリドーマを選別する。その方法
- 15 として、細胞懸濁液を、例えば 10 ~ 20% のウシ胎児血清含有 RPMI-1640 培地などで適当に希釈後、マイクロタイタープレート上に限界希釈法で計算上 0.3 個 / well 程度まき、各ウェルに HAT 培地などの選択培地を加え、以後適当に選択培地を交換して培養を行う。その結果、選択培地で培養開始後、10 日前後から生育してくる細胞をハイブリドーマとして得ることができる。

20 [0135]

- 次に、生育してきたハイブリドーマをさらにスクリーニングする。ハイブリドーマのスクリーニングは、通常の方法に従えばよく、特に限定されるものではない。例えば、ハイブリドーマを培養したウェルに含まれる培養上清の一部を採集し、酵素免疫測定法、放射性免疫測定法等によって、スクリーニング
- 25 することができる。具体的には、96 ウェルプレートに抗原を吸着させた後、仔牛血清、スキムミルク等でブロッキングする。ハイブリドーマ細胞の培養上清を固相化した抗原に 37℃ で 1 時間反応させた後、ペルオキシダーゼ標識した抗マウス IgG を 37℃ で 1 時間反応させ、オルトフェニレンジアミンを基質として用

いて発色させる。酸で反応を停止させた後、490nm の波長における吸光度を測定することにより、スクリーニングすることができる。

[0136]

上記測定法により陽性を示したモノクローナル抗体を産生するハイブリド
5 ドーマを、限界希釈法等によりクローニングする。そして、最終的に、MCT5 に特異的に結合するモノクローナル抗体を産生する細胞であるハイブリドーマを樹立する。

[0137]

(iv) モノクローナル抗体の採取

10 樹立したハイブリドーマからモノクローナル抗体を採取する方法として、通常の細胞培養法又は腹水形成法等を採用することができる。細胞培養法においては、ハイブリドーマを 10%ウシ胎児血清含有 RPMI-1640 培地、MEM 培地又は無血清培地等の動物細胞培養培地中で、通常の培養条件（例えば 37℃、5% CO₂ 濃度）で 7~14 日間培養し、その培養上清から抗体を取得する。腹水形成法の
15 場合は、ミエローマ細胞由来の哺乳動物と同種系動物、例えばマウス (BALB/c) の腹腔内にハイブリドーマを約 $5 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ 個投与し、ハイブリドーマを大量に増殖させる。そして、1~2 週間後に腹水を採取する。上記抗体の採取方法において抗体の精製が必要とされる場合は、硫酸塩析法、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、アフィニティークロマトグラフィーなどの公知の方法を適宜選択して、又はこれらを組み合わせることにより精製することができ
20 る。

[0138]

(3) ELISA

マウスの尾静脈より採取した血液を PBS (-) で 1/160,000 に希釈したサンプル、あるいはハイブリドーマが増殖してきたウェルの培養上清を回収し、抗体
25 の力価を解析した。ICD4 を PBS (-) で希釈し、96 ウェルの ELISA プレート (Nunc 社) に 1 ウェル当たり 50 ng となるよう分注して、室温で 1 時間放置することでプレート表面に結合させた。次に、TBS-T (25 mM Tris、150 mM NaCl、0.05% (v/v) Tween20、pH 7.4) 350 μ L で 3 回洗浄した後、5%スキムミルクを含む

PBS-T を 300 μ L ずつ各ウェルに分注し、1 時間、室温でブロッキングした。TBS-T で洗浄後、希釈した血液あるいは培養上清を ICD4 結合 ELISA プレートに分注し、1 時間、室温で反応させた。TBS-T で洗浄後、ペルオキシダーゼ（以下、POD と記載する）標識抗マウス免疫グロブリン抗体（BETHYL 社製）を 10,000 5 倍希釈したものを各ウェル 100 μ L 分注し、1 時間、室温で反応させた。同様の洗浄を行った後、0.5 mg/mL POD となるよう調製した OPD 基質を加え、室温、5 分間発色させた。1.5N の硫酸で反応を停止した後、490nm の吸収を、プレートリーダー（モレキュラーデバイス社）を用いて測定した。ICD4 を抗原として作製したモノクローナル抗体に関して、それぞれのハイブリドーマ細胞の培養上 10 清を用いて ELISA で解析した結果を図 1 に示した。これらのクローンの中から、限界希釈法により細胞を単クローン化し、以後の実験を行った。

[0139]

（４）免疫細胞染色

MCF7-MCT5、MDA-MB231 及び HCT116 細胞を 80%コンフルエントとなるよう 15 培養し、Cellmatrix type I-A(新田ゼラチン社)でコートした Glass Bottom Dish (MATSUNAMI 社)上に、 1×10^4 cells/well となるよう播種した。1 日間培養後、上記（２）に記載した IMI4C4a 抗体を 10 μ g/mL となるよう培地に希釈した溶液を細胞へ添加し、氷上で 1 時間反応させた。10% FBS を含む培地で洗浄した後、二次抗体として抗マウス IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor488 標識あ 20 るいは抗マウス IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor 555 標識で氷上、30 分間反応させた。培地で 3 回洗浄した後、PBS (-) で洗浄し、蛍光顕微鏡 (BZ-8000、キーエンス社) で解析した。

[0140]

図 2 は、IMI4C4a 抗体で、インタクトな細胞をそれぞれ染色した結果を示す。 25 MCF7-MCT5 細胞は、MCT5 を過剰発現させる際に、EGFP も同時に過剰発現させているため、488 nm の励起では細胞内の EGFP による蛍光が見られる。このため、MCF7-MCT5 細胞の場合には、二次抗体に抗マウス IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor 555 標識を用いた。全ての細胞の場合で、IMI4C4a 抗体は細胞表面に結合していることが示された。

[0141]

(5) Flow cytometry 解析

ヒト大腸がん細胞である HCT116 細胞を 90%コンフルエントとなるよう培養した。細胞を PBS (-) で 2 回洗浄した後、Accutase (Life Technologies 社) を用いて回収し、 4×10^5 cells となるよう 1% FBS を含む PBS (-) 100 mL に懸濁した。この溶液に、最終濃度 10 mg/mL となるよう IMI4C4a 抗体を添加し、氷上で 60 分間反応させた。比較対象として、IMI4C4a 抗体を含まない溶液を添加した細胞を準備した。細胞を PBS+1% PBS で 2 回洗浄後、二次抗体として抗マウス IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor488 標識を 1/1, 1000 倍に希釈した溶液を添加し、氷上で 30 分間反応させた 1% FBS を含む PBS で 2 回洗浄後、FACS Calibur (BD 社) で解析を行った。結果を図 3 に示した。

[0142]

図 3 に示すように、IMI4C4a 抗体は、インタクトな HCT116 細胞と強く反応したことから、本発明の抗 MCT5 抗体は、ネイティブな構造の MCT5 を認識することが確認された。

[0143]

実施例 2

(1) 内在化の解析

上記実施例 1. で示されるように、抗 MCT5 モノクローナル抗体である IMI4C4a 抗体が細胞表面上に結合した後、internalization により細胞内に取り込まれるかを解析した。

ヒト乳癌細胞である SK-BR3、MDA-MB231 及びヒト大腸癌細胞である HCT116 細胞を Glass Bottom Dish 上に、 1×10^4 cells/well となるよう播種した。1 日間培養を行った後、氷上に 15 分間静置して細胞を冷却した。培地を除去後、IMI4C4a 抗体を 10 mg/mL となるよう培地で調製した一次抗体を添加し、氷上で 30 分間反応させた。培地を用いて 2 回洗浄後、二次抗体として抗マウス IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor 488 標識で氷上 30 分反応させた。培地で 2 回洗浄した後、37℃、5%CO₂ 下で 0、15、30、60、120 分間培養を行なった後、氷上で冷却した培地で洗浄した。さらに、細胞内の Lysosome を染色するため

に、PBS に 200 nM となるよう調製した LysoTracker DND-99 (Life Technologies 社) を添加し、室温で 1 分間反応させた後、PBS (-) で 2 回洗浄した後に蛍光顕微鏡を用いて解析を行った。結果を図 4 に示す。

[0 1 4 4]

- 5 一方、抗 HER2 モノクローナル抗体である trastuzumab (標品名 Herceptin) を用い、HER2 強陽性である SK-BR3 細胞を用いて上記と同様の解析を行った。その結果も図 3 に示す。この際、二次抗体として抗ヒト IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor 488 標識を同様の濃度で用いた。

[0 1 4 5]

- 10 図 4 は、SK-BR3、MDA-MB231、HCT116 いずれの細胞の場合においても、IMI4C4a 抗体が細胞内に取り込まれることが示された。

図 4 左のパネルに示した trastuzumab は、抗体 (緑の蛍光) が内在化されることが明らかにされている抗体である。Trastuzumab の場合は、細胞表面上の抗体は 30 分までは細胞表面に留まり、その後細胞内に取り込まれた後速やかに
15 Lysosome (赤の蛍光) に取り込まれるため、黄色の蛍光を示す。一方、IMI4C4a 抗体の場合、培養開始 15 分後には細胞内への取り込みが観察され、120 分の間で継時的に進行する事が示されたが、Lysosome への局在化は明確に検出されなかった。

[0 1 4 6]

- 20 (2) 内在化機構の解析

Internalization は細胞のエンドサイトーシスによって行われる。エンドサイトーシスは、取り込む物質の種類や大きさ、関与する細胞分子の違いによって異なるが大きく分けて、クラスリン依存性エンドサイトーシス、カベオラ依存性エンドサイトーシス、ファゴサイトーシス、ピノサイトーシスに分類され
25 ている。

受容体のような膜タンパク質の多くはクラスリン依存性エンドサイトーシスによって取り込まれ、その解析にはエンドサイトーシス阻害剤が利用される。

[0 1 4 7]

クラスリン依存性エンドサイトーシスの阻害剤であるコンカナバリン A (ConA) を用い、上記実施例 (1) で観察された IMI4C4a 抗体の internalization が阻害されるかを解析した。

[0148]

- 5 上記 (1) 記載の方法と同様に Glass Bottom Dish 上で培養した MDA-MB231 細胞に 0.5 mg/mL となるよう ConA を混合した培地を添加し、37℃、5% CO₂ 下で 60 分間培養を行った。培地で 2 回洗浄後、上記の方法と同様に一次抗体、二次抗体を用いて細胞を染色し、0、30、60、120 分後に蛍光顕微鏡を用いて解析を行った。

10 [0149]

- 図 5 は、ConA で前処理することにより、IMI4C4a 抗体の internalization が観察した期間中において阻害されることを示している。左のパネルの 0 mg/mL は ConA を含まない場合の継時的な変化を示しており、右のパネルは ConA を含んだ場合の結果を示している。ConA で前処理することにより、本来細胞の内部
15 に抗体が輸送される培養時間においても、抗体が細胞表面上に留まっていることが示された。このことから、細胞膜上の MCT5 に結合した IMI4C4a 抗体は、クラスリン依存性エンドサイトーシスによって取り込まれることが確認された。

[0150]

- 20 また、ConA を 0.5 mg/ml の濃度で 60 分間処理した HCT116 細胞との反応性を解析した。10 mg/ml に調製した IMI4C4a、107、217、221、223、303、306 及び 301 抗体と細胞とを反応させ、二次抗体として抗マウス IgG ポリクローナル抗体-Alexa Fluor 488 標識を用いて検出を行った。実験結果を図 6 に示した。301 抗体を除く全ての抗体が HCT116 細胞の表面に結合することが示された。

- 25 上記、実施例 1 (3) に記載されるように、使用した抗体は全て ICD4 に結合する抗体であることから、301 抗体は ICD4 には結合するが、細胞には結合しない抗体であると考えられた。

[0151]

Internalization する抗体として解析の進んでいる trastuzumab は、細胞外に結合した抗体は internalization するものの、速やかに細胞外へ戻される turn over が起きると報告されている。このため、図 3 右パネルに示されるように 0~30 分間の培養では internalization が明確に検出できなかったと考えられる。一方、IMI4C4a の場合は、15 分間の培養でも明確に internalization が検出出来たため、取り込まれる効率が極めて良いと判断される。すなわち、低濃度の抗体-薬剤コンジュゲートでもがん細胞を殺傷出来ると考えられる。

[0152]

実施例 3

10 (1) 抗体のビオチン化

IMI4C4a 抗体を EZ-link NHS-LC-LC-Biotin (PIERCE 社) を用い、キット付属のマニュアルに従ってビオチン化した。PBS (-) に 1 mg/mL となるよう調製した IMI4C4a 抗体を準備し、NHS-LC-LC-Biotin 粉末を DMSO に溶解させ、抗体溶液に添加した。30 分間室温で反応後、1 M Tris-HCl (pH7.4) を 1/100 量添加し、未反応の NHS-LC-LC-Biotin 試薬を不活化した。Amicon Ultra 30 kDa (Millipore 社) を用いて未反応の試薬を除去するとともに PBS (-) に溶媒を置換した。

[0153]

(2) Streptavidin-ZAP を用いた影響

抗体が細胞内に取り込まれることを利用して、がん細胞の増殖を抑制できるか解析した。培地中に 50 nM のビオチン化 IMI4C4a、303、306 及び 107 抗体を添加し、15、30、50 nM の Streptavidin-ZAP (Advanced Targeting Systems 社製, Saporin-Streptavidin 複合体) を混合し、氷上で 1 時間反応させた後、前日に 2,500 cells/well となるよう播種しておいた MCF7-MCT5 細胞へ添加した。Saporin はリボソーム不活性化活性を有しており、細胞内に取り込まれた場合にのみ細胞増殖を抑制する。溶液を添加後、37℃、5%CO₂ 下で 3 日間培養を行い、細胞の増殖を WST-8 (Roche 社) を用いて測定した。図 7 にその結果を示す。

[0154]

図 7 に示されるように、一定量のビオチン化抗体に対し Streptavidin-ZAP を増加させて添加した場合、IMI4C4a 抗体の場合に顕著に増殖が阻害されていることが示された。また、実施例 2. (2) に記載のように、301 抗体は抗原である ICD4 には結合するが、細胞には結合しない抗体である。そのため、図 5 7 では、Streptavidin-ZAP 濃度を上昇させた場合でも、細胞の増殖はほとんど抑制されなかった。

以上のことから、IMI4C4a 抗体は、Antibody-Drug-Conjugate として細胞を殺傷することに利用できる事が示された。

[0155]

10 産業上の利用可能性

本発明により、MCT5 の細胞外領域に特異的に結合するモノクローナル抗体が提供される。本発明の抗体は、MCT5 を発現する癌細胞と特異的に結合し、細胞内へ抗体に結合させた分子を輸送することで癌治療に利用することができる。

[0156]

15 配列表フリーテキスト

配列番号 7 ~ 9、12 ~ 14、21 ~ 30 : 合成配列

請求の範囲

- 1 MCT5 又はその断片に対するモノクローナル抗体。
- 2 MCT5 の断片が、MCT5 の細胞外領域の断片である請求項 1 に記載の抗体。
- 5 3 MCT5 の細胞外領域の断片が、配列番号 4 で示されるアミノ酸配列からなるものである請求項 1 又は 2 に記載の抗体。
- 4 抗体が、キメラ抗体、ヒト型化抗体又はヒト化抗体である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の抗体。
- 5 請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体が結合する抗原決定基に結合
- 10 する抗体。
- 6 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体の断片。
- 7 請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体を産生するハイブリドーマ。
- 8 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体又は請求項 6 に記載の断片を含む、癌治療用医薬組成物。
- 15 9 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体又は請求項 6 に記載の断片と、化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープとの組み合わせを含む、癌治療用医薬組成物。
- 10 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体又は請求項 6 に記載の断片に化学療法剤、トキシン又はラジオアイソトープが結合した複合体を含む、癌
- 20 治療用医薬組成物。

図 1

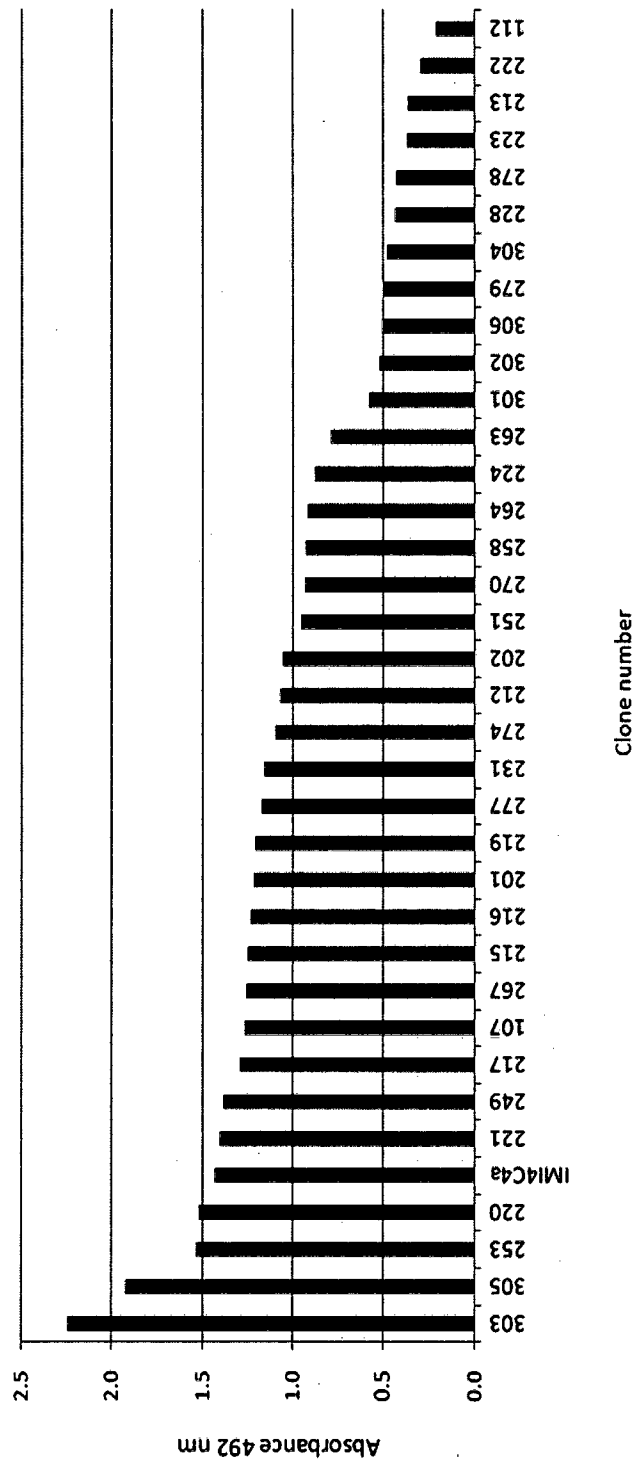


図 2

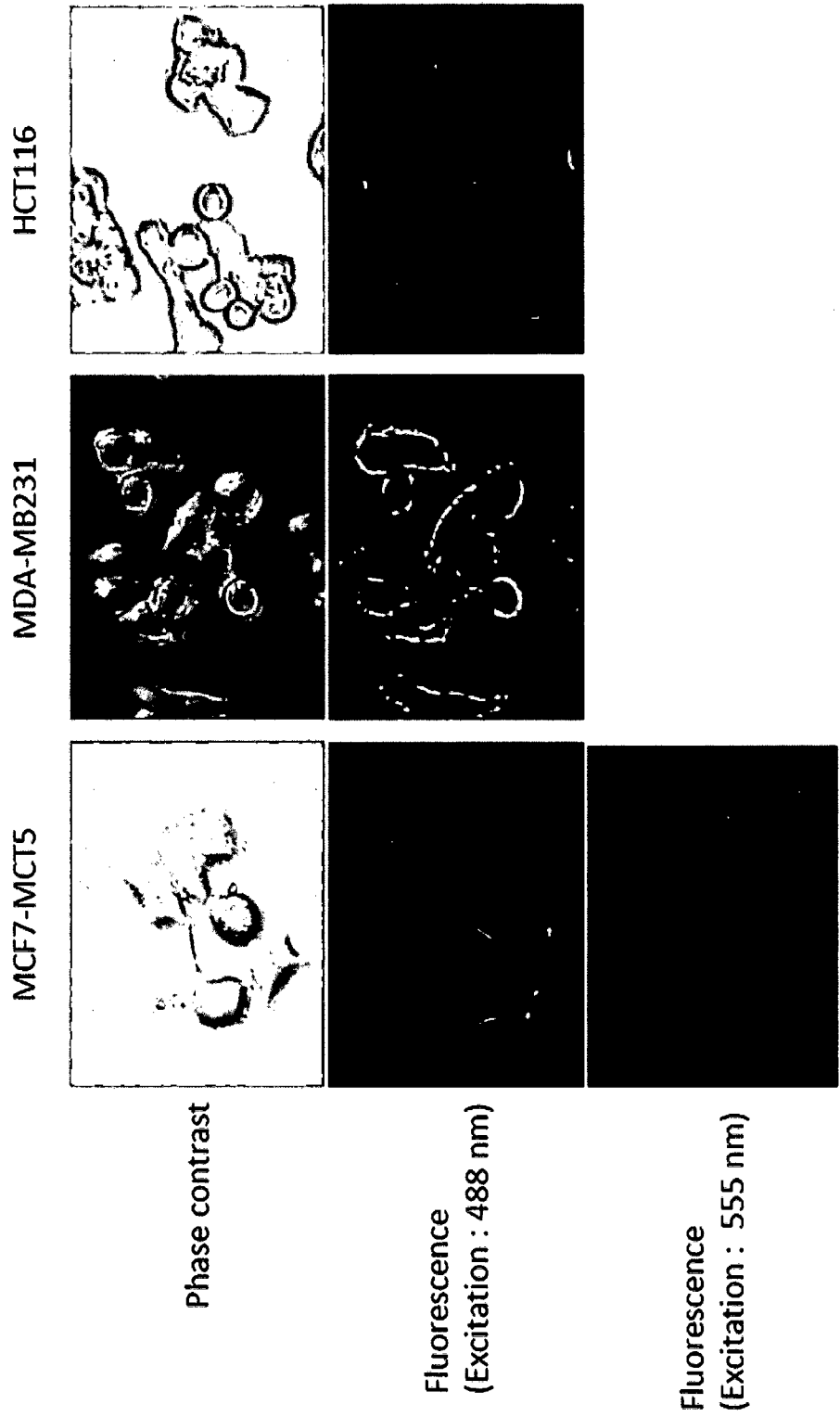


図 3

HCT116 FACS

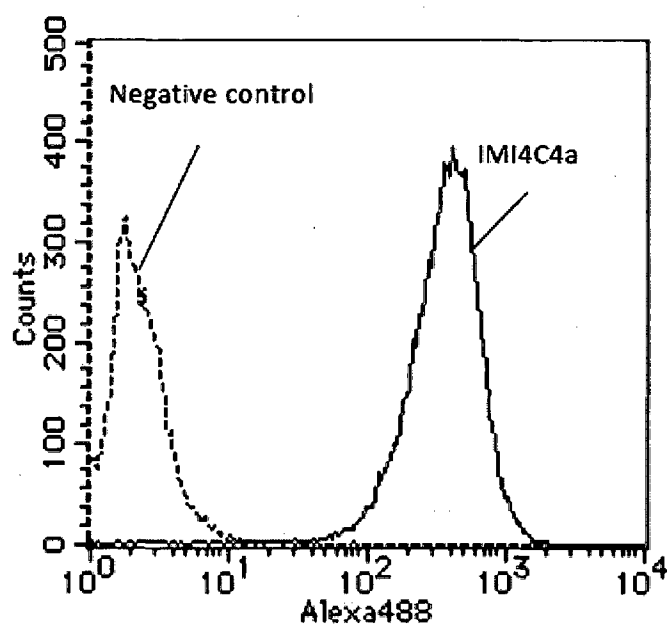


図 4

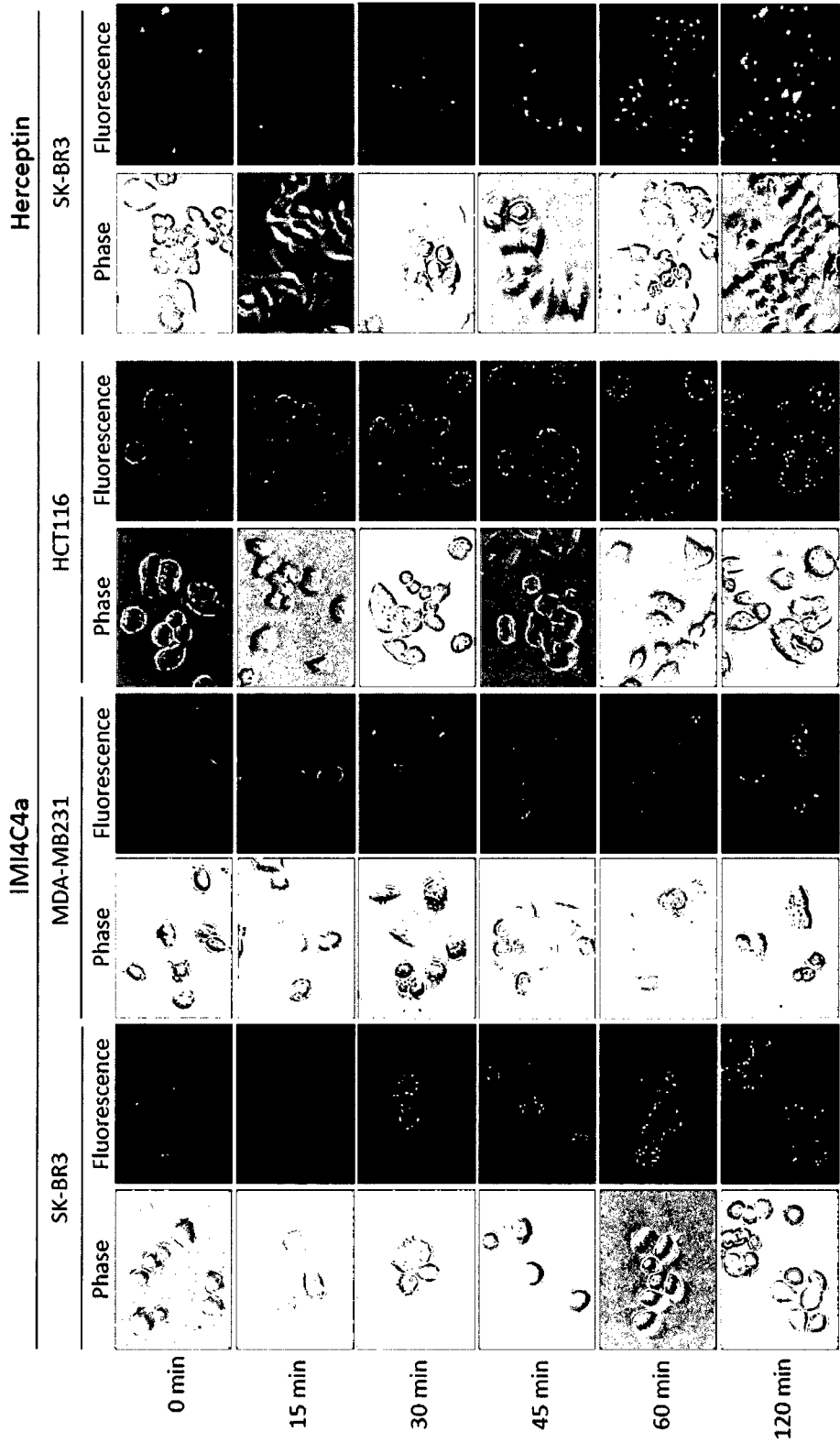


図 5

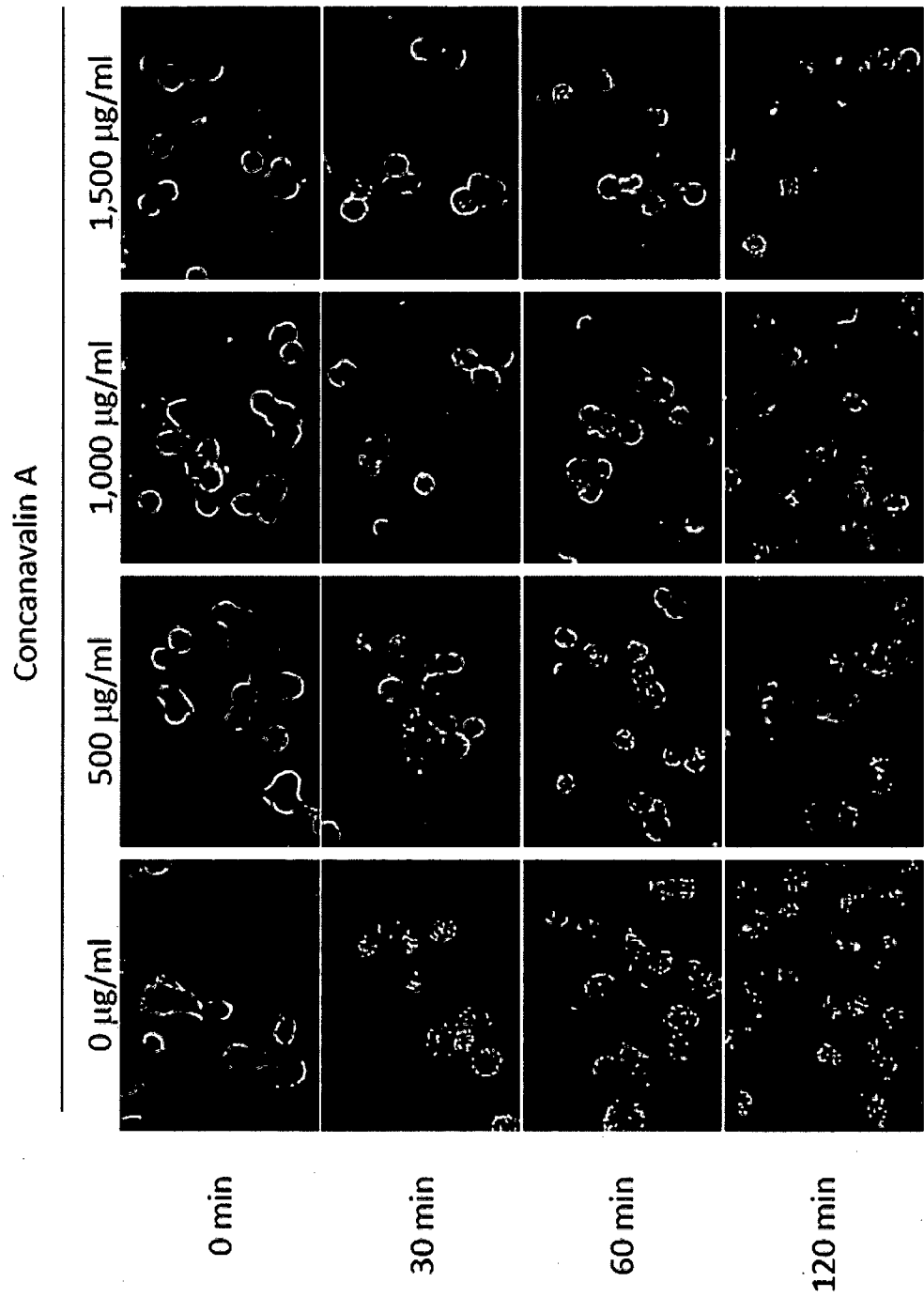


図 6

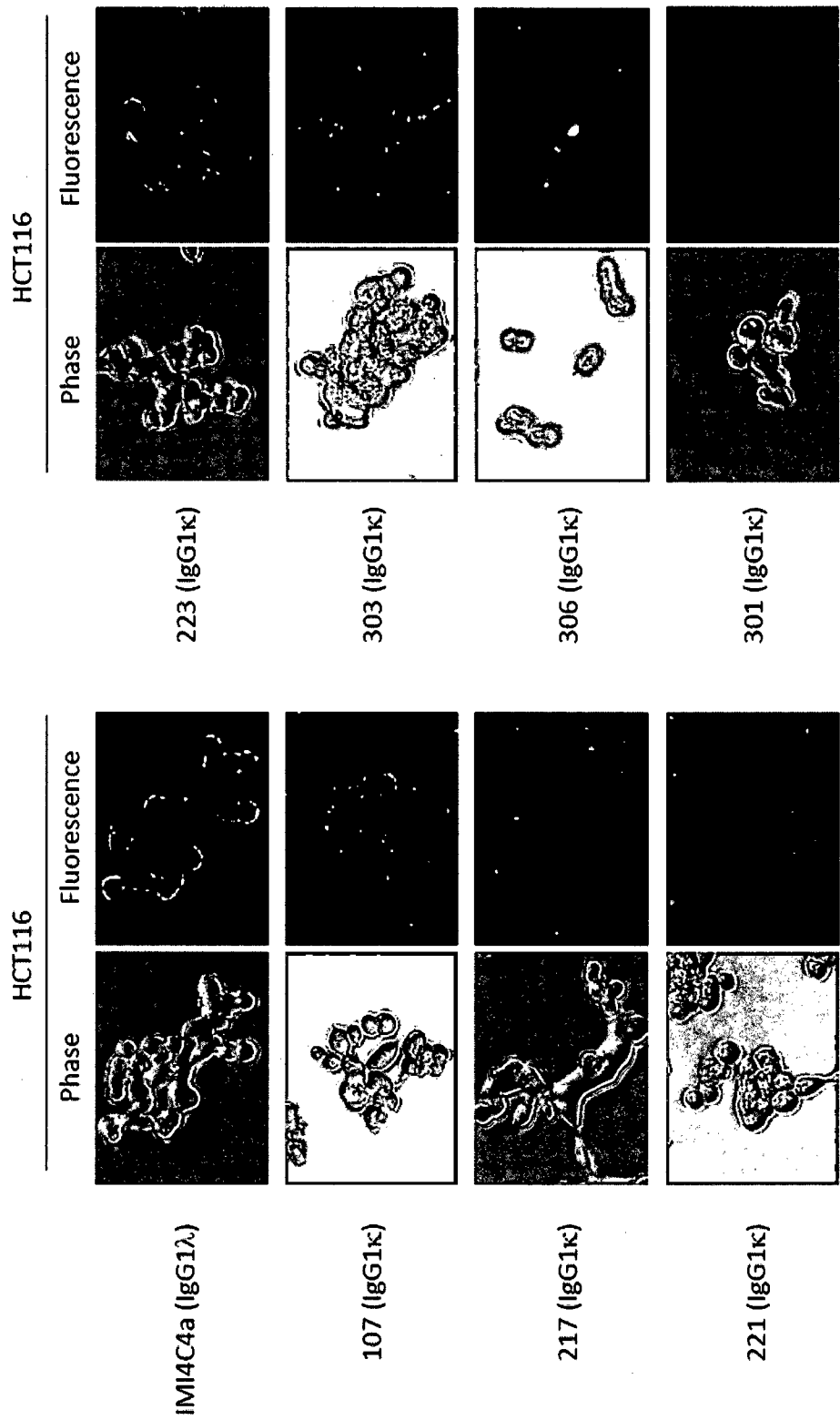
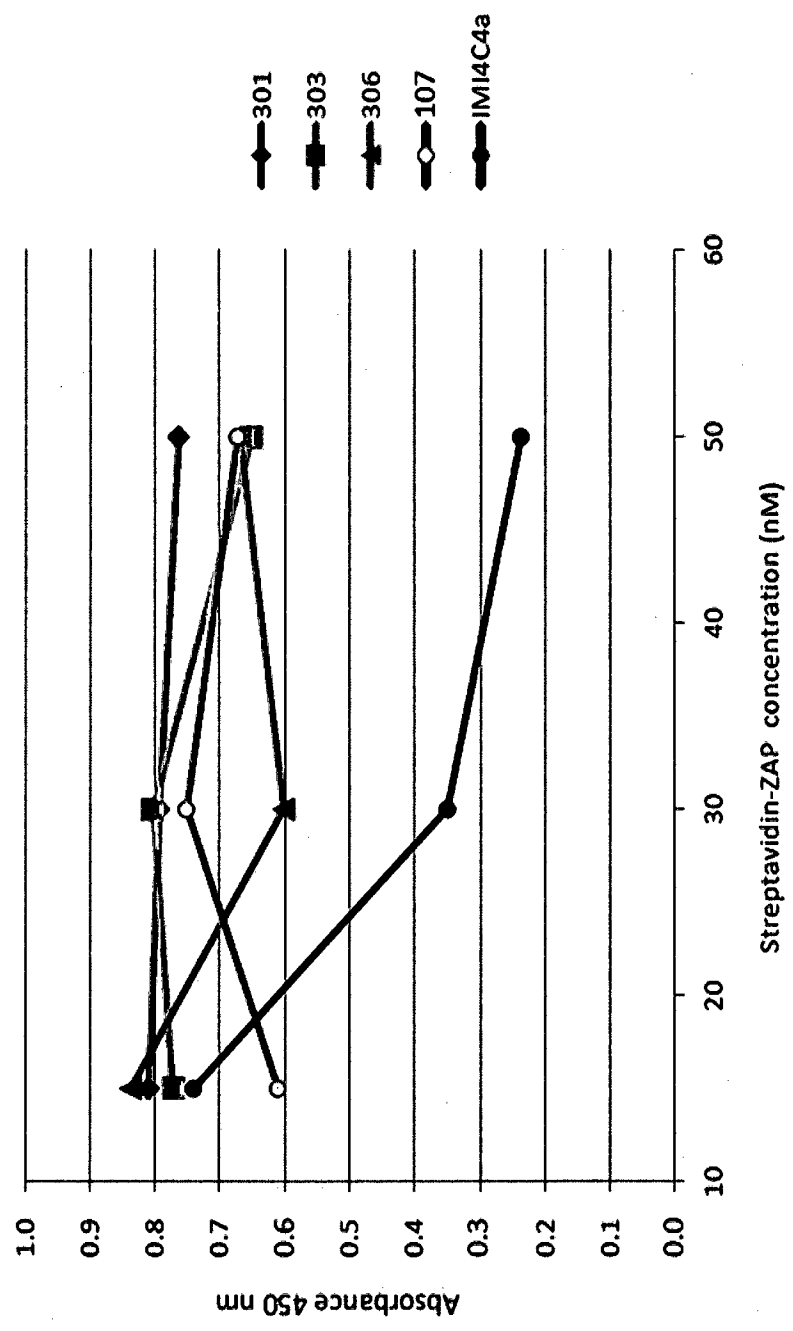


図 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/014600

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/09(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61K47/50(2017.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C07K16/30(2006.01)i, C12N5/16(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N15/09, A61K39/395, A61K45/00, A61K47/50, A61P35/00, C07K16/30, C12N5/16

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	GILL, R.K. et al., Expression and membrane localization of MCT isoforms along the length of the human intestine, Am J Physiol Cell Physiol, 2005, Vol.289, p.C846-C852, abstract, page C847, right column, 2nd paragraph, page C849, left column, 2nd paragraph	1-2, 4-7 1-10
Y	HALESTRAP, A.P. et al., The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation, Biochem.J., 1999, Vol.343, p.281-299, table 1, fig. 2, 4	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
21 June 2017 (21.06.17)

Date of mailing of the international search report
04 July 2017 (04.07.17)

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

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/014600

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JENSEN, D.H. et al., A reverse Warburg metabolism in oral squamous cell carcinoma is not dependent upon myofibroblasts, J Oral Pathol Med, 2015, Vol.44, p.714-721, abstract, page 715, left column, line 7 to page 716, left column, line 8, page 716, right column, 9th line from the bottom to page 717, line 9, fig. 3	1-10
Y	Hideki YAGI et al., "An Efficient Method for Producing Monoclonal Antibodies against Multi-pass Membrane Proteins", YAKUGAKU ZASSHI, 2013, vol.133, pages 939 to 945, abstract, page 940, 3. to page 944, 5., fig. 1	1-10
Y	JP 2009-213391 A (Tama-TLO Ltd.), 24 September 2009 (24.09.2009), table 3 (Family: none)	8-10
Y	WO 2013/133450 A1 (Bio Matrix Research, Inc.), 12 September 2013 (12.09.2013), claims; page 3, line 18 to page 4, line 15 & US 2016/0009799 A1 paragraphs [0011] to [0012] & EP 2823825 A1 & CA 2866252 A & AU 2013228317 A	8-10
P, X	WO 2016/052756 A1 (Order-Made Medical Research Inc.), 07 April 2016 (07.04.2016), entire text (Family: none)	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12N15/09(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61K47/50(2017.01)i,
A61P35/00(2006.01)i, C07K16/30(2006.01)i, C12N5/16(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12N15/09, A61K39/395, A61K45/00, A61K47/50, A61P35/00, C07K16/30, C12N5/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	GILL, R. K. et al., Expression and membrane localization of MCT isoforms along the length of the human intestine, Am J Physiol Cell Physiol, 2005, Vol. 289, p. C846-C852, 要約、C847 ページ右欄第 2 パラグラフ、C849 ページ左欄第 2 パラグラフ	1-2, 4-7 1-10

☑ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

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

国際調査を完了した日

21.06.2017

国際調査報告の発送日

04.07.2017

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

飯室 里美

4 N

2936

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	HALESTRAP, A. P. et al., The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation, Biochem. J., 1999, Vol. 343, p. 281-299, 表 1、図 2、図 4	1-10
Y	JENSEN, D. H. et al., A reverse Warburg metabolism in oral squamous cell carcinoma is not dependent upon myofibroblasts, J Oral Pathol Med, 2015, Vol. 44, p. 714-721, 要約、715 ページ左欄 7 行-716 ページ左欄 8 行、716 ページ右欄下から 9 行-717 ページ 9 行、図 3	1-10
Y	八木秀樹 他, 複数回膜貫通タンパク質に対する効率的モノクローナル抗体の作製, YAKUGAKU ZASSHI, 2013, Vol. 133, p. 939-945, 要約、940 ページ 3. -944 ページ 5.、図 1	1-10
Y	JP 2009-213391 A (タマティーエルオー株式会社) 2009. 09. 24, 表 3 (ファミリーなし)	8-10
Y	WO 2013/133450 A1 (株式会社バイオマトリックス研究所) 2013. 09. 12, 特許請求の範囲、3 ページ 18 行-4 ページ 15 行 & US 2016/0009799 A1, [0011]-[0012] & EP 2823825 A1 & CA 2866252 A & AU 2013228317 A	8-10 1-10
P, X	WO 2016/052756 A1 (株式会社オーダーメイドメディカルリサーチ) 2016. 04. 07, 全文 (ファミリーなし)	