(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-508819
(P2025-508819A)
(43)公表日　令和7年4月10日(2025.4.10)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*47/68 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ	*45/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/68		４Ｈ０４５

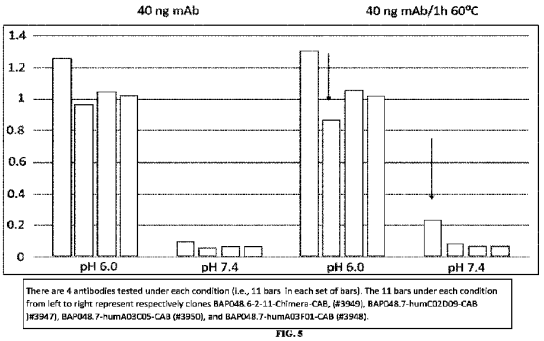
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全178頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-550128(P2024-550128)
(86)(22)出願日　令和5年2月24日(2023.2.24)
(85)翻訳文提出日　令和6年10月23日(2024.10.23)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/063226
(87)国際公開番号　WO2023/164618
(87)国際公開日　令和5年8月31日(2023.8.31)
(31)優先権主張番号　63/313,943
(32)優先日　令和4年2月25日(2022.2.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　520478172
バイオアトラ インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９２１２１ サン ディエゴ トーレヤーナ ロード １１０８５ スイート １００
(74)代理人　110000109
弁理士法人特許事務所サイクス
(72)発明者　シーバス エリック
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９２０３７ ラ ホーヤ エル カミノ デル ティートロー １６９０
(72)発明者　マーティン フィリップ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９２０３７ ラ ホーヤ インヤハ レーン ２６１０
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＲＯＲ２抗体、抗体断片、それらの免疫コンジュゲートおよびそれらの使用

(57)【要約】
ＲＯＲ２タンパク質に特異的に結合する重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を有するポリペプチド、ならびにＲＯＲ２タンパク質に結合する重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を含む抗体および抗体断片。このポリペプチドまたは抗体およびこのポリペプチドを含む抗体断片を含む医薬組成物およびキット、ならびにＲＯＲ２発現癌の治療方法におけるこのようなポリペプチドまたは抗体または抗体断片の使用も提供される。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
治療を必要とする対象に、ＲＯＲ２タンパク質に特異的に結合するポリペプチドを、
（ｉ）２週間または３週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇから３．３ｍｇ／ｋｇの投与量で、
（ｉｉ）２週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇから１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、または
（ｉｉｉ）３週間ごとに１日目および８日目に、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で
投与する工程を含む癌の治療方法であって、
前記ポリペプチドは、３つの相補性決定領域を含む重鎖可変領域を含み、前記領域は、Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３配列を有し、
（ａ）前記Ｈ１配列は、ＧＹＴＸ$_1$ＴＥＸ$_2$Ｘ$_3$Ｘ$_4$Ｈ（配列番号１）またはＧＹＳＩＴＴＧＸ$_{29}$ＹＷＮ（配列番号４）であり；
（ｂ）前記Ｈ２配列は、Ｘ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$Ｘ$_8$ＮＮＧＧＴＧＹＮＱＫＦＫＧ（配列番号２）またはＹＩＴＹＤＧＳＸ$_{30}$ＮＹＮＰＳＬＫＮ（配列番号５）であり；
（ｃ）前記Ｈ３配列は、Ｘ$_9$Ｘ$_{10}$Ｘ$_{11}$ＳＸ$_{12}$ＹＸ$_{13}$ＹＸ$_{14}$Ｘ$_{15}$ＳＹＦＸ$_{16}$Ｘ$_{17}$Ｘ$_{18}$（配列番号３）またはＣＳＸ$_{31}$Ｘ$_{32}$Ｘ$_{33}$Ｘ$_{34}$ＶＸ$_{35}$Ｘ$_{36}$Ｘ$_{37}$ＬＤＸ$_{38}$（配列番号６）であり；
Ｘ$_1$は、ＦまたはＥであり、
Ｘ$_2$は、ＹまたはＤであり、
Ｘ$_3$は、ＴまたはＣであり、
Ｘ$_4$は、ＭまたはＤまたはＥまたはＹであり、
Ｘ$_5$は、ＧまたはＳであり、
Ｘ$_6$は、ＩまたはＥであり、
Ｘ$_7$は、ＮまたはＣまたはＬまたはＶであり、
Ｘ$_8$は、ＴまたはＤまたはＥであり、
Ｘ$_9$は、ＡまたはＭまたはＴであり、
Ｘ$_{10}$は、ＲまたはＨであり、
Ｘ$_{11}$は、ＧまたはＥであり、
Ｘ$_{12}$は、ＬまたはＦであり、
Ｘ$_{13}$は、ＳまたはＧであり、
Ｘ$_{14}$は、ＧまたはＤであり、
Ｘ$_{15}$は、ＮまたはＥであり、
Ｘ$_{16}$は、ＤまたはＬであり、
Ｘ$_{17}$は、ＹまたはＣまたはＴであり、
Ｘ$_{18}$は、ＷまたはＬであり、
Ｘ$_{29}$は、ＹまたはＥまたはＲまたはＴであり、
Ｘ$_{30}$は、ＫまたはＮであり、
Ｘ$_{31}$は、ＲまたはＧまたはＨまたはＷまたはＹであり、
Ｘ$_{32}$は、ＦまたはＣまたはＮまたはＱであり、
Ｘ$_{33}$は、ＥまたはＳであり、
Ｘ$_{34}$は、ＧまたはＥまたはＦまたはＨまたはＭまたはＱまたはＳであり、
Ｘ$_{35}$は、ＷまたはＡまたはＩまたはＰまたはＱまたはＴまたはＶであり、
Ｘ$_{36}$は、ＹまたはＧまたはＮまたはＱであり、
Ｘ$_{37}$は、ＧまたはＳまたはＴであり、
Ｘ$_{38}$は、ＹまたはＩであり、更に
３つの相補性決定領域Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３配列を含む軽鎖可変領域を含み、
（ｄ）前記Ｌ１配列は、ＳＡＴＳＳＸ$_{19}$Ｘ$_{20}$Ｘ$_{21}$ＭＸ$_{22}$（配列番号７）またはＲＡＳＥＳＶＤＲＹＧＮＳＸ$_{39}$ＩＨ（配列番号１０）であり；

（ｅ）前記Ｌ２配列は、X_{23}ＴＳＮＬＡＳ（配列番号８）またはX_{40}ＴＹX_{41}ＬＥＳ（配列番号１１）であり；
（ｆ）前記Ｌ３配列は、Ｑ$X_{24}X_{25}$ＳX_{26}ＹＰＦ$X_{27}X_{28}$（配列番号９）またはＱＱX_{42}ＮX_{43}ＤＰX_{44}ＴX_{45}（配列番号１２）であり；
X_{19}は、ＶまたはＥであり、
X_{20}は、ＳまたはＤであり、
X_{21}は、ＹまたはＣまたはＤであり、
X_{22}は、ＨまたはＧまたはＬであり、
X_{23}は、ＧまたはＣまたはＨまたはＰであり、
X_{24}は、ＱまたはＥであり、
X_{25}は、ＲまたはＨであり、
X_{26}は、ＳまたはＤまたはＧまたはＩまたはＱまたはＶであり、
X_{27}は、ＴまたはＤであり、
X_{28}は、ＦまたはＤまたはＥであり、
X_{39}は、ＦまたはＳまたはＴであり、
X_{40}は、ＲまたはＣまたはＤまたはＥまたはＷであり、
X_{41}は、ＮまたはＤであり、
X_{42}は、ＴまたはＩまたはＰであり、
X_{43}は、ＥまたはＶであり、
X_{44}は、ＷまたはＴであり、
X_{45}は、ＦまたはＴであり、
但し、X_{1}からX_{28}がそれぞれ、同時にＦ、Ｙ、Ｔ、Ｍ、Ｇ、Ｉ、Ｎ、Ｔ、Ａ、Ｒ、Ｇ、Ｌ、Ｓ、Ｇ、Ｎ、Ｄ、Ｙ、Ｗ、Ｖ、Ｓ、Ｙ、Ｈ、Ｇ、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、およびＦであることはあり得ない、前記方法。
【請求項２】
重鎖可変領域が、配列番号１８～２６の配列から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
軽鎖可変領域が、配列番号１３～１７および２７から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項１～２の何れか一項に記載の方法。
【請求項４】
軽鎖可変領域が、それぞれ配列番号１０～１２の配列を有する３つの相補性決定領域Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３を含む、請求項１～２の何れか一項に記載の方法。
【請求項５】
X_{29}がＹである、請求項１～４の何れか一項に記載の方法。
【請求項６】
X_{29}がＥである、請求項１～４の何れか一項に記載の方法。
【請求項７】
投与量が、２週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇ～１．８ｍｇ／ｋｇである、請求項１～６の何れか一項に記載の方法。
【請求項８】
対象が非小細胞肺癌であり、投与量が、２週間ごとに、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇである、請求項１～６の何れか一項に記載の方法。
【請求項９】
投与量が、３週間ごとの１日目および８日目に、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇである、請求項１～６の何れか一項に記載の方法。
【請求項１０】
ポリペプチドが抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片である、請求項１～９の何れか一項に記載の方法。
【請求項１１】

抗体又は抗体断片が、腫瘍微小環境における条件の値において、非腫瘍微小環境で生じる同条件の異なる値と比較して、ＲＯＲ２タンパク質に対するより高い結合親和性を有する、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
条件がｐＨである、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
腫瘍微小環境のｐＨが５．８から６．８の範囲にあり、非腫瘍微小環境のｐＨが７．０から７．６の範囲にある、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
抗体または抗体断片が、少なくとも約１．５：１、少なくとも約２：１、少なくとも約３：１、少なくとも約４：１、少なくとも約５：１、少なくとも約６：１、少なくとも約７：１、少なくとも約８：１、少なくとも約９：１、少なくとも約１０：１、少なくとも約２０：１、少なくとも約３０：１、少なくとも約５０：１、少なくとも約７０：１、または少なくとも約１００：１の、腫瘍微小環境における条件の値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性と、非腫瘍微小環境における同じ条件の異なる値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性との比を有する、請求項１０～１３の何れか一項に記載の方法。
【請求項１５】
抗体または抗体断片が、キメラ抗体、多重特異性抗体、またはヒト化抗体である、請求項１０～１４の何れか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記ポリペプチド、抗体または抗体断片が、癌または前記対象によって経験される症状の治療のための少なくとも１つの薬剤と結合されたポリペプチド、抗体または抗体断片を含む免疫コンジュゲートとして前記対象に投与される、請求項１～１５の何れか一項に記載の方法。
【請求項１７】
少なくとも１つの薬剤が、化学療法剤、放射性原子、細胞増殖抑制剤および細胞毒性剤から選択される、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記免疫コンジュゲートが少なくとも２つの前記薬剤を含む、請求項１６～１７の何れか一項に記載の方法。
【請求項１９】
ポリペプチド、抗体または抗体断片および少なくとも１つの薬剤がリンカー分子に共有結合している、請求項１６～１８の何れか一項に記載の方法。
【請求項２０】
少なくとも１つの薬剤が抗悪性腫瘍剤である、請求項１６～１９の何れか一項に記載の方法。
【請求項２１】
少なくとも１つの薬剤が、メイタンシノイド、アウリスタチン、ドラスタチン、カリケアマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、およびアントラサイクリンから選択される、請求項１６～２０の何れか一項に記載の方法。
【請求項２２】
ポリペプチド、抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートが、薬学的に許容される担体を含む組成物として投与される、請求項１～２１の何れか一項に記載の方法。
【請求項２３】
組成物がさらに等張化剤を含む、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
対象がＲＯＲ２発現癌を有するか、または以前にＲＯＲ２発現癌を有していた、請求項１～２２の何れか一項に記載の方法。
【請求項２５】

対象がＲＯＲ２発現腫瘍を有する、請求項１～２３の何れか一項に記載の方法。
【請求項２６】
ＲＯＲ２発現腫瘍の腫瘍膜Ｐスコアが少なくとも１である、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
癌が、肉腫、卵巣癌、黒色腫、非小細胞肺癌、乳癌、および頭頸部癌から選択される、請求項１～２６の何れか一項に記載の方法。
【請求項２８】
免疫コンジュゲートが対象に投与され、免疫コンジュゲートがＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ$_n$を含み、ＢＡ３０２１が、配列番号１６を含む重鎖可変領域；および配列番号２１を含む軽鎖可変領域を有する抗体または抗体断片であり；ｎが１～４の整数（１と４を含む）である、請求項１６～２７の何れか一項に記載の方法。
【請求項２９】
免疫コンジュゲートが、２週間に１回、単回投与量で、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で対象に投与される、請求項１６～２８の何れか一項に記載の方法。
【請求項３０】
免疫コンジュゲートが、１つ以上の連続する２１日間の期間の１日目および８日目に、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で対象に投与される、請求項１６～２８の何れか一項に記載の方法。
【請求項３１】
免疫コンジュゲートが、２週間または３週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇ～３．３ｍｇ／ｋｇの投与量で、対象に投与される、請求項１６～２８の何れか一項に記載の方法。
【請求項３２】
免疫コンジュゲートが、２週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇ～１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、対象に投与される、請求項１６～２８の何れか一項に記載の方法。
【請求項３３】
対象がヒトである、請求項１～３２の何れか一項に記載の方法。
【請求項３４】
（ｉ）２週間または３週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇから３．３ｍｇ／ｋｇの投与量で投与される、
（ｉｉ）２週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇから１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で投与される、または
（ｉｉｉ）３週間ごとの１日目と８日目に、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で投与される
癌の治療のための免疫コンジュゲートの使用あって、
前記免疫コンジュゲートは、３つの相補性決定領域を含む重鎖可変領域を含むポリペプチド、抗体または抗体断片を含み、前記ポリペプチドは、３つの相補性決定領域を含む重鎖可変領域を含み、前記領域は、Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３配列を有し、
（ａ）前記Ｈ１配列は、ＧＹＴＸ$_1$ＴＥＸ$_2$Ｘ$_3$Ｘ$_4$Ｈ（配列番号１）またはＧＹＳＩＴＴＧＸ$_{29}$ＹＷＮ（配列番号４）であり；
（ｂ）前記Ｈ２配列は、Ｘ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$Ｘ$_8$ＮＮＧＧＴＧＹＮＱＫＦＫＧ（配列番号２）またはＹＩＴＹＤＧＳＸ$_{30}$ＮＹＮＰＳＬＫＮ（配列番号５）であり；
（ｃ）前記Ｈ３配列は、Ｘ$_9$Ｘ$_{10}$Ｘ$_{11}$ＳＸ$_{12}$ＹＸ$_{13}$ＹＸ$_{14}$Ｘ$_{15}$ＳＹＦＸ$_{16}$Ｘ$_{17}$Ｘ$_{18}$（配列番号３）またはＣＳＸ$_{31}$Ｘ$_{32}$Ｘ$_{33}$Ｘ$_{34}$ＶＸ$_{35}$Ｘ$_{36}$Ｘ$_{37}$ＬＤＸ$_{38}$（配列番号６）であり；
Ｘ$_1$は、ＦまたはＥであり、
Ｘ$_2$は、ＹまたはＤであり、
Ｘ$_3$は、ＴまたはＣであり、
Ｘ$_4$は、ＭまたはＤまたはＥまたはＹであり、
Ｘ$_5$は、ＧまたはＳであり、

X_6は、ＩまたはＥであり、
X_7は、ＮまたはＣまたはＬまたはＶであり、
X_8は、ＴまたはＤまたはＥであり、
X_9は、ＡまたはＭまたはＴであり、
X_{10}は、ＲまたはＨであり、
X_{11}は、ＧまたはＥであり、
X_{12}は、ＬまたはＦであり、
X_{13}は、ＳまたはＧであり、
X_{14}は、ＧまたはＤであり、
X_{15}は、ＮまたはＥであり、
X_{16}は、ＤまたはＬであり、
X_{17}は、ＹまたはＣまたはＴであり、
X_{18}は、ＷまたはＬであり、
X_{29}は、ＹまたはＥまたはＲまたはＴであり、
X_{30}は、ＫまたはＮであり、
X_{31}は、ＲまたはＧまたはＨまたはＷまたはＹであり、
X_{32}は、ＦまたはＣまたはＮまたはＱであり、
X_{33}は、ＥまたはＳであり、
X_{34}は、ＧまたはＥまたはＦまたはＨまたはＭまたはＱまたはＳであり、
X_{35}は、ＷまたはＡまたはＩまたはＰまたはＱまたはＴまたはＶであり、
X_{36}は、ＹまたはＧまたはＮまたはＱであり、
X_{37}は、ＧまたはＳまたはＴであり、
X_{38}は、ＹまたはＩであり、更に
３つの相補性決定領域Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３配列を含む軽鎖可変領域を含み、
（ｄ）前記Ｌ１配列は、ＳＡＴＳＳ$X_{19}X_{20}X_{21}$ＭX_{22}（配列番号７）またはＲＡＳＥＳＶＤＲＹＧＮＳX_{39}ＩＨ（配列番号１０）であり；
（ｅ）前記Ｌ２配列は、X_{23}ＴＳＮＬＡＳ（配列番号８）またはX_{40}ＴＹX_{41}ＬＥＳ（配列番号１１）であり；
（ｆ）前記Ｌ３配列は、Ｑ$X_{24}X_{25}$ＳX_{26}ＹＰＦ$X_{27}X_{28}$（配列番号９）またはＱＱX_{42}ＮX_{43}ＤＰX_{44}ＴX_{45}（配列番号１２）であり；
X_{19}は、ＶまたはＥであり、
X_{20}は、ＳまたはＤであり、
X_{21}は、ＹまたはＣまたはＤであり、
X_{22}は、ＨまたはＧまたはＬであり、
X_{23}は、ＧまたはＣまたはＨまたはＰであり、
X_{24}は、ＱまたはＥであり、
X_{25}は、ＲまたはＨであり、
X_{26}は、ＳまたはＤまたはＧまたはＩまたはＱまたはＶであり、
X_{27}は、ＴまたはＤであり、
X_{28}は、ＦまたはＤまたはＥであり、
X_{39}は、ＦまたはＳまたはＴであり、
X_{40}は、ＲまたはＣまたはＤまたはＥまたはＷであり、
X_{41}は、ＮまたはＤであり、
X_{42}は、ＴまたはＩまたはＰであり、
X_{43}は、ＥまたはＶであり、
X_{44}は、ＷまたはＴであり、
X_{45}は、ＦまたはＴであり、
但し、X_1からX_{28}がそれぞれ、同時にＦ、Ｙ、Ｔ、Ｍ、Ｇ、Ｉ、Ｎ、Ｔ、Ａ、Ｒ、Ｇ、Ｌ、Ｓ、Ｇ、Ｎ、Ｄ、Ｙ、Ｗ、Ｖ、Ｓ、Ｙ、Ｈ、Ｇ、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、およびＦであることはあり得ない、前記使用。

【請求項３５】
重鎖可変領域が、配列番号１８～２６の配列から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項３４に記載の使用。
【請求項３６】
軽鎖可変領域が、配列番号１３～１７および２７から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項３４～３５の何れか一項に記載の使用。
【請求項３７】
軽鎖可変領域が、それぞれ配列番号１０～１２の配列を有する３つの相補性決定領域Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３を含む、請求項３４～３５の何れか一項に記載の使用。
【請求項３８】
X_{29}がＹである、請求項３４～３６の何れか一項に記載の使用。
【請求項３９】
X_{29}がＥである、請求項３４～３７の何れか一項に記載の使用。
【請求項４０】
ポリペプチドが抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片である、請求項３４～３９の何れか一項に記載の使用。
【請求項４１】
抗体または抗体断片が、非腫瘍微小環境で生じる同じ条件の異なる値と比較して、腫瘍微小環境における条件の値においてＲＯＲ２タンパク質に対してより高い結合親和性を有する、請求項４０に記載の使用。
【請求項４２】
条件がｐＨである、請求項４１に記載の使用。
【請求項４３】
腫瘍微小環境のｐＨが５．８から６．８の範囲にあり、非腫瘍微小環境のｐＨが７．０から７．６の範囲にある、請求項４２に記載の使用。
【請求項４４】
抗体または抗体断片が、少なくとも約１．５：１、少なくとも約２：１、少なくとも約３：１、少なくとも約４：１、少なくとも約５：１、少なくとも約６：１、少なくとも約７：１、少なくとも約８：１、少なくとも約９：１、少なくとも約１０：１、少なくとも約２０：１、少なくとも約３０：１、少なくとも約５０：１、少なくとも約７０：１、または少なくとも約１００：１の、腫瘍微小環境における条件の値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性と、非腫瘍微小環境における同じ条件の異なる値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性との比を有する、請求項４１～４３の何れか一項に記載の使用。
【請求項４５】
抗体または抗体断片が、キメラ抗体、多重特異性抗体、またはヒト化抗体である、請求項４０～４４の何れか一項に記載の使用。
【請求項４６】
前記ポリペプチド、抗体または抗体断片が、癌または前記対象によって経験される症状の治療のための少なくとも１つの薬剤と結合したポリペプチド、抗体または抗体断片を含む免疫コンジュゲートとして前記対象に投与される、請求項３４～４５の何れか一項に記載の使用。
【請求項４７】
少なくとも１つの薬剤が、化学療法剤、放射性原子、細胞増殖抑制剤および細胞毒性剤から選択される、請求項４６に記載の使用。
【請求項４８】
前記免疫コンジュゲートが少なくとも２つの前記薬剤を含む、請求項４６～４７の何れか一項に記載の使用。
【請求項４９】
ポリペプチド、抗体または抗体断片および少なくとも１つの薬剤がリンカー分子に共有結

合している、請求項４６～４８の何れか一項に記載の使用。
【請求項５０】
少なくとも１つの薬剤が抗悪性腫瘍剤である、請求項４６～４９の何れか一項に記載の使用。
【請求項５１】
少なくとも１つの薬剤が、メイタンシノイド、アウリスタチン、ドラスタチン、カリケアマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、およびアントラサイクリンから選択される、請求項４６～５０の何れか一項に記載の使用。
【請求項５２】
ポリペプチド、抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートが、薬学的に許容される担体を含む組成物として投与される、請求項３４～５１の何れか一項に記載の使用。
【請求項５３】
組成物がさらに等張化剤を含む、請求項５２に記載の使用。
【請求項５４】
対象がＲＯＲ２発現癌を有するか、または以前にＲＯＲ２発現癌を有していた、請求項３４～５３の何れか一項に記載の使用。
【請求項５５】
対象がＲＯＲ２発現腫瘍を有する、請求項３４～５３の何れか一項に記載の使用。
【請求項５６】
ＲＯＲ２発現腫瘍の腫瘍膜Ｐスコアが少なくとも１である、請求項５５に記載の使用。
【請求項５７】
癌が、肉腫、卵巣癌、黒色腫、非小細胞肺癌、乳癌、および頭頸部癌から選択される、請求項３４～５６の何れか一項に記載の使用。
【請求項５８】
免疫コンジュゲートが対象に投与され、免疫コンジュゲートがＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ$_n$を含み、ＢＡ３０２１が、配列番号１６を含む重鎖可変領域；および配列番号２１を含む軽鎖可変領域を有する抗体または抗体断片であり；ｎが１～４の整数（１と４を含む）である、請求項４６～５７の何れか一項に記載の使用。
【請求項５９】
免疫コンジュゲートが、２週間に１回、単回投与量で、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で対象に投与される、請求項４６～５８の何れか一項に記載の使用。
【請求項６０】
免疫コンジュゲートが、２週間または３週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇ～３．３ｍｇ／ｋｇの投与量で対象に投与される、請求項４６～５８の何れか一項に記載の使用。
【請求項６１】
免疫コンジュゲートが、２週間ごとに、対象の体重に対して０．３ｍｇ／ｋｇ～１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で対象に投与される、請求項４６～５８の何れか一項に記載の使用。
【請求項６２】
対象が非小細胞肺癌であり、投与量が、２週間ごとに、対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇである、請求項３４～５８の何れか一項に記載の使用。
【請求項６３】
投与量が、３週間ごとの１日目と８日目に、１．８ｍｇ／ｋｇである、請求項３４～５８の何れか一項に記載の使用。
【請求項６４】
対象がヒトである、請求項４２～５４の何れか一項に記載の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
配列表参照

本出願には、２０２３年２月１０日に作成された１７４０００バイトのＸＭＬファイル「BIAT-1035WOSequence Listing」として提出された配列表が含まれる。このテキストファイルに含まれる資料は、参照することにより本明細書に援用される。

【０００２】

関連出願との相互参照

本出願は、２０２２年２月２５日に出願された米国仮出願第６３／３１３９４３号の優先権を主張するものであり、その開示全体は、参照により本明細書に完全に記載されているかのように本明細書に援用される。

【０００３】

本開示は、抗ＲＯＲ２抗体、抗体断片ならびにそのような抗体および抗体断片の免疫コンジュゲートならびに診断および治療方法における抗体、抗体断片および免疫コンジュゲートの使用に関する。

【背景技術】

【０００４】

受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）は、リガンド制御チロシンキナーゼ活性を介して一連の正常な細胞プロセスを調節する細胞表面受容体のファミリーである。過去２０年間にわたり、ＲＴＫの機能不全は、癌の発生および進行において重要な役割を果たすことが示されている。ＲＴＫは、目下、予後診断分子バイオマーカーとして、および癌治療薬の標的として認識されている。

【０００５】

ＲＯＲ２は、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体２とも呼ばれ、正常な骨および軟骨発生の間にＷｎｔ５Ａ糖タンパク質とのその会合を介して非カノニカルＷｎｔシグナリングにより活性化される膜結合ＲＴＫである。ＲＯＲ２は、その細胞外および細胞内ドメインを離隔する１つのみの膜貫通ドメインを有する（図１）。ＲＯＲ２は、種々の器官および組織の正常な発生において重要な役割を果たすことが公知である。哺乳動物において、ＲＯＲ２およびＷｎｔ５Ａ欠損マウスは、発生形態の間に類似の異常を示し、収斂伸長運動および平面内細胞極性におけるそれらの欠陥を反映する。さらに、ヒトＲＯＲ２遺伝子の突然変異は、遺伝的骨格障害の優性短指症Ｂ型および劣性ロビノウ症候群の原因である。ＲＯＲ２は、極性化細胞遊走を媒介し、ＲＯＲ２の機能異常は遺伝性骨格障害および腫瘍侵入をもたらすことが見出されている（Ｍｉｎａｍｉ ｅｔ ａｌ．，“Ｒｏｒ－ｆａｍｉｌｙ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｔｙｒｏｓｉｎｅ ｋｉｎａｓｅｓ ｉｎ ｎｏｎ ｃａｎｏｎｉｃａｌ Ｗｎｔ ｓｉｇｎａｌｉｎｇ：ｔｈｅｉｒ ｉｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｉｎ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔａｌ ｍｏｒｐｈｏｇｅｎｅｓｉｓ ａｎｄ ｈｕｍａｎ ｄｉｓｅａｓｅｓ，”Ｄｅｖ Ｄｙｎ．，ｖｏｌ．２３９，ｐｐ．１－１５，２０１０）。

【０００６】

ＲＯＲ２は、腫瘍促進効果を有することも報告されている。米国特許出願公開第２０１４／０３２２２３４号明細書は、種々の癌におけるＲＯＲ２の発現および活性が正常組織と異なることを開示している。したがって、ＲＯＲ２の機能不全が種々のヒト癌の病因における役割を果たすことが示唆される。米国特許出願公開第２０１４／０３２２２３４号明細書は、ＲＯＲ２に対する抗体を癌の診断および癌細胞増殖の阻害において使用することができることも企図している。例えば、このような抗体は、細胞毒性剤が癌細胞を有効に殺傷し得るように、ＲＯＲ２を発現する癌細胞についての高程度の細胞毒性を有する細胞毒性剤にコンジュゲートさせることができる。ＲＯＲ２遺伝子は、癌におけるＲＯＲ２発現パターンに従う癌の分類において使用することもできる。

【０００７】

Ｆｏｒｄ ｅｔ ａｌ．（“Ｔｈｅ ｄｕａｌ ｒｏｌｅ ｏｆ ｔｈｅ ｎｏｖｅｌ Ｗｎｔ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｔｙｒｏｓｉｎｅ ｋｉｎａｓｅ，ＲＯＲ２，ｉｎ ｈｕｍａｎ ｃａｒｃｉｎｏｇｅｎｅｓｉｓ，”Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ，ｖｏｌ．１３３，ｐｐ．７７９－７８７，２０１３）は、癌発生に

おけるＲＯＲ２の機序をさらに調査している。この参照文献は、ＲＯＲ２が癌の発生および進行に関与することを開示している。具体的には、ＲＯＲ２は、多数の癌、例として、結腸癌、肝細胞癌、転移性黒色腫および腎細胞癌の癌発生において肝要な役割を果たすことが見出されている。例えば、ＲＯＲ２は、骨肉腫、黒色腫、腎細胞癌、前立腺癌、頭頸部の扁平上皮癌および間質腫瘍において過剰発現される。したがって、ＲＯＲ２は、Ｗｎｔシグナリング経路の阻害による癌治療のための薬物標的である潜在性を有する。

【０００８】

さらに、Ｄｅｂｅｂｅ ｅｔ ａｌ．，（“ＲＯＲ２ ａｓ ａ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｔａｒｇｅｔ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ，”Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｈｅｒ．，ｖｏｌ．５０，ｐｐ．１４３－１４８，２０１５）は、ＲＯＲ２がカノニカルおよび非カノニカルシグナリング経路の両方を媒介することを開示している。ＲＯＲ２は、骨肉腫および腎細胞癌において、ならびに黒色腫、結腸癌、頭頸部の扁平上皮癌、および乳癌において高度に発現される。これらの癌タイプの大多数において、ＲＯＲ２発現は、より侵襲的な癌状態に関連する。したがって、この参照文献も、ＲＯＲ２が癌治療のための潜在的な標的であることを示唆している。

【０００９】

ＷＯ２０１３／１０３６３７は、癌の治療標的および予後マーカーとしてのＲＯＲ２、ならびにＲＯＲ２を認識し結合する抗体と細胞毒性剤を含むコンジュゲートの使用を開示している（要約参照）。

【００１０】

ＷＯ２０１７／１９７２３４は、ＲＯＲ２タンパク質に特異的に結合する重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を有するポリペプチド、ならびにＲＯＲ２タンパク質に結合する重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を含む抗体および抗体断片を開示している。ポリペプチド、またはポリペプチドを含む抗体および抗体断片を含む免疫コンジュゲート、医薬組成物およびキットも提供される。

【００１１】

Ｃｈａｎｇ Ｃ．ら、「Ｎｏｖｅｌ ｃｏｎｄｉｔｉｏｎａｌｌｙ ａｃｔｉｖｅ ｂｉｏｌｏｇｉｃ ａｎｔｉ－Ａｘｌ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅ ｄｅｍｏｎｓｔｒａｔｅｓ ａｎｔｉ－ｔｕｍｏｒ ｅｆｆｉｃａｃｙ ａｎｄ ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｓａｆｅｔｙ ｐｒｏｆｉｌｅ」（ＡＡＣＲ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ、２０１６年４月）はＣＡＢ－Ａｘｌ－ＡＤＣ（抗体薬物コンジュゲート）を生成するためにモデル毒素ペイロードに結合した条件的に活性な生物学的製剤（ＣＡＢ）－Ａｘｌ抗体について述べている（要約）。

【００１２】

ＷＯ２０１６／１３８０７１には、正常生理条件よりも異常条件の方が活性が高い、条件的に活性な生物学的タンパク質を生成する方法が記載されている（要約参照）。

【００１３】

ＲＯＲ２に対するモノクローナル抗体は市販されているが、癌治療法に好適な抗ＲＯＲ２抗体は報告されていない。本発明は、治療および診断的使用に、特に癌の診断および治療に好適な抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片の一部は、正常組織中に存在するＲＯＲ２と比較して高い腫瘍中のＲＯＲ２に対する結合親和性を有する。本発明のこれらの抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、当分野において公知のモノクローナル抗ＲＯＲ２抗体と比較して少なくとも同等の効力および長い半減期を有するが、低減した副作用を有する。これは、これらの抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のより高い投与量の使用を許容し得、したがって、対応する顕著な副作用を増加させずに、より有効な治療選択を提供する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１４】

一態様において、本発明は、ＲＯＲ２タンパク質に特異的に結合する単離されたポリペ

プチド、およびそのような治療を必要とするヒトにポリペプチドが投与されることを含むＲＯＲ２発現腫瘍の治療方法におけるポリペプチドの使用を提供する。

【００１５】

ポリペプチドは、３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３配列を有する重鎖可変領域を含み、

Ｈ１配列は、ＧＹＴＸ$_1$ＴＥＸ$_2$Ｘ$_3$Ｘ$_4$Ｈ（配列番号１）またはＧＹＳＩＴＴＧＸ$_{29}$ＹＷＮ（配列番号４）であり；

Ｈ２配列は、Ｘ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$Ｘ$_8$ＮＮＧＧＴＧＹＮＱＫＦＫＧ（配列番号２）またはＹＩＴＹＤＧＳＸ$_{30}$ＮＹＮＰＳＬＫＮ（配列番号５）であり；

Ｈ３配列は、Ｘ$_9$Ｘ$_{10}$Ｘ$_{11}$ＳＸ$_{12}$ＹＸ$_{13}$ＹＸ$_{14}$Ｘ$_{15}$ＳＹＦＸ$_{16}$Ｘ$_{17}$Ｘ$_{18}$（配列番号３）またはＣＳＸ$_{31}$Ｘ$_{32}$Ｘ$_{33}$Ｘ$_{34}$ＶＸ$_{35}$Ｘ$_{36}$Ｘ$_{37}$ＬＤＸ$_{38}$（配列番号６）であり；

Ｘ$_1$は、ＦまたはＥであり、

Ｘ$_2$は、ＹまたはＤであり、

Ｘ$_3$は、ＴまたはＣであり、

Ｘ$_4$は、ＭまたはＤまたはＥまたはＹであり、

Ｘ$_5$は、ＧまたはＳであり、

Ｘ$_6$は、ＩまたはＥであり、

Ｘ$_7$は、ＮまたはＣまたはＬまたはＶであり、

Ｘ$_8$は、ＴまたはＤまたはＥであり、

Ｘ$_9$は、ＡまたはＭまたはＴであり、

Ｘ$_{10}$は、ＲまたはＨであり、

Ｘ$_{11}$は、ＧまたはＥであり、

Ｘ$_{12}$は、ＬまたはＦであり、

Ｘ$_{13}$は、ＳまたはＧであり、

Ｘ$_{14}$は、ＧまたはＤであり、

Ｘ$_{15}$は、ＮまたはＥであり、

Ｘ$_{16}$は、ＤまたはＬであり、

Ｘ$_{17}$は、ＹまたはＣまたはＴであり、

Ｘ$_{18}$は、ＷまたはＬであり、

Ｘ$_{29}$は、ＹまたはＥまたはＲまたはＴであり、

Ｘ$_{30}$は、ＫまたはＮであり、

Ｘ$_{31}$は、ＲまたはＧまたはＨまたはＷまたはＹであり、

Ｘ$_{32}$は、ＦまたはＣまたはＮまたはＱであり、

Ｘ$_{33}$は、ＥまたはＳであり、

Ｘ$_{34}$は、ＧまたはＥまたはＦまたはＨまたはＭまたはＱまたはＳであり、

Ｘ$_{35}$は、ＷまたはＡまたはＩまたはＰまたはＱまたはＴまたはＶであり、

Ｘ$_{36}$は、ＹまたはＧまたはＮまたはＱであり、

Ｘ$_{37}$は、ＧまたはＳまたはＴであり、

Ｘ$_{38}$は、ＹまたはＩであり、さらに

３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３配列を有する軽鎖可変領域を含み、

Ｌ１配列は、ＳＡＴＳＳＸ$_{19}$Ｘ$_{20}$Ｘ$_{21}$ＭＸ$_{22}$（配列番号７）またはＲＡＳＥＳＶＤＲＹＧＮＳＸ$_{39}$ＩＨ（配列番号１０）であり；

Ｌ２配列は、Ｘ$_{23}$ＴＳＮＬＡＳ（配列番号８）またはＸ$_{40}$ＴＹＸ$_{41}$ＬＥＳ（配列番号１１）であり；

Ｌ３配列は、ＱＸ$_{24}$Ｘ$_{25}$ＳＸ$_{26}$ＹＰＦＸ$_{27}$Ｘ$_{28}$（配列番号９）またはＱＱＸ$_{42}$ＮＸ$_{43}$ＤＰＸ$_{44}$ＴＸ$_{45}$（配列番号１２）であり；

Ｘ$_{19}$は、ＶまたはＥであり、

Ｘ$_{20}$は、ＳまたはＤであり、

Ｘ２１は、ＹまたはＣまたはＤであり、
Ｘ２２は、ＨまたはＧまたはＬであり、
Ｘ２３は、ＧまたはＣまたはＨまたはＰであり、
Ｘ２４は、ＱまたはＥであり、
Ｘ２５は、ＲまたはＨであり、
Ｘ２６は、ＳまたはＤまたはＧまたはＩまたはＱまたはＶであり、
Ｘ２７は、ＴまたはＤであり、
Ｘ２８は、ＦまたはＤまたはＥであり、
Ｘ３９は、ＦまたはＳまたはＴであり、
Ｘ４０は、ＲまたはＣまたはＤまたはＥまたはＷであり、
Ｘ４１は、ＮまたはＤであり、
Ｘ４２は、ＴまたはＩまたはＰであり、
Ｘ４３は、ＥまたはＶであり、
Ｘ４４は、ＷまたはＴであり、
Ｘ４５は、ＦまたはＴである。

【００１６】

この態様の一実施形態において、重鎖可変領域ポリペプチドは、配列番号１８～２６から選択されるアミノ酸配列を有する３つの相補性決定領域Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３を含む。

【００１７】

この態様の一実施形態において、軽鎖可変領域ポリペプチドは、配列番号１３～１７および２７から選択されるアミノ酸配列を有する３つの相補性決定領域Ｌ１、Ｌ２およびＬ３を含む。

【００１８】

この態様の別の実施形態において、上記の実施形態に記載されるような重鎖可変領域ポリペプチドのいずれか１つは、上記の実施形態に記載されるような軽鎖可変領域ポリペプチドのいずれか１つと組み合わされ得る。

【００１９】

別の態様において、本発明は、親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３において１個までの置換を有する、および／または親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３において１個までの置換を有する、上記のような単離されたポリペプチドを提供する。これには、（１）親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３に１つの置換を有する単離されたポリペプチド、（２）親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３に１つの置換を有する単離されたポリペプチド、および（３）親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３に１つの置換を有し、且つＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３に１つの置換を有する単離されたポリペプチドが含まれる。

【００２０】

この態様の一実施形態では、ＣＤＲのＨ１、Ｈ２およびＨ３における可能な一点変異を図２Ａ－１および図２Ａ－２に示し、ＣＤＲのＬ１、Ｌ２およびＬ３における可能な一点変異を図３Ａ－１および図３Ａ－２に示す。

【００２１】

この態様の別の実施形態では、ＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３の可能な一点変異を図２Ｂ－１および図２Ｂ－２に示し、ＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３の可能な一点変異を図３Ｂ－１および図３Ｂ－２に示す。

【００２２】

別の態様において、重鎖可変領域ポリペプチドの各々および軽鎖可変領域ポリペプチドの各々は、ＣＤＲにおいて、図２Ｂ－１－２および図２Ａ－１－２に示される点変異から選択される１、２、３、４または５個の独立して選択される置換をそれぞれ有し得る。

【００２３】

さらに別の態様において、本発明は、上記のような本発明のポリペプチドのいずれか１

つを含む抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。
【００２４】
この態様の一実施形態において、本発明は、上記のような重鎖可変領域ポリペプチドのいずれか１つを、上記のような軽鎖可変領域ポリペプチドのいずれか１つと組み合わせた抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。
【００２５】
この態様の一実施形態において、本発明は、配列番号１８～２６から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を、配列番号１３～１７および２７から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域と組み合わせた抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。
【００２６】
この態様のさらなる実施形態において、本発明は、配列番号１８、配列番号２１、および配列番号２２から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号１３～１６から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを組み合わせた抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。
【００２７】
この態様のさらなる実施形態において、本発明は、腫瘍微小環境における条件の値においてＲＯＲ２タンパク質に対して、非腫瘍微小環境で生じる同じ条件の異なる値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性と比較して、より高い結合親和性で特異的に結合する抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。
【００２８】
この態様のさらに別の実施形態では、腫瘍微小環境の条件および非腫瘍微小環境の条件はｐＨである。
【００２９】
この態様のさらに別の実施形態では、腫瘍微小環境のｐＨは５．８から６．８の範囲にあり、非腫瘍微小環境のｐＨは７．０から７．６の範囲にある。
【００３０】
この態様のさらなる実施形態では、抗体または抗体断片は、腫瘍微小環境における条件の値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性と、非腫瘍微小環境における同じ条件の異なる値におけるＲＯＲ２タンパク質に対する結合親和性との比が、少なくとも約１．５：１、少なくとも約２：１、少なくとも約３：１、少なくとも約４：１、少なくとも約５：１、少なくとも約６：１、少なくとも約７：１、少なくとも約８：１、少なくとも約９：１、少なくとも約１０：１、少なくとも約２０：１、少なくとも約３０：１、少なくとも約５０：１、少なくとも約７０：１、または少なくとも約１００：１である。
【００３１】
この態様のさらに別の実施形態では、上記の実施形態のいずれか１つの抗体または抗体断片は、キメラ抗体、多重特異性抗体、またはヒト化抗体である。
【００３２】
さらに別の態様において、上記の本発明は、化学療法剤、放射性原子、細胞増殖抑制剤および細胞毒性剤から選択される少なくとも一の薬剤にコンジュゲートしている本発明の抗体または抗体断片を含む免疫コンジュゲートを提供する。
【００３３】
この態様の一実施形態では、免疫コンジュゲートは、条件的に活性な生物学的（ＣＡＢ）抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が切断可能リンカー（ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣ）を介して１つ以上の異種分子に結合した抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）である。ＣＡＢ抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、ＢＡ３０２１であってもよい。ＢＡ３０２１は、配列番号１６のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号２１のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体または抗体断片である。ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣは、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）であってもよく、ここで異種分子がモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）であり、（ｎ）が（１と４を含む）１～４の整数である。

【００３４】
さらに別の態様において、上記本発明は、本発明のポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または免疫コンジュゲートを薬学的に許容される担体と一緒に含む医薬組成物を提供する。
【００３５】
さらに別の態様において、上記本発明は、本発明のポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または免疫コンジュゲートを含む診断または治療のためのキットを提供する。
【００３６】
別の態様において、本発明は、上記のような本発明のポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または免疫コンジュゲートを用いて、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法を提供する。
【００３７】
この態様の一実施形態において、本発明のＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法は、そのような治療を必要とするヒト対象に、上記のような条件的に活性なＲＯＲ２ポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または免疫コンジュゲートを投与することを含む。
【００３８】
この態様のさらなる実施形態において、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法は、そのような治療を必要とするヒト対象に、上記のようなＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣを投与することを含む。
【００３９】
この態様のさらなる実施形態では、このような治療を必要とするヒト対象は、癌またはＲＯＲ２発現腫瘍を有するヒト対象である。
【００４０】
この態様の特定の実施形態では、癌は、肉腫、卵巣癌、黒色腫、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、乳癌、および頭頸部癌から選択され得る。
【００４１】
この態様の別の実施形態において、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法は、上記の実施形態のいずれかに記載されるような治療を必要とするヒト対象に、上記のように、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）であるＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣを含む医薬組成物を投与することを含む。
【００４２】
この態様のさらに別の実施形態では、上記のいずれかの実施形態に記載の医薬組成物を、２１日または３週間ごとに、ヒト対象の体重に対して３．３ｍｇ／ｋｇまでの投与量で投与する。
【００４３】
この態様のさらに別の実施形態では、上記のいずれかの実施形態に記載の医薬組成物を、１４日または２週間ごとに、ヒト対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で投与する。
【図面の簡単な説明】
【００４４】
【図１】ヒトＲＯＲ２タンパク質の構造の模式図である。このタンパク質は、細胞外ドメイン中のＩｇ様ドメイン（Ｉｇ）、フリズルドまたはシステインリッチ（ＣＲＤ）ドメイン、およびクリングル（Ｋｒ）ドメインを含有する。細胞外および細胞内ドメインは、膜貫通（ＴＭ）ドメインにより離隔されている。細胞内ドメインは、セリン／トレオニン（ＳＴ）リッチドメインによりフランキングされているチロシンキナーゼ（ＴＫ）ドメインおよびプロリンリッチドメイン（ＰＲ）を含有する。
【００４５】
【図２Ａ－Ｂ】図２Ａは、図２Ａ－１および２Ａ－２のインデックスを示す。図２Ｂは、図２Ｂ－１および２Ｂ－２のインデックスを示す。図２Ａ－１、２Ａ－２、２Ｂ－１、および２Ｂ－２は、本発明の抗ＲＯＲ２抗体の例示的な重鎖可変領域の配列アラインメント

を示す。
【００４６】
【図３Ａ－Ｂ】図３Ａは、図３Ａ－１および３Ａ－２のインデックスを示す。図３Ｂは、図３Ｂ－１および３Ｂ－２のインデックスを示す。図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、および３Ｂ－２は、本発明の抗ＲＯＲ２抗体の例示的な軽鎖可変領域の配列アラインメントを示す。
【００４７】
【図４】実施例１に記載のとおり、本発明の抗ＲＯＲ２抗体が凝集しないことを示すサイズ排除クロマトグラフを示す。
【００４８】
【図５】実施例１に記載のとおり、ＲＯＲ２への結合についての本発明の抗ＲＯＲ２抗体のｐＨ依存的結合プロファイルを示す。
【００４９】
【図６Ａ－Ｂ】実施例１に記載のとおり、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）アッセイにより計測された本発明の条件的に活性な抗体のオンおよびオフ速度を示す。
【００５０】
【図７Ａ－Ｃ】実施例２に記載のとおり、本発明のパクリタキセルコンジュゲート抗ＲＯＲ２抗体によるゼノグラフトマウスの処理の腫瘍体積に対する効果を示す。
【００５１】
【図８】ｐＨ滴定により計測された例示的な条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８のｐＨ依存的結合親和性を示す。
【００５２】
【図９】ヒト、カニクイザル、およびマウスのＲＯＲ２タンパク質に対する条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８の結合親和性を示す。
【００５３】
【図１０】ヒトＲＯＲ２を発現するＨＥＫ２９３細胞に対するモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）にコンジュゲートしている条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８の細胞殺傷を示す。
【００５４】
【図１１Ａ－Ｃ】ＬＣＬＣ１０３Ｈ細胞に対するＭＭＡＥにコンジュゲートしている条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８の細胞殺傷を示す。
【００５５】
【図１２Ａ－Ｃ】ＨＴ１０８０細胞に対するＭＭＡＥにコンジュゲートしている条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８の細胞殺傷を示す。
【００５６】
【図１３】ＭＭＡＥにコンジュゲートしている条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を使用してＬＣＬＣ１０３Ｈにより誘導されたマウス腫瘍の処理を示す。
【００５７】
【図１４】異なるリンカーを介してＭＭＡＥにコンジュゲートしている条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を使用する、ＬＣＬＣ１０３Ｈにより誘導されたマウス腫瘍の処理を示す。
【００５８】
【図１５Ａ－Ｂ】ＭＭＡＥにコンジュゲートしている条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を使用する、ＨＴ１０８０またはＭＤＡ－ＭＢ－４３６によりそれぞれ誘導されるマウス腫瘍の処理を示す。
【００５９】
【図１６】図１６は、ＢＡ３０２１第１相試験に登録されたＮＳＣＬＣ患者における様々な投与応答の変化をＲＯＲ腫瘍膜パーセントスコア（ＴｍＰＳ）により示しており、評価可能なＲＯＲ２　ＴｍＰＳを有するＮＳＣＬＣ患者５人のうち２人において、腫瘍膜ＲＯＲ２発現が抗腫瘍反応と関連していた。

【００６０】
【図１７】図１７は、ＢＡ３０２１第１相試験に登録された評価可能な転移性黒色腫患者２人の投与応答を示す。
【００６１】
【図１８Ａ－Ｂ】図１８Ａ－１８Ｂは、ＢＡ３０２１（ｏｚｕｒｉｆｔａｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）を投与され完全奏効を達成した転移性黒色腫患者において、治療前（図１８Ａ）と、２つの肺病変のうち１つが消失した治療後（図１８Ｂ）のＣＴスキャンを示す。
【００６２】
【図１９Ａ－Ｄ】図１９Ａ－１９Ｄは肉腫におけるＲＯＲ２染色を４０倍に拡大して示す。図１９Ａ（Ｑ９４０３、％スコア　１＋以上：１００、スライド＃８８）、図１９Ｂ（ＱＭＴＢ３１３－０８、％スコア　１＋以上：７０、スライド＃７５）、図１９Ｃ（Ｑ９４５３、％スコア　１＋以上：５０、スライド＃９３）は肉腫におけるＲＯＲ２　Ｈ－１を示し、図１９Ｄは肉腫におけるマウスＩｇＧ１を示す（陰性対照、スライド＃８８）。
【００６３】
【図２０Ａ－Ｄ】図２０Ａ－２０Ｄは卵巣癌におけるＲＯＲ２染色を４０倍に拡大して示す。図２０Ａ（Ｑ５４８８、％スコア　１＋以上：７０、スライド＃１２０）、図２０Ｂ（Ｑ７４９９－０２、％スコア　１＋以上：５０、スライド＃１２４）、図２０Ｃ（Ｑ６９４６－０１、％スコア　１＋以上：２０，　スライド＃１２２）は卵巣癌におけるＲＯＲ２　Ｈ－１を示し、図２０Ｄは卵巣癌におけるマウスＩｇＧ１を示す（陰性対照、スライド＃１７５）。
【００６４】
【図２１Ａ－Ｄ】図２１Ａ－２１ＤはＮＳＣＬＣにおけるＲＯＲ２染色を４０倍に拡大して示す。図２１Ａ（ＱＭＴＢ３９７－０９、％スコア　１＋以上：１００、スライド＃２３９）、図２１Ｂ（Ｑ４０４４－０４９、％スコア　１＋以上：１０、スライド＃２５３）、図２１Ｃ（ＱＭＴＢ２４９－０２、％スコア　１＋以上：０、スライド＃２３８）はＮＳＣＬＣにおけるＲＯＲ２　Ｈ－１を示し、図２１ＤはＮＳＣＬＣにおけるマウスＩｇＧ１を示す（ＱＭＴＢ３９７－０９、陰性対照、スライド＃２９４）。
【００６５】
【図２２Ａ－Ｄ】図２２Ａ－２２Ｄは、トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）におけるＲＯＲ２染色を４０倍の倍率で示す。図２２Ａ（Ｑ９３３、％スコア　１＋以上：９０、スライド＃３６９）、図２２Ｂ（Ｑ９２８６、％スコア　１＋以上：６０、スライド＃２９０）、図２２Ｃ（Ｑ９３３５、％スコア　１＋以上：１５、スライド＃３７１）はＴＮＢＣにおけるＲＯＲ２　Ｈ－１を示し、図２２ＤはＴＮＢＣにおけるマウスＩｇＧ１を示す（陰性対照、スライド＃３８４）。
【００６６】
【図２３】図２３は、各癌適応症（ｃａｎｃｅｒ　ｉｎｄｉｃａｔｉｏｎ）におけるＲＯＲ２陽性および陰性症例の割合を示す。これは、ＲＯＲ２カットオフ：陽性症例を示す１０％以上の腫瘍細胞における１＋以上の強度に基づく。
【００６７】
【図２４】図２４は、癌適応症別のＲＯＲ２細胞膜Ｈスコアの平均値を示す。
【００６８】
【図２５Ａ－Ｆ】図２５Ａ－２５Ｆは、正常ヒトＴＭＡ組織におけるＲＯＲ２を２０倍の倍率で示す。図２５Ａは正常な腎臓におけるＲＯＲ２を示す、％スコア　１＋以上：０（スライド＃３７５）、図２５Ｂは正常な肝臓におけるＲＯＲ２を示す、％スコア　１＋以上：０（スライド＃３７５）、図２５Ｃは正常な腸におけるＲＯＲ２を示す、％スコア　１＋以上：０（スライド＃３７５）、図２５Ｄは正常な脳におけるＲＯＲ２を示す、％スコア　１＋以上：０（スライド＃３７５）、図２５Ｅは正常な甲状腺におけるＲＯＲ２を示す、％スコア　１＋以上：１０（スライド＃３７５）、図２５Ｆは正常な扁桃腺におけるＲＯＲ２を示す、％スコア　１＋以上：１０（スライド＃３７５）。
【００６９】

【図２６】図２６は肉腫Ｑ９４０３におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７０】
【図２７】図２７は肉腫ＱＭＴＢ３１３－０７におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７１】
【図２８】図２８は、卵巣癌Ｑ７４９９－０２におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７２】
【図２９】図２９は卵巣癌ＱＭＴＢ４００－０５におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７３】
【図３０】図３０はＮＳＣＬＣ　Ｑ６９４９－０１におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７４】
【図３１】図３１は、ＮＳＣＬＣ　Ｑ４０４４におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７５】
【図３２】図３２は、ＴＮＢＣ　Ｑ９３３３におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７６】
【図３３】図３３は、ＴＮＢＣ　Ｑ９２５０におけるＲＯＲ２の精度と再現性を示す。
【００７７】
【図３４】図３４は、非小細胞肺癌の処置のための本発明のポリペプチドの使用のための投与スケジュールの実施形態を示す。
【発明を実施するための形態】
【００７８】
定義
本明細書において提供される実施例の理解を容易にするため、ある高頻度に使用される用語を本明細書において定義する。
【００７９】
計測される量との関連で、本明細書において使用される用語「約」は、計測を行い、計測の目的および使用される計測装置の精度に見合うあるレベルのケアを実行する当業者により予測されるその計測される量の通常の変動を指す。特に示されない限り、「約」は、提供される値の＋／－１０％の変動を指す。
【００８０】
本明細書において使用される用語「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一結合部位と、その結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総計の強度を指す。特に示されない限り、本明細書において使用される「結合親和性」は、結合ペア（例えば、抗体および抗原）のメンバー間の１：１の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子Ｘのそのパートナー Ｙについての親和性は、一般に、解離定数（Ｋｄ）により表すことができる。親和性は、当分野において公知の一般的方法、例として、本明細書に記載のものにより計測することができる。結合親和性を計測するための具体的な説明および例示的な実施形態を以下に記載する。
【００８１】
本明細書において使用される用語「親和性成熟」は、変更を保有しない親抗体と比較して１つ以上の超可変領域（ＨＶＲ）中の１つ以上の変更を有する抗体を指し、そのような変更は、抗原についての抗体の親和性の改善をもたらす。本明細書において使用される用語「アミノ酸」は、アミノ基（－－NH_2）およびカルボキシル基（－－ＣＯＯＨ）を好ましくは遊離基として、あるいは縮合後にペプチド結合の一部として含有する任意の有機化合物を指す。「２０個の天然にコードされるポリペプチド形成アルファ－アミノ酸」は当分野において理解され、アラニン（ａｌａまたはＡ）、アルギニン（ａｒｇまたはＲ）、アスパラギン（ａｓｎまたはＮ）、アスパラギン酸（ａｓｐまたはＤ）、システイン（ｃｙｓまたはＣ）、グルタミン酸（ｇｌｕまたはＥ）、グルタミン（ｇｉｎまたはＱ）、グリシン（ｇｌｙまたはＧ）、ヒスチジン（ｈｉｓまたはＨ）、イソロイシン（ｉｌｅま

たはＩ）、ロイシン（ｌｅｕまたはＬ）、リジン（ｌｙｓまたはＫ）、メチオニン（ｍｅｔまたはＭ）、フェニルアラニン（ｐｈｅまたはＦ）、プロリン（ｐｒｏまたはＰ）、セリン（ｓｅｒまたはＳ）、トレオニン（ｔｈｒまたはＴ）、トリプトファン（ｔｉｐまたはＷ）、チロシン（ｔｙｒまたはＹ）、およびバリン（ｖａｌまたはＶ）を指す。

【００８２】

本明細書において使用される用語「抗体」は、インタクト免疫グロブリン分子、ならびに抗原のエピトープに結合し得る免疫グロブリン分子の断片、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、（Ｆａｂ’）２、Ｆｖ、およびＳＣＡ断片を指す。これらの抗体断片は、それらが由来する抗体の抗原（例えば、ポリペプチド抗原）に選択的に結合するいくらかの能力を保持し、当分野において周知の方法を使用して作製することができ（例えば、Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ前掲参照）、以下にさらに記載される。抗体は、分取量の抗原を免疫親和性クロマトグラフィーにより単離するために使用することができる。このような抗体または抗体断片の種々の他の使用は、疾患（例えば、新生物形成）を診断および／または病期分類するため、ならびに疾患、例えば、新生物形成、自己免疫疾患、ＡＩＤＳ、心血管疾患、感染症などを治療するための治療用途のためのものである。キメラヒト様ヒト化または完全ヒト抗体は、ヒト患者への投与に特に有用である。

【００８３】

Ｆａｂ断片は、抗体分子の一価抗原結合断片からなり、酵素パパインによる完全抗体分子の消化により、インタクト軽鎖および重鎖の一部からなる断片を生じさせて産生することができる。

【００８４】

抗体分子のＦａｂ’断片は、完全抗体分子をペプシンにより処理し、次いで還元してインタクト軽鎖および重鎖の一部からなる分子を生じさせることにより得ることができる。２つのＦａｂ’断片は、この様式で処理される抗体分子ごとに得られる。

【００８５】

抗体の（Ｆａｂ’）２断片は、完全抗体分子を酵素ペプシンにより後続の還元なしで処理することにより得ることができる。（Ｆａｂ’）２断片は、２つのジスルフィド結合により一緒に保持される２つのＦａｂ’断片の二量体である。

【００８６】

Ｆｖ断片は、２つの鎖として発現される軽鎖の可変領域および重鎖の可変領域を含有する遺伝子操作された断片として定義される。

【００８７】

本明細書において使用される用語「抗体断片」は、インタクト抗体が結合する抗原に結合するインタクト抗体の一部を含むインタクト抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定されるものではないが、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$；ダイアボディ；直鎖抗体；単鎖抗体分子（例えば、ｓｃＦｖ）および抗体断片から形成される多重特異的抗体が挙げられる。

【００８８】

本明細書において使用される用語「抗ＲＯＲ２抗体」、「ＲＯＲ２抗体」および「ＲＯＲ２に結合する抗体」は、抗体がＲＯｒ２の標的化における診断および／または治療剤として有用であるように十分な親和性でＲＯＲ２に結合し得る抗体を指す。一実施形態において、非関連非ＲＯＲ２タンパク質への抗ＲＯＲ２抗体の結合の程度は、例えば、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）により計測してＲＯＲ２への抗体の結合の約１０％未満である。ある実施形態において、ＲＯＲ２に結合する抗体は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（Ｋｄ）を有する。ある実施形態において、抗ＲＯＲ２抗体は、異なる種からのＲＯＲ２間で保存されるＲＯＲ２のエピトープに結合する。

【００８９】

本明細書において使用される用語「結合」は、抗体の可変領域またはＦｖと、抗原との

相互作用を指し、その相互作用は抗原上の特定の構造（例えば、抗原決定基またはエピトープ）の存在に依存する。例えば、抗体可変領域またはＦｖは、タンパク質全般ではなく特異的タンパク質構造を認識し、それに結合する。本明細書において使用される「特異的に結合すること（ｓｐｅｃｉｆｉｃａｌｌｙ　ｂｉｎｄｉｎｇ）」または「特異的に結合すること（ｂｉｎｄｉｎｇ　ｓｐｅｃｉｆｉｃａｌｌｙ）」は、抗体可変領域またはＦｖが、特定の抗原に、他のタンパク質よりも高頻度で急速に長い持続時間および／または大きな親和性で結合し、または会合することを意味する。例えば、抗体可変領域またはＦｖは、その抗原に、他の抗原に結合するよりも大きな親和性、アビディティで、急速に、および／または長い持続時間、特異的に結合する。別の例では、抗体可変領域またはＦｖは、細胞表面タンパク質（抗原）に、それが関連タンパク質もしくは他の細胞表面タンパク質に、または多反応性天然抗体により（すなわち、ヒトにおいて天然に見出される種々の抗原に結合することが公知の天然存在抗体により）一般に認識される抗原に結合するよりもかなり大きな親和性で結合する。しかしながら、「特異的に結合する」は、必ずしも排他的結合または別の抗原の非検出結合を要求せず、これは、用語「選択的結合」を意味する。一例において、抗原に結合する抗体可変領域またはＦｖ（または他の結合領域）の「特異的結合」は、抗体可変領域またはＦｖが、１００ｎＭ以下、例えば、５０ｎＭ以下、例えば、２０ｎＭ以下、例えば、１５ｎＭ以下、または１０ｎＭ以下、または５ｎＭ以下、２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下の平衡定数（ＫＤ）で抗原に結合することを意味する。

【００９０】

本明細書において使用される用語「癌」および「癌性」は、典型的には、無秩序な細胞成長／増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的病態を指し、または説明する。癌の例としては、限定されるものではないが、黒色腫、癌腫、リンパ腫（例えば、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫）、芽細胞腫、肉腫、および白血病が挙げられる。このような癌のより特定の例としては、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、消化管癌、膵臓癌、膠芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞腫、白血病および他のリンパ球増殖性疾患、線維肉腫、骨肉腫、ならびに種々のタイプの頭頸部癌が挙げられる。

【００９１】

本明細書において使用される用語「細胞増殖性障害」および「増殖性障害」は、ある程度の異常細胞増殖に関連する障害を指す。一実施形態において、細胞増殖性障害は、癌である。

【００９２】

本明細書において使用される用語「化学療法剤」は、癌の治療において有用な化合物を指す。化学療法剤の例としては、アルキル化剤、例えば、チオテパおよびシクロホスファミド（ＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標））；スルホン酸アルキル、例えば、ブスルファン、イムプロスルファンおよびピポスルファン；アジリジン、例えば、ベンゾドパ、カルボクオン、メツレドパ（ｍｅｔｕｒｅｄｏｐａ）、およびウレドパ（ｕｒｅｄｏｐａ）；エチレンイミンおよびメチルアメラミン（ｍｅｔｈｙｌａｍｅｌａｍｉｎｅ）、例として、アルトレタミン、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およびトリメチロメラミン（ｔｒｉｍｅｔｈｙｌｏｍｅｌａｍｉｎｅ）；アセトゲニン（特に、ブラタシンおよびブラタシノン）；デルタ－９－テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、ＭＡＲＩＮＯＬ（登録商標））；ベータ－ラパコン；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；カンプトテシン（例として、合成類似体トポテカン（ＨＹＣＡＭＴＩＮ（登録商標））、ＣＰＴ－１１（イリノテカン、ＣＡＭＰＴＯＳＡＲ（登録商標））、アセチルカンプトテシン、スコポレクチン（ｓｃｏｐｏｌｅｃｔｉｎ）、および９－アミノカンプトテシン）；ブリオスタチン；カリスタチン；ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類似体を含む）；ポドフィロトキシン；ポドフィリン酸；テニポシド；クリプトフィシン（特に、クリプトフィシン１およびクリ

プトフィシン８）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似体のＫＷ－２１８９およびＣＢ１－ＴＭ１を含む）；エレウテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチイン；スポンギスタチン；ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、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塩酸塩、メルファラン、ノブエンビキン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソウレア、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびラニムヌスチン（ｒａｎｉｍｎｕｓｔｉｎｅ）；抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシンガンマＩＩおよびカリケアマイシンオメガＩＩ（例えば、Ｎｉｃｏｌａｏｕ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．，３３：１８３－１８６（１９９４）参照）；ＣＤＰ３２３、経口アルファ－４インテグリン阻害剤；ジネマイシン、例として、ジネマイシンＡ；エスペラマイシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アウスラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン（ｃａｒａｂｉｃｉｎ）、カミノマイシン（ｃａｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、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、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシン（例として、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標）、モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン、ドキソルビシンＨＣ１リポソーム注射剤（ＤＯＸＩＬ（登録商標）、リポソームドキソルビシンＴＬＣ Ｄ－９９（ＭＹＯＣＥＴ（登録商標））、ｐｅｇ化リポソームドキソルビシン（ＣＡＥＬＹＸ（登録商標））、およびデオキシドキソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、例えば、マイトマイシンＣ、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、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、ウベニメックス、ジノスタチン、ゾルビシン；代謝拮抗物質、例えば、メトトレキサート、ゲムシタビン（ＧＥＭＺＡＲ（登録商標））、テガフル（ＵＦＴＯＲＡＬ（登録商標））、カペシタビン（ＸＥＬＯＤＡ（登録商標））、エポチロン、および５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）；葉酸類似体、例えば、デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサート；プリン類似体、例えば、フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、例えば、アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン；アンドロゲン、例えば、カルステロン、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；抗副腎剤、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補給剤、例えば、フロリン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ ａｃｉｄ）；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；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルミチン（ｅｌｆｏｒｍｉｔｈｉｎｅ）；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイド、例えば、メイタンシンおよびアンサミトシン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ（登録商標）多糖複合体（ＪＨＳ Ｎａｔｕｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇ．）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；２，２’，２’’－トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特に、Ｔ－２毒素、ベラクリンＡ、ロリジンＡおよびアングイジン）；ウレタン；ビンデシン（ＥＬＤＩＳＩＮＥ（登録商標）、ＦＩＬＤＥＳＩＮ（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ

」）；チオテパ；タキソイド、例えば、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標））、パクリタキセルのアルブミンエンジニアリングナノ粒子配合物（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（商標））、およびドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標））；クロランブシル（ｃｈｌｏｒａｎｂｕｃｉｌ）；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；白金類似体、例えば、シスプラチン、オキサリプラチン（例えば、ＥＬＯＸＡＴＩＮ（登録商標））、およびカルボプラチン；チューブリン重合の微小管形成を妨害するビンカ、例として、ビンブラスチン（ＶＥＬＢＡＮ（登録商標））、ビンクリスチン（ＯＮＣＯＶＩＮ（登録商標））、ビンデシン（ＥＬＤＩＳＩＮＥ（登録商標）、ＦＩＬＤＥＳＩＮ（登録商標））、およびビノレルビン（ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標））；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；ミトキサントロン；ロイコボリン；ノバントロン；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦ（登録商標））；レチノイド、例えば、レチノイン酸、例として、ベキサロテン（ＴＡＲＧＲＥＴＩＮ（登録商標））；；ビスホスホネート、例えば、クロドロネート（例えば、ＢＯＮＥＦＯＳ（登録商標）またはＯＳＴＡＣ（登録商標））、エチドロネート（ＤＩＤＲＯＣＡＬ（登録商標））、ＮＥ－５８０９５、ゾレドロン酸／ゾレドロネート（ＺＯＭＥＴＡ（登録商標））、アレンドロネート（ＦＯＳＡＭＡＸ（登録商標））、パミドロネート（ＡＲＥＤＩＡ（登録商標））、チルドロネート（ＳＫＥＬＩＤ（登録商標））、またはリセドロネート（ＡＣＴＯＮＥＬ（登録商標））；トロキサシタビン（１，３－ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常な細胞増殖に関与するシグナリング経路における遺伝子、例えば、ＰＫＣ－アルファ、Ｒａｆ、Ｈ－Ｒａｓ、および上皮増殖因子受容体（ＥＧＦ－Ｒ）などの発現を阻害するもの；ワクチン、例えば、ＴＨＥＲＡＴＯＰＥ（登録商標）ワクチンおよび遺伝子療法ワクチン、例えば、ＡＬＬＯＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、ＬＥＵＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、およびＶＡＸＩＤ（登録商標）ワクチン；トポイソメラーゼ１阻害剤（例えば、ＬＵＲＴＯＴＥＣＡＮ（登録商標））；ｒｍＲＨ（例えば、ＡＢＡＲＥＬＩＸ（登録商標））；ＢＡＹ４３９００６（ソラフェニブ；Ｂａｙｅｒ）；ＳＵ－１１２４８（スニチニブ、ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、Ｐｆｉｚｅｒ）；ペリフォシン、ＣＯＸ－２阻害剤（例えば、セレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、ＰＳ３４１）；ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標））；ＣＣＩ－７７９；チピファルニブ（Ｒ１１５７７）；オラフェニブ、ＡＢＴ５１０；Ｂｃｌ－２阻害剤、例えば、オブリメルセンナトリウム（ＧＥＮＡＳＥＮＳＥ（登録商標））；ピキサントロン；ＥＧＦＲ阻害剤（以下の定義参照）；チロシンキナーゼ阻害剤（以下の定義参照）；セリン－トレオニンキナーゼ阻害剤、例えば、ラパマイシン（シロリムス、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標））；ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、ロナファルニブ（ＳＣＨ６６３６、ＳＡＲＡＳＡＲ（商標））；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体；ならびに上記の２つ以上の組合せ、例えば、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、およびプレドニゾロンの併用療法の省略形であるＣＨＯＰ；および５－ＦＵおよびロイコボリンと組み合わせたオキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（商標））を用いる治療レジメンの省略形であるＦＯＬＦＯＸなどが挙げられる。

【００９３】

本明細書において定義される化学療法剤としては、癌の成長を促進し得るホルモンの効果を調節し、低減させ、遮断し、または阻害するように作用する「抗ホルモン剤」または「内分泌治療薬」が挙げられる。これらは、ホルモンそれ自体であり得、例として、限定されるものではないが、混合アゴニスト／アンタゴニストプロファイルを有する抗エストロゲン剤、例として、タモキシフェン（ＮＯＬＶＡＤＥＸ（登録商標））、４－ヒドロキシタモキシフェン、トレミフェン（ＦＡＲＥＳＴＯＮ（登録商標））、イドキシフェン、ドロロキシフェン、ラロキシフェン（ＥＶＩＳＴＡ（登録商標））、トリオキシフェン、ケオキシフェン、および選択的エストロゲン受容体モジュレーター（ＳＥＲＭ）、例えば、ＳＥＲＭ３；アゴニスト特性を有さない純抗エストロゲン剤、例えば、フルベストラン

ト（ＦＡＳＬＯＤＥＸ（登録商標））、およびＥＭ８００（このような薬剤は、エストロゲン受容体（ＥＲ）二量体化を遮断し、ＤＮＡ結合を阻害し、ＥＲターンオーバーを増加させ、および／またはＥＲレベルを抑制し得る）；アロマターゼ阻害剤、例として、ステロイドアロマターゼ阻害剤、例えば、ホルメスタンおよびエキセメスタン（ＡＲＯＭＡＳＩＮ（登録商標））、および非ステロイドアロマターゼ阻害剤、例えば、アナストラゾール（ａｎａｓｔｒａｚｏｌｅ）（ＡＲＩＭＩＤＥＸ（登録商標））、レトロゾール（ＦＥＭＡＲＡ（登録商標））およびアミノグルテチミド、および他のアロマターゼ阻害剤、例として、ボロゾール（ＲＩＶＩＳＯＲ（登録商標））、酢酸メゲストロール（ＭＥＧＡＳＥ（登録商標））、ファドロゾール、および４（５）－イミダゾール；黄体形成ホルモン放出モルモンアゴニスト、例として、ロイプロリド（ＬＵＰＲＯＮ（登録商標）およびＥＬＩＧＡＲＤ（登録商標））、ゴセレリン、ブセレリン、およびトリプテレリン；性ステロイド、例として、プロゲスチン、例えば、酢酸メゲストロールおよび酢酸メドロキシプロゲステロン、エストロゲン、例えば、ジエチルスチルベストロールおよびプレマリン、およびアンドロゲン／レチノイド、例えば、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸およびフェンレチニド；オナプリストン；抗プロゲステロン剤；エストロゲン受容体下方調節剤（ＥＲＤ）；抗エストロゲン剤、例えば、フルタミド、ニルタミドおよびビカルタミド；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体；ならびに上記の２つ以上の組合せが挙げられる。

【００９４】

本明細書において使用される用語「キメラ」抗体は、重鎖および／または軽鎖の一部が特定の資源または種に由来する一方、重鎖および／または軽鎖の残部が異なる資源または種に由来する抗体を指す。

【００９５】

本明細書において使用される用語、抗体の「クラス」は、その重鎖により保有される定常ドメインまたは定常領域のタイプを指す。５つの主要な抗体のクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭが存在し、これらのいくつかはサブクラス（アイソタイプ）、例えば、$Ig G_1$、$Ig G_2$、$Ig G_3$、$Ig G_4$、$Ig A_1$、および$Ig A_2$にさらに分類することができる。異なる免疫グロブリンのクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、およびμと呼ばれる。

【００９６】

本明細書において使用される用語「条件的に活性な抗体」は、腫瘍微小環境中の条件下で、非腫瘍微小環境中の条件下と比較して活性である抗体を指す。腫瘍微小環境中の条件としては、非腫瘍微小環境中の条件と比較して低いｐＨ、高い濃度の乳酸塩および／またはピルビン酸塩、低酸素、低い濃度のグルコース、ならびにわずかに高い温度を挙げることができる。例えば、条件的に活性な抗体は、正常な体温において実質的に不活性であるが、腫瘍微小環境中のより高い温度において活性である。さらに別の態様において、条件的に活性な抗体は、正常な含酸素血液中で低活性であるが、腫瘍中に存在する低含酸素環境下では活性である。さらに別の態様において、条件的に活性な抗体は、正常な生理学的ｐＨ７．２～７．８において低活性であるが、腫瘍微小環境中に存在する酸性ｐＨ５．８～７．０、または６．０～６．８下でより活性である。当業者に公知の腫瘍微小環境中の他の条件が存在し、それらを抗ＲＯＲ２抗体がＲＯＲ２に対する異なる結合親和性を有する本発明における条件として使用することもできる。

【００９７】

本明細書において使用される用語「構成的」は、例えば、ＲＯＲ２活性に適用される場合、リガンドの存在にも他の活性化分子の存在にも依存的でない受容体キナーゼの連続的なシグナリング活性を指す。受容体キナーゼの性質に応じて、活性の全ては構成的であり得、または受容体の活性は、他の分子（例えば、リガンド）の結合によりさらに活性化され得る。受容体キナーゼの活性化をもたらす細胞イベントは、当業者の間で周知である。例えば、活性化としては、より高次の受容体複合体へのオリゴマー化、例えば、二量体化、三量体化などを挙げることができる。複合体は、単一種のタンパク質、すなわち、ホモ

複合体を含み得る。あるいは、複合体は、少なくとも２つの異なるタンパク質種、すなわち、ヘテロ複合体を含み得る。複合体形成は、例えば、細胞の表面上の受容体の正常または突然変異形態の過剰発現により引き起こされ得る。複合体形成は、受容体中の１つ以上の特異的突然変異によっても引き起こされ得る。

【００９８】

本明細書において使用される用語「細胞増殖抑制剤」は、インビトロまたはインビボのいずれかにおける細胞の成長を停止させる化合物または組成物を指す。したがって、細胞増殖抑制剤は、Ｓ期における細胞の割合を顕著に低減させるものであり得る。細胞増殖抑制剤のさらなる例としては、Ｇ０／Ｇ１停止またはＭ期停止を誘導することにより細胞周期進行を遮断する薬剤が挙げられる。ヒト化抗Ｈｅｒ２抗体トラスツズマブ（ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標））は、Ｇ０／Ｇ１停止を誘導する細胞増殖抑制剤の一例である。古典的Ｍ期遮断剤としては、ビンカ（ビンクリスチンおよびビンブラスチン）、タキサン、およびトポイソメラーゼＩＩ阻害剤、例えば、ドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、およびブレオマイシンが挙げられる。Ｇ１を停止させるある薬剤、例えば、ＤＮＡアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、５－フルオロウラシル、およびａｒａ－ＣはＳ期停止にも波及する。さらなる情報は、Ｍｅｎｄｅｌｓｏｈｎ ａｎｄ Ｉｓｒａｅｌ，ｅｄｓ．，Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ，Ｃｈａｐｔｅｒ １、表題“Ｃｅｌｌ ｃｙｃｌｅ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ，ｏｎｃｏｇｅｎｅｓ，ａｎｄ ａｎｔｉｎｅｏｐｌａｓｔｉｃ ｄｒｕｇｓ”、Ｍｕｒａｋａｍｉ ｅｔ ａｌ．（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，１９９５）、例えば、１３頁に見出すことができる。タキサン（パクリタキセルおよびドセタキセル）は、両方ともイチイ由来する抗癌薬である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ Ｒｏｒｅｒ）は、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）の半合成類似体である。パクリタキセルおよびドセタキセルは、チューブリン二量体からの微小管の集合を促進し、脱重合を妨害することにより微小管を安定させ、細胞の有糸分裂の阻害をもたらす。

【００９９】

本明細書において使用される用語「細胞毒性剤」は、細胞機能を阻害もしくは妨害し、および／または細胞死もしくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞毒性剤としては、限定されるものではないが、放射性同位体（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、およびＬｕの放射性同位体）；化学療法剤または化学療法薬（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンＣ、クロラムブシル、ダウノルビシンまたは他のインターカレート剤）；成長阻害剤；酵素およびその断片、例えば、核酸分解酵素；抗生物質；毒素、例えば、細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片および／またはバリアントを含む）；ならびに以下に開示される種々の抗腫瘍または抗癌剤が挙げられる。

【０１００】

本明細書において使用される用語「ダイアボディ」は、断片が同一ポリペプチド鎖中の軽鎖可変ドメイン（V_L）に連結している重鎖可変ドメイン（V_H）（V_H-V_L）を含む２つの抗原結合部位を有する小分子抗体断片を指す。同一鎖上の２つのドメイン間の対合を許容し得ないほど短鎖のリンカーを使用することにより、ドメインを別の鎖の相補的ドメインと強制的に対合させ、それが２つの抗原結合部位を作出する。

【０１０１】

本明細書において使用される用語「検出可能に標識する」は、物理的または化学的手段による直接または間接的のいずれかの検出または計測が試料中のＣＴＣの存在を示す任意の物質を指す。有用な検出可能標識の代表的な例としては、限定されるものではないが、

以下のもの：光吸収、蛍光、反射、光散乱、燐光、または発光特性に基づき直接または間接的に検出可能な分子またはイオン；放射性により検出可能な分子またはイオン；核磁気共鳴または常磁性により検出可能な分子またはイオンが挙げられる。光吸収または蛍光に基づき間接的に検出可能な分子の群には、例えば、非光吸収から光吸収分子への、または非蛍光から蛍光分子への適切な基質の変換を引き起こす種々の酵素が含まれる。

【０１０２】

本明細書において使用される用語「診断」は、疾患または障害に対する対象の感受性の測定、対象が疾患または障害を現在罹患しているか否かに関する決定、疾患または障害を罹患している対象の予後診断（例えば、前転移または転移癌性状態、癌の病期、または治療法に対する癌の応答性の同定）、および治療方針（例えば、治療法の効果または効力に関する情報を提供するための対象病態のモニタリング）を指す。一部の実施形態において、本発明の診断方法は、早期癌の検出において特に有用である。

【０１０３】

本明細書において使用される用語「診断剤」は、直接または間接的に検出することができ、診断目的のために使用される分子を指す。診断剤は、対象または試料に投与することができる。診断剤は、それ自体で提供することができ、またはビヒクル、例えば、条件的に活性な抗体にコンジュゲートさせることができる。

【０１０４】

本明細書において使用される用語「エフェクター機能」は、抗体のＦｃ領域に起因し、抗体アイソタイプにより変動する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合および補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）；Ｆｃ受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞毒性（ＡＤＣＣ）、食作用、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方調節；ならびにＢ細胞活性化が挙げられる。

【０１０５】

本明細書において使用される用語、薬剤、例えば、医薬配合物の「有効量」は、投与量において、および必要な期間にわたり、所望の治療または予防結果を達成するために有効な量を指す。

【０１０６】

本明細書において使用される用語「Ｆｃ領域」は、定常領域の少なくとも一部を含有する免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Ｆｃ領域およびバリアントＦｃ領域を含む。一実施形態において、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃｙｓ２２６から、またはＰｒｏ２３０から重鎖のカルボキシル末端へと伸長する。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は、存在していてもしていなくてもよい。本明細書において特に規定されない限り、Ｆｃ領域または定常領域中のアミノ酸残基の番号付けは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．，１９９１に記載のとおりＥＵインデックスとも呼ばれるＥＵ番号付け系に従う。

【０１０７】

本明細書において使用される用語「フレームワーク」または「ＦＲ」は、超可変領域（ＨＶＲまたは重鎖中のＨ１～３および軽鎖中のＬ１～３）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのＦＲは、一般に、４つのＦＲドメイン：ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、およびＦＲ４からなる。したがって、ＨＶＲおよびＦＲ配列は、一般に、V_H（またはV_L）中の以下の配列：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４に出現する。

【０１０８】

用語「全長抗体」、「インタクト抗体」、または「完全抗体」は、抗原結合可変領域（V_HまたはV_L）ならびに軽鎖定常ドメイン（ＣＬ）および重鎖定常ドメインＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３を含む抗体を指す。定常ドメインは、天然配列定常ドメイン（例えば、

ヒト天然配列定常ドメイン）またはそのアミノ酸配列バリアントであり得る。重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、全長抗体は、異なる「クラス」に割り当てることができる。全長抗体の５つの主要なクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭが存在し、それらのいくつかは、「サブクラス」（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、およびＩｇＡ２にさらに分類することができる。抗体の異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューと呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニットおよび三次元立体配置は周知である。

【０１０９】

本明細書において使用される用語「宿主細胞」、「宿主細胞系」、および「宿主細胞培養物」は互換的に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含む。宿主細胞としては、「形質転換体」および「形質転換細胞」が挙げられ、それらとしては一次形質転換細胞および継代数に関係なくそれに由来する子孫が挙げられる。子孫は、核酸含有量が親細胞と完全に同一でなくてよく、突然変異を含有し得る。元の形質転換細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同一の機能または生物学的活性を有する突然変異体子孫が、本明細書に含まれる。

【０１１０】

本明細書において使用される用語「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞により産生される抗体、またはヒト抗体のレパートリーもしくは他のヒト抗体コード配列を利用する非ヒト資源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を保有する抗体である。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

【０１１１】

本明細書において使用される用語「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンV_LまたはV_Hフレームワーク配列の選択において、最も一般に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンV_LまたはV_H配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからのものである。一般に、配列のサブグループは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ９１－３２４２，Ｂｅｔｈｅｓｄａ Ｍｄ．（１９９１），ｖｏｌｓ．１－３におけるようなサブグループである。一実施形態において、V_Lについてのサブグループは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．、前掲におけるようなサブグループカッパＩである。一実施形態において、V_Hについてのサブグループは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．、前掲におけるようなサブグループＩＩＩである。

【０１１２】

本明細書において使用される用語「ヒト化」抗体は、非ヒトＨＶＲからのアミノ酸残基およびヒトＦＲからのアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。ある実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含み、そのドメイン中ではＨＶＲ（例えば、ＣＤＲ）の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、ＦＲの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、場合により、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含み得る。抗体、例えば、非ヒト抗体の「ヒト化形態」は、ヒト化を受けた抗体を指す。

【０１１３】

本明細書において使用される用語「超可変領域」または「ＨＶＲ」は、配列が超可変的であり、および／または構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成する抗体可変ドメインの領域のそれぞれを指す。一般に、天然四鎖抗体は、６つのＨＶＲ；V_H中の３つ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）、およびV_L中の３つ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）を含む。ＨＶＲは一般に、超可変ループからの、および／または「相補性決定領域」（ＣＤＲ）からのアミノ酸残基を含み、後者は配列変動性が最も高く、および／または抗原認識に関与する。例示的な超可変ループは、アミノ酸残基２６～３２（Ｌ１）、５０～５２（Ｌ２）、９１～９６（Ｌ３）、２６～３２（Ｈ１）、５３～５５（Ｈ２）、および９６～１０１（Ｈ３

）において生じる（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，ｖｏｌ．１９６，ｐｐ．９０１－９１７ １９８７）。例示的なＣＤＲ（ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、ＣＤＲ－Ｌ３、ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３）は、Ｌ１のアミノ酸残基２４～３４、Ｌ２の５０～５６、Ｌ３の８９～９７、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～６５、およびＨ３の９５～１０２において生じる（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．１９９１）。V_H中のＣＤＲ１を除き、ＣＤＲは一般に、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。ＣＤＲは、抗原と接触する残基である「特異性決定残基」、または「ＳＤＲ」も含む。ＳＤＲは、短縮型ＣＤＲ、またはａ－ＣＤＲと呼ばれるＣＤＲの領域内に含有される。例示的なａ－ＣＤＲ（ａ－ＣＤＲ－Ｌ１、ａ－ＣＤＲ－Ｌ２、ａ－ＣＤＲ－Ｌ３、ａ－ＣＤＲ－Ｈ１、ａ－ＣＤＲ－Ｈ２、およびａ－ＣＤＲ－Ｈ３）は、Ｌ１のアミノ酸残基３１～３４、Ｌ２の５０～５５、Ｌ３の８９～９６、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～５８、およびＨ３の９５～１０２において生じる（Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．１６１９－１６３３，２００８参照）。特に示されない限り、可変ドメイン中のＨＶＲ残基および他の残基（例えば、ＦＲ残基）は、本明細書においてＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．、前掲に従って番号付けされる。

【０１１４】

本明細書において使用される用語「免疫コンジュゲート」は、（１つ以上の）異種分子、例として、限定されるものではないが、細胞毒性剤にコンジュゲートしている抗体である。

【０１１５】

本明細書において使用される用語「個体」または「対象」は、哺乳動物を指す。哺乳動物としては、限定されるものではないが、家畜動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、およびウマ）、霊長類（例えば、ヒトおよび非ヒト霊長類、例えば、サル）、ウサギ、およびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）が挙げられる。ある実施形態において、個体または対象は、ヒトである。

【０１１６】

本明細書において使用される用語「細胞成長または増殖を阻害する」は、細胞成長または増殖を、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、または１００％だけ減少させることを意味し、細胞死の誘導も含む。

【０１１７】

本明細書において使用される用語「単離」抗体は、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。一部の実施形態において、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、等電点電気泳動（ＩＥＦ）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフィー（例えば、イオン交換または逆相高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ））により測定して９５％または９９％超の純度まで精製される。抗体純度の評価方法の概説については、例えば、Ｆｌａｔｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ，ｖｏｌ．８４８，ｐｐ．７９－８７，２００７参照。

【０１１８】

本明細書において使用される用語「単離」核酸は、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸は、通常核酸分子を含有する細胞中に含有される核酸分子を含むが、その核酸分子は、染色体外に、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

【０１１９】

本明細書において使用される用語「抗ＲＯＲ２抗体をコードする単離核酸」は、抗体重鎖および軽鎖（またはそれらの断片）をコードする１つ以上の核酸分子を指し、単一のベ

クターまたは別個のベクター中のそのような核酸分子、および宿主細胞中の１つ以上の位置に存在するそのような核酸分子を含む。

【０１２０】

本明細書において使用される用語「リガンド非依存的」は、例えば、受容体シグナリング活性に適用される場合、リガンドの存在に依存的でないシグナリング活性を指す。リガンド非依存的キナーゼ活性を有する受容体は、必ずしも、キナーゼ活性の追加の活性化を産生するためのその受容体へのリガンドの結合を除外しない。

【０１２１】

本明細書において使用される用語「転移」は、癌細胞が原発腫瘍から分散し、リンパおよび／または血管中に浸透し、血流を介して循環し、体内の他箇所の正常組織中の遠位病巣中で成長する（転移）ことを支持する全てのＲＯＲ２関与プロセスを指す。特に、これは、転移の基盤をなし、ＲＯＲ２の非触媒または触媒活性、好ましくは、例としてＲＯＲ２リン酸化および／またはＲＯＲ２媒介シグナル伝達により刺激または媒介される腫瘍細胞の細胞イベント、例えば、増殖、遊走、足場非依存性、アポトーシスの回避、または血管新生因子の分泌を指す。

【０１２２】

本明細書において使用される用語「微小環境」は、組織の他の領域または身体の領域と恒常的または一時的な物理的または化学的差異を有する組織または身体の任意の一部または領域を意味する。腫瘍について、本明細書において使用される用語「腫瘍微小環境」は、腫瘍内の非細胞区域および腫瘍組織のすぐ外側の区域であるが、癌細胞自体の細胞内コンパートメントに関連しない、腫瘍が存在する環境を指す。腫瘍および腫瘍微小環境は密接に関連しており、常に相互作用する。腫瘍はその微小環境を変化させ得、微小環境は、いかに腫瘍が成長し、拡散するかに影響を及ぼし得る。典型的には、腫瘍微小環境は、５．８～７．０の範囲、より一般には、６．０～６．８の範囲、６．２～６．８の範囲の低ｐＨを有する。他方で、正常な生理学的ｐＨは、７．２～７．８の範囲である。腫瘍微小環境は、血漿と比較して低濃度のグルコースおよび他の栄養素を有するが、高濃度の乳酸を有することも公知である。さらに、腫瘍微小環境は、正常の生理学的温度よりも０．３～１℃高い温度を有し得る。腫瘍微小環境は、参照により全体として本明細書に組み込まれるＧｉｌｌｉｅｓ ｅｔ ａｌ．，“ＭＲＩ ｏｆ ｔｈｅ Ｔｕｍｏｒ Ｍｉｃｒｏｅｎｖｉｒｏｎｍｅｎｔ，”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｍａｇｎｅｔｉｃ Ｒｅｓｏｎａｎｃｅ Ｉｍａｇｉｎｇ，ｖｏｌ．１６，ｐｐ．４３０－４５０，２００２に考察されている。用語「非腫瘍微小環境」は、腫瘍以外の部位における微小環境を指す。

【０１２３】

本明細書において使用される用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団をなす個々の抗体が同一であり、および／または同一のエピトープに結合するが、例えば、天然存在の突然変異を含有し、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に生じる可能性のあるバリアント抗体を除き、このようなバリアントは一般に少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対して指向される異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物のそれぞれのモノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向される。したがって、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を要求するものとして解釈すべきではない。例えば、本発明に従って使用することができるモノクローナル抗体は、種々の技術、例として、限定されるものではないが、ハイブリドーマ法、組換えＤＮＡ法、ファージディスプレイ法、およびヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法により作製することができ、モノクローナル抗体を作製するこのような方法および他の例示的な方法は本明細書に記載されている。

【０１２４】

本明細書において使用される用語「裸抗体」は、異種部分（例えば、細胞毒性部分）にも放射性標識にもコンジュゲートしていない抗体を指す。裸抗体は、医薬配合物中に存在

し得る。

【０１２５】

本明細書において使用される用語「天然抗体」は、変動する構造を有する天然存在の免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然ＩｇＧ抗体は、ジスルフィド結合している２本の同一軽鎖および２本の同一重鎖から構成される約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。Ｎ末端からＣ末端にかけ、それぞれの重鎖は、可変重鎖ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（V_H）と、それに続く３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、およびＣＨ３）を有する。同様に、Ｎ末端からＣ末端にかけ、それぞれの軽鎖は、可変軽鎖ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（V_L）と、それに続く定常軽鎖（C_L）ドメインを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づきカッパ（κ）およびラムダ（λ）と呼ばれる２つのタイプの一方に割り当てることができる。

【０１２６】

本明細書において使用される用語「添付文書」は、治療用製品の商品包装に通例含まれる説明書を指すために使用され、適応症、使用法、投与量、投与、併用療法、禁忌および／またはそのような治療用製品の使用に関する注意事項についての情報を含有する。

【０１２７】

本明細書において使用される用語、参照ポリペプチド配列に関する「パーセント（％）アミノ酸配列同一性」は、配列をアラインし、最大のパーセント配列同一性を達成するために必要であればギャップを導入した後の、いかなる保存的置換も配列同一性の一部として考慮しない、参照ポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基の割合として定義される。パーセントアミノ酸配列同一性決定の目的のためのアラインメントは、当分野の技能の範囲内である種々の手法で、例えば、公的に利用可能なコンピュータソフトウェア、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮまたはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアを使用して達成することができる。当業者は、配列をアラインするための適切なパラメータ、例として、比較される配列の全長にわたり最大のアラインメントを達成するのに必要な任意のアルゴリズムを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的のため、％アミノ酸配列同一性値は、配列比較コンピュータプログラムＡＬＩＧＮ－２を使用して生成される。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．により著作され、ソースコードは、Ｕ．Ｓ．Ｃｏｐｙｒｉｇｈｔ　Ｏｆｆｉｃｅ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．，２０５５９に利用者向け文書とともに申請されており、米国著作権登録番号ＴＸＵ５１００８７のもと登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆ．から公的に利用可能であり、またはソースコードからコンパイルすることができる。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、ＵＮＩＸオペレーティングシステム、例として、デジタルＵＮＩＸ（登録商標）Ｖ４．０Ｄ上での使用のためにコンパイルすべきである。全ての配列比較パラメータはＡＬＩＧＮ－２プログラムにより設定され、変動しない。

【０１２８】

アミノ酸配列比較にＡＬＩＧＮ－２を用いる状況において、所与のアミノ酸配列Ａの、所与のアミノ酸配列Ｂへの、所与のアミノ酸配列Ｂとの、または所与のアミノ酸配列Ｂに対する％アミノ酸配列同一性（これは、所与のアミノ酸配列Ｂへの、所与のアミノ酸配列Ｂとの、または所与のアミノ酸配列Ｂに対する、ある％アミノ酸配列同一性を有し、または含む所与のアミノ酸配列Ａと代替表現することもできる）は、以下のとおり算出される：分数（Ｘ／Ｙ）の１００倍

（式中、Ｘは、配列アラインメントプログラムＡＬＩＧＮ－２によりＡおよびＢのそのプログラムのアラインメントにおいて同一マッチとしてスコアリングされたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂ中のアミノ酸残基の総数である）。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合、ＡのＢに対する％アミノ酸配列同一性は、ＢのＡに対する％アミノ酸配列同一性と等しくないことが認識される。特に具体的に記述されない限り

、本明細書において使用される全ての％アミノ酸配列同一性値は、ＡＬＩＧＮ－２コンピュータプログラムを使用して直前の段落に記載のとおりに得られる。

【０１２９】

本明細書において使用される用語「医薬配合物」は、その中に含有される活性成分の生物学的活性の有効性を許容するような形態であり、配合物が投与される対象に許容不可能な毒性を示す追加の構成成分を含有しない製剤を指す。

【０１３０】

本明細書において使用される用語「薬学的に許容可能な担体」は、対象に非毒性である、活性成分以外の医薬配合物中の成分を指す。薬学的に許容可能な担体としては、限定されるものではないが、緩衝剤、賦形剤、安定剤、または保存剤が挙げられる。

【０１３１】

本明細書において使用される用語「精製」および「単離」は、示される分子が同一タイプの他の生物巨大分子の実質的不存在下で存在する本発明による抗体、またはヌクレオチド配列を指す。本明細書において使用される用語「精製」は、好ましくは、少なくとも７５重量％、より好ましくは、少なくとも８５重量％、いっそうより好ましくは、少なくとも９５重量％、最も好ましくは、少なくとも９８重量％の同一タイプの生物巨大分子が存在することを意味する。特定のポリペプチドをコードする「単離」核酸分子は、ポリペプチドをコードしない他の核酸分子を実質的に有さず、核酸分子を指し；しかしながら、分子は、組成物の基本的特徴に悪影響を及ぼさない一部の追加の塩基または部分を含み得る。

【０１３２】

本明細書において使用される用語「組換え抗体」は、抗体をコードする核酸を含む組換え宿主細胞により発現される抗体（例えば、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体またはそれらの抗原結合性断片）を指す。組換え抗体を産生するための「宿主細胞」の例としては：（１）哺乳動物細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＣＯＳ、骨髄腫細胞（例として、Ｙ０およびＮＳ０細胞）、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）細胞、ＨｅｌａおよびＶｅｒｏ細胞；（２）昆虫細胞、例えばｓｆ９、ｓｆ２１およびＴｎ５；（３）植物細胞、例えば、タバコ属（Ｎｉｃｏｔｉａｎａ）に属する植物（例えば、タバコ（Ｎｉｃｏｔｉａｎａ　ｔａｂａｃｕｍ））；（４）酵母細胞、例えば、サッカロミセス属（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）（例えば、出芽酵母（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ））またはアスペルギルス属（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ）（例えば、クロコウジカビ（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ））に属するもの；（５）細菌細胞、例えば、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ．ｃｏｌｉ）細胞または枯草菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｓｕｂｔｉｌｉｓ）細胞などが挙げられる。

【０１３３】

本明細書において使用される用語「ＲＯＲ２」は、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＡＡＩ３０５２３に示される、インビトロタンパク質活性を有する予測９４３アミノ酸タンパク質である受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体２を指す。多くの系統限定受容体チロシンキナーゼは、公知の受容体と相同の「オーファン」として最初に同定され、続いて初めてそれが使用されてそれらの未知の増殖因子が同定された。ＤｅＣｈｉａｒａ　ｅｔ　ａｌ．（２０００）は、図１に示されるＲＯＲ２によりコードされる１つのそのようなオーファンを同定した。

【０１３４】

用語「治療有効量」の本発明の抗体は、任意の医学的治療に適用可能な妥当な利益／リスク比において前記癌を治療するために十分な量の抗体を意味する。しかしながら、本発明の抗体および組成物の総１日使用量は、正当な医学的判断の範囲内で担当医により決定されることが理解される。任意の特定の患者についての具体的な治療有効用量レベルは、種々の因子、例として、治療される障害および障害の重症度；用いられる具体的な抗体の活性；用いられる具体的な組成物、患者の年齢、体重、全身健康状態、性別および食事；用いられる具体的な抗体の投与の時間、投与経路、および排泄速度；治療の持続時間；用

いられる具体的な抗体との組合せまたはそれと同時で使用される薬物；ならびに医学分野において周知の同様の因子に依存する。例えば、所望の治療効果を達成するために要求されるよりも低いレベルにおいて化合物の用量を開始すること、および所望の効果が達成されるまで投与量を徐々に増加させることは当分野の技能の範囲内で周知である。

【０１３５】

本明細書において使用される用語「単鎖Ｆｖ」（「ｓｃＦｖ」）は、通常、ペプチドコードリンカーにより結合しているV_HおよびV_Lコード遺伝子を含む遺伝子融合物から発現される共有結合しているV_H：：V_Lヘテロ二量体である。「ｄｓＦｖ」は、ジスルフィド結合により安定化されるV_H：：V_Lヘテロ二量体である。二価および多価抗体断片は、一価ｓｃＦｖの会合により自然に形成し得、またはペプチドリンカーにより一価ｓｃＦｖをカップリングさせることにより生成することができる（例えば、二価ｓｃ（Ｆｖ）２）。

【０１３６】

本明細書において使用される用語「治療」、「治療する」または「治療すること」などは、治療される個体の自然経過を変更する試行の臨床的介入を指し、予防のため、または臨床的病変の経過において実施することができる。治療の望ましい効果としては、限定されるものではないが、疾患の発症または再発の予防、症状の緩和、疾患の直接的または間接的な任意の病理学的帰結の縮小、転移の予防、疾患進行速度の減少、疾患状態の改善または軽減、および寛解または予後の改善が挙げられる。一部の実施形態において、本発明の抗体は、疾患の発生を遅延させ、または疾患の進行を減速させるために使用される。

【０１３７】

本明細書において使用される用語「腫瘍」は、悪性であるか良性であるかに関わらない、全ての新生物性の細胞成長および増殖、ならびに全ての前癌性および癌性の細胞および組織を指す。用語「癌」、「癌性」、「細胞増殖性疾患」、「増殖性疾患」および「腫瘍」は、本明細書において相互に排他的に言及されるわけではない。

【０１３８】

本明細書において使用される用語「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の抗原への結合に関与する抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、V_HおよびV_L）は一般に、それぞれのドメインが４つの保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）および３つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む類似の構造を有する（例えば、Ｋｉｎｄｔ ｅｔ ａｌ．Ｋｕｂｙ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６ｔｈ ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．，ｐａｇｅ ９１（２００７）参照）。単一のV_HまたはV_Lドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体または抗体断片は、その抗原に結合する抗体からのV_HまたはV_Lドメインを使用して単離してそれぞれ相補的なV_LまたはV_Hドメインのライブラリーをスクリーニングすることができる。例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１５０，ｐｐ．８８０－８８７，１９９３；Ｃｌａｒｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．３５２，ｐｐ．６２４－６２８，１９９１参照。

【０１３９】

本明細書において使用される用語「ベクター」は、結合している別の核酸を伝播し得る核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、および導入された宿主細胞のゲノム中に取り込まれるベクターを含む。あるベクターは、それらが作動可能に結合している核酸の発現を指向し得る。このようなベクターは、本明細書において「発現ベクター」と称される。

【０１４０】

詳細な説明

例示を目的として、種々の例示的実施形態を参照して本発明の原理を説明する。本発明のある実施形態が本明細書において具体的に説明されるが、当業者は、同一原理が他の系および方法において同様に適用可能であり、用いることができることを容易に認識する。

本発明の開示される実施形態を詳細に説明する前に、本発明は、示される任意の特定の実施形態の詳細にその適用が限定されないことを理解すべきである。さらに、本明細書において使用される用語は説明を目的とするものであり、限定を目的とするものではない。さらに、ある方法は本明細書においてある順序で提示されるステップを参照して記載されるが、多くの場合、当業者が理解し得るとおり、これらのステップは任意の順序で実施することができ；したがって、新規方法は、本明細書に開示の特定のステップの順に限定されるものではない。

【０１４１】

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、文脈が明示しない限り、複数形の参照物を含むことに留意しなければならない。さらに、用語「ａ」（または「ａｎ」）、「１つ以上」および「少なくとも１つ」は、本明細書において互換的に使用することができる。用語「～を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「～を含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「～を有する」および「～から構築される」も、互換的に使用することができる。

【０１４２】

特に示されない限り、本明細書および特許請求の範囲において使用される、成分の量、特性、例えば分子量、パーセント、比、反応条件などを表す全ての数字は、全ての場合において、用語「約」により、その用語「約」の有無にかかわらず修飾されるものとして理解すべきである。したがって、逆の指示がない限り、本明細書および特許請求の範囲に記載の数値パラメータは近似値であり、その近似値は、本開示により得ることができる求められる所望の特性に応じて変動し得る。少なくとも、および特許請求の範囲に対する均等論の適用を制限する企図としてではなく、それぞれの数値パラメータは、報告された有効数字に照らし、通常の四捨五入法を適用することにより少なくとも解釈すべきである。本開示の広い範囲を記載する数値範囲およびパラメータは近似値であるが、具体例において記載されている数値は、可能な限り正確に報告される。しかしながら、いずれの数値も、それぞれの試験測定値において見出される標準偏差から必然的に生じる、ある誤差を本質的に含有する。

【０１４３】

本明細書に開示のそれぞれの構成成分、化合物、置換基、またはパラメータは、単独で、または本明細書に開示のそれぞれのおよび他のあらゆる構成成分、化合物、置換基、もしくはパラメータの１つ以上との組合せでの使用について開示されているとして解釈すべきであることを理解すべきである。

【０１４４】

本明細書に開示のそれぞれの構成成分、化合物、置換基、またはパラメータについてのそれぞれの量／値または量／値の範囲は、本明細書に開示の他のあらゆる構成成分、化合物、置換基、またはパラメータについて開示されているそれぞれの量／値、または量／値の範囲との組合せでも開示されているとして解釈すべきであること、および、したがって本明細書に開示の２つ以上の構成成分、化合物、置換基、またはパラメータの量／値、または量／値の範囲の任意の組合せも、本詳細な説明の目的のために互いとの組合せでも開示されていることも理解すべきである。

【０１４５】

本明細書に開示のそれぞれの範囲のそれぞれの下限値は、同一の構成成分、化合物、置換基、またはパラメータについて本明細書に開示のそれぞれの範囲のそれぞれの上限値との組合せで開示されているものとして解釈すべきであることがさらに理解される。したがって、２つの範囲の開示は、それぞれの範囲のそれぞれの下限値を、それぞれの範囲のそれぞれの上限値と組み合わせることにより導かれる４つの範囲の開示として解釈すべきである。３つの範囲の開示は、それぞれの範囲のそれぞれの下限値を、それぞれの範囲のそれぞれの上限値と組み合わせることにより導かれる９つの範囲の開示などとして解釈すべきである。さらに、本明細書または実施例に開示の構成成分、化合物、置換基、またはパラメータの具体的な量／値は、範囲の下限値または上限値のいずれかの開示として解釈す

るべきであり、したがって、本出願の他箇所に開示の同一の構成成分、化合物、置換基、またはパラメータについての範囲の他の任意の下限値もしくは上限値または具体的な量／値と組み合わせてその構成成分、化合物、置換基、またはパラメータの範囲を形成し得る。

【０１４６】

Ａ．抗ＲＯＲ２抗体

一態様において、本発明は、ヒトＲＯＲ２タンパク質に特異的に結合する単離されたポリペプチド、およびそのような治療を必要とするヒトにポリペプチドを投与することを含むＲＯＲ２発現腫瘍の治療方法におけるポリペプチドの使用を提供する。

【０１４７】

重鎖可変領域ポリペプチドは、３つの相補性決定領域Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３配列を有する重鎖可変領域を含み、

Ｈ１配列は、ＧＹＴＸ$_1$ＴＥＸ$_2$Ｘ$_3$Ｘ$_4$Ｈ（配列番号１）またはＧＹＳＩＴＴＧＸ$_{29}$ＹＷＮ（配列番号４）であり；

Ｈ２配列は、Ｘ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$Ｘ$_8$ＮＮＧＧＴＧＹＮＱＫＦＫＧ（配列番号２）またはＹＩＴＹＤＧＳＸ$_{30}$ＮＹＮＰＳＬＫＮ（配列番号５）であり；

Ｈ３配列は、Ｘ$_9$Ｘ$_{10}$Ｘ$_{11}$ＳＸ$_{12}$ＹＸ$_{13}$ＹＸ$_{14}$Ｘ$_{15}$ＳＹＦＸ$_{16}$Ｘ$_{17}$Ｘ$_{18}$（配列番号３）またはＣＳＸ$_{31}$Ｘ$_{32}$Ｘ$_{33}$Ｘ$_{34}$ＶＸ$_{35}$Ｘ$_{36}$Ｘ$_{37}$ＬＤＸ$_{38}$（配列番号６）であり；

Ｘ$_1$は、ＦまたはＥであり、

Ｘ$_2$は、ＹまたはＤであり、

Ｘ$_3$は、ＴまたはＣであり、

Ｘ$_4$は、ＭまたはＤまたはＥまたはＹであり、

Ｘ$_5$は、ＧまたはＳであり、

Ｘ$_6$は、ＩまたはＥであり、

Ｘ$_7$は、ＮまたはＣまたはＬまたはＶであり、

Ｘ$_8$は、ＴまたはＤまたはＥであり、

Ｘ$_9$は、ＡまたはＭまたはＴであり、

Ｘ$_{10}$は、ＲまたはＨであり、

Ｘ$_{11}$は、ＧまたはＥであり、

Ｘ$_{12}$は、ＬまたはＦであり、

Ｘ$_{13}$は、ＳまたはＧであり、

Ｘ$_{14}$は、ＧまたはＤであり、

Ｘ$_{15}$は、ＮまたはＥであり、

Ｘ$_{16}$は、ＤまたはＬであり、

Ｘ$_{17}$は、ＹまたはＣまたはＴであり、

Ｘ$_{18}$は、ＷまたはＬであり、

Ｘ$_{29}$は、ＹまたはＥまたはＲまたはＴであり、

Ｘ$_{30}$は、ＫまたはＮであり、

Ｘ$_{31}$は、ＲまたはＧまたはＨまたはＷまたはＹであり、

Ｘ$_{32}$は、ＦまたはＣまたはＮまたはＱであり、

Ｘ$_{33}$は、ＥまたはＳであり、

Ｘ$_{34}$は、ＧまたはＥまたはＦまたはＨまたはＭまたはＱまたはＳであり、

Ｘ$_{35}$は、ＷまたはＡまたはＩまたはＰまたはＱまたはＴまたはＶであり、

Ｘ$_{36}$は、ＹまたはＧまたはＮまたはＱであり、

Ｘ$_{37}$は、ＧまたはＳまたはＴであり、

Ｘ$_{38}$は、ＹまたはＩであり、さらに

３つの相補性決定領域Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３配列を有する軽鎖可変領域を含み、

Ｌ１配列は、ＳＡＴＳＳＸ$_{19}$Ｘ$_{20}$Ｘ$_{21}$ＭＸ$_{22}$（配列番号７）またはＲＡＳＥＳＶＤＲＹＧＮＳＸ$_{39}$ＩＨ（配列番号１０）であり；

Ｌ２配列は、X_{23}ＴＳＮＬＡＳ（配列番号８）またはX_{40}ＴＹX_{41}ＬＥＳ（配列番号１１）であり；
Ｌ３配列は、Ｑ$X_{24}X_{25}$ＳX_{26}ＹＰＦ$X_{27}X_{28}$（配列番号９）またはＱＱX_{42}ＮX_{43}ＤＰX_{44}ＴX_{45}（配列番号１２）であり；
X_{19}は、ＶまたはＥであり、
X_{20}は、ＳまたはＤであり、
X_{21}は、ＹまたはＣまたはＤであり、
X_{22}は、ＨまたはＧまたはＬであり、
X_{23}は、ＧまたはＣまたはＨまたはＰであり、
X_{24}は、ＱまたはＥであり、
X_{25}は、ＲまたはＨであり、
X_{26}は、ＳまたはＤまたはＧまたはＩまたはＱまたはＶであり、
X_{27}は、ＴまたはＤであり、
X_{28}は、ＦまたはＤまたはＥであり、
X_{39}は、ＦまたはＳまたはＴであり、
X_{40}は、ＲまたはＣまたはＤまたはＥまたはＷであり、
X_{41}は、ＮまたはＤであり、
X_{42}は、ＴまたはＩまたはＰであり、
X_{43}は、ＥまたはＶであり、
X_{44}は、ＷまたはＴであり、
X_{45}は、ＦまたはＴであり、
但し、X_{1}からX_{28}がそれぞれ、同時にＦ、Ｙ、Ｔ、Ｍ、Ｇ、Ｉ、Ｎ、Ｔ、Ａ、Ｒ、Ｇ、Ｌ、Ｓ、Ｇ、Ｎ、Ｄ、Ｙ、Ｗ、Ｖ、Ｓ、Ｙ、Ｈ、Ｇ、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、およびＦであることはあり得ず、これは、非条件的に活性な親抗体を除外するためである。

【０１４８】
重鎖可変領域のアラインメントを図２Ａ－１、２Ａ－２、２Ｂ－１および２Ｂ－２に示す。

【０１４９】
軽鎖可変領域のアラインメントを図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１および３Ｂ－２に示す。

【０１５０】
別の態様において、本発明は、親ポリペプチドに対してＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３に最大１個の置換を有し、親ポリペプチドに対してＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３に最大１個の置換を有する上記のような単離されたポリペプチドを提供する。これには、（１）親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３に１つの置換を有する単離されたポリペプチド、（２）親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３に１つの置換を有する単離されたポリペプチド、および（３）親ポリペプチドに対して、ＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２およびＨ３に１つの置換を有し、且つＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２およびＬ３に１つの置換を有する単離されたポリペプチドが含まれる。

【０１５１】
ＣＤＲのＨ１、Ｈ２、Ｈ３における可能な一点変異を図２Ａ－１および２Ａ－２に示し、ＣＤＲのＬ１、Ｌ２、Ｌ３における可能な一点変異を図３Ａ－１および３Ａ－２に示す。ＣＤＲのＨ１、Ｈ２およびＨ３における他の可能な一点変異を図２Ｂ－１および２Ｂ－２に示し、ＣＤＲのＬ１、Ｌ２およびＬ３における他の可能な一点変異を図３Ｂ－１および３Ｂ－２に示す。

【０１５２】
別の態様において、重鎖可変領域ポリペプチドの各々および軽鎖可変領域ポリペプチドの各々は、重鎖および軽鎖可変領域ポリペプチドの少なくとも１つが親ポリペプチドに対して少なくとも１つの点変異を有する限り、それぞれ、図２Ｂ－１～２および図２Ａ－１～２に示される点変異から選択されるＣＤＲにおいて、０、１、２、３、４または５個の

独立に選択される置換を有し得る。例えば、重鎖可変領域ポリペプチドは、親ポリペプチドに対して３つの点変異を有していてもよく、軽鎖可変領域は、親ポリペプチドに対して５つの点変異を有していてもよい。

【０１５３】

本発明は、米国特許第８，７０９，７５５号明細書に開示の方法を介して親抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域からこれらの単離重鎖可変領域および単離軽鎖可変領域をそれぞれ同定した。条件的に活性な抗体を生成するこの方法は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１５４】

親抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域中のそれぞれの位置を１つずつランダム化する包括的位置進化（Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｐｏｓｉｔｉｏｎａｌ Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ）（ＣＰＥ）を使用して親抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域をコードするＤＮＡを進化させて突然変異抗体ライブラリーを生成した。ライブラリー中のそれぞれの突然変異重鎖／軽鎖は、親抗体の重鎖可変領域または軽鎖可変領域と比較して１つのみの単一点突然変異を有する（図２Ａ－１、２Ａ－２、２Ｂ－１、２Ｂ－２、３Ａ－１，３Ａ－２、３Ｂ－１、および３Ｂ－２）。ライブラリー中の突然変異体を、ＥＬＩＳＡによりｐＨ７．４と比べたｐＨ６．０におけるヒトＲＯＲ２に対する選択的結合親和性についてスクリーニングした。ｐＨ７．４よりもｐＨ６．０において活性である突然変異重鎖／軽鎖可変領域を、重鎖および軽鎖可変領域のそれぞれにおいて示される単一点突然変異を有する条件的に活性な抗体の重鎖／軽鎖可変領域として選択した（表１および２、図２Ａ－１、２Ａ－２、２Ｂ－１、２Ｂ－２、３Ａ－１，３Ａ－２、３Ｂ－１、および３Ｂ－２）。

【表１】

表 1.条件的に活性な抗 Ror2 抗体軽鎖可変領域

	親和性ELISA突然変異体		
クローン	pH 6.0	pH 7.4	比，pH 6.0/7.4
LC-V029E	0.406	0.129	3.15
LC-S030D	0.733	0.252	2.91
LC-Y031C	1.341	0.700	1.92
LC-Y031D	0.911	0.405	2.25
LC-H033G	1.103	0.536	2.06
LC-H033L	0.690	0.332	2.08
LC-G049C	0.468	0.133	3.52
LC-G049H	1.873	0.118	15.87
LC-G049P	0.660	0.268	2.46
LC-Q089E	0.438	0.251	1.74
LC-R090H	0.560	0.256	2.19
LC-S092D	1.127	1.122	1.00
LC-S092V	1.226	1.182	1.04
LC-T096D	0.755	0.474	1.59
LC-F097D	0.190	0.107	1.77
LC-F097E	0.489	0.215	2.28

【表２】

表 2.条件的に活性な抗 Ror2 抗体重鎖可変領域

クローン	親和性ELISA突然変異体 pH 6.0	pH 7.4	比，pH 6.0/7.4
HC-F029E	1.342	0.742	1.81
HC-Y032D	1.470	0.510	2.88
HC-T033C	0.626	0.232	2.70
HC-M034D	1.244	0.211	5.90
HC-M034E	1.165	0.185	6.30
HC-M034Y	0.903	0.391	2.31
HC-G050S	0.828	0.318	2.60
HC-I051E	1.039	0.100	10.39
HC-N052C	0.995	0.431	2.31
HC-N052L	0.911	0.433	2.10
HC-N052V	0.870	0.340	2.56
HC-T053D	1.108	0.222	4.99
HC-T053E	0.540	0.157	3.44
HC-A097I	1.892	1.730	1.892
HC-A097M	1.977	1.701	1.977
HC-A097S	1.666	1.692	1.666
HC-A097T	1.834	1.692	1.666
HC-R098H	0.928	0.353	2.63
HC-R098Q	0.799	0.276	2.89
HC-G099E	0.616	0.421	1.46
HC-L101F	1.461	1.412	1.461
HC-S103G	0.794	0.655	1.21
HC-G105D	0.509	0.379	1.34
HC-N106E	0.224	0.115	1.95
HC-D110L	1.675	1.403	1.675
HC-Y111C	1.079	0.793	1.36
HC-Y111T	1.862	1.403	1.675
HC-W112L	1.746	1.704	1.746

【０１５５】

別の態様において、本発明は、図２Ａ－１、２Ａ－２、２Ｂ－１、および２Ｂ－２に表される重鎖可変領域および３Ａ－１，３Ａ－２、３Ｂ－１、および３Ｂ－２に提示される軽鎖可変領域を含む。重鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号１８～２６である。軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号１３～１７および２７である。これらの重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、ヒトＲＯＲ２に特異的に結合し得る。これらの重鎖可変領域および軽鎖可変領域の１つを含む抗体または抗体断片は、腫瘍微小環境中のｐＨにおいて非腫瘍微小環境中のｐＨよりも高いＲＯＲ２に対する結合親和性を有することが見出された。例えば、抗体および抗体断片は、ｐＨ６．０においてｐＨ７．４よりも高いＲＯＲ２に対する結合親和性を有する。

【０１５６】

抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、正常組織中でのＲＯＲ２に対するそれらの結合親和

性と比較して高い腫瘍中でのＲＯＲ２に対する結合親和性を有する。これらの抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、当分野において公知のモノクローナル抗ＲＯＲ２抗体と比較して長い半減期および低減した副作用、ならびに同等の効力を有する。これらの特徴は、患者に送達すべきこれらの抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のより高い投与量の使用を許容し、したがって、より有効な治療選択である。

【０１５７】

本発明は、図２Ａ－１、２Ａ－２、２Ｂ－１、２Ｂ－２、３Ａ－１，３Ａ－２、３Ｂ－１、および３Ｂ－２に提示され、配列番号１３～２４を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含むが、本発明はまた、ヒトＲＯＲ２に特異的に結合し得るそれらのバリアントを提供する。これらのバリアントを誘導するため、重鎖可変領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（Ｈ１～Ｈ３）および軽鎖可変領域の相補性決定領域（Ｌ１～Ｌ３）はインタクトのままであるべきである。しかしながら、相補性決定領域の外側の重鎖可変領域および軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、本出願に考察される置換、挿入および欠失の原理に従って突然変異させることができる。

【０１５８】

これらのバリアントの誘導において、本明細書に記載の方法がガイドとなる。重鎖可変領域および軽鎖可変領域のバリアントは、重鎖可変領域および軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列中に適切な改変を導入することにより、またはペプチド合成により調製することができる。このような改変としては、例えば、重鎖可変領域および軽鎖可変領域のアミノ酸配列からの欠失、および／またはそれらの配列中への挿入、および／またはそれらの配列内の残基の置換が挙げられる。欠失、挿入、および置換の任意の組合せを作製して本発明の抗体または抗体断片に到達し得るが、ただし、それらは所望の特徴、例えば、ヒトＲＯＲ２への抗原結合および／または条件的活性を保有するものとする。

【０１５９】

置換、挿入、および欠失バリアント

ある実施形態において、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体または抗体断片バリアントが提供される。置換突然変異誘発のための目的部位としては、ＣＤＲおよびフレームワーク領域（ＦＲ）が挙げられる。保存的置換を「保存的置換」という見出しで表３に示す。より実質的な変化を、「例示的な置換」という見出しで表３に提供し、アミノ酸側鎖のクラスに関してさらに以下に記載する。アミノ酸置換を目的の抗体または抗体断片に導入することができ、その生成物を、所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、または免疫原性の減少についてスクリーニングすることができる。

【表３】

表3:アミノ酸置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe;ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala;ノルロイシン	Leu

【０１６０】

アミノ酸は、共通の側鎖特性に従ってグループ分けすることができる：

（１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；

（２）中性の親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ；

（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；

（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ；

（５）鎖配向に影響を与える残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；

（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【０１６１】

非保存的置換は、これらのクラスのうち１つのメンバーを別のクラスのものに交換することを伴う。

【０１６２】

１つのタイプの置換バリアントは、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の１つ以上の超可変領域残基の置換を含む。一般に、さらなる試験のために選択されて得られるバリアントは、親抗体に対してある生物学的特性の改変（例えば、改善）（例えば、親和性の増加、免疫原性の減少）を有し、および／または親抗体のある生物学的特性を実質的に保持する。例示的な置換バリアントは親和性成熟抗体であり、例えば、ファージディ

スプレイベースの親和性成熟技術、例えば、本明細書に記載のものを使用して簡便に生成することができる。簡潔に述べると、１つ以上のＣＤＲ残基を突然変異させ、バリアント抗体をファージ上でディスプレイさせ、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。

【０１６３】

変更（例えば、置換）は、例えば、抗体親和性を改善するためにＣＤＲ中で作製することができる。このような変更は、ＣＤＲの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセスの間に高頻度で突然変異を受けるコドンによりコードされる残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，ｖｏｌ．２０７，ｐｐ．１７９－１９６，２００８参照）、および／またはＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）中で作製することができ、得られるバリアントＶＨまたはＶＬを結合親和性について試験する。二次ライブラリーの構築および二次ライブラリーからの再選択による親和性成熟は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．ｉｎ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．１７８，ｐｐ．１－３７，２００１）に記載されている。親和性成熟の一部の実施形態において、種々の方法（例えば、エラープローンＰＣＲ、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向変異誘発）のいずれかにより、成熟について選択された可変遺伝子中に多様性を導入する。次いで、二次ライブラリーを作出する。次いで、ライブラリーをスクリーニングして所望の親和性を有する任意の抗体バリアントを同定する。多様性を導入する別の方法はＣＤＲ指向アプローチを含み、そのアプローチでは、いくつかのＣＤＲ残基（例えば、１回に４～６残基）をランダム化する。例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発またはモデリングを使用して抗原結合に関与するＣＤＲ残基を具体的に同定することができる。特にＣＤＲ－Ｈ３およびＣＤＲ－Ｌ３を標的化することが多い。

【０１６４】

ある実施形態において、置換、挿入、または欠失は、このような変更が抗原に結合する抗体または抗体断片の能力を実質的に低減させない限り、１つ以上のＨＶＲ内で生じてよい。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的変更（例えば、本明細書で提供されるような保存的置換）をＣＤＲ中で作製することができる。このような変更は、ＣＤＲの「ホットスポット」またはＳＤＲの外側であってよい。上記提供されるバリアントV_HおよびV_L配列のある実施形態において、それぞれのＣＤＲは不変であり、または１つ、２つ、もしくは３つ以下のアミノ酸置換を含有する。

【０１６５】

突然変異誘発のために標的化することができる抗体の残基または領域を同定する有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ　ａｎｄ　Ｗｅｌｌｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ，ｖｏｌ．２４４，ｐｐ．１０８１－１０８５，１９８９により記載されるとおり「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法において、標的残基の残基または群（例えば、荷電残基、例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、およびｇｌｕ）を同定し、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）により置き換えて抗体または抗体断片と抗原との相互作用が影響されるか否かを決定する。さらなる置換を、最初の置換に対して機能的感受性を実証するアミノ酸位置において導入することができる。あるいは、またはさらに、抗体または抗体断片と抗原との間の接触点を同定するための抗原－抗体複合体の結晶構造。このような接触残基および隣接残基を置換の候補として標的化し、または排除することができる。バリアントをスクリーニングしてそれらが所望の特性を含有するか否かを決定することができる。

【０１６６】

アミノ酸配列挿入としては、１残基～１００以上の残基を含有するポリペプチドの長さの範囲であるアミノおよび／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が挙げられる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入バリアントとしては、抗体のＮまたはＣ末端と酵素との融合（例えば、ＡＤＥＰＴのための）または抗体の血清半減期を増加させる

ポリペプチドとの融合が挙げられる。

【０１６７】

本明細書に記載の抗体のアミノ酸配列改変が企図される。例えば、抗体の結合親和性および／または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。非ヒト動物に由来する抗体のV_HおよびV_L中のＣＤＲのみをヒト抗体のV_HおよびV_LのＦＲ中に簡易にグラフト化することによりヒト化抗体を産生する場合、抗体結合活性は、非ヒト動物に由来する元の抗体のものと比較して低減することが公知である。非ヒト抗体のV_HおよびV_Lのいくつかのアミノ酸残基は、ＣＤＲ中だけでなく、ＦＲ中のものも抗体結合活性に直接または間接的に関連することが考慮される。したがって、ヒト抗体のV_HおよびV_LのＦＲに由来する異なるアミノ酸残基によるこれらのアミノ酸残基の置換は、結合活性を低減させる。この問題を解消するため、ヒトＣＤＲがグラフト化される抗体において、ヒト抗体のV_HおよびV_LのＦＲのアミノ酸配列のうち、抗体への結合に直接関連し、またはＣＤＲのアミノ酸残基と相互作用し、または抗体の三次元構造を維持し、抗原への結合に直接関連するアミノ酸残基を同定することを試行しなければならない。低減した抗原結合活性は、同定されたアミノ酸を非ヒト動物に由来する元の抗体のアミノ酸残基により置き換えることにより増加させることができる。

【０１６８】

改変および変化は、本発明の抗体の構造中で、およびそれらをコードするＤＮＡ配列中で作製することができ、所望の特徴を有する抗体をコードする機能的分子を依然として得る。

【０１６９】

アミノ酸配列中の変化の作製において、アミノ酸のハイドロパシー指数を考慮することができる。タンパク質に対する相互作用的な生物学的機能の付与におけるハイドロパシーアミノ酸指数の重要性は、一般に当分野において理解されている。アミノ酸の相対的ハイドロパシー特徴が得られるタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそれがタンパク質と他の分子、例えば、酵素、基質、受容体、ＤＮＡ、抗体、抗原などとの相互作用を定めることが受け入れられる。それぞれのアミノ酸には、それらの疎水性および電荷の特徴に基づきハイドロパシー指数が割り当てられており、それらは、イソロイシン（＋４．５）；バリン（＋４．２）；ロイシン（＋３．８）；フェニルアラニン（＋２．８）；システイン／シスチン（＋２．５）；メチオニン（＋１．９）；アラニン（＋１．８）；グリシン（－０．４）；トレオニン（－０．７）；セリン（－０．８）；トリプトファン（－０．９）；チロシン（－１．３）；プロリン（－１．６）；ヒスチジン（－３．２）；グルタミン酸（－３．５）；グルタミン（－３．５）；アスパラギン酸（－３．５）；アスパラギン（－３．５）；リジン（－３．９）；およびアルギニン（－４．５）である。

【０１７０】

本発明のさらなる目的は、本発明の抗体の機能保存的バリアントも包含する。

【０１７１】

「機能保存的バリアント」は、タンパク質または酵素中の所与のアミノ酸残基が、ポリペプチドの全体的な立体構造および機能を変更せずに変化したもの、例として、限定されるものではないが、類似の特性（例えば、極性、水素結合ポテンシャル、酸性、塩基性、疎水性、芳香族など）を有するアミノ酸によるアミノ酸の置き換えである。保存されることが示されるアミノ酸以外のアミノ酸は、タンパク質中で異なり得、その結果、類似機能の任意の２つのタンパク質間のパーセントタンパク質またはアミノ酸配列類似性が変動し得、例えば、アラインメントスキームに従って、例えば、類似性がＭＥＧＡＬＩＧＮアルゴリズムに基づくＣｌｕｓｔｅｒ法により決定して７０～９９％であり得る。「機能保存的バリアント」は、ＢＬＡＳＴまたはＦＡＳＴＡアルゴリズムにより決定して少なくとも６０％、好ましくは、少なくとも７５％、より好ましくは、少なくとも８５％、さらに好ましくは、少なくとも９０％、いっそうより好ましくは、少なくとも９５％のアミノ酸同一性を有し、比較される天然または親タンパク質と同一または実質的に類似の特性または機能を有するポリペプチドも含む。

【０１７２】
２つのアミノ酸配列は、より短い配列の全長と比べて８０％超、好ましくは、８５％超、好ましくは、９０％超のアミノ酸が同一であり、または約９０％超、好ましくは、９５％超が類似（機能的に同一）である場合、「実質的に相同」または「実質的に類似」である。好ましくは、類似または相同配列は、例えば、ＧＣＧ（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｐｒｏｇｒａｍ Ｍａｎｕａｌ ｆｏｒ ｔｈｅ ＧＣＧ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ７，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．）パイルアッププログラム、または配列比較アルゴリズム、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＦＡＳＴＡなどのいずれかを使用するアラインメントにより同定される。

【０１７３】
例えば、あるアミノ酸は、活性の認識可能な損失なしでタンパク質構造中で他のアミノ酸により置換することができる。タンパク質の相互作用キャパシティおよび性質がタンパク質の生物学的機能活性を定めるため、あるアミノ酸置換をタンパク質配列中で、および無論、そのＤＮＡコード配列中で作製することができる一方、それにもかかわらず、同様の特性を有するタンパク質を得る。したがって、本発明の抗体もしくは抗体断片の配列、または前記抗体もしくは抗体断片をコードする対応するＤＮＡ配列中で種々の変化を、それらの生物学的活性の認識可能な損失なしで作製することができることが企図される。

【０１７４】
あるアミノ酸は、類似のハイドロパシー指数またはスコアを有する他のアミノ酸により置換することができ、類似の生物学的活性を有するタンパク質を依然としてもたらす、すなわち、生物学的機能等価タンパク質を依然として得ることが当分野において公知である。

【０１７５】
上記概略のとおり、したがって、アミノ酸置換は、一般に、アミノ酸側鎖置換基の相対的類似性、例えば、それらの疎水性、親水性、電荷、サイズなどに基づく。種々の上記の特徴を考慮する例示的な置換は当業者に周知であり、それとしては、アルギニンおよびリジン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリンおよびトレオニン；グルタミンおよびアスパラギン；ならびにバリン、ロイシンおよびイソロイシンが挙げられる。

【０１７６】
グリコシル化バリアント
ある実施形態において、本明細書において提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変更される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、１つ以上のグリコシル化部位が作出または除去されるようにアミノ酸配列を変更することにより簡便に達成することができる。

【０１７７】
抗体がＦｃ領域を含む場合、それに付着している炭水化物を変更することができる。哺乳動物細胞により産生される天然抗体は、典型的には、一般にＦｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７へのＮ結合により付着している分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ ｅｔ ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ，ｖｏｌ．１５，ｐｐ．２６－３２，１９９７参照。オリゴ糖としては、種々の炭水化物、例えば、マンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、およびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」におけるＧｌｃＮＡｃに付着しているフコースを挙げることができる。一部の実施形態において、本発明の抗体中のオリゴ糖の改変は、ある改善された特性を有する抗体バリアントを作出するために作製することができる。

【０１７８】
一実施形態において、Ｆｃ領域に（直接的または間接的に）付着しているフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体バリアントが提供される。例えば、このような抗体中のフコース量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％または２０％～４０％であり得る。フコース量は、例えば、国際公開第２００８／０７７５４６号パンフレットに記載のとおりＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析法により計測してＡｓｎ２９７に付着している全ての糖

構造（例えば、複合体、ハイブリッドおよび高マンノース構造）の合計と比較してＡｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を算出することにより決定される。Ａｓｎ２９７は、Ｆｃ領域中の２９７位あたり（Ｆｃ領域残基のＥＵ番号付け）に位置するアスパラギン残基を指し；しかしながら、Ａｓｎ２９７は、抗体中の軽微な配列変動に起因して２９７位の約±３アミノ酸上流または下流、すなわち、２９４位～３００位の間にも位置し得る。このようなフコシル化バリアントは、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第２００３／０１５７１０８号明細書（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）；米国特許出願公開第２００４／００９３６２１号明細書（Ｋｙｏｗａ Ｈａｋｋｏ Ｋｏｇｙｏ Ｃｏ．，Ｌｔｄ）参照。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体バリアントに関連する刊行物の例としては、米国特許出願公開第２００３／０１５７１０８号明細書；国際公開第２０００／６１７３９号パンフレット；国際公開第２００１／２９２４６号パンフレット；米国特許出願公開第２００３／０１１５６１４号明細書；米国特許出願公開第２００２／０１６４３２８号明細書；米国特許出願公開第２００４／００９３６２１号明細書；米国特許出願公開第２００４／０１３２１４０号明細書；米国特許出願公開第２００４／０１１０７０４号明細書；米国特許出願公開第２００４／０１１０２８２号明細書；米国特許出願公開第２００４／０１０９８６５号明細書；国際公開第２００３／０８５１１９号パンフレット；国際公開第２００３／０８４５７０号パンフレット；国際公開第２００５／０３５５８６号パンフレット；国際公開第２００５／０３５７７８号パンフレット；国際公開第２００５／０５３７４２号パンフレット；国際公開第２００２／０３１１４０号パンフレット；Ｏｋａｚａｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，ｖｏｌ．３３６，ｐｐ．１２３９－１２４９，２００４；Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．，ｖｏｌ．８７，ｐｐ．６１４－６２２，２００４が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生し得る細胞系の例としては、タンパク質フコシル化を欠損するＬｅｃ１３ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ ｅｔ ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．，ｖｏｌ．２４９，ｐｐ．５３３－５４５，１９８６；米国特許出願第２００３／０１５７１０８Ａ号明細書；および国際公開第２００４／０５６３１２Ａ１号パンフレット、特に実施例１１）、ならびにノックアウト細胞系、例えば、アルファ－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８ノックアウトＣＨＯ細胞（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．，ｖｏｌ．８７，ｐｐ．６１４－６２２，２００４；Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，ｖｏｌ．９４，ｐｐ．６８０－６８８，２００６；および国際公開第２００３／０８５１０７号パンフレット参照）が挙げられる。

【０１７９】

例えば、抗体のＦｃ領域に付着している二分岐オリゴ糖がＧｌｃＮＡｃにより二分されている二分オリゴ糖を有する抗体バリアントがさらに提供される。このような抗体バリアントは、低減したフコシル化および／または改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。このような抗体バリアントの例は、例えば、国際公開第２００３／０１１８７８号パンフレット；米国特許第６，６０２，６８４号明細書；および米国特許出願公開第２００５／０１２３５４６号明細書に記載されている。Ｆｃ領域に付着しているオリゴ糖中の少なくとも１つのガラクトース残基を有する抗体バリアントも提供される。このような抗体バリアントは、改善したＣＤＣ機能を有し得る。このような抗体バリアントは、例えば、国際公開第１９９７／３００８７号パンフレット；国際公開第１９９８／５８９６４号パンフレット；および国際公開第１９９９／２２７６４号パンフレットに記載されている。

【０１８０】

Ｆｃ領域バリアント

ある実施形態において、１つ以上のアミノ酸改変を本明細書において提供される抗体のＦｃ領域中に導入し、それによりＦｃ領域バリアントを生成することができる。Ｆｃ領域バリアントは、１つ以上のアミノ酸位置におけるアミノ酸改変（例えば、置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４ Ｆｃ領域）を含み得る。

【０１８１】
ある実施形態において、本発明は、全てではないが、一部のエフェクター機能を保有する抗体バリアントを企図し、これらは、インビボにおける抗体の半減期が重要である一方で、あるエフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ）が不要または有害である用途に関して望ましい候補となる。インビトロおよび／またはインビボの細胞毒性アッセイを実施してＣＤＣおよび／またはＡＤＣＣ活性の低減／枯渇を確認することができる。例えば、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実施して抗体がＦｃγＲ結合を欠く（したがって、ＡＤＣＣ活性を欠く可能性が高い）が、ＦｃＲｎ結合能を保持することを確保することができる。ＡＤＣＣを媒介する一次細胞であるＮＫ細胞はＦｃγＲＩＩＩのみを発現する一方、単球はＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩおよびＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞上でのＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．９，ｐｐ．４５７－４９２，１９９１の４６４頁の表５にまとめられている。目的の分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第５，５００，３６２号明細書（例えば、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．８３，ｐｐ．７０５９－７０６３，１９８６も参照）およびＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．８２，ｐｐ．１４９９－１５０２，１９８５；米国特許第５，８２１，３３７号明細書（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，ｖｏｌ．１６６，ｐｐ．１３５１－１３６１，１９８７も参照）に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ法を用いることができる（例えば、フローサイトメトリーのためのＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞毒性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，Ｃａｌｉｆ．；およびＣｙｔｏＴｏｘ ９６（登録商標）非放射性細胞毒性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．）参照。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）およびナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。あるいは、またはさらに、目的の分子のＡＤＣＣ活性を、例えば、動物モデル、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９５，ｐｐ．６５２－６５６，１９９８に開示のものにおいてインビボで評価することができる。Ｃ１ｑ結合アッセイを実施して、抗体がＣ１ｑに結合し得ず、したがってＣＤＣ活性を欠くことを確認することもできる。例えば、国際公開第２００６／０２９８７９号パンフレットおよび国際公開第２００５／１００４０２号パンフレットにおけるＣ１ｑおよびＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡ参照。補体活性化を評価するため、ＣＤＣアッセイを実施することができる（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，ｖｏｌ．２０２，ｐｐ．１６３－１７１，１９９６；Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，ｖｏｌ．１０１，ｐｐ．１０４５－１０５２，２００３；およびＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ，ａｎｄ Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｂｌｏｏｄ，ｖｏｌ．１０３，ｐｐ．２７３８－２７４３，２００４参照）。ＦｃＲｎ結合およびインビボクリアランス／半減期の決定も、当分野において公知の方法を使用して実施することができる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１８，ｐｐ．１７５９－１７６９，２００６参照）。

【０１８２】
減少したエフェクター機能を有する抗体としては、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７および３２９の１つ以上の置換を有するもの（米国特許第６，７３７，０５６号明細書）が挙げられる。このようなＦｃ突然変異体としては、アミノ酸２６５、２６９、２７０、２９７および３２７位の２つ以上における置換を有するＦｃ突然変異体、例として、残基２６５および２９７のアラニンへの置換を有する、いわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ突然変異体（米国特許第７，３３２，５８１号明細書）が挙げられる。

【０１８３】
ＦｃＲに対する改善または縮小した結合を有するある抗体バリアントが記載されている（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号明細書、国際公開第２００４／０５６３１２

号パンフレット、およびＳｈｉｅｌｄｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．９，ｐｐ．６５９１－６６０４，２００１参照）。

【０１８４】

ある実施形態において、抗体バリアントは、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８、３３３、および／または３３４位（残基のＥＵ番号付け）における置換を有するＦｃ領域を含む。

【０１８５】

一部の実施形態において、変更された（すなわち、改善され、または縮小した）Ｃ１ｑ結合および／または補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）をもたらす変更、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号明細書、国際公開第９９／５１６４２号パンフレット、およびＩｄｕｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１６４，ｐｐ．４１７８－４１８４，２０００に記載のものが、Ｆｃ領域中で作製される。

【０１８６】

増加した半減期を有し、胎児への母体ＩｇＧの移動を担う（Ｇｕｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１１７，ｐｐ．５８７－５９３，１９７６およびＫｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．２４，ｐ．２４９，１９９４）新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への改善された結合を有する抗体が、米国特許出願公開第２００５／００１４９３４号明細書に記載されている。それらの抗体は、その中にＦｃ領域のＦｃＲｎへの結合を改善する１つ以上の置換を有するＦｃ領域を含む。このようなＦｃバリアントとしては、Ｆｃ領域残基：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４または４３４の１つ以上における置換、例えば、Ｆｃ領域残基４３４の置換（米国特許第７，３７１，８２６号明細書）を有するものが挙げられる。Ｆｃ領域バリアントの他の例に関しては、Ｄｕｎｃａｎ　＆　Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．３２２，ｐｐ．７３８－７４０，１９８８；米国特許第５，６４８，２６０号明細書；米国特許第５，６２４，８２１号明細書；および国際公開第９４／２９３５１号パンフレットも参照。

【０１８７】

システインエンジニアリング抗体バリアント

ある実施形態において、抗体の１つ以上の残基がシステイン残基により置換されているシステインエンジニアリング抗体、例えば、「ｔｈｉｏＭＡｂ」を作出することが望ましい場合がある。特定の実施形態において、置換残基は抗体のアクセス可能な部位に生じる。それらの残基をシステインにより置換することにより、反応性チオール基は、それにより抗体のアクセス可能な部位に位置され、それを使用して抗体を他の部分、例えば、薬物部分またはリンカー－薬物部分とコンジュゲートさせて本明細書においてさらに記載されるとおり免疫コンジュゲートを作出することができる。ある実施形態において、以下の残基のいずれか１つ以上をシステインにより置換することができる：軽鎖のＶ２０５（Ｋａｂａｔ番号付け）、重鎖のＡ１１８（ＥＵ番号付け）；および重鎖Ｆｃ領域の５４００（ＥＵ番号付け）。システインエンジニアリング抗体は、例えば、米国特許第７，５２１，５４１号明細書に記載のとおり生成することができる。

【０１８８】

抗体誘導体

ある実施形態において、本明細書において提供される抗体または抗体断片は、当分野において公知の容易に利用可能な追加の非タンパク質部分を含有するようにさらに改変することができる。抗体または抗体断片の誘導体化に好適な部分としては、限定されるものではないが、水溶性ポリマーが挙げられる。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、限定されるものではないが、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーま

たはランダムコポリマーのいずれか）、およびデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が挙げられる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性に起因して製造上の利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであり得、分岐でも非分岐でもよい。抗体または抗体断片に付着しているポリマーの数は変動し得、２つ以上のポリマーが付着している場合、それらは同一または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／またはタイプは、検討事項、例として、限定されるものではないが、改善すべき抗体または抗体断片の特定の特性または機能、その誘導体が規定の条件下で治療法において使用されるか否かなどに基づき決定することができる。

【０１８９】

別の実施形態において、放射線への曝露により選択的に加熱することができる抗体または抗体断片および非タンパク質部分のコンジュゲートが提供される。一実施形態において、非タンパク質部分は、カーボンナノチューブである（Ｋａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．１０２，ｐｐ．１１６００－１１６０５，２００５）。放射線は任意の波長のものであり得、それとしては、限定されるものではないが、通常の細胞を害することはないが、抗体－非タンパク質部分の近位の細胞が殺滅される温度まで非タンパク質部分を加熱する波長が挙げられる。

【０１９０】

別の態様において、本発明は、単離重鎖可変領域ポリペプチドまたは単離軽鎖可変領域ポリペプチドを含む抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。単離重鎖可変領域ポリペプチドは、配列番号１～６を有するＨ１、Ｈ２、およびＨ３領域を含む。単離軽鎖可変領域ポリペプチドは、配列番号７～１２を有するＬ１、Ｌ２、およびＬ３領域を含む。

【０１９１】

本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、腫瘍微小環境中の条件下で、非腫瘍微小環境中の条件下よりも高いＲＯＲ２に対する結合親和性を有する。一実施形態において、腫瘍微小環境中の条件および非腫瘍微小環境中の条件は、両方のｐＨである。したがって、本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、約５．～約６．８のｐＨにおいてＲＯＲ２に選択的に結合し得るが、正常な生理学的環境中に見出される７．２～７．８のｐＨにおいてはより低いＲＯＲ２に対する結合親和性を有する。実施例１に示されるとおり、抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、ｐＨ６．０においてｐＨ７．４よりも高いＲＯＲ２に対する結合親和性を有する。

【０１９２】

ある実施形態において、本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、約≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、または10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、または10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の腫瘍微小環境中の条件下のＲＯＲ２についての解離定数（Ｋｄ）を有する。一実施形態において、腫瘍微小環境中の条件の値におけるＲＯＲ２についての抗体または抗体断片のＫｄと、非腫瘍微小環境中の同一条件の異なる値におけるＫｄとの比は、少なくとも約１．５：１、少なくとも約２：１、少なくとも約３：１、少なくとも約４：１、少なくとも約５：１、少なくとも約６：１、少なくとも約７：１、少なくとも約８：１、少なくとも約９：１、少なくとも約１０：１、少なくとも約２０：１、少なくとも約３０：１、少なくとも約５０：１、少なくとも約７０：１、または少なくとも約１００：１である。

【０１９３】

一実施形態において、Ｋｄは、以下のアッセイを使用する目的抗体のＦａｂ型およびその抗原を用いて実施される放射性標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）によって計測される。抗原についてのＦａｂの溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定系列の存在下で最小濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原によりＦａｂを平衡化し、次いで、抗Ｆａｂ抗体コーティングプレ

ートにより結合した抗原を捕捉することにより計測される（例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）参照）。アッセイ条件を確立するため、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）中で５μｇ／ｍｌの捕捉抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ　Ｌａｂｓ）により一晩コーティングし、続いてＰＢＳ中の２％（ｗ／ｖ）のウシ血清アルブミンにより室温（約２３℃）において２～５時間ブロッキングする。非吸着プレート（Ｎｕｎｃ番号２６９６２０）中で、１００ｐＭまたは２６ｐＭの［^{125}Ｉ］抗原を、目的のＦａｂの段階希釈物（例えば、Ｐｒｅｓｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９（１９９７）における抗ＶＥＧＦ抗体のＦａｂ－１２の評価と一致する）と混合する。次いで、目的のＦａｂを一晩インキュベートし；しかしながら、インキュベーションは、平衡への到達を確保するためにより長い時間（例えば、約６５時間）継続し得る。その後、混合物を、室温におけるインキュベーション（例えば、１時間）のために捕捉プレートに移す。次いで溶液を除去し、プレートをＰＢＳ中０．１％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））により８回洗浄する。プレートが乾燥したら、１５０μｌ／ウェルのシンチラント（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）、Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、プレートをＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）ガンマカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ）上で１０分間計数する。最大結合の２０％以下を与えるそれぞれのＦａｂの濃度を、競合結合アッセイにおける使用のために選択する。

【０１９４】

別の実施形態によれば、Ｋｄは、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，Ｎ．Ｊ．）を使用する表面プラズモン共鳴アッセイを使用して、２５℃において固定化抗原ＣＭ５チップを用いて、約１０応答単位（ＲＵ）において計測する。簡潔に述べると、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ（ＣＭ５、ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を供給業者の説明書に従ってＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）により活性化させる。抗原を１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ４．８）により５μｇ／ｍｌ（約０．２μＭ）まで希釈してから、約１０の応答単位（ＲＵ）の結合タンパク質を達成するように５μｌ／分の流速において注入する。抗原の注入後、１Ｍのエタノールアミンを注入して未反応基をブロッキングする。カイネティクス計測のため、Ｆａｂの２倍段階希釈物（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）を２５℃において、約２５μｌ／分の流速において０．０５％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））界面活性剤を有するＰＢＳ（ＰＢＳＴ）中に注入する。会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）を、単純１対１ラングミュア結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）評価ソフトウェアバージョン３．２）を使用して、会合および解離センサーグラムを同時にフィッティングすることにより算出する。平衡解離定数（Ｋｄ）を、k_{off}／k_{on}比として算出する。例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによるオン速度が10^{6}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$を超過する場合、オン速度は、分光計、例えば、ストップフロー方式の分光光度計（Ａｖｉｖ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または撹拌キュベットを有する８０００シリーズＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）において計測する場合、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中、２０ｎＭの抗抗原抗体（Ｆａｂ形態）の蛍光発光強度（励起＝２９５ｎｍ、発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍのバンドパス）の増加または減少を増加濃度の抗原の存在下で２５℃において計測する蛍光消光技術を使用することにより測定することができる。

【０１９５】

本発明の抗ＲＯＲ２抗体は、キメラ、ヒト化またはヒト抗体であり得る。一実施形態において、抗ＲＯＲ２抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、ｓｃＦｖ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディまたはＦ（ａｂ’）$_2$断片および抗体断

片から形成される多重特異的抗体を用いる。別の実施形態において、抗体は、本明細書において定義される全長抗体、例えば、インタクトＩｇＧ抗体または他の抗体クラスまたはアイソタイプである。ある抗体断片の概説については、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．，ｖｏｌ．９，ｐｐ．１２９－１３４，２００３参照。ｓｃＦｖ断片の概説については、例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｅｎ，ｉｎ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ），ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）参照；国際公開第９３／１６１８５号パンフレット；および米国特許第５，５７１，８９４号明細書および同第５，５８７，４５８号明細書も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有するＦａｂおよびＦ（ａｂ’）$_2$断片の考察については、米国特許第５，８６９，０４６号明細書参照。

【０１９６】

本発明のダイアボディは、二価または二重特異性であり得る。例えば、ダイアボディの例については、欧州特許第４０４，０９７号明細書；国際公開第１９９３／０１１６１号パンフレット；Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）；およびＨｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９０，ｐｐ．６４４４－６４４８，１９９３参照。トリアボディおよびテトラボディの例も、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．，ｖｏｌ．９，ｐｐ．１２９－１３４，２００３に記載されている。

【０１９７】

一部の実施形態において、本発明は、抗体の重鎖可変ドメインの全部もしくは一部または軽鎖可変ドメインの全部もしくは一部を含む単一ドメイン抗体断片を含む。ある実施形態において、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，Ｍａｓｓ．；例えば、米国特許第６，２４８，５１６Ｂ１号明細書参照）。

【０１９８】

抗体断片は、種々の技術、例として、限定されるものではないが、本明細書に記載のとおりインタクト抗体のタンパク質分解消化および組換え宿主細胞（例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）またはファージ）による産生により作製することができる。

【０１９９】

一部の実施形態において、本発明の抗ＲＯＲ２抗体は、キメラ抗体であり得る。あるキメラ抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号明細書；およびＭｏｒｒｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．８１，ｐｐ．６８５１－６８５５，１９８４）に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、または非ヒト霊長類、例えば、サルに由来する可変領域）およびヒト定常領域を含む。さらなる例において、キメラ抗体は、抗体のクラスまたはサブクラスが親抗体のクラスまたはサブクラスに対して変化している「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、それらの抗原結合断片を含む。

【０２００】

ある実施形態において、本発明のキメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、このような非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減させるようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、ＣＤＲ（またはその一部）が非ヒト抗体に由来し、ＦＲ（またはその一部）がヒト抗体配列に由来する１つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、場合によりヒト定常領域の少なくとも一部も含み得る。一部の実施形態において、ヒト化抗体中の一部のＦＲ残基は、例えば、抗体の特異性または親和性を回復させ、または改善するために非ヒト抗体（例えば、ＣＤＲ残基が由来する抗体）からの対応する残基により置換される。

【０２０１】

ヒト化抗体およびその作製方法は、例えば、Ａｌｍａｇｒｏ　ａｎｄ　Ｆｒａｎｓｓｏ

ｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．１６１９－１６３３，２００８に概説されており、さらに例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．３３２，ｐｐ．３２３－３２９，１９８８；Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．８６，ｐｐ．１００２９－１００３３，１９８９；米国特許第５，８２１，３３７号明細書、同第７，５２７，７９１号明細書、同第６，９８２，３２１号明細書、および同第７，０８７，４０９号明細書、Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ，ｖｏｌ．３６，ｐｐ．２５－３４，２００５（ＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）グラフト化について記載）；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．２８，ｐｐ．４８９－４９８，１９９１（「リサーフェイシング」について記載）；Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ，ｖｏｌ．３６，ｐｐ．４３－６０，２００５（「ＦＲシャフリング」について記載）；ならびにＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ，ｖｏｌ．３６，ｐｐ．６１－６８，２００５およびＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，ｖｏｌ．８３，ｐｐ．２５２－２６０，２０００（ＦＲシャフリングに対する「誘導選択」アプローチについて記載）に記載されている。

【０２０２】

ヒト化に使用することができるヒトフレームワーク領域としては、限定されるものではないが、「ベストフィット」法（例えば、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１５１，ｐ．２２９６，１９９３参照）を使用して選択されるフレームワーク領域；軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループにおけるヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．８９，ｐ．４２８５，１９９２；およびＰｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１５１，ｐ．２６２３，１９９３参照）、ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系列フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．１６１９－１６３３，２００８参照）；ならびにＦＲライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．２７２，ｐｐ．１０６７８－１０６８４，１９９７およびＲｏｓｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．２７１，ｐｐ．２２６１１－２２６１８，１９９６参照）が挙げられる。

【０２０３】

一部の実施形態において、本発明の抗ＲＯＲ２抗体は、多重特異的抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異的抗体は、少なくとも２つの異なる部位についての結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある実施形態において、結合特異性のあるものはＲＯＲ２についてのものであり、他方は別の抗原についてのものである。ある実施形態において、二重特異性抗体は、ＲＯＲ２の２つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体は、ＲＯＲ２を発現する細胞に対して細胞毒性剤を局在化させるために使用することもできる。二重特異性抗体は、全長抗体または抗体断片として調製することができる。

【０２０４】

多重特異的抗体を作製する技術としては、限定されるものではないが、異なる特異性を有する２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖ペアの組換え共発現（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．３０５，ｐｐ．５３７－５４０，１９８３）、国際公開第９３／０８８２９号パンフレット、およびＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．ｖｏｌ．１０，ｐｐ．３６５５－３６５９，１９９１参照）、ならびに「ノブインホール（ｋｎｏｂ－ｉｎ－ｈｏｌｅ）」エンジニアリング（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号明細書参照）が挙げられる。多重特異的抗体は、抗体Ｆｃヘテロ二量体分子を作製するために静電ステアリング（ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃ ｓｔｅｅｒｉｎｇ）効果をエンジニアリングすること（国際公開第２００９／０８９００４Ａ１号パンフレット）；２つ以上の抗体または断片を架橋すること（例えば、米国特許第４，６７６，９８０号明細書、およびＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，ｖｏｌ

．２２９，ｐｐ．８１－８３，１９８５参照）；二重特異性抗体を産生するためにロイシンジッパーを使用すること（例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１４８，ｐｐ．１５４７－１５５３，１９９２参照）；二重特異性抗体断片を作製するために「ダイアボディ」技術を使用すること（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９０，ｐｐ．６４４４－６４４８，１９９３参照）；ならびに単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）二量体を使用すること（例えば、Ｇｒｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１５２，ｐｐ．５３６８－５３７４，１９９４参照）；ならびに例えば、Ｔｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，ｖｏｌ．１４７，ｐｐ．６０－６９，１９９１に記載のとおり三重特異的抗体を調製することにより作製することもできる。

【０２０５】

３つ以上の機能的抗原結合部位を有するエンジニアリング抗体、例として「オクトパス抗体」も本明細書に含まれる（例えば、米国特許出願公開第２００６／００２５５７６Ａ１号明細書参照）。

【０２０６】

抗体または抗体断片としては、ＲＯＲ２および別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む「二重作用Ｆａｂ」または「ＤＡＦ」も挙げられる（Ｒｏｒ１などは例えば、米国特許出願公開第２００８／００６９８２０号明細書参照）。

【０２０７】

本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、米国特許出願公開第２０１６／００１７０４０号明細書に詳述されている組換え法および組成物を使用して産生することができる。

【０２０８】

本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片の物理的／化学的特性および／または生物学的活性は、当分野において公知の種々のアッセイにより試験および計測することができる。これらのアッセイの一部は、米国特許第８，８５３，３６９号明細書に記載されている。

【０２０９】

Ｂ．免疫コンジュゲート

別の態様において、本発明はまた、１つ以上の細胞毒性剤、例えば、化学療法剤または化学療法薬、成長阻害剤、毒素（例えば、細菌、真菌、植物、または動物起源のタンパク質毒素、酵素活性毒素、またはそれらの断片）、または放射性同位体にコンジュゲートしている抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を含む免疫コンジュゲートを提供する。

【０２１０】

一実施形態において、免疫コンジュゲートは、抗体または抗体断片が１つ以上の薬物にコンジュゲートしている抗体－薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）であり、その薬物としては、限定されるものではないが、メイタンシノイド（米国特許第５，２０８，０２０号明細書、同第５，４１６，０６４号明細書および欧州特許第０４２５２３５Ｂ１号明細書参照）；アウリスタチン、例えば、モノメチルアウリスタチン薬物部分ＤＥおよびＤＦ（ＭＭＡＥおよびＭＭＡＦ）（米国特許第５，６３５，４８３号明細書および同第５，７８０，５８８号明細書、および同第７，４９８，２９８号明細書参照）；ドラスタチン；カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第５，７１２，３７４号明細書、同第５，７１４，５８６号明細書、同第５，７３９，１１６号明細書、同第５，７６７，２８５号明細書、同第５，７７０，７０１号明細書、同第５，７７０，７１０号明細書、同第５，７７３，００１号明細書、および同第５，８７７，２９６号明細書参照；Ｈｉｎｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．５３，ｐｐ．３３３６－３３４２，１９９３；およびＬｏｄｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．５８，ｐｐ．２９２５－２９２８，１９９８）；アントラサイクリン、例えば、ダウノマイシンまたはドキソルビシン（Ｋｒａｔｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．４７７－５２３，２００６；Ｊｅｆｆｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１６，ｐｐ．３５８－３６２，２００６；Ｔｏｒｇｏｖ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１６

，ｐｐ．７１７－７２１，２００５；Ｎａｇｙ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９７，ｐｐ．８２９－８３４，２０００；Ｄｕｂｏｗｃｈｉｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１２，ｖｏｌ．１５２９－１５３２，２００２；Ｋｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．４５，ｐｐ．４３３６－４３４３，２００２；ならびに米国特許第６，６３０，５７９号明細書参照）；メトトレキサート；ビンデシン；タキサン、例えば、ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、およびオルタタキセル；トリコテセン；およびＣＣ１０６５が挙げられる。

【０２１１】

別の実施形態において、免疫コンジュゲートは、酵素活性毒素またはその断片、例として、限定されるものではないが、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）からのもの）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、アルファ－サルシン、シナアブラギリ（Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ ｆｏｒｄｉｉ）タンパク質、ジアンチン（ｄｉａｎｔｈｉｎ）タンパク質、ヨウシュアヤマゴボウ（Ｐｈｙｔｏｌａｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａ）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、およびＰＡＰ－Ｓ）、ツルレイシ（ｍｏｍｏｒｄｉｃａ ｃｈａｒａｎｔｉａ）阻害剤、またはクルシン、クロチン、サボンソウ（ｓａｐａｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、およびトリコテセンにコンジュゲートしている本明細書に記載の抗体または抗体断片を含む。

【０２１２】

別の実施形態において、免疫コンジュゲートは、放射性コンジュゲートを形成するために放射性原子にコンジュゲートしている本明細書に記載の抗体または抗体断片を含む。放射性コンジュゲートの産生には種々の放射性同位体が利用可能である。例としては、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}およびＬｕの放射性同位体が挙げられる。放射性コンジュゲートを検出に使用する場合、それは、シンチグラフィー試験のための放射性原子、例えば、ｔｃ９９ｍもしくはＩ１２３、または核磁気共鳴（ＮＭＲ）イメージング（磁気共鳴イメージング、ＭＲＩとしても公知）用のスピン標識、例えば、ヨウ素－１２３、さらにヨウ素－１３１、インジウム－１１１、フッ素－１９、炭素－１３、窒素－１５、酸素－１７、ガドリニウム、マンガン、もしくは鉄を含み得る。

【０２１３】

抗体／抗体断片および細胞毒性剤のコンジュゲートは、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、スクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（例えば、ジメチルアジプイミデートＨＣｌ）、活性エステル（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）、アルデヒド（例えば、グルタルアルデヒド）、ビス－アジド化合物（例えば、ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（例えば、ビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えば、トルエン２，６－ジイソシアネート）、およびビス活性フッ素化合物（例えば、１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）を使用して作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Ｖｉｔｅｔｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，ｖｏｌ．２３８，ｐｐ．１０９８－，１９８７に記載のとおり調製することができる。炭素－１４により標識された１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、放射性ヌクレオチドの抗体へのコンジュゲーションのための例示的なキレート剤である。国際公開第９４／１１０２６号パンフレット参照。リンカーは、細胞中で細胞毒性薬の放出を容易にする「切断可能リンカー」であり得る。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカーまたはジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎ

ｃｅｒ Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．５２，ｐｐ．１２７－１３１，１９９２；米国特許第５，２０８，０２０号明細書）を使用することができる。

【０２１４】

本明細書における免疫コンジュゲートは、限定されるものではないが、架橋試薬、例として、限定されるものではないが、ＢＭＰＳ、ＥＭＣＳ、ＧＭＢＳ、ＨＢＶＳ、ＬＣ－ＳＭＣＣ、ＭＢＳ、ＭＰＢＨ、ＳＢＡＰ、ＳＩＡ、ＳＩＡＢ、ＳＭＣＣ、ＳＭＰＢ、ＳＭＰＨ、スルホ－ＥＭＣＳ、スルホ－ＧＭＢＳ、スルホ－ＫＭＵＳ、スルホ－ＭＢＳ、スルホ－ＳＩＡＢ、スルホ－ＳＭＣＣ、およびスルホ－ＳＭＰＢ、ならびに（例えば、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，Ｉｌｌ．，Ｕ．Ｓ．Ａから）市販されているＳＶＳＢ（スクシンイミジル－（４－ビニルスルホン）ベンゾエート）を用いて調製されるコンジュゲートを明示的に企図する。

【０２１５】

ＡＤＣの例示的な実施形態は、腫瘍細胞を標的化する抗体または抗体断片（Ａｂ）、薬物部分（Ｄ）、およびＡｂをＤに付着させるリンカー部分（Ｌ）を含む。一部の実施形態において、抗体は、１つ以上のアミノ酸残基、例えば、リジンおよび／またはシステインを介してリンカー部分（Ｌ）に付着している。いくつかの実施形態では、薬物部分は抗腫瘍剤である。例えば、ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣは、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）であってもよく、ここで異種分子がモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）であり、（ｎ）が（１と４を含む）１～４の整数である。

【０２１６】

例示的なＡＤＣは、式Ｉ：Ａｂ－（Ｌ－Ｄ）ｐＩ（式中、ｐは、１～約２０である）を有する。一部の実施形態において、抗体にコンジュゲートされ得る薬物部分の数は、遊離システイン残基の数により限定される。一部の実施形態において、遊離システイン残基は、本明細書に記載の方法により抗体アミノ酸配列中に導入される。式Ｉの例示的なＡＤＣとしては、限定されるものではないが、１、２、３、または４つのエンジニアリングされたシステインアミノ酸を有する抗体が挙げられる（Ｌｙｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍ．，ｖｏｌ．５０２，ｐｐ．１２３－１３８，２０１２）。一部の実施形態において、１つ以上の遊離システイン残基が、エンジニアリングを使用することなく抗体中で既に存在し、その場合、既存の遊離システイン残基を使用して抗体を薬物にコンジュゲートさせることができる。一部の実施形態において、抗体は、１つ以上の遊離システイン残基を生成するために抗体のコンジュゲーション前に還元条件に曝露される。

【０２１７】

ａ）例示的なリンカー

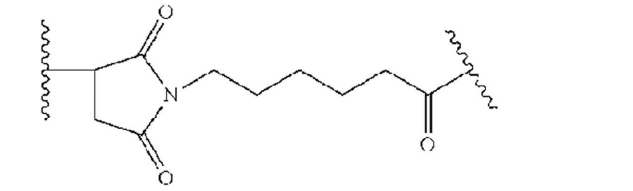
「リンカー」（Ｌ）は、１つ以上の部分、例えば、薬物部分（Ｄ）を抗体または抗体断片（Ａｂ）に結合して免疫コンジュゲート、例えば、式ＩのＡＤＣを形成するために使用することができる二官能性または多官能性部分である。一部の実施形態において、ＡＤＣは、薬物および抗体に共有結合するための反応性官能基を有するリンカーを使用して調製することができる。例えば、一部の実施形態において、抗体または抗体断片（Ａｂ）のシステインチオールは、リンカーの反応性官能基または薬物－リンカー中間体との結合を形成してＡＤＣを作製し得る。

【０２１８】

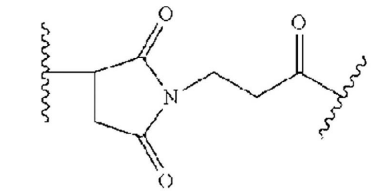
一態様において、リンカーは、抗体上に存在する遊離システインと反応して共有結合を形成し得る官能基を有する。このような反応性官能基の非限定的な例としては、マレイミド、ハロアセトアミド、α－ハロアセチル、活性化エステル、例えば、スクシンイミドエステル、４－ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル、無水物、酸塩化物、塩化スルホニル、イソシアネート、およびイソチオシアネートが挙げられる。例えば、Ｋｌｕｓｓｍａｎ，ｅｔ ａｌ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ｖｏｌ．１５，ｐｐ．７６５－７７３，２００４の７６６頁におけるコンジュゲーション法参照。

【０２１９】
一部の実施形態において、リンカーは、抗体上に存在する求電子基と反応し得る官能基を有する。例示的なそのような求電子基としては、限定されるものではないが、アルデヒドおよびケトンカルボニル基が挙げられる。一部の実施形態において、リンカーの反応性官能基のヘテロ原子が、抗体上の求電子基と反応し、抗体単位への共有結合を形成し得る。非限定的な例示的なこのような反応性官能基としては、限定されるものではないが、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジドが挙げられる。
【０２２０】
リンカーは、１つ以上のリンカー構成成分を含み得る。例示的なリンカー構成成分としては、６－マレイミドカプロイル（「ＭＣ」）、マレイミドプロパノイル（「ＭＰ」）、バリン－シトルリン（「ｖａｌ－ｃｉｔ」または「ｖｃ」）、アラニン－フェニルアラニン（「ａｌａ－ｐｈｅ」）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（「ＰＡＢ」）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（「ＳＰＰ」）、および４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１カルボキシレート（「ＭＣＣ」）が挙げられる。種々のリンカー構成成分が当分野において公知であり、それらの一部が以下に記載される。
【０２２１】
リンカーは、薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であり得る。切断可能なリンカーの非限定的な例としては、酸不安定性リンカー（例えば、ヒドラゾンを含む）、プロテアーゼ感受性（例えば、ペプチダーゼ感受性）リンカー、光不安定性リンカー、またはジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．５２，ｐｐ．１２７－１３１，１９９２；米国特許第５，２０８，０２０号明細書）が挙げられる。
【０２２２】
ある実施形態において、リンカーは、以下の式ＩＩ：－Ａ$_{a}$－Ｗ$_{w}$－Ｙ$_{y}$－（式中、Ａは、「ストレッチャー単位」であり、ａは、０～１の整数であり；Ｗは、「アミノ酸単位」であり、ｗは、０～１２の整数であり；Ｙは「スペーサー単位」であり、ｙは、０、１、または２である）を有する。式ＩＩのリンカーを含むＡＤＣは、式Ｉ（Ａ）：Ａｂ－（Ａ$_{a}$－Ｗ$_{w}$－Ｙ$_{y}$－Ｄ）$_{p}$（式中、Ａｂ、Ｄ、およびｐは、式Ｉについて上記定義のとおりである）を有する。このようなリンカーの例示的な実施形態は、米国特許第７，４９８，２９８号に記載されている。
【０２２３】
一部の実施形態において、リンカー構成成分は、抗体を別のリンカー構成成分にまたは薬物部分に結合させる「ストレッチャー単位」（Ａ）を含む。非限定的な例示的なストレッチャー単位が以下に示される（式中、波線は、抗体、薬物、または追加のリンカー構成成分への共有結合の部位を示す）。

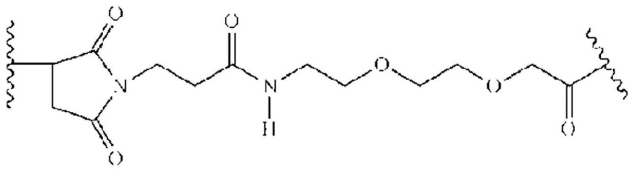
【化１】



MC



MP



mPEG

【０２２４】

一部の実施形態において、リンカー構成成分は、「アミノ酸単位」（Ｗ）を含む。一部のそのような実施形態において、アミノ酸単位は、プロテアーゼによるリンカーの切断を可能にし、それにより細胞内プロテアーゼ、例えば、リソソーム酵素への曝露時に免疫コンジュゲートからの薬物の放出を容易にする（Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，ｖｏｌ．２１，ｐｐ．７７８－７８４，２００３）。例示的なアミノ酸単位としては、限定されるものではないが、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、およびペンタペプチドが挙げられる。例示的なジペプチドとしては、限定されるものではないが、バリン－シトルリン（ｖｃまたはｖａｌ－ｃｉｔ）、アラニン－フェニルアラニン（ａｆまたはａｌａ－ｐｈｅ）、フェニルアラニン－リジン（ｆｋまたはｐｈｅ－ｌｙｓ）；フェニルアラニン－ホモリジン（ｐｈｅ－ｈｏｍｏｌｙｓ）；およびＮ－メチル－バリン－シトルリン（Ｍｅ－ｖａｌ－ｃｉｔ）が挙げられる。例示的なトリペプチドとしては、限定されるものではないが、グリシン－バリン－シトルリン（ｇｌｙ－ｖａｌ－ｃｉｔ）およびグリシン－グリシン－グリシン（ｇｌｙ－ｇｌｙ－ｇｌｙ）が挙げられる。アミノ酸単位は、天然に生じるアミノ酸残基および／または微量アミノ酸および／または非天然存在アミノ酸類似体、例えば、シトルリンを含み得る。アミノ酸単位は、特定の酵素、例えば、腫瘍関連プロテアーゼ、カテプシンＢ、Ｃ、およびＤ、またはプラスミンプロテアーゼによる酵素的切断のために設計および最適化することができる。

【０２２５】

典型的には、ペプチドタイプリンカーは、２つ以上のアミノ酸および／またはペプチド断片間のペプチド結合を形成することにより調製することができる。このようなペプチド結合は、例えば、脂質相合成法（例えば、Ｅ．Ｓｃｈｒｏｄｅｒ ａｎｄ Ｋ．Ｌｕｅｂｋｅ（１９６５）“Ｔｈｅ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ”，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐｐ７６－１３６，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）に従って調製することができる。

【０２２６】

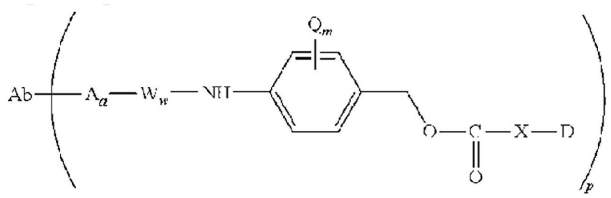
一部の実施形態において、リンカー構成成分は、抗体を薬物部分に直接、またはストレッチャー単位および／もしくはアミノ酸単位を介して結合する「スペーサー」単位（Ｙ）を含む。スペーサー単位は、「自己犠牲型（ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ）」または「非自己犠牲型」であり得る。「非自己犠牲型」スペーサー単位は、ＡＤＣの切断時にスペーサー単位の一部または全部が薬物部分に結合しているままのものである。非自己犠牲

型スペーサー単位の例としては、限定されるものではないが、グリシンスペーサー単位およびグリシン－グリシンスペーサー単位が挙げられる。一部の実施形態において、腫瘍細胞関連プロテアーゼによるグリシン－グリシンスペーサー単位を含有するＡＤＣの酵素的切断が、ＡＤＣの残部からのグリシン－グリシン－薬物部分の放出をもたらす。一部のそのような実施形態において、グリシン－グリシン－薬物部分は、腫瘍細胞中で加水分解ステップに供され、したがってグリシン－グリシンスペーサー単位を薬物部分から切断する。

【０２２７】

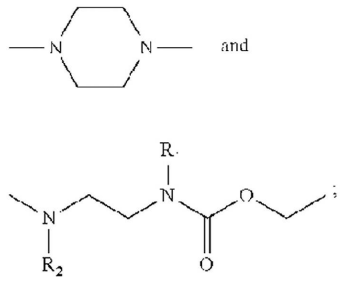
「自己犠牲型」スペーサー単位は、薬物部分の放出を可能にする。ある実施形態において、リンカーのスペーサー単位は、ｐ－アミノベンジル単位を含む。一部のそのような実施形態において、ｐ－アミノベンジルアルコールは、アミド結合を介してアミノ酸単位に付着しており、カルバメート、メチルカルバメート、またはカルボネートが、ベンジルアルコールと薬物との間に作製される（Ｈａｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｐａｔｅｎｔｓ，ｖｏｌ．１５，ｐｐ．１０８７－１１０３，２００５）。一部の実施形態において、スペーサー単位は、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）を含む。一部の実施形態において、自己犠牲型リンカーを含むＡＤＣは、構造：

【化２】



（式中、Ｑは、－Ｃ１～Ｃ８アルキル、－Ｏ－（Ｃ１～Ｃ８アルキル）、－ハロゲン、－ニトロ、または－シアノであり、ｍは、０～４範囲の整数であり；Ｘは、１つ以上の追加のスペーサー単位であり得、または不存在であり得；ｐは、１～約２０の範囲である）を有する。一部の実施形態において、ｐは、１～１０、１～７、１～５、または１～４の範囲である。非限定的な例示的なＸスペーサー単位としては、

【化３】



（式中、Ｒ１およびＲ２は、ＨおよびＣ１～Ｃ６アルキルから独立して選択される）が挙げられる。一部の実施形態において、Ｒ１およびＲ２は、それぞれ－ＣＨ３である。

【０２２８】

自己犠牲型スペーサーの他の例としては、限定されるものではないが、ＰＡＢ基と電子的に類似する芳香族化合物、例えば、２－アミノイミダゾール－５－メタノール誘導体（米国特許第７，３７５，０７８号明細書；Ｈａｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，ｖｏｌ．９，ｐ．２２３７－，１９９９）およびオルト－またはパラ－アミノベンジルアセタールが挙げられる。一部の実施形態において、アミド結合加水分解時に環化を受けるスペーサー、例えば、置換および非置換４－アミノ酪酸アミド（Ｒｏｄｒｉｇｕｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．２，ｐｐ．２２３－，１９９５）、適切に置換されているビシクロ［２．２．１］およびビシクロ［２．２．２］環系（Ｓｔｏｒｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ａｍｅｒ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，ｖｏｌ．９４，ｐ．５８１５－，１９７２）ならびに２－アミノフェニルプロピ

オン酸アミド（Ａｍｓｂｅｒｒｙ　ｅｔ　ａｌ，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．５５，ｐ．５８６７，１９９０）を使用することができる。グリシン残基のα－炭素への薬物の結合は、ＡＤＣにおいて有用であり得る自己犠牲型スペーサーの別の例である（Ｋｉｎｇｓｂｕｒｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．２７，ｐ．１４４７，１９８４）。

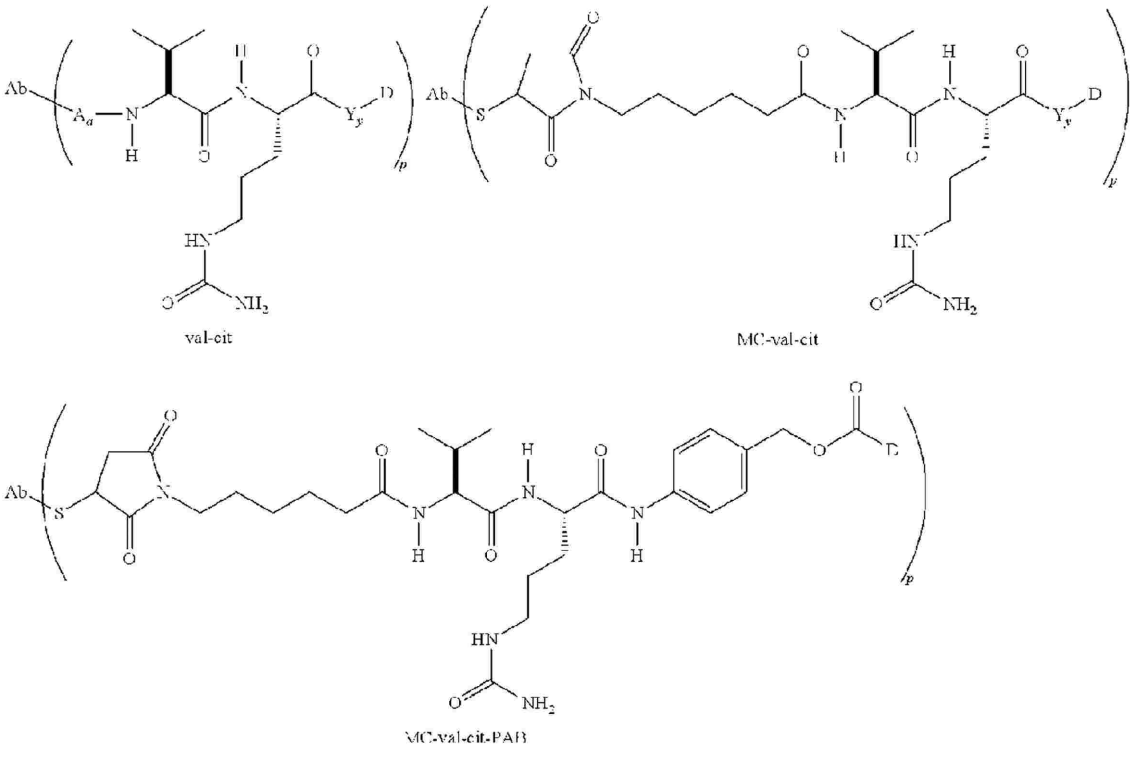
【０２２９】

一部の実施形態において、リンカーＬは、分岐する多官能性リンカー部分を介して２つ以上の薬物部分が抗体に共有結合するための樹状型リンカーであり得る（Ｓｕｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１２，ｐｐ．２２１３－２２１５，２００２；Ｓｕｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ｖｏｌ．１１，ｐｐ．１７６１－１７６８，２００３）。樹状リンカーは、ＡＤＣの効力に関連する薬物と抗体とのモル比、すなわち、負荷を増加させ得る。したがって、抗体が１つのみの反応性システインチオール基を担持する場合、複数の薬物部分が、樹状リンカーを介して付着され得る。

【０２３０】

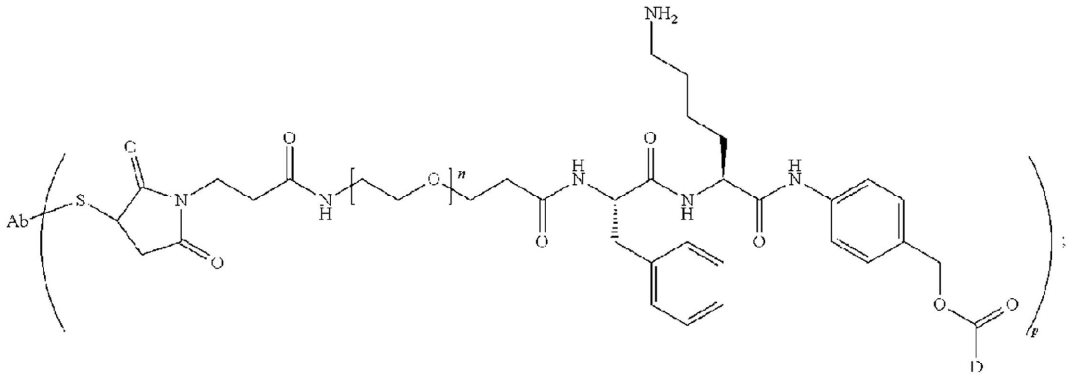
非限定的な例示的リンカーは、式ＩのＡＤＣの関連において以下に示される：

【化４】



（式中、R_1およびR_2は、ＨおよびC_1～C_6アルキルから独立して選択される）。一部の実施形態において、R_1およびR_2は、それぞれ－CH_3である。

【化５】

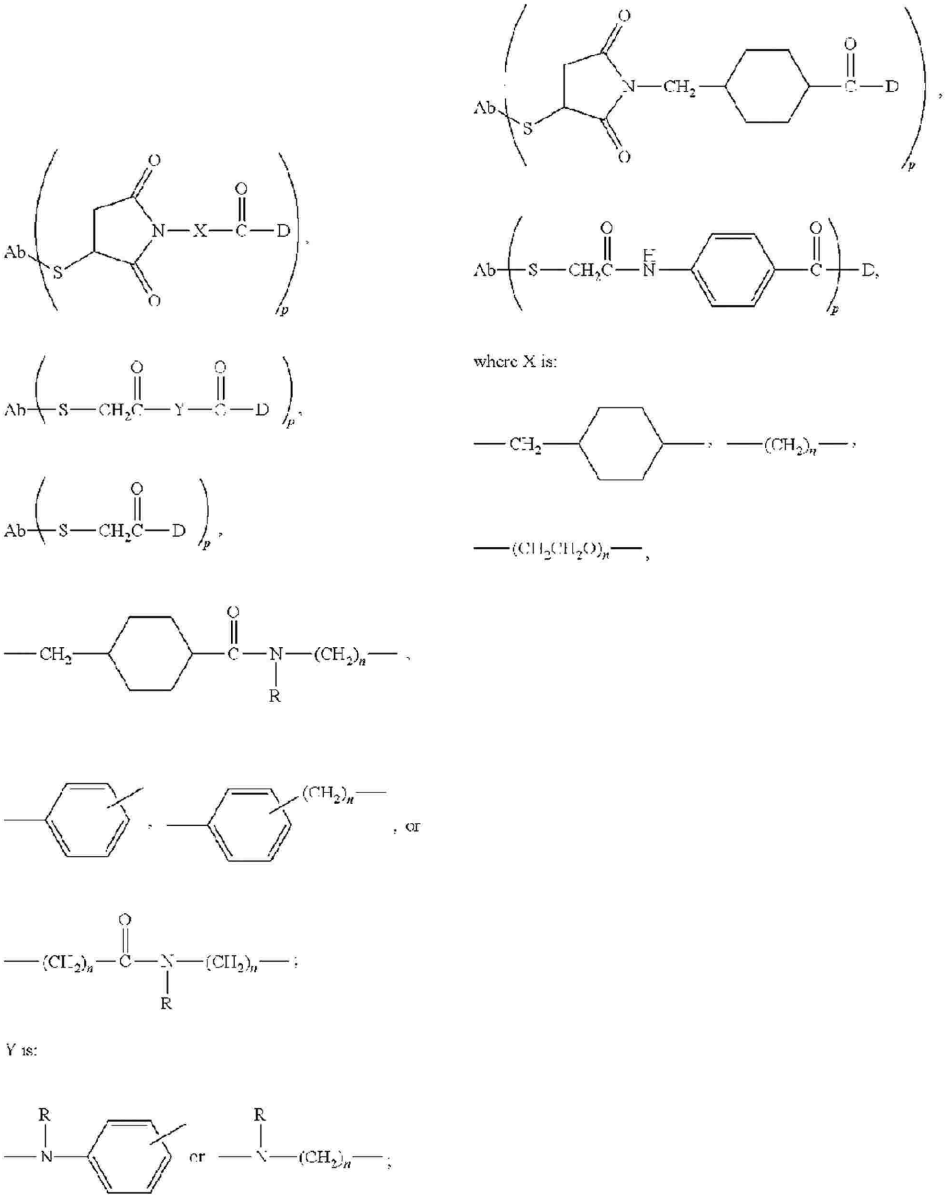


（式中、ｎは、０～１２である）。一部の実施形態において、ｎは、２～１０である。一部の実施形態において、ｎは、４～８である。

【０２３１】

さらなる非限定的な例示的なＡＤＣとしては、構造：

【化６】



それぞれのＲは、独立してＨまたはＣ１～Ｃ６アルキルであり；ｎは、１～１２である）が挙げられる。

【０２３２】

一部の実施形態において、リンカーは、溶解度および／または反応性をモジュレートする基により置換されている。非限定的な例として、荷電置換基、例えば、スルホネート（－ＳＯ３－）またはアンモニウムは、リンカー試薬の水溶性を増加させ、リンカー試薬と抗体および／もしくは薬物部分とのカップリング反応を容易にし得、またはＡＤＣを調製するために用いられる合成経路に応じて、Ａｂ－Ｌ（抗体－リンカー中間体）とＤとのカップリング反応、もしくはＤ－Ｌ（薬物－リンカー中間体）とＡｂとのカップリング反応を容易にし得る。一部の実施形態において、リンカーの一部を抗体にカップリングし、リンカーの一部を薬物にカップリングし、次いでＡｂ－（リンカー部分）^{a}を薬物－（リンカー部分）^{b}にカップリングして式ＩのＡＤＣを形成する。

【０２３３】

本発明の化合物は、限定されるものではないが、以下のリンカー試薬を用いて調製されるＡＤＣを明示的に企図する：ビス－マレイミド－トリオキシエチレングリコール（ＢＭＰＥＯ）、Ｎ－（β－マレイミドプロピルオキシ）－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＢＭＰＳ）、Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スクシンイミドエステル（

ＥＭＣＳ）、Ｎ－［γ－マレイミドブチリルオキシ］スクシンイミドエステル（ＧＭＢＳ）、１，６－ヘキサン－ビス－ビニルスルホン（ＨＢＶＳ）、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシ－（６－アミドカプロエート）（ＬＣ－ＳＭＣＣ）、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＭＢＳ）、４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）酪酸ヒドラジド（ＭＰＢＨ）、スクシンイミジル３－（ブロモアセトアミド）プロピオネート（ＳＢＡＰ）、スクシンイミジルヨードアセテート（ＳＩＡ）、スクシンイミジル（４－ヨードアセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、Ｎ－スクシンイミジル－４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、スクシンイミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）ブチレート（ＳＭＰＢ）、スクシンイミジル６－［（ベータ－マレイミドプロピオンアミド）ヘキサノエート］（ＳＭＰＨ）、イミノチオラン（ＩＴ）、スルホ－ＥＭＣＳ、スルホ－ＧＭＢＳ、スルホ－ＫＭＵＳ、スルホ－ＭＢＳ、スルホ－ＳＩＡＢ、スルホ－ＳＭＣＣ、およびスルホ－ＳＭＰＢ、ならびにスクシンイミジル－（４－ビニルスルホン）ベンゾエート（ＳＶＳＢ）、ならびに例として、ビス－マレイミド試薬：ジチオビスマレイミドエタン（ＤＴＭＥ）、１，４－ビスマレイミドブタン（ＢＭＢ）、１，４ビスマレイミジル－２，３－ジヒドロキシブタン（ＢＭＤＢ）、ビスマレイミドヘキサン（ＢＭＨ）、ビスマレイミドエタン（ＢＭＯＥ）、$BM(PEG)_2$（以下に示される）、および$BM(PEG)_3$（以下に示される）；イミドエステルの二官能性誘導体（例えば、ジメチルアジプイミデートＨＣｌ）、活性エステル（例えば、ジスクシンイミジルスベレート）、アルデヒド（例えば、グルタルアルデヒド）、ビス－アジド化合物（例えば、ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（例えば、ビス－（ｐ－ジアゾニウムンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えば、トルエン２，６－ジイソシアネート）、およびビス活性フッ素化合物（例えば、１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）。一部の実施形態において、ビス－マレイミド試薬は、チオール含有薬物部分、リンカー、またはリンカー－薬物中間体への抗体中のシステインのチオール基の付着を可能にする。チオール基と反応性である他の官能基としては、限定されるものではないが、ヨードアセトアミド、ブロモアセトアミド、ビニルピリジン、ジスルフィド、ピリジルジスルフィド、イソシアネート、およびイソチオシアネートが挙げられる。

【０２３４】

ある有用なリンカー試薬は、種々の商業的供給源、例えば、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，Ｉｌｌ．），Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．（Ｂｏｕｌｄｅｒ，Ｃｏｌｏ．）から入手し、または当分野において、例えば、Ｔｏｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．６７，ｐｐ．１８６６－１８７２，２００２；Ｄｕｂｏｗｃｈｉｋ，ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．３８，ｐｐ．５２５７－６０，１９９７；Ｗａｌｋｅｒ，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．６０，ｐｐ．５３５２－５３５５，１９９５；Ｆｒｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．７，ｐｐ．１８０－１８６，１９９５；米国特許第６，２１４，３４５号明細書；国際公開第０２／０８８１７２号パンフレット；米国特許出願公開第２００３１３０１８９号明細書；米国特許出願公開第２００３０９６７４３号明細書；国際公開第０３／０２６５７７号パンフレット；国際公開第０３／０４３５８３号パンフレット；および国際公開第０４／０３２８２８号パンフレットに記載される手順に従って合成することができる

【０２３５】

炭素－１４標識１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、抗体への放射性ヌクレオチドのコンジュゲーションのための例示的なキレート剤である。例えば、国際公開第９４／１１０２６号パンフレット参照。

【０２３６】

ｂ）例示的な薬物部分
１）メイタンシンおよびメイタンシノイド
一部の実施態様において、免疫コンジュゲートは、１つ以上のメイタンシノイド分子にコンジュゲートしている抗体を含む。メイタンシノイドはメイタンシンの誘導体であり、チューブリン重合を阻害することにより作用する有糸分裂阻害剤である。メイタンシンは、最初、東アフリカ低木のメイテナス・セラタ（Ｍａｙｔｅｎｕｓ　ｓｅｒｒａｔａ）から単離された（米国特許第３８９６１１１号明細書）。続いて、ある微生物もメイタンシノイド、例えば、メイタンシノールおよびＣ－３メイタンシノールエステルを生成することが発見された（米国特許第４１５１０４２号明細書）。合成メイタンシノールおよびその誘導体および類似体は、例えば、米国特許第４，１３７，２３０号明細書；同第４，２４８，８７０号明細書；同第４，２５６，７４６号明細書；同第４，２６０，６０８号明細書；同第４，２６５，８１４号明細書；同第４，２９４，７５７号明細書；同第４，３０７，０１６号明細書；同第４，３０８，２６８号明細書；同第４，３０８，２６９号明細書；同第４，３０９，４２８号明細書；同第４，３１３，９４６号明細書；同第４，３１５，９２９号明細書；同第４，３１７，８２１号明細書；同第４，３２２，３４８号明細書；同第４，３３１，５９８号明細書；同第４，３６１，６５０号明細書；同第４，３６４，８６６号明細書；同第４，４２４，２１９号明細書；同第４，４５０，２５４号明細書；同第４，３６２，６６３号明細書；および同第４，３７１，５３３号明細書に開示されている。
【０２３７】
メイタンシノイド薬物部分は、（ｉ）発酵もしくは化学修飾、または発酵産物の誘導体化により調製することが比較的利用しやすく、（ｉｉ）抗体への非ジスルフィドリンカーを介するコンジュゲーションに好適な官能基による誘導体化に従い、（ｉｉｉ）血漿中で安定であり、（ｉｖ）種々の腫瘍細胞系に対して有効であるため、抗体－薬物コンジュゲートの有力な薬物部分である。
【０２３８】
メイタンシノイド薬物部分としての使用に好適なあるメイタンシノイドは当分野において公知であり、公知の方法に従って天然の供給源から単離することができ、または遺伝子操作技術を使用して産生することができる（例えば、Ｙｕ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ，ｖｏｌ．９９，ｐｐ．７９６８－７９７３，２００２参照）。また、メイタンシノイドは、公知の方法に従って合成により調製することもできる。
【０２３９】
例示的なメイタンシノイド薬物部分としては、限定されるものではないが、修飾芳香環を有するもの、例えば、Ｃ－１９－デクロロ（米国特許第４，２５６，７４６号明細書）（例えば、アンサマイトシンＰ２の水素化アルミニウムリチウム還元により調製される）；Ｃ－２０－ヒドロキシ（またはＣ－２０－デメチル）＋／－Ｃ－１９－デクロロ（米国特許第４，３６１，６５０号明細書および同第４，３０７，０１６号明細書）（例えば、ストレプトミセス属（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）もしくはアクチノミセス属（Ａｃｔｉｎｏｍｙｃｅｓ）を使用する脱メチル化またはＬＡＨを使用する脱塩素により調製される）；およびＣ－２０－デメトキシ、Ｃ－２０－アシロキシ（－ＯＣＯＲ）、＋／－デクロロ（米国特許第４，２９４，７５７号明細書）（例えば、アシル塩化物を使用するアシル化により調製される）、ならびに芳香環の他の位置における修飾を有するものが含まれる。
【０２４０】
例示的なメイタンシノイド薬物部分としては、修飾を有するもの、例えば、Ｃ－９－ＳＨ（米国特許第４，４２４，２１９号明細書）（例えば、メイタンシノールとH_2SまたはP_2S_5との反応により調製される）；Ｃ－１４－アルコキシメチル（デメトキシ／CH_2OR）（米国特許第４，３３１，５９８号明細書）；Ｃ－１４－ヒドロキシメチルまたはアシルオキシメチル（CH_2OHまたはCH_2OAc）（米国特許第４，４５０，２５４号明細書）（例えば、ノカルディア属（Ｎｏｃａｒｄｉａ）から調製）；Ｃ－１５－

ヒドロキシ／アシルオキシ（米国特許第４，３６４，８６６号明細書）（例えば、ストレプトミセス属（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）によるメイタンシノールの変換により調製される）；Ｃ－１５－メトキシ（米国特許第４，３１３，９４６号明細書および同第４，３１５，９２９号明細書）（例えば、トレウィア・ヌドルフローラ（Ｔｒｅｗｉａ　ｎｕｄｌｆｌｏｒａ）から単離される）；Ｃ－１８－Ｎ－デメチル（例えば、米国特許第４，３６２，６６３号明細書および同第４，３２２，３４８号明細書）（ストレプトミセス属（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）によるメイタンシノールの脱メチル化により調製される）；および４，５－デオキシ（米国特許第４，３７１，５３３号明細書）（例えば、メイタンシノールの三塩化チタン／ＬＡＨ還元により調製される）も挙げられる。

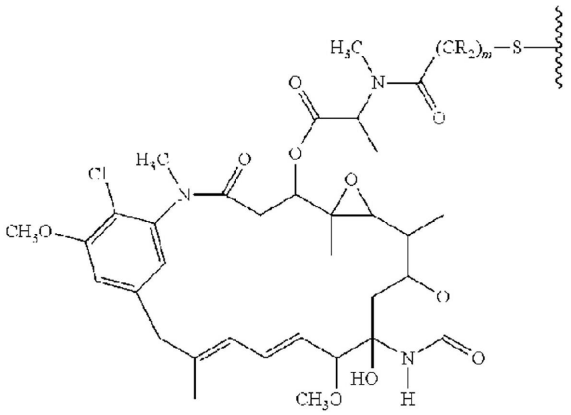
【０２４１】

メイタンシノイド化合物上の多くの位置が結合位置として有用である。例えば、慣用のカップリング技術を使用してヒドロキシル基との反応によりエステル結合を形成することができる。一部の実施形態において、反応は、ヒドロキシル基を有するＣ－３位、ヒドロキシメチルにより修飾されているＣ－１４位、ヒドロキシル基により修飾されているＣ－１５位、およびヒドロキシル基を有するＣ－２０位において生じ得る。一部の実施形態において、結合は、メイタンシノールまたはメイタンシノール類似体のＣ－３位において形成される。

【０２４２】

メイタンシノイド薬物部分としては、以下の構造：

【化７】

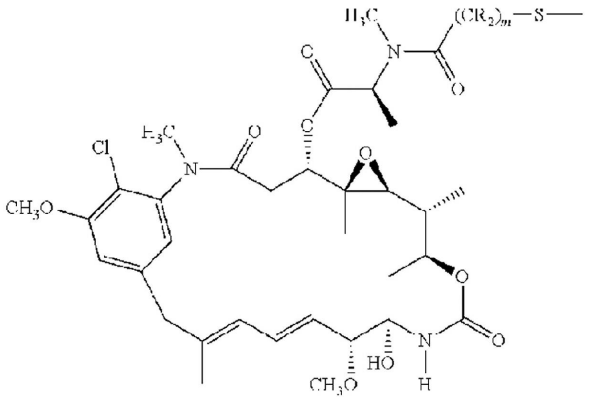


（式中、波線は、ＡＤＣのリンカーへのメイタンシノイド薬物部分の硫黄原子の共有結合を示す）を有するものが挙げられる。それぞれのＲは、独立してＨまたはC_1－C_6アルキルであり得る。アミド基を硫黄原子に付着しているアルキレン鎖は、メタニル、エタニル、またはプロピルであり得、すなわち、ｍは、１、２または３である（米国特許第６３３，４１０号明細書；米国特許第５，２０８，０２０号明細書；Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．５２，ｐｐ．１２７－１３１，１９９２；Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｌｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９３，ｐｐ．８６１８－８６２３，１９９６）。

【０２４３】

メイタンシノイド薬物部分の全ての立体異性体、すなわちキラル炭素におけるＲおよびＳ立体配置の任意の組合せが、本発明のＡＤＣについて企図される（米国特許第７，２７６，４９７号明細書；米国特許第６，９１３，７４８号明細書；米国特許第６，４４１，１６３号明細書；米国特許第６３３，４１０号明細書（ＲＥ３９１５１）；米国特許第５，２０８，０２０号明細書；Ｗｉｄｄｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ（２００６）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４９：４３９２－４４０８）。一部の実施態様様において、メイタンシノイド薬物部分は、以下の立体化学を有する：

【化８】

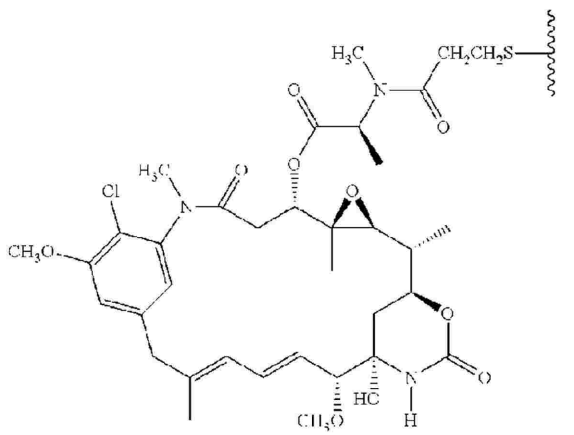


【０２４４】

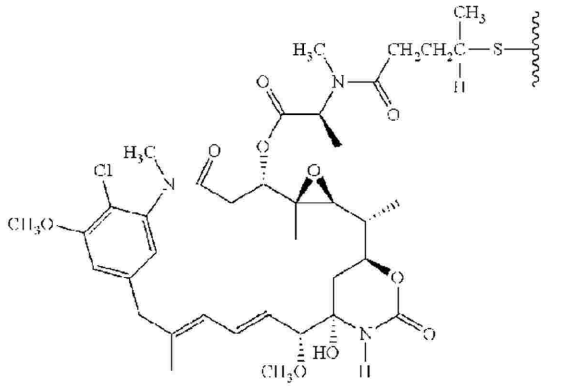
メイタンシノイド薬物部分の例示的な実施態様としては、限定されるものではないが、構造：

【化９】

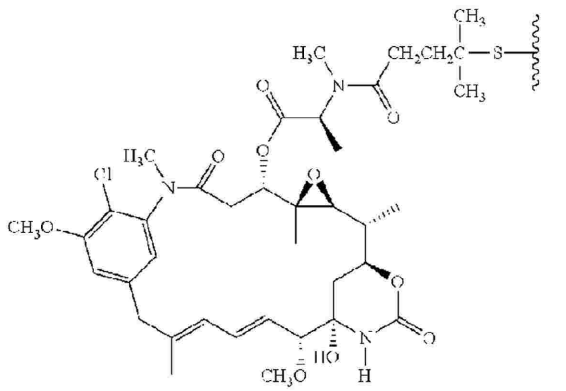
DM1



DM3



DM4

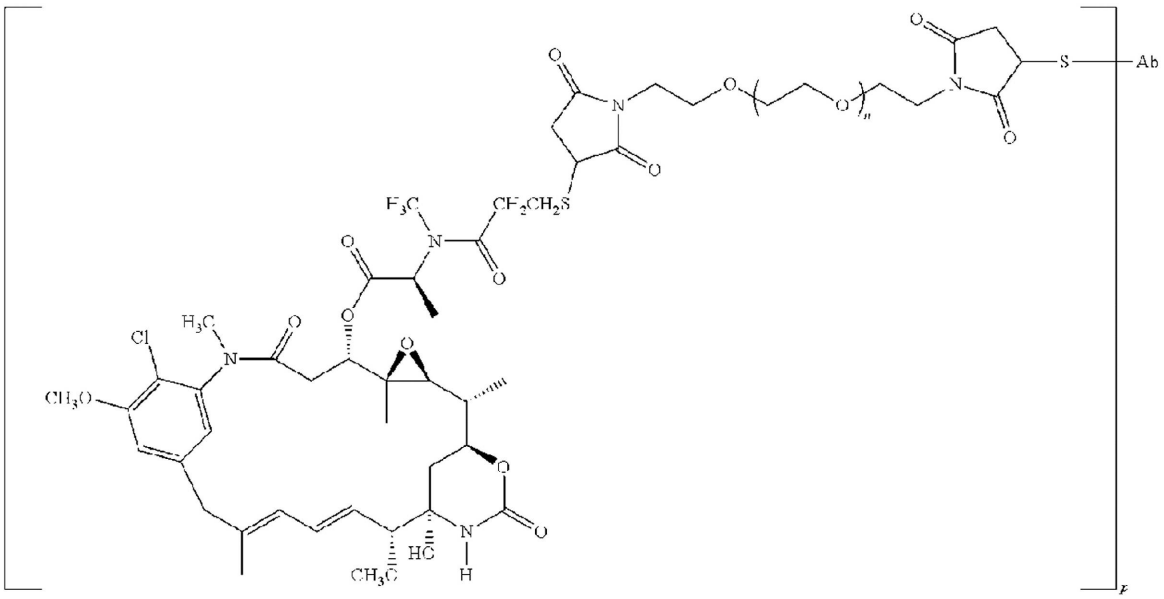


（式中、波線は、抗体－薬物コンジュゲートのリンカー（Ｌ）への薬物の硫黄原子の共有結合を示す）を有するＤＭ１；ＤＭ３およびＤＭ４が挙げられる。

【０２４５】

ＤＭ１が抗体のチオール基にＢＭＰＥＯリンカーを介して結合している例示的な抗体－薬物コンジュゲートは、構造および略記号：

【化１０】



（式中、Ａｂは、抗体であり；ｎは、０、１、または２であり；ｐは、１～約２０である）を有する。一部の実施形態において、ｐは、１～１０であり、ｐは、１～７であり、ｐは、１～５であり、またはｐは、１～４である。

【０２４６】

メイタンシノイドを含有する免疫コンジュゲート、その作製方法およびその治療的使用は、例えば、米国特許第５，２０８，０２０号明細書および同第５，４１６，０６４号明細書；米国特許出願公開第２００５／０２７６８１２Ａ１号明細書；および欧州特許第０４２５２３５Ｂ１号明細書に開示されている。Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９３，ｐｐ．８６１８－８６２３，１９９６；およびＣｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．５２，ｐｐ．１２７－１３１，１９９２も参照。

【０２４７】

一部の実施形態において、抗体－メイタンシノイドコンジュゲートは、抗体の生物学的活性もメイタンシノイド分子の生物学的活性も実質的に縮小させずに、メイタンシノイド分子に抗体を化学的に結合させることにより調製することができる。例えば、米国特許第５，２０８，０２０号明細書参照。一部の実施形態において、抗体分子当たりコンジュゲートしている平均３～４つのメイタンシノイド分子を有するＡＤＣは、抗体の機能にも溶解度にも悪影響を及ぼさずに標的細胞の細胞毒性の向上において効力を示している。一部の例において、毒素／抗体の１つの分子であっても、裸抗体の使用と比べて細胞毒性を向上させることが予測される。

【０２４８】

抗体－メイタンシノイドコンジュゲートを作製するための例示的な結合基としては、例えば、本明細書に記載のものならびに米国特許第５，２０８，０２０号明細書；欧州特許第０４２５２３５Ｂ１号明細書；Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．５２，ｐｐ．１２７－１３１、１９９２；米国特許出願公開第２００５／０２７６８１２Ａ１号明細書；および米国特許出願公開第２００５／０１６９９３Ａ１号明細書に開示のものが挙げられる。

【０２４９】

（２）アウリスタチンおよびドラスタチン

薬物部分としては、ドラスタチン、アウリスタチン、ならびにそれらの類似体および誘導体が挙げられる（米国特許第５，６３５，４８３号明細書；米国特許第５，７８０，５８８号明細書；米国特許第５，７６７，２３７号明細書；米国特許第６，１２４，４３１

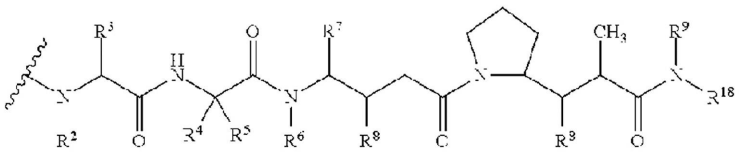
号明細書）。アウリスタチンは、海産軟体動物化合物ドラスタチン－１０の誘導体である。任意の特定の理論により拘束されるものではないが、ドラスタチンおよびアウリスタチンは、微小管ダイナミクス、ＧＴＰ加水分解、ならびに核および細胞分裂（Ｗｏｙｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ ａｎｄ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．，ｖｏｌ．４５，ｐｐ．３５８０－３５８４，２００１）を妨げ、抗癌性（米国特許第５，６６３，１４９号明細書）および抗真菌活性（Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．，ｖｏｌ．４２，ｐｐ．２９６１－２９６５，１９９８）を有することが示されている。ドラスタチン／アウリスタチン薬物部分は、ペプチド性薬物部分のＮ（アミノ）末端またはＣ（カルボキシル）末端を介して抗体に付着させることができる（国際公開第０２／０８８１７２号パンフレット；Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．２１，ｐｐ．７７８－７８４，２００３；Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，ｖｏｌ．１０２，ｐｐ．１４５８－１４６５，２００３）。

【０２５０】

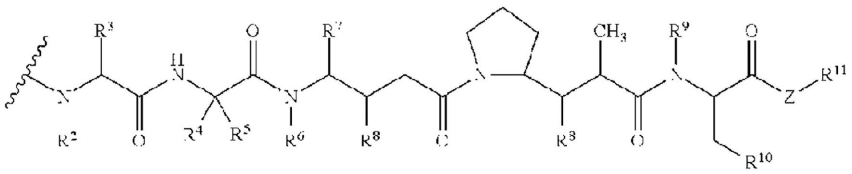
例示的なアウリスタチンの実施態様としては、米国特許第７，４９８，２９８号明細書および米国特許第７，６５９，２４１号明細書に開示のＮ末端結合モノメチルアウリスタチン薬物部分D_EおよびD_Fが挙げられる：

【化１１】

D_E



D_F



（式中、D_EおよびD_Fの波線は、抗体または抗体－リンカー構成成分への共有結合部位を示し、独立してそれぞれの位置において、

R^2は、ＨおよびC_1～C_8アルキルから選択され；

R^3は、Ｈ、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環およびC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され；

R^4は、Ｈ、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環およびC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され；

R^5は、Ｈおよびメチルから選択され；

またはR^4およびR^5は共同で炭素環式環を形成し、式－（CR^aR^b）$_n$－（式中、R^aおよびR^bは、Ｈ、C_1～C_8アルキルおよびC_3～C_8炭素環式化合物から独立して選択され、ｎは、２、３、４、５および６から選択される）を有し；

R^6は、ＨおよびC_1～C_8アルキルから選択され；

R^7は、Ｈ、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環およびC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され；

それぞれのR^8は、Ｈ、ＯＨ、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環およびＯ－（C_1～C_8アルキル）から独立して選択され；

R^9は、ＨおよびC_1～C_8アルキルから選択され；

R^{10}は、アリールまたはC_3～C_8複素環から選択され；

Ｚは、Ｏ、Ｓ、ＮＨ、またはＮＲ^{12}であり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキルであり；
Ｒ^{11}は、Ｈ、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、アリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$複素環、－（Ｒ^{13}Ｏ）$_m$－Ｒ^{14}、または（Ｒ^{13}Ｏ）$_m$－ＣＨ（Ｒ^{15}）$_2$から選択され；
ｍは、１～１０００の範囲の整数であり；
Ｒ^{13}は、Ｃ$_2$～Ｃ$_8$アルキルであり；
Ｒ^{14}は、ＨまたはＣ$_1$～Ｃ$_8$アルキルであり；
ｅのそれぞれの存在は、独立してＨ、ＣＯＯＨ、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｎ（Ｒ^{16}）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_n$－ＳＯ$_3$Ｈ、または（ＣＨ$_2$）$_n$－ＳＯ$_3$－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキルであり；
ｅのそれぞれの存在は、独立してＨ、Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、または（ＣＨ$_2$）$_n$－ＣＯＯＨであり；
Ｒ^{18}は、－Ｃ（Ｒ^8）$_2$－Ｃ（Ｒ^8）$_2$－アリール、－Ｃ（Ｒ^8）$_2$－Ｃ（Ｒ^8）$_2$（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$複素環）、およびＣ（Ｒ^8）$_2$－Ｃ（Ｒ^8）$_2$（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$炭素環）から選択され；
ｎは０～６の範囲の整数である）。

【０２５１】

一実施態様において、Ｒ^3、Ｒ^{4}およびＲ^{7}は、独立してイソプロピルまたはｓｅｃ－ブチルであり、Ｒ^{5}は、－Ｈまたはメチルである。例示的な実施態様において、Ｒ^{3}およびＲ^{4}は、それぞれイソプロピルであり、Ｒ^{5}は、－Ｈであり、Ｒ^{7}は、ｓｅｃ－ブチルである。

【０２５２】

さらに他の実施態様において、Ｒ^{2}およびＲ^{6}は、それぞれメチルであり、Ｒ^{9}は－Ｈである。

【０２５３】

さらに他の実施態様において、Ｒ^{8}のそれぞれの存在は、－ＯＣＨ$_3$である。

【０２５４】

例示的な実施態様において、Ｒ^{3}およびＲ^{4}は、それぞれイソプロピルであり、Ｒ^{2}およびＲ^{6}は、それぞれメチルであり、Ｒ^{5}は、－Ｈであり、Ｒ^{7}は、ｓｅｃ－ブチルであり、Ｒ^{8}のそれぞれの存在は、－ＯＣＨ$_3$であり、Ｒ^{9}は、－Ｈである。

【０２５５】

一実施態様において、Ｚは、－Ｏ－またはＮＨ－である。

【０２５６】

一実施態様において、Ｒ^{10}は、アリールである。

【０２５７】

例示的な実施態様において、Ｒ^{10}は、－フェニルである。

【０２５８】

例示的な実施態様において、Ｚが－Ｏ－である場合、Ｒ^{11}は、－Ｈ、メチルまたはｔ－ブチルである。

【０２５９】

一実施態様において、Ｚが－ＮＨである場合、Ｒ^{11}は、－ＣＨ（Ｒ^{15}）$_2$であり、Ｒ^{15}は、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｎ（Ｒ^{16}）$_2$であり、Ｒ^{16}は、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキルまたは（ＣＨ$_2$）$_n$－ＣＯＯＨである。

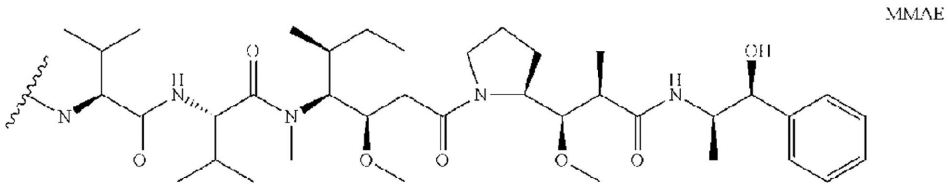
【０２６０】

別の実施態様において、Ｚが－ＮＨである場合、Ｒ^{11}は、－ＣＨ（Ｒ^{15}）$_2$であり、Ｒ^{15}は、－（ＣＨ$_2$）$_n$－ＳＯ$_3$Ｈである。

【０２６１】

式Ｄ$_E$の例示的なアウリスタチンの実施態様はＭＭＡＥであり、式中、波線は、抗体－薬物コンジュゲートのリンカー（Ｌ）への共有結合を示す：

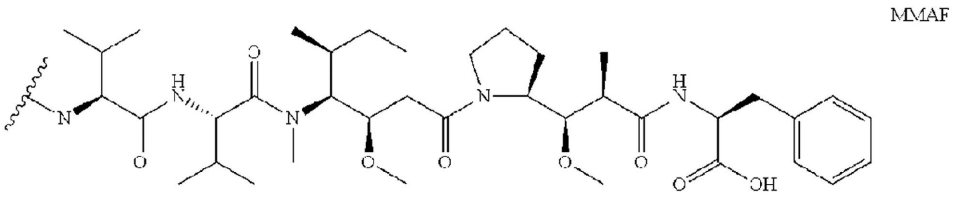
【化１２】



【０２６２】

式D_Eの例示的なアウリスタチンの実施態様はＭＭＡＥであり、式中、波線は、抗体－薬物コンジュゲートのリンカー（Ｌ）への共有結合を示す：

【化１３】



【０２６３】

他の例示的な実施態様としては、ペンタペプチドアウリスタチン薬物部分のＣ末端におけるフェニルアラニンカルボキシ修飾を有するモノメチルバリン化合物（国際公開第２００７／００８８４８号パンフレット）およびペンタペプチドアウリスタチン薬物部分のＣ末端におけるフェニルアラニン側鎖修飾を有するモノメチルバリン化合物（国際公開第２００７／００８６０３号パンフレット）が挙げられる。

【０２６４】

ＭＭＡＦおよび種々のリンカー構成成分を含む式ＩのＡＤＣの非限定的な例示的な実施態様としては、Ａｂ－ＭＣ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦおよびＡｂ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦも挙げられる。タンパク質分解により切断可能でないリンカーにより抗体に付着しているＭＭＡＦを含む免疫コンジュゲートは、タンパク質分解により切断可能なリンカーにより抗体に付着しているＭＭＡＦを含む免疫コンジュゲートと同等の活性を保有することが示されている（Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１７，ｐｐ．１１４－１２４，２００６参照）。一部のこのような実施形態において、薬物放出は細胞中の抗体分解に影響されると考えられる。

【０２６５】

典型的には、ペプチドベースの薬物部分は、２つ以上のアミノ酸および／またはペプチド断片間でペプチド結合を形成することにより調製することができる。このようなペプチド結合は、例えば、ペプチド化学の分野において周知の液相合成法に従って調製することができる（例えば、Ｅ．Ｓｃｈｒｏｅｄｅｒ ａｎｄ Ｋ．Ｌｕｅｂｋｅ，“Ｔｈｅ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ”，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐｐ ７６－１３６，１９６５，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ参照）。アウリスタチン／ドラスタチン薬物部分は、一部の実施形態において、米国特許第７，４９８，２９８号明細書；米国特許第５，６３５，４８３号明細書；米国特許第５，７８０，５８８号明細書；Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，ｖｏｌ．１１１，ｐｐ．５４６３－５４６５，１９９８；Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．２４３－２７７，１９９８；Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，ｖｏｌ．６，ｐｐ．７１９－７２５，１９９６；Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｐｅｒｋｉｎ Ｔｒａｎｓ．ｖｏｌ．１５，ｐｐ．８５９－８６３，１９９６；およびＤｏｒｏｎｉｎａ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，ｖｏｌ．２１，ｐｐ．７７８－７８４，２００３の方法に従って調製することができる。

【０２６６】

一部の実施形態において、式D_Eのアウリスタチン／ドラスタチン薬物部分、例えば、

ＭＭＡＥ、およびＤＥ、例えば、ＭＭＡＦ、ならびにそれらの薬物－リンカー中間体および誘導体、例えば、ＭＣ－ＭＭＡＦ、ＭＣ－ＭＭＡＥ、ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦ、およびＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥは、米国特許第７，４９８，２９８号明細書；Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１７，ｐｐ．１１４－１２４，２００６；およびＤｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．，ｖｏｌ．２１，ｐｐ．７７８－７８４，２００３に記載の方法を使用して調製し、次いで目的の抗体にコンジュゲートさせることができる。

【０２６７】

（３）カリケアマイシン

一部の実施態様において、免疫コンジュゲートは、１つ以上のカリケアマイシン分子にコンジュゲートしている抗体または抗体断片を含む。抗生物質のカリケアマイシンファミリー、およびそれらの類似体は、サブピコモル濃度において二本鎖ＤＮＡ分解を産生し得る（Ｈｉｎｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．５３，ｐｐ．３３３６－３３４２，１９９３；Ｌｏｄｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．５８，ｐｐ．２９２５－２９２８，１９９８）。カリケアマイシンは、細胞内作用部位を有するが、ある例において、細胞膜を容易に通過しない。したがって、抗体媒介内在化を介するこれらの薬剤の細胞取り込みは、一部の実施形態において、それらの細胞毒性効果を大きく向上させ得る。カリケアマイシン薬物部分を有する抗体－薬物コンジュゲートを調製する非限定的な例示的方法は、例えば、米国特許第５，７１２，３７４号明細書；米国特許第５，７１４，５８６号明細書；米国特許第５，７３９，１１６号明細書；および米国特許第５，７６７，２８５号明細書に記載されている。

【０２６８】

（４）ピロロベンゾジアゼピン

一部の実施形態において、ＡＤＣは、ピロロベンゾジアゼピン（ＰＢＤ）を含む。一部の実施形態において、ＰＤＢ二量体は特異的ＤＮＡ配列を認識し、それに結合する。天然産物アントラマイシンであるＰＢＤは、１９６５年に最初に報告された（Ｌｅｉｍｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，ｖｏｌ．８７，ｐｐ．５７９３－５７９５，１９６５；Ｌｅｉｍｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，ｖｏｌ．８７，ｐｐ．５７９１－５７９３，１９６５）。それ以降、天然存在および類似体の両方の多数のＰＢＤが報告されており（Ｔｈｕｒｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．ｖｏｌ．１９９４，ｐｐ．４３３－４６５ １９９４）、それらとしては、三環式ＰＢＤ足場の二量体（米国特許第６，８８４，７９９号明細書；米国特許第７，０４９，３１１号明細書；米国特許第７，０６７，５１１号明細書；米国特許第７，２６５，１０５号明細書；米国特許第７，５１１，０３２号明細書；米国特許第７，５２８，１２６号明細書；米国特許第７，５５７，０９９号明細書）が挙げられる。いかなる特定の理論にも拘束されるものではないが、二量体構造が、Ｂ型ＤＮＡの副溝との等螺旋性（ｉｓｏｈｅｌｉｃｉｔｙ）に適切な三次元形状を付与し、結合部位における滑合をもたらすと考えられる（Ｋｏｈｎ，Ｉｎ Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ ＩＩＩ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．３－１１（１９７５）；Ｈｕｒｌｅｙ ａｎｄ Ｎｅｅｄｈａｍ－ＶａｎＤｅｖａｎｔｅｒ，Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．１９，ｐｐ．２３０－２３７，１９８６）。Ｃ２アリール置換基を担持する二量体ＰＢＤ化合物は、細胞毒性剤として有用であることが示されている（Ｈａｒｔｌｅｙ ｅｔ ａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．７０，ｐｐ．６８４９－６８５８，２０１０；Ａｎｔｏｎｏｗ，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．ｖｏｌ．５３，ｐｐ．２９２７－２９４１，２０１０；Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ａｎｄ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１９，ｐｐ．６４６３－６４６６，２００９）。

【０２６９】

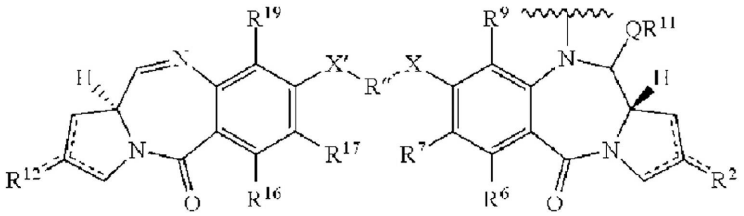
ＰＢＤ二量体は抗体にコンジュゲートされており、得られるＡＤＣは、抗癌特性を有することが示されている。非限定的な例示的なＰＢＤ二量体上の結合部位としては、５員ピロロ環、ＰＢＤ単位の間のテザー、およびＮ１０－Ｃ１１イミン基が挙げられる（国際公

開第２００９／０１６５１６号パンフレット；米国特許出願公開第２００９／３０４７１０号明細書；米国特許出願公開第２０１０／０４７２５７号明細書；米国特許出願公開第２００９／０３６４３１号明細書；米国特許出願公開第２０１１／０２５６１５７号明細書；国際公開第２０１１／１３０５９８号パンフレット）。

【０２７０】

非限定的な例示的ＡＤＣのＰＢＤ二量体構成成分は：

【化１４】



のもの、ならびにその塩および溶媒和物（式中、
波線は、リンカーへの共有結合部位を示し；
点線は、Ｃ１とＣ２との間またはＣ２とＣ３との間の二重結合の任意選択の存在を示し；
R^2は、Ｈ、ＯＨ、＝Ｏ、＝CH_2、ＣＮ、Ｒ、ＯＲ、＝ＣＨ－R^D、＝Ｃ（R^D）$_2$、Ｏ－SO_2－Ｒ、CO_2ＲおよびＣＯＲから独立して選択され、場合により、ハロまたはジハロからさらに選択され、R^Dは、Ｒ、CO_2Ｒ、ＣＯＲ、ＣＨＯ、CO_2Ｈ、およびハロから独立して選択され；
R^6およびR^9は、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ’、NO_2、Me_3Snおよびハロから独立して選択され；
R^7は、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ’、NO_2、Me_3Snおよびハロから独立して選択され；
Ｑは、Ｏ、Ｓ、およびＮＨから独立して選択され、
R^{11}は、ＨもしくはＲのいずれかであり、またはＱがＯである場合、SO_3Ｍであり、
Ｍは、金属陽イオンであり；
ＲおよびＲ’は、場合により置換されている$C_{1\sim8}$アルキル、$C_{1\sim12}$アルキル、$C_{3\sim8}$ヘテロシクリル、$C_{3\sim20}$複素環、および$C_{5\sim20}$アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合により、基ＮＲＲ’との関連で、ＲおよびＲ’は、それらが付着している窒素原子と一緒になって、場合により置換されている４、５、６、または７員複素環式環を形成し；
R^{12}、R^{16}、R^{19}、およびR^{17}は、それぞれR^2、R^6、R^9、およびR^7について定義されるとおりであり、
Ｒ’’は、$C_{1\sim12}$アルキレン基であり、その鎖は、１つ以上のヘテロ原子、例えば、Ｏ、Ｓ、Ｎ（Ｈ）、ＮＭｅ、および／または芳香環、例えば、ベンゼンまたはピリジンにより中断されていてよく、それらの環は、場合により置換されており；
ＸおよびＸ’は、Ｏ、Ｓ、およびＮ（Ｈ）から独立して選択される）である。

【０２７１】

一部の実施形態において、ＲおよびＲ’は、場合により置換されている$C_{1\sim12}$アルキル、$C_{3\sim20}$複素環、および$C_{5\sim20}$アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合により、基ＮＲＲ’との関連で、ＲおよびＲ’は、それらが付着している窒素原子と一緒になって、場合により置換されている４、５、６、または７員複素環式環を形成する。一部の実施形態において、R^9およびR^{19}は、Ｈである。一部の実施形態において、R^6およびR^{16}は、Ｈである。

【０２７２】

一部の実施形態において、R^7およびR^{17}は両方とも、OR^{7A}であり、R^{7A}は、場合により置換されている$C_{1\sim4}$アルキルである。一部の実施形態において、R^{7A}は、Ｍｅである。一部の実施形態において、R^{7A}は、Ch_2Phであり、Ｐｈは、フェニ

ル基である。一部の実施形態において、Ｘは、Ｏである。一部の実施形態において、Ｒ^{11}は、Ｈである。一部の実施形態において、それぞれの単量体単位中のＣ２とＣ３との間に二重結合が存在する。

【０２７３】

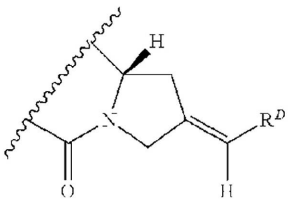
一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、ＨおよびＲから独立して選択される。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、独立してＲである。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、独立して、場合により置換されているＣ$_{5}$～$_{20}$アリールまたはＣ$_{5}$～$_{7}$アリールまたはＣ$_{8}$～$_{10}$アリールである。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、独立して、場合により置換されているフェニル、チエニル、ナフチル、ピリジル、キノリニル、またはイソキノリニルである。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、＝Ｏ、＝ＣＨ$_{2}$、＝ＣＨ－Ｒ^{D}、および＝Ｃ（Ｒ^{D}）$_{2}$から独立して選択される。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、それぞれ＝ＣＨ$_{2}$である。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、それぞれＨである。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、それぞれ＝Ｏである。一部の実施形態において、Ｒ^{2}およびＲ^{12}は、それぞれ＝ＣＦ$_{2}$である。一部の実施形態において、Ｒ^{2}および／またはＲ^{12}は、独立して＝Ｃ（Ｒ^{D}）$_{2}$である。一部の実施形態において、Ｒ^{2}および／またはＲ^{12}は、独立して＝ＣＨ－Ｒ^{D}である。

【０２７４】

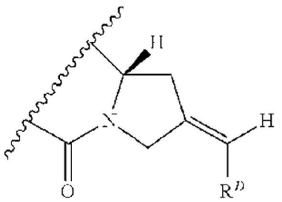
一部の実施形態において、Ｒ^{2}および／またはＲ^{12}が＝ＣＨ－Ｒ^{D}である場合、それぞれの基は、独立して、以下に示される立体配置のいずれかを有し得る：

【化１５】

(I)



(II)



一部の実施形態において、＝ＣＨ－Ｒ^{D}は、立体配置（Ｉ）である。一部の実施形態において、Ｒ’’は、$_{3}$Ｃアルキレン基またはＣ$_{5}$アルキレン基である。

【０２７５】

ＰＢＤ二量体－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＡｂおよびＰＢＤ二量体－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ－ＰＡＢ－Ａｂのリンカーは、プロテアーゼ切断可能である一方、ＰＢＤ二量体－マレイミド－アセタールのリンカーは、酸不安定性である。

【０２７６】

ＰＢＤ二量体およびＰＢＤ二量体を含むＡＤＣは、当分野において公知の方法に従って調製することができる。例えば、国際公開第２００９／０１６５１６号パンフレット；米国特許出願公開第２００９／３０４７１０号明細書；米国特許出願公開第２０１０／０４７２５７号明細書；米国特許出願公開第２００９／０３６４３１号明細書；米国特許出願公開第２０１１／０２５６１５７号明細書；国際公開第２０１１／１３０５９８号パンフレット参照。

【０２７７】

５）アントラサイクリン

一部の実施形態において、ＡＤＣは、アントラサイクリンを含み得る。アントラサイク

リンは、細胞毒性活性を示す抗生物質化合物である。いかなる特定の理論によっても拘束されるものではないが、研究は、アントラサイクリンが多数の異なる機序、例として、１）細胞のＤＮＡ中への薬物分子のインターカレーションと、それによるＤＮＡ依存的核酸合成の阻害；２）次に細胞巨大分子と反応して細胞への損傷を引き起こすフリーラジカルの薬物による産生、および／または３）薬物分子と細胞膜との相互作用により細胞を殺傷するように機能し得ることを示している（例えば、Ｃ．Ｐｅｔｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｔｒａｎｓｐｏｒｔ Ａｎｄ Ｓｔｏｒａｇｅ Ｏｆ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ Ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｌｅｕｋｅｍｉａ”ｉｎ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ；Ｎ．Ｒ．Ｂａｃｈｕｒ，“Ｆｒｅｅ Ｒａｄｉｃａｌ Ｄａｍａｇｅ”ｉｄ．ａｔ ｐｐ．９７－１０２参照）。アントラサイクリンは、その細胞毒性潜在性のため、多数の癌、例として、白血病、乳癌、肺癌、卵巣腺癌、および肉腫の治療において使用されている（例えば、Ｐ．Ｈ－Ｗｉｅｒｎｉｋ，ｉｎ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ：Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｓｔａｔｕｓ Ａｎｄ Ｎｅｗ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｐ１１参照）。

【０２７８】

非限定的な例示的なアントラサイクリンとしては、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ダウノマイシン、ネモルビシン、およびそれらの誘導体が挙げられる。ダウノルビシンおよびドキソルビシンの免疫コンジュゲートおよびプロドラッグが調製され、研究されている（Ｋｒａｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．４７７－５２３，２００６；Ｊｅｆｆｒｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１６，ｐｐ．３５８－３６２．１９９６；Ｔｏｒｇｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１６，ｐｐ．７１７－７２１，２００５；Ｎａｇｙ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，ｖｏｌ．９７，ｐｐ．８２９－８３４，２０００；Ｄｕｂｏｗｃｈｉｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１２，ｐｐ．１５２９－１５３２，２００２；Ｋｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．４５，ｐｐ．４３３６－４３４３，２００２；欧州特許第０３２８１４７号明細書；米国特許第６，６３０，５７９号明細書）。抗体－薬物コンジュゲートＢＲ９６－ドキソルビシンは、腫瘍関連抗原ルイス－Ｙと特異的に反応し、第Ｉ相および第ＩＩ相試験において評価されている（Ｓａｌｅｈ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．１８，ｐｐ．２２８２－２２９２，２０００；Ａｊａｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｊｏｕｒ．，ｖｏｌ．６，ｐｐ．７８－８１，２０００；Ｔｏｌｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．１７，ｐｐ．４７８－４８４，１９９９）。

【０２７９】

ＰＮＵ－１５９６８２は、ネモルビシンの強力な代謝産物（または誘導体）である（Ｑｕｉｎｔｉｅｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．１１，ｐｐ．１６０８－１６１７，２００５）。ネモルビシンは、ドキソルビシンのグリコシドアミノ上の２－メトキシモルホリノ基を有するドキソルビシンの半合成類似体であり、臨床評価中であり（Ｇｒａｎｄｉ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｅａｔ．Ｒｅｖ．ｖｏｌ．１７，ｐｐ．１３３－１３８，１９９０；Ｒｉｐａｍｏｎｔｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｒｉｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，ｖｏｌ．６５，ｐｐ．７０３－７０７，１９９２）、例としては、第ＩＩ相／第ＩＩＩ相治験が挙げられる（Ｓｕｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｆｏｒ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．２２，Ａｂｓ１４４８，２００３；Ｑｕｉｎｔｉｅｒｉ，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｖｏｌ．４４：１ｓｔ Ｅｄ，Ａｂｓ ４６４９，２００３；Ｐａｃｃｉａｒｉｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．２４，ｐ．１４１１６，２００６）。

【０２８０】

アントラサイクリン、例として、ＰＮＵ－１５９６８２は、いくつかの結合部位、および種々のリンカー（米国特許出願公開第２０１１／００７６２８７号明細書；国際公開第２００９／０９９７４１号パンフレット；米国特許出願公開第２０１０／００３４８３７号明細書；国際公開第２０１０／００９１２４号パンフレット）、例として、本明細書に記載のリンカーを介して抗体にコンジュゲートさせることができる。

【０２８１】

ＰＮＵ－１５９６８２マレイミドアセタール－Ａｂのリンカーは酸不安定性である一方、ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー－Ａｂ、およびＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー（Ｒ^{1}Ｒ^{2}）－Ａｂのリンカーは、プロテアーゼ切断可能である。

【０２８２】

（６）他の薬物部分

薬物部分としては、ゲルダナマイシン（Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎａｔ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．，ｖｏｌ．９２，ｐｐ．１５７３－１５８１，２０００；Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ，ｖｏｌ．１０，ｐｐ．１０２５－１０２８，２０００；Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．１３，ｐｐ．７８６－７９１，２００２）；ならびに酵素活性毒素およびその断片、例として、限定されるものではないが、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）からのもの）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、アルファ－サルシン、シナアブラギリ（Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ ｆｏｒｄｉｉ）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Ｐｈｙｔｏｌａｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａ）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、およびＰＡＰ－Ｓ）、ニガウリ（ｍｏｍｏｒｄｉｃａ ｃｈａｒａｎｔｉａ）阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ（ｓａｐａｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、およびトリコテセンも挙げられる。例えば、国際公開第９３／２１２３２号パンフレット参照。

【０２８３】

薬物部分としては、核酸分解活性を有する化合物（例えば、リボヌクレアーゼまたはＤＮＡエンドヌクレアーゼ）も挙げられる。

【０２８４】

ある実施形態において、免疫コンジュゲートは、高放射性の原子を含み得る。種々の放射性同位体が放射性コンジュゲート抗体の産生に利用可能である。例としては、Ａｔ^{211}、Ｉ^{131}、Ｉ^{125}、Ｙ^{90}、Ｒｅ^{186}、Ｒｅ^{188}、Ｓｍ^{153}、Ｂｉ^{212}、Ｐ^{32}、Ｐｂ^{212}、およびＬｕの放射性同位体が挙げられる。一部の実施形態において、免疫コンジュゲートを検出に使用する場合、それは、シンチグラフィー試験のための放射性原子、例えば、Ｔｃ^{99}もしくはＩ^{123}、または核磁気共鳴（ＮＭＲ）イメージング（磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）としても公知）用のスピン標識、例えば、ジルコニウム－８９、ヨウ素－１２３、ヨウ素－１３１、インジウム－１１１、フッ素－１９、炭素－１３、窒素－１５、酸素－１７、ガドリニウム、マンガンまたは鉄を含み得る。例えば、ＰＥＴイメージングのためにジルコニウム－８９を種々の金属キレート剤に錯化させ、抗体にコンジュゲートさせることができる（国際公開第２０１１／０５６９８３号パンフレット）。

【０２８５】

放射標識または他の標識は、公知の手法で免疫コンジュゲートに取り込むことができる。例えば、ペプチドは、例えば、１つ以上のフッ素－１９原子を１つ以上の水素の代わりに含む好適なアミノ酸前駆体を使用して生合成または化学合成することができる。一部の実施形態において、標識、例えば、Ｔｃ^{99}、Ｉ^{123}、Ｒｅ^{186}、Ｒｅ^{188}、およびＩｎ^{111}を、抗体中のシステイン残基を介して付着させることができる。一部の実施形態において、イットリウム－９０は、抗体のリジン残基を介して付着させることができる

。一部の実施形態において、ＩＯＤＯＧＥＮ法（Ｆｒａｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．，ｖｏｌ．８０，ｐｐ．４９－５７，１９７８）を使用してヨウ素－１２３を取り込むことができる。“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｓｃｉｎｔｉｇｒａｐｈｙ”（Ｃｈａｔａｌ，ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ　１９８９）は、ある他の方法を記載している。

【０２８６】

ある実施形態において、免疫コンジュゲートは、プロドラッグ活性化酵素にコンジュゲートしている抗体を含み得る。一部のこのような実施形態において、プロドラッグ活性化酵素は、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、国際公開第８１／０１１４５号パンフレット参照）を活性薬物、例えば、抗癌薬に変換する。このような免疫コンジュゲートは、一部の実施形態において、抗体依存的酵素媒介性プロドラッグ療法（「ＡＤＥＰＴ」）において有用である。抗体にコンジュゲートさせることができる酵素としては、限定されるものではないが、ホスフェート含有プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なアルカリホスファターゼ；スルフェート含有プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なアリールスルファターゼ；非毒性５－フルオロシトシンを抗癌薬５－フルオロウラシルに変換するために有用なシトシンデアミナーゼ；ペプチド含有プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なプロテアーゼ、例えば、セラチアプロテアーゼ、テルモシン、サブチリシン、カルボキシペプチダーゼ、およびカテプシン（例えば、カテプシンＢおよびＬ）；Ｄ－アミノ酸置換基を含有するプロドラッグを変換するために有用なＤ－アラニルカルボキシペプチダーゼ；グリコシル化プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用な炭水化物切断酵素、例えば、β－ガラクトシダーゼおよびノイラミニダーゼ；β－ラクタムにより誘導体化されている薬物を遊離薬物に変換するために有用なβ－ラクタマーゼ；ならびにアミン窒素においてフェノキシアセチルまたはフェニルアセチル基によりそれぞれ誘導体化されている薬物を遊離薬物に変換するために有用なペニシリンアミダーゼ、例えば、ペニシリンＶアミダーゼおよびペニシリンＧアミダーゼが挙げられる。一部の実施形態において、酵素は、当分野において周知の組換えＤＮＡ技術により抗体に共有結合させることができる。例えば、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．３１２，ｐｐ．６０４－６０８，１９８４参照。

【０２８７】

ｃ）薬物負荷

薬物負荷は、式Ｉの分子における抗体当たりの薬物部分の平均数ｐにより表される。薬物負荷は、抗体当たり１～２０個の薬物部分（Ｄ）の範囲であり得る。式ＩのＡＤＣは、１～２０個の範囲の薬物部分とコンジュゲートしている抗体の集団を含む。コンジュゲーション反応からのＡＤＣ調製において使用される抗体当たりの薬物部分の平均数は、慣用の手段、例えば、質量分析、ＥＬＩＳＡアッセイ、およびＨＰＬＣにより特徴付けすることができる。また、ｐの単位でのＡＤＣの定量分布を測定することもできる。一部の例において、ｐがある値である同種ＡＤＣを、他の薬物負荷を有するＡＤＣから分離し、精製し、特徴付けることは、逆相ＨＰＬＣまたは電気泳動のような手段により達成することができる。

【０２８８】

一部の抗体－薬物コンジュゲートについて、ｐは、抗体上の付着部位の数により限定され得る。例えば、上記のある例示的な実施形態のように付着がシステインチオールである場合、抗体は、１つのみもしくは数個のシステインチオール基を有し得、または１つのみもしくは数個の反応性が十分なチオール基を有し得、それらによりリンカーを付着させることができる。ある実施形態において、薬物負荷がより高くなると、例えば、ｐ＞５になると、ある抗体－薬物コンジュゲートの凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の損失を引き起こし得る。ある実施形態において、ＡＤＣについての平均薬物負荷は、１～約８；約２～約６；または約３～約５の範囲である。実際、あるＡＤＣについて、抗体当たりの薬物部分の最適な比は、８未満であり得、約２～約５であり得ることが示されている（米国特許第７，４９８，２９８号明細書）。

【０２８９】
ある実施形態において、理論上の最大数よりも少ない薬物部分を、コンジュゲーション反応の間に抗体にコンジュゲートさせる。抗体は、以下に考察されるとおり、例えば、薬物－リンカー中間体ともリンカー試薬とも反応しないリジン残基を含有し得る。一般に、抗体は、薬物部分に結合され得る多くの遊離および反応性システインチオール基を含有せず；実際、抗体中のほとんどのシステインチオール残基は、ジスルフィド架橋として存在する。ある実施形態において、抗体は、還元剤、例えば、ジチオトレイトール（ＤＴＴ）またはトリカルボニルエチルホスフィン（ＴＣＥＰ）により部分または完全還元条件下で還元して反応性システインチオール基を生成することができる。ある実施形態において、抗体を変性条件に供して反応性求核基、例えば、リジンまたはシステインを明らかにする。

【０２９０】
ＡＤＣの負荷（薬物／抗体比）は、様々な手法で、例えば、（ｉ）抗体に対してモル過剰の薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬の限定、（ｉｉ）コンジュゲーション反応時間または温度の限定、および（ｉｉｉ）システインチオール修飾のための部分または限定的還元条件により制御することができる。

【０２９１】
２つ以上の求核基が薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬と反応する場合、得られる生成物は、抗体に付着している１つ以上の薬物部分の分布を有するＡＤＣの混合物であることが理解される。抗体当たりの薬物の平均数は、抗体に特異的であり、薬物に特異的である二重ＥＬＩＳＡ抗体アッセイにより混合物から算出することができる。個々のＡＤＣは、質量分析法により混合物中で同定し、ＨＰＬＣ、例えば、疎水性相互作用クロマトグラフィーにより分離することができる（例えば、ＭｃＤｏｎａｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔ．Ｅｎｇｒ．Ｄｅｓｉｇｎ　＆　Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ，　ｖｏｌ．１９，ｐｐ．２９９－３０７，２００６；Ｈａｍｂｌｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．，ｖｏｌ．１０，ｐｐ．７０６３－７０７０，２００４参照）。ある実施形態において、単一の負荷値を有する同種ＡＤＣを、電気泳動またはクロマトグラフィーによりコンジュゲーション混合物から単離することができる。

【０２９２】
ｄ）免疫コンジュゲートを調製するある方法　式ＩのＡＤＣである免疫コンジュゲートは、当業者に公知の有機化学反応、条件、および試薬を用いるいくつかの経路、例として、（１）抗体の求核基を二価リンカー試薬と反応させて共有結合を介してＡｂ－Ｌを形成し、次いで薬物部分Ｄと反応させることと；ならびに（２）薬物部分の求核基を二価リンカー試薬と反応させて共有結合を介してＤ－Ｌを形成し、次いで抗体の求核基と反応させることにより調製することができる。後者の経路を介して式ＩのＡＤＣを調製する例示的な方法は、米国特許第７，４９８，２９８号明細書に記載されている。

【０２９３】
抗体上の求核基としては、限定されるものではないが、（ｉ）Ｎ末端アミン基、（ｉｉ）側鎖アミン基、例えば、リジン、（ｉｉｉ）側鎖チオール基、例えば、システイン、および（ｉｖ）抗体がグリコシル化される糖ヒドロキシルまたはアミノ基が挙げられる。アミン、チオール、およびヒドロキシル基は求核性であり、リンカー部分およびリンカー試薬上の求電子基、例として、（ｉ）活性エステル、例えば、ＮＨＳエステル、ＨＯＢｔエステル、ハロホルメート、および酸ハロゲン化物；（ｉｉ）アルキルおよびベンジルハロゲン化物、例えば、ハロアセトアミド；ならびに（ｉｉｉ）アルデヒド、ケトン、カルボキシル、およびマレイミド基と反応して共有結合を形成し得る。ある抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、抗体が完全にまたは部分的に還元されるように、還元剤、例えば、ＤＴＴ（ジチオトレイトール）またはトリカルボニルエチルホスフィン（ＴＣＥＰ）による処理によりリンカー試薬とのコンジュゲーションに対して反応性とすることができる。したがって、それぞれのシステイン架橋は、理論上、２つの反応性チオール求核剤を形成する。追加の求核基は、リジン残基の修飾を介

して、例えば、リジン残基を２－イミノチオラン（Ｔｒａｕｔ試薬）と反応させてアミンをチオールに変換させることにより抗体中に導入することができる。反応性チオール基も、１、２、３、４つ以上のシステイン残基を導入することにより（例えば、１つ以上の非天然システインアミノ酸残基を含むバリアント抗体を調製することにより）抗体中に導入することができる。

【０２９４】

本発明の抗体－薬物コンジュゲートは、抗体または抗体断片上の求電子基、例えば、アルデヒドまたはケトンカルボニル基と、リンカー試薬または薬物上の求核基との間の反応によっても産生することができる。リンカー試薬上の有用な求核基としては、限定されるものではないが、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジドが挙げられる。一実施形態において、抗体は、リンカー試薬または薬物上の求核置換基と反応し得る求電子部分を導入するように修飾される。別の実施形態において、グリコシル化抗体の糖を、例えば、過ヨウ素酸塩酸化試薬により酸化してリンカー試薬または薬物部分のアミン基と反応し得るアルデヒド基またはケトン基を形成することができる。得られるイミンシッフ塩基群は、安定した結合を形成し得、または例えば、ホウ化水素試薬により還元して安定したアミン結合を形成することができる。一実施形態において、グリコシル化抗体の炭水化物部分と、ガラクトースオキシダーゼまたはメタ過ヨウ素酸ナトリウムのいずれかとの反応は、薬物上の適切な基と反応し得る抗体中のカルボニル（アルデヒドおよびケトン）基を生じさせ得る（Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ）。別の実施形態において、Ｎ末端セリンまたはトレオニン残基を含有する抗体はメタ過ヨウ素酸ナトリウムと反応し、第１のアミノ酸の代わりにアルデヒドを産生し得る（Ｇｅｏｇｈｅｇａｎ ＆ Ｓｔｒｏｈ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．，ｖｏｌ．３，ｐｐ．１３８－１４６，１９９２；米国特許第５，３６２，８５２号明細書）。このようなアルデヒドは、薬物部分またはリンカー求核剤と反応させることができる。

【０２９５】

薬物部分上の例示的な求核基としては、限定されるものではないが、リンカー部分およびリンカー試薬上の求電子基、例として、（ｉ）活性エステル、例えば、ＮＨＳエステル、ＨＯＢｔエステル、ハロホルメート、および酸ハロゲン化物；（ｉｉ）アルキルおよびベンジルハロゲン化物、例えば、ハロアセトアミド；（ｉｉｉ）アルデヒド、ケトン、カルボキシル、およびマレイミド基と反応して共有結合を形成し得るアミン、チオール、ヒドロキシル、ヒドラジド、オキシム、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジド基が挙げられる。

【０２９６】

ＡＤＣを調製するために使用することができる非限定的な例示的な架橋試薬は、本明細書において「例示的なリンカー」と題されるセクションに記載される。このような架橋試薬を使用して２つの部分、例として、タンパク質性部分および化学部分を結合させる方法は、当分野において公知である。一部の実施形態において、抗体および細胞毒性剤を含む融合タンパク質は、例えば、組換え技術またはペプチド合成により作製することができる。組換えＤＮＡ分子は、互いに隣接しており、またはコンジュゲートの所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって隔離されている、コンジュゲートの抗体および細胞毒性部分をコードする領域を含み得る。

【０２９７】

さらに別の実施形態において、抗体または抗体断片は、腫瘍のプレターゲティングにおいて利用するために「受容体」（例えば、ストレプトアビジン）にコンジュゲートさせることができ、その腫瘍のプレターゲティングにおいては、抗体／抗体断片－受容体コンジュゲートを患者に投与し、次いでクリアリング剤を使用して血液循環からの非結合コンジュゲートを除去し、次いで細胞毒性剤（例えば、薬物または放射性ヌクレオチド）にコンジュゲートしている「リガンド」（例えば、アビジン）を投与する。

【０２９８】

Ｃ．診断および検出のための方法および組成物

ある実施形態において、本明細書において提供される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のいずれも、生物学的試料中のＲＯＲ２の存在の検出に使用することができる。本明細書において使用される用語「検出すること」は、定量または定性的検出を包含する。ある実施形態において、生物学的試料は、細胞または組織、例えば、乳房、膵臓、食道、肺および／または脳細胞または組織を含む。

【０２９９】

本発明のさらなる態様は、ＲＯＲ２発現レベルが体内の少なくとも１つの場所において正常な生理学的レベルから増加または減少する癌または別の疾患を診断および／またはモニタリングするための本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片に関する。

【０３００】

好ましい実施形態において、本発明の抗体または抗体断片は、検出可能な分子または物質、例えば、上記の蛍光分子、放射性分子または当分野において公知の任意の他の標識により標識することができる。例えば、本発明の抗体または抗体断片は、放射性分子により標識することができる。例えば、好適な放射性分子としては、限定されるものではないが、シンチグラフィー試験に使用される放射性原子、例えば、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{111}Ｉｎ、^{186}Ｒｅ、および^{188}Ｒｅが挙げられる。本発明の抗体または抗体断片は、核磁気共鳴（ＮＭＲ）イメージング用のスピン標識、例えば、ヨウ素－１２３、ヨウ素－１３１、インジウム－１１１、フッ素－１９、炭素－１３、窒素－１５、酸素－１７、ガドリニウム、マンガンまたは鉄により標識することもできる。抗体の投与後、患者内の放射性標識抗体の分布を検出する。任意の好適な公知の方法を使用することができる。一部の非限定的な例としては、コンピュータ断層撮影（ＣＴ）、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）、蛍光、化学発光および超音波診断が挙げられる。

【０３０１】

本発明の抗体または抗体断片は、ＲＯＲ２過剰発現に関連する癌および疾患の診断および病期分類に有用であり得る。ＲＯＲ２過剰発現に関連する癌としては、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、胃癌、膵臓癌、グリア細胞腫瘍、例えば、膠芽細胞腫および神経線維腫症、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸癌、黒色腫、結腸直腸癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、腎臓癌（ｋｉｄｎｅｙ　ｃａｎｃｅｒ）、腎臓癌（ｒｅｎａｌ　ｃａｎｃｅｒ）、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞腫、肉腫（例えば、線維肉腫および骨肉腫）、血液癌（白血病）、星状細胞腫、および種々のタイプの頭頸部癌または他のＲＯＲ２発現または過剰発現の過剰増殖性疾患を挙げることができる。

【０３０２】

本発明の抗体または抗体断片は、ＲＯＲ２発現が増加または減少する癌以外の疾患の診断に有用であり得る。（可溶性または細胞ＲＯＲ２形態の両方をそのような診断に使用することができる。典型的には、このような診断法は、患者から得られる生物学的試料の使用を含む。本明細書において使用される用語「生物学的試料」は、診断またはモニタリングアッセイにおいて使用することができる対象から得られる種々の試料タイプを包含する。生物学的試料としては、限定されるものではないが、生物起源の血液ならびに他の液体試料、固体組織試料、例えば、生検標本または組織培養物またはそれに由来する細胞、およびその子孫が挙げられる。例えば、生物学的試料としては、ＲＯＲ２過剰発現に関連する癌、および好ましい実施形態において、神経膠腫、胃癌、肺癌、膵臓癌、乳癌、前立腺癌、腎臓癌、肝臓癌および子宮内膜癌を有すると疑われる個体から回収される組織試料から得られる細胞が挙げられる。生物学的試料は、臨床試料、培養物中の細胞、細胞上清、細胞溶解物、血清、血漿、生物学的体液、および組織試料を包含する。

【０３０３】

特定の実施形態において、本発明は、本発明の抗体を使用して対象からの細胞上のＲＯＲ２を検出することにより対象におけるＲＯＲ２過剰発現に関連する癌を診断する方法である。特に、前記方法は、

（ａ）対象の生物学的試料を、本発明による抗体または抗体断片と、抗体または抗体断片がＲＯＲ２を発現する生物学的試料の細胞との複合体を形成するのに好適な条件下で接触させるステップ；ならびに
（ｂ）前記複合体を検出および／または定量するステップ（前記複合体の検出は、ＲＯＲ２過剰発現に関連する癌を示す）
を含み得る。
【０３０４】
癌の進行をモニタリングするため、方法による方法を異なる時点において繰り返して試料への抗体結合が増加または減少するか否かを決定することができ、それから、癌が進行、退縮または安定しているか否かを決定することができる。
【０３０５】
特定の実施形態において、本発明は、ＲＯＲ２の発現もしくは過剰発現またはＲＯＲ２の可溶性形態の減少もしくは増加に関連する疾患を診断する方法である。このような疾患の例としては、ヒト免疫障害、血栓疾患（血栓症およびアテローム血栓症）、および心血管疾患を挙げることができる。
【０３０６】
一実施形態において、診断または検出の方法において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が提供される。さらなる態様において、生物学的試料中のＲＯＲ２の存在を検出する方法が提供される。さらなる態様において、生物学的試料中のＲＯＲ２の量を定量する方法が提供される。ある実施形態において、本方法は、生物学的試料を、本明細書に記載の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片と、ＲＯＲ２への抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片の結合を許容する条件下で接触させること、および抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片とＲＯＲ２との間で複合体が形成されるか否かを検出することを含む。このような方法は、インビトロまたはインビボで実施することができる。一実施形態において、抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、治療法に適格の対象を選択するために使用される。一部の実施形態において、治療法は、対象への抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片の投与を含む。
【０３０７】
ある実施形態において、標識抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が提供される。標識としては、限定されるものではないが、直接検出される標識または部分（例えば、蛍光標識、発色団、高電子密度、化学発光、および放射性標識）、および間接的に、例えば、酵素反応または分子相互作用を介して検出される酵素またはリガンドのような部分が挙げられる。例示的な標識としては、限定されるものではないが、放射性同位体^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、および^{131}Ｉ、フルオロフォア、例えば希土類キレートまたはフルオレセインおよびその誘導体、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ、例えば、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号明細書）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、セイヨウワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカリドオキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、およびグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化する酵素、例えば、ＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ、またはミクロペルオキシダーゼとカップリングしている複素環オキシダーゼ、例えば、ウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定フリーラジカルなどが挙げられる。
【０３０８】
Ｄ．医薬配合物
抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、細胞殺傷活性を有する。この細胞殺傷活性は、複数の異なる細胞系のタイプに及ぶ。さらに、これらの抗原または抗体断片は、細胞毒性剤にコンジュゲートされると腫瘍サイズを低減させ得、低減した毒性を示し得る。本出願の実施例２参照。したがって、抗ＲＯＲ２抗体、その断片または免疫コンジュゲートは、ＲＯＲ２発現に関連する増殖性疾患の治療に有用であり得る。抗体、断片または免疫コンジュ

ゲートは、単独で、または任意の好適な薬剤または他の慣用の治療との組合せで使用することができる。

【０３０９】

抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、ＲＯＲ２発現、過剰発現または活性化に関連する疾患を治療するために使用することができる。ＲＯＲ２発現についての要求以外の、治療することができる癌のタイプまたは組織に対する特定の限定は存在しない。例としては、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、胃癌、膵臓癌、グリア細胞腫瘍、例えば、膠芽細胞腫および神経線維腫症、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸癌、黒色腫、結腸直腸癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、腎臓癌、腎臓癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞腫、肉腫（例えば、線維肉腫および骨肉腫）、血液癌（白血病）、星状細胞腫、および種々のタイプの頭頸部癌が挙げられる。より好ましい癌は、膠芽細胞腫、胃癌、肺癌、膵臓癌、乳癌、前立腺癌、腎臓癌、肝臓癌および子宮内膜癌である。

【０３１０】

抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は自然免疫応答の強力な活性化因子であり、したがって、ヒト免疫障害、例えば、敗血症の治療において使用することができる。本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、免疫化、例えば、ワクチンのためのアジュバントとして、ならびに例えば、細菌、ウイルスおよび寄生虫に対する抗感染剤として使用することもできる。

【０３１１】

抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、血栓疾患、例えば、静脈および動脈血栓症ならびにアテローム血栓症から保護し、それを予防し、または治療するために使用することができる。抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、心血管疾患から保護し、それを予防し、または治療するため、ならびにウイルス、例えば、ラッサおよびエボラウイルスの侵入を予防し、または阻害するため、ならびにウイルス感染を治療するために使用することもできる。

【０３１２】

本明細書に記載の治療方法の実施形態のそれぞれにおいて、抗ＲＯＲ２抗体、抗体断片または抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片免疫コンジュゲートは、治療が求められる疾患または障害の管理に関連する慣用の方法と一致する様式で送達することができる。本明細書の開示によれば、有効量の抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートを、そのような治療が必要とされる対象に、疾患または障害を予防または治療するために十分な期間および条件下で投与する。したがって、本発明の一態様は、ＲＯＲ２の発現に関連する疾患の治療が必要とされる対象に治療有効量の本発明の抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートを投与することを含む、ＲＯＲ２の発現に関連する疾患を治療する方法に関する。

【０３１３】

投与のため、抗ＲＯＲ２抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートを、医薬組成物として配合することができる。抗ＲＯＲ２抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートを含む医薬組成物は、医薬組成物を調製する公知の方法に従って配合することができる。このような方法において、治療分子は、典型的には、薬学的に許容可能な担体を含有する混合物、溶液または組成物と組み合わせる。

【０３１４】

薬学的に許容可能な担体は、レシピエント患者により寛容され得る材料である。無菌リン酸緩衝生理食塩水は、薬学的に許容可能な担体の一例である。他の好適な薬学的に許容可能な担体は、当業者に周知である（例えば、Ｇｅｎｎａｒｏ（ｅｄ．），Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏｍｐａｎｙ，１９ｔｈ　ｅｄ．１９９５）参照）。配合物は、１つ以上の賦形剤、保存剤、安定剤、緩衝剤、バイアル表面上のタンパク質損失を防止するためのアルブミンなどをさらに含み得る。

【０３１５】

医薬組成物の形態、投与経路、投与量およびレジメンは、通常、治療すべき病態、疾病

の重症度、患者の年齢、体重および性別などに依存する。これらの検討事項は、当業者が考慮して好適な医薬組成物を配合することができる。本発明の医薬組成物は、局所、経口、非経口、鼻腔内、静脈内、筋肉内、皮下または眼内投与用などに配合することができる。

【０３１６】

好ましくは、医薬組成物は、注射され得る配合物のために薬学的に許容可能なビヒクルを含有する。これらは、特定の等張無菌生理食塩水溶液（リン酸一ナトリウムもしくは二ナトリウム、塩化ナトリウム、カリウム、カルシウムもしくはマグネシウムなどまたはそのような塩の混合物）、または例えば、無菌水もしくは生理食塩水の添加時に注射液の構成を可能とする乾燥、特に凍結乾燥組成物中で存在し得る。

【０３１７】

一部の実施形態において、「安定剤」として公知であることもある等張化剤は、組成物中の液体の等張性を調整または維持するために存在する。大型荷電生体分子、例えば、タンパク質および抗体とともに使用される場合、それらは、アミノ酸側鎖の荷電基と相互作用し、それにより分子間および分子内相互作用の潜在性を減少させ得るため「安定剤」と称されることが多い。等張化剤は、医薬組成物の０．１重量％～２５重量％、好ましくは１～５％の任意の量で存在し得る。好ましい等張化剤としては、多価糖アルコール、好ましくは三価またはより高級の糖アルコール、例えば、グリセリン、エリトリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトールおよびマンニトールが挙げられる。

【０３１８】

追加の賦形剤としては、以下の１つ以上として機能し得る薬剤が挙げられる：（１）増量剤、（２）溶解度向上剤、（３）安定剤および（４）および変性または容器壁への接着を防止する薬剤。このような賦形剤としては、多価糖アルコール（上記列挙）；アミノ酸、例えば、アラニン、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リジン、オルニチン、ロイシン、２－フェニルアラニン、グルタミン酸、トレオニンなど；有機糖または糖アルコール、例えば、スクロース、ラクトース、ラクチトール、トレハロース、スタキオース、マンノース、ソルボース、キシロース、リボース、リビトール、ミオイニシトース（ｍｙｏｉｎｉｓｉｔｏｓｅ）、ミオイニシトール（ｍｙｏｉｎｉｓｉｔｏｌ）、ガラクトース、ガラクチトール、グリセロール、シクリトール（例えばイノシトール）、ポリエチレングリコール；硫黄含有還元剤、例えば、尿素、グルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、α－モノチオグリセロールおよびチオ硫酸ナトリウム；低分子量タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチンまたは他の免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；単糖（例えば、キシロース、マンノース、フルクトース、グルコース）；二糖（例えば、ラクトース、マルトース、スクロース）；三糖（例えば、ラフィノース）；ならびに多糖（例えば、デキストリンまたはデキストラン）を挙げることができる。

【０３１９】

非イオン性界面活性剤または洗浄剤（「湿潤剤」としても公知）は、治療剤を溶解させるのに役立ち、および撹拌誘導性凝集から治療タンパク質を保護するために用いることができ、さらにそれにより、活性治療タンパク質または抗体の変性を引き起こさずに剪断表面応力への配合物の曝露を可能とする。非イオン性界面活性剤は、約０．０５ｍｇ／ｍｌ～約１．０ｍｇ／ｍｌ、好ましくは、約０．０７ｍｇ／ｍｌ～約０．２ｍｇ／ｍｌの濃度範囲で存在し得る。

【０３２０】

好適な非イオン性界面活性剤としては、ポリソルベート（２０、４０、６０、６５、８０など）、ポリオキサマー（１８４、１８８など）、ＰＬＵＲＯＮＩＣ（登録商標）ポリオール、ＴＲＩＴＯＮ（登録商標）、ポリオキシエチレンソルビタンモノエーテル（ＴＷＥＥＮ（登録商標）－２０、ＴＷＥＥＮ（登録商標）－８０など）、ラウロマクロゴール４００、ポリオキシル４０ステアレート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油１０、５０および６０、モノステアリン酸グリセロール、スクロース脂肪酸エステル、メチルセルロー

スおよびカルボキシメチルセルロースが挙げられる。使用することができる陰イオン性洗浄剤としては、ラウリル硫酸ナトリウム、スルホコハク酸ジオクチルナトリウムおよびスルホン酸ジオクチルナトリウムが挙げられる。陽イオン性洗浄剤としては、塩化ベンザルコニウムまたは塩化ベンゼトニウムが挙げられる。

【０３２１】

投与に使用される用量は、種々のパラメータに応じて、特に、使用される投与方式、関連病変、または代替的に所望の治療期間に応じて適合させることができる。医薬組成物を調製するため、有効量の抗体または抗体断片を、薬学的に許容可能な担体または水性媒体中で溶解または分散させることができる。

【０３２２】

注射使用に好適な剤形としては、無菌水溶液または分散液；ゴマ油、ピーナッツ油または水性プロピレングリコールを含む配合物；および無菌注射液または分散液の即時調製のための無菌粉末が挙げられる。全ての場合において、剤形は無菌でなければならず、容易な注射針通過性が存在する程度に流動性でなければならない。これは、製造および保存の条件下で安定でなければならず、微生物、例えば、細菌および真菌の汚染作用から保存しなければならない。

【０３２３】

遊離塩基または薬理学的に許容可能な塩としての活性化合物の溶液は、界面活性剤と好適に混合された水中で調製することができる。分散液も、グリセロール、液状ポリエチレングリコール、およびその混合物中で、ならびに油中で調製することができる。通常の保存および使用の条件下で、これらの製剤は微生物の成長を防止するための保存剤を含有する。

【０３２４】

抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、中性または塩形態の組成物に配合することができる。薬学的に許容可能な塩としては、酸付加塩（タンパク質の遊離アミノ基を用いて形成される）が挙げられ、それは無機酸、例えば、塩酸もしくはリン酸、または例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸などのような有機酸を用いて形成される。遊離カルボキシル基を用いて形成される塩も、無機塩基、例えば、水酸化カリウム、アンモニウム、カルシウムまたは鉄、および例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインなどのような有機塩基から誘導することができる。

【０３２５】

担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、それらの好適な混合物、および植物油を含有する溶媒または分散媒体であってもよい。適切な流動性は、例えば、コーティング、例えば、レシチンの使用により、分散液の場合には要求される粒径の維持により、および界面活性剤の使用により維持することができる。微生物の作用の防止は、種々の抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサールなどによりもたらすことができる。多くの場合、等張化剤、例えば糖または塩化ナトリウムを含めることが好ましい。注射組成物の吸収延長は、その組成物中に吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを使用することによりもたらすことができる。

【０３２６】

無菌注射液は、要求量の活性化合物を適切な溶媒中に、必要であれば上記に列挙された他の成分の１つ以上とともに取り込み、次いで滅菌濾過することにより調製される。一般に、分散液は、種々の滅菌された活性成分を、基礎分散媒体および上記に列挙されるものから要求される他の成分を含有する無菌ビヒクル中に取り込むことにより調製される。無菌注射液の調製のための無菌粉末の場合、好ましい調製法は、活性成分と任意の追加の所望の成分の粉末を予め滅菌濾過されたその溶液から生じさせる真空乾燥および凍結乾燥技術である。

【０３２７】

直接注射のためのより濃縮され、または高度に濃縮された溶液の調製も企図され、溶媒としてのジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）の使用は極めて急速な浸透をもたらし、高濃度の活性薬剤を小さな腫瘍区域に送達することが想定される。

【０３２８】

配合時、液剤は投与配合物と適合性の様式で、治療有効であるような量で投与される。配合物は、種々の投与剤形で、例えば、上記のタイプの注射液で容易に投与されるが、薬物放出カプセルなどを用いることもできる。

【０３２９】

水溶液中での非経口投与のため、例えば、液剤は、必要であれば好適に緩衝化すべきであり、液体希釈剤は、まず、十分な生理食塩水またはグルコースにより等張とすべきである。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下、および腹腔内投与に特に好適である。これに関連して、用いることができる無菌水性媒体は、本開示に照らして当業者に公知である。例えば、１投与量を１ｍｌの等張ＮａＣｌ溶液中で溶解させることができ、１０００ｍｌの皮下点滴療法用液体に添加し、または提案される注入部位に注射することができる（例えば、“Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ”１５ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ｐａｇｅｓ １０３５－１０３８ ａｎｄ １５７０－１５８０参照）。投与量のいくらかの変動が、治療される対象の病態に応じて必然的に生じる。投与責任者は、いずれのイベントにおいても、個々の対象に適切な用量を決定する。

【０３３０】

抗体または抗体断片は、治療混合物内に１投与量あたり０．０００１～１０．０ミリグラム、または約０．００１～５ミリグラム、または約０．００１～１ミリグラム、または約０．００１～０．１ミリグラム、または約０．１～１．０またはさらには約１０ミリグラムを送達するように配合することができる。複数回投与量を選択される時間間隔において投与することもできる。

【０３３１】

非経口投与、例えば、静脈内または筋肉内注射用に配合された化合物に加えて、他の薬学的に許容可能な形態としては、例えば、錠剤または経口投与用の他の固形剤；徐放性カプセル剤；および現在使用されている任意の他の形態が挙げられる。

【０３３２】

ある実施態様において、リポソームおよび／またはナノ粒子の使用が、宿主細胞中への抗体または抗体断片の導入のために企図される。リポソームおよび／またはナノ粒子の形成および使用は、当業者に公知である。

【０３３３】

ナノカプセル剤は、一般に、安定した再現性のある手法で化合物を捕捉し得る。細胞内へのポリマーの過剰負荷に起因する副作用を回避するため、このような超微細粒子（サイズは約０．１μｍ）が、インビボで分解し得るポリマーを使用して一般に設計される。これらの要件を満たす生分解性ポリアルキル－シアノアクリレートナノ粒子が本発明における使用のために企図され、このような粒子は容易に作製することができる。

【０３３４】

リポソームは、水性媒体中で分散するリン脂質から形成され、多重膜同心円状二層小胞（多層膜ベシクル（ＭＬＶ）とも称される）を自発的に形成する。ＭＬＶは、一般に２５ｎｍ～４μｍの直径を有する。ＭＬＶの超音波処理は、コア中で水溶液を含有する２００～５００Åの範囲の直径を有する小さな一枚膜ベシクル（ＳＵＶ）の形成をもたらす。リポソームの物理的特徴は、ｐＨ、イオン強度および二価陽イオンの存在に依存する。

【０３３５】

本明細書に記載の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を含有する医薬配合物は、所望の純度の程度を有するそのような抗体または抗体断片を１つ以上の任意選択の薬学的に許容可能な担体（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））と混合することにより、

凍結乾燥配合物または水溶液の形態で調製される。薬学的に許容可能な担体は、一般に、用いられる投与量および濃度においてレシピエントに対して非毒性であり、それとしては、限定されるものではないが、緩衝液、例えば、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸；酸化防止剤、例として、アスコルビン酸およびメチオニン；保存剤（例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルもしくはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；およびｍ－クレゾール）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免役グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジン；単糖、二糖、および他の炭水化物、例として、グルコース、マンノース、もしくはデキストリン；キレート剤、例えば、ＥＤＴＡ；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質錯体）；ならびに／または非イオン性界面活性剤、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）が挙げられる。

【０３３６】

本明細書における例示的な薬学的に許容可能な担体としては、介在性薬物分散剤、例えば、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えば、ヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖タンパク質、例えば、ｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）がさらに挙げられる。ある例示的なｓＨＡＳＥＧＰおよび使用方法、例として、ｒＨｕＰＨ２０は、米国特許出願公開第２００５／０２６０１８６号明細書および同第２００６／０１０４９６８号明細書に記載されている。一態様において、ｓＨＡＳＥＧＰは、１つ以上の追加のグリコサミノグリカナーゼ、例えば、コンドロイチナーゼと組み合わされる。

【０３３７】

例示的な凍結乾燥抗体配合物は、米国特許第６，２６７，９５８号明細書に記載されている。水性抗体配合物としては、米国特許第６，１７１，５８６号明細書および国際公開第２００６／０４４９０８号パンフレットに記載のものが挙げられ、後者の配合物はヒスチジン－酢酸緩衝液を含む。

【０３３８】

本明細書における配合物は、治療される特定の適応症に対する必要に応じて、２つ以上の活性成分も含有し得る。好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有する成分を単一配合物中で組み合わせることができる。例えば、ＥＧＦＲアンタゴニスト（例えば、エルロチニブ）、抗アンドロゲン剤（例えば、抗ＶＥＧＦ抗体であり得るＶＥＧＦアンタゴニスト）または化学療法剤（例えば、タキソイドまたは白金剤）を、本発明の抗ＲＯＲ２抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートに加えて提供することが望ましい場合がある。このような活性成分は、意図される目的のために有効である量の組合せで好適に存在する。

【０３３９】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術により、または界面重合により調製されるマイクロカプセル中にカプセル封入することができる。例えば、それぞれ、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子およびナノカプセル）中またはマクロエマルション中の、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン－マイクロカプセルおよびポリ－（メチルメタクリレート）マイクロカプセルを用いることができる。このような技術は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）に開示される。

【０３４０】

徐放性製剤を調製することができる。徐放性製剤の好適な例としては、抗体または抗体

断片を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、そのマトリクスは、成形品、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態であり得る。

【０３４１】

インビボ投与に使用すべき配合物は、一般に無菌性である。無菌状態は、例えば、滅菌濾過膜に通す濾過により容易に達成することができる。

【０３４２】

Ｅ．治療方法および組成物

本明細書において提供される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のいずれも、治療方法において使用することができる。一態様において、医薬品として使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が提供される。さらなる態様において、癌（例えば、乳癌、非小細胞肺癌、膵臓癌、脳腫瘍、膵臓、脳、腎臓、卵巣、胃、白血病、子宮内膜、結腸、前立腺、甲状腺、肝臓の癌、肉腫、例えば線維肉腫および骨肉腫黒色腫、および／または様々な頭頸部癌）の治療において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が提供される。ある実施形態において、治療の方法において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が提供される。ある実施形態において、本発明は、個体に有効量の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を投与することを含む、癌を有する個体を治療する方法において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。ある実施形態において、本発明は、個体に有効量の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を投与することを含む、免疫障害（例えば、自己免疫障害）、心血管障害（例えば、アテローム性動脈硬化症、高血圧、血栓症）、感染性疾患（例えば、エボラウイルス、マールブルグウイルス）または糖尿病を有する個体を治療する方法において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。１つのそのような実施形態において、本方法は、個体に有効量の少なくとも１つの追加の治療剤、例えば、下記のものを投与することをさらに含む。さらなる実施形態において、本発明は、血管新生の阻害、細胞増殖の阻害、免疫機能の阻害、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）の阻害、腫瘍血管系（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）の阻害、および／または腫瘍間質機能の阻害において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。

【０３４３】

ある実施形態において、本発明は、個体に有効の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を投与して血管新生を阻害し、細胞増殖を阻害し、免疫機能を阻害し、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）を阻害し、腫瘍血管系発生（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）を阻害し、および／または腫瘍間質機能を阻害することを含む、個体において血管新生を阻害し、細胞増殖を阻害し、免疫機能を阻害し、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）を阻害し、腫瘍血管系（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）を阻害し、および／または腫瘍間質機能を阻害する方法において使用される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を提供する。上記実施形態のいずれかによる「個体」は、好ましくは、ヒトである。

【０３４４】

さらなる態様において、本発明は、医薬品の製造または調製における抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片の使用を提供する。一実施形態において、医薬品は、癌（一部の実施形態において、乳癌、非小細胞肺癌、膵臓癌、脳腫瘍、膵臓、脳、腎臓、卵巣、胃、白血病、子宮内膜、結腸、前立腺、甲状腺、肝臓の癌、肉腫、例えば線維肉腫および骨肉腫、黒色腫および／または様々な頭頸部癌）の治療用である。さらなる実施形態において、医薬品は、癌を有する個体に有効量の医薬品を投与することを含む、癌を治療する方法において使用される。さらなる実施形態において、医薬品は、個体に有効量の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を投与することを含む、免疫障害（例えば、自己免疫障害）、心血管障害（例えば、アテローム動脈硬化症、高血圧、血栓症）、感染性疾患（例えば、エボラウイルス、マールブルグウイルス）または糖尿病を治療する方法において使用される。１つのそのような実施形態において、本方法は、個体に有効量の少なくとも１つの追加の治療剤、例えば、下記のものを投与することをさらに含む。さらなる実施形態において、医薬品は、血

管新生の阻害、細胞増殖の阻害、免疫機能の阻害、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）の阻害、腫瘍血管系（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）の阻害、および／または腫瘍間質機能の阻害用である。さらなる実施形態において、医薬品は、個体に有効量の医薬品を投与して血管新生を阻害し、細胞増殖を阻害し、免疫機能を促進し、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）を誘導し、腫瘍血管系発生（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）を阻害し、および／または腫瘍間質機能を阻害することを含む、個体において血管新生を阻害し、細胞増殖を阻害し、免疫機能を阻害し、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）を阻害し、腫瘍血管系（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）を阻害し、および／または腫瘍間質機能を阻害する方法において使用される。上記実施形態のいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０３４５】

さらなる態様において、本発明は、癌を有する個体のＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法を提供する。一実施形態において、本方法は、そのような癌を有する個体に有効量の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を投与することを含む。１つのそのような実施形態において、本方法は、個体に有効量の下記の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。上記実施形態のいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０３４６】

本発明のこの態様において、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法が提供される。いくつかの実施形態において、本方法は、本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を含む免疫コンジュゲートを投与することを含む。

【０３４７】

この態様の一実施形態において、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法は、化学療法剤、放射性原子、細胞増殖抑制剤、および細胞毒性剤から選択される薬剤に結合した、本発明の抗体または抗体断片を含む免疫コンジュゲートを投与することを含む。免疫コンジュゲートは、条件的に活性な生物学的（ＣＡＢ）抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片が切断可能リンカーを介して１つ以上の薬物部分に結合した抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）である（ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣ）。例えば、ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣは、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）であってもよく、ここで薬剤部分がモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）であり、（ｎ）が（１と４を含む）１～４の整数である。

【０３４８】

特定の態様において、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法は、そのような治療を必要とするヒト対象に、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）を投与することを含み、ここで、ＢＡ３０２１は、配列番号１６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ　Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３を含む重鎖可変領域および配列番号２１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ　Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３を含む軽鎖可変領域を有する抗体または抗体断片であり；ＭＭＡＥはモノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）であり、（ｎ）が（１と４を含む）１～４の整数である。

【０３４９】

いくつかの実施形態において、本発明は、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）などのＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣを、約０．３ｍｇ／ｋｇ～約３．３ｍｇ／ｋｇの投与量で、２１日もしくは３週間ごとに１回もしくは２回、または１４日もしくは２週間ごとに１回もしくは２回投与する治療レジメンを提供する。例えば、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）は、約０．３ｍｇ／ｋｇ～約３．３ｍｇ／ｋｇの投与量で３週間に１回（Ｑ３Ｗ）、または１．５ｍｇ／ｋｇ～１．８ｍｇ／ｋｇの範囲の投与量で１日目および８日目など３週間に２回（２Ｑ３Ｗ）投与することができる。

【０３５０】

特定の実施形態において、本発明は、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）などのＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣを、約０．３ｍｇ／ｋｇ～約１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、２１日もしくは３週間ごとに１回もしくは２回、または１４日もしくは２週間ごと

に１回もしくは２回投与する治療レジメンを提供する。例えば、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）は、約０．３ｍｇ／ｋｇ～約１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、１４日ごとまたは２週間ごとの１日目および８日目など、１４日ごとまたは２週間ごとに２回投与することができる。好ましくは、ＢＡ３０１１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）は、約０．８ｍｇ／ｋｇ～約１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、２１日ごとに１回もしくは２回（２１日の期間の１日目および８日目など）、または１４日ごとに１回もしくは２回（１４日の期間の１日目および８日目など）投与される。一実施形態では、ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣは、１以上の連続する２１日間、各２１日間期間の１日目および８日目に１．８ｍｇ／ｋｇ投与される。

【０３５１】

このような治療レジメンは驚くほど有効であり、そのような投与量および間隔で投与された本発明の抗体薬物コンジュゲートは、驚くほど高い奏効率と許容できる毒性または忍容性プロフィールを提供するからである。したがって、本方法は、ＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣ抗体薬物コンジュゲートを対象に投与するための安全かつ有効な投与レジメンを提供する。いくつかの実施形態において、投与レジメンは、他の投与レジメンと比較して、対象が療法に応答する確率を高める。いくつかの実施形態において、投与レジメンは、他の投与レジメンと比較して、対象が有害事象（用量制限毒性を含む）に罹患する確率を増加させない。また、本発明は、投与レジメンに続く維持療法を提供する。

【０３５２】

さらに別の実施形態において、ＲＯＲ２発現腫瘍を治療する方法は、そのような治療を必要とするヒト対象に、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）などのＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を投与することを含み、この医薬組成物は、静脈内注入により１４日ごとにヒト対象の体重に対して１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で投与される。

【０３５３】

本発明のＢＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）のようなＣＡＢ－ＲＯＲ２－ＡＤＣは、異なる疾患および組織に関連する定義された生理学的条件下で優先的に結合する。例えば、癌では、Ｗａｒｂｕｒｇが提唱した独特の細胞代謝により、低ｐＨ、高乳酸といった特徴的な腫瘍微小環境（ＴＭＥ）が形成される（Ｗａｒｂｕｒｇ　１９２４；　Ｗａｒｂｕｒｇ　１９５６）。本発明のＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）は、特異的なＴＭＥを利用し、ＲＯＲ２を発現する腫瘍に近接するとその標的に選択的に結合する。ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）の活性化された結合特性は可逆的であり、病的な正常組織から病的な組織微小環境へ移行しても永久的な変化はない。

【０３５４】

さらに別の実施形態では、ＲＯＲ２発現腫瘍は、少なくとも１、少なくとも５、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも３５、少なくとも４０、少なくとも４５、少なくとも５０、少なくとも５５、少なくとも６０、少なくとも６５、少なくとも７０、少なくとも７５、少なくとも８０、少なくとも８５、少なくとも９０、または少なくとも９５の腫瘍膜パーセントスコア（ＴｍＰＳ）を有する。一実施形態では、ＲＯＲ２発現腫瘍は、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％の腫瘍膜Ｐスコアを有する。

【０３５５】

さらなる態様において、本発明は、免疫障害（例えば、自己免疫障害）、心血管障害（例えば、アテローム性動脈硬化症、高血圧、血栓症）、感染性疾患（例えば、エボラウイルス、マールブルグウイルス）または糖尿病を治療する方法を提供する。１つのそのような実施形態において、本方法は、個体に有効量の少なくとも１つの下記の追加の治療剤を投与することをさらに含む。上記実施形態のいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０３５６】
さらなる態様において、本発明は、個体において血管新生を阻害し、細胞増殖を阻害し、免疫機能を阻害し、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）を阻害し、腫瘍血管系（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）を阻害し、および／または腫瘍間質機能を阻害する方法を提供する。一実施形態において、本方法は、個体に有効量の抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片を投与して血管新生を阻害し、細胞増殖を阻害し、免疫機能を促進し、炎症性サイトカイン分泌（例えば、腫瘍関連マクロファージからのもの）を誘導し、腫瘍血管系発生（例えば、腫瘍内血管系または腫瘍関連血管系）を阻害し、および／または腫瘍間質機能を阻害することを含む。一実施形態において、「個体」は、ヒトである。
【０３５７】
さらなる態様において、本発明は、例えば、上記治療方法のいずれかにおいて使用される、本明細書において提供される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のいずれかを含む医薬配合物を提供する。一実施形態において、医薬配合物は、本明細書において提供される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のいずれかおよび薬学的に許容可能な担体を含む。別の実施形態において、医薬配合物は、本明細書において提供される抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片のいずれかおよび少なくとも１つの追加の治療剤、例えば、下記のものを含む。
【０３５８】
それぞれのおよび全ての上記治療において、本発明の抗体または抗体断片は、単独で、免疫コンジュゲートとして、または他の薬剤との組合せで治療法において使用することができる。例えば、本発明の抗体は、少なくとも１つの追加の治療剤と同時投与することができる。ある実施形態において、追加の治療剤は、抗血管新生剤である。ある実施形態において、追加の治療剤は、ＶＥＧＦアンタゴニスト（一部の実施形態において、抗ＶＥＧＦ抗体、例えば、ベバシズマブ）である。ある実施形態において、追加の治療剤は、ＥＧＦＲアンタゴニスト（一部の実施形態において、エルロチニブ）である。ある実施形態において、追加の治療剤は、化学療法剤および／または細胞増殖抑制剤である。ある実施形態において、追加の治療剤は、タキソイド（例えば、パクリタキセル）および／または白金剤（例えば、カルボ白金（ｃａｒｂｏｐｌａｔｉｎｕｍ））である。ある実施形態において、追加の治療剤は、患者の免疫または免疫系を向上させる薬剤である。
【０３５９】
上記のこのような併用療法は、併用投与（同一または別個の配合物中に２つ以上の治療剤が含まれる）、および別個の投与を包含し、別個の投与の場合、抗体または抗体断片の投与は、追加の治療剤および／またはアジュバントの投与前、投与と同時に、および／または投与後に行うことができる。抗体または抗体断片は、放射線療法との組合せで使用することもできる。
【０３６０】
抗体または抗体断片は、良好な医療行為と一致する様式で、配合し、投薬し、投与することができる。これに関連する検討事項の因子としては、治療される特定の障害、治療される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジューリング、および医師に公知の他の因子が挙げられる。抗体または抗体断片は、必ずしもそうである必要はないが、場合により、当該の障害を予防または治療するために現在使用されている１つ以上の薬剤とともに配合される。このような他の薬剤の有効量は、配合物中の抗体または抗体断片の量、障害または治療のタイプ、および上記で考察される他の因子に依存する。これらは一般に、本明細書に記載のものと同一の投与量および投与経路で、もしくは本明細書に記載の投与量の約１～９９％で使用され、または実験的／臨床的に適切と判断される任意の投与量で、および任意の経路により使用される。
【０３６１】
疾患の予防または治療について、抗体または抗体断片の適切な投与量（単独で、または１つ以上の他の追加の治療剤との組合せで使用される場合）は、治療すべき疾患のタイプ、抗体または抗体断片のタイプ、疾患の重症度および経過、抗体または抗体断片が予防ま

たは治療目的で投与されるか否か、前治療、患者の病歴および抗体または抗体断片に対する応答、ならびに主治医の裁量に依存する。抗体または抗体断片は好適に、１回で、または一連の治療にわたり患者に投与される。疾患のタイプおよび重症度に応じて、例えば、１回以上の別個の投与によるものであるか、連続注入によるものであるかにかかわらず、約１μｇ／ｋｇ～４０ｍｇ／ｋｇの抗体または抗体断片が、患者への投与のための初回候補投与量であり得る。１つの典型的な１日投与量は、上記因子に応じて、約１μｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ以上の範囲であり得る。数日間以上にわたる反復投与については、病態に応じて、治療は一般に疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続される。このような投与量は、断続的に、例えば、毎週または３週間毎（例えば、患者が約２～約２０回、または例えば、約６回の投与量の抗体または抗体断片を受容するように）投与することができる。より高い初回負荷投与量、次いで１回以上のより低い投与量を投与することができる。しかしながら、他の投与量レジメンが有用であり得る。この治療法の進行は、慣用の技術およびアッセイにより容易にモニタリングされる。

【０３６２】

上記配合物または治療方法のいずれも、抗ＲＯＲ２抗体の代わりに、またはそれに加えて本発明の抗体断片または免疫コンジュゲートを使用して実施することができることが理解される。

【０３６３】

腫瘍を撲滅するための宿主の免疫機能の向上は、関心が増加している主題である。慣用の方法としては、（ｉ）ＡＰＣ増強、例えば、（ａ）外来ＭＨＣアロ抗原をコードするＤＮＡの腫瘍中への注射、または（ｂ）腫瘍の免疫抗原認識の確率を増加させる遺伝子（例えば、免疫刺激サイトカイン、ＧＭ－ＣＳＦ、共刺激分子Ｂ７．１、Ｂ７．２）による生検採取腫瘍細胞の形質移入、（ｉｉｉ）養子細胞免疫療法、または活性化腫瘍特異的Ｔ細胞による治療が挙げられる。養子細胞免疫療法は、腫瘍浸潤宿主Ｔリンパ球を単離し、例えば、ＩＬ－２または腫瘍またはその両方による刺激を介してインビトロでその集団を拡大することを含む。さらに、機能不全の単離Ｔ細胞を、本発明の抗ＰＤ－Ｌ１抗体のインビトロ適用により活性化することもできる。次いで、こうして活性化されたＴ細胞を宿主に再投与することができる。これらの方法の１つ以上を、本発明の抗体、抗体断片または免疫コンジュゲートの投与との組合せで使用することができる。

【０３６４】

癌のための慣習的な治療法としては、以下のもの：（ｉ）放射線療法（例えば、ラジオセラピー、Ｘ線療法、放射線照射）または癌細胞を殺傷し、腫瘍を縮小させるためのイオン化放射線の使用が挙げられる。放射線療法は、外部ビームラジオセラピー（ＥＢＲＴ）を介して外部から、または小線源療法を介して内部から施与することができ；（ｉｉ）一般に急速に分裂する細胞に影響を及ぼす化学療法、または細胞毒性薬の適用；（ｉｉｉ）癌細胞の調節不全タンパク質に特異的に影響を及ぼす標的療法、または薬剤（例えば、チロシンキナーゼ阻害剤イマチニブ、ゲフィニチブ；モノクローナル抗体、光線力学的療法）；（ｉｖ）免疫療法、または宿主免疫応答の向上（例えば、ワクチン）；（ｖ）ホルモン療法、またはホルモンの遮断（例えば、腫瘍がホルモン感受性である場合）、（ｖｉ）血管新生阻害剤、または血管形成および成長の遮断、ならびに（ｖｉｉ）苦痛緩和ケア、または疼痛、悪心、嘔吐、下痢および出血を低減させるためのケアの質の改善に指向される治療が挙げられる。鎮痛剤、例えば、モルヒネおよびオキシコドン、制吐剤、例えば、オンダンセトロンおよびアプレピタントは、より侵襲的な治療レジメンを可能とし得る。

【０３６５】

癌の治療において、癌免疫の治療のための既に記載されている慣用の治療のいずれも、抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片の投与前、投与後または投与と同時に実施することができる。さらに、抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片は、慣用の癌治療、例えば、腫瘍結合抗体（例えば、モノクローナル抗体、毒素コンジュゲートモノクローナル抗体）および／または化学療法剤の投与前、投与後または投与と同時に投与することができる。

【０３６６】

Ｆ．投与レジメン

本発明は、ＲＯＲ２発現腫瘍の治療のための投与レジメンを提供する。投与レジメンは、本明細書に記載の本発明のポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または免疫コンジュゲートの投与量の約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、または約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を、少なくとも２週間（例えば１４日間）または３週間（例えば２１日間）投与することを含む。より好ましくは、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を、少なくとも２週間（例えば、１４日間）または３週間（例えば、２１日間）の期間投与する。最も好ましくは、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を少なくとも２週間（例えば１４日間）投与する。（隔）週投与量は、（隔）週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、（隔）週あたり２回以上）により投与することもできる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の本発明のポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または免疫コンジュゲートの（隔）週投与量は、対象の体重に対して０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇである。

【０３６７】

特定の実施形態において、投与レジメンは、本明細書に記載されるような、本発明の抗ＲＯＲ２抗体もしくは抗体断片、または抗ＲＯＲ２抗体もしくは抗体断片を含む免疫コンジュゲートの投与量の約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３

．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、または約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を、少なくとも２週間（例えば１４日間）または３週間（例えば２１日間）投与することを含む。より好ましくは、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を、少なくとも２週間（例えば、１４日間）または３週間（例えば、２１日間）の期間、投与する。最も好ましくは、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を少なくとも２週間（例えば１４日間）投与する。（隔）週投与量は、（隔）週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、（隔）週あたり２回以上）により投与することもできる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される、本発明の抗ＲＯＲ２抗体もしくは抗体断片、または抗ＲＯＲ２抗体もしくは抗体断片を含む免疫コンジュゲートの（隔）週投与量は、対象の体重に対して０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇである。

【０３６８】

特定の実施形態において、投与レジメンは、以下の本明細書に記載の抗体薬物コンジュゲートの投与量の約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋ

ｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、または約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を、少なくとも２週間（例えば１４日間）または３週間（例えば２１日間）投与することを含む。より好ましくは、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を、少なくとも２週間（例えば、１４日間）または３週間（例えば、２１日間）の期間、投与する。最も好ましくは、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重を少なくとも２週間（例えば１４日間）投与する。（隔）週投与量は、（隔）週１回投与（（隔）週に１回）として、または分割送達（例えば、（隔）週あたり２回以上）により投与することもできる。いくつかの実施形態において、抗体薬物コンジュゲートの（隔）週投与量は、対象の体重に対して０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇとする。

【０３６９】

特定の実施形態において、投与量は、分割送達として、または週１回投与として、少なくとも１の２週間（例えば、１４日間）の治療サイクル、または少なくとも１の３週間（例えば、２１日間）の治療サイクルにわたって投与される。いくつかの実施形態では、投与量は１４日間の治療サイクルの１日目と８日目に単回投与量として投与される。好ましくは、投与量は、分割送達として、または単回投与量として、２以上の１４日間の治療サイクル、さらに好ましくは３以上、４以上、５以上、あるいは６以上の治療サイクルにわたって投与する。いくつかの実施形態では、週投与量は、３以下、４以下、５以下、または６以下の治療サイクルの間、投与される。いくつかの実施形態では、投与量は、２１日の治療サイクルの１日目および８日目に、週１回投与として投与される。好ましくは、投与量は、分割送達として、または単回投与量として、２回以上の２１日間の治療サイクル、さらに好ましくは３以上、４以上、５以上、あるいは６以上の治療サイクルにわたって投与される。いくつかの実施形態では、週投与量は、３以下、４以下、５以下、または６以下の治療サイクルの間、投与される。いくつかの実施形態では、治療サイクルの間に休薬期間を設ける。

【０３７０】

例えば、いくつかの実施形態において、投与レジメンは、少なくとも１の週（例えば、７日間）の治療サイクルでは、抗体薬物コンジュゲートの週間の総投与量は、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約

１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、治療サイクルは７日以上となる。いくつかの実施形態では、治療は少なくとも２の治療サイクルとし、各治療サイクルの間に１週間の休薬期間を設ける。いくつかの実施形態では、治療は２１日以上となる。週投与量は、週１回投与（１週間に１回）として、または分割送達（例えば、１週間に２回以上）により投与することができる。

【０３７１】

いくつかの実施形態において、投与レジメンは、少なくとも１の隔週（例えば、１４日間）の治療サイクルでは、抗体薬物コンジュゲートの隔週１回の総投与量は、０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、または約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、治療サイクルは１４日以上となる。いくつかの実施形態では、治療は少なくとも２の治療サイクルとし、各治療サイクルの間に２週間の休薬期間を設ける（例えば、８週間の間に６回の週１回投与を行う）。いくつかの実施形態では、治療サイクルは２１日以上となる。隔週投与量は、１回の隔週投与量（２週間に１回）として、または分割送達（例えば、隔週に２回以上）により投与することができる。

【０３７２】

いくつかの実施形態において、抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により２週間に少なくとも１回投与される、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、

週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態では、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週に２回以上）により投与される、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、２週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、対象の体重に対して０．８、０．９、１、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇとなる。

【０３７３】

いくつかの実施形態において、抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）として３週間に少なくとも１回投与される、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約０．４ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約０．５ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約０．７ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約０．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態におい

て、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、週１回投与（週に１回）として、または分割送達（例えば、週２回以上）により投与される、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重となる。いくつかの実施形態において、３週間に少なくとも１回投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、対象の体重に対して０．８、０．９、１、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、

２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇとなる。

【０３７４】

２週間（１４日間）の治療サイクルと治療サイクルの間に１週間の休薬期間を設ける治療サイクルは、３週間（２１日間）の治療サイクルと呼ぶこともでき、この場合、抗体薬物コンジュゲートは３週間の治療サイクルの３週間のうち２週投与される。同様に、３週間（２１日間）の治療サイクルと治療サイクルの間に１週間の休薬期間を設ける治療サイクルは、４週間（２８日間）の治療サイクルと呼ぶこともでき、この場合、抗体薬物コンジュゲートは４週間の治療サイクルの４週間のうち３週間投与される。従って、いくつかの実施形態において、投与量は、３週間の治療サイクルの３週間のうち２週、分割送達として、または週１回投与として、週ごとに投与されるか、または投与量は、４週間の治療サイクルの４週間のうち３週、分割送達として、または週１回投与として、週ごとに投与される。いくつかの実施形態において、投与量は、１４日間の治療サイクルの１日目および８日目に週１回投与として投与され、投与量は、２１日間の治療サイクルの１日目および８日目に週１回投与として投与され、または投与量は、２８日間の治療サイクルの１日目および８日目に週１回投与として投与される。好ましくは、週投与量は、分割送達として、または週１回投与として、２以上の４週間治療サイクル、さらに好ましくは、３以上、４以上、５以上、またはさらに６以上の４週間治療サイクル（例えば、２、３、４、５、または６連続治療サイクル）投与される。いくつかの実施形態では、週投与量は、３以下、４以下、５以下、または６以下の治療サイクルの間、投与される。

【０３７５】

例えば、いくつかの実施形態において、投与レジメンは、分割送達としてまたは週１回投与としての週投与量であり、週間の総投与量約０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、または約１．８ｍｇ／ｋｇ体重の抗体薬物コンジュゲートを、少なくとも１の２週間の治療サイクルでは２週間のうち１週、または少なくとも２の３週間の治療サイクルでは３週間のうち２週、投与する。

【０３７６】

例えば、いくつかの実施形態において、投与レジメンは、分割送達としてまたは週１回投与としての週投与量であり、週間の総投与量０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、または約３．３ｍｇ／ｋｇ体重の抗体薬物コンジュゲートを、３週間のうち２週、少なくとも１の３週間の治療サイクルで投与する。

いくつかの実施形態では、３週間のうち２週投与される抗体薬物コンジュゲートの週投与量は、対象の体重に対して０．８、０．９、１、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇとなる。

【０３７７】

いくつかの実施形態において、投与レジメンは、分割送達としてまたは週１回投与としての週投与量であり、週間の総投与量０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、または約３．３ｍｇ／ｋｇ体重の抗体薬物コンジュゲートを、４週間のうち３週、少なくとも２の４週間の治療サイクルで投与する。

【０３７８】

いくつかの実施形態において、投与レジメンは、分割送達としてまたは週１回投与としての週投与量であり、週間の総投与量０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、または約３．３ｍｇ／ｋｇ体重の抗体薬物コンジュゲートを、３週間のうち２週、１、２、３、４または５の４週間治療サイクルで投与する。（例えば、６週間に４回の週１回投与、９週間に６回の週１回投与、１２週間に８回の週１回投与）。

【０３７９】

いくつかの実施形態において、投与レジメンは、分割送達としてまたは週１回投与としての週投与量であり、週間の総投与量０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋ

ｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、または約３．３ｍｇ／ｋｇ体重の抗体薬物コンジュゲートを、任意選択的に、４週間ごとに３回で（３ ｏｕｔ ｏｆ ｅｖｅｒｙ ４ ｗｅｅｋｓ）、１、２、３、４、または５の４週間の治療サイクルで投与する（例えば、８週間の期間に６回の週１回投与、１２週間の期間に９回の週１回投与、または１６週間の期間に１２回の週１回投与）。いくつかの実施形態において、抗体薬物コンジュゲートの各投与量は、対象の体重に対して０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇとなる。

【０３８０】

いくつかの好ましい実施形態において、投与レジメンは、分割送達としてまたは週１回投与としての隔週投与量であり、２週間の総投与量０．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約１．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．４ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．５ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．６ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．７ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．８ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約２．９ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．０ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．１ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約３．２ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、または約３．３ｍｇ／ｋｇ体重の抗体薬物コンジュゲートを、任意選択的に、隔週４回ごとに３回（３ ｏｕｔ ｏｆ ｅｖｅｒｙ ４ ｂｉｗｅｅｋｓ）、１、２、３、４、または５の隔週治療サイクルを行う（例えば、１４週間の期間に６回の隔週１回投与、２０週間の期間に９回の隔週１回投与、または２６週間の期間に１２回の隔週１回投与）。いくつかの実施形態では、隔週投与される抗体薬物コンジュゲートの各投与量は、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、または３．３ｍｇ／ｋｇを対象の体重に対して投与する。

【０３８１】

１つ以上の治療サイクルの後または治療サイクル中（例えば、第２の治療サイクルの１４～２１日目または第２の治療サイクルの２１～２８日目）、対象を評価し（例えば、臨

床検査または診断検査を通じて）、対象が治療スケジュールに留まるべきかどうかを決定することができる。例えば、１以上の２８日間治療サイクル（例えば、１、２、３、４、５、または６の２８日間治療サイクル）の後またはその間に、対象を評価（例えば、臨床評価および／または診断評価）することができる。評価に応じて、対象は治療を中止するか、治療サイクルを追加して治療を継続するか、進行または許容できない毒性が認められるまで治療を継続することで維持療法を開始する。対象が治療を継続する場合、１以上の追加治療サイクルの後に、対象をさらに評価することができる。継続的な評価に応じて、対象は治療を中止するか、治療サイクルを追加して治療を継続するか、進行または許容できない毒性が認められるまで治療を継続することで維持療法を開始する。

【０３８２】

本発明は、対象が検出可能な癌を有さないことを示す評価の後、例えば、ＲＯＲ２発現癌に対して陰性である（すなわち、診断検査が対象において癌を検出できない）診断検査の後、対象が治療サイクル（例えば、２週間の治療サイクルまたは３週間の治療サイクル）に留まる実施形態を包含する。例えば、いくつかの実施形態では、対象、このような評価の後、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２またはそれ以上の治療サイクルの間、治療サイクルを継続する。いくつかの実施形態では、対象は、少なくとも２、３以下、４以下、５以下、または６以下の治療サイクルの間、治療サイクルを継続する。癌の有無や重症度の判定に用いられる診断検査の一例として、陽電子放射断層撮影法（ＰＥＴ）がある。

【０３８３】

いくつかの実施形態において、対象は、１以上、好ましくは２以上（例えば、１、２、３、４、５、または６）の治療サイクル（例えば、４週間の治療サイクル）の後に、進行または許容できない毒性が現れるまで治療を継続することにより、維持療法を開始する。一部の実施形態では、対象は、検出可能な癌がほとんどないことを示す評価後、例えば、対象者が完全奏効を得たことを示す評価後、進行または許容できない毒性が認められるまで治療を継続することにより、維持療法を開始する。本明細書で使用される維持療法とは、抗体薬物コンジュゲートを用いた治療であるが、進行または許容できない毒性が認められるまで治療を継続することにより、同じ投与量または異なる投与量のいずれかで、投与スケジュールを減らして行う治療を指す。維持療法中、抗体薬物コンジュゲートは、好ましくは、少なくとも２週間の治療期間に１回、３週間の治療期間に１回、２週間の治療期間の１日目と８日目、または３週間の治療期間の１日目と８日目に投与される。これらの維持療法サイクルの後、対象をさらに評価し（例えば、臨床検査または診断検査により）、対象が維持療法を継続すべきか、通常の治療を継続すべきか、または治療を中止すべきかを決定することができる。一部の実施形態では、維持療法は２週間から４週間に１回、または３週間から６週間に１回行われる。維持療法中に投与される抗体薬物コンジュゲートの投与量は、例えば、１回当たり約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、より好ましくは約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約２．４ｍｇ／ｋｇ体重の範囲であり得、１．８ｍｇ／ｋｇ体重が例示的な投与量である。

【０３８４】

いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートの投与量約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、より好ましくは約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重での週１回または隔週１回の治療および評価が終了した後、対象には、抗体薬物コンジュゲートを、２～４週間に１回または３～６週間に１回、投与量約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、より好ましくは約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約２．４ｍｇ／ｋｇ体重、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重で、好ましくは隔週投与により投与されることを含む維持療法が開始される。

【０３８５】

いくつかの実施形態では、治療（例えば、１、２、３、４または５の治療サイクル）の

終了後、対象には、２週間に１回の投与スケジュール（例えば、２週間の維持療法サイクルの１日目に投与）が開始され、抗体薬物コンジュゲートの投与量は、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、より好ましくは約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約２．４ｍｇ／ｋｇ体重であり、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重が好ましい。

【０３８６】

いくつかの実施形態では、治療（例えば、１、２、３、４または５の治療サイクル）の終了後、対象には、３週間に１回の投与スケジュール（例えば、３週間の維持療法サイクルの１日目に投与）が開始され、抗体薬物コンジュゲートの投与量は、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重～約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約０．６ｍｇ／ｋｇ体重～約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは約１．２ｍｇ／ｋｇ体重～約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、より好ましくは約１．５ｍｇ／ｋｇ体重～約２．４ｍｇ／ｋｇ体重であり、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重が好ましい。

【０３８７】

本発明は、対象が、抗体薬物コンジュゲートの週投与量を、分割送達としてまたは週１回投与として投与され、週間の総投与量が約０．３ｍｇ／ｋｇ体重から約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重から約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重から約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重から約２．４ｍｇ／ｋｇ体重であり、約１．８ｍｇ／ｋｇ体重が好ましく、３週間のうち２週間を１、２、３、４、５、または６の２１日間治療サイクルとし、その後２週間から４週間ごとに、好ましくは２週間ごとに、抗体薬物コンジュゲートを約０．４ｍｇ／ｋｇ体重から約２ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重から約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、または約０．８ｍｇ／ｋｇ体重から約１．８ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で投与し、２以上の維持療法サイクルを行う実施形態を含む。一部の実施形態では、週１回の投与は２、３、４、５、６、７、８、９または１０以上の治療サイクルであり、隔週１回の投与は２、３、４、５、６、７、８、９または１０以上の維持療法サイクルである。いくつかの実施形態では、（隔）週１回の投与サイクルは、２、３、４、５、または６以下の治療サイクルとなる。

【０３８８】

本発明は、対象が、抗体薬物コンジュゲートの週投与量を、分割送達としてまたは週１回投与として投与され、週間の総投与量が約０．３ｍｇ／ｋｇ体重から約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重から約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、約１．２ｍｇ／ｋｇ体重から約２．０ｍｇ／ｋｇ体重、約１．５ｍｇ／ｋｇ体重から約２．４ｍｇ／ｋｇ体重であり、４週間のうち３週間を、１、２、３、４、５、または６の２８日間治療サイクルとし、その後、抗抗体薬物コンジュゲートを３～６週間ごと、好ましくは３週間ごとに、約０．３ｍｇ／ｋｇ体重から約３．３ｍｇ／ｋｇ体重、約０．６ｍｇ／ｋｇ体重から約１．８ｍｇ／ｋｇ体重、または約１．２ｍｇ／ｋｇ体重から約２．０ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で投与し、２回以上の維持療法サイクルを行う実施形態を含む。一部の実施形態では、１週間ごとの投与サイクルは、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０以上の治療サイクルとなり、３週間ごとに１回の投与スケジュールは、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０以上の維持療法サイクルとなる。いくつかの実施形態では、３週間ごとに１回の投与サイクルは、２、３、４、５、または６以下の治療サイクルとなる。

【０３８９】

本発明は、対象が、抗体薬物コンジュゲートの週投与量を、分割送達としてまたは週１回投与として投与され、週間の総投与量が約０．８ｍｇ／ｋｇ患者体重から約１．８ｍｇ／ｋｇ体重であり、３週間のうち２週間（例えば、２１日間の治療サイクルの１日目と８日目）に、１、２、３、４、５、または６の２１日間の治療サイクルを行い、その後、２週間から４週間ごとに、好ましくは２週間ごとに、体重あたり約１．８ｍｇ／ｋｇの抗体薬物コンジュゲートを、２以上の維持療法サイクルにわたって投与する実施形態を含む（例えば、２週間ごとに体重あたり約１．８ｍｇ／ｋｇを、２以上の２週間の維持療法サイ

クル）。好ましくは、抗体薬物コンジュゲートの隔週投与量は、２以上の維持療法サイクルでは、体重あたり約０．８ｍｇ／ｋｇである（例えば、２週間ごとに体重あたり約０．８ｍｇ／ｋｇを投与し、２以上の２週間の維持療法サイクル）。

【０３９０】

本発明は、対象が、抗体薬物コンジュゲートの週投与量を、分割送達としてまたは週１回投与として投与され、週間の総投与量が約０．８ｍｇ／ｋｇ対象体重から約１．８ｍｇ／ｋｇであり、４週間のうち３週（例えば、２８日間の治療サイクルの１日目と８日目）に１、２、３、４、５、または６の２８日間の治療サイクルを行い、その後３～６週間ごとに投与する実施形態を含む。抗体薬物コンジュゲートの３週間に１回の投与量は、２以上の維持療法サイクルでは体重あたり約１．８ｍｇ／ｋｇの投与量とすることができる（例えば、３週間に１回、体重あたり約１．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、３週間の維持療法サイクルを２以上行う）。抗体薬物コンジュゲートの３週間に１回の投与量は、２以上の維持療法サイクルでは、体重あたり約０．８ｍｇ／ｋｇの投与量とすることができる（例えば、３週間に１回体重あたり約０．８ｍｇ／ｋｇの投与量で、３週間の維持療法サイクルを２以上行う）。

【０３９１】

本発明は、対象が、本発明のｍＡｂＢＡ３０１切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）抗体－薬物コンジュゲートで治療されるが、（隔）週投与レジメン以外のスケジュールで治療され（例えば、抗体薬物コンジュゲートを約１．８ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で１週間もしくは２週間ごとに１もしくは２週間以上の治療サイクルで投与するか、または３週間ごとに１回、３週間以上の治療サイクルで投与する）、１、２、３、４、５、または６を超えない治療サイクルで、本明細書に記載の週１回投与レジメンに切り替える実施形態を含む。週１回の投与レジメンの後、患者は任意で、本明細書に記載されるような維持療法を開始することができる。

【０３９２】

抗体薬物コンジュゲートは、好ましくは単剤療法として投与される。「単剤療法」という用語は、抗体薬物コンジュゲートが治療サイクル中に対象に投与される唯一の抗癌剤であることを意味する。しかし、他の治療薬も、本明細書に記載されているように対象に投与することができる。例えば、プログラム死受容体－１（ＰＤ－１）遮断抗体、顆粒球コロニー刺激因子またはその類似体を抗体薬物コンジュゲートと共投与することができる。さらに、例えば炎症、疼痛、体重減少、全身倦怠感など、基礎にある癌そのものではなく、癌に関連する症状を治療するために、抗炎症剤または他の薬剤を、癌を有する対象に投与することも、単剤療法の期間中に可能である。本発明の方法で治療される対象は、抗抗体薬物コンジュゲートを投与する前に、抗癌剤による前治療を終えていることが好ましい。いくつかの実施形態において、対象は、抗体薬物コンジュゲートによる治療の少なくとも１週間前（好ましくは、２、３、４、５、６、７、または８週間前）に、抗癌剤による前治療を完了している。対象はまた、好ましくは、抗体薬物コンジュゲートによる最初の治療サイクルの終了後少なくとも２週間（好ましくは少なくとも３、４、５、６、７、または８週間）、好ましくは抗体薬物コンジュゲートの最終投与終了後少なくとも２週間（好ましくは少なくとも３、４、５、６、７、または８週間）、追加の抗癌剤による治療を受けない。本発明の方法は、ＲＯＲ２発現腫瘍の治療のために、対象に本発明の抗ＲＯＲ２抗体もしくは抗体断片、または抗ＲＯＲ２抗体もしくは抗体断片を含む免疫コンジュゲートを投与することを包含する。

【０３９３】

いくつかの実施形態では、本発明の抗ＲＯＲ２抗体または抗体フラグメントを含む免疫コンジュゲートを対象に投与し、抗ＲＯＲ２抗体がＲＯＲ２発現腫瘍細胞に結合した後、抗体薬物コンジュゲートが細胞内に内在化し、薬物が放出される。例えば、本発明の方法は、ＲＯＲ２発現腫瘍の治療のために、対象にＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）抗体薬物コンジュゲートを投与することを包含する。結合後、ＢＡ３０２１－切断可能リンカー－ＭＭＡＥ（ｎ）抗体薬物コンジュゲートは腫瘍細胞内に取り込まれ、そ

こでペプチドリンカーがプロテアーゼによって切断され、ＭＭＡＥが放出される。ＲＯＲ２を発現している腫瘍細胞に特異的にＭＭＡＥを送達することで、腫瘍細胞のさらなる増殖が抑制され、腫瘍の縮小が期待される。

【０３９４】

本発明の方法で治療する対象は、ＲＯＲ２発現癌と診断された、またはＲＯＲ２発現癌が疑われる対象である。診断は、例えば、組織生検を含む当該技術分野で既知の方法によって行うことができる。

【０３９５】

Ｇ．製品およびキット

本発明の別の態様において、抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片および上記障害の治療、予防および／または診断に有用な他の材料を含有する製品が提供される。製品は、容器および容器上または容器に伴うラベルまたは添付文書を含む。好適な容器としては、例えば、瓶、バイアル、注射器、ＩＶ溶液バッグなどが挙げられる。容器は、種々の材料、例えばガラスまたはプラスチックから形成することができる。容器は、組成物それ自体、または病態の治療、予防、および／もしくは診断に有効な別の組成物との組合せである組成物を保持し、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内溶液バッグまたは皮下注射針により貫通可能な栓を有するバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも１つの活性剤は、本発明の抗体または抗体断片である。ラベルまたは添付文書は、組成物が選択される病態の治療に使用されることを示す。さらに、製品は、（ａ）抗体または抗体断片を含む組成物を中に含有する第１の容器；および（ｂ）さらなる細胞毒性剤または他の治療剤を含む組成物を中に含有する第２の容器を含み得る。本発明のこの実施形態における製品は、組成物を特定の病態を治療するために使用することができることを示す添付文書をさらに含み得る。あるいは、またはさらに、製品は、薬学的に許容可能な緩衝液、例えば、注射用の静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液およびデキストロース溶液を含む第２（または第３）の容器をさらに含み得る。これは、商業的および使用者の見地から望ましい他の材料、例として、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針および注射器をさらに含み得る。

【０３９６】

上記製品のいずれも、抗ＲＯＲ２抗体または抗体断片に代えて、またはそれに加えて本発明の免疫コンジュゲートを含み得ることが理解される。

【０３９７】

最後に、本発明はまた、少なくとも１つの本発明の抗体または抗体断片を含むキットを提供する。本発明のポリペプチド、抗体もしくは抗体断片、または抗体薬物コンジュゲートを含有するキットは、ＲＯＲ２発現（増加または減少）の検出において、または治療もしくは診断アッセイにおいて使用される。本発明のキットは、固体担体、例えば、組織培養プレートまたはビーズ（例えば、ｓｅｐｈａｒｏｓｅビーズ）にカップリングしている抗体を含有し得る。例えば、ＥＬＩＳＡまたはウェスタンブロットにおける、インビトロでのＲＯＲ２の検出および定量のための抗体を含有するキットを提供することができる。検出に有用なこのような抗体は、標識、例えば、蛍光または放射標識とともに提供することができる。

【０３９８】

キットは、その使用に関する説明書をさらに含有する。一部の実施形態において、説明書は、Ｕ．Ｓ．Ｆｏｏｄ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎによりインビトロ診断キットに要求される説明書を含む。一部の実施形態において、キットは、試料中の脳脊髄液の存在または不存在を、前記試料中のＲＯＲ２の存在または不存在に基づき診断するための説明書をさらに含む。一部の実施形態において、キットは、１つ以上の抗体または抗体断片を含む。他の実施形態において、キットは、１つ以上の酵素、酵素阻害剤または酵素活性化剤をさらに含む。さらに他の実施形態において、キットは、１つ以上のクロマトグラフィー化合物をさらに含む。さらに他の実施形態において、キットは、分光光度アッセイ用の試料を調製するために使用される１つ以上の化合物をさらに含む。さ

らなる実施形態において、キットは、指示薬の強度、色スペクトル、または他の物理的属性に従ってＲＯＲ２の存在または不存在を解釈するための比較参照材料をさらに含む。

【０３９９】

Ｈ．腫瘍におけるＲＯＲ２の細胞膜スコアリング（腫瘍膜Ｐスコア）

腫瘍細胞では、ＲＯＲ２は主に細胞膜に局在するが、細胞質にも観察される。

【０４００】

本発明では、各検体の連続切片におけるＲＯＲ２染色を比較するために、スコアリング法を用いる。この方法を用いて、ＲＯＲ２細胞膜染色を腫瘍細胞のみでスコア化し、ＲＯＲ２腫瘍スコアリング（以下、「腫瘍膜パーセントスコア」または（ＴｍＰＳ））を提供する。

【０４０１】

ＲＯＲ２をスコア化するために使用されるアプローチは、以下に記載されるように、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）腫瘍検体における免疫組織化学（ＩＨＣ）を含むがこれらに限定されない方法によって検出され得る。また、すべての検体はヘマトキシリン・エオジン（Ｈ＆Ｅ）で染色し、形態学的評価を行い、スコアリングに役立てる。

【０４０２】

腫瘍におけるＲＯＲ２細胞膜発現は、細胞膜染色（完全または部分的）および細胞質染色（びまん性または顆粒状）について半定量的にスコア化される。細胞膜と細胞質の反応性は別々に採点される。ＲＯＲ２細胞膜染色では、以下に示すように、差分強度におけるパーセンテージ、Ｈスコア、およびパーセントスコア１＋以上がスコアリングの主な要素である。ＲＯＲ２細胞質染色では、スコアリングの主な構成要素は、差分強度におけるパーセンテージとＨスコアである。

【０４０３】

ＲＯＲ２について腫瘍組織をスコアリングする場合、間質、非腫瘍領域、隣接する正常組織における周囲の染色は除外して数値でスコアリングする。虚血部位や壊死部位は、いかなる癌適応症においても採点されない。パーセントスコアは、検体ごとの細胞膜染色の浸透度を表すために割り当てられる。パーセンテージは、以下のいずれかの増分を含むがこれに限定されない増分で推定され、報告される：０、１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９７、９８、９９、または１００％。本発明の特定の実施形態では、ＲＯＲ２発現腫瘍は、少なくとも１、少なくとも５、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも３５、少なくとも４０、少なくとも４５、少なくとも５０、少なくとも５５、少なくとも６０、少なくとも６５、少なくとも７０、少なくとも７５、少なくとも８０、少なくとも８５、少なくとも９０、または少なくとも９５％のＴｍＰＳを有する。

【０４０４】

癌適応症を問わず、マクロファージ以外の腫瘍における細胞膜上のＲＯＲ２発現を完全に理解するために、標準的なパーセントスコアとＨスコアの両方のアプローチを用いて、観察された反応性のパターンを捉える。

【０４０５】

どちらのアプローチも、４段階の半定量的なスケール（０、１＋、２＋、３＋）を用いて、対応する差分強度でＲＯＲ２染色を有する腫瘍細胞のパーセンテージを記録する必要がある。　このスケールでは、０＝ｎｕｌｌ、陰性、または非特異的染色、１＋＝低濃度または弱い染色、２＋＝中濃度または中程度の染色、３＋＝高濃度または強い染色である。

【０４０６】

パーセントスコア法

パーセントスコアは、１＋以上、２＋以上、３＋以上のいずれかの強度のパーセンテージを合計することで算出される。したがって、スコアは０から１００の範囲である。

パーセントスコア１＋以上＝（１＋での％）＋（２＋での％）＋（３＋での％）

パーセントスコア２＋以上＝（２＋での％）＋（３＋での％）
パーセントスコア３＋以上＝（３＋での％）。
【０４０７】
Ｈスコア法
Ｈスコアは、発現強度（茶色い染色）を持つ細胞の割合に、対応する差分強度を４段階の半定量スケール（０、１＋、２＋、３＋）で掛けたものを合計して算出する。したがって、スコアは０から３００の範囲である。
Ｈスコア＝［（１未満での％）ｘ０］＋［（１＋での％）ｘ１］＋［（２＋での％）ｘ２］＋［（３＋での％）ｘ３］
【０４０８】
ヒト癌組織におけるＲＯＲ２発現の解析については、反応性の尺度として提供される数値スコアリングデータにより半定量的に評価される。腫瘍細胞の１０％以上に１＋以上の強度の細胞膜染色が認められた場合、検体はＲＯＲ２に対して「陽性」とみなされる。
【０４０９】
以下の実施例は、限定されるものではないが、本開示の軟ゼラチンカプセル剤の説明のためのものである。当分野において通常見出され、当業者に明らかである種々の条件およびパラメータの他の好適な改変および適合が本開示の範囲内である。
【実施例】
【０４１０】
実施例１：ＲＯＲ２に対する条件的に活性な生物学的（ＣＡＢ）抗体
【０４１１】
本実施例においてヒトＲＯＲ２に対する抗体を産生した。ＲＯＲ２に対するヒト化抗体を野生型抗体として使用してＲＯＲ２に対するＣＡＢ抗体を生成した。野生型抗体（重鎖および軽鎖可変領域）をコードするＤＮＡを進化させて突然変異抗体重鎖および軽鎖可変領域ライブラリーを生成した。ライブラリー中の突然変異重鎖および軽鎖可変領域を、ＥＬＩＳＡによりｐＨ７．４と比べたｐＨ６．０におけるヒトＲＯＲ２に対する選択的結合親和性についてスクリーニングした（図２Ａ～２Ｂおよび３Ａ～３Ｂ）。同時に、突然変異抗体の発現レベルも、後続の製造プロセスにおけるより高い収量を提供する目的のために最適化した。スクリーニングは、スクリーニングについて偽陽性を引き起こし得る血清中のヒト抗体が存在するため、ＦＬＡＧタグを使用して血清中で行った。生成された条件的に活性な抗体は、ｐＨ７．４におけるＲＯＲ２に対する結合親和性よりも高いｐＨ６．０におけるＲＯＲ２に対する結合親和性を有することが見出された（表１および２）。
【０４１２】
ＣＡＢ抗体は、図４に実証されるとおり緩衝液中で凝集を示さなかった。ＣＡＢ抗体をサイズ排除クロマトグラフィーにより分析した。図４に示されるとおり、１つのピークのみが検出され、抗体がほとんど凝集せず、または全く凝集しないことを実証した。図５は、選択された突然変異抗体（ｓｃＦｖ）の一部が、ｐＨ７．４におけるＲＯＲ２に対する結合親和性よりも高いｐＨ６．０におけるＲＯＲ２に対する結合親和性を実証したことを示す。さらに、図５は、室温から６０℃への温度上昇が抗体の選択性を有意に変更しなかったことも示す。
【０４１３】
条件的に活性な抗体は全て、以下の表４に示されるとおり高い発現レベルを示し、列「クローン」は抗体を示し、発現レベルをｍｇ／ｍｌで第２の列に示す。
【０４１４】
これらの抗体のクローンをサービス提供業者に予測発現レベルを表す要求される発現レベル（「オーダー量」）で送付した。しかしながら、これらの抗体のいくつかの実際の発現レベル（「送達量」）は極めて高く、予測発現レベルを超過した。少なくとも３つのクローンは、予測発現レベルを超過する発現レベルを有した（ＢＡＰ０４８．７．０６７－ＨＣ－ＦＬＡＧ、ＢＡＰ０４８．７－Ｃ０２Ｄ０９－ＦＬＡＧ、およびＢＡＰ０４８．７－Ａ０３Ｆ０１－ＦＬＡＧ）。

【表４】

表4.高い発現レベルを有する抗体

クローン	[mg/mL]	推定収量	実収量
BAP048.1-06-07	4.9	100	137
BAP048.7-06-07	3.7	100	94
BAP048.7-C02D09	3.8	30	57
BAP048.7-A03F01	4.4	30	65
BAP048.7-A03C05	4.2	30	36

【０４１５】

表面プラズモン表面（ＳＰＲ）も使用して条件的に活性な抗体をアッセイしてＲＯＲ２への結合についてのオンおよびオフ速度を計測した。ＳＰＲアッセイを使用してタンパク質結合についてのオンおよびオフ速度を計測することができる。条件的に活性な抗体のインビボのオンおよびオフ速度（動物およびヒトにおけるもの）は、重要な特徴である。

【０４１６】

条件的に活性な抗体がｐＨ６．０における良好な結合親和性を有し、ｐＨ７．４における結合親和性をほとんど有さず、または全く有さないことが観察された（図６Ａ～６Ｂ）。ＳＰＲアッセイは、それらの同一の条件的に活性な抗体がｐＨ７．４と比較してｐＨ６．０において高度に選択的であることを示した（図６Ａ～６Ｂ）。

【０４１７】

実施例２：モデル毒素にコンジュゲートしている抗ＲＯＲ２抗体

【０４１８】

本発明の抗ＲＯＲ２抗体を、モデル毒素（例えば、パクリタキセル）にコンジュゲートさせて条件的に活性な抗体－薬物コンジュゲート（ＲＯＲ２－ＣＡＢ－ＡＤＣ）を産生した。

【０４１９】

マウスにおいて腫瘍をＭＤＡ－ＭＢ－４３６腫瘍細胞の注射により誘導してゼノグラフトマウスを産生した。次いで、ＲＯＲ２－ＣＡＢ－ＡＤＣをゼノグラフトマウス中に０．３または１ｍｇ／ｋｇの投与量において２週間、週１回注射した。本試験において使用される対照は、ビヒクルとしてのＰＢＳ緩衝液および毒素単独（パクリタキセル）を含んだ。試験は、ＲＯＲ２－ＣＡＢ－ＡＤＣが、対照と比較して腫瘍のサイズの有意に大きな低減を提供することを示した（図７Ａ～７Ｃ）。０．３ｍｇ／ｋｇ投与量群についての結果を図７Ｂに提示し、１ｍｇ／ｋｇ投与量群についての結果を図７Ｃに提示する。この試験は、毒素にコンジュゲートしている抗ＲＯＲ２抗体が腫瘍サイズの低減において有効であることを示した。

【０４２０】

実施例３．条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８のｐＨ依存的結合親和性

【０４２１】

本発明により同定された条件的に活性な抗体の１つ、ＢＡＰ０４８（または図面の一部に示されるＢＡＰ０４８．７）の結合親和性を、ｐＨ滴定により試験した。野生型抗体を対照として使用した。図８に示されるとおり、条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８は、ｐＨ６．５よりも低いｐＨにおいてより活性であるが、ｐＨ７．０においては低活性である。野生型抗体は、その結合親和性についてｐＨ依存性を示さない。

【０４２２】

実施例４．条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８の異種間結合親和性

【０４２３】

条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を、ヒトＲＯＲ２の条件的結合親和性について選択した。ＥＬＩＳＡを使用してこの条件的に活性な抗体を３つの標的：ヒトＲＯＲ２（ｈＲＯＲ２）、カニクイザルＲＯＲ２（ｃｙｎｏＲＯＲ２）、およびマウスＲＯＲ２（ｍＲＯＲ２）に対するその結合親和性について試験した（図９）。条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８は、ヒトおよびカニクイザルＲＯＲ２に対するほぼ同一の結合親和性を示したが、マウスＲＯＲ２に対する有意に低い結合親和性を示した。３つの標的についての条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８のＥＣ５０は、ヒトＲＯＲ２について２０１．４ｎｇ／ｍｌ、カニクイザルＲＯＲ２について３２７．１ｎｇ／ｍｌ、およびマウスＲＯＲ２について７６５３ｎｇ／ｍｌであると算出された。

【０４２４】

実施例５．条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートによる細胞殺傷

【０４２５】

条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を化学療法薬モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）にコンジュゲートさせて抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）を産生した。ＡＤＣを、ヒトＲＯＲ２を細胞表面上で発現するＨＥＫ２９３細胞に対して試験した。この試験に使用される陰性対照は、親和性一致抗体であるが、ヒトＲＯＲ２に特異的でないものである。陰性対照もＭＭＡＥにコンジュゲートさせた。

【０４２６】

ＢＡＰ０４８ＡＤＣを２つのｐＨ：６．０および７下で試験した。陰性対照により処理された細胞に対する、処理後に生存したままの細胞の割合を図１０に提示する。ＢＡＰ０４８ＡＤＣが１００ｎｇ／ｍｌ未満の濃度においてｐＨ６．０において細胞殺傷活性を呈する一方、ｐＨ７．４においてＢＡＰ０４８ＡＤＣは約１０００ｎｇ／ｍｌにおいて細胞殺傷を示すことが観察され、有効濃度の差は約１０倍であった。

【０４２７】

ＢＡＰ０４８ＡＤＣの細胞殺傷活性を、ＬＣＬＣ１０３Ｈ細胞およびＨＴ１０８０細胞に対しても試験した。ヒト肺癌細胞系であるＬＣＬＣ１０３Ｈ細胞について、ＢＡＰ０４８ＡＤＣの細胞殺傷活性を、ｐＨ６．０、６．２、および６．４において試験した（図１１Ａ～１１Ｃ）。ＢＡＰ０４８ＡＤＣの細胞殺傷活性の差は３つの試験ｐＨ値間で有意に異なるものではなく、ＩＣ５０は、１．８１９ｎｇ／ｍｌ（ｐＨ６．０）、１．２３２ｎｇ／ｍｌ（ｐＨ６．２）、および３．３１８ｎｇ／ｍｌ（ｐＨ６．５）であった。

【０４２８】

線維肉腫細胞系であるＨＴ１０８０細胞についても、ＢＡＰ０４８ＡＤＣの細胞殺傷活性を、ｐＨ６．０、６．２，および６．４において試験した（図１２Ａ～１２Ｃ）。ＢＡＰ０４８ＡＤＣの細胞殺傷活性の差は３つの試験ｐＨ値間で有意に異なるものではなく、ＩＣ５０は、２．８９７ｎｇ／ｍｌ（ｐＨ６．０）、３．１３８ｎｇ／ｍｌ（ｐＨ６．２）、および２．６０１ｎｇ／ｍｌ（ｐＨ６．５）であった。

【０４２９】

実施例６．条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートによるマウスにおける腫瘍の処理

【０４３０】

肺癌細胞ＬＣＬＣ１０３Ｈをマウス中に注射してマウスゼノグラフト（マウス中の腫瘍）を生成した。条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８をＭＭＡＥにリンカーチオ架橋を介してコンジュゲートさせ、２つの濃度１ｍｇ／ｋｇおよび６ｍｇ／ｋｇにおけるマウスへの注射のためのＡＤＣを生成した。陰性対照は、ＡＤＣを有さない緩衝液（ビヒクル）であった。一方の投与量群を、１ｍｇ／ｋｇ投与量において３回の投与について週１回注射し、他方の投与量群を６ｍｇ／ｋｇ投与量において４回の投与について４日毎に注射した。

【０４３１】

試験の間、腫瘍の体積を計測した。６ｍｇ／ｋｇ投与量群においては、腫瘍サイズが、ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥ　ＡＤＣにより３０日目までに有意に縮小することが観察された。１ｍｇ／ｋｇ投与量群においては、腫瘍成長が、ビヒクル対照と比較してＢＡＰ０４８

－ＭＭＡＥ　ＡＤＣにより減速した（図１３）。
【０４３２】
実施例７．条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートにおけるリンカーの効果
【０４３３】
条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８ＭＭＡＥコンジュゲーションのリンカーの効果を、２つの異なるリンカー：ｍｃ－ｖｃ－ＰＡＢおよびｍｃ－ＰＥＧ８－ｖｃを使用して試験した（図１４）。同一の陰性対照（ビヒクル）を使用した。これら２つのＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートを、１ｍｇ／ｍｌの単回投与量においてマウスゼノグラフト中に注射した。試験の間、腫瘍のサイズを計測した。両方のＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートが陰性対照と比較して腫瘍の成長を有意に減速させたが、２つのＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲート間の差は有意でないことが観察された（図１４）。したがって、ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートに対するリンカーの影響は有意でないと考えられる。
【０４３４】
実施例８．条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８によるマウス中の腫瘍の処理
【０４３５】
本実施例は実施例６と類似するが、マウス中の腫瘍を誘導するために使用される細胞は異なった。本実施例において使用される２つの細胞系は、ＨＴ１０８０細胞（線維肉腫細胞系）およびＭＤＡ－ＭＢ－４３６細胞（乳癌細胞系）である。
【０４３６】
ＨＴ１０８０により誘導されたマウスゼノグラフトについて、条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を、ｍｃ－ｖｃ－ＰＡＢのリンカーによりＭＭＡＥにコンジュゲートさせた。３つの投与量群を使用した：４回の投与について４日毎の６ｍｇ／ｋｇ、３回の投与について週１回の１０ｍｇ／ｋｇ、および４回の投与について４日毎の１０ｍｇ／ｋｇ（図１５Ａ）。２つの対照を使用した：一方は抗体もＭＭＡＥも有さないビヒクルであり、他方はＭＭＡＥにコンジュゲートしていないＢＡＰ０４８抗体である。
【０４３７】
腫瘍は、２つの対照群により着実に成長することが観察された。腫瘍体積の増加は、条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートにより有意に減速した。腫瘍成長の阻害は投与量依存的であり、最大投与量群、４回の投与の４日毎の１０ｍｇ／ｋｇにより、腫瘍成長の最大低減を示した（図１５Ａ）。
【０４３８】
ＭＤＡ－ＭＢ－４３６により誘導されたマウスゼノグラフトについて、条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８を同様にｍｃ－ｖｃ－ＰＡＢによりＭＭＡＥにコンジュゲートさせた。１つのみの投与量群が存在した：４回の投与について４日毎の６ｍｇ／ｋｇ、対照としてビヒクル（抗体もＭＭＡＥもなし）（図１５Ｂ）。腫瘍は対照群により着実に成長することが観察された。腫瘍体積の増加は、条件的に活性な抗体ＢＡＰ０４８－ＭＭＡＥコンジュゲートにより有意に低減した（図１５Ｂ）。
【０４３９】
しかしながら、本発明の多数の特徴および利点を、本発明の構造および機能の詳細と一緒に上記の詳細な説明において記載してきたが、本開示は、説明のためのものにすぎず、変更を詳細に、特に本発明の原理内でパーツの形状、サイズおよび配置の事項において、添付の特許請求の範囲が表現される用語の広義の一般的意味により示される完全な程度に作製することができることを理解すべきである。
【０４４０】
実施例９　ＢＡ３０２１による第Ｉ／ＩＩ相試験
【０４４１】
ＢＡ３０２１（配列番号１６および２１－ＭＭＡＥ）を用いた第１相投与量漸増臨床試験が、切除不能または転移性の局所進行性固形腫瘍（ＮＳＣＬＣおよび黒色腫を含む）を有する、標準療法に抵抗性または難治性の患者を対象に実施された。コホートには、ＢＡ

３０２１を０．３ｍｇ／ｋｇから３．３ｍｇ／ｋｇの範囲で３週間に１回（Ｑ３Ｗ）、または１．５ｍｇ／ｋｇから１．８ｍｇ／ｋｇの範囲で３週間に２回、１日目と８日目に投与した（２Ｑ３Ｗ）。

【０４４２】

５９人の対象が９つの投与量コホートに登録された：０．３ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（１名）、０．６ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（１名）、１．２ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（１名）、１．８ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（３名）、２．４ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（１６名）、３．０ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（１９名）、３．３ｍｇ／ｋｇＱ３Ｗ（５名）、１．２ｍｇ／ｋｇ２Ｑ３Ｗ（３名）、１．５ｍｇ／ｋｇ２Ｑ３Ｗ（３名）、および１．８ｍｇ／ｋｇ２Ｑ３Ｗ（７名）。本試験に登録された固形腫瘍の種類は、軟部組織肉腫（４０例）、ＮＳＣＬＣ（６例）、黒色腫（２例）、膵臓（２例）、非ＴＮＢＣ（２例）、結腸直腸、ＴＮＢＣ、ＧＩＳＴ、尿膜管、ファーター膨大部、直腸カルチノイド、頭頸部（各１例）であった。

【０４４３】

図１６に示すように、ＢＡ３０２１による治療は転移性黒色腫の患者１人に完全奏効をもたらした。この患者は治療開始後２年以上経過しても無増悪のままであった。さらに、ＮＳＣＬＣ患者２人（～３１％および～４９％の腫瘍縮小）と進行頭頸部癌患者１人（～５４％の腫瘍縮小）が有意な部分奏効を示した。

【０４４４】

試験の初期には２人の転移性黒色腫患者が登録された（図１７）。ＲＯＲ２陽性の患者は著明な持続的部分奏効を得た。さらに、ニボルマブとニボルマブ＋イピリムマブの両方で治療失敗を経験したこの患者は、オズリフタマブ・ベドチン（ＢＡ３０２１）投与開始後２年以上経過しても完全奏効を達成し、病気進行も認められなかった。完全奏効を達成した転移性黒色腫患者は、２つの転移性肺病変のうち１つが消失した（図１８）。さらに、頸部リンパ節が異常に腫大した病変の治療前の生検で、活動性の黒色腫が認められた。その後、同じリンパ節の治療中の生検で、黒色腫の証拠は認められなかった。

【０４４５】

投与量漸増段階に登録された６人のＮＳＣＬＣ患者のうち、２人の患者は持続的部分奏効を達成し、３人目の患者は程度の差こそあれ腫瘍縮小を経験した。ＢＡ３０２１に部分奏効した２例のＮＳＣＬＣ患者は、ＲＯＲ２のＴｍＰＳが７０％以上であった。腫瘍の縮小を経験した３人目の患者については、ＲＯＲ２　ＴｍＰＳの特徴は明らかにされなかった。末期ＮＳＣＬＣで骨転移を有し、ＲＯＲ２　ＴｍＰＳが１００％であった別の患者は、ＢＡ３０２１の最適投与量以下（１．２ｍｇ／ｋｇ　２Ｑ３Ｗ）で治療され、転移性骨病変が進行する前に腫瘍の縮小を経験した。本試験に登録したＮＳＣＬＣ患者はすべて、ＰＤ－１療法による治療歴があった。

【０４４６】

さらに、頭頸部癌患者の１人が部分奏効を達成し、腫瘍サイズが５４％縮小した。

【０４４７】

ＢＡ３０２１の忍容性は概して良好であった。正常なＲＯＲ２発現組織のオンターゲット傷害に関連すると思われる有害事象（ＡＥ）は観察されなかった。報告された毒性は、遊離ＭＭＡＥのオフターゲット効果と一致しており、市販されている他のＭＭＡＥベースのＡＤＣで報告されている毒性と一致していた。

【０４４８】

第１相試験において、ＢＡ３０２１に関連すると判断されたグレード３以上のＡＥまたは重篤な有害事象（ＳＡＥ）は、ＭＭＡＥに基づく毒性と一致しており、一般的に可逆的な骨髄抑制（ＡＥ：好中球減少、貧血）、一過性の肝酵素上昇（ＡＥ：ＡＳＴ／ＡＬＴ上昇）、代謝異常（ＡＥ：低ナトリウム血症、低カリウム血症）のいずれかに分類される。ＳＡＥを経験した患者は合計２３人（３９％）であり、そのうち１１人（１８．６％）は治療に関連すると考えられる重篤な治療緊急有害事象（ＴＥＡＥ）であった。

【０４４９】

第２相投与量（１．８ｍｇ／ｋｇ　Ｑ２Ｗ）では、ＢＡ３０２１の忍容性は良好であり

、治療関連グレード３－４のＡＥを発現した患者は少なかった（１．８ｍｇ　１Ｑ３Ｗ：３３．３％（１／３）貧血、１．８ｍｇ　２Ｑ３Ｗ：４２．９％（３／７）疲労、低ナトリウム血症、高血糖）、ＳＡＥを発現した患者は少なかった（１．８ｍｇ／ｋｇ　Ｑ３Ｗ：ＳＡＥ　０件（０％）、１．８ｍｇ／ｋｇ　２Ｑ３Ｗ：ＳＡＥ　３件（４３％；感染性胆汁腫、発熱、高血糖））。これらのＳＡＥのうち、治験責任医師が治療に関連すると判断したものは２件（２８．６％）であった（１．８ｍｇ／ｋｇ　Ｑ３Ｗ：ＳＡＥ　０件（０％）；１．８ｍｇ／ｋｇ　２Ｑ３Ｗ：ＳＡＥ　２件（２８．６％；発熱、高血糖）。関連するＡＥまたはＳＡＥで治療中止に至ったものはなかった。

【０４５０】

【表５】

１．８ｍｇ／ｋｇをＱ３Ｗ（ｄ１）または２Ｑ３Ｗ（ｄ１，８）投与した患者を対象としたＢＡ３０２１第１相試験における有害事象の概要（安全性集団）

特徴	ＢＡ３０２１ １．８ｍｇ／ｋｇ （Ｑ３Ｗ） （Ｎ＝３）	ＢＡ３０２１ １．８ｍｇ／ｋｇ （２Ｑ３Ｗ） （Ｎ＝７）
何らかのＡＥ	３（１００％）	７（１００％）
ＣＴＣＡＥグレード３または４関連のＡＥ[1]	１（３３％）	３（４３％）
関連する重篤なＡＥ[1]	０	２（２９％）
死亡に至る関連ＡＥ[1]	０	０
治療中止に至った関連ＡＥ[1]	０	０

１．治験責任医師の評価による。回答がない場合は、関連ありと数える。

【０４５１】

３ｍｇ／ｋｇ　Ｑ３Ｗの投与量では、２人の患者に用量制限毒性がみられた：１人はグレード３の呼吸困難（介入なしで自己回復）、もう１人はグレード４の発熱性好中球減少症（ペグフィルグラスチムの予防投与を指示通り受けなかった対象）であったが、入院２日目に回復した。

【０４５２】

実施例１０　腫瘍膜Ｐスコア

【０４５３】

ＲＯＲ２（ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｔｙｒｏｓｉｎｅ　ｋｉｎａｓｅ－ｌｉｋｅ　Ｏｒｐｈａｎ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ　２）に対する免疫組織化学的（ＩＨＣ）染色では、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ社のモノクローナルマウスＩｇＧクローンＨ－１（Ｃａｔ　＃　ｓｃ－３７４１７４）を用いて、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織におけるＲＯＲ２を検出した（下の表６）。

【０４５４】

【表６】

抗体の仕様とＩＨＣアッセイ条件

抗体	ＲＯＲ２
供給元	Santa Cruz Biotechnology
カタログＮｏ．	ｓｃ－３７４１７４
業者のロットＮｏ．	Ｉ２７１８
ＱｕａｌＴｅｋのロットＮｏ．	ＮＴ２７９４
種／アイソタイプ	マウスＩｇＧ１
クローン	Ｈ－１
免疫原	ヒトＲＯＲ２のＣ末端にある８６８－９４３アミノ酸
希釈の目安	０．７５μｇ／ｍＬ
インキュベーション時間	１時間
前処理	ＳＨＩＥＲ７、酵素なしスチームヒート２０分
ＴｅｃｈＭａｔｅプロトコル	ＭＩＰ
検出システム	Ｐｏｌｉｎｋ－２　Ｐｌｕｓ　ＨＲＰ　マウス
クロモゲン	ＤＡＢ

【０４５５】

ＲＯＲ２のＩＨＣ染色には、ＴｅｃｈＭａｔｅ染色プラットホームを用い、以下に示すＣＳＰ（Ｃｕｓｔｏｍｅｒ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌ）を用いた。

【０４５６】

ステップ１：ＦＦＰＥ組織ブロックを４－５μｍの厚さで切り出し、切片を、正電荷を持つキャピラリーギャップのスライドガラスにマウントした。スライドは使用前にベーク（６０℃、乾熱）した。

【０４５７】

スライドの準備

ａ．マイクロトミーが行われた。４～５ミクロン（４～５μｍ）の切片をＦｉｓｈｅｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　２２－２３０－９００　Ｐｒｏｂｅ－Ｏｎ　Ｐｌｕｓ　顕微鏡スライドにマウントした。

【０４５８】

ｂ．スライドは６０℃（乾熱）で１時間以上焼成し、室温で１５分以上冷却した後、ステップ２を開始する。

【０４５９】

ステップ２：組織切片は、有機溶媒（キシレン、１００％、４回交換）、アルコール系列（１００％、７０％、３０％エタノール）、蒸留水を用いて脱脂し、組織を十分に水和させ、一次抗体やその他の検出試薬を適切に結合させる。

脱ワックス／抗原の事前取得

ａ．室温（２５℃）の無水キシレンを各５分間、４回交換する［撹拌しない］。

ｂ．室温（２５℃）の無水アルコールを２分間ずつ２回交換する［撹拌しない］。

ｃ．室温（２５℃）の７０％アルコールを２分間ずつ２回交換する［撹拌しない］。

ｄ．室温（２５℃）の３０％アルコールを２分間ずつ２回交換する［撹拌しない］。

ｅ．リンス用の室温（２５℃）の蒸留水を２回交換する［最低１６回浸漬インアウトする］。

ｆ．室温（２５℃）の蒸留水に浸したスライド（抗原取得に移る）
【０４６０】
ステップ３：組織切片を脱ワックスした後、抗原取得を行った。このステップでは、市販のスチーマー（９７℃以上で２０分間）を熱源として、対になった顕微鏡スライドの間に形成された毛細管の隙間に引き込まれた蒸気熱誘導エピトープ回収（ＳＨＩＥＲ）溶液を使用した（説明については、Ｌａｄｎｅｒら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．；６０巻、３４９３－３５０３頁、２０００年を参照）。
スチームヒート抗原取得
ａ．９８℃以上に予熱された業務用スチーマー
ｂ．ＳＨＩＥＲ　２（Ｄａｋｏ　Ｓ１７００、クエン酸塩ベース、ｐＨ６．０～６．２）またはＳＨＩＥＲ　１（ＱｕａｌＴｅｋ　製剤、クエン酸塩ベース、ｐＨ５．６～６．１）を用い、９８℃、２０分間（Ｂｌａｃｋ　＆　Ｄｅｃｋｅｒ　ＨＳ１０００　モデルスチーマーまたは同等品）で熱により抗原／エピトープを回収する。最大１０枚のスライドを、１０ｍＬの抗原／エピトープ回収液が入ったＴｅｃｈＭａｔｅ試薬トレイに入れ、きれいなブランクスライドと対にし、試薬を毛細管現象で組織上に引き上げた。
ｃ．回収後５分間冷却し、スライドペアをＴｅｃｈＭａｔｅスライドホルダーにしっかりと挿入し、吸水性のウィックパッドでＳＨＩＥＲ　１／ＳＨＩＥＲ　２から排出する。
ｄ．０．０２％　ｖ／ｖ　Ｔｗｅｅｎ－２０洗浄剤を含むトリス緩衝生理食塩水（ＴＢＳＴ、ＳＯＰ　ＭＦＢ００３に従ってＱｕａｌＴｅｋが２０倍のストック溶液として調合し、蒸留／脱イオン水で希釈後、１Ｘ溶液として使用［４℃保存］）で、毛細管現象（ドレインドロー）を利用して手作業で２回洗浄する。
【０４６１】
ステップ４：検体は、ＴｅｃｈＭａｔｅ装置プラットフォームとＭＩＰプログラム（酵素消化を含まない）またはＭＩＰＥプログラム（１：４０希釈のＰｒｏｔｅｉｎａｓｅ　Ｋによる消化を含む）を用いて、下の表７に概説した一般的手順に従ってＩＨＣ検査した。抗体の連続検出は、抗原または一次抗体に対して高い特異性を持つＩＨＣにおいて採用される。一次抗体の位置は、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）の存在下、抗原部位に不溶性の反応生成物を沈殿させる比色発色剤（ＤＡＢ）の塗布によって最終的に可視化される。細胞や組織の形態を評価するために、ヘマトキシリン（青色染色）を用いて核を対比染色する。
【０４６２】
【表７】
ＩＨＣの手順－ＴｅｃｈＭａｔｅプロトコル

ＴｅｃｈＭａｔｅ配列	試薬
１	ブロッキング試薬－１５分
２	一次抗体－１時間
３	二次抗体－２５分
４	過酸化水素ブロック－３ｘ２．５分
５	コンジュゲートワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）－２５分
６	ＤＡＢクロモゲン－３ｘ５分
７	ヘマトキシリンカウンターステイン－１分

【０４６３】
ＨＬＡ免疫組織化学
マウスＰｏｌｉｎｋ２＋ＨＲＰ試薬（Ｇｏｌｄｅｎ　Ｂｒｉｄｇｅ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ［ＧＢＩ］；Ｃａｔ＃：Ｄ３７－１１０）は、２－８℃ですぐに使用できるように保存し、以下の手順はすべてＱｕａｌＴｅｋ　ＭＩＰＥ　Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅを実行するＴｅｃｈＭａｔｅ上で室温（２５℃）で自動化する。試薬の交換（洗浄、インキュベーション）は、吸収性の高いウィックパッド（ドレーン）とテックメイト試薬トレイ（ドロー）を使用した毛細管現象（ドレーン－ドロー）で行われる。
ａ．ＴＢＳＴで３回洗浄する。
ｂ．ヤギブロッキング試薬（ＱＭＬ）、１５分
ｃ．ＴＢＳＴで１回洗浄する。
ｄ．ＱｕａｌＴｅｋ試薬製造バッファー（ＲＭＢ：０．０１Ｍ　リン酸塩、０．１５１ＭＮａＣｌ、１％　ｗ／ｖ　ＢＳＡ、０．１％　ｖ／ｖ　ＰｒｏＣｌｉｎ　３００、０．２％　ｖ／ｖ　Ｔｗｅｅｎ－２０、１％　ｖ／ｖ　正常ヤギ血清、ｐＨ７．２、ＱｕａｌＴｅｋ　によりＳＯＰ　ＭＦＢ００２に従って処方されたもの）で０．１ｍｇ／ｍＬのワーキングストック（４℃、同じくＲＭＢ中）から新鮮に希釈したＲＯＲ２（０．７５μｇ／ｍＬ）抗体クローンＨ－１（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ／ｓｃ－３７４１７４）。
ｅ．ＴＢＳＴで５回洗浄する。
ｆ．マウスＰｏｌｉｎｋ２＋２次（ＧＢＩキットの一部　Ｃａｔ＃：Ｄ３７－１１０）、２５分。
ｇ．ＴＢＳＴ洗浄バッファーで２回洗浄する。
ｈ．ペルオキシダーゼブロック（３％　ＵＳＰ　Ｈ２Ｏ２，　～０．０２％　ｖ／ｖ　Ｔｗｅｅｎ－２０添加）、３Ｘ２．５分（合計７．５分）、試薬の排出をはさむ。
ｉ．ＴＢＳＴで３回洗浄する。
ｊ．マウスＰｏｌｉｎｋ２＋ＨＲＰコンジュゲートポリマー（ＧＢＩ　Ｋｉｔ　Ｃａｔ＃の一部：Ｄ３７－１１０）、２５分
ｋ．ＴＢＳＴで５回洗浄する。
ｌ．ＧＢＩ（Ｃａｔ＃：Ｃ０９－１２）ＤＡＢクロモゲン（ポリマーインキュベーション終了時に、付属の基質バッファー１ｍＬあたり４０μｌのＤＡＢクロモゲン濃縮液を使用して新しく作った試薬）、３回５分（合計１５分）、間に試薬の排出とＴＢＳＴでの洗浄１回を挟む。
ｍ．ＴＢＳＴで４回洗浄する
ｎ．ヘマトキシリンカウンターステイン（１：５）、１分
ｏ．ＴＢＳＴで６回洗浄する。
ｐ．室温（２５℃）の蒸留水に浸したスライド（カバースリップ部に移し替える）。
【０４６４】
ステップ５：スライドはペアリングせず、蒸留水で洗浄し、アルコール系列（７０％、９５％、１００％エタノール）および有機溶媒（キシレン、１００％、４回交換）で脱水し、ＣｙｔｏＳｅａｌ（または同等品）で永久的にカバーリングして解釈と保存に使用した。スライドを顕微鏡で観察し、染色性を評価した。
【０４６５】
　ＦＦＰＥ組織中のＲＯＲ２のエピトープをアンマスクするためにＳＨＩＥＲ　７（Ｃｉｔｒａ　Ｐｌｕｓ）溶液を使用した。ＣＤ６８のエピトープをアンマスクするために、ＳＨＩＥＲ　１（クエン酸塩ベース、ｐＨ５．６－６．１）溶液を使用した。熱によるエピトープ回収後、ＱＭＬ　ｗｏｒｋｍａｔｅ　ｓｏｆｔｗａｒｅ　ｖ３．９６を作動させたＴｅｃｈＭａｔｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）を用いて工程を自動化した。この自動化されたプラットフォームでは、キャピラリー・ギャップ・プロセスを使用して、対染色を含むすべての試薬の交換と、その間のバッファー洗浄を行う。すべての工程は室温（２５℃）で行った。

【０４６６】
一次抗体と陰性コントロール抗体の作業希釈液の調製には、ヤギ血清入りの試薬製造用緩衝液［ＲＭＢ；　ＱｕａｌＴｅｋ´ｓ　Ｓａｎｔａ　Ｂａｒｂａｒａ　ｌａｂ（ＱＭＬ－ＳＢ）製］を使用した。ＦＦＰＥ切片における抗原－一次抗体相互作用部位でのターゲット認識には、マウス一次抗体の検出用に設計されたＧＢＩ　Ｌａｂｓ社のＰｏｌｉｎｋ－２　Ｐｌｕｓ　ＨＲＰキットの試薬を使用した。ＲＯＲ２に対する抗体の仕様および最適化されたＩＨＣアッセイ条件については表６を参照のこと。
脱水／カバースリップ
ａ．すすぎ用に室温（２５℃）の９５％アルコールを２回（２回）交換する［最低１６回浸漬（インアウト）］。
ｂ．すすぎ用に室温（２５℃）の無水アルコールを６回交換する［最低１６回浸漬インアウト］。
ｃ．室温（２５℃）の無水キシレンを４回交換し、リンスする［最低１６回浸漬インアウト］。
ｄ．Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社製８３１２　Ｃｙｔｏｓｅａｌ　ＸＹＬまたは同等の非水性半永久的マウントメディアでカバースリップする。
【０４６７】
内部プロセス対照
検出試薬の性能を確認するため、対照組織でシグナル強度が確立された種間一致の陽性対照（標準抗体）を各ランで使用した。このプロジェクトの期間中、陽性対照として、ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）対照扁桃組織を用いたＬＣＡ（マウス由来）またはＦＦＰＥ結腸癌対照組織を用いたＣＫ（サイトケラチン）（マウス由来）を使用した。
【０４６８】
ＲＯＲ２の発現レベルの範囲を含む組織バンクからの混合癌マルチ組織ブロック（ＱＭＴＢ２７３）を、各ＩＨＣ検査におけるＲＯＲ２の陽性対照として使用した。検出試薬または組織に内在する非特異的染色を判定し、これらの原因による潜在的なバックグラウンド反応性を定義するために、対応するバイオマーカーアッセイ条件に対してマウスＩｇＧ１アイソタイプマッチ陰性対照を用いた。
【０４６９】
試験組織
検査施設間のアッセイ法の一致性を確認するため、組織バンクから採取した合計１２種類のホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）肉腫、卵巣癌、肺癌（非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ））組織を検査した。ＣＬＩＡ感度試験において、ＲＯＲ２試験は以下の癌適応症のＦＦＰＥ組織検体で評価された：肉腫（軟部組織、３０検体）、卵巣癌（３１検体）、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）（３８検体）、乳癌（トリプルネガティブ乳癌またはＴＮＢＣ、３８検体）。検体はすべて組織バンクからのものである。各検体の詳細情報は、結果セクションの感度スコアリング表に記載されている。これらの癌検体のサブセットは、各癌適応症におけるＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイの検証試験に使用された。
【０４７０】
ＲＯＲ２特異性試験のために、Ｐａｎｔｏｍｉｃｓ，　ＩｎｃからＦＤＡマルチ正常ヒト組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）スライドを入手した（Ｃａｔ　＃　ＭＮＯ９６１）。ＴＭＡ（Ｐ１４７８Ｑ００３５）には、３５の異なる臓器または部位に由来する９６種類の検体が含まれている。具体的には、ＦＤＡが推奨する抗体交差反応性試験に基づき、以下の表８に示す３５種類の正常組織（それぞれ３回繰り返し）を１０％中性緩衝ホルマリンで２４時間固定し、ＳＯＰに従って処理した。切片はＳｕｐｅｒｆｒｏｓｔ　ＰｌｕｓまたはＳｔａｒｔｆｒｏｓｔ　Ａｄｈｅｓｉｖｅスライドに採取した。
【０４７１】

【表８－１】

組織	病理学
副腎	正常および/または過形成
膀胱	正常
骨髄	正常
眼	正常
乳房	正常
小脳	正常
大脳皮質	正常
卵管	正常
食道	正常
胃	正常
小腸	正常
結腸	正常
直腸	正常
心臓	正常
肺	正常
腎臓	正常
肝臓	正常
卵巣	正常
膵臓	正常
副甲状腺	正常
下垂体	正常
胎盤	正常
前立腺	正常
皮膚	正常
脊髄	正常
脾臓	正常
骨格筋	正常

【表８－２】

表8（続き） 組織	病理学
精巣	正常
胸腺	正常および/または過形成
甲状腺	正常
扁桃腺	扁桃炎
尿管	正常
子宮、子宮頸部	正常

【０４７２】

スコアリングスキーム

各検体の連続切片におけるＲＯＲ２染色の比較採点は、上記の「腫瘍におけるＲＯＲ２の細胞膜スコアリング（腫瘍膜Ｐスコア）」のセクションで説明したように行った。

【０４７３】

結果

【０４７４】

ＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイの一致（パートＡ）

肉腫（滑膜癌）、卵巣癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）の各２検体からなる合計６種類のＦＦＰＥ検体を用いて、検査施設間の一致性試験を行った。検体はＲＯＲ２細胞膜腫瘍細胞染色の範囲を表している。

【０４７５】

一致性試験用の組織は、ある施設で非ＧＬＰ　ＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイを用いて染色された。また、表６および上記のアッセイ法を用いて、別のオペレーターが別の施設で連続切片（スライド１枚につき１切片の組織で、調製間の材料ロスを最小限に抑えたもの）として染色した。すべてのアッセイテストは、ＴｅｃｈＭａｔｅ自動染色プラットフォームを使って行われた。

【０４７６】

ＲＯＲ２については、本明細書に記載されているように、０～３＋の差分強度で細胞膜染色を有する腫瘍細胞の割合を記録することによってスコアリングを行った。　異なる検査機関で実施された同一検体間の比較は、パーセントスコア　１＋以上［（１＋での％）＋（２＋での％）ｘ１＋（３＋での％）］に基づいて行われた。

【０４７７】

異なる検査施設で染色された検体間でＲＯＲ２パーセントスコアを比較する場合、以下の一致パラメータが設定された：互いのスコアが±２０％以内であれば一致とみなし、アッセイ転送を承認するためには検査検体の８５％で一致でなければならない。この条件下で、肉腫、卵巣癌、ＮＳＣＬＣの組織を２つの異なる検査室で実施した場合、許容できる一致が認められた。

【０４７８】

各施設で染色された検体を比較した採点データが得られた（表１０）。表１０には、各施設の検体間のＲＯＲ２　パーセントスコア　１＋以上の差が含まれている。合計１２検体が両研究所で実施された。これら１２検体のうち、すべての検体がＲＯＲ２について一致（２０％以内の差）していると考えられた。この結果、ＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイにおける各研究室間の検体セットの一致率は１００％であった。

【０４７９】

得られたアッセイ転送スコアデータ（表９）および確立された一致性の基準によると、ＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイは転送に成功したとみなされた。

【０４８０】

【表９】
試薬の概要

試薬	供給元または業者	品番またはカタログ番号
Ｐｒｏｂｅ－Ｏｎ　Ｐｌｕｓ マイクロスコープスライド	Ｆｉｓｈｅｒ	２２－２３０－９００
エタノール	Ｆｉｓｈｅｒ	Ａ９６２Ｐ－４
キシレン	Ｆｉｓｈｅｒ	Ｘ５－４
ＳＨＩＥＲ　７	ＢｉｏＧｅｎｅｘ	ＨＫ０８１－２０Ｋ
ヤギＲＭＢ	ＱＭＬ－ＳＢ	４０００００１
ＴＢＳバッファー	ＱＭＬ－ＳＢ	３０００１０
正常ヤギブロック	ＱＭＬ－ＳＢ	３００００３
Ｐｏｌｉｎｋ－２　Ｐｌｕｓ ＨＲＰ検出キット　マウス	ＧＢＩ　Ｌａｂｓ	Ｄ３７－１１０
過酸化水素	Ｓｕｐｅｒｖａｌｕ　（ＯＴＣ）	Ｅｑｕａｌｉｎｅ
ＤＡＢ	ＧＢＩ　Ｌａｂｓ	Ｃ０９－１００
ヘマトキシリン	ＱＭＬ－ＳＢ	１００００５
サイトシール６０	Ｔｈｅｒｍｏ／Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ	８３１０－４，　２３－２４４２５６

【０４８１】
パートＢ：ＲＯＲ２癌の感度スクリーニング
【０４８２】
表７に示したＲＯＲ２の最適化されたＩＨＣアッセイ法を、表７の一般的なＩＨＣ法および表６の試薬とともに用いて、さまざまな癌適応症から得られたヒト腫瘍組織の連続切片（スライド１枚につき１切片の組織で、調製間の材料の損失を最小限に抑えたもの）をスクリーニングした。
【０４８３】

【表１０－１】
ＲＯＲ２のＩＨＣアッセイ一致
検体情報

列	比較	スライド番号	組織の種類	Ｑ／ＭＴＢ
１	非ＣＬＩＡ　ＩＨＣアッセイ	５６９	滑膜肉腫	ＱＭＴＢ３１２－０５
２	ＣＬＩＡ用ＩＨＣアッセイ	１６		
３	非ＣＬＩＡ　ＩＨＣアッセイ	５６９	滑膜肉腫	ＱＭＴＢ３１２－０７
４	ＣＬＩＡ用ＩＨＣアッセイ	１６		
５	非ＣＬＩＡ　ＩＨＣアッセイ	５６６	卵巣癌	ＱＭＴＢ３０８－０１
６	ＣＬＩＡ用ＩＨＣアッセイ	１５		
７	非ＣＬＩＡ　ＩＨＣアッセイ	５６６	卵巣癌	ＱＭＴＢ３０８－０８
８	ＣＬＩＡ用ＩＨＣアッセイ	１５		
９	非ＣＬＩＡ　ＩＨＣアッセイ	５７２	ＮＳＣＬＣ	ＱＭＴＢ３９８－０４
１０	ＣＬＩＡ用ＩＨＣアッセイ	１７		
１１	非ＣＬＩＡ　ＩＨＣアッセイ	５７２	ＮＳＣＬＣ	ＱＭＴＢ３９８－０９

【表１０－２】
表１０（続き）－
ＲＯＲ２のＩＨＣアッセイ一致
ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色

列	腫瘍の差分強度				%スコア１＋以上	＊陽性／陰性	差
	0	1+	2+	3+			
1	0	0	0	100	100	陽性	0.0
2	0	0	0	100	100	陽性	
3	100	0	0	0	0	陰性	0.0
4	100	0	0	0	0	陰性	
5	30	0	0	70	70	陽性	0.0
6	30	0	50	20	70	陽性	
7	75	0	5	20	25	陽性	0.0
8	75	0	5	20	25	陽性	
9	30	20	30	20	70	陽性	0.0
10	30	20	20	30	70	陽性	
11	50	40	10	0	50	陽性	10.0

【０４８４】
＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）
【０４８５】
ＣＡＰ／ＣＬＩＡの感度スクリーニングにおける癌適応症とそれぞれの分析検体数は以下の通りであった：
【０４８６】
肉腫（紡錘細胞肉腫、平滑筋肉腫、粘液型脂肪肉腫、滑膜肉腫を含む軟部組織肉腫）３０検体、卵巣癌３１検体、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）３８検体、トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）３８検体。感度試験用の組織はすべて、ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたヒト癌検体であった。
【０４８７】
以前にさまざまなＲＯＲ２反応性を示した癌組織は、今回の腫瘍スクリーニングで適切な染色性を示すための陽性対照／品質管理（ＱＣ）として機能した。標準的な種一致陽性対照（マウスＣＫ）およびアイソタイプ一致陰性対照（マウスＩｇＧ１）を試験中に含め、期待通りの反応を示した。検体はまた、形態学的評価のためにヘマトキシリンとエオシ

ン（Ｈ＆Ｅ）で染色し、スコアリングの助けとした。

【０４８８】

ＲＯＲ２は腫瘍細胞のサブセットで反応性を示す。主に細胞膜に局在するが、細胞質にも存在する。腫瘍スクリーニングの全組織は、ＱｕａｌＴｅｋ研究所のメディカルディレクター（認定病理医）によって評価された。腫瘍のＲＯＲ２細胞膜染色は、パーセントスコア（強度１＋以上、２＋以上、３＋以上の割合の合計、値は０～１００）およびＨスコア（各％スコア（０～１００％）に対応する強度スコア（０、１＋、２＋、３＋）を乗じた合計、値は０～３００）により評価した。ＲＯＲ２の細胞質腫瘍細胞染色は、上記の腫瘍におけるＲＯＲ２の細胞膜スコアリング（腫瘍膜Ｐスコア）のセクションで説明したように、Ｈスコアを用いて評価した。

【０４８９】

ＲＯＲ２腫瘍スクリーニングは、さまざまな癌適応症からの代表的な検体セットにわたる反応性の染色強度の範囲と豊富さ（浸透度）を理解するために実施された。ＲＯＲ２ＣＬＩＡ感度の採点結果は、上記の癌適応症について得られた。

【０４９０】

癌検体の分析中に間質または隣接する正常組織で観察されたＲＯＲ２染色は、採点表に記載する。評価可能な癌検体におけるＲＯＲ２のスコアリング結果は、本レポートの肉腫の表１１、卵巣癌の表１２、ＮＳＣＬＣの表１３、およびＴＮＢＣの表１４に示されている。肉腫適応症では、検査したほとんどの検体でＲＯＲ２の細胞膜染色が中程度または高濃度であった。卵巣癌、ＮＳＣＬＣ、ＴＮＢＣ適応症では、検査したほとんどの検体でＲＯＲ２の細胞膜染色が低かった。しかし、これらの適応症のそれぞれにおいて、ＲＯＲ２発現が陰性、低、中、高の例が観察された。

【０４９１】

肉腫は図１９、卵巣癌は図２０、ＮＳＣＬＣは図２１、ＴＮＢＣは図２２で、ＲＯＲ２発現レベルの範囲の代表的な画像を示す。マウスＩｇＧ１アイソタイプマッチ陰性対照は、感度スクリーニングで試験された各組織検体に含まれた。これらのマウスＩｇＧ血清陰性対照の各癌適応症における代表的な画像を図１９－２２のパネルＤに示す。

【０４９２】

【表１１－１】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性検査のための肉腫におけるＲＯＲ２

検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）
細胞膜
腫瘍染色

列	組織の種類	Ｑ／ＭＴＢ	固有ID	病理診断	差分強度での％			
					0	1+	2+	3+
1	肉腫	QMTB313-01	Q0010	紡錘細胞肉腫	0	20	30	50
2	肉腫	QMTB313-02	Q0174	紡錘細胞肉腫	100	0	0	0
3	肉腫	QMTB313-03	Q0222	紡錘細胞肉腫	20	0	30	50
4	肉腫	QMTB313-04	Q6410	紡錘細胞肉腫	30	20	30	20
5	肉腫	QMTB313-05	Q3176	紡錘細胞肉腫	0	90	10	0
6	肉腫	QMTB313-06	Q5834	紡錘細胞肉腫	50	10	10	30
7	肉腫	QMTB313-07	Q3203	紡錘細胞肉腫	60	0	20	20
8	肉腫	QMTB313-08	Q3901	平滑筋肉腫	30	0	20	50
9	*肉腫*	*QMTB313-09*	*Q4971*	*平滑筋肉腫*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
10	*肉腫*	*Q3169-13*	*N/A*	骨肉腫	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
11	*肉腫*	*Q3170-01*	*N/A*	骨肉腫	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
12	肉腫	Q3180-01	N/A	粘液型脂肪肉腫	40	30	30	0
13	肉腫	Q3205-02	N/A	滑膜肉腫	20	0	0	80
14	*肉腫*	*Q4860*	*N/A*	*平滑筋肉腫*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
15	肉腫	Q6912	N/A	平滑筋肉腫	30	0	0	70
16	*肉腫*	*Q6913*	*N/A*	*平滑筋肉腫*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
17	肉腫	Q6914	N/A	平滑筋肉腫	10	20	20	50
18	肉腫	Q6915	N/A	平滑筋肉腫	20	10	20	50
19	肉腫	Q9396	N/A	滑膜肉腫	70	0	0	30
20	肉腫	Q9399	N/A	滑膜肉腫	30	40	20	10
21	*肉腫*	*Q9400*	*N/A*	*滑膜肉腫*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
22	肉腫	Q9403	N/A	滑膜肉腫	0	0	0	100
23	肉腫	Q9406	N/A	滑膜肉腫	50	10	10	30
24	肉腫	Q9416	N/A	滑膜肉腫	10	40	20	30
25	肉腫	Q9451	N/A	滑膜肉腫	0	10	20	70
26	肉腫	Q9452	N/A	滑膜肉腫	0	10	20	70
27	肉腫	Q9453	N/A	滑膜肉腫	50	10	20	20
28	肉腫	Q9454	N/A	滑膜肉腫	50	30	10	10
29	肉腫	Q9455	N/A	滑膜肉腫	100	0	0	0

【表１１－２】

表１１〈続き〉

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性検査のための肉腫におけるＲＯＲ２
検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）
細胞膜
腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
30	肉腫	Q9456	N/A	粘液型脂肪肉腫	100	0	0	0
31	肉腫	Q9457	N/A	粘液型脂肪肉腫	100	0	0	0
32	*肉腫*	*Q9458*	*N/A*	*粘液型脂肪肉腫*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
33	肉腫	Q9459	N/A	粘液型脂肪肉腫	100	0	0	0
34	肉腫	Q9468	N/A	滑膜肉腫	60	0	0	40
35	肉腫	Q9469	N/A	滑膜肉腫	100	0	0	0
36	肉腫	Q9470	N/A	粘液型脂肪肉腫	30	0	40	30
37	肉腫	Q9471	N/A	粘液型脂肪肉腫	70	30	0	0

【表１１－３】

表１１〈続き〉

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色　　ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での% 0	1+	2+	3+	H-スコア
1	230	100	陽性	0	20	30	50	230
2	0	0	陰性	100	0	0	0	0
3	210	80	陽性	20	0	30	50	210
4	140	70	陽性	30	20	30	20	140
5	110	100	陽性	0	90	10	0	110
6	120	50	陽性	50	10	10	30	120
7	100	40	陽性	60	0	20	20	100
8	190	70	陽性	30	0	20	50	190
9	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
10	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
11	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
12	90	60	陽性	40	30	30	0	90
13	240	80	陽性	20	0	0	80	240
14	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
15	210	70	陽性	30	0	0	70	210
16	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
17	210	90	陽性	10	20	20	50	210
18	200	80	陽性	20	10	20	50	200
19	90	30	陽性	70	0	0	30	90
20	110	70	陽性	30	40	20	10	110

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１１－３－１】

（表１１－３の続き）

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜 ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質

腫瘍染色 腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
21	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
22	300	**100**	**陽性**	0	0	0	100	**300**
23	120	**50**	**陽性**	50	10	10	30	**120**
24	170	**90**	**陽性**	10	40	20	30	**170**
25	260	**100**	**陽性**	0	10	20	70	**260**
26	260	**100**	**陽性**	0	10	20	70	**260**
27	110	**50**	**陽性**	50	10	20	20	**110**
28	80	**50**	**陽性**	50	30	10	10	**80**
29	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
30	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
31	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
32	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
33	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
34	120	**40**	**陽性**	100	0	0	0	**0**
35	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
36	170	**70**	**陽性**	30	0	40	30	**170**
37	30	**30**	**陽性**	70	30	0	0	**30**

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【０４９３】

【表１２－１】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
1	卵巣癌	QMTB310-01	*Q6458*	*卵巣癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
2	卵巣癌	QMTB310-02	Q6413	腺癌、粘液性なし	100	0	0	0
3	卵巣癌	QMTB310-03	Q6414	粘液性腺腫	50	0	20	30
4	卵巣癌	QMTB310-04	Q7504	腺癌、粘液性なし	100	0	0	0
5	卵巣癌	QMTB310-05	Q7505	腺癌、漿液性、粘液性なし	100	0	0	0
6	卵巣癌	QMTB310-06	Q6415	粘液性腺腫	100	0	0	0
7	卵巣癌	QMTB400-01	Q1740	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
8	卵巣癌	QMTB400-02	Q7500-04	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
9	卵巣癌	QMTB400-03	Q7502-05	高悪性度漿液性卵巣癌	99	0	0	1
10	卵巣癌	QMTB400-04	Q7503	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
11	卵巣癌	QMTB400-05	Q7505-04	高悪性度漿液性卵巣癌	90	2	3	5
12	卵巣癌	QMTB400-06	Q5488-06	高悪性度漿液性卵巣癌	95	5	0	0
13	卵巣癌	QMTB400-07	Q1265-04	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
14.	卵巣癌	QMTB400-08	Q1271-03	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
15	卵巣癌	QMTB400-09	Q3232-02	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
16	卵巣癌	Q1261-02	N/A	漿液粘液性腫瘍	100	0	0	0
17	卵巣癌	Q1262-02	N/A	高悪性度漿液性卵巣癌	90	0	0	10
18	卵巣癌	Q1266-03	N/A	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
19	卵巣癌	Q1267-03	N/A	低悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
20	卵巣癌	Q1269-02	*N/A*	*顆粒膜細胞腫瘍*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*

【表１２－２】

〈続き〉ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

検体情報　　ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜

腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
21	卵巣癌	Q1270-05	N/A	境界型粘液性腫瘍	100	0	0	0
22	卵巣癌	Q1272-04	N/A	卵巣癌	100	0	0	0
23	卵巣癌	Q1283-01	*N/A*	*顆粒膜細胞腫瘍*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
24	卵巣癌	Q1284-01	N/A	高悪性度漿液性卵巣癌	100	0	0	0
25	卵巣癌	Q2015-02	N/A	高悪性度漿液性卵巣癌	99	0	0	1
26	卵巣癌	Q2016-02	*N/A*	*高悪性度漿液性卵巣癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
27	卵巣癌	Q3214-01	N/A	漿液性腺癌	95	0	0	5
28	卵巣癌	Q3247-01	N/A	漿液性腺癌	100	0	0	0
29	卵巣癌	Q3255-02	N/A	卵巣癌	100	0	0	0
30	卵巣癌	Q5488-02	N/A	高悪性度漿液性卵巣癌	30	10	30	30
31	卵巣癌	Q6415	*N/A*	*粘液性卵巣癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
32	卵巣癌	Q6946-01	N/A	漿液性腺癌	80	0	0	20
33	卵巣癌	Q6948-02	N/A	漿液性腺癌	100	0	0	0
34	卵巣癌	Q7499-02	N/A	漿液性卵巣癌	50	10	20	20
35	卵巣癌	Q7501-02	N/A	悪性混合上皮	99	0	0	0
36	卵巣癌	Q7506-01	*N/A*	*明細胞腺癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
37	卵巣癌	Q7539-01	N/A	漿液性腺癌	10	70	10	10

【表１２－３】

〈続き〉ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色　　ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
1	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	0	*NET*	*NET*
2	0	0	陰性	100	0	0	0	0
3	130	50	陽性	100	0	0	0	0
4	0	0	陰性	100	0	0	0	0
5	0	0	陰性	100	0	0	0	0
6	0	0	陰性	100	0	0	0	0
7	0	0	陰性	100	0	0	0	0
8	0	0	陰性	100	0	0	0	0
9	3	1	陰性	70	30	40	0	110
10	0	0	陰性	100	0	0	0	0
11	23	10	陽性	100	0	*0*	0	0
12	5	5	陰性	100	0	0	0	0
13	0	0	陰性	100	0	0	0	0
14.	0	0	陰性	100	0	*0*	0	0
15	0	0	陰性	100	0	0	0	0
16	0	0	陰性	100	0	0	0	0
17	30	10	陽性	100	0	*0*	0	0
18	0	0	陰性	100	0	0	0	0
19	0	0	陰性	100	0	0	0	0
20	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	0	*NET*	*NET*

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１２－３－１】

（表１２－３の続き）

〈続き〉ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜 腫瘍染色

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質 腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
21	0	0	陰性	100	0	0	0	0
22	0	0	陰性	100	0	0	0	0
23	NET	NET	NET	NET	NET	0	NET	NET
24	0	0	陰性	100	0	0	0	0
25	3	1	陰性	100	0	0	0	0
26	NET	NET	NET	NET	NET	0	NET	NET
27	15	5	陰性	100	0	0	0	0
28	0	0	陰性	70	0	30	0	60
29	0	0	陰性	90	10	0	0	10
30	160	70	陽性	100	0	0	0	0
31	NET	NET	NET	NET	NET	NET	NET	NET
32	60	20	陽性	100	0	0	0	0
33	0	0	陰性	100	0	0	0	0
34	110	50	陽性	100	0	0	0	0
35	0	0	陰性	100	0	0	0	0
36	NET	NET	NET	NET	NET	NET	NET	NET
37	120	90	陽性	100	0	0	0	0

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１３－１】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２
検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜
腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
1	NSCLC	QMTB249-01	Q5040	腺癌、PD	100	0	0	0
2	NSCLC	QMTB249-02	Q5041	腺癌，MD	100	0	0	0
3	NSCLC	QMTB249-03	Q5043	腺癌、PD	100	0	0	0
4	NSCLC	QMTB249-04	Q0958	腺癌、WD	100	0	0	0
5	NSCLC	QMTB249-05	Q1035	腺癌、PD	100	0	0	0
6	NSCLC	QMTB249-06	Q1041	腺癌、PD	100	0	0	0
7	NSCLC	QMTB249-07	Q1044	腺癌，MD	100	0	0	0
8	*NSCLC*	*QMTB249-08*	*Q1045*	*腺癌、WD*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
9	NSCLC	QMTB397-01	Q0953-01	扁平上皮癌	100	0	0	0
10	NSCLC	QMTB397-02	Q6949-01	扁平上皮癌	75	20	5	0
11	NSCLC	QMTB397-03	Q9369-02	扁平上皮癌	100	0	0	0
12	NSCLC	QMTB397-04	Q6953-02	扁平上皮癌	100	0	0	0
13	NSCLC	QMTB397-05	Q6955-01	扁平上皮癌	100	0	0	0
14.	NSCLC	QMTB397-06	Q6956-01	扁平上皮癌	95	5	0	0
15	NSCLC	QMTB397-07	Q6958-03	扁平上皮癌	100	0	0	0
16	NSCLC	QMTB397-08	Q6959-01	扁平上皮癌	100	0	0	0
17	NSCLC	QMTB397-09	Q7031-02	扁平上皮癌	0	20	30	50
18	NSCLC	Q0292 -01	N/A	非小細胞肺癌	100	0	0	0
19	*NSCLC*	*Q1015-01*	*N/A*	*扁平上皮癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
20	NSCLC	Q1022-1	N/A	腺癌	100	0	0	0
21	*NSCLC*	*Q1023-7*	*N/A*	*非小細胞肺癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
22	NSCLC	Q1051-01	N/A	腺癌	100	0	0	0
23	NSCLC	Q1946-04	N/A	非小細胞肺癌	100	0	0	0
24	NSCLC	Q1951-01	N/A	腺癌	100	0	0	0

【表１３－２】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２
検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
25	NSCLC	Q2584-1	N/A	非小細胞肺癌	100	0	0	0
26	NSCLC	Q2585	N/A	非小細胞肺癌	100	0	0	0
27	*NSCLC*	*Q2651-01*	*N/A*	*腺癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
28	*NSCLC*	*Q2654-6*	*N/A*	*転移性癌*	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*
29	NSCLC	Q4038-01	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
30	NSCLC	Q4041-01	N/A	非小細胞肺癌	100	0	0	0
31	NSCLC	Q4044-04	N/A	扁平上皮癌	90	0	10	0
32	NSCLC	Q4048-01	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
33	NSCLC	Q4051-01	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
34	NSCLC	Q4053	N/A	乳頭癌	100	0	0	0
35	NSCLC	Q4057-02	N/A	腺癌	100	0	0	0
36	NSCLC	Q4062-01	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
37	NSCLC	Q4064-01	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
38	NSCLC	Q4065-01	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
39	NSCLC	Q6996-02	N/A	腺癌	100	0	0	0
40	NSCLC	Q4070-02	N/A	扁平上皮癌	100	0	0	0
41	NSCLC	Q4071-01	N/A	扁平上皮癌	95	0	0	5
42	NSCLC	Q4092-2	N/A	非小細胞肺癌	100	0	0	0
43	NSCLC	Q6949-01	N/A	扁平上皮癌	30	20	20	30

【表１３－３】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜 腫瘍染色

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質 腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
1	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
2	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
3	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
4	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
5	0	**0**	**陰性**	75	20	5	0	**30**
6	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
7	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
8	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
9	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
10	30	**25**	**陽性**	100	0	0	0	**0**
11	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
12	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
13	0	**0**	**陰性**	95	5	0	0	**5**
14	5	**5**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
15	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
16	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
17	230	**100**	**陽性**	100	0	0	0	**0**
18	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
19	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
20	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**

【表１３－３－１】

（表１３－３の続き）

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
21	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
22	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
23	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
24	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
25	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
26	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
27	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
28	*NET*	***NET***	***NET***	*NET*	*NET*	*NET*	*NET*	***NET***
29	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
30	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
31	20	**10**	**陽性**	100	0	0	0	**0**
32	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
33	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
34	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
35	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
36	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
37	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**

【表１３－４】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験における卵巣癌のＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜　　ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質

腫瘍染色　　腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
38	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
39	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
40	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
41	15	**5**	**陰性**	90	5	5	0	**15**
42	0	**0**	**陰性**	100	0	0	0	**0**
43	150	**70**	**陽性**	100	0	0	0	**0**

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上における１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【０４９４】

【表１４－１】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験におけるＴＮＢＣのＲＯＲ２

検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
1	TNBC	Q9250	N/A	トリプルネガティブ乳癌	80	0	20	0
2	TNBC	Q9251	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
3	TNBC	Q9253	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
4	TNBC	Q9254	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
5	TNBC	Q9255	N/A	トリプルネガティブ乳癌	30	10	20	40
6	TNBC	Q9257	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
7	TNBC	Q9260	N/A	トリプルネガティブ乳癌	90	0	10	0
8	TNBC	Q9261	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
9	TNBC	Q9263	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
10	TNBC	Q9265	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
11	TNBC	Q9268	N/A	トリプルネガティブ乳癌	30	10	30	30
12	TNBC	Q9269	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
13	TNBC	Q9270	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
14.	TNBC	Q9274	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
15	TNBC	Q9275	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
16	TNBC	Q9276	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
17	TNBC	Q9277	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
18	TNBC	Q9278	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
19	TNBC	Q9279	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0

【表１４－２】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験におけるＴＮＢＣのＲＯＲ２
検体情報

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜
腫瘍染色

列	組織の種類	Q/MTB	固有ID	病理診断	差分強度での%			
					0	1+	2+	3+
20	TNBC	Q9280	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
21	TNBC	Q9281	N/A	トリプルネガティブ乳癌	70	0	0	30
22	TNBC	Q9282	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
23	TNBC	Q9283	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
24	TNBC	Q9285	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
25	TNBC	Q9286	N/A	トリプルネガティブ乳癌	40	0	30	30
26	TNBC	Q9287	N/A	トリプルネガティブ乳癌	10	40	10	40
27	TNBC	Q9288	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
28	TNBC	Q9289	N/A	トリプルネガティブ乳癌	30	30	10	30
29	TNBC	Q9325	N/A	トリプルネガティブ乳癌	95	5	0	0
30	TNBC	Q9330	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
31	TNBC	Q9331	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
32	TNBC	Q9332	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
33	TNBC	Q9333	N/A	トリプルネガティブ乳癌	10	10	30	50
34	TNBC	Q9334	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
35	TNBC	Q9335	N/A	トリプルネガティブ乳癌	85	0	0	15
36	TNBC	Q9336	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
37	TNBC	Q9337	N/A	トリプルネガティブ乳癌	100	0	0	0
38	TNBC	Q9338	N/A	トリプルネガティブ乳癌	80	20	0	0

【表１４－３】

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験におけるＴＮＢＣのＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜 ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質

腫瘍染色 腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
1	40	20	陽性	100	0	0	0	0
2	0	0	陰性	100	0	0	0	0
3	0	0	陰性	100	0	0	0	0
4	0	0	陰性	100	0	0	0	0
5	170	70	陽性	100	0	0	0	0
6	0	0	陰性	100	0	0	0	0
7	20	10	陽性	100	0	0	0	0
8	0	0	陰性	100	0	0	0	0
9	0	0	陰性	100	0	0	0	0
10	0	0	陰性	100	0	0	0	0
11	160	70	陽性	100	0	0	0	0
12	0	0	陰性	100	0	0	0	0
13	0	0	陰性	100	0	0	0	0
14	0	0	陰性	100	0	0	0	0
15	0	0	陰性	100	0	0	0	0
16	0	0	陰性	100	0	0	0	0
17	0	0	陰性	100	0	0	0	0
18	0	0	陰性	100	0	0	0	0
19	0	0	陰性	100	0	0	0	0
20	0	0	陰性	100	0	0	0	0

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１４－３－１】

（表１４－３の続き）

ＣＡＰ／ＣＬＩＡ感受性試験におけるＴＮＢＣのＲＯＲ２

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜 ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞質

腫瘍染色 腫瘍染色

列	H-スコア	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	差分強度での%				H-スコア
				0	1+	2+	3+	
21	90	30	陽性	70	0	0	30	90
22	0	0	陰性	100	0	0	0	0
23	0	0	陰性	100	0	0	0	0
24	0	0	陰性	100	0	0	0	0
25	150	60	陽性	100	0	0	0	0
26	180	90	陽性	100	0	0	0	0
27	0	0	陰性	100	0	0	0	0
28	140	70	陽性	70	30	0	0	30
29	5	5	陰性	100	0	0	0	0
30	0	0	陰性	100	0	0	0	0
31	0	0	陰性	100	0	0	0	0
32	0	0	陰性	100	0	0	0	0
33	220	90	陽性	100	0	0	0	0
34	0	0	陰性	100	0	0	0	0
35	45	15	陽性	100	0	0	0	0
36	0	0	陰性	100	0	0	0	0
37	0	0	陰性	100	0	0	0	0
38	20	20	陽性	100	0	0	0	0

＊ＲＯＲ２カットオフ：腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【０４９５】

感度スクリーニングのためのＨスコアとパーセントスコア分析

ＲＯＲ２の感度スクリーニングは、臨床検査で使用するＲＯＲ２陽性のカットオフ値を決定するのに役立つことを目的としている。このカットオフによると、腫瘍細胞の１０％以上に１＋以上の強度の細胞膜染色が認められた場合、検体はＲＯＲ２に対して「陽性」とみなされる。この陽性カットオフは、ＣＬＩＡ感度スクリーニングの肉腫、卵巣癌、ＮＳＣＬＣ、ＴＮＢＣ検体に適用された。

【０４９６】

定義されたカットオフ基準によると、各適応症におけるＲＯＲ２陽性症例の割合は以下の通りであった：肉腫－８０．０％、卵巣癌－２２．６％、ＮＳＣＬＣ－１０．５％、ＴＮＢＣ－２８．９％。このデータをまとめた表が下の表１５である。図２３は、パーセントスコアのカットオフ値に従って、ＲＯＲ２が陽性または陰性であった各癌適応症の症例の割合を、積み重ねた列グラフを用いて表示したものである。

【０４９７】

【表１５】

適応症別のＲＯＲ２陽性／陰性症例の割合

ＲＯＲ２（Ｈ－１）の陽性／陰性ステータスの癌適応症別内訳					
ＲＯＲ２陽性カットオフ：１０％以上の腫瘍細胞で１＋以上の強度					
腫瘍タイプ	評価可能な症例	陽性		陰性	
		症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合
肉腫	30	24	80.0%	6	20.0%
卵巣癌	31	7	22.6%	24	77.4%
ＮＳＣＬＣ	38	4	10.5%	34	89.5%
ＴＮＢＣ	38	11	28.9%	27	71.1%

【０４９８】

ＲＯＲ２スコアリングの結果は、パーセントスコア　１＋以上の反応性閾値でも分けられた（表１６）。ＲＯＲ２カットオフ（腫瘍細胞の１０％以上で１＋以上染色）はこの表に含まれている。パーセントスコア１＋以上の他の理論的閾値は、腫瘍細胞の１％以上、１０％以上、２５％以上、５０％以上、７５％以上、９０％以上で示されている。これらの閾値には、これらの基準で陽性とみなされる各適応症の検体数とその割合が含まれる。これらの値は、ＣＬＩＡ感度スクリーニングで決定されたＲＯＲ２のカットオフ値と比較するために含まれている。

【０４９９】

ＣＬＩＡ感受性スクリーニングの癌組織はまた、上記の腫瘍におけるＲＯＲ２の細胞膜スコアリング（腫瘍膜Ｐスコア）のセクションで説明したように、Ｈスコアを用いてＲＯＲ２細胞膜腫瘍細胞発現を解析した。

【０５００】

表１７は、ＲＯＲ２細胞膜腫瘍染色のＨ－Ｓｃｏｒｅカットオフ値（１以上、５０以上、１００以上、１５０以上、２００以上、２５０以上）を満たした各癌適応症の症例数と割合を示している。表１６には、各適応症でテストされた検体の平均Ｈスコアも記載されている。ＲＯＲ２反応性の平均Ｈスコアも図２４の棒グラフで比較した。

【０５０１】

ＲＯＲ２細胞膜腫瘍染色のＨスコア分析によると、肉腫を除く試験された各癌適応症の平均Ｈスコアは低かった（０－３００スケールで３５未満）。各適応症の平均Ｈスコアは以下の通りである：肉腫１２９．０、卵巣癌２１．３、ＮＳＣＬＣ１１．８、およびＴＮＢＣ３２．６。Ｈスコアの計算は、ＣＬＩＡ感度スクリーニングにおける検体および適応症の比較評価に役立てるため、本報告書に記載した。

【０５０２】

【表１６－１】

ＲＯＲ２反応性、１＋以上染色の閾値によるグループ分け

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍反応性データの強度１＋以上における内訳

列	腫瘍タイプ	評価可能な症例	腫瘍細胞の1%以上に1+以上染色あり		腫瘍細胞の10%以上に1+以上染色あり		腫瘍細胞の25%以上に1+以上染色あり	
			症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合
1	肉腫	30	24	80%	24	80%	24	80%
2	卵巣癌	31	11	35%	7	23%	4	13%
3	NSCLC	38	6	16%	4	11%	3	8%
4	TNBC	38	12	32%	11	29%	7	18%

【表１６－２】

列	腫瘍細胞の50%以上に1+以上染色あり		腫瘍細胞の75%以上に1+以上染色あり		腫瘍細胞の90%以上に1+以上染色あり	
	症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合
1	20	67%	10	33%	7	23%
2	4	13%	1	3%	1	3%
3	2	5%	1	3%	1	3%
4	6	16%	2	5%	2	5%

【表１７－１】

Ｈスコア閾値別にみたＲＯＲ２細胞膜反応性

ＲＯＲ２（Ｈ－１）細胞膜腫瘍反応性データのＨスコア別内訳

列	腫瘍タイプ	評価可能な症例	Hスコア 1以上		Hスコア50以上		Hスコア 100以上	
			症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合
1	肉腫	30	24	80%	23	77%	20	67%
2	卵巣癌	31	11	35%	5	16%	4	13%
3	NSCLC	38	6	16%	2	5%	2	5%
4	TNBC	38	12	32%	7	18%	6	16%

【表１７－２】

列	Hスコア 150以上		Hスコア 200以上		Hスコア250以上		平均Hスコア
	症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合	症例数	癌適応症の割合	
1	12	40%	9	30%	3	10%	129.0
2	1	3%	0	0%	0	0%	21.3
3	2	5%	1	3%	0	0%	11.8
4	5	13%	1	3%	0	0%	32.6

【０５０３】

正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験（パートＣ）

ＲＯＲ２の標的に対する特異性は、表６と表７に記載したＩＨＣ法を用いて検査した。特異性検査は、ＦＤＡが推奨するマルチ正常ヒト組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）から９６の異なる組織を用いて行われた。表８に完全に記載のように、ＴＭＡ（Ｐ１４９７Ｑ０００１）はＰａｎｔｏｍｉｃｓ社から購入した（Ｃａｔ　＃　ＭＮＯ９６１，複数の正常ヒト組織，ＦＤＡ，９６検体，３個体由来の３５臓器／部位，１．５ｍｍ）。すべての正常組織検体の切片をヘマトキシリン・エオジン（Ｈ＆Ｅ）で組織学的に染色し、ＲＯＲ２とマウスＩｇＧ１でＩＨＣ染色した。

【０５０４】

染色された正常組織はすべて、（腫瘍とは対照的に）正常組織成分を評価するために、上記の腫瘍膜Ｐスコアのセクションで説明したＲＯＲ２細胞膜染色のＨスコア法を用いて評価した。この特異性試験の採点データには、正常細胞の１０％以上に１＋以上の強度の染色が認められるか否かのカットオフに基づくＲＯＲ２陽性／陰性状態も含まれる。正常組織におけるＲＯＲ２の特異性データを表１８に示す。

【０５０５】

ＲＯＲ２は、試験したすべての正常ヒト組織において、非反応性の細胞膜染色を示した（０で１００％）；ただし、扁桃腺（図２５Ｆ）の網状陰窩上皮における反応性（ＲＯＲ２クローンＨ－１で以前に観察された）と、甲状腺（図２５Ｅ）と子宮における偶発的なの上皮染色（これは胎児組織で以前に観察されたＲＯＲ２発現の増加に関連しているかもしれない）を除く。そのため、この特異性検査は、ＲＯＲ２　Ｈ－１抗体とＩＨＣ検査が腫瘍細胞内の標的に対して非常に特異的であることを示唆した。

【０５０６】

図２５は、ヒトの腎臓（図２５Ａ）、肝臓（図２５Ｂ）、小腸（図２５Ｃ）、脳（図２５Ｄ）の正常組織におけるＲＯＲ２発現が陰性である代表的な画像のパネルである。マウスＩｇＧ１アイソタイプマッチ陰性対照は正常ＴＭＡ組織パネルで実施され、すべての検体で非反応性であった。

【０５０７】

【表１８－１】

正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

列	スライド番号	ＴＭＡ	検体　Ｑ＃	コアＩＤ	性別	齢	解剖学的部位
1	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A01	M	45	副腎
2	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*A02*	*F*	*37*	*副腎*
3	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A03	F	61	副腎
4	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A04	F	51	膀胱、泌尿器
5	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A05	M	36	膀胱、泌尿器
6	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A06	M	61	膀胱、泌尿器
7	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A07	M	16	骨、骨髄
8	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A04	F	51	膀胱、泌尿器
9	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*A09*	*F*	*70*	*眼*
10	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A10	F	34	乳房
11	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*A11*	*F*	*43*	*乳房*
12	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	A12	F	45	乳房
13	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B01	M	46	脳、小脳
14.	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B02	M	49	脳、小脳
15	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B03	M	3	脳、小脳
16	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B04	M	49	脳、大脳皮質
17	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B05	F	5	脳、大脳皮質
18	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B06	M	46	脳、大脳皮質
19	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B07	F	45	卵管
20	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B08	F	23	卵管

【表１８－１－１】
（表１８－１の続き）

正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

列	スライド番号	ＴＭＡ	検体　Ｑ＃	コアＩＤ	性別	齢	解剖学的部位
21	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*B09*	*F*	*48*	*卵管*
22	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B10	M	62	食道
23	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B11	M	55	食道
24	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	B12	F	61	食道
25	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C01	M	59	胃
26	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C02	F	50	胃
27	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C03	F	48	胃
28	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C04	M	80	腸、小腸
29	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C05	M	17	腸、小腸
30	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C06	F	76	腸、小腸
31	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C07	F	69	腸、結腸
32	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C08	F	27	腸、結腸
33	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C09	M	34	腸、結腸
34	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C10	M	53	腸、直腸
35	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C11	M	68	腸、直腸

【表１８－２】

検体情報　　ROR2 細胞膜染色

列	病理学	差分強度				%スコア 1+以上	*陽性/陰性
		0	1+	2+	3+		
1	正常、過形成	100	0	0	0	0	陰性
2	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
3	正常	100	0	0	0	0	陰性
4	正常	100	0	0	0	0	陰性
5	正常	100	0	0	0	0	陰性
6	正常	100	0	0	0	0	陰性
7	正常	100	0	0	0	0	陰性
8	正常	100	0	0	0	0	陰性
9	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
10	正常乳房	100	0	0	0	0	陰性
11	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
12	正常	100	0	0	0	0	陰性
13	正常	100	0	0	0	0	陰性
14.	正常	100	0	0	0	0	陰性
15	正常	100	0	0	0	0	陰性
16	正常	100	0	0	0	0	陰性
17	正常	100	0	0	0	0	陰性
18	正常	100	0	0	0	0	陰性
19	正常	100	0	0	0	0	陰性
20	正常	100	0	0	0	0	陰性

＊　ＲＯＲ２カットオフ：細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１８－２－１】

（表１８－２の続き）

検体情報　　ROR2 細胞膜染色

列	病理学	差分強度				%スコア 1+以上	*陽性/陰性
		0	1+	2+	3+		
21	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
22	正常	100	0	0	0	0	陰性
23	正常	100	0	0	0	0	陰性
24	正常	100	0	0	0	0	陰性
25	正常	100	0	0	0	0	陰性
26	正常	100	0	0	0	0	陰性
27	正常	100	0	0	0	0	陰性
28	正常	100	0	0	0	0	陰性
29	正常	100	0	0	0	0	陰性
30	正常	100	0	0	0	0	陰性
31	正常結腸	100	0	0	0	0	陰性
32	正常	100	0	0	0	0	陰性
33	正常	100	0	0	0	0	陰性
34	正常	100	0	0	0	0	陰性
35	正常	100	0	0	0	0	陰性

＊　ＲＯＲ２カットオフ：細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１８－３】

表１８（続き）－正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

列	スライド番号	ＴＭＡ	検体　Ｑ＃	コアＩＤ	性別	齢	解剖学的部位
36	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	C12	M	70	腸、直腸
37	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*D01*	*M*	*46*	*心臓*
38	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D02	F	5	心臓
39	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D03	M	65	心臓
40	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D04	F	51	腎臓
41	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D05	M	39	腎臓
42	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D06	M	30	腎臓
43	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D07	F	51	腎臓
44	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D08	M	39	腎臓
45	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D09	M	30	腎臓
46	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D10	M	41	肝臓
47	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D11	M	42	肝臓
48	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	D12	M	35	肝臓
49	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*E01*	*M*	*19*	*肺*
50	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E02	M	59	肺
51	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E03	M	72	肺
52	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*E04*	*F*	*53*	*卵巣*
53	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E05	F	45	卵巣
54	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E06	F	35	卵巣
55	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E07	F	5	膵臓
56	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E08	M	1	膵臓
57	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E09	F	58	膵臓
58	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E10	F	62	副甲状腺
59	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E11	F	5	下垂体
60	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	E12	M	46	下垂体

【表１８－３－１】

（表１８－３の続き）

表１８（続き）－正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

列	スライド番号	ＴＭＡ	検体　Ｑ＃	コアＩＤ	性別	齢	解剖学的部位
61	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F01	F	23	胎盤
62	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F02	F	27	胎盤
63	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F03	F	23	胎盤
64	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F04	M	68	前立腺
65	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F05	M	82	前立腺
66	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F06	M	64	前立腺
67	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F07	F	47	皮膚
68	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*F08*	*M*	*50*	*皮膚*
69	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*F09*	*M*	*46*	*脊髄*
70	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F10	M	65	脊髄
71	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*F11*	*F*	*21*	*脾臓*
72	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	F12	M	55	脾臓
73	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G01	M	44	骨格筋

【表１８－４】

表 18（続き）-正常組織における ROR2 の特異性試験

列	スライド番号	TMA	検体 Q#	コア ID	性別	齢	解剖学的部位
74	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G02	M	46	骨格筋
75	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G03	M	59	骨格筋
76	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G04	M	77	精巣
77	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G05	M	34	精巣
78	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G06	M	30	精巣
79	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G07	M	13	胸腺
80	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G08	F	2.5	胸腺
81	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G09	F	15	胸腺
82	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G10	F	64	甲状腺
83	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G11	F	52	甲状腺
84	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	G12	F	39	甲状腺
85	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H01	F	12	扁桃腺
86	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H02	M	6	扁桃腺
87	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H03	M	20	扁桃腺
88	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H04	F	51	尿管
89	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H05	M	56	尿管
90	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H06	F	56	尿管
91	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H07	F	48	子宮、子宮頸部
92	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H08	F	48	子宮、子宮頸部
93	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H09	F	51	子宮、子宮頸部
94	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H10	F	40	子宮、子宮内膜
95	*375*	*FDA正常TMA*	*P1497Q0001*	*H11*	*F*	*50*	*子宮、子宮内膜*
96	375	FDA正常TMA	P1497Q0001	H12	F	49	子宮、子宮内膜

＊ＲＯＲ２カットオフ：細胞の１０％以上で１＋以上の強度＝陽性（ＰＯＳ）

【表１８－５】

表１８（続き）－正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

検体情報　　ＲＯＲ２細胞膜染色

列	病理学	差分強度				% スコア 1+以上	*陽性/陰性
		0	1+	2+	3+		
36	正常	100	0	0	0	0	陰性
37	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
38	正常	100	0	0	0	0	陰性
39	正常	100	0	0	0	0	陰性
40	正常	100	0	0	0	0	陰性
41	正常	100	0	0	0	0	陰性
42	正常	100	0	0	0	0	陰性
43	正常腎皮質	100	0	0	0	0	陰性
44	正常	100	0	0	0	0	陰性
45	正常	100	0	0	0	0	陰性
46	正常	100	0	0	0	0	陰性
47	正常＆細胞の膨張	100	0	0	0	0	陰性
48	正常	100	0	0	0	0	陰性
49	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
50	正常	100	0	0	0	0	陰性
51	正常	100	0	0	0	0	陰性
52	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
53	正常	100	0	0	0	0	陰性
54	正常	100	0	0	0	0	陰性
55	正常	100	0	0	0	0	陰性
56	正常	100	0	0	0	0	陰性
57	正常	100	0	0	0	0	陰性
58	腺腫	100	0	0	0	0	陰性
59	正常	100	0	0	0	0	陰性

【表１８－５－１】

（表１８－５の続き）

表１８（続き）－正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

検体情報　　ＲＯＲ２細胞膜染色

列	病理学	差分強度				% スコア 1+以上	*陽性/陰性
		0	1+	2+	3+		
60	正常	100	0	0	0	0	陰性
61	正常	100	0	0	0	0	陰性
62	正常	100	0	0	0	0	陰性
63	正常	100	0	0	0	0	陰性
64	正常、過形成	100	0	0	0	0	陰性
65	正常	100	0	0	0	0	陰性
66	正常、過形成	100	0	0	0	0	陰性
67	正常	100	0	0	0	0	陰性
68	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
69	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
70	正常	100	0	0	0	0	陰性
71	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
72	正常	100	0	0	0	0	陰性
73	正常	100	0	0	0	0	陰性

＊ ROR2カットオフ：細胞の10％以上で1+以上の強度＝陽性（POS）

【表１８－６】

表１８（続き）－正常組織におけるＲＯＲ２の特異性試験

検体情報　　ＲＯＲ２細胞膜染色

列	病理学	差分強度				% スコア 1+以上	*陽性/陰性
		0	1+	2+	3+		
74	正常	100	0	0	0	0	陰性
75	正常	100	0	0	0	0	陰性
76	正常	100	0	0	0	0	陰性
77	正常	100	0	0	0	0	陰性
78	正常	100	0	0	0	0	陰性
79	正常、過形成	100	0	0	0	0	陰性
80	正常	100	0	0	0	0	陰性
81	正常	100	0	0	0	0	陰性
82	正常	100	0	0	0	0	陰性
83	正常	90	5	5	0	10	陽性
84	正常	95	5	0	0	5	陰性
85	扁桃腺炎	100	0	0	0	0	陰性
86	扁桃腺炎	100	0	0	0	0	陰性
87	扁桃腺炎	90	5	5	0	10	陽性
88	正常	100	0	0	0	0	陰性
89	正常	100	0	0	0	0	陰性
90	正常	100	0	0	0	0	陰性
91	正常	100	0	0	0	0	陰性
92	正常	100	0	0	0	0	陰性
93	正常	100	0	0	0	0	陰性
94	正常	100	0	0	0	0	陰性
95	*正常*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*	*N/A*
96	正常	0	20	30	50	100	陽性

* ＲＯＲ２カットオフ：細胞の 10%以上で 1+以上の強度＝陽性（POS）

【０５０８】

ＲＯＲ２精度および再現性試験（パートＤ）

感度スクリーニングの結果は、肉腫、卵巣癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）の癌適応症におけるＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイの精度と再現性を試験するのに適切な組織を特定するのに役立った。ＲＯＲ２アッセイの検証では、腫瘍細胞におけるＲＯＲ２細胞膜染色の範囲を示す腫瘍適応症を、適応症ごとに４腫瘍検体選択した。

【０５０９】

表６のＩＨＣアッセイと１回の実行（精度）の上述のプロトコールに従って、各適応症の各検体をＲＯＲ２について３回反復して行った。連続しない日に実施された２回の別個の検査では、同じオペレーターと異なるオペレーターの両方によって、同じ検体がＲＯＲ２で３回繰り返して測定された（再現性）。　すべての複製スライドは、連続切片として調製された（スライド調製間の材料の損失を最小限に抑えながら、１スライドにつき組織

の１切片を調製）。
【０５１０】
イントラアッセイ（精度）およびインターアッセイ（再現性）は、ＲＯＲ２について選択された４つの腫瘍検体のそれぞれについて、３つの複製切片（１ランあたり）を用いた３回実行の組を用いて決定され、その結果、各検体について９つの複製セットが得られた。２人のオペレーターが異なるＴｅｃｈＭａｔｅ装置を用いてアッセイを実施した（オペレーター１、ラン１；オペレーター１、ラン２；オペレーター２、ラン３）。陽性対照、標準対照、陰性対照はそれぞれのランに含まれ、予想通りの反応を示した。
【０５１１】
検証中に染色されたすべての複製をレビューし、採点した。腫瘍のＲＯＲ２細胞膜染色はパーセントスコア１＋以上で評価した。検証試験では、ＲＯＲ２陽性を判定するために、前述のカットオフ値を用いた。１０％以上の腫瘍細胞が１＋以上の強度で染色された（パーセントスコア　１＋以上、すなわち１０以上）検体を陽性（ＰＯＳ）と呼んだ。腫瘍細胞の０～９％に１＋以上の染色が認められるか、または１＋未満の染色しか認められない場合、その検体は陰性（ＮＥＧ）であった。精度と再現性の試験では、１０％以上の腫瘍細胞が１＋以上の強度で染色された（パーセントスコア　１＋以上、すなわち１０以上）検体を陽性（ＰＯＳ）と呼んだ。腫瘍細胞の０～９％に１＋以上の染色が認められるか、または１＋未満の染色しか認められない場合、その検体は陰性（ＮＥＧ）であった。
【０５１２】
全体として、精度および再現性試験の検体は、感度スクリーニングでＲＯＲ２で染色した切片と同等であった。これらの検査間でいくつかのスコアの違い（感度の高低）が観察されたが、それは組織切片の深さの変化に起因するものであり、ＲＯＲ２アッセイのばらつきに起因するものではなかった。ＲＯＲ２の精度と再現性の各検体は、感度テストと比較して病理医が許容範囲と判断した。複製例の統計解析を含む完全な検証スコアリング結果は、肉腫の表１９、卵巣癌の表２０、ＮＳＣＬＣの表２１、ＴＮＢＣの表２２に示されている。
【０５１３】
ＲＯＲ２反応性の細胞パターンは、腫瘍染色のパターン、割合、強度において、すべての複製で類似していた。この一貫性は、肉腫では図２６と２７、卵巣癌では図２８と２９、ＮＳＣＬＣでは図３０と３１、ＴＮＢＣでは図３２と３３のＲＯＲ２について表れている。
【０５１４】
複製間で観察されたＲＯＲ２細胞膜染色のわずかなまたは段階的な変化は、各直列切片の腫瘍量のわずかな変化に起因するものであった。対応するマウスＩｇＧ１陰性対照の画像は、これらの図の下段に含まれている。
【０５１５】
統計分析と信頼区間評価
ＩＨＣアッセイ検証の可否は、染色パターンの一貫性の評価、半定量的スコアの統計解析、一致／不一致の推定値のパーセンテージによって決定された。精度・再現性試験の合格は、一致率で計算される選択された９５％信頼区間（ＣＩ）の下限が８５％以上であることを要求する。また、一般的な基準では、複製間の平均の標準誤差（ＳＥＭ）が５を超えないこと、変動係数（ＣＶ）が２０％を超えないこと（パーセントスコア値が１０以上の検体）とされている。
【０５１６】
各複製セットの平均値、標準偏差、平均値の標準誤差（ＳＥＭ）、および変動係数（ＣＶ）を含む、腫瘍におけるＲＯＲ２パーセントスコア１＋以上パーセントスコアの検証スコアリング結果のまとめを表２３に示す。ＲＯＲ２の陽性カットオフ値として、１＋以上の強度で腫瘍細胞の１０％以上が染色されることを、精度と再現性の解析のためのこれらの検体の評価に適用した。
【０５１７】

各バイオマーカーについて検査された４症例から得られた９反復の各セットのＳＥＭは１．７を超えず、ＣＶは１６％を超えなかった（パーセントスコア　１＋以上の症例について、＞５）。ＴＮＢＣ検体Ｑ９２５０のＲＯＲ２パーセントスコアは、試験した複製の中で２～５の範囲であった。これは、ＦＦＰＥ組織ブロックの連続切片化に伴い、反応性細胞のクラスターが減少したことに起因している。その結果、ＣＶ値は４７％であったが、ＳＥＭは０．４と非常に低く、標準偏差はわずか１．３であった。

【０５１８】

パーセントスコアが低い場合、試験の性質上、複製物間の差は高いＣＶ値に変換される。パーセントスコアが１０未満の場合、検体は合格とみなすことができる。Ｑ９２５０検体は合格と判定され、その他の検体はすべて規定値内であった。

【０５１９】

ＲＯＲ２の信頼区間評価は表２４に示されており、陽性／陰性染色の一致、平均値、標準偏差、平均値の標準誤差（ＳＥＭ）、および９５％信頼区間（ＣＩ）の事前定義Ｚ値が含まれる。この評価では、ＣＩを計算するために使用した基準点は、ＲＯＲ２複製物の大部分についての染色結果（陽性または陰性）に基づいていた。例えば、肉腫検体ＱＭＴＢ３１３－０４の９／９複製はＲＯＲ２陽性であった。もしＱＭＴＢ３１３－０４の複製が陰性であったなら、それは大多数に反しており、ＣＩを低下させたであろう。しかし、不一致の結果は出なかった。

【０５２０】

ＲＯＲ２の精度と再現性研究から得られたペアワイズ比較の結果、肉腫、卵巣癌、ＮＳＣＬＣ、ＴＮＢＣにおいて、一致した結果は３６例、不一致は０であった（表２４）。その結果、１４４／１４４のＲＯＲ２テストが適切な大多数と一致した。ＲＯＲ２　ＩＨＣアッセイについては、９５％ＣＩで許容基準を満たした。

【０５２１】

ヒト肉腫、卵巣癌、ＮＳＣＬＣ、およびＴＮＢＣ適応症で検出に使用されたＲＯＲ２ＩＨＣアッセイは、臨床検査での使用において検証に成功したと考えられる。

【表１９－１】

肉腫におけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ラン	オペレーター	検体情報			
			組織の種類	Q/MTB	繰り返し	スライド番号
1	1	1	肉腫	QMTB313-04	1	461
					2	462
					3	463
2	2	1	肉腫	QMTB313-04	1	478
					2	479
					3	480
3	3	2	肉腫	QMTB313-04	1	534
					2	535
					3	536
4	1	1	肉腫	QMTB313-07	1	461
					2	462
					3	463
5	2	1	肉腫	QMTB313-07	1	478
					2	479
					3	480
6	3	2	肉腫	QMTB313-07	1	534
					2	535
					3	536
7	1	1	肉腫	Q9403	1	464
					2	465
					3	466
8	2	1	肉腫	Q9403	1	481
					2	482
					3	483
9	3	2	肉腫	Q9403	1	537
					2	538
					3	539
10	1	1	肉腫	Q9456	1	411
					2	412
					3	413
11	2	1	肉腫	Q9456	1	484
					2	485
					3	486
12	3	2	肉腫	Q9456	1	540
					2	541
					3	542

【表１９－２】

肉腫におけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ＲＯＲ２細胞膜腫瘍染色						ROR2統計解析			
	0	1+	2+	3+	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	%スコア 平均	%スコア 標準偏差	%スコア SEM	%スコア CV (%)
1	10	20	20	50	90	陽性				
	10	20	20	50	90	陽性				
	10	20	20	50	90	陽性				
2	10	20	20	50	90	陽性				
	10	20	20	50	90	陽性	90.0	0.0	0.0	0%
	10	20	20	50	90	陽性				
3	10	30	20	40	90	陽性				
	10	30	20	40	90	陽性				
	10	20	20	50	90	陽性				
4	30	0	20	50	70	陽性				
	30	0	20	50	70	陽性				
	30	0	20	50	70	陽性				
5	30	0	20	50	70	陽性				
	30	0	20	50	70	陽性	70.0	0.0	0.0	0%
	30	0	20	50	70	陽性				
6	30	0	20	50	70	陽性				
	30	0	20	50	70	陽性				
	30	0	20	50	70	陽性				
7	0	0	0	100	100	陽性				
	0	0	0	100	100	陽性				
	0	0	0	100	100	陽性				
8	0	0	0	100	100	陽性				
	0	0	0	100	100	陽性	100.0	0.0	0.0	0%
	0	0	0	100	100	陽性				
9	0	0	0	100	100	陽性				
	0	0	0	100	100	陽性				
	0	0	0	100	100	陽性				
10	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
11	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性	0.0	0.0	0.0	0%
	100	0	0	0	0	陰性				
12	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				

【０５２２】

【表２０－１】

卵巣癌におけるＲＯＲ２の精度および再現性卵巣癌におけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ラン	オペレーター	検体情報			
			組織の種類	Q/MTB	繰り返し	スライド番号
1	1	1	卵巣癌	QMTB400-01	1	414
					2	415
					3	467
2	2	1	卵巣癌	QMTB400-01	1	487
					2	488
					3	489
3	3	2	卵巣癌	QMTB400-01	1	543
					2	544
					3	545
4	1	1	卵巣癌	QMTB400-05	1	414
					2	415
					3	467
5	2	1	卵巣癌	QMTB400-05	1	487
					2	488
					3	489
6	3	2	卵巣癌	QMTB400-05	1	543
					2	544
					3	545
7	1	1	卵巣癌	Q5488-02	1	417
					2	418
					3	419
8	2	1	卵巣癌	Q5488-02	1	490
					2	491
					3	492
9	3	2	卵巣癌	Q5488-02	1	546
					2	547
					3	548
10	1	1	卵巣癌	Q7499-02	1	421
					2	422
					3	472
11	2	1	卵巣癌	Q7499-02	1	493
					2	494
					3	495
12	3	2	卵巣癌	Q7499-02	1	549
					2	550
					3	551

【表２０－２】

表２０（続き）－卵巣癌におけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ＲＯＲ２細胞膜腫瘍染色						ROR2統計解析			
	0	1+	2+	3+	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	%スコア 平均	%スコア 標準偏差	%スコア SEM	%スコア CV (%)
1	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
2	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性	0.0	0.0	0.0	0%
	100	0	0	0	0	陰性				
3	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
4	90	0	0	10	10	陽性				
	90	0	0	10	10	陽性				
	90	0	0	10	10	陽性				
5	90	0	0	10	10	陽性				
	88	0	2	10	12	陽性	10.4	0.9	0.3	8%
	88	0	2	10	12	陽性				
6	90	0	0	10	10	陽性				
	90	0	0	10	10	陽性				
	90	0	0	10	10	陽性				
7	20	20	20	40	80	陽性				
	20	20	20	40	80	陽性				
	20	20	20	40	80	陽性				
8	20	20	20	40	80	陽性				
	20	20	20	40	80	陽性	76.7	5.0	1.7	7%
	20	20	20	40	80	陽性				
9	30	20	10	40	70	陽性				
	30	20	10	40	70	陽性				
	30	20	10	40	70	陽性				
10	20	30	20	30	80	陽性				
	20	20	30	30	80	陽性				
	20	30	20	30	80	陽性				
11	20	30	20	30	80	陽性				
	20	30	20	30	80	陽性	80.0	0.0	0.0	0%
	20	30	20	30	80	陽性				
12	20	30	20	30	80	陽性				
	20	30	20	30	80	陽性				
	20	30	20	30	80	陽性				

【０５２３】

【表２１－１】

ＮＳＣＬＣにおけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ラン	オペレーター	検体情報			
			組織の種類	Q/MTB	繰り返し	スライド番号
1	1	1	NSCLC	QMTB397-02	1	423
					2	424
					3	425
2	2	1	NSCLC	QMTB397-02	1	496
					2	497
					3	498
3	3	2	NSCLC	QMTB397-02	1	552
					2	553
					3	554
4	1	1	NSCLC	QMTB397-07	1	423
					2	424
					3	425
5	2	1	NSCLC	QMTB397-07	1	496
					2	497
					3	498
6	3	2	NSCLC	QMTB397-07	1	552
					2	553
					3	554
7	1	1	NSCLC	Q6949-01	1	429
					2	430
					3	431
8	2	1	NSCLC	Q6949-01	1	502
					2	503
					3	504
9	3	2	NSCLC	Q6949-01	1	558
					2	559
					3	560
10	1	1	NSCLC	Q4044-04	1	426
					2	427
					3	428
11	2	1	NSCLC	Q4044-04	1	499
					2	500
					3	501
12	3	2	NSCLC	Q4044-04	1	555
					2	556
					3	557

【表２１－２】

表２１（続き）－ＮＳＣＬＣにおけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ＲＯＲ２細胞膜腫瘍染色						ROR2統計解析			
	0	1+	2+	3+	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	%スコア 平均	%スコア 標準偏差	%スコア SEM	%スコア CV (%)
1	74	20	5	1	26	陽性				
	74	20	5	1	26	陽性				
	74	20	5	1	26	陽性				
2	69	25	5	1	31	陽性				
	73	20	5	2	27	陽性	24.7	3.9	1.3	16%
	74	15	10	1	26	陽性				
3	82	15	2	1	18	陽性				
	79	15	5	1	21	陽性				
	79	15	5	1	21	陽性				
4	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
5	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性	0.0	0.0	0.0	0%
	100	0	0	0	0	陰性				
6	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
7	30	30	20	20	70	陽性				
	30	30	20	20	70	陽性				
	20	30	20	30	80	陽性				
8	30	30	20	20	70	陽性				
	30	30	20	20	70	陽性	71.1	3.3	1.1	5%
	30	30	20	20	70	陽性				
9	30	30	20	20	70	陽性				
	30	30	20	20	70	陽性				
	30	30	20	20	70	陽性				
10	90	5	5	0	10	陽性				
	90	5	5	0	10	陽性				
	90	5	5	0	10	陽性				
11	90	5	5	0	10	陽性				
	90	5	5	0	10	陽性	10.0	0.0	0.0	0%
	90	5	5	0	10	陽性				
12	90	5	5	0	10	陽性				
	90	5	5	0	10	陽性				
	90	5	5	0	10	陽性				

【０５２４】

【表２２－１】

表２２－ＴＮＢＣにおけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ラン	オペレーター	検体情報			
			組織の種類	Q/MTB	繰り返し	スライド番号
1	1	1	TNBC	Q9333	1	441
					2	442
					3	443
2	2	1	TNBC	Q9333	1	514
					2	515
					3	516
3	3	2	TNBC	Q9333	1	570
					2	571
					3	572
4	1	1	TNBC	Q9289	1	438
					2	439
					3	440
5	2	1	TNBC	Q9289	1	511
					2	512
					3	513
6	3	2	TNBC	Q9289	1	567
					2	568
					3	569
7	1	1	TNBC	Q9250	1	432
					2	433
					3	434
8	2	1	TNBC	Q9250	1	505
					2	506
					3	507
9	3	2	TNBC	Q9250	1	561
					2	562
					3	563
10	1	1	TNBC	Q9254	1	435
					2	436
					3	437
11	2	1	TNBC	Q9254	1	508
					2	509
					3	510
12	3	2	TNBC	Q9254	1	564
					2	565
					3	566

【表２２－２】

表２２（続き）－ＴＮＢＣにおけるＲＯＲ２の精度と再現性

列	ＲＯＲ２細胞膜腫瘍染色						ROR2統計解析			
	0	1+	2+	3+	% スコア 1+以上	*陽性/陰性	%スコア 平均	%スコア 標準偏差	%スコア SEM	%スコア CV (%)
1	10	10	30	50	90	陽性	90.0	0.0	0.0	0%
	10	10	30	50	90	陽性				
	10	10	30	50	90	陽性				
2	10	10	30	50	90	陽性				
	10	10	30	50	90	陽性				
	10	10	30	50	90	陽性				
3	10	10	30	50	90	陽性				
	10	10	30	50	90	陽性				
	10	10	30	50	90	陽性				
4	30	30	10	30	70	陽性	70.0	0.0	0.0	0%
	30	30	10	30	70	陽性				
	30	30	10	30	70	陽性				
5	30	30	10	30	70	陽性				
	30	30	10	30	70	陽性				
	30	30	10	30	70	陽性				
6	30	40	10	20	70	陽性				
	30	40	10	20	70	陽性				
	30	30	10	30	70	陽性				
7	95	3	2	0	5	陰性	2.8	1.3	0.4	47%
	95	3	2	0	5	陰性				
	98	0	2	0	2	陰性				
8	98	0	2	0	2	陰性				
	98	0	2	0	2	陰性				
	97	1	2	0	3	陰性				
9	98	0	2	0	2	陰性				
	98	1	1	0	2	陰性				
	98	0	2	0	2	陰性				
10	100	0	0	0	0	陰性	0.0	0.0	0.0	0%
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
11	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
12	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				
	100	0	0	0	0	陰性				

【０５２５】

【表２３】

表２３－癌適応症におけるＲＯＲ２の検証統計サマリー

精度・再現性統計サマリー					
組織の種類	Q/MTB	ＲＯＲ２			
		% スコア 平均値	% スコア 標準偏差	% スコア SEM	% スコア CV
肉腫	QMTB313-04	90.0	0.0	0.0	0%
肉腫	QMTB313-07	70.0	0.0	0.0	0%
肉腫	Q9403	100.0	0.0	0.0	0%
肉腫	Q9456	0.0	0.0	0.0	0%
卵巣癌	QMTB400-01	0.0	0.0	0.0	0%
卵巣癌	QMTB400-05	10.4	0.9	0.3	8%
卵巣癌	Q5488-02	76.7	5.0	1.7	7%
卵巣癌	Q7499-02	80.0	0.0	0.0	0%
NSCLC	QMTB397-02	24.7	3.9	1.3	16%
NSCLC	QMTB397-07	0.0	0.0	0.0	0%
NSCLC	Q6949-01	71.1	3.3	1.1	5%
NSCLC	Q4044-04	10.0	0.0	0.0	0%
TNBC	Q9333	90.0	0.0	0.0	0%
TNBC	Q9289	70.0	0.0	0.0	0%
TNBC	Q9250	2.8	1.3	0.4	47%
TNBC	Q9254	0.0	0.0	0.0	0%

【０５２６】

【表２４】

表 24-癌適応症における ROR2 の信頼区間検証分析

精度・再現性 信頼区間解析								
組織タイプ	Q/MTB	ＲＯＲ２陽性/陰性一致度	95%信頼区間					
			総数	平均値	標準偏差	SEM	Z値	95% CI
肉腫	QMTB313-04	9/9	36	100%	0	0	1.96	0
肉腫	QMTB313-07	9/9						
肉腫	Q9403	9/9						
肉腫	Q9456	9/9						
卵巣癌	QMTB400-01	9/9	36	100%	0	0	1.96	0
卵巣癌	QMTB400-05	9/9						
卵巣癌	Q5488-02	9/9						
卵巣癌	Q7499-02	9/9						
NSCLC	QMTB397-02	9/9	36	100%	0	0	1.96	0
NSCLC	QMTB397-07	9/9						
NSCLC	Q6949-01	9/9						
NSCLC	Q4044-04	9/9						
TNBC	Q9333	9/9	36	100%	0	0	1.96	0
TNBC	Q9289	9/9						
TNBC	Q9250	9/9						
TNBC	Q9254	9/9						

【０５２７】

本明細書に言及されるすべての文書は、参照によりそれらの全体が本明細書に援用されるか、代替的にそれらが特に信頼される開示を提供する。出願人は、開示された実施形態を公衆に捧げることを意図しておらず、開示された修正または変更が文字通り特許請求の範囲内に含まれない可能性がある限り、それらは均等論の下で本発明の一部であるとみなされる。

【０５２８】

【表２５－１】

配列番号とコードの対応表

配列番号	対応コード
配列番号 13	48.6-LC-WT（図 3B および明細書表 1）。
配列番号 14	48.6-LC-V029E（図 3B および明細書表 1）。
VL（配列番号 15）と VH（配列番号 20）の組み合わせ	本明細書の図 5 の BAP048.7-humC02D09-CAB（#3947）、図 7A-7C のＲＯＲ２-CAB1-ADC、表 4 の BAP048.7-C02D09。
VL（配列番号 16）と VH（配列番号 22）の組み合わせ	本明細書の図 5 の BAP048.7-humA03F01（#3948）、図 7A-7C のＲＯＲ２-CAB2-ADC は、表 4 の BAP048.7-A03F01。
配列番号 17	図 3A の 48.3-LC-WT
番号配列 18	本明細書の図 2B および表 2 の 48.6-HC-WT、および本願の開示に組み込まれる米国仮出願第 62/447,218 号の図 2A の 048.1-2-11-VH。
配列番号 19	本願の開示に組み込まれる米国仮出願第 62/447,218 号の図 2A の 048.6-2-11-64-VH。

【表２５－２】

配列番号	対応コード
VL（配列番号 16）と VH（配列番号 21）の組み合わせ	本明細書の図 5 の BAP048.7-humA03C05-CAB（#3950）、図 7A-7C のＲＯＲ２-CAB3-ADC、および表 4 の BAP048.7-A03C05、ならびに本出願の開示に組み込まれる米国仮出願第 62/447,218 号の図 2A の 048.7-HC03D05-VH。
配列番号 23	本明細書の図 2A の 48.3-HC-WT、および本出願の開示に組み込まれる米国仮出願第 62/447,218 号の図 2B の 048.3-1-09-VH。
配列番号 24	本出願の開示に組み込まれる米国仮出願第 62/447,218 号の図 2B の 048.3-1-09-VH。
配列番号 25	BAP048-5-humVH-R098H
配列番号 26	BAP048-5-humVH-Y0H33E
配列番号 27	BAP-048-5-humVL

【表２５－３】

配列番号	対応コード
VL（配列番号 108）と VH（配列番号 75）の組み合わせ	本明細書の図 5（#3949）に記載の BAP048.6-2-11-Chimera-CAB。
VL（配列番号 118）と VH（配列番号 119）の組み合わせ	本明細書の表 4 の BAP048.1-06-07 および実施例 1 の BAP048.7-06-07-HC-FLAG。
VL（配列番号 16）と VH（配列番号 21）の組み合わせ	本明細書の図 8 における BAP048 CAB 抗体または実施例 3 における BAP048.7、図 9 および 10、図 11A-11C および 12A-12C における BAP048 または BAP048 ADC、図 13、14、15A-15B における BAP048-MMAE コンジュゲートまたは BAP048.7。

【図面】

【図１】

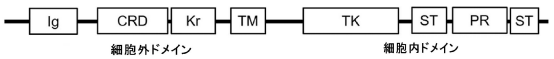


図１

【図２Ａ－１】

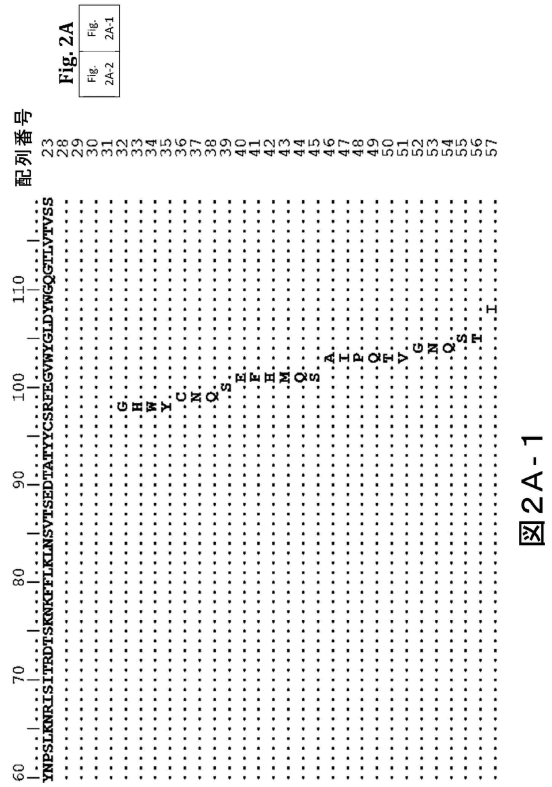


図２Ａ－１

【図２Ａ－２】

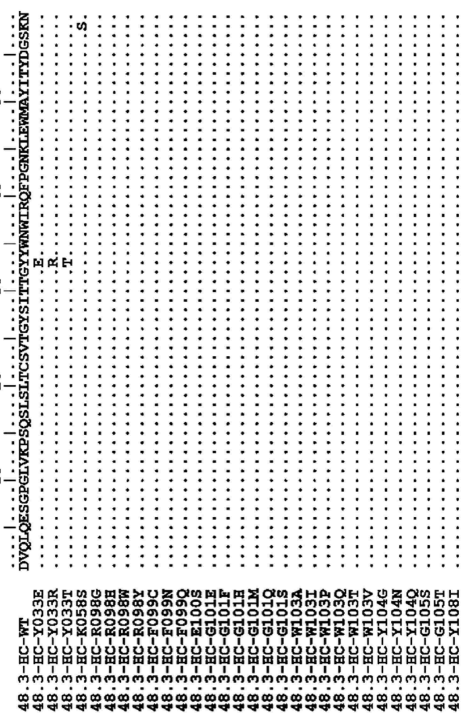


図２Ａ-２

【図２Ｂ－１】

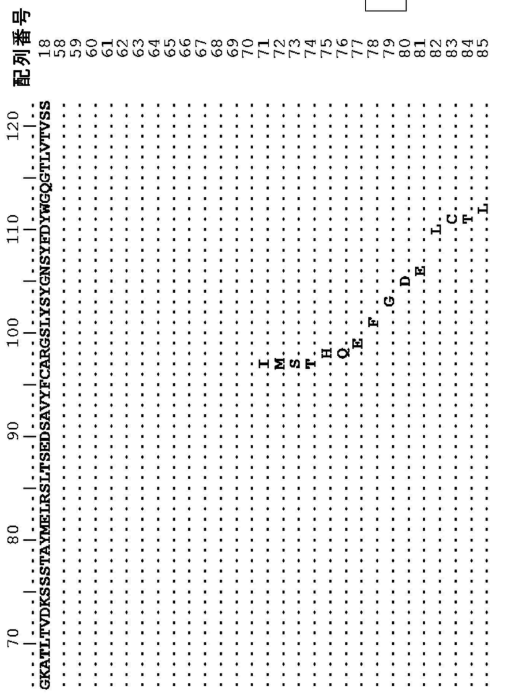


図２Ｂ-１

【図２Ｂ－２】

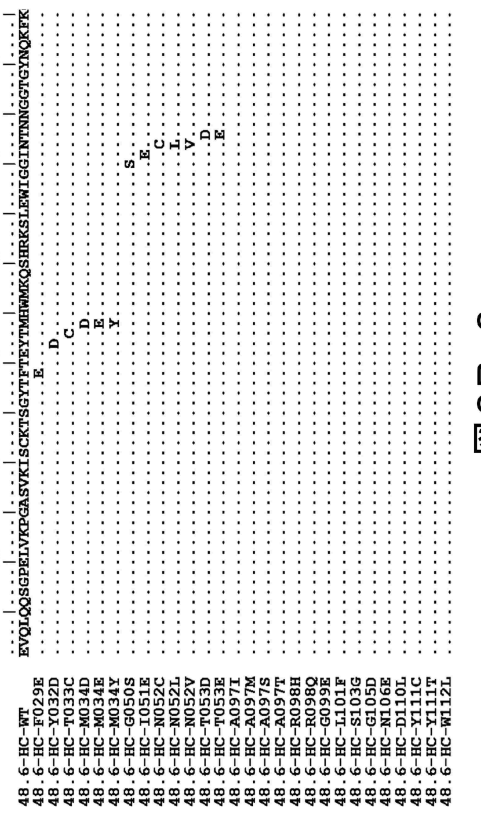


図２Ｂ-２

【図３Ａ－１】

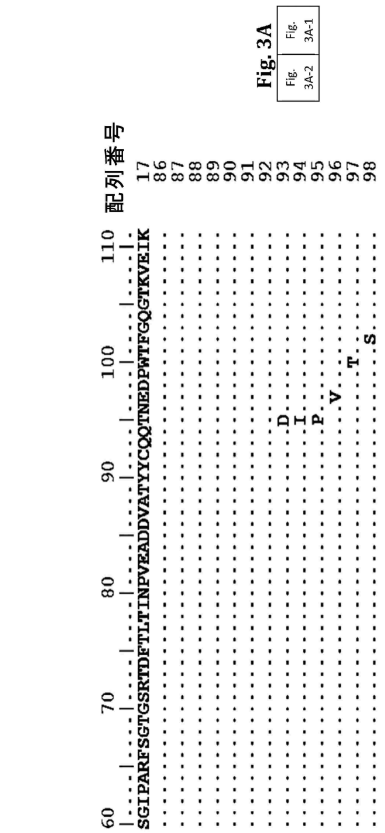


図３Ａ-１

【図３Ａ－２】

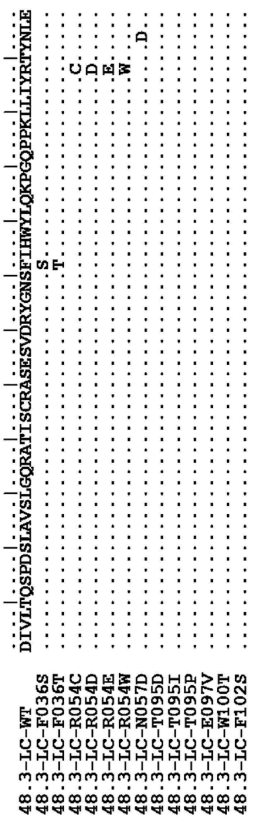


図３Ａ－２

【図３Ｂ－１】

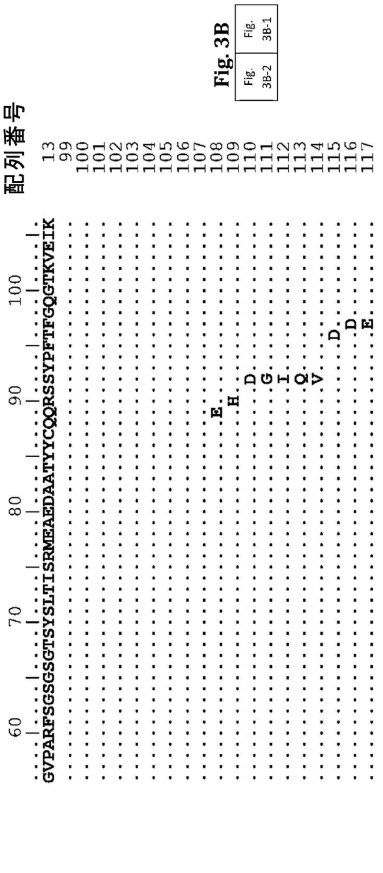


図３Ｂ－１

【図３Ｂ－２】

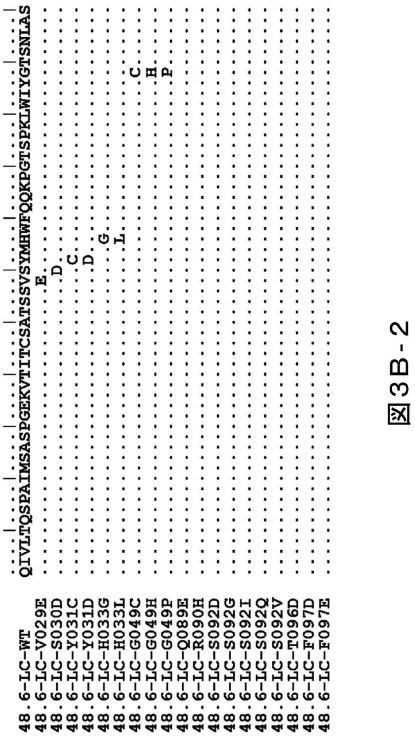


図３Ｂ－２

【図４】

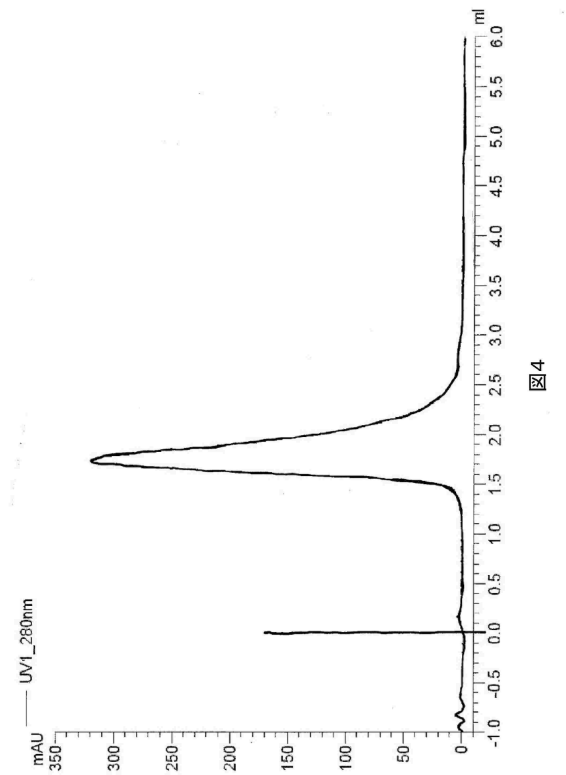


図４

【図５】

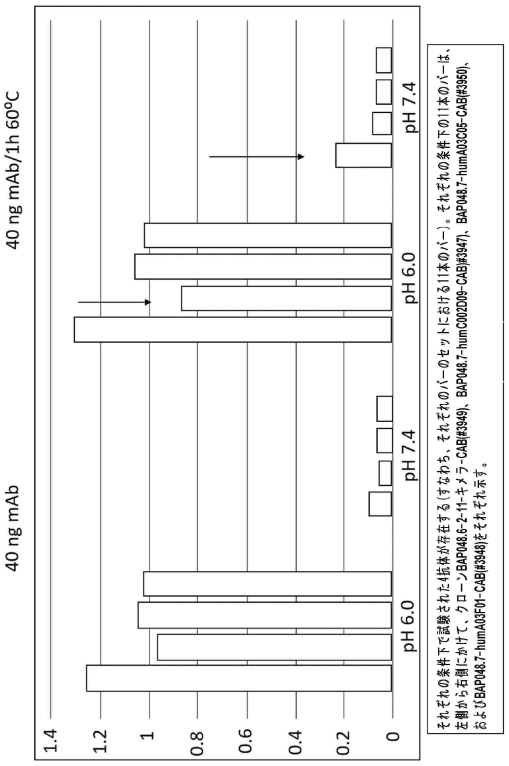


図５

【図６Ａ】

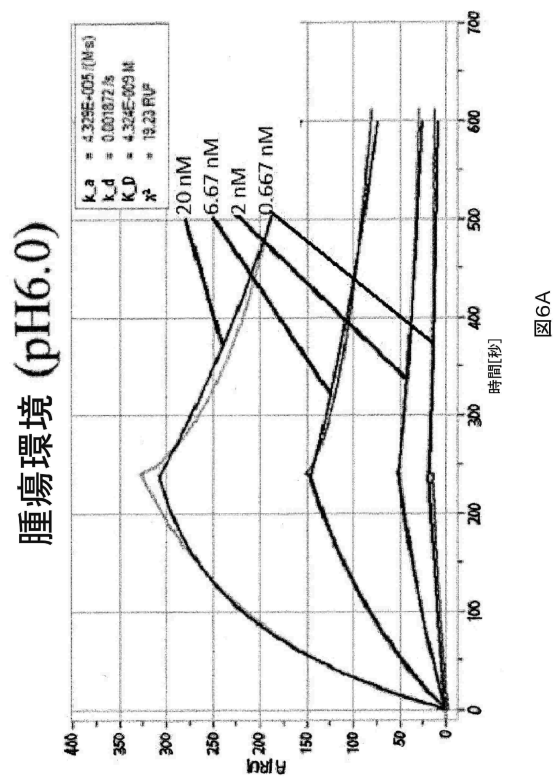


図6A

【図６Ｂ】

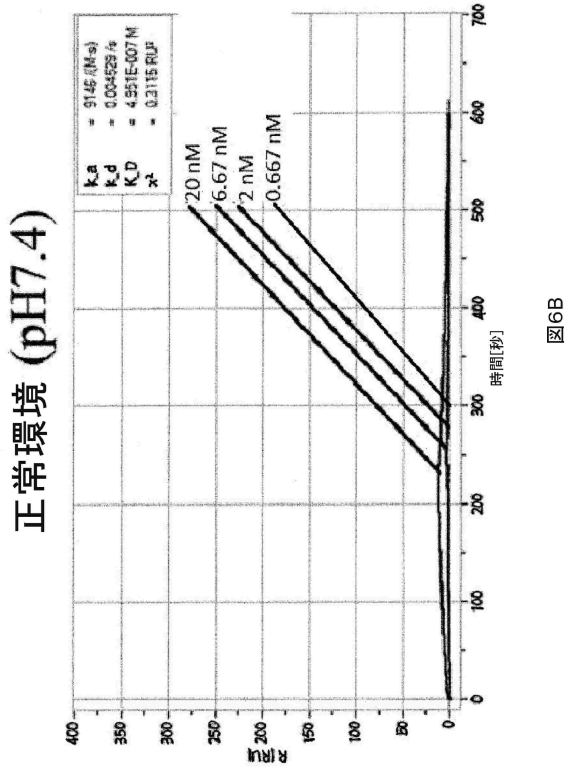


図6B

【図７Ａ】

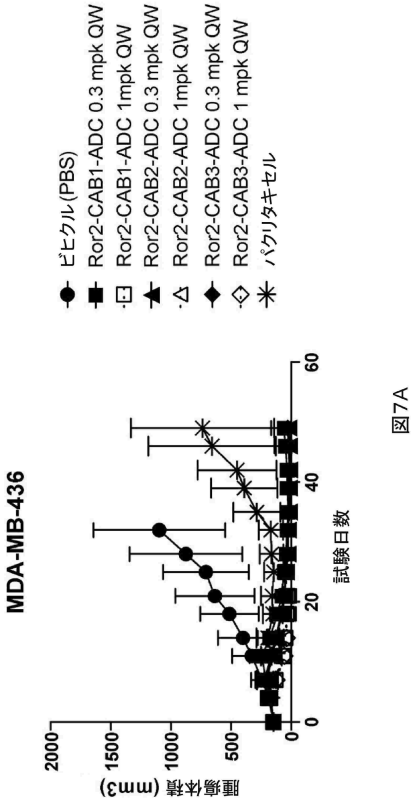


図7A

【図７Ｂ】

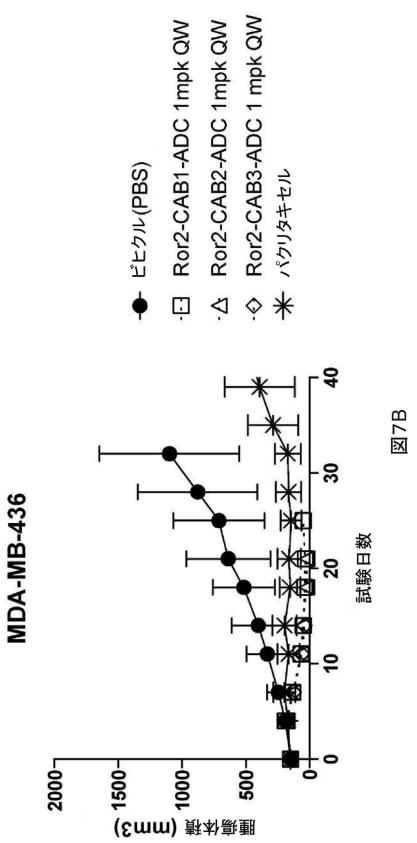


図7B

【図７Ｃ】

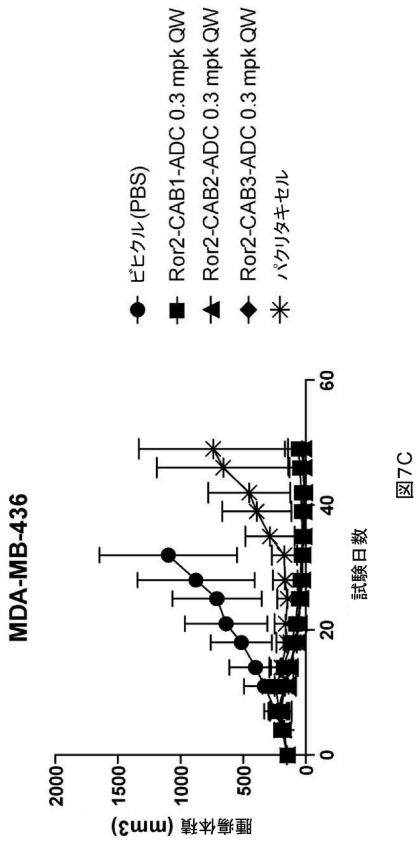


図7C

【図８】

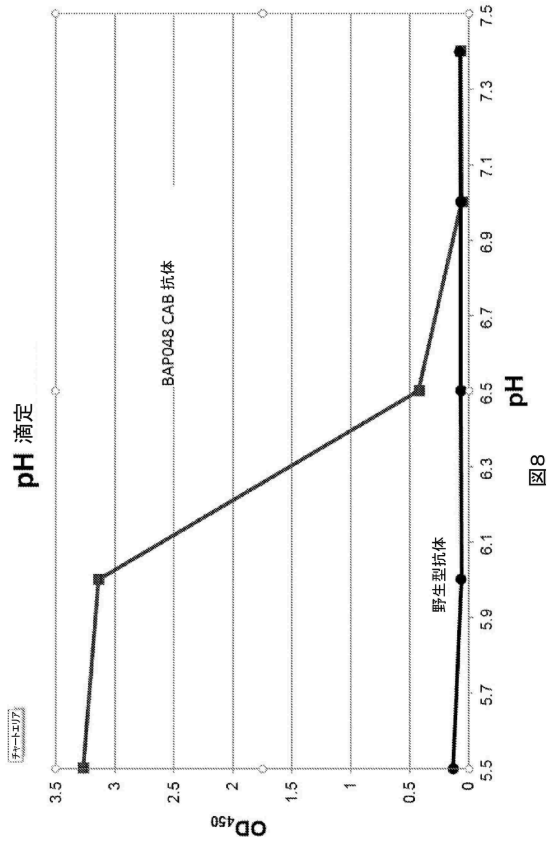
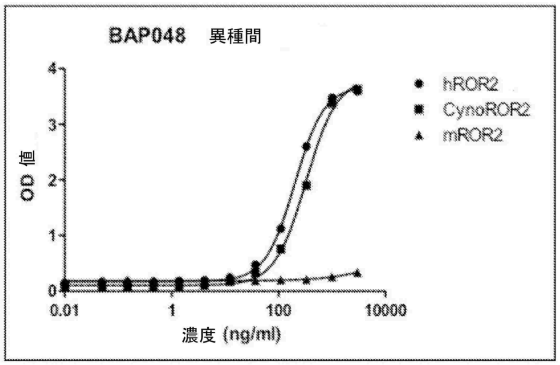


図8

【図９】



抗原	hROR2	CynoROR2	mROR2
EC50 (ng/ml)	201.4	327.1	7653

図9

【図１０】

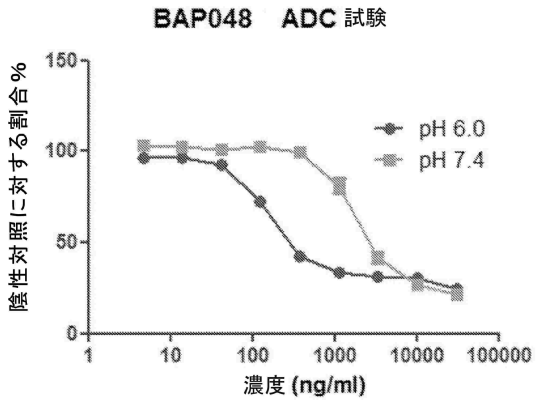
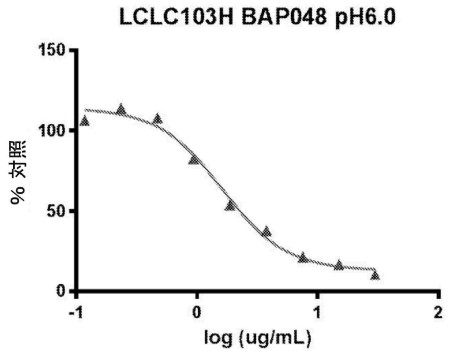


図10

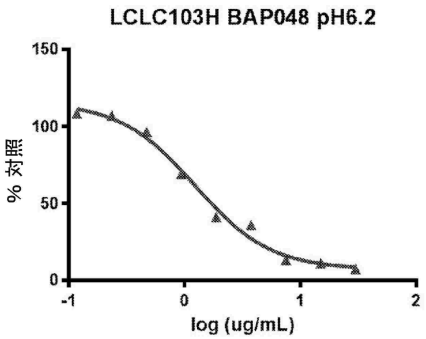
【図１１Ａ】



	810D-PAB-MMAE
IC50	1.619

図11A

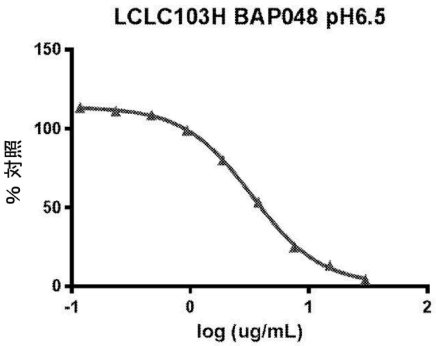
【図１１Ｂ】



	810D-PAB-MMAE
IC50	1.232

図11B

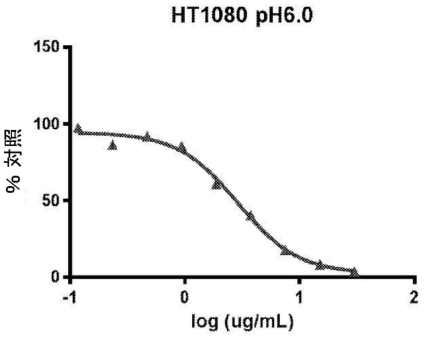
【図１１Ｃ】



	810D-PAB-MMAE
IC50	3.318

図11C

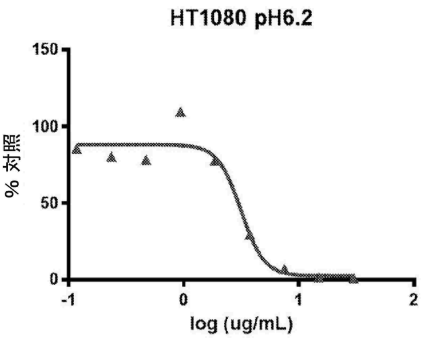
【図１２Ａ】



	810D-PAB-MMAE
IC50	2.897

図12A

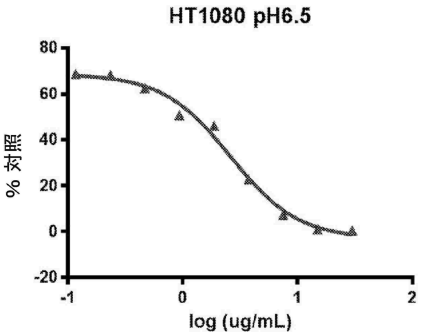
【図１２Ｂ】



	810D-PAB-MMAE
IC50	3.138

図12B

【図１２Ｃ】



	810D-PAB-MMAE
IC50	2.601

図12C

【図１３】

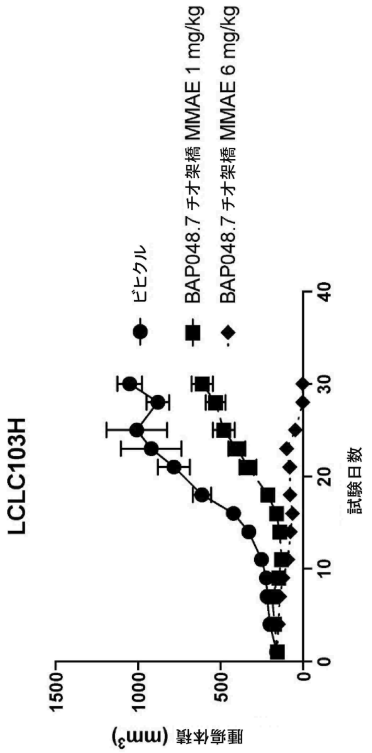


図13

【図１４】

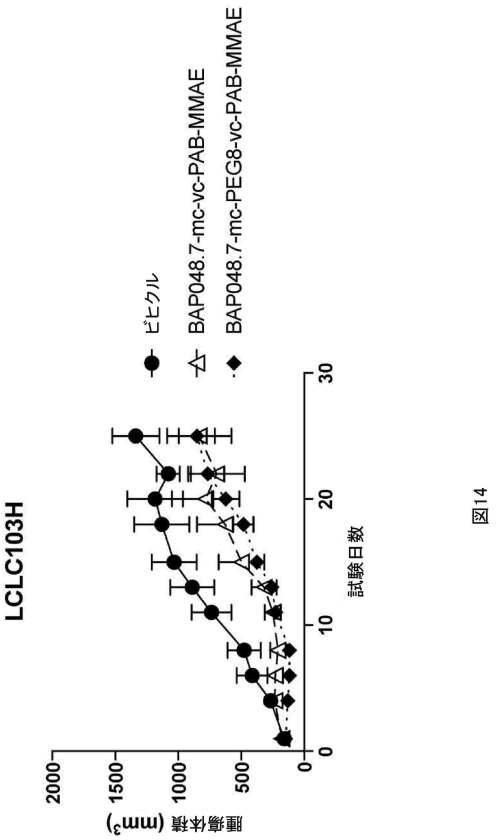


図14

【図１５Ａ】

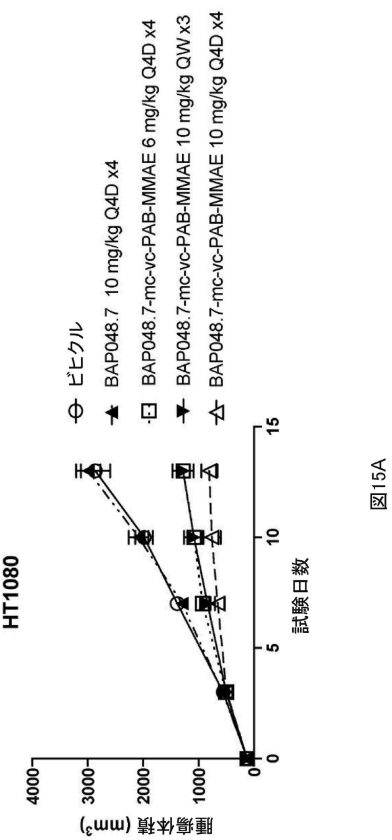


図15A

【図１５Ｂ】

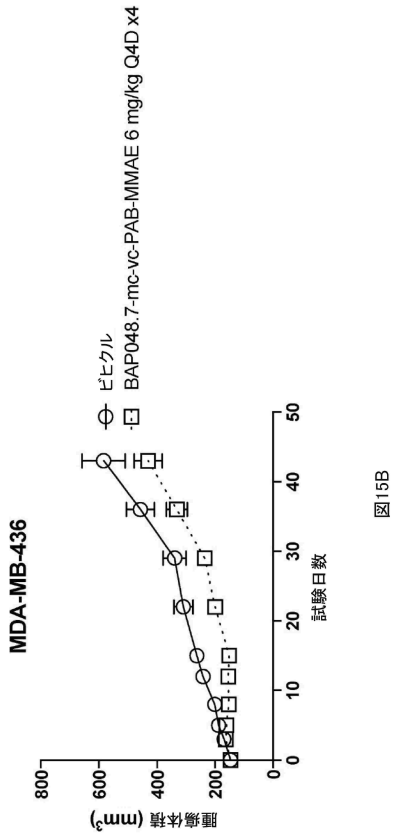


図15B

【図１６】

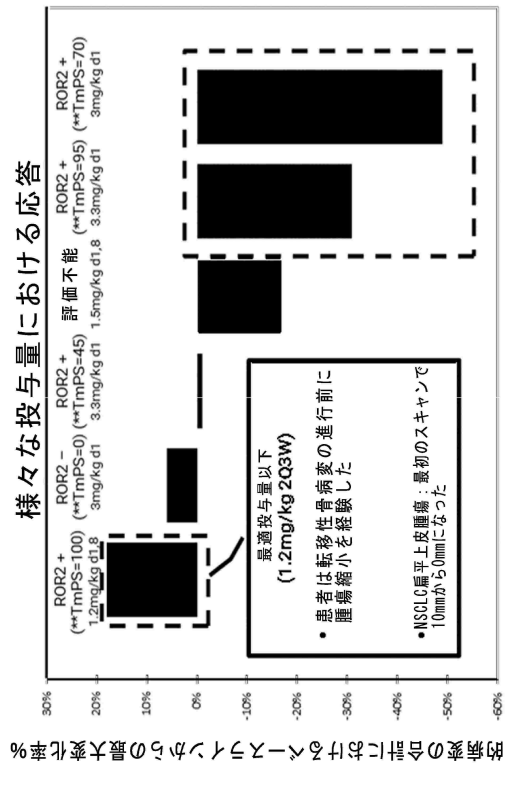


図16

【図１７】

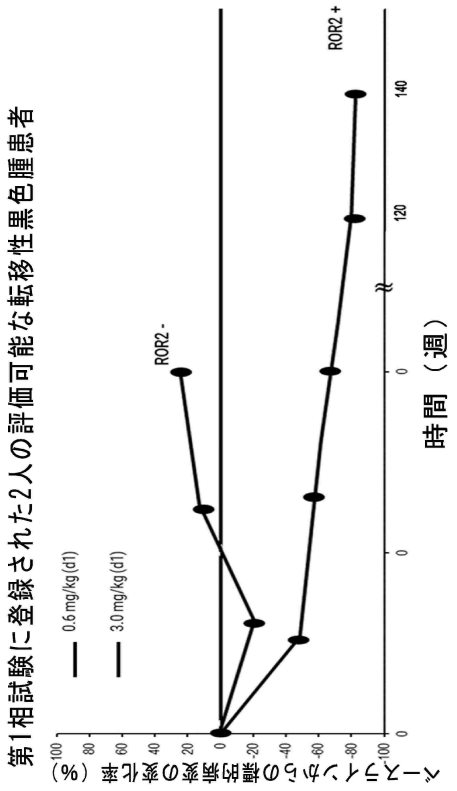


図１７

【図１８】

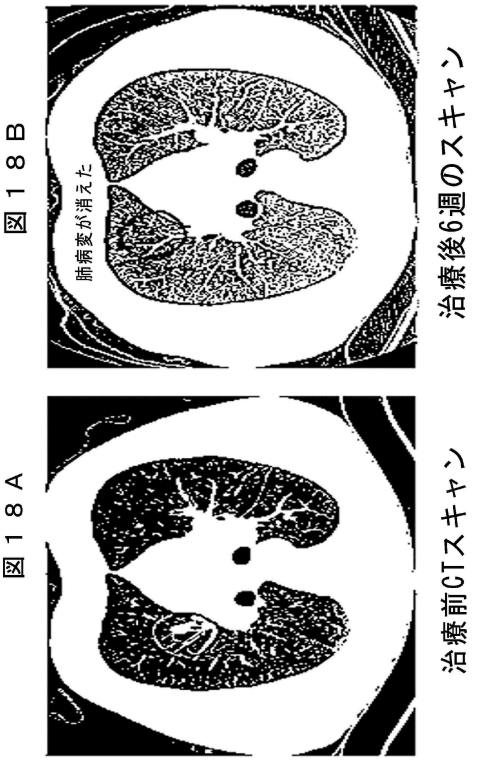


図１８Ａ　図１８Ｂ

図１８

【図１９】

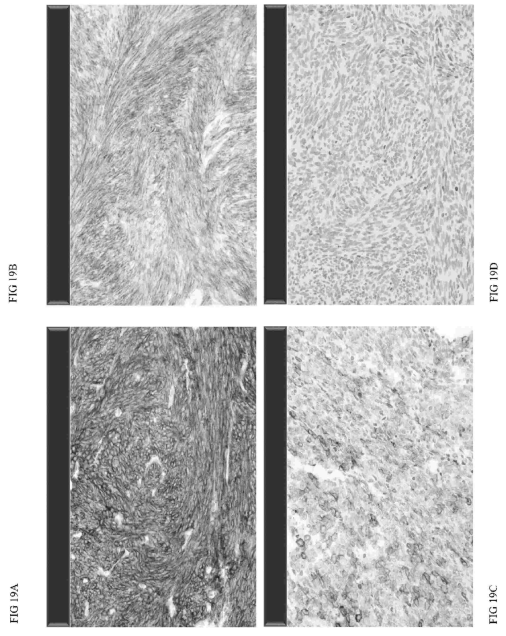


図１９

【図２０】

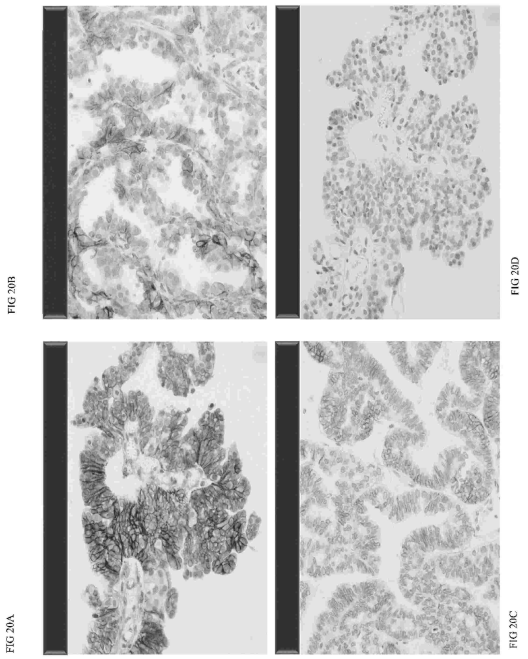


図２０

【図２１】

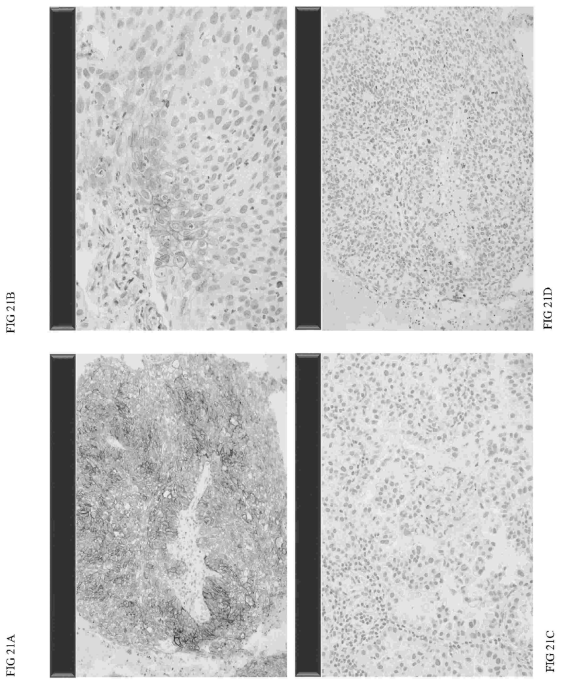


図２１

【図２２】

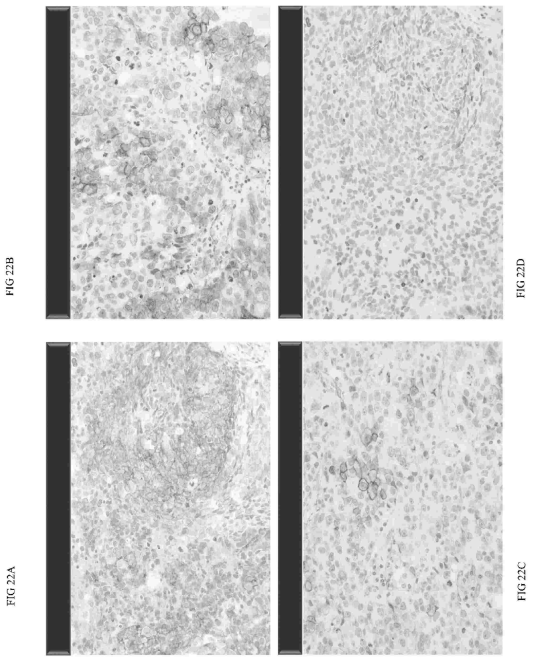


図２２

【図２３】

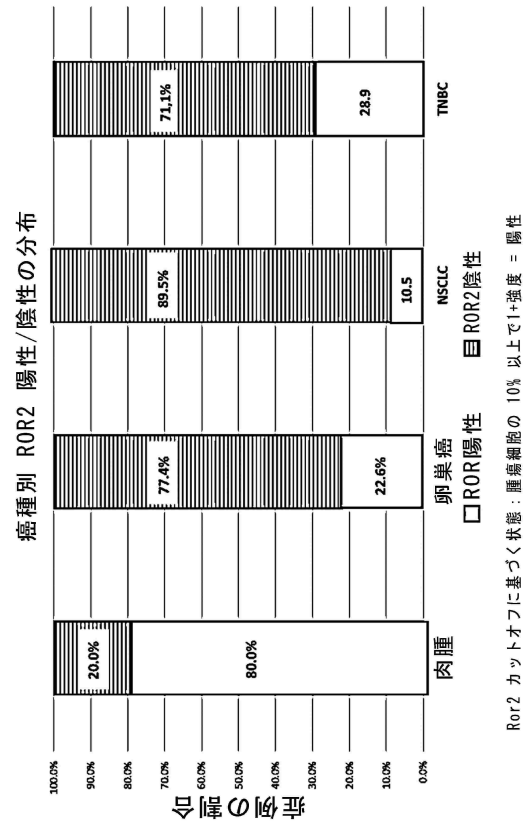


図２３

【図２４】

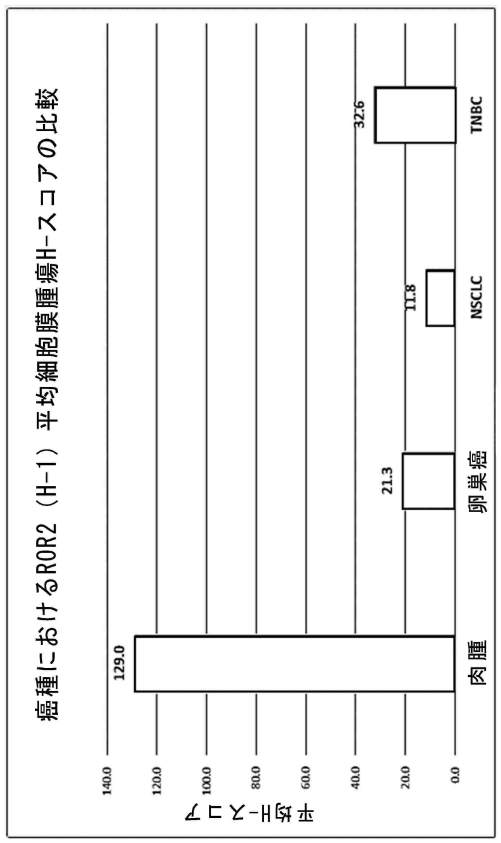
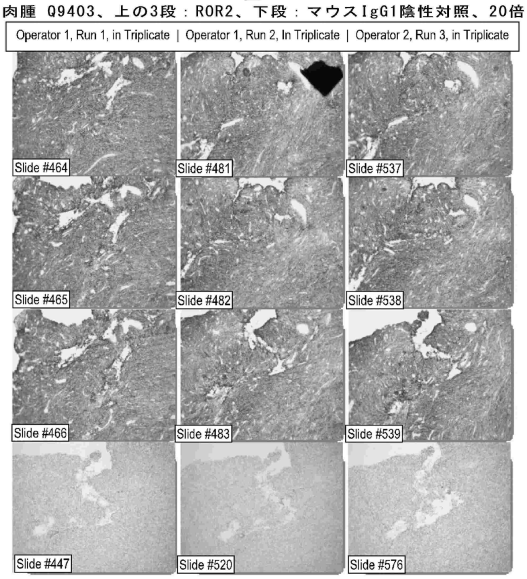


図２４

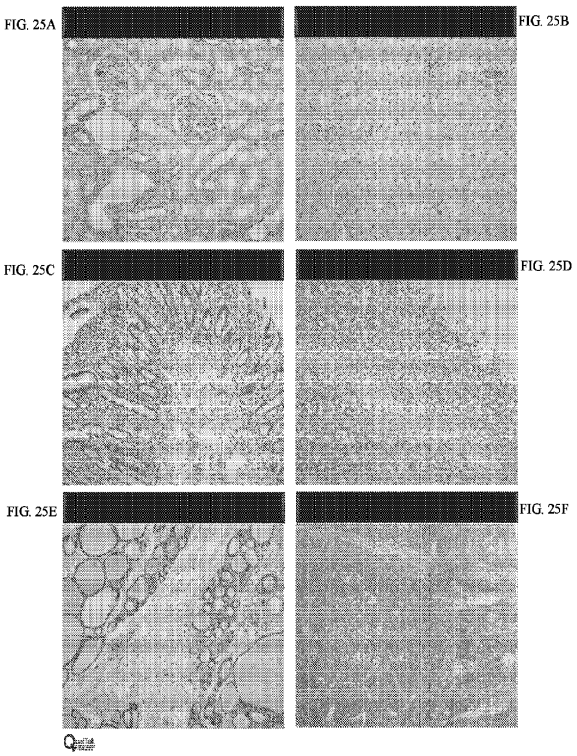
【図２５】

図２６
肉腫 Q9403、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



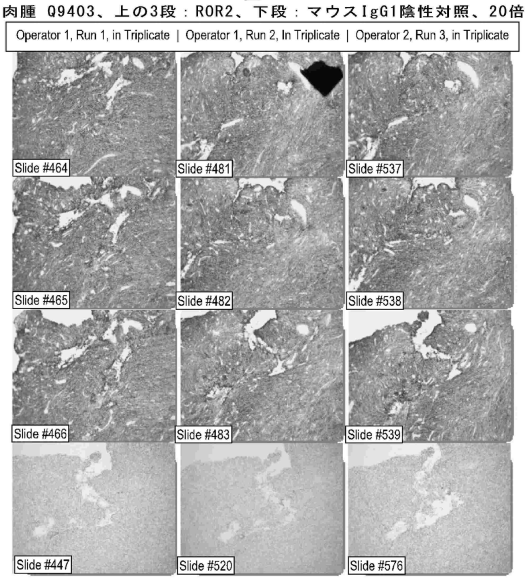
【図】

FIG. 25



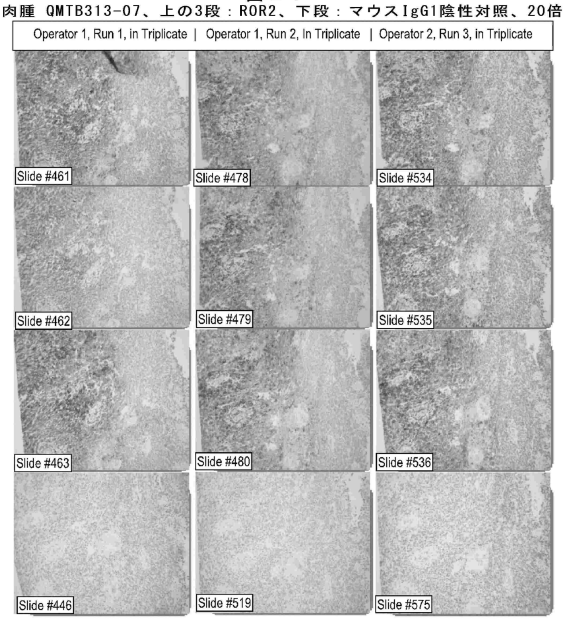
【図２６】

図２６
肉腫 Q9403、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図２７】

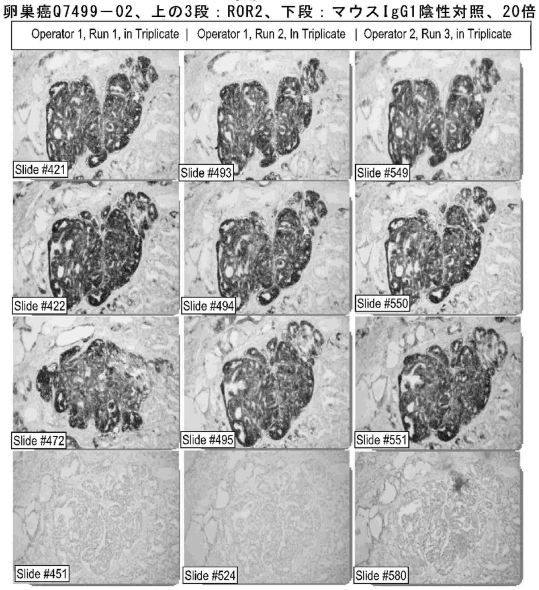
図２７
肉腫 QMTB313-07、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図２８】

図２８

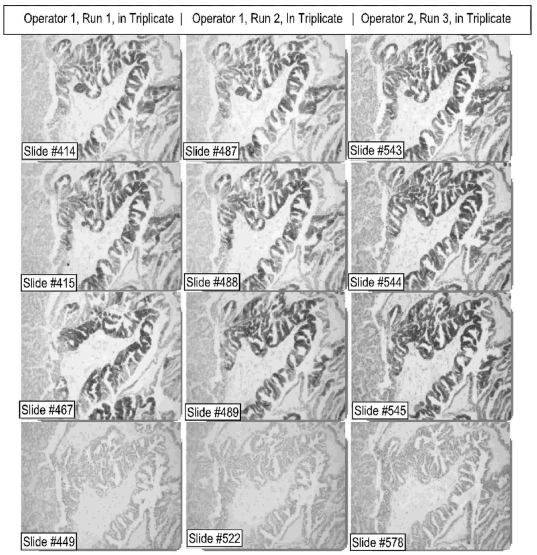
卵巣癌Q7499－02、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図２９】

図２９

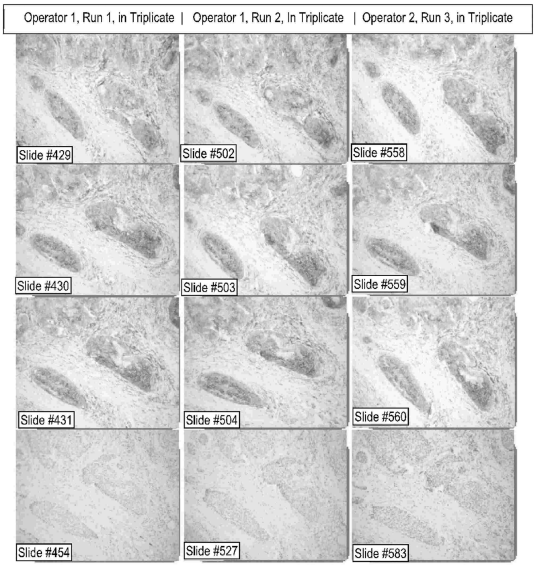
卵巣癌QMTB400-05、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図３０】

図３０

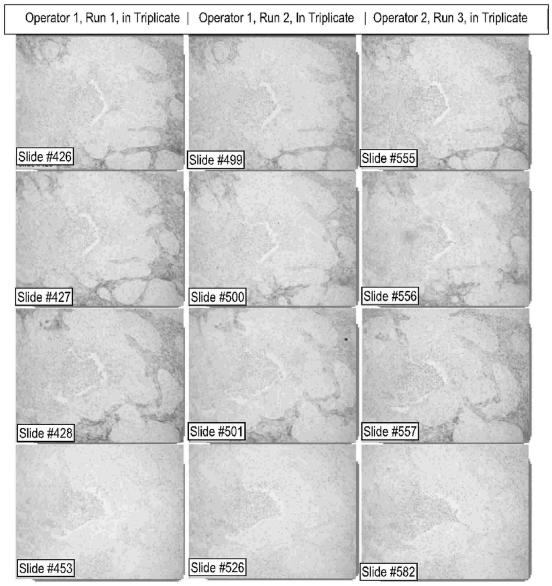
NSCLC Q6949-01、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図３１】

図３１

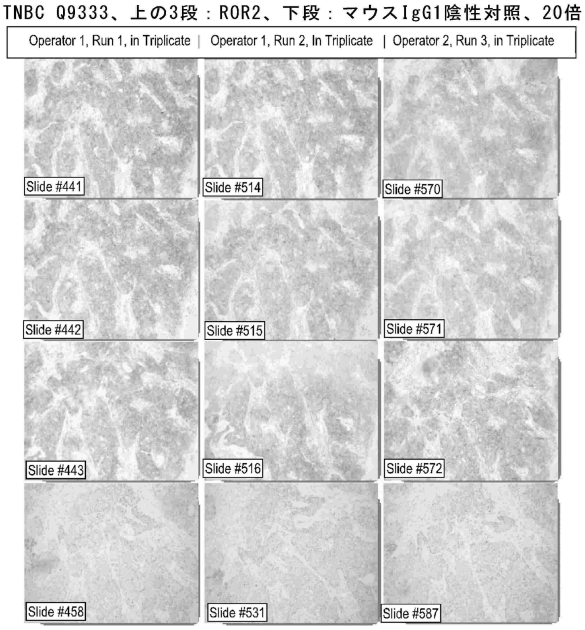
NSCLC Q4044-04、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図３２】

図３２

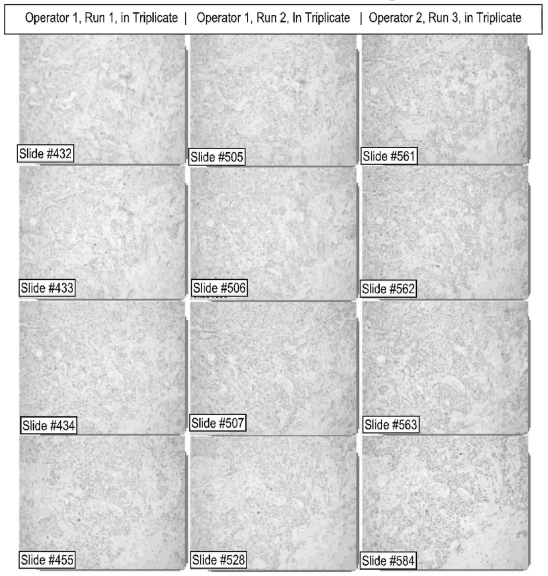
TNBC Q9333、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図３３】

図３３

TNBC Q9250、上の3段：ROR2、下段：マウスIgG1陰性対照、20倍



【図３４】

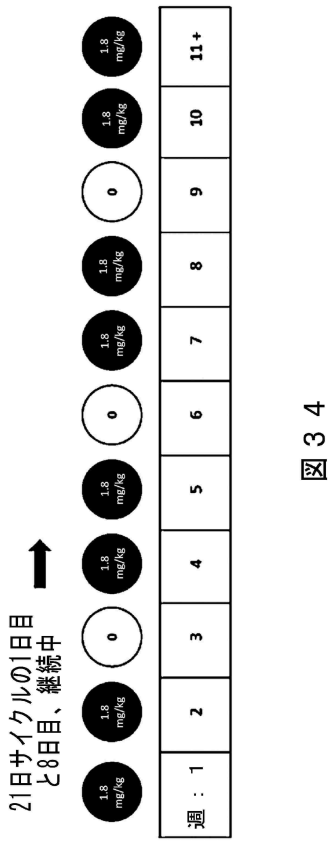


図３４

【配列表】

<u>20255088190000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/063226

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/28(2006.01)i; **A61K 47/68**(2017.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 16/28(2006.01); A61K 47/68(2017.01); C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/574(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models
Japanese utility models and applications for utility models

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

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: ROR2(receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2), heavy chain variable region, light chain variable region, antibody, cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017-197234 A1 (BIOATLA, LLC) 16 November 2017 (2017-11-16) abstract; example 2; paragraphs [0318]-[0320]; claims 1-25	34-37
A	WO 2016-142768 A1 (EUREKA THERAPEUTICS, INC. et al.) 15 September 2016 (2016-09-15) abstract; claims 1-39	34-37
A	WO 2021-102055 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 27 May 2021 abstract; claims 1-86	34-37
A	US 2019-0031754 A1 (THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE) 31 January 2019 (2019-01-31) abstract; claims 1-42	34-37
A	US 2014-0322234 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 30 October 2014 (2014-10-30) abstract; claims 1-24	34-37

☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 June 2023	**15 June 2023**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon** **35208, Republic of Korea** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer **HEO, Joo Hyung** Telephone No. **+82-42-481-5373**

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/063226

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/063226

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

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

1. ☑ Claims Nos.: **1-33**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 1-33 are directed to a treatment method of the human body by therapy or surgery and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv), to search.

2. ☑ Claims Nos.: **11-13,17,23,26,41-43,47,53,56**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claims 11-13, 17, 23, 26, 41-43, 47, 53, 56 are regarded to be unclear because they refer to claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).

3. ☑ Claims Nos.: **5-10,14-16,18-22,24-25,27-33,38-40,44-46,48-52,54-55,57-61,61(1)-63**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2023/063226

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2017-197234	A1	16 November 2017	AU	2017-263568	A1	25 October 2018
				CA	3023979	A1	16 November 2017
				CN	109311987	A	05 February 2019
				DK	3455261	T3	31 October 2022
				EP	3455261	A1	20 March 2019
				EP	3455261	B1	03 August 2022
				EP	4122958	A1	25 January 2023
				ES	2930255	T3	09 December 2022
				HR	P20221298	T1	23 December 2022
				HU	E060072	T2	28 January 2023
				IL	262404	A	31 December 2018
				JP	2019-524640	A	05 September 2019
				JP	2022-101573	A	06 July 2022
				JP	7051715	B2	11 April 2022
				KR	10-2018-0137517	A	27 December 2018
				KR	10-2023-0044567	A	04 April 2023
				MX	2018013306	A	30 January 2019
				PL	3455261	T3	12 December 2022
				PT	3455261	T	11 November 2022
				RS	63698	B1	30 November 2022
				SG	11201808882	A	29 November 2018
				SI	3455261	T1	31 January 2023
				TW	201805307	A	16 February 2018
				TW	202208441	A	01 March 2022
				US	11254742	B2	22 February 2022
				US	2020-0002414	A1	02 January 2020
				US	2022-0169727	A1	02 June 2022
WO	2016-142768	A1	15 September 2016	US	2018-0127503	A1	10 May 2018
WO	2021-102055	A1	27 May 2021	BR	112022009611	A2	09 August 2022
				CA	3161617	A1	27 May 2021
				CN	116018353	A	25 April 2023
				EP	4061848	A1	28 September 2022
				IL	293026	A	01 July 2022
				JP	2023-502108	A	20 January 2023
				KR	10-2022-0113951	A	17 August 2022
US	2019-0031754	A1	31 January 2019	AU	2017-209313	A1	09 August 2018
				CA	3011817	A1	27 July 2017
				CN	109311982	A	05 February 2019
				EP	3405494	A1	28 November 2018
				IL	260688	A	31 October 2018
				JP	2019-509023	A	04 April 2019
				KR	10-2018-0099887	A	05 September 2018
				SG	11201806121	A	30 August 2018
				US	11078273	B2	03 August 2021
				US	2021-0347892	A1	11 November 2021
				WO	2017-127702	A1	27 July 2017
US	2014-0322234	A1	30 October 2014	EP	2800975	A1	12 November 2014
				EP	2800975	A4	09 December 2015
				WO	2013-103637	A1	11 July 2013

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2023/063226

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		WO 2013-103637 A9	19 September 2013

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61K	*31/537(2006.01)*	A61K	39/395	L	
A61K	*38/07 (2006.01)*	A61K	39/395	C	
A61K	*31/7034(2006.01)*	A61K	45/06		
A61K	*31/5517(2006.01)*	A61K	31/537		
A61K	*31/704(2006.01)*	A61K	38/07		
C07K	*16/28 (2006.01)*	A61K	31/7034		
C07K	*19/00 (2006.01)*	A61K	31/5517		
		A61K	31/704		
		C07K	16/28	ZNA	
		C07K	19/00		

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

Fターム（参考）

4C076 AA12 AA95 BB01 BB13 BB15 BB16 BB24 BB25 CC27 CC41 EE41 EE59

4C084 AA17 AA20 BA01 BA10 BA14 BA23 BA32 DA27 MA17 MA52 MA55 MA58 MA59 MA66 NA13 NA14 ZB26

4C085 AA13 AA14 AA16 AA26 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG08 GG10

4C086 AA01 AA02 CB11 CB22 MA01 MA04 MA17 MA52 MA55 MA58 MA59 MA66 NA13 NA14 ZB26

4H045 BA10 DA76 EA20 FA74