

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-545170
(P2024-545170A)

(43)公表日 令和6年12月5日(2024.12.5)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 7 6
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求
				(全132頁)	最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-534514(P2024-534514)	(71)出願人	524218156		
(86)(22)出願日	令和4年12月9日(2022.12.9)		マルティテュード・セラピューティクス		
(85)翻訳文提出日	令和6年8月1日(2024.8.1)		・インコーポレイテッド		
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/137932		M U L T I T U D E T H E R A P E U		
(87)国際公開番号	WO2023/104188		T I C S I N C .		
(87)国際公開日	令和5年6月15日(2023.6.15)		中華人民共和国 2 0 0 2 3 3 シャンハイ		
(31)優先権主張番号	202111507685.5		、シュイホイ・ディストリクト、ティエ		
(32)優先日	令和3年12月10日(2021.12.10)		ンジョウ・ロード・ナンバー 1 5 9、ユ		
(33)優先権主張国・地域又は機関			ニット 1 0、1 0 1、2 0 1、3 0 1、		
	中国(CN)		4 0 1		
(31)優先権主張番号	PCT/CN2021/136994	(74)代理人	100145403		
(32)優先日	令和3年12月10日(2021.12.10)		弁理士 山尾 憲人		
(33)優先権主張国・地域又は機関		(74)代理人	100156144		
	中国(CN)		弁理士 落合 康		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(72)発明者	モン, シュン		
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 抗 C D H 6 抗体及びその抗体薬物複合体

(57)【要約】

(a) C D H 6 に特異的に結合する、及び (b) C D H 6 に結合することにより C D H 6 発現細胞に内在化される活性を有するという特性を有する抗原結合タンパク質を提供する。さらに、C D H 6 に特異的結合し、内在化活性を有する抗体又はその抗原結合断片を含む免疫複合体、当該免疫複合体を含み、腫瘍に対する治療効果を有する医薬品、当該免疫複合体又は当該医薬品を用いる腫瘍の治療方法などを提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

i) E L I S A アッセイでは 12.5 ng/mL 未満の感度で C D H 6 タンパク質に結合できること、

i i) E L I S A アッセイでは約 $3.1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 未満の K D 値で C D H 6 タンパク質に結合できること、及び

i i i) C D H 6 に結合することにより C D H 6 発現細胞に内在化される活性を有すること、

以上の特性の 1 つ以上を有する、抗原結合タンパク質。

【請求項 2】

前記 C D H 6 が哺乳類 C D H 6 タンパク質である、請求項 1 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 3】

前記 C D H 6 がヒト C D H 6 タンパク質である、請求項 1 又は 2 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 4】

参照抗体と C D H 6 タンパク質への結合を競合し、前記参照抗体は軽鎖可変領域 (V L) 及び重鎖可変領域 (V H) を含み、ここで、

前記 V H は配列番号 18 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L は配列番号 23 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 V H は配列番号 41 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L は配列番号 46 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 5】

抗体又はその抗原結合断片を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 6】

前記抗体又はその抗原結合断片がモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、ポリマー、多重特異性抗体、完全抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体又はキメラ抗体を含む、請求項 5 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 7】

前記抗原結合断片が F a b、F a b'、F v 断片、F (a b')₂、s c F v、d i - s c F v 及び／又は d A b を含む、請求項 5 又は 6 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 8】

前記抗体がキメラ抗体、ヒト化抗体及び／又はヒト抗体を含む、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 9】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 10】

重鎖可変領域 (V H) の少なくとも 1 つの C D R を含み、ここで、前記 V H は配列番号 18、配列番号 66、配列番号 41、配列番号 67、配列番号 95 又は配列番号 103 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 11】

軽鎖可変領域 (V L) の少なくとも 1 つの C D R を含み、ここで、前記 V L は配列番号 23、配列番号 68、配列番号 46、配列番号 69、配列番号 96 又は配列番号 104 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 12】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、前記

10

20

30

40

50

H C D R 1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 3】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、前記 H C D R 1 は配列番号 2、配列番号 8、配列番号 8 9 又は配列番号 9 7 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 4】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 3、配列番号 9、配列番号 9 0 又は配列番号 9 8 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 5】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 4、配列番号 1 0、配列番号 9 1 又は配列番号 9 9 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 6】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、ここで、前記 H C D R 1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 3 又は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 4 又は配列番号 1 0 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 7】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、ここで、前記 H C D R 1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 H C D R 1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 1 0 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 8】

V H を含み、ここで、前記 V H は H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、ここで、前記 H C D R 1 は配列番号 2 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 H C D R 1 は配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 1 0 で示されるアミノ酸配列を含み、

ここで、前記 H C D R 1 は配列番号 8 9 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 9 0 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 9 1 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、前記 H C D R 1 は配列番号 9 7 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 9 8 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 9 9 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 1 9】

V H を含み、ここで、前記 V H はフレームワーク領域 H F R 1 を含み、前記 H F R 1 の C 末端は前記 H C D R 1 の N 末端に直接又は間接的に連結され、前記 H F R 1 は配列番号 1 4、配列番号 2 4、配列番号 3 7、配列番号 4 7 又は配列番号 5 2 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 2 0】

V H を含み、ここで、前記 V H はフレームワーク領域 H F R 2 を含み、前記 H F R 2 は前記 H C D R 1 と前記 H C D R 2 との間に位置し、前記 H F R 2 は配列番号 1 5、配列番

10

20

30

40

50

号 28、配列番号 38 又は配列番号 48 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 21】

VH を含み、ここで、前記 VH はフレームワーク領域 HFR3 を含み、前記 HFR3 は前記 HCDR2 と前記 HCDR3 との間に位置し、前記 HFR3 は配列番号 16、配列番号 25、配列番号 39、配列番号 49 又は配列番号 53 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 22】

VH を含み、ここで、前記 VH はフレームワーク領域 HFR4 を含み、前記 HFR4 の N 末端は前記 HCDR3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、前記 HFR4 は配列番号 17、配列番号 26、配列番号 40 又は配列番号 50 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～21 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 23】

VH を含み、ここで、前記 VH はフレームワーク領域 HFR1、HFR2、HFR3 及び HFR4 を含み、前記 HFR1 の C 末端は前記 HCDR1 の N 末端に直接又は間接的に連結され、前記 HFR2 は前記 HCDR1 と前記 HCDR2 との間に位置し、前記 HFR3 は前記 HCDR2 と前記 HCDR3 との間に位置し、前記 HFR4 の N 末端は前記 HCDR3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、ここで、前記 HFR1 は配列番号 14 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR2 は配列番号 15 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR3 は配列番号 16 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR4 は配列番号 17 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 HFR1 は配列番号 24 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR2 は配列番号 15 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR3 は配列番号 25 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR4 は配列番号 26 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 HFR1 は配列番号 24 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR2 は配列番号 28 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR3 は配列番号 25 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR4 は配列番号 26 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 HFR1 は配列番号 37 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR2 は配列番号 38 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR3 は配列番号 39 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR4 は配列番号 40 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 HFR1 は配列番号 47 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR2 は配列番号 48 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR3 は配列番号 49 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR4 は配列番号 50 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 HFR1 は配列番号 52 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR2 は配列番号 38 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR3 は配列番号 53 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 HFR4 は配列番号 26 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～22 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 24】

VH を含み、ここで、前記 VH は配列番号 18、配列番号 66、配列番号 41、配列番号 67、配列番号 95 又は配列番号 103 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 25】

抗体重鎖定常領域を含む、請求項 1～24 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 26】

前記抗体重鎖定常領域がヒト IgG 由来の定常領域を含む、請求項 25 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 27】

前記抗体重鎖定常領域がヒト IgG1、IgG2、IgG3 又は IgG4 由来の定常領域を含む、請求項 25 に記載の抗原結合タンパク質。

10

20

30

40

50

【請求項 28】

前記抗体重鎖定常領域が配列番号 70 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 25 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 29】

抗体重鎖を含み、ここで、前記抗体重鎖は配列番号 72、配列番号 85、配列番号 80 又は配列番号 87 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～28 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 30】

VL を含み、ここで、前記 VL は LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含み、前記 LCDR1 は配列番号 5、配列番号 11、配列番号 92 又は配列番号 100 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～29 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

【請求項 31】

VL を含み、ここで、前記 VL は LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含み、前記 LCDR2 は配列番号 6、配列番号 12、配列番号 93 又は配列番号 101 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～30 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 32】

VL を含み、ここで、前記 VL は LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含み、前記 LCDR3 は配列番号 7、配列番号 13、配列番号 94 又は配列番号 102 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～31 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

20

【請求項 33】

VL を含み、ここで、前記 VL は LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含み、前記 LCDR1 は配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR2 は配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR3 は配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む、又は

前記 LCDR1 は配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR2 は配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR3 は配列番号 13 で示されるアミノ酸配列を含む、又は

ここで、前記 LCDR1 は配列番号 92 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR2 は配列番号 93 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR3 は配列番号 94 で示されるアミノ酸配列を含む、又は

30

ここで、前記 LCDR1 は配列番号 100 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR2 は配列番号 101 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR3 は配列番号 102 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～32 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 34】

VH 及び VL を含み、ここで、前記 VH は HCDR1、HCDR2 及び HCDR3 を含み、前記 VL は LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含み、ここで、前記 HCDR1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 HCDR2 は配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 HCDR3 は配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR1 は配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR2 は配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR3 は配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む、又は

40

前記 HCDR1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 HCDR2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 HCDR3 は配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR1 は配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR2 は配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を含む、前記 LCDR3 は配列番号 13 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～33 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 35】

VH 及び VL を含み、ここで、前記 VH は HCDR1、HCDR2 及び HCDR3 を含

50

み、前記 V L は L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含み、ここで、前記 H C D R 1 は配列番号 2 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L C D R 1 は配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L C D R 2 は配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L C D R 3 は配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 H C D R 1 は配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 H C D R 3 は配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L C D R 1 は配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L C D R 2 は配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L C D R 3 は配列番号 13 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

10

ここで、H C D R 1 は配列番号 89 で示されるアミノ酸配列を含み、H C D R 2 は配列番号 90 で示されるアミノ酸配列を含み、H C D R 3 は配列番号 91 で示されるアミノ酸配列を含み、L C D R 1 は配列番号 92 で示されるアミノ酸配列を含み、L C D R 2 は配列番号 93 で示されるアミノ酸配列を含み、L C D R 3 は配列番号 94 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、H C D R 1 は配列番号 97 で示されるアミノ酸配列を含み、H C D R 2 は配列番号 98 で示されるアミノ酸配列を含み、H C D R 3 は配列番号 99 で示されるアミノ酸配列を含み、L C D R 1 は配列番号 100 で示されるアミノ酸配列を含み、L C D R 2 は配列番号 101 で示されるアミノ酸配列を含み、L C D R 3 は配列番号 102 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～34 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

20

【請求項 36】

V L を含み、ここで、前記 V L はフレームワーク領域 L F R 1 を含み、前記 L F R 1 の C 末端は前記 L C D R 1 の N 末端に直接又は間接的に連結され、前記 L F R 1 は配列番号 19、配列番号 30、配列番号 42、配列番号 55、配列番号 59 又は配列番号 64 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～35 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 37】

V L を含み、ここで、前記 V L はフレームワーク領域 L F R 2 を含み、前記 L F R 2 は前記 L C D R 1 と前記 L C D R 2 との間に位置し、前記 L F R 2 は配列番号 20、配列番号 31、配列番号 43、配列番号 56 又は配列番号 60 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～36 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

30

【請求項 38】

V L を含み、ここで、前記 V L はフレームワーク領域 L F R 3 を含み、前記 L F R 3 は前記 L C D R 2 と前記 L C D R 3 との間に位置し、前記 L F R 3 は配列番号 21、配列番号 32、配列番号 35、配列番号 44、配列番号 57 又は配列番号 61 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～37 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 39】

V L を含み、ここで、前記 V L はフレームワーク領域 L F R 4 を含み、前記 L F R 4 の N 末端は前記 L C D R 3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、前記 L F R 4 は配列番号 22、配列番号 33、配列番号 45 又は配列番号 62 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～38 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

40

【請求項 40】

V L を含み、ここで、前記 V L はフレームワーク領域 L F R 1、L F R 2、L F R 3 及び L F R 4 を含み、ここで、前記 L F R 1 の C 末端は前記 L C D R 1 の N 末端に直接又は間接的に連結され、前記 L F R 2 は前記 L C D R 1 と前記 L C D R 2 との間に位置し、前記 L F R 3 は前記 L C D R 2 と前記 L C D R 3 との間に位置し、前記 L F R 4 の N 末端は前記 L C D R 3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、ここで、前記 L F R 1 は配列番号 19 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 20 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 21 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は

50

配列番号 22 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 L F R 1 は配列番号 30 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 31 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 32 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は配列番号 33 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 L F R 1 は配列番号 30 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 31 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 35 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は配列番号 33 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 L F R 1 は配列番号 42 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 43 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 44 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は配列番号 45 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 L F R 1 は配列番号 55 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 56 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 57 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は配列番号 45 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 L F R 1 は配列番号 59 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 60 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 61 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は配列番号 62 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 L F R 1 は配列番号 64 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 2 は配列番号 60 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 3 は配列番号 61 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 L F R 4 は配列番号 62 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 39 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 41】

V L を含み、ここで、前記 V L は配列番号 23、配列番号 68、配列番号 46、配列番号 69、配列番号 96 又は配列番号 104 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 40 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 42】

V H 及び V L を含み、ここで、前記 V H は配列番号 18 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L は配列番号 23 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 V H は配列番号 41 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L は配列番号 46 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 V H は配列番号 66 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L は配列番号 68 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記 V H は配列番号 67 で示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L は配列番号 69 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、V H は配列番号 95 で示されるアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 96 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、V H は配列番号 103 で示されるアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 104 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 41 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 43】

抗体軽鎖定常領域を含む、請求項 1 ～ 42 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 44】

前記抗体軽鎖定常領域がヒト I g κ 定常領域又はヒト I g λ 定常領域を含む、請求項 1 ～ 43 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 45】

前記抗体軽鎖定常領域が配列番号 71 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 44 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 46】

抗体軽鎖を含み、ここで、前記抗体軽鎖は配列番号 73、配列番号 86、配列番号 81 又は配列番号 88 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 45 のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の抗原結合タンパク質。

【請求項 47】

抗体重鎖及び抗体軽鎖を含み、ここで、前記抗体重鎖は配列番号 72 で示されるアミノ酸配列を含み、前記抗体軽鎖は配列番号 73 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記抗体重鎖は配列番号 80 で示されるアミノ酸配列を含み、前記抗体軽鎖は配列番号 81 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記抗体重鎖は配列番号 85 で示されるアミノ酸配列を含み、前記抗体軽鎖は配列番号 86 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

前記抗体重鎖は配列番号 87 で示されるアミノ酸配列を含み、前記抗体軽鎖は配列番号 88 で示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1～46 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

【請求項 48】

請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質を含む、ポリペプチド。

【請求項 49】

請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質又は請求項 48 に記載のポリペプチドをコードする、核酸分子又は分子群。

【請求項 50】

請求項 49 に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 51】

請求項 49 に記載の核酸分子若しくは請求項 50 に記載のベクターを含むか、又は請求項 1～47 に記載の抗原結合タンパク質若しくは請求項 48 に記載のポリペプチドを発現する、細胞。

20

【請求項 52】

請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質が発現される条件下で請求項 51 に記載の細胞を培養することを含む、請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質の製造方法。

【請求項 53】

請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 48 に記載のポリペプチド、請求項 49 に記載の核酸分子、請求項 50 に記載のベクター及び／又は請求項 51 に記載の細胞、及び、任意に、薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

30

【請求項 54】

請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 48 に記載のポリペプチド又は請求項 53 に記載の医薬組成物を含む、キット。

【請求項 55】

C D H 6 に関連する疾患又は障害を予防及び／又は治療する薬物の製造における、請求項 1～47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 48 に記載のポリペプチド、請求項 49 に記載の核酸分子、請求項 50 に記載のベクター及び／又は請求項 51 に記載の細胞及び／又は請求項 53 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 56】

前記 C D H 6 に関連する疾患又は障害が腫瘍を含む、請求項 55 に記載の使用。

40

【請求項 57】

前記腫瘍が C D H 6 発現腫瘍を含む、請求項 55 又は 56 に記載の使用。

【請求項 58】

前記腫瘍が腎細胞がん、腎臓明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、肝臓がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む、請求項 55～57 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 59】

前記薬物が追加の治療剤をさらに含む、請求項 55～58 のいずれか一項に記載の使用。

50

【請求項 6 0】

請求項 1 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質又は請求項 4 8 に記載のポリペプチドを含む免疫複合体、又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 6 1】

前記抗体又はその抗原結合断片に結合した活性部分をさらに含む、請求項 6 0 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 6 2】

前記活性部分が薬物部分及び／又は標識を含む、請求項 6 1 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 6 3】

前記薬物部分が細胞傷害性薬物、サイトカイン、核酸、核酸関連分子、放射性核種、ケモカイン、免疫（共）刺激分子、免疫抑制分子、デスリガンド、アポトーシス誘導タンパク質、キナーゼ、プロドラッグ変換酵素、リボヌクレアーゼ、アゴニスト抗体又は抗体断片、アンタゴニスト抗体又は抗体断片、成長因子、ホルモン、凝固因子、線維素溶解タンパク質、これらを模倣したペプチド、及びそれらの断片、融合タンパク質又は誘導体からなる群から選ばれる、請求項 6 2 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

10

【請求項 6 4】

前記標識が放射性標識、発蛍光団、発色団、造影剤及び金属イオンからなる群から選ばれる、請求項 6 2 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

20

【請求項 6 5】

前記細胞傷害性薬物が微小管阻害剤及び／又は DNA 損傷剤を含む、請求項 6 3 又は 6 4 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 6 6】

前記細胞傷害性薬物がチューブリン阻害剤及び／又はトポイソメラーゼ阻害剤を含む、請求項 6 3 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 6 7】

前記細胞傷害性薬物がトポイソメラーゼ I 阻害剤を含む、請求項 6 3 ～ 6 6 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

30

【請求項 6 8】

前記細胞傷害性薬物がカンプトテシン又はその誘導体を含む、請求項 6 3 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

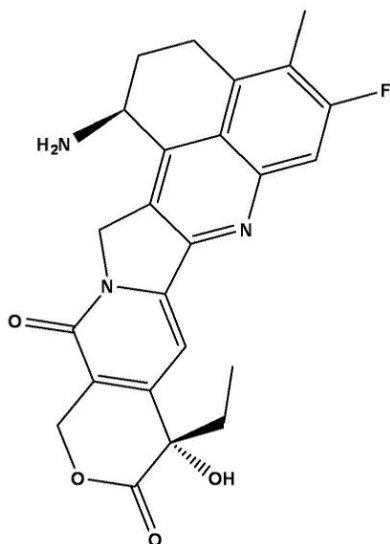
【請求項 6 9】

前記細胞傷害性薬物が以下の式 I I の構造又はその互変異性体、メソマー、ラセミ体、エナンチオマー若しくはジアステレオマー、又はそれらの混合物、又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を含む、請求項 6 3 ～ 6 8 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

40

50

【化 1】



10

(I I)

【請求項 70】

前記免疫複合体が式 (I) の抗体薬物複合体 (A D C) であり、

$$A b - (L - (D) _m) _n$$

20

(I)

ここで、A b は請求項 1 ～ 47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質であり、

L はリンカーであり、

D は薬物部分であり、

m は 1 ～ 8 の整数であり、且つ

n は 1 ～ 10 の任意の数字である、請求項 60 ～ 69 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 71】

前記 L が切断可能なリンカー及び切断不可能なリンカーから選ばれる、請求項 70 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

30

【請求項 72】

前記 L が切断可能なペプチドを含む、請求項 70 又は 71 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 73】

前記切断可能なペプチドは酵素によって切断可能である、請求項 72 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 74】

前記酵素がカテプシン B を含む、請求項 73 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 75】

前記切断可能なペプチド又は L がアミノ酸単位を含む、請求項 72 ～ 74 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

40

【請求項 76】

前記アミノ酸単位がジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド又はペンタペプチドを含む、請求項 75 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 77】

前記アミノ酸単位が Val - Cit、Val - Ala、Glu - Val - Cit、Ala - Ala - Asn、Gly - Val - Cit、Gly - Gly - Gly 及び Gly - Gly - Phe - Gly から選ばれる、請求項 75 又は 76 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

50

【請求項 78】

前記 L がスペーサーを含む、請求項 70～77 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 79】

前記スペーサーが自己犠牲スペーサーを含む、請求項 78 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 80】

前記自己犠牲スペーサーが p-アミノベンゾキシカルボニル基 (PABC) 又は p-アミノベンジル基 (PAB) を含む、請求項 79 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

10

【請求項 81】

前記切断可能なペプチドは直接前記スペーサーまでスプライスされる、請求項 72～80 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 82】

前記 L が $-Val-Cit-PABC-$ 、 $-Val-Ala-PABC-$ 、 $-Glu-Val-Cit-PABC-$ 、 $-Ala-Ala-Asn-PABC-$ 、 $-Gly-Val-Cit-PABC-$ 、 $-Gly-Gly-Gly-PABC-$ 、 $-Gly-Gly-Phe-Gly-PABC-$ 、 $-Val-Cit-PAB-$ 、 $-Val-Ala-PAB-$ 、 $-Glu-Val-Cit-PAB-$ 、 $-Ala-Ala-Asn-PAB-$ 、 $-Gly-Val-Cit-PAB-$ 、 $-Gly-Gly-Gly-PAB-$ 又は $-Gly-Gly-Phe-Gly-PAB-$ を含む、請求項 70～81 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

20

【請求項 83】

前記スペーサーが $-NH-(CH_2)^{n^1}-La-Lb-Lc-$ で示される構造を含み、ここで、La は $-O-$ 又は単結合を表し、Lb は $-CR^2(-CR^3)-$ 又は単結合を表し、ここで、 R^2 及び R^3 はそれぞれ独立して $C_1\sim C_6$ アルキル基、 $-(CH_2)^{n^a}-NH_2$ 、 $-(CH_2)^{n^b}-COOH$ 又は $-(CH_2)^{n^c}-OH$ を表し、 n^1 は 0～6 の整数を表し、 n^a 、 n^b 及び n^c はそれぞれ独立して 1～4 の整数を表し、ただし、 n^a が 0 であるとき、 R^2 と R^3 は同じではなく、Lc は $-C(=O)-$ を表す、請求項 70～82 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

30

【請求項 84】

前記スペーサーが $-NH-(CH_2)_3-C(=O)-$ 、 $-NH-CH_2-O-CH_2-C(=O)-$ 又は $-NH-(CH_2)_2-O-CH_2-C(=O)-$ を含む、請求項 83 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 85】

前記 L が $-L_1-L_2-L_3-$ で示される構造を含み、ここで、 L_1 は $-(スクシンイミジル-3-イル-N)-$ 、 $-(CH_2)^{n^2}-C(=O)-$ 、 $-CH_2-C(=O)-NH-(CH_2)^{n^3}-C(=O)-$ 又は $-C(=O)-(CH_2)^{n^4}-C(=O)-$ を表し、ここで、 n^2 は 2～8 の整数を表し、 n^3 は 1～8 の整数を表し、 n^4 は 1～8 の整数を表し、 L_2 はアミノ酸単位を表し、 L_3 は自己分解性スペーサーを表す、請求項 70～84 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

40

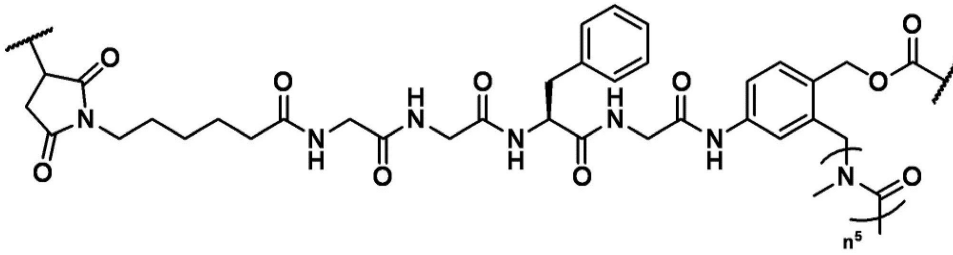
【請求項 86】

前記 L が、
- (スクシンイミジル-3-イル-N) - $CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-PABC-$ 、
- (スクシンイミジル-3-イル-N) - $CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-PABC-$ 、
- (スクシンイミジル-3-イル-N) - $CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-PABC-$ 、

50

- (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-,
 - CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-,
 - C(=O)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂-C(=O)-, 10
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-, 20
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-, 30
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂-C(=O)-,
 - CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - C(=O)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-, 40
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-, 50

【化 3】



以上の構造から選ばれ、

10

ここで、 n^5 は 0 ～ 20 の整数を表す、請求項 70 ～ 87 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

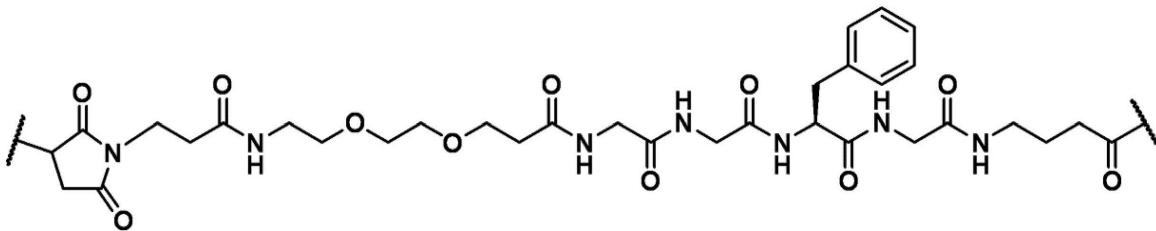
【請求項 89】

n^5 が 1 ～ 15 の整数を表す、請求項 88 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 90】

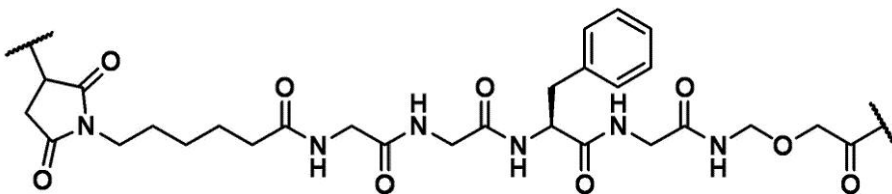
前記 L が、

【化 4】



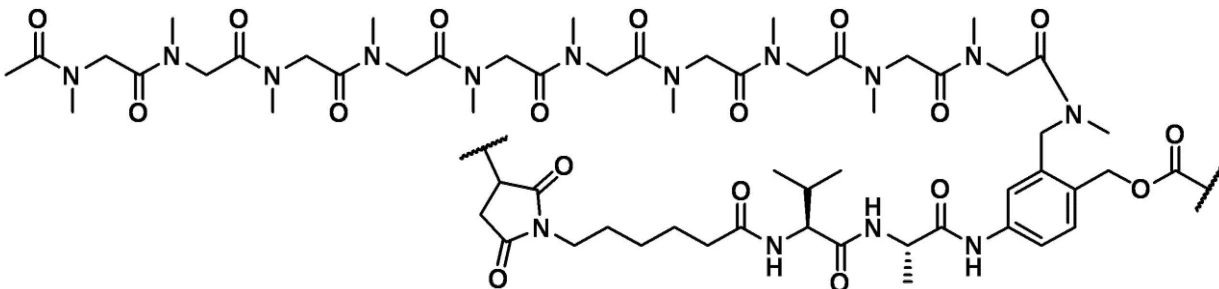
20

【化 5】



30

【化 6】

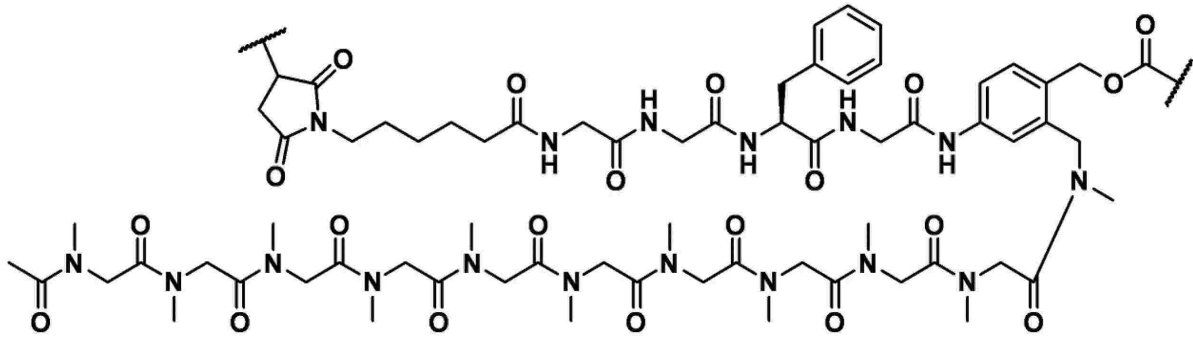


40

及び

50

【化 7】



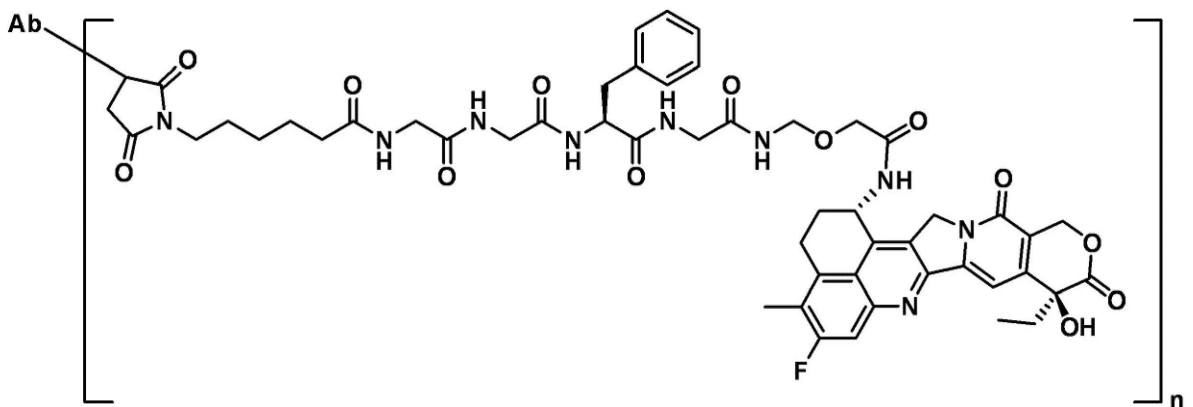
10

以上の構造から選ばれる、請求項 70～89 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 91】

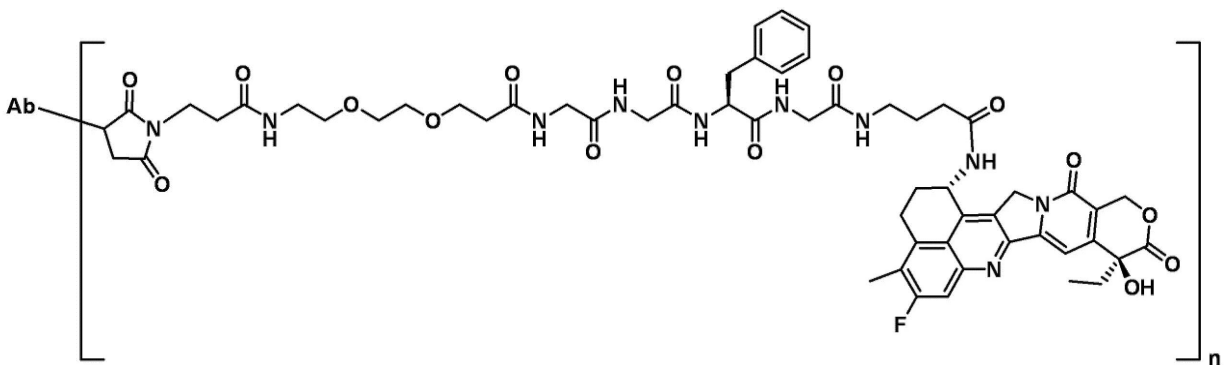
前記抗体薬物複合体が、

【化 8】



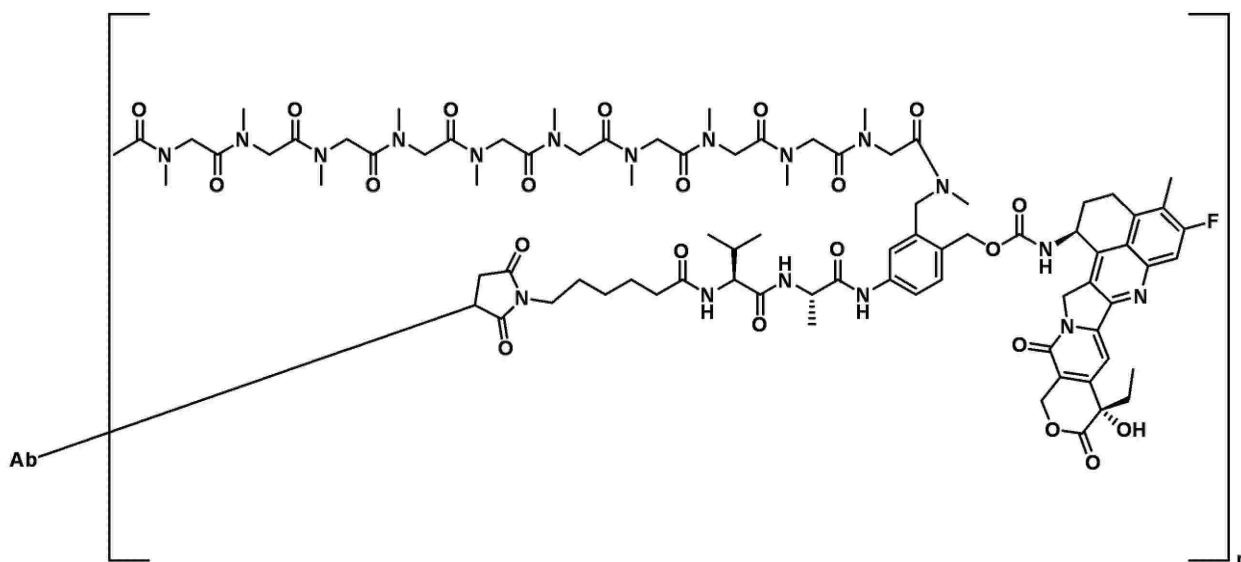
20

【化 9】



40

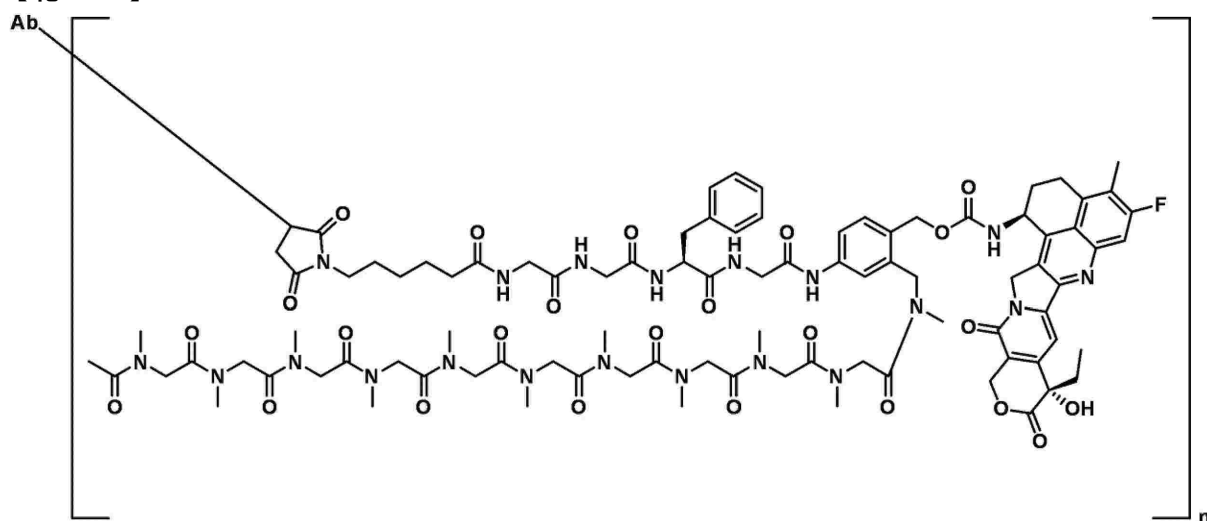
【化 1 0】



10

及び

【化 1 1】



20

30

以上の構造から選ばれ、

ここで、 n は 1 ～ 10 の任意の数字である、請求項 60 ～ 90 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 9 2】

n が 2 ～ 9 の任意の数字である、請求項 9 1 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【請求項 9 3】

請求項 1 ～ 47 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質を薬物－リンカー中間体化合物と反応させるステップを含む、請求項 60 ～ 92 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物の製造方法。

【請求項 9 4】

請求項 60 ～ 92 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を含む、医薬組成物。

【請求項 9 5】

薬学的に許容される担体又は賦形剤をさらに含む、請求項 9 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 9 6】

腫瘍を治療する薬物の製造における、請求項 60 ～ 92 のいずれか一項に記載の免疫複

40

50

合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物又は請求項 9 4 若しくは 9 5 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 9 7】

前記腫瘍が C D H 6 発現腫瘍である、請求項 9 6 に記載の使用。

【請求項 9 8】

前記腫瘍が腎細胞がん、腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む、請求項 9 6 又は 9 7 に記載の使用。

【請求項 9 9】

請求項 6 0 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を投与することを含む、腫瘍を治療する方法。 10

【請求項 1 0 0】

前記腫瘍が C D H 6 発現腫瘍である、請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記腫瘍が腎細胞がん、腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む、請求項 9 9 又は 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 2】

請求項 6 0 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物から選ばれる少なくとも 1 つの成分と、少なくとも 1 つの抗腫瘍薬とを含む医薬組成物を対象に同時に、別々に、又は順次投与することを含む、腫瘍を治療する方法。 20

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0 0 0 1】

本特許出願は、2 0 2 1 年 1 2 月 1 0 日に提出された P C T 出願 P C T / C N 2 0 2 1 / 1 3 6 9 9 4 及び 2 0 2 1 年 1 2 月 1 0 日に提出された C N 出願 C N 2 0 2 1 1 1 5 0 7 6 8 5 5 の優先権を主張する。これらの先願に対して優先権が主張され、これらの先願の開示は本願の開示の一部と見なされ、前記出願の全内容がここに組み込まれる。

【0 0 0 2】

本願には、2 0 2 2 年 1 1 月 1 日に作成され、サイズが 1 4 9 , 9 2 0 バイトで「0 2 8 3 - P A - 0 0 2 . x m l」と題する X M L ファイルが本願の配列表として参照により組み込まれる。 30

【背景技術】

【0 0 0 3】

カドヘリン 6 (C D H 6) は、発達段階において脳又は腎臓で特異的に発現され、中枢神経系の回路形成と腎臓におけるネフロン発達の重要な役割を果たすことが報告されている。成人の正常組織における C D H 6 の発現は、腎臓の尿細管、胆管上皮細胞などに局在している。

【0 0 0 4】

一方、C D H 6 は成人のがんのいくつかのタイプにおいて腫瘍部位に特異的に過剰発現されることが知られている。ヒト腎細胞がん、特に腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がんにおける C D H 6 の発現と予後不良の相関性と腫瘍マーカーとしてのその適用性は報告されている。ヒト卵巣がんにおいても C D H 6 の高発現が報告されている。また、ヒト甲状腺がんの上皮間葉転換に C D H 6 が関与していることも報告されている。さらに、ヒト胆管がん、ヒト小細胞肺がんでも C D H 6 の発現が報告されている。 40

【0 0 0 5】

抗体薬物複合体 (「A D C」) は、がん治療で細胞傷害性薬物の局所送達のために使用されている (例えば、L a m b e r t , C u r r . O p i n i o n I n P h a r m a c o l o g y , 5 : 5 4 3 - 5 4 9 , 2 0 0 5 を参照する)。A D C は、最小の毒性で最大の効果が得られるように、薬物部分の標的化送達を可能にする。最近 F D A が承認した 50

6種の新しい抗体薬物複合体（ADC）は有望であるが、臨床開発でADCの消費は依然として高いままである。

【0006】

現在研究段階（第Ⅰ相臨床段階）にあるCDH6標的化抗体薬物複合体（ADC）として報告されているのは、第一三共が開発したDS-6000aだけである。DS-6000aは、テトラペプチドベースの的切断可能なリンカーを介してエキサテカン誘導体のトポイソメラーゼⅠ阻害剤ペイロードに結合したヒト化抗CDH6 IgG1モノクローナル抗体で構成されている。DS-6000aは、どの国でもいかなる適応症も承認されておらず、その安全性と有効性を確認する必要がある。

【0007】

したがって、チロシンキナーゼ阻害剤、セリン／トレオニンキナーゼ阻害剤及び／若しくは化学療法に対して耐性がある、又は耐性が生じる傾向の高いがんを、特にCDH6-ADCを使用して治療するための改善された方法が依然として必要である。

【発明の概要】

【0008】

本願は、

i) ELISAアッセイでは12.5 ng/mL未満の感度でCDH6タンパク質に結合できること、

ii) ELISAアッセイでは約 3.1×10^{-9} M未満のKD値でCDH6タンパク質に結合できること、及び

iii) CDH6に結合する時にCDH6発現細胞によって内在化される能力を有すること、

以上の特性の1つ以上を有する抗原結合タンパク質を提供する。

【0009】

いくつかの実施形態では、当該CDH6は哺乳類CDH6タンパク質である。

【0010】

いくつかの実施形態では、当該CDH6はヒトCDH6タンパク質である。

【0011】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は、参照抗体とCDH6タンパク質への結合を競合し、当該参照抗体は軽鎖可変領域（VL）及び重鎖可変領域（VH）を含み、ここで、

当該VHは配列番号18で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号23で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該VHは配列番号41で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号46で示されるアミノ酸配列を含む。

【0012】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は抗体又はその抗原結合断片を含む。

【0013】

いくつかの実施形態では、当該抗体はモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、多量体、完全抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体及び／又はキメラ抗体を含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合断片はFab、Fab'、Fv断片、F(ab')₂、scFv、di-scFv及び／又はdAbを含む。

【0015】

いくつかの実施形態では、当該抗体はモノクローナル抗体である。

【0016】

いくつかの実施形態では、当該抗体はキメラ抗体、ヒト化抗体及び／又はヒト抗体である。

【0017】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、当該抗体又は抗原結合断片は重鎖可変領域（VH）の少なくとも1つのCDR（相補性決定領域）を含み、当該VHは配列番号18、配列番号66、配列番号41、配列番号67、配列番号95又は配列番号103で示されるアミノ酸配列を含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、当該抗体又は抗原結合断片は軽鎖可変領域（VL）の少なくとも1つのCDRを含み、当該VLは配列番号23、配列番号68、配列番号46、配列番号69、配列番号96又は配列番号104で示されるアミノ酸配列を含む。

【0019】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該HCDR1は配列番号1で示されるアミノ酸配列を含む。

【0020】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該HCDR1は配列番号2、配列番号8、配列番号89又は配列番号97で示されるアミノ酸配列を含む。

【0021】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該HCDR2は配列番号3、配列番号9、配列番号90又は配列番号98で示されるアミノ酸配列を含む。

【0022】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該HCDR3は配列番号4、配列番号10、配列番号91又は配列番号99で示されるアミノ酸配列を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該HCDR1は配列番号1で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号3又は配列番号9で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号4又は配列番号10で示されるアミノ酸配列を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、ここで、当該HCDR1は配列番号2で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号3で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号4で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該HCDR1は配列番号8で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号9で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号10で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該HCDR1は配列番号89で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号90で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号91で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該HCDR1は配列番号97で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号98で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号99で示されるアミノ酸配列を含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHはフレームワーク領域HFR1を含み、当該HFR1のC末端は当該HCDR1のN末端に直接又は間接的に連結され、当該HFR1は配列番号14、配列番号24、配列番号37、配列番号47又は配列番号52で示されるアミノ酸配列を含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVHを含み、ここで、当該VHは

10

20

30

40

50

フレームワーク領域 H F R 2 を含み、当該 H F R 2 は当該 H C D R 1 と当該 H C D R 2 との間に位置し、当該 H F R 2 は配列番号 1 5、配列番号 2 8、配列番号 3 8 又は配列番号 4 8 で示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 7 】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V H を含み、ここで、当該 V H はフレームワーク領域 H F R 3 を含み、当該 H F R 3 は当該 H C D R 2 と当該 H C D R 3 との間に位置し、当該 H F R 3 は配列番号 1 6、配列番号 2 5、配列番号 3 9、配列番号 4 9 又は配列番号 5 3 で示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V H を含み、ここで、当該 V H はフレームワーク領域 H F R 4 を含み、当該 H F R 4 の N 末端は当該 H C D R 3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、当該 H F R 4 は配列番号 1 7、配列番号 2 6、配列番号 4 0 又は配列番号 5 0 で示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V H を含み、ここで、当該 V H はフレームワーク領域 H F R 1、H F R 2、H F R 3 及び H F R 4 を含み、当該 H F R 1 の C 末端は当該 H C D R 1 の N 末端に直接若しくは間接的に連結され、当該 H F R 2 は当該 H C D R 1 と当該 H C D R 2 との間に位置し、当該 H F R 3 は当該 H C D R 2 と当該 H C D R 3 との間に位置し、当該 H F R 4 の N 末端は当該 H C D R 3 の C 末端に直接若しくは間接的に連結され、ここで、当該 H F R 1 は配列番号 1 4 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 2 は配列番号 1 5 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 3 は配列番号 1 6 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 4 は配列番号 1 7 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該 H F R 1 は配列番号 2 4 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 2 は配列番号 1 5 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 3 は配列番号 2 5 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 4 は配列番号 2 6 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該 H F R 1 は配列番号 2 4 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 2 は配列番号 2 8 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 3 は配列番号 2 5 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 4 は配列番号 2 6 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該 H F R 1 は配列番号 3 7 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 2 は配列番号 3 8 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 3 は配列番号 3 9 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 4 は配列番号 4 0 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該 H F R 1 は配列番号 4 7 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 2 は配列番号 4 8 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 3 は配列番号 4 9 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 4 は配列番号 5 0 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該 H F R 1 は配列番号 5 2 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 2 は配列番号 3 8 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 3 は配列番号 5 3 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H F R 4 は配列番号 2 6 で示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 3 0 】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V H を含み、ここで、当該 V H は配列番号 1 8、配列番号 6 6、配列番号 4 1、配列番号 6 7、配列番号 9 5 又は配列番号 1 0 3 で示されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 3 1 】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は抗体重鎖定常領域を含む。

【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態では、当該抗体重鎖定常領域はヒト I g G 由来の定常領域を含み、任意に、当該抗体重鎖定常領域はヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3 又は I g G 4 由来の定常領域を含む。

【 0 0 3 3 】

いくつかの実施形態では、当該抗体重鎖定常領域は配列番号 7 0 で示されるアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含む。

【0034】

いくつかの実施形態では、当該抗体重鎖は配列番号72、配列番号85、配列番号80又は配列番号87で示されるアミノ酸配列を含む。

【0035】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVLを含み、ここで、当該VLはLCDR1、LCDR2、LCDR3を含み、当該LCDR1は配列番号5、配列番号11、配列番号92又は配列番号100で示されるアミノ酸配列を含む。

【0036】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVLを含み、ここで、当該VLはLCDR1、LCDR2、LCDR3を含み、当該LCDR2は配列番号6、配列番号12、配列番号93又は配列番号101で示されるアミノ酸配列を含む。

【0037】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVLを含み、ここで、当該VLはLCDR1、LCDR2、LCDR3を含み、当該LCDR3は配列番号7、配列番号13、配列番号94又は配列番号102で示されるアミノ酸配列を含む。

【0038】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVLを含み、ここで、当該VLはLCDR1、LCDR2、LCDR3を含み、当該LCDR1は配列番号5で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号6で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR3は配列番号7で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該LCDR1は配列番号11で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号12で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR3は配列番号13で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該LCDR1は配列番号92で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号93で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR3は配列番号94で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該LCDR1は配列番号100で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号101で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR3は配列番号102で示されるアミノ酸配列を含む。

【0039】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVH及びVLを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該VLはLCDR1、LCDR2、LCDR3を含み、ここで、当該HCDR1は配列番号1で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号3で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号4で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR1は配列番号5で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号6で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR3は配列番号7で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該HCDR1は配列番号1で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号9で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号10で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR1は配列番号11で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号12で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR3は配列番号13で示されるアミノ酸配列を含む。

【0040】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVH及びVLを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該VLはLCDR1、LCDR2、LCDR3を含み、ここで、当該HCDR1は配列番号2で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR2は配列番号3で示されるアミノ酸配列を含み、当該HCDR3は配列番号4で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR1は配列番号5で示されるアミノ酸配列を含み、当該LCDR2は配列番号6で示されるアミノ酸配列を含み、当該LC

10

20

30

40

50

R 3 は配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該 H C D R 1 は配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H C D R 2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H C D R 3 は配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 1 は配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 2 は配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 3 は配列番号 13 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該 H C D R 1 は配列番号 89 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H C D R 2 は配列番号 90 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H C D R 3 は配列番号 91 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 1 は配列番号 92 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 2 は配列番号 93 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 3 は配列番号 94 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

10

ここで、当該 H C D R 1 は配列番号 97 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H C D R 2 は配列番号 98 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 H C D R 3 は配列番号 99 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 1 は配列番号 100 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 2 は配列番号 101 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L C D R 3 は配列番号 102 で示されるアミノ酸配列を含む。

【0041】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V L を含み、ここで、当該 V L はフレームワーク領域 L F R 1 を含み、当該 L F R 1 の C 末端は当該 L C D R 1 の N 末端に直接又は間接的に連結され、当該 L F R 1 は配列番号 19、配列番号 30、配列番号 42、配列番号 55、配列番号 59 又は配列番号 64 で示されるアミノ酸配列を含む。

20

【0042】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V L を含み、ここで、当該 V L はフレームワーク領域 L F R 2 を含み、当該 L F R 2 は当該 L C D R 1 と当該 L C D R 2 との間に位置し、当該 L F R 2 は配列番号 20、配列番号 31、配列番号 43、配列番号 56 又は配列番号 60 で示されるアミノ酸配列を含む。

【0043】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V L を含み、ここで、当該 V L はフレームワーク領域 L F R 3 を含み、当該 L F R 3 は当該 L C D R 2 と当該 L C D R 3 との間に位置し、当該 L F R 3 は配列番号 21、配列番号 32、配列番号 35、配列番号 44、配列番号 57 又は配列番号 61 で示されるアミノ酸配列を含む。

30

【0044】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V L を含み、ここで、当該 V L はフレームワーク領域 L F R 4 を含み、当該 L F R 4 の N 末端は当該 L C D R 3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、当該 L F R 4 は配列番号 22、配列番号 33、配列番号 45 又は配列番号 62 で示されるアミノ酸配列を含む。

【0045】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は V L を含み、ここで、当該 V L はフレームワーク領域 L F R 1、L F R 2、L F R 3 及び L F R 4 を含み、ここで、当該 L F R 1 の C 末端は当該 L C D R 1 の N 末端に直接又は間接的に連結され、当該 L F R 2 は当該 L C D R 1 と当該 L C D R 2 との間に位置し、当該 L F R 3 は当該 L C D R 2 と当該 L C D R 3 との間に位置し、当該 L F R 4 の N 末端は当該 L C D R 3 の C 末端に直接又は間接的に連結され、ここで、当該 L F R 1 は配列番号 19 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 2 は配列番号 20 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 3 は配列番号 21 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 4 は配列番号 22 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

40

当該 L F R 1 は配列番号 30 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 2 は配列番号 31 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 3 は配列番号 32 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 4 は配列番号 33 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該 L F R 1 は配列番号 30 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 L F R 2 は配列番号

50

31で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR3は配列番号35で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR4は配列番号33で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該LFR1は配列番号42で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR2は配列番号43で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR3は配列番号44で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR4は配列番号45で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該LFR1は配列番号55で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR2は配列番号56で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR3は配列番号57で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR4は配列番号45で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該LFR1は配列番号59で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR2は配列番号60で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR3は配列番号61で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR4は配列番号62で示されるアミノ酸配列を含み、又は

当該LFR1は配列番号64で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR2は配列番号60で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR3は配列番号61で示されるアミノ酸配列を含み、当該LFR4は配列番号62で示されるアミノ酸配列を含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVLを含み、ここで、当該VLは配列番号23、配列番号68、配列番号46、配列番号69、配列番号96又は配列番号104で示されるアミノ酸配列を含む。

【0047】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質はVH及びVLを含み、ここで、当該VHは配列番号18で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号23で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該VHは配列番号41で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号46で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該VHは配列番号66で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号68で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該VHは配列番号67で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号69で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該VHは配列番号95で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号96で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該VHは配列番号103で示されるアミノ酸配列を含み、当該VLは配列番号104で示されるアミノ酸配列を含む。

【0048】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は抗体軽鎖定常領域を含む。

【0049】

いくつかの実施形態では、当該抗体軽鎖定常領域はヒトIgκ定常領域又はヒトIgλ定常領域を含む。

【0050】

いくつかの実施形態では、当該抗体軽鎖定常領域は配列番号71で示されるアミノ酸配列を含む。

【0051】

いくつかの実施形態では、当該抗体軽鎖は配列番号73、配列番号86、配列番号81又は配列番号88で示されるアミノ酸配列を含む。

【0052】

いくつかの実施形態では、当該抗原結合タンパク質は抗体重鎖及び抗体軽鎖を含み、ここで、当該抗体重鎖は配列番号72で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号73で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該抗体重鎖は配列番号85で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号86で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該抗体重鎖は配列番号80で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は

10

20

30

40

50

配列番号 81 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該抗体重鎖は配列番号 87 で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号 88 で示されるアミノ酸配列を含む。

【0053】

別の態様では、本願は、

(i) 配列番号 18 からなるアミノ酸配列を有する V_L 由来の V_L CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_L、及び／若しくは配列番号 23 からなるアミノ酸配列を有する V_H 由来の V_H CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_H、

(ii) 配列番号 41 からなるアミノ酸配列を有する V_L 由来の V_L CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_L、及び／若しくは配列番号 46 からなるアミノ酸配列を有する V_H 由来の V_H CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_H、

(iii) 配列番号 66 からなるアミノ酸配列を有する V_L 由来の V_L CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_L、及び／若しくは配列番号 68 からなるアミノ酸配列を有する V_H 由来の V_H CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_H、

(iv) 配列番号 67 からなるアミノ酸配列を有する V_L 由来の V_L CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_L、及び／若しくは配列番号 69 からなるアミノ酸配列を有する V_H 由来の V_H CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_H、

(v) 配列番号 95 からなるアミノ酸配列を有する V_L 由来の V_L CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_L、及び／若しくは配列番号 96 からなるアミノ酸配列を有する V_H 由来の V_H CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_H、又は

(vi) 配列番号 103 からなるアミノ酸配列を有する V_L 由来の V_L CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_L、及び／若しくは配列番号 104 からなるアミノ酸配列を有する V_H 由来の V_H CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む V_H、を含む CDH6 に特異的に結合する抗原結合タンパク質を提供する。

【0054】

別の態様では、本願は、本明細書で提供される抗原結合タンパク質と CDH6 への結合を競合する抗原結合タンパク質を提供する。

【0055】

別の態様では、本願は、上記の抗原結合タンパク質を含むポリペプチドを提供する。

【0056】

別の態様では、本願は、上記の抗原結合タンパク質又は上記のポリペプチドをコードする核酸分子又は分子群を提供する。

【0057】

別の態様では、本願は、上記の核酸分子を含むベクターを提供する。

【0058】

別の態様では、本願は、上記の核酸分子若しくは上記のベクターを含むか、又は上記の抗原結合タンパク質若しくは上記のポリペプチドを発現する細胞を提供する。

【0059】

別の態様では、本願は、上記の抗原結合タンパク質が発現される条件下で上記の細胞を培養することを含む、上記の抗原結合タンパク質を製造する方法を提供する。

【0060】

別の態様では、本願は、上記の抗原結合タンパク質、上記のポリペプチド、上記の核酸分子、上記のベクター及び／又は上記の細胞、及び、任意に、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。

【0061】

別の態様では、本願は、上記の抗原結合タンパク質、上記のポリペプチド又は上記の医薬組成物を含むキットを提供する。

【0062】

別の態様では、本願は、CDH6 に関連する疾患又は障害を予防及び／又は治療する薬物の製造における、上記の抗原結合タンパク質、上記のポリペプチド、上記の核酸分子、

10

20

30

40

50

上記のベクター及び／又は上記の細胞及び／又は上記の医薬組成物の使用を提供する。

【0063】

いくつかの実施形態では、当該CDH6に関連する疾患又は障害は腫瘍を含む。

【0064】

いくつかの実施形態では、当該腫瘍はCDH6発現腫瘍を含む。

【0065】

いくつかの実施形態では、当該腫瘍は腎細胞がん、腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、肝臓がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む。

【0066】

いくつかの実施形態では、当該薬物は追加の治療剤をさらに含む。

【0067】

別の態様では、本願は、上記の抗原結合タンパク質を含む免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を提供する。

【0068】

いくつかの実施形態では、当該免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物は当該抗体又はその抗原結合断片に結合した活性部分をさらに含む。

【0069】

いくつかの実施形態では、当該活性部分は薬物部分及び／又は標識を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、当該薬物部分は、細胞傷害性薬物、サイトカイン、核酸、核酸関連分子、放射性核種、ケモカイン、免疫（共）刺激分子、免疫抑制分子、デスリガンド、アポトーシス誘導タンパク質、キナーゼ、プロドラッグ変換酵素、リボヌクレアーゼ、アゴニスト抗体又は抗体断片、アンタゴニスト抗体又は抗体断片、成長因子、ホルモン、凝固因子、線維素溶解タンパク質、これらを模倣したペプチド、及びそれらの断片、融合タンパク質又は誘導体からなる群から選ばれる。

【0071】

いくつかの実施形態では、当該標識は放射性標識、発蛍光団、発色団、造影剤及び金属イオンからなる群から選ばれる。

【0072】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物は微小管阻害剤及び／又はDNA損傷剤を含む。

【0073】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物はチューブリン阻害剤及び／又はトポイソメラーゼ阻害剤を含む。

【0074】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物はトポイソメラーゼI阻害剤を含む。

【0075】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物はカンプトテシン（CPT）又はその誘導体を含む。

【0076】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物は以下の式IIの構造又はその互変異性体（*tautomer*）、メソマー（*mesomer*）、ラセミ体（*racemate*）、エナンチオマー（*enantiomer*）若しくはジアステレオマー（*diastereomer*）、又はそれらの混合物、又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を含む。

10

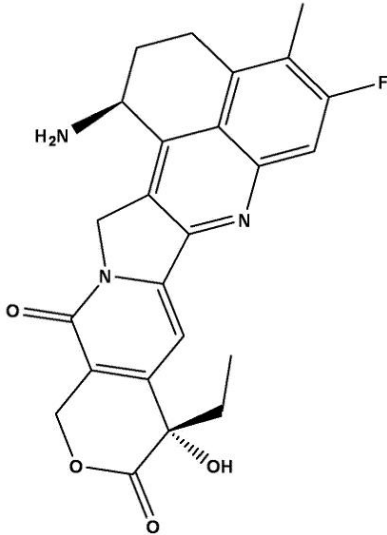
20

30

40

50

【化 1】



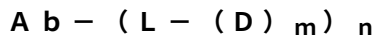
10

(I I)

【 0 0 7 7 】

いくつかの実施形態では、当該免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物は式 (I) の抗体薬物複合体 (A D C) を含み、

20



(I)

ここで、A b は上記の抗原結合タンパク質であり、

L はリンカーであり、

D は薬物部分であり、

m は 1 ～ 8 の整数であり、且つ

n は 1 ～ 1 0 の任意の数字である。

【 0 0 7 8 】

いくつかの実施形態では、当該 L は切断可能なリンカー及び切断不可能なリンカーから選ばれる。

30

【 0 0 7 9 】

いくつかの実施形態では、当該 L は切断可能なペプチドを含む。

【 0 0 8 0 】

いくつかの実施形態では、当該切断可能なペプチドは酵素によって切断可能である。

【 0 0 8 1 】

いくつかの実施形態では、当該酵素はカテプシン B を含む。

【 0 0 8 2 】

いくつかの実施形態では、当該切断可能なペプチド又は L はアミノ酸単位を含む。

【 0 0 8 3 】

いくつかの実施形態では、当該アミノ酸単位はジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド又はペンタペプチドを含む。

40

【 0 0 8 4 】

いくつかの実施形態では、当該アミノ酸単位は Val - Cit、Val - Ala (V A)、Glu - Val - Cit、Ala - Ala - Asn (A A N)、Gly - Val - Cit、Gly - Gly - Gly (G G G) 及び Gly - Gly - Phe - Gly (G G F G) から選ばれる。

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態では、当該 L はスペーサーを含む。

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、当該スペーサーは自己犠牲スペーサーを含む。

50

【0087】

いくつかの実施形態では、当該自己犠牲スペーサーはp-アミノベンゾキシカルボニル基（PABC）又はp-アミノベンジル基（PAB）を含む。

【0088】

いくつかの実施形態では、当該切断可能なペプチドは直接当該スペーサーまでスプライスされる。

【0089】

いくつかの実施形態では、当該Lは-Val-Cit-PABC-、-Val-Ala-PABC-、-Glu-Val-Cit-PABC-、-Ala-Ala-Asn-PABC-、-Gly-Val-Cit-PABC-、-Gly-Gly-Gly-PABC-、-Gly-Gly-Phe-Gly-PABC-、-Val-Cit-PAB-、-Val-Ala-PAB-、-Glu-Val-Cit-PAB-、-Ala-Ala-Asn-PAB-、-Gly-Val-Cit-PAB-、-Gly-Gly-Gly-PAB-又は-Gly-Gly-Phe-Gly-PAB-を含む。

10

【0090】

いくつかの実施形態では、当該スペーサーは-NH-(CH₂)^{n¹}-La-Lb-Lc-で示される構造を含み、ここで、Laは-O-又は単結合を表し、Lbは-CR²（-CR³）-又は単結合を表し、ここで、R²及びR³はそれぞれ独立してC₁~C₆アルキル基、-(CH₂)^{n^a}-NH₂、-(CH₂)^{n^b}-COOH又は-(CH₂)^{n^c}-OHを表し、n¹は0~6の整数を表し、n^a、n^b及びn^cはそれぞれ独立して1~4の整数を表し、ただし、n^aが0であるとき、R²とR³は同じではなく、Lcは-C(=O)-を表す。

20

【0091】

いくつかの実施形態では、当該スペーサーは-NH-(CH₂)₃-C(=O)-、-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-又は-NH-(CH₂)₂-O-CH₂-C(=O)-を含む。

【0092】

いくつかの実施形態では、当該Lは-L₁-L₂-L₃-で示される構造を含み、ここで、L₁は-(スクシンイミジル-3-イル-N)-(CH₂)^{n²}-C(=O)-、-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)^{n³}-C(=O)-又は-C(=O)-(CH₂)^{n⁴}-C(=O)-を表し、ここで、n²は2~8の整数を表し、n³は1~8の整数を表し、n⁴は1~8の整数を表し、L₂はアミノ酸単位を表し、L₃は自己分解性スペーサーを表す。

30

【0093】

いくつかの実施形態では、当該Lは、

- (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-

- (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-

- (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-PABC-

40

- (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-

- (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-

-CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-

-C(=O)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-PABC-

- (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH

50

50

) -VA-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) -VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) -VA-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-、
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) -VA-NH-CH₂CH₂-O-CH₂-C(=O)-、
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) -CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂-C(=O)-、
 -CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、及び
 -C(=O)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-
 から選ばれる。

10

20

30

40

50

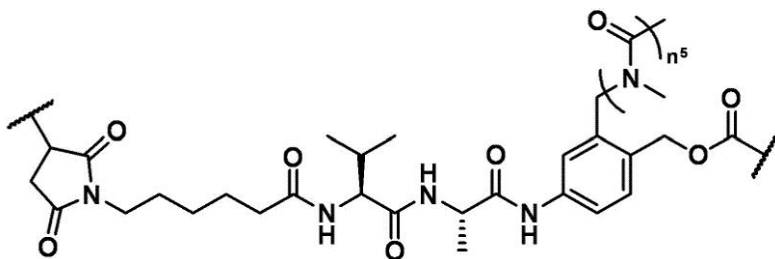
【0094】

いくつかの実施形態では、当該p-アミノベンゾキシカルボニル基(PABC)又はp-アミノベンジル基(PAB)はポリサルコシン(ポリ-N-メチルグリシン)残基を含む。

【0095】

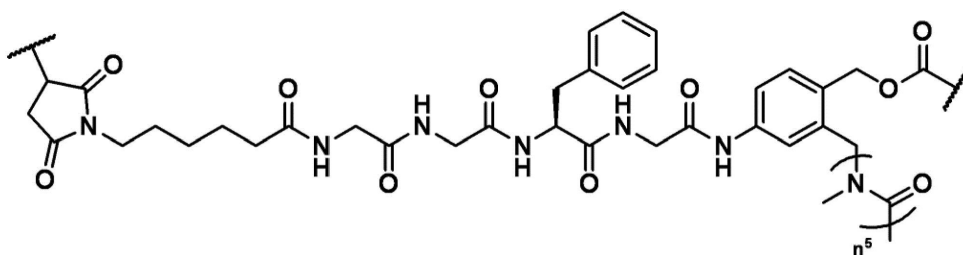
いくつかの実施形態では、当該Lは、

【化2】



及び

【化3】



以上の構造から選ばれ、

ここで、 n^5 は 0 ～ 20 の整数を表す。

【0096】

いくつかの実施形態では、当該 n^5 は 1 ～ 15 の整数を表す。

【0097】

いくつかの実施形態では、当該 n^5 は 1 ～ 7 の整数を表す。

【0098】

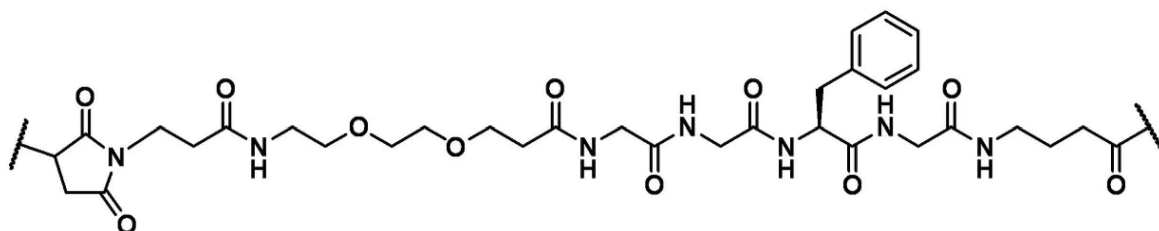
いくつかの実施形態では、当該 n^5 は 8 ～ 15 の整数を表す。

【0099】

いくつかの実施形態では、当該 L は、

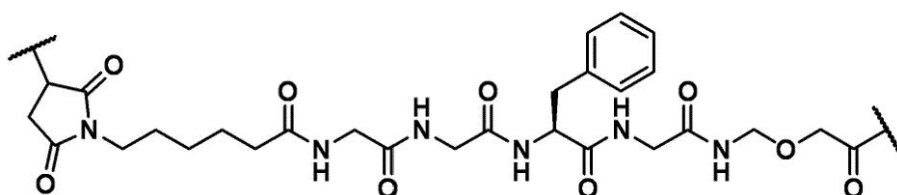
【化 4】

10



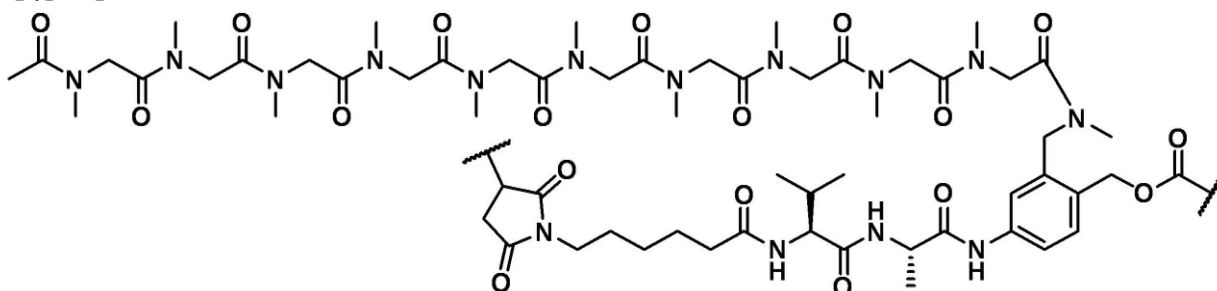
【化 5】

20



【化 6】

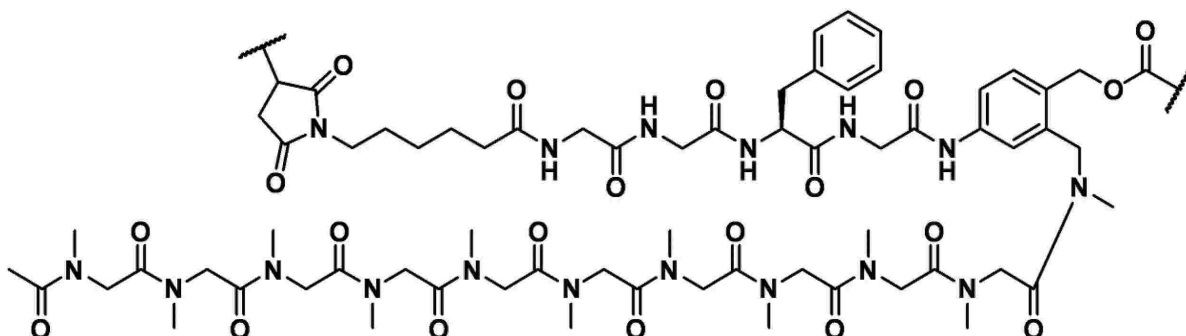
30



及び

【化 7】

40



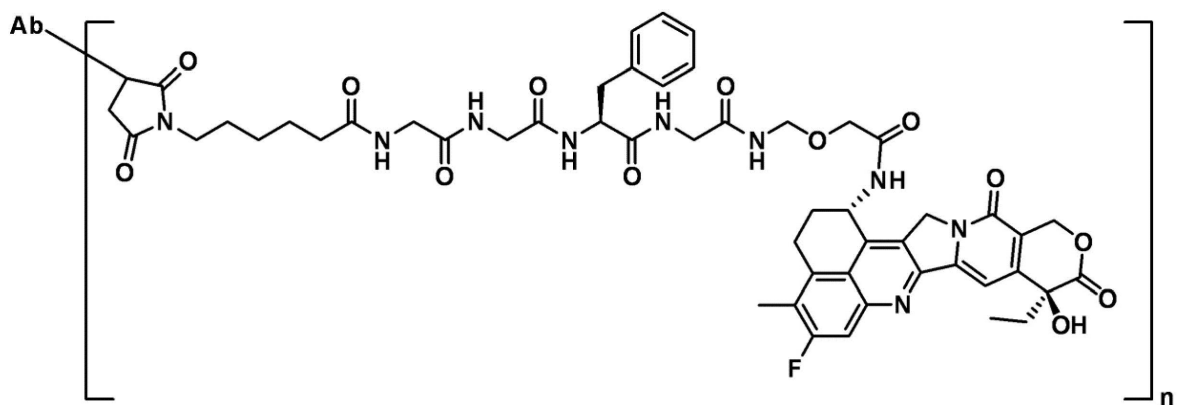
以上の構造から選ばれる。

【0100】

いくつかの実施形態では、当該抗体薬物複合体は、

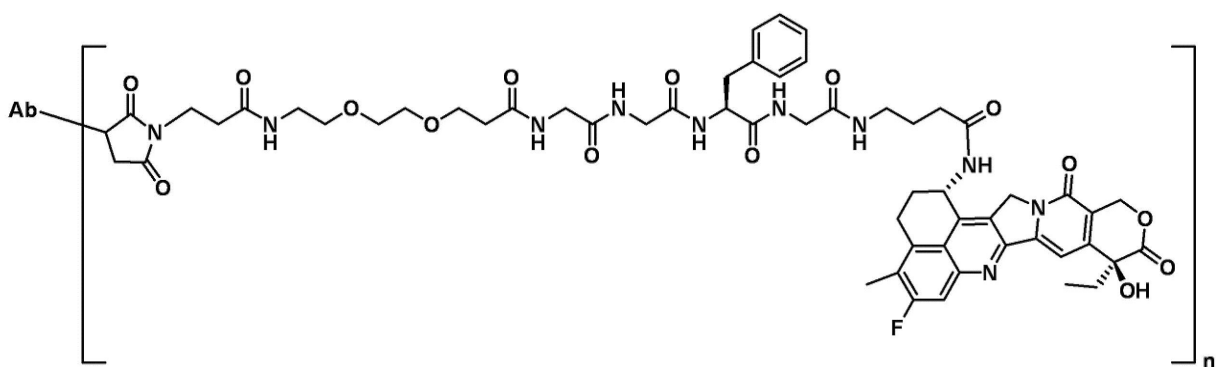
50

【化 8】



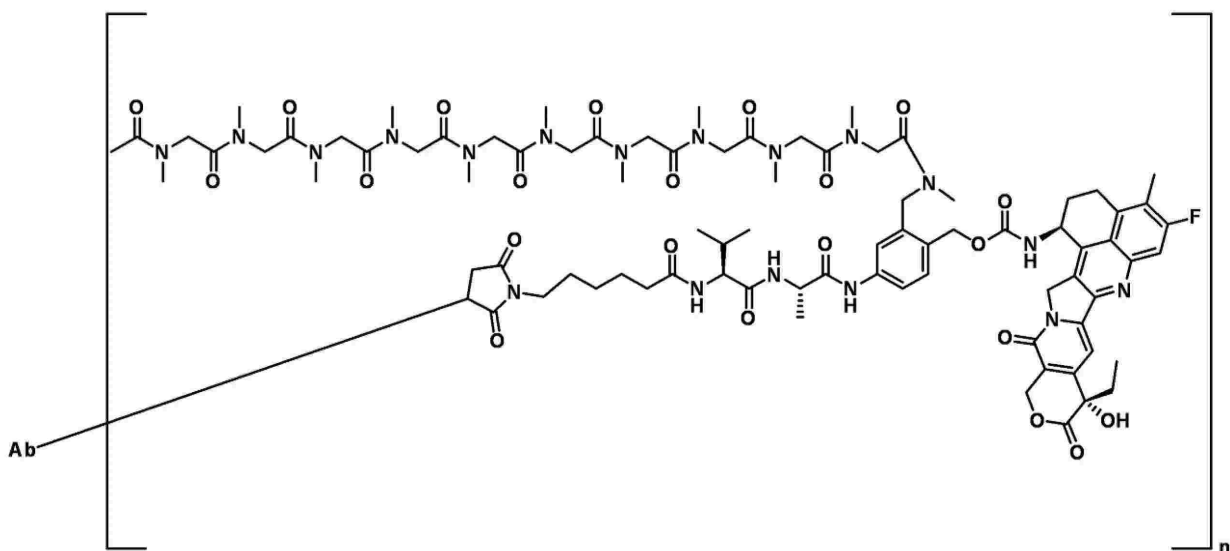
10

【化 9】



20

【化 10】



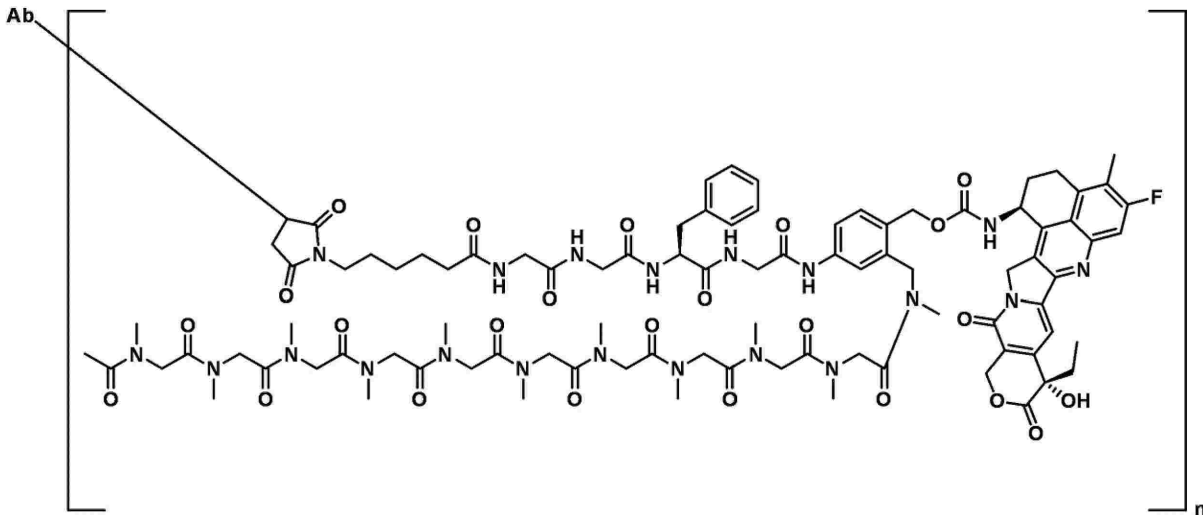
30

40

及び

50

【化 1 1】



10

以上の構造から選ばれ、

ここで、 n は 1 ～ 10 の任意の数字である。

【0101】

いくつかの実施形態では、当該 n は 2 ～ 9 の任意の数字である。

【0102】

本願は、さらに、本願の抗体又はその抗原結合断片を薬物－リンカー中間体化合物と反応させるステップを含む、本願の免疫複合体の製造方法を提供する。

20

【0103】

本願は、さらに、本願の免疫複合体、その塩又は当該複合体若しくは塩の水和物を含む医薬組成物を提供する。

【0104】

いくつかの実施形態では、当該医薬組成物は薬学的に許容される担体又は賦形剤をさらに含む。

【0105】

本願は、さらに、腫瘍を治療する薬物の製造における、本願の免疫複合体又は本願の医薬組成物の使用を提供する。

30

【0106】

いくつかの実施形態では、当該腫瘍は CDH6 発現腫瘍である。

【0107】

いくつかの実施形態では、当該腫瘍は腎細胞がん、腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む。

【0108】

本願は、さらに、本願の免疫複合体、その塩、及び／又は当該複合体若しくは塩の水和物を対象に投与することを含む、腫瘍を治療する方法を提供する。

40

【0109】

いくつかの実施形態では、当該腫瘍は CDH6 発現腫瘍である。

【0110】

いくつかの実施形態では、当該腫瘍は腎細胞がん、腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む。

【0111】

本願は、さらに、本願の免疫複合体、その塩及び当該複合体若しくは塩の水和物から選ばれる少なくとも 1 つの成分と、少なくとも 1 つの抗腫瘍薬とを含む医薬組成物を対象に同時に、別々に、又は順次投与することを含む、腫瘍を治療する方法を提供する。

50

【発明の効果】

【0112】

(本開示の有益な効果)

特定の構造を有するリンカーを介して細胞で毒性を発揮する薬物に結合した本開示の抗CDH6抗体を含む抗CDH6抗体薬物複合体には、CDH6を発現するがん細胞を有する患者に投与することで、優れた抗腫瘍効果と安全性が得られることが期待される。具体的には、本開示の抗CDH6抗体薬物複合体は、抗腫瘍剤として有用である。

【0113】

本開示の更なる態様及び利点は、本開示の例示的な実施形態だけが示され、記述されている以下の詳細な説明から、当業者には容易に明らかになるものであろう。本開示は、他の異なる実施形態があってもよく、その一部の詳細は、本開示から逸脱することなく、様々な明らかな点で変更可能であるということが想到できよう。したがって、図面及び記述は、本質的に例示的なものであり、制限的なものではないと見なされるべきである。

【0114】

(参照による組み込み)

本明細書で言及されている全ての刊行物、特許、及び特許出願は、個々の刊行物、特許、又は特許出願が参照により組み込まれることが具体的に、個別に示されているのと同じ範囲で、参照によりここに組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0115】

本発明の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に詳細に記載されている。本発明の特徴及び利点は、本発明の原理が用いられる例示的な実施形態を示す以下の詳細な記述、及び添付の図面（本明細書では「図」及び「FIG.」ともいう）を参照することで、一層理解されるものであろう。ここで、

【図1A】

【図1B】図1A、図1Bは、抗CDH6キメラ抗体（Ch069707）及びそのヒト化変異体（CL069707-H1L1、CL069707-H1L2、CL069707-H2L1、CL069707-H2L2）と卵巣がん細胞株OVCAR-3との結合を調べたフローサイトメトリーの結果を示す。

【図2】図2は、抗CDH6キメラ抗体（Ch069463）及びそのヒト化変異体（CL069463-H1L1、CL069463-H2L2、CL069463-H2L3）と卵巣がん細胞株OVCAR-3との結合を調べたフローサイトメトリーの結果を示す。

【図3】図3は、CL069707-H1L1とヒトCDH6-EC-DHis、CDH9-EC-DHis及びCDH10-EC-DHis組換えタンパク質との結合を調べたELISAの結果を示す。

【図4】図4は、CL069707-H1L1とヒト、カニクイザル、マウス及びラットのCDH6-EC-DHis組換えタンパク質との結合を調べたELISAの結果を示す。

【図5A】図5Aは、通常の手順Gで測定したCL069707-H1L1のSECクロマトグラムを示す。

【図5B】図5Bは、通常の手順Hで測定したCL069707-H1L1のHICクロマトグラムを示す。

【図6A】図6Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体CL069707-H1L1-LP1のSECクロマトグラムを示す。

【図6B】図6Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体CL069707-H1L1-LP1のHICクロマトグラムを示す。

【図7A】図7Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体CL069707-H1L1-LP2のSECクロマトグラムを示す。

【図7B】図7Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体CL069707-H1L

10

20

30

40

50

1-LP2のHICクロマトグラムを示す。

【図8A】図8Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体CL069707-H1L1-GGFG-DXdのSECクロマトグラムを示す。

【図8B】図8Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体CL069707-H1L1-GGFG-DXdのHICクロマトグラムを示す。

【図9A】図9Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体DS-6000aのSECクロマトグラムを示す。

【図9B】図9Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体DS-6000aのHICクロマトグラムを示す。

【図10A】図10Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体参照抗体-LP1のSECクロマトグラムを示す。

【図10B】図10Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体参照抗体-LP1のHICクロマトグラムを示す。

【図11A】図11Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体ヒトIgG-LP1のSECクロマトグラムを示す。

【図11B】図11Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体ヒトIgG-LP1のHICクロマトグラムを示す。

【図12A】図12Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体ヒトIgG-LP2のSECクロマトグラムを示す。

【図12B】図12Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体ヒトIgG-LP2のHICクロマトグラムを示す。

【図13A】図13Aは、通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体ヒトIgG-GGFG-DXdのSECクロマトグラムを示す。

【図13B】図13Bは、通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体ヒトIgG-GGFG-DXdのHICクロマトグラムを示す。

【図14】図14は、PA-1、OVCA-R-3及び786-O細胞によるCL069707-H1L1-LP1の内在化を示す。

【図15A】

【図15B】

【図15C】

【図15D】図15A～図15Dは、抗CDH6抗体薬物複合体（CL069707-H1L1-LP1、CL069707-H1L1-LP2、CL069707-H1L1-GGFG-DXd、CL069707-H1L2-GGFG-DXd、CL069707-H2L1-GGFG-DXd、CL069707-H2L2-GGFG-DXd）のCDH6陽性腫瘍細胞株OVCA-R-3及びPA-1に対するインビトロ細胞成長抑制活性を評価した結果を示す。

【図16A】図16Aは、vc-MMAEに結合した抗CDH6抗体（CL069707、CL069439、CL069066）のインビトロ細胞傷害活性の結果を示す。

【図16B】図16Bは、GGFG-DXdに結合した抗CDH6抗体（CL069707、CL069439、CL069066）のインビトロ細胞傷害活性の結果を示す。

【図17A】図17Aは、3つのヒト化抗CDH6抗体薬物複合体（CL069707-H1L1-LP1、CL069707-H1L1-LP2、CL069707-H1L1-GGFG-DXd）のインビボ抗腫瘍効果を示す。

【図17B】図17Bは、3つのヒト化抗CDH6抗体薬物複合体（CL069707-H1L1-LP1、CL069707-H1L1-LP2、CL069707-H1L1-GGFG-DXd）のマウスの体重に対する影響を示す。当該評価は、CDH6陽性ヒト卵巣奇形腫細胞株PA-1を免疫不全マウスに接種した動物モデルを使用して行われた。

【図18A】図18Aは、CL069707-H1L1-LP1、CL069707-H1L1-LP2は単一用量投与後に用量依存的に腫瘍退縮を示したことを示す。

10

20

30

40

50

【図18B】図18Bは、異なる用量のC L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 2のマウスの体重に対する影響を示す。当該評価は、C D H 6陽性ヒト卵巣奇形腫細胞株P A - 1を免疫不全マウスに接種した動物モデルを使用して行われた。

【図19A】図19Aは、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1のインビボ抗腫瘍効果を示す。

【図19B】図19Bは、単一用量のC L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1のマウスの体重に対する影響を示す。当該評価は、C D H 6陽性腫瘍細胞株O V C A R - 3を免疫不全マウスに接種した動物モデルを使用して行われた。

【図20A】図20Aは、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1のインビボ抗腫瘍効果を示す。

【図20B】図20Bは、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1のマウスの体重に対する影響を示す。当該評価は、C D H 6陽性腫瘍細胞株7 8 6 - Oを免疫不全マウスに接種した動物モデルを使用して行われた。

【図21A】図21Aは、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1のインビボ抗腫瘍効果を示す。

【図21B】図21Bは、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1のマウスの体重に対する影響を示す。当該評価は、腎がん患者由来異種移植（P D X）モデルを使用して行われた。

【図22A】

【図22B】

【図22C】図22A～図22Cは、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 1、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - L P 2及びC L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1 - G G F G - D X dの構造を示す。

【図23】図23は、本願に記載の抗体のC D H 6抗原への結合の検出感度を示す。

【図24】図24は、本願に記載の抗体による細胞表面上に発現されたC D H 6抗原の特異的認識を示す。

【発明を実施するための形態】

【0116】

（詳細な記述）

本明細書では本発明の様々な実施形態を示しそれらを記述しているが、当業者には、このような実施形態は例示としてのみ提供されていることは明らかである。当業者であれば、本発明から逸脱することなく、数多くの変化、変更、及び置き換えに想到できるであろう。本明細書に記述した本発明の実施形態の様々な代替を用いてもよいことは理解される。

【0117】

（定義）

特に明記のない限り、本明細書で使用される以下の用語及び語句は、以下の意味を有するものとする。

本願では、「アルキル基」という用語は、一般的に、指定された数の炭素原子を有する一価の飽和炭化水素鎖を指す。例えば、C₁～C₆アルキル基は、1～6個の炭素原子を有するアルキル基原子団を指す。アルキル基原子団は、直鎖でも分岐であってもよい。代表的な分岐アルキル基原子団は、1つ、2つ、又は3つの分岐を有する。アルキル基原子団の例としては、メチル基、エチル基、プロピル基（*n*-プロピル基及びイソプロピル基）、ブチル基（*n*-ブチル基、イソブチル基、*sec*-ブチル基及び*tert*-ブチル基）、ペンチル基（*n*-ペンチル基、イソペンチル基及びネオペンチル基）、及びヘキシル基が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0118】

本願では、本明細書で用いられる「抗体」という用語は、一般的に、対応する抗原と非共有結合的に、可逆的に、かつ特異的に結合できる免疫グロブリンファミリーのポリペプ

10

20

30

40

50

チドを指す。例えば、天然に存在するIgG抗体は、ジスルフィド結合によって相互連結された少なくとも2つの重鎖（H）及び2つの軽鎖（L）を含むテトラマーである。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではVHと略記）及び重鎖定常領域から構成される。当該重鎖定常領域は、CH1、CH2及びCH3の3つのドメインで構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではVLと略記）及び軽鎖定常領域で構成される。当該軽鎖定常領域は、1つのドメインCLで構成される。当該VH及びVL領域は、中にはフレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存的な領域が散在する相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端までFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4の順に配置された3つのCDR及び4つのFRで構成される。当該重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含んでいる。当該抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）、古典的な補体系の最初の成分（C1q）などの宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介する場合がある。

10

【0119】

「抗体」という用語には、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ抗体、キメラ抗体が含まれるが、これらに限定されるものではない。当該抗体は、いかなるアイソタイプ／クラス（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、IgY）又はサブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2）であってもよい。

【0120】

本願では、「相補性決定ドメイン」という用語は、本明細書で「相補性決定領域」（「CDR」）という用語と入れ替わって使用され、一般的に、VL及びVHの超可変領域を指す。当該CDRは、抗体鎖の標的タンパク質結合部位で、そのような標的タンパク質に特異性を持っている。各ヒトVL又はVHには、可変ドメインの約15～20%を構成している、3つのCDR（N末端から順に番号が付けられるCDR1～3）がある。CDRは、その領域と順番により参照されてもよい。例えば、「VH CDR1」又は「HCDR1」はどちらも、重鎖可変領域の最初のCDRを指す。CDRは、標的タンパク質のエピトープと構造的に相補的であるため、結合特異性に直接関与している。VL又はVHの残りの部分、いわゆるフレームワーク領域は、アミノ酸配列の変異が少ない（Kuby, Immunology, 4th ed., Chapter 4, W. H. Freeman & Co., New York, 2000）。当分野では、抗体のCDRは、配列の変異性に基づくKabat定義規則（Kabat et al., protein sequence in immunology, 5th edition, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland (1991)を参照する）、構造ループ領域の位置に基づくChothia定義規則（Al-Lazikani et al., J Mol Biol, 273:927-948, 1997を参照する）、IMGT-ONTOLOGYの概念とIMGTサイエンスチャート規則に基づくIMGT定義規則など、様々な方法によって定義してもよい。特定の実施形態では、本願は、IMGT規則を用いて抗体のCDRを定義する。本願には、Martin、PyIgClassifyの定義規則と、Kabat、Chothia、IMGT、Martin及びPyIgClassifyを組み合わせた定義規則も含まれる（Mark L. Chiu et al., Antibodies 8(4), 55, 2019を参照する）。

20

30

40

50

【表 1】

表 A：各領域のアミノ酸の番付体系（Chothia による番付）

CDR	Kabat	Chothia	IMGT	Martin	PyIgClassify	組み合わせ定義
LCDR1	L24-L34	L24-L34	L27-L32	L24-L34	L24-L34	L24-L34
LCDR2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L50-L56	L49-L56	L49-L56
LCDR3	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L97
HCDR1	H31-H35	H26-H32	H26-H33	H26-H35	H23-H35	H23-H35
HCDR2	H50-H65	H52-H56	H51-H57	H50-H58	H50-H58	H50-H65
HCDR3	H95-H102	H95-H102	H93-H102	H95-H102	H93-H102	H93-H102

10

【0121】

ここで、L a a - L b b 又は H a a - H b b は、それぞれ N 末端からの軽鎖又は重鎖の番号 a a から b b までのアミノ酸配列を指す場合がある。例えば、L 2 4 - L 3 4 は、軽鎖の番号 2 4 から 3 4 までのアミノ酸配列を指す。

20

【0122】

軽鎖及び重鎖は両方とも、構造的及び機能的に相同性のある領域に分けられる。「定常」及び「可変」という用語は機能的な意味合いで使用される。これに関しては、軽鎖（V L）及び重鎖（V H）部分の両方の可変ドメインが抗原の認識及び特異性を決定することを理解されたい。逆に、軽鎖の定常ドメイン（C L）及び重鎖の定常ドメイン（C H 1、C H 2 又は C H 3）は、分泌、経胎盤移動性、F c 受容体結合、補体結合などの重要な生物学的特性を付与する。慣例によれば、定常領域ドメインの番号は、抗体の抗原結合部位又はアミノ末端から遠ざかるほど大きくなる。N 末端は可変領域で、C 末端は定常領域であり、C H 3 及び C L ドメインは、実際にはそれぞれ重鎖及び軽鎖のカルボキシ末端ドメインを含む。

30

【0123】

本願では、本明細書で用いられる「抗原結合断片」という用語は、一般的に、抗原のエピトープと特異的に相互作用する能力（例えば、結合、立体障害、安定化／不安定化、空間分布による）を保持している、抗体の 1 つ以上の部分を含むポリペプチドを指す。結合断片の例には、単鎖 F v（s c F v）、ジスルフィド結合 F v（s d F v）、F a b 断片、F（a b'）断片、V L、V H、C L 及び C H 1 ドメインからなる一価断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合された 2 つの F a b 断片を含む二価断片である F（a b'）₂ 断片、V H 及び C H 1 ドメインからなる F d 断片、抗体の単一アームの V L 及び V H ドメインからなる F v 断片、V H ドメインからなる d A b 断片（Ward et al., Nature, 341:544-546, 1989）、抗体の分離された相補性決定領域（CDR）又は他のエピトープ結合断片が含まれるが、これらに限定されるものではない。

40

【0124】

抗原結合断片には、単ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、ナノボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ及びビス-s c F v も含まれる（例えば、Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology, 23:1126-1136, 2005 を参照する）。抗原結合断片には、相補的軽鎖ポリペプチドと一対の抗原結合領域を形成する一対のタンデム F v 断片（V H - C H 1 - V H - C H 1）を含む単鎖分子（Zapata et al., Protei

50

n Eng., 8:1057-1062, 1995) が含まれてもよい。従来の抗体の断片は、重鎖抗体又はVHHなど、単ドメイン抗体であってもよい。

【0125】

本願では、本明細書で用いられる「モノクローナル抗体」という用語は、一般的に、実質的に同一のアミノ酸配列を有するか、又は同じ遺伝源に由来する抗体及び抗原結合断片を含むポリペプチドを指す。この用語には、単一分子成分の抗体分子の調製物も含まれる。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す。

【0126】

本願では、「ヒト化抗体」という用語は、一般的に、非ヒト種（例えば、マウス）に由来する重鎖可変領域及び軽鎖可変領域の配列を含むが、VH及び／又はVL配列の少なくとも一部がヒト生殖系列可変配列に類似するように変更されている抗体を指す。例えば、「ヒト化抗体」という用語は、免疫特異性で関連抗原に結合でき、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列を含むフレームワーク領域（FR）及び実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列を含む相補性決定領域（CDR）を含む抗体又はその変異体、誘導体、類似体、又は断片である。CDRを取り扱う文脈で、「実質的に」という用語は、CDRのアミノ酸配列が、非ヒト抗体のCDRのアミノ酸配列に対して少なくとも80%、例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を有することを意味する。ヒト化抗体は、実質的に少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメイン（Fab、Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv）を含み、ここで、
全て又は実質的に全てのCDR領域は非ヒト免疫グロブリンのCDR領域に対応し、全て又は実質的に全てのフレームワーク領域はヒト免疫グロブリンのコンセンサス配列を有するフレーム領域である。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、さらに、免疫グロブリンの定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。

【0127】

本願では、「ヒト抗体」という用語は、一般的に、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列に由来する可変領域及び定常領域を有する抗体を指す。従来技術では、ヒト抗体が熟知されている（例えば、van Dijk, M. A. and van de Winkel, J. G., Curr. Opin. Chem. Biol., 5 (2001): 368-374を参照する）。ヒト抗体は、免疫後に産生された内因性免疫グロブリンがない場合に、完全な又は選択された一連のヒト抗体を産生できる遺伝子導入動物（例えば、マウス）の中で産生されてもよい（例えば、Jakobovits, A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 (1993): 2551-2555; Jakobovits, A. et al., Nature, 362 (1993): 255-258; Brueggemann, M. et al., Year Immunol., 7 (1993): 33-40）。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリの中で産生されてもよい（例えば、Hoogenboom, H. R. and Winter, G., J. Mol. Biol., 227 (1992): 381-388; Marks, J. D. et al., J. Mol. Biol., 222 (1991): 581-597）。「ヒト抗体」という用語には、定常領域が修飾された抗体も含まれる。

【0128】

本願では、「キメラ抗体」という用語は、一般的に、最も広い意味で、1つの抗体の1つ以上の領域と、1つ以上の他の抗体の1つ以上の領域とを含む操作された抗体を指す。特に、キメラ抗体は、非ヒト動物に由来する抗体のVHドメイン及びVLドメインと、別の抗体、特にヒト抗体のCHドメイン及びCLドメインとの組み合わせを含む。非ヒト動物としては、マウス、ラット、ハムスター、ウサギなど、いかなる動物を用いてもよい。キメラ抗体は、少なくとも2つの異なる抗原に対する特異性を有する多重特異性抗体を表してもよい。

【0129】

10

20

30

40

50

ポリペプチド（即ち、本発明の抗体）又はヌクレオチド配列を指す場合、「精製された」及び「分離された」とは、示された分子は同じタイプの他の生物学的高分子が実質的に存在しない状態で存在することを意味する。本明細書で用いられる「精製された」という用語は、特に、同じタイプの生物学的高分子が重量基準で少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも95%、又は少なくとも98%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「分離された」核酸分子とは、対象となるポリペプチドをコードしない他の核酸分子が実質的に存在しない核酸分子を指す。ただし、当該分子には、組成物の基本特性に悪影響を与えない追加の塩基又は部分が含まれる場合がある。本発明は、例えば、分離された抗原結合タンパク質、分離された抗体若しくはその抗原結合断片、分離されたポリペプチド、分離された核酸分子若しくは分子群を含む場合がある。

10

【0130】

本願では、「親和性」という用語は、一般的に、抗体全体と抗原との間の平衡結合によって定義される。親和性は、例えば、半最大有効濃度（ EC_{50} ）又は平衡解離定数（ KD ）で表されてもよい。親和性は、表面プラズモン共鳴による結合及び解離速度の測定や、免疫化学アッセイ（ $ELISA$ 、 $FACS$ ）での EC_{50} の測定など、様々な既知の方法によって実験的に評価されてもよい。

【0131】

「半最大有効濃度」又は「 EC_{50} 」は、一般的に、指定された暴露時間後にベースラインと最大値との間の反応を引き起こす薬物、抗体又は毒物の濃度を指す。 EC_{50} と親和性は反比例関係にあり、 EC_{50} 値が低いほど抗体の親和性は高い。

20

【0132】

「 KD 」は、抗体とその抗原との間の平衡解離定数、即ち k_{off}/k_{on} の比である。 KD と親和性は反比例関係にある。 KD 値は抗体の濃度に関係し、 KD 値が低いほど抗体の親和性は高い。本開示の抗体は、一般的に、約 10^{-7} M未満又は 10^{-8} M未満、例えば、約 10^{-9} M又は 10^{-10} M未満、いくつかの態様では、約 10^{-11} M未満、 10^{-12} M未満又は 10^{-13} M未満の平衡解離定数を有する。

【0133】

「保存的に修飾された変異体」という用語は、アミノ酸配列と核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に修飾された変異体とは、同一若しくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸、又は核酸がアミノ酸配列をコードしない場合は本質的に同一の配列を指す。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一の核酸は任意の所定のタンパク質をコードする。例えば、コドン GCA 、 GCC 、 GCG 及び GCU はどれもアミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンによって指定される全ての位置において、コドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載されている対応するコドンのいずれかに変更されてもよい。このような核酸の変異は「サイレント変異」であり、保存的に修飾された変異の一種である。本明細書でポリペプチドをコードする全ての核酸配列は、核酸のあらゆる可能なサイレント変異も記述する。当業者であれば、核酸内の各コドン（通常メチオニンの唯一のコドンである AUG と通常トリプトファンの唯一のコドンである TGG を除く）を修飾して機能的に同一の分子を生成することに想到するだろう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載されている各配列に暗黙的に含まれている。

30

40

【0134】

ポリペプチド配列の場合、「保存的に修飾された変異体」には、化学的に類似するアミノ酸によるアミノ酸の置換をもたらすポリペプチド配列への個々の置換、欠失又は付加が含まれる。機能的に類似するアミノ酸を提供する保存的置換表は、当分野で熟知される。このような保存的に修飾された変異体は、多型変異体、種間相同体、及び対立遺伝子に加え、しかもこれらを排除するものではない。次の8つのグループには、互いに保存的置換であるアミノ酸が含まれる。1) アラニン（A）、グリシン（G）、2) アスパラギン酸（D）、グルタミン酸（E）、3) アスパラギン（N）、グルタミン（Q）、4) アルギニン（R）、リシン（K）、5) イソロイシン（I）、ロイシン（L）、メチオニン（M

50

）、バリン（V）、6）フェニルアラニン（F）、チロシン（Y）、トリプトファン（W）、7）セリン（S）、トレオニン（T）、8）システイン（C）、メチオニン（M）（例えば、Creighton, Proteins (1984)を参照する）。いくつかの態様では、「保存的配列修飾」という用語は、アミノ酸配列を含む抗体の結合特性に顕著な影響を及ぼさない又は変更しないアミノ酸修飾を指すために使用される。

【0135】

本願では、2つ以上の核酸又はポリペプチド配列を取り扱う文脈に出ている「同一パーセント」又は「同一性パーセント」という用語は、2つ以上の配列又は部分配列の同じである程度を指す。2つの配列は、比較される領域にわたって同じアミノ酸又はヌクレオチドの配列を有する場合、「同一」である。2つの配列は、次の配列比較アルゴリズムのいずれかを使用して、又は手動アラインメントと目視検査によって測定される比較ウィンドウ又は指定領域にわたって最大一致を目指して比較及びアラインメントした場合に、2つの配列が、指定されたパーセンテージの同じアミノ酸残基又はヌクレオチドを有する場合に「実質的に同一」である（つまり、指定された領域にわたって、又は指定されていない場合は配列全体にわたって60%の同一性、任意に、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%又は99%の同一性を有する）。任意に、同一性は、少なくとも約30個のヌクレオチド（若しくは10個のアミノ酸）の長さの領域にわたって存在し、又はより好ましくは、100～500個若しくは1000個以上のヌクレオチド（若しくは20個、50個、200個若しくはそれ以上のアミノ酸）の長さの領域にわたって存在する。配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに適するアルゴリズムの2つの例は、BLAST及びBLAST 2.0アルゴリズムであり、それぞれがAltschul et al., Nuc. Acids Res., 25:3389-3402, 1997、及びAltschul et al., J. Mol. Biol., 215:403-410, 1990に記載されている。

【0136】

上記の配列同一性パーセンテージに加え、2つの核酸配列又はポリペプチドが実質的に同一であることを示すもう1つの指標は、第1核酸によってコードされるポリペプチドが、第2核酸によってコードされるポリペプチドに対して生成される抗体と免疫学的に交差反応性であることである。したがって、例えば、2つのペプチドが保存的置換だけが異なる場合、ポリペプチドは典型的に第2ポリペプチドと実質的に同一である。2つの核酸配列が実質的に同一であることを示すもう1つの指標は、2つの分子又はその補体が、ストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイズすることである。2つの核酸配列が実質的に同一であることを示すさらにもう1つの指標は、同じプライマーを使用して配列を増幅できることである。

【0137】

本願では、「核酸」という用語は「ポリヌクレオチド」という用語と入れ替わって使用され、一般的に、一本鎖又は二本鎖の形態のデオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチド、及びそれらのポリマーを指す。この用語には、既知のヌクレオチド類似体又は修飾されたバックボーン残基又は結合を含む核酸が含まれ、これらは合成された、天然又は非天然のものであり、参照核酸と同様の結合特性を有し、参照ヌクレオチドと同様の方式で代謝される。このような類似体の例としては、ホスホロチオエート、ホスホラミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2-Ο-メチルリボヌクレオチド、ペプチド核酸（PNA）などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0138】

本願では、「ポリペプチド」という用語は、「タンパク質」という用語と入れ替わって使用され、アミノ酸残基のポリマーを指す。これらの用語は、1つ以上のアミノ酸残基が対応する天然アミノ酸の人工化学的模倣物であるアミノ酸ポリマー、ならびに天然アミノ酸ポリマー及び非天然アミノ酸ポリマーに適用される。特に明記しない限り、特定のポリペプチド配列には、その保存的に修飾された変異体も暗黙的に含まれる。

【0139】

10

20

30

40

50

本願では、本明細書で用いられる「免疫複合体」という用語は、一般的に、抗体又はその抗原結合断片と、ペイロード、薬物部分、化学療法剤、毒素、免疫療法剤、イメージングプローブなどの別の薬剤との結合を指す。当該結合は、共有結合又は静電力による非共有結合相互作用であってもよい。免疫複合体を形成するために、当分野で知られている様々なリンカーを使用してもよい。さらに、免疫複合体は、免疫複合体をコードするポリヌクレオチドから発現されてもよい融合タンパク質の形態で提供されてもよい。本明細書で用いられる「融合タンパク質」は、もともと別々のタンパク質（ペプチド及びポリペプチドを含む）をコードしていた2つ以上の遺伝子又は遺伝子断片の連結によって生成されるタンパク質を指す。融合遺伝子を翻訳すると、元のタンパク質のそれぞれに由来する機能特性を持つ単一のタンパク質が得られる。

10

【0140】

本明細書で使用される「活性部分」又は「ペイロード」という用語は、一般的に、活性剤を構成する共役化合物の部分の指し、予防、治療及び／又は診断効果を含むがこれらに限定されない薬理効果、例えば、抗がん、抗炎症、抗感染（例えば、抗真菌、抗菌、抗寄生虫、抗ウイルス）又は麻酔剤を媒介する。これらのそれぞれを抗体と互換性のあるリンカーに結合させる方法及び本開示の方法については、当分野で知られている。例えば、Singh et al., (2009) Therapeutic Antibodies: Methods and Protocols, vol. 525, 445-457を参照する。さらに、「活性部分」又は「ペイロード」は、生物物理学的プローブ、発蛍光団、スピララベル、赤外線プローブ、親和性プローブ、キレート剤、分光プローブ、放射性プローブ、脂質分子、ポリエチレングリコール、ポリマー、DNA、RNA、タンパク質、ペプチド、表面、抗体、抗体断片、ナノ粒子、量子ドット、リポソーム、PLGA粒子、糖類又は多糖類であってもよい。

20

【0141】

本願では、「薬物部分」又は「D」という用語は、一般的に、所望の生物学的活性と、薬物を本開示の複合体に組み込むために利用できる反応性官能基とを有する任意の化合物を指す。いくつかの実施形態では、当該薬物部分は、がん治療に有用な細胞傷害性薬物、所望の生物学的活性を有するタンパク質若しくはポリペプチド、毒素、例えば、アブリン(abrin)、リシンA(ricin A)、緑膿菌外毒素(pseudomonas exotoxin)、ジフテリア毒素(diphtheria toxin)を表し、他の適切なタンパク質としては、腫瘍壊死因子、 α -インターフェロン、 β -インターフェロン、神経成長因子、血小板由来成長因子、組織プラスミノゲン活性化因子(tissue plasminogen activator)、及び生物学的応答修飾因子、例えば、リンフォカイン、インターロイキン-1(IL-1)、インターロイキン-2(IL-2)、インターロイキン-6(IL-6)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)又は他の成長因子が挙げられる。いくつかの実施形態では、用語「薬物部分」は化学部分であってもよい。特定の態様では、当該薬物部分は、V型ATPアーゼ阻害剤、HSP90阻害剤、IAP阻害剤、mTor阻害剤、微小管安定化剤、微小管不安定化剤、アウリスタチン(Auristatin)、ドラスタチン(Dolastatin)、メイタンシノイド(Maytansinoid)、MetAP(メチオニンアミノペプチダーゼ)、タンパク質CRM1による核輸出の阻害剤、DPPIV阻害剤、ミトコンドリアにおけるリン酸化転移反応の阻害剤、タンパク質合成阻害剤、キナーゼ阻害剤、CDK2阻害剤、CDK9阻害剤、プロテアソーム阻害剤、キネシン阻害剤、HDAC阻害剤、DNA損傷剤、DNAアルキル化剤、DNAインターカレーター、DNA副溝バインダー、DHFR阻害剤から選ばれる。

30

40

【0142】

一実施形態では、当該薬物部分は、アウリスタチンなどの微小管阻害剤であってもよく、例えば、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、アウリスタチンF(AF)である。別の実施形態では、当該薬物部分は、メイタンシノイド(maytansinoid)などの微小管阻害剤であってもよく、例えば

50

、DM1、DM3、DM4である。別の実施形態では、当該薬物部分は、カリケアマイシン (calicheamicin)、デュオカルマイシン類 (duocarmycin)、SN-38、ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン (PBD) などのDNA損傷剤であってもよい。さらに、他の実施形態では、当該薬物部分は、アマニチン (amanitin)、アントラサイクリン系 (anthracycline)、バッカチン (baccatin)、カンプトテシン (camptothecin)、セマドチン (cemadotin)、コルヒチン (colchicine)、コルセミド (colcimide)、コンブレタスタチン (combretastatin)、クリプトフィシン (cryptophycin)、ディスコデルモリド (discodermolide)、ドセタキセル (docetaxel)、ドキシソルビシン (doxorubicin)、エキノマイシン (echinomycin)、エリュテロビン (eleutherobin)、エポチロン (epothilone)、エストラムスチン (estramustine)、レキシトロプシン (lexitropsin)、マイタンシン (maytansine)、メトトレキサート (methotrexate)、ネトロプシン (netropsin)、ピューロマイシン (puromycin)、リゾキシ (rhizoxin)、タキサン (taxane)、ツブリシン (tubulysin) 又はビンカアルカロイド (vinca alkaloid) であってもよい。

【0143】

本願では、「トポイソメラーゼ阻害剤」という用語は、一般的に、トポイソメラーゼ活性を阻害する化合物を指す。トポイソメラーゼI阻害剤として知られる化合物はトポイソメラーゼIに対する活性を有し、トポイソメラーゼII阻害剤はトポイソメラーゼIIに対する活性を有する。一部の化合物はトポイソメラーゼIとトポイソメラーゼIIの両方に対して活性を有し、トポイソメラーゼI／II阻害剤として知られている。本発明での使用に好ましいトポイソメラーゼI阻害剤はカンプトテシン及びカンプトテシン類似体である。カンプトテシンは、中国原産の樹木であるカンレンボクの木材及び樹皮から最初に分離された五環式アルカロイドである (Wall, M. E. et al., J. Am. Chem. Soc., 94:388 (1966))。カンプトテシンはトポイソメラーゼIを不可逆的に阻害することによりその薬理効果を発揮する。カンプトテシン及びカンプトテシン類似体又は誘導体の合成方法は知られており、米国特許第5,244,903号に要約され記載されており、当該特許は全体として本明細書に参照により組み込まれる。

【0144】

本願では、「カンプトテシン」という用語は、一般的に、カンプトテシン及びカンプトテシン誘導体を含み、イリノテカン (irinotecan)、トポテカン (topotecan)、ルートテカン (lurtotecan)、シラテカン (silatecan)、エチリノテカンペゴル (etirinotecan pegol)、TAS 103、9-アミノカンプトテシン (9-aminocamptothecin)、7-エチルカンプトテシン (7-ethylcamptothecin)、10-ヒドロキシカンプトテシン (10-hydroxycamptothecin)、9-ニトロカンプトテシン (9-nitrocampthothecin)、10,11-メチレンジオキシカンプトテシン (10,11-methylenedioxycompthothecin)、9-アミノ-10,11-メチレンジオキシカンプトテシン (9-amino-10,11-methylenedioxycompthothecin)、9-クロロ-10,11-メチレンジオキシカンプトテシン (9-chloro-10,11-methylenedioxycompthothecin)、7-(4-メチルピペラジノメチレン)-10,11-エチレンジオキシ-20(S)-カンプトテシン (7-(4-methylpiperazinomethylene)-10,11-methylenedioxy-20(S)-compthothecin)、7-(4-メチルピペラジノメチレン)-10,11-メチレンジオキシ-20(S)-カンプトテシン (7-(4-methylpiperazinomethylene)-10,11-methylenedioxy-20(S)-compthothecin)、7-(2-(N-イソプロピルアミノ)エチル)-(20S)-カンプトテシン (7-(2-(N-isopropylamino)ethyl)-(20S)-compthothecin) である。

mino) ethyl) - (20S) - camptothecin)、及びそれらの立体異性体、塩及びエステルを含む。

【0145】

なお、当該薬物は上記のカテゴリに限定されず、ADCに使用できるもの全てが含まれる。

【0146】

本願では、本開示で説明される「リンカー」という用語には、切断可能なリンカー又は切断不可能なリンカーが含まれる。切断可能なリンカーは、化学的に不安定なリンカーか、酵素に不安定なリンカーであってもよい。高い血漿安定性及び良好な細胞内切断選択性及び効率により、酵素に不安定なリンカーは、ADCにおける切断可能なリンカーの候補として広く選ばれる。いくつかの実施形態では、酵素に不安定なリンカーは、-バリニンシトルリン- (-Val-Cit-)、-バリニンリシン- (-Val-Lys-)、-バリニンアルギニン- (-Val-Arg-)、-フェニルアラニンシトルリン- (-Phe-Cit-)、-フェニルアラニンリシン- (-Phe-Lys-)、-フェニルアラニンアルギニン- (-Phe-Arg-) からなる群から選ばれるペプチド単位 (-AA-) を含んでもよい。典型的な酵素に不安定なリンカーには、カテプシンBによって認識され得る -Val-Cit- 及び -Phe-Lys- が含まれる。いくつかの実施形態では、切断不可能なリンカーは、最終的に得られたADCの親水性を向上できるリンカーであってもよい。一実施形態では、切断不可能なリンカーは、1種又は複数種のポリ(エチレングリコール) (PEG) を含んでもよい。他の実施形態では、切断不可能なリンカーは、PEG、PEGジアミン ($\text{NH}_2\text{-PEG-NH}_2$)、アミン-PEG-ヒドロキシ基 ($\text{NH}_2\text{-PEG-OH}$)、アミン-PEG-COOH ($\text{NH}_2\text{-PEG-COOH}$)、ジエチレントリアミン又はそれらの組み合わせであってもよい。いくつかの実施形態では、PEGを $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$ と示すことができ、ここで、 x は、1~20の整数であってもよい。

【0147】

本願では、本明細書で用いられる「毒素」「細胞毒素」又は「細胞傷害性薬物」という用語は、一般的に、細胞の成長及び増殖に有害であり、細胞又は悪性腫瘍を減少、阻害又は破壊する作用を有するあらゆる薬剤を指す。

【0148】

本願では、本明細書で用いられる「抗腫瘍剤」又は「抗腫瘍薬」という用語は、一般的に、細胞傷害性薬物、化学療法剤、放射線療法及び放射線治療剤、標的抗がん剤、免疫療法剤を含むがこれらに限定されない、がんなどの細胞増殖性障害の治療に使用できる任意の薬剤を指す。

【0149】

本願では、「腫瘍」又は「がん」という用語は、一般的に、悪性か良性かを問わず、腫瘍性細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性の細胞及び組織を指す。

【0150】

本願では、「抗腫瘍活性」という用語は、腫瘍細胞の増殖率、生存率、又は転移活性の低下を意味する。抗腫瘍活性を示す方法としては、腫瘍細胞の成長率の低減、腫瘍サイズの静止、又は腫瘍サイズの縮小を示すことが考えられる。このような活性は、異種移植モデル、同種移植モデル、MMTVモデル、及び抗腫瘍活性を研究するための当分野で知られているその他の既知のモデルを含むがこれらに限定されない、承認されたインビトロ又はインビボ腫瘍モデルを使用して評価されてもよい。

【0151】

本願では、「カドヘリン6」又は「CDH6」という用語は、一般的に、790個のアミノ酸からなる一回膜貫通タンパク質を指し、II型カドヘリンファミリーに分類され、このタンパク質はN末端細胞外ドメイン及びC末端細胞内ドメインを有する。ヒトCDH6遺伝子は1995年に初めてクローニングされ、その配列は、例えば、アクセッション番号NM_004932、NP_004923 (NCBI) を参照してもよい。また、上

記のCDH6のアミノ酸配列で1個又は複数個のアミノ酸が置換、欠失及び／又は付加されたアミノ酸配列からなり、CDH6タンパク質と同等の生物学的活性を有するタンパク質も、「CDH6」という用語に含まれる。

【0152】

本明細書では、「エピトープ」という用語は、一般的に、特異的な抗CDH6抗体が結合するCDH6の一部のペプチド又は一部の三次元構造を意味するために使用される。

【0153】

「CDH6発現腫瘍」又は「CDH6陽性腫瘍」という用語は、一般的に、腫瘍細胞の表面にCDH6及び／又はCDH6の変異型を発現する腫瘍を指す。

【0154】

本願では、「対象」という用語には、ヒト及び非ヒト動物が含まれる。非ヒト動物には、全ての脊椎動物、例えば、哺乳類及び非哺乳類（非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類など）が含まれる。特に断りのない限り、本明細書では用語「患者」と「対象」は入れ替わって使用される。

【0155】

本願では、「薬学的に許容される」という用語は、一般的に、有効成分の生物学的活性の有効性を妨げない1種以上の非毒性物質を指す。このような製剤は、一般的に、塩、緩衝剤、防腐剤、適合性のある担体、及び、任意に、他の治療剤を含んでもよい。このような薬学的に許容される製剤は、一般的に、ヒトへの投与に適する適合性のある固体若しくは液体の充填剤、希釈剤、又はカプセル化材料も含んでもよい。医薬的に使用される場合、塩は、薬学的に許容される塩であるべきだが、薬学的に許容されない塩も薬学的に許容される塩を調製するために都合よく使用でき、本発明の範囲から除外することはできない。このような薬理学的及び薬学的に許容される塩には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、クエン酸、ホウ酸、ギ酸、マロン酸、コハク酸などの酸から調製される塩が含まれるが、これらに限定されるものではない。薬理学的に許容される塩は、ナトリウム塩、カリウム塩、又はカルシウム塩などのアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩として調製されてもよい。用語「溶媒和物」は、本明細書では、従来の意味で、溶質（例えば、活性化合物、活性化合物の塩）と溶媒との複合体を指して使用される。溶媒和物は、一般的に、化合物の生理学的活性又は毒性を著しく変化させないため、薬理学的同等物として機能できる。溶媒が水である場合、溶媒化合物は、例えば、一水和物、二水和物、三水和物などの水和物と都合よく呼ばれることがある。

【0156】

本願では、任意の疾患又は障害の「治療」（「treat」「treating」又は「treatment」）という用語は、一般的に、一態様では、疾患又は障害を改善すること（即ち、疾患又はその臨床症状の少なくとも1種の進行を遅らせる、阻止する、又は軽減すること）を指す。別の態様では「治療」は、患者が認識できない可能性のあるものを含む少なくとも1種の物理的パラメータを軽減又は改善することを指す。さらに別の態様では、「治療」は、疾患又は障害を、物理的に（例えば、認識可能な症状の安定化）、生理学的に（例えば、物理的パラメータの安定化）、又はその両方で調整することを指す。さらに別の態様では、「治療」は、疾患又は障害の発症、進展、又は進行を予防する又は遅らせることを指す。

【0157】

本願では、「治療上許容される量」又は「治療上有効な用量」という用語は、所望の結果（即ち、腫瘍サイズの縮小、腫瘍の成長の抑制、転移の予防、ウイルス、細菌、真菌又は寄生虫感染の抑制又は予防）をもたらすのに十分な量を指して入れ替わって使用される。いくつかの態様では、治療上許容される量は、望ましくない副作用を誘発又は引き起こさない。治療上許容される量は、最初に低用量を投与し、その後、所望の効果が達成されるまでその用量を徐々に増加させることにより決定されてもよい。本開示の分子の「予防上有効な用量」及び「治療上有効な用量」は、がんに関連する症状を含む疾患の症状の発症をそれぞれ予防するか又は重症度を軽減することができる。

10

20

30

40

50

【0158】

本願では、「同時投与」という用語は、一般的に、個体の血液中に2種の活性薬剤が同時に存在することを指す。同時投与される活性薬剤は、同時に又は連続して送達されてもよい。

【0159】

本願では、「含み」「含む」「含有する」「有する」といった用語は、特に断りのない限り、「……含むが、これらに限定されるものではない」と解釈されるものとする。本発明を説明する文脈、特に添付の特許請求の範囲の文脈における「1つ」「一方」「当該」といった用語及び類似する指示対象は、特に断りのない限り、単数形と複数形の両方を含むと解釈されるものとする。あらゆる例又は例示的な言葉（「例えば」「など」）の使用は、単に本発明の態様又は実施形態を例示することを意図しており、特に主張されない限り、本発明の範囲を制限するものと解釈されるものではない。

10

【0160】

本願では、量、時間的持続時間などの測定可能な値を指す場合の「約」という用語は、開示された方法を実行するために適切であるため、指定された値から±20%、場合によっては±10%、場合によっては±5%、場合によっては±1%、場合によっては±0.1%の変動を包含することを意味する。

【0161】

（抗CDH6抗体）

本明細書では本発明の様々な実施形態を示しそれを記述しているが、当業者には、このような実施形態は例示としてのみ提供されていることは明らかである。当業者であれば、本発明から逸脱することなく、数多くの変化、変更、及び置き換えに想到できるであろう。本明細書に記述した本発明の実施形態の様々な代替を用いてもよいことは理解される。

20

【0162】

本発明の抗CDH6抗体は、いかなる生物種に由来するものであってもよい。好ましい生物種には、ヒト、サル、ラット、マウス、ウサギなどが含まれる。本発明の抗CDH6抗体がヒト以外の生物種に由来するものである場合には、熟知される技術により抗CDH6抗体をキメラ化又はヒト化することが好ましい。本発明の抗体は、ポリクローナル抗体であってもよく、又はモノクローナル抗体であってもよく、好ましくは、モノクローナル抗体である。

30

【0163】

本発明の抗CDH6抗体は、腫瘍細胞を標的とすることができる抗体である。具体的には、本発明の抗CDH6抗体は、腫瘍細胞を認識できる特性、腫瘍細胞に結合できる特性、及び／又は細胞取り込みにより腫瘍細胞に内在化される特性を有する。したがって、本発明の抗CDH6抗体は、リンカーを介して活性部位に結合されて免疫複合体を調製することができる（例えば、本発明の抗CDH6抗体は、リンカーを介して抗腫瘍活性を有する化合物に結合されて抗体薬物複合体を調製することができる）。

【0164】

抗CDH6抗体は、抗原となるポリペプチドを用いて当該分野で通常行われる方法により動物を免疫し、その生体内で生成される抗体を採取・精製することにより得てもよい。抗原の由来はヒトに限定されず、マウスやラットなどのヒト以外の動物に由来する抗原で動物を免疫してもよい。この場合に、異種抗原に結合する得られた抗体とヒト抗原との交差反応性を調べることにより、ヒトの疾患に適用可能な抗体を選択してもよい。

40

【0165】

さらに、当該抗原に対する抗体を生成する抗体生成細胞を、既知の方法（例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975), 256: 495-497、Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, 365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)）に従って骨髓腫細胞と融合させてハイブリドマを確立して、モノクローナル抗体を得てもよい。

【0166】

50

本発明で用いられる抗CDH6抗体は、特に限定されるものではない。例えば、本願の配列表に記載のアミノ酸配列で特定される抗体を好適に用いることができる。本発明で用いられる抗CDH6抗体は、(a) CDH6と特異的に結合する、及び(b) CDH6に結合することによりCDH6発現細胞に内在化される活性を有するという特性を有する抗体であることが望ましい。ここで、CDH6は、ヒトCDH6であってもよい。

【0167】

以下、CDH6に対する抗体を得る方法について具体的に記述する。

【0168】

(a) CDH6の細胞外領域(Ser 54-Ala 615)を免疫原(ACRO Biosystems、CA6-H5229)として使用し、免疫する動物(例えば、ラット又はマウス)に抗原を直接投与する。抗原の投与は、抗体価を高めるために必要であれば、1回又は複数回、好ましくは複数回実施してもよい。

(b) 免疫応答が誘導された前述の動物から抗体生成細胞を含む組織(例えば、リンパ節)を採取する。

(c) 骨髄腫細胞(以下、「骨髄腫」という)(例えば、マウス骨髄腫SP2/O-ag14細胞)を調製する。

(d) 抗体生成細胞と骨髄腫とを細胞融合させる。

(e) 目的抗体を生成するハイブリドーマ群を選択する。

(f) 単一細胞クローンに分裂させる(クローニング)。

(g) 任意に、モノクローナル抗体の大量生成のためのハイブリドーマを培養し又はハイブリドーマを接種した動物を繁殖する。及び/又は

(h) このようにして生成されたモノクローナル抗体の生理活性(内在化活性)及び結合特異性を研究し又は標識試薬としての抗体の特性を調べる。

【0169】

本発明で使用される抗体の力価を測定する方法の例としては、フローサイトメトリー、Cell-ELISAなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0170】

本明細書で定義される特定のCDR配列は、一般的にIMGT定義に基づく。ただし、特定の抗体の重鎖CDR又はCDR群及び/又は軽鎖CDR又はCDR群が言及される場合、当業者に知られている全てのCDR定義を包含するものと理解される。

【0171】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗CDH6抗体又は抗原結合断片は、本明細書に記載される抗体のいずれか1つのCDRを1つ、2つ、3つ、4つ、5つ及び/又は6つを含む。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗CDH6抗体又は抗原結合断片は表1中のVL CDRを1つ、2つ及び/又は3つ含むVLを含む。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗CDH6抗体又は抗原結合断片は表1中のVH CDRを1つ、2つ及び/又は3つ含むVHを含む。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗CDH6抗体又は抗原結合断片は表1中のVL CDRを1つ、2つ及び/又は3つと、表1中のVH CDRを1つ、2つ及び/又は3つ含む。

【0172】

いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片からのVL CDR1、VL CDR2、VL CDR3、VH CDR1、VH CDR2及び/又はVH CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又はその抗原結合断片は本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1~30個のアミノ酸の置換、付加及び/又は欠失を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1~25個のアミノ酸の置換、付加及び/又は欠失を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1~20個のアミノ酸の置換、付加及び/又は欠失を含む

10

20

30

40

50

。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1～15個のアミノ酸の置換、付加及び／又は欠失を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1～10個のアミノ酸の置換、付加及び／又は欠失を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1～5個のアミノ酸の置換、付加及び／又は欠失を含む。いくつかの実施形態では、抗CDH6抗体又は抗原結合断片の変異体は抗CDH6抗体又は抗原結合断片中の1～3個のアミノ酸の置換、付加及び／又は欠失を含む。いくつかの実施形態では、当該アミノ酸の置換、付加及び／又は欠失は保存的アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、当該保存的アミノ酸置換は抗体又は抗原結合断片のCDR内にある。いくつかの実施形態では、当該保存的アミノ酸置換は抗体又は抗原結合断片のCDR内にはない。いくつかの実施形態では、当該保存的アミノ酸置換は抗体又は抗原結合断片のフレームワーク領域内にある。

10

【0173】

いくつかの実施形態では、本明細書は、

a) (1) 配列番号2のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 (HCDR1)、(2) 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 (HCDR2)、若しくは(3) 配列番号4のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 (HCDR3)を含む重鎖可変領域(VH)、又は、当該HCDRにおいて最大約3個、最大約5個、最大約8個、最大約10個、最大約12個若しくは最大約15個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体、

20

及び／又はb) (1) 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 (LCDR1)、(2) 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 (LCDR2)、若しくは(3) 配列番号7のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3 (LCDR3)を含む軽鎖可変領域(VL)、又は、当該LCDRにおいて最大約3個、最大約5個、最大約8個、最大約10個、最大約12個若しくは最大約15個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体を含む、CDH6 (例えば、ヒトCDH6) に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0174】

いくつかの実施形態では、当該変異体は当該HCDRにおいて最大約5個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有し、及び／又は当該変異体は当該LCDRにおいて最大約5個のアミノ酸の置換、付加若しくは欠失を有する。

30

【0175】

いくつかの実施形態では、本明細書は、a) 配列番号18のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、若しくは100%の配列同一性を有するVH、及び／又はb) 配列番号23のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、若しくは100%の配列同一性を有するVLを含む、CDH6 (例えば、ヒトCDH6) に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

40

【0176】

いくつかの実施形態では、本明細書は、

a) (1) 配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 (HCDR1)、(2) 配列番号9のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 (HCDR2)、若しくは(3) 配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 (HCDR3)を含む重鎖可変領域(VH)、又は、当該HCDRにおいて最大約3個、最大約5個、最大約8個、最大約10個、最大

50

約 12 個若しくは最大約 15 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体、

及び／又は b) (1) 配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 (LCDR1)、(2) 配列番号 12 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 (LCDR2)、若しくは (3) 配列番号 13 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 (LCDR3) を含む軽鎖可変領域 (VL)、又は、当該 LCDR において最大約 3 個、最大約 5 個、最大約 8 個、最大約 10 個、最大約 12 個若しくは最大約 15 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体を含む、CDH6 (例えば、ヒト CDH6) に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0177】

10

いくつかの実施形態では、当該変異体は当該 HCDR において最大約 5 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有し、及び／又は当該変異体は当該 LCDR において最大約 5 個のアミノ酸の置換、付加若しくは欠失を有する。

【0178】

いくつかの実施形態では、本明細書は、a) 配列番号 41 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、若しくは 100% の配列同一性を有する VH、及び／又は b) 配列番号 46 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、若しくは 100% の配列同一性を有する VL を含む、CDH6 (例えば、ヒト CDH6) に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

20

【0179】

いくつかの実施形態では、本明細書は、

a) (1) 配列番号 89 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 (HCDR1)、(2) 配列番号 90 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 (HCDR2)、若しくは (3) 配列番号 91 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 (HCDR3) を含む重鎖可変領域 (VH)、又は、当該 HCDR において最大約 3 個、最大約 5 個、最大約 8 個、最大約 10 個、最大約 12 個若しくは最大約 15 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体、

30

及び／又は b) (1) 配列番号 92 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 (LCDR1)、(2) 配列番号 93 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 (LCDR2)、若しくは (3) 配列番号 94 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 (LCDR3) を含む軽鎖可変領域 (VL)、又は、当該 LCDR において最大約 3 個、最大約 5 個、最大約 8 個、最大約 10 個、最大約 12 個若しくは最大約 15 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体を含む、CDH6 (例えば、ヒト CDH6) に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

40

【0180】

いくつかの実施形態では、当該変異体は当該 HCDR において最大約 5 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有し、及び／又は当該変異体は当該 LCDR において最大約 5 個のアミノ酸の置換、付加若しくは欠失を有する。

【0181】

いくつかの実施形態では、本明細書は、a) 配列番号 95 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、若しくは 100% の配列同一性を有する VH、及び／又は b)

50

）配列番号 96 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する V L を含む、C D H 6（例えば、ヒト C D H 6）に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0182】

いくつかの実施形態では、本明細書は、

a）（1）配列番号 97 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1（H C D R 1）、（2）配列番号 98 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2（H C D R 2）、若しくは（3）配列番号 99 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3（H C D R 3）を含む重鎖可変領域（V H）、又は、当該 H C D R において最大約 3 個、最大約 5 個、最大約 8 個、最大約 10 個、最大約 12 個若しくは最大約 15 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体、

及び／又は b）（1）配列番号 100 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1（L C D R 1）、（2）配列番号 101 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2（L C D R 2）、若しくは（3）配列番号 102 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3（L C D R 3）を含む軽鎖可変領域（V L）、又は、当該 L C D R において最大約 3 個、最大約 5 個、最大約 8 個、最大約 10 個、最大約 12 個若しくは最大約 15 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有するその変異体を含む、C D H 6（例えば、ヒト C D H 6）に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0183】

いくつかの実施形態では、当該変異体は当該 H C D R において最大約 5 個のアミノ酸の置換、付加及び／若しくは欠失を有し、及び／又は当該変異体は当該 L C D R において最大約 5 個のアミノ酸の置換、付加若しくは欠失を有する。

【0184】

いくつかの実施形態では、本明細書は、a）配列番号 103 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する V H、及び／又は b）配列番号 104 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85 %、少なくとも 86 %、少なくとも 87 %、少なくとも 88 %、少なくとも 89 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する V L を含む、C D H 6（例えば、ヒト C D H 6）に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0185】

このようにして確立されたハイブリドーマ株としては、抗 C D H 6 抗体生成ハイブリドーマ 707 及び 463 が挙げられる。なお、本明細書では、抗 C D H 6 抗体生成ハイブリドーマ 707 により生成される抗体を「707 抗体」又は単に「707」と称し、ハイブリドーマ 463 により生成される抗体を「463 抗体」又は単に「463」と称し、ハイブリドーマ 066 により生成される抗体を「066 抗体」又は単に「066」と称し、ハイブリドーマ 439 により生成される抗体を「439 抗体」又は単に「439」と称する。

【0186】

当該 707 抗体の重鎖可変領域は、配列番号 2 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 1、配列番号 3 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 2、配列番号 4 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 3 を有する。当該 707 抗体の軽鎖可変領域は、配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含む L

C D R 2、配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を有する。

【 0 1 8 7 】

さらに、当該 7 0 7 抗体の重鎖可変領域は配列番号 1 8 で示されるアミノ酸配列からなる。当該 7 0 7 抗体の軽鎖可変領域は配列番号 2 3 で示されるアミノ酸配列からなる。

【 0 1 8 8 】

当該 4 6 3 抗体の重鎖可変領域は、配列番号 8 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 1、配列番号 9 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 2、配列番号 1 0 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 3 を有する。当該 4 6 3 抗体の軽鎖可変領域は、配列番号 1 1 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 1 2 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、配列番号 1 3 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を有する。

10

【 0 1 8 9 】

さらに、当該 4 6 3 抗体の重鎖可変領域は配列番号 4 1 で示されるアミノ酸配列からなる。4 6 3 抗体の軽鎖可変領域は配列番号 4 6 で示されるアミノ酸配列からなる。

【 0 1 9 0 】

当該 0 6 6 抗体の重鎖可変領域は、配列番号 8 9 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 1、配列番号 9 0 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 2、配列番号 9 1 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 3 を有する。当該 0 6 6 抗体の軽鎖可変領域は、配列番号 9 2 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 9 3 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、配列番号 9 4 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を有する。

20

【 0 1 9 1 】

さらに、当該 0 6 6 抗体の重鎖可変領域は配列番号 9 5 で示されるアミノ酸配列からなる。当該 0 6 6 抗体の軽鎖可変領域は配列番号 9 6 で示されるアミノ酸配列からなる。

【 0 1 9 2 】

当該 4 3 9 抗体の重鎖可変領域は、配列番号 9 7 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 1、配列番号 9 8 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 2、配列番号 9 9 で示されるアミノ酸配列からなる H C D R 3 を有する。当該 4 3 9 抗体の軽鎖可変領域は、配列番号 1 0 0 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 1 0 1 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、配列番号 1 0 2 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を有する。

【 0 1 9 3 】

さらに、当該 4 3 9 抗体の重鎖可変領域は配列番号 1 0 3 で示されるアミノ酸配列からなる。当該 4 3 9 抗体の軽鎖可変領域は配列番号 1 0 4 で示されるアミノ酸配列からなる。

30

【 0 1 9 4 】

(その他の抗体)

本発明の抗体には、上記の C D H 6 に対するモノクローナル抗体に加え、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体など、ヒトに対する異種抗原性を低減する目的で人為的に修飾された遺伝子組み換え抗体も含まれ、これらの抗体は、知られている方法で生成してもよい。

【 0 1 9 5 】

いくつかの実施形態では、抗 C D H 6 抗体又は抗原結合断片は、ヒト抗体又は抗原結合断片である。ヒト抗体は、当分野で既知の様々な技術を用いて製造してもよい。いくつかの実施形態では、ヒト抗体は、インビトロで免疫された不死化ヒト B リンパ球から産生される。いくつかの実施形態では、ヒト抗体は、免疫された個体から分離されたリンパ球から産生される。いずれの場合も、標的抗原に対する抗体を生成する細胞を産生及び分離することができる。いくつかの実施形態では、ヒト抗体は、ヒト抗体を発現するファージライブラリから選ばれる。あるいは、ファージディスプレイ技術を利用して、免疫されていないドナーからの免疫グロブリン可変領域遺伝子レパートリーから、インビトロでヒト抗体及び抗体断片を生成してもよい。抗体ファージライブラリの産生及び使用のための技術は当分野でよく知られている。抗体が同定されると、鎖シャッフル及び部位特異的変異誘発を含むがこれらに限定されない、当分野で既知の親和性成熟ストラテジーを利用して、

40

50

より親和性の高いヒト抗体を産生することができる。いくつかの実施形態では、ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を含む遺伝子導入マウスで生成される。これらのマウスは、免疫化されると、内因性免疫グロブリンの生成がなくても、ヒト抗体の完全なレパートリーを生成することができる。

【0196】

キメラ抗体の例としては、可変領域と定常領域が互いに異種である抗体、例えば、マウス又はラットに由来する抗体の可変領域をヒトに由来する定常領域に結合させてなるキメラ抗体が挙げられる (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:6851-6855, 1984を参照する)。

【0197】

マウス抗ヒトCDH6抗体に由来するキメラ抗体の例としては、本明細書に記述されている各マウス抗ヒトCDH6抗体 (例えば、707抗体、又は463抗体) の軽鎖可変領域とヒト由来定常領域とを含む軽鎖と、重鎖可変領域とヒト由来定常領域とを含む重鎖とからなる抗体が挙げられる。

【0198】

マウス抗ヒトCDH6抗体に由来するキメラ抗体の他の例としては、本明細書に記述されている各マウス抗ヒトCDH6抗体 (例えば、707抗体又は463抗体) の軽鎖可変領域中のアミノ酸の1個～数個の残基、1個～3個の残基、1個又は2個の残基、好ましくは1個の残基が他のアミノ酸残基に置換された軽鎖可変領域を含む軽鎖と、重鎖可変領域中のアミノ酸の1個～数個の残基、1個～3個の残基、1個又は2個の残基、好ましくは1個の残基が他のアミノ酸残基に置換された重鎖可変領域を含む重鎖とからなる抗体が挙げられる。当該抗体は、任意の所定のヒト由来定常領域を有してもよい。

【0199】

マウス抗ヒトCDH6抗体に由来するキメラ抗体の他の例としては、本明細書に記述されている各マウス抗ヒトCDH6抗体 (例えば、707抗体又は463抗体) の軽鎖可変領域中のいずれか1つ～3つのCDR中のアミノ酸の1個又は2個の残基、好ましくは1個の残基が他のアミノ酸残基に置換された軽鎖可変領域を含む軽鎖と、重鎖可変領域中のいずれか1つ～3つのCDR中のアミノ酸の1個又は2個の残基、好ましくは1個の残基が他のアミノ酸残基に置換された重鎖可変領域を含む重鎖とからなる抗体が挙げられる。当該抗体は、任意の所定のヒト由来定常領域を有してもよい。

【0200】

抗体の定常領域はいくつかのエフェクター機能を媒介し、これらのエフェクター機能は抗体のアイソタイプによって異なることが当分野で知られている。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgA抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgD抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgE抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgG抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgM抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgG1抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgG2抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgG3抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CDH6抗体又は抗原結合断片はヒトIgG4抗体の少なくとも1つの定常領域を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域はヒンジを介して融合される。当該ヒンジは、IgG1ヒンジ、IgG2ヒンジ又はIgG3ヒンジであってもよい。ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4のFc領域のアミノ酸配列は当業者に知られている。場合によっては、アミノ酸変

10

20

30

40

50

異を有する F c 領域が天然抗体において同定されている。

【0201】

707 抗体由来のキメラ抗体の例としては、配列番号 18 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む重鎖と、配列番号 23 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む軽鎖とからなる抗体が挙げられる。当該抗体は、任意の所定のヒト由来定常領域を有してもよい。任意に、当該重鎖定常領域は、ヒト Ig G 1 定常領域であってもよく、当該軽鎖定常領域は、ヒト Ig κ 定常領域であってもよい。

【0202】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号 72 で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号 73 で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該キメラ抗体は Ch069707 と命名される。

10

【0203】

463 抗体由来のキメラ抗体の例としては、配列番号 41 で示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む重鎖と、配列番号 46 で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む軽鎖とからなる抗体が挙げられる。当該抗体は、任意の所定のヒト由来定常領域を有してもよい。任意に、当該重鎖定常領域は、ヒト Ig G 1 定常領域（配列番号 70）であってもよく、当該軽鎖定常領域は、ヒト Ig κ 定常領域（配列番号 71）であってもよい。

【0204】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号 80 で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号 81 で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該キメラ抗体は Ch069463 と命名される。

20

【0205】

当該ヒト化抗体の例としては、ヒト由来抗体に相補性決定領域（CDR）のみを組み込んでなる抗体（Nature（1986），321，p. 522-525を参照する）、CDR グラフティング法により一部のフレームワークのアミノ酸残基と CDR 配列とをヒト抗体に組み込んでなる抗体（国際公開第 WO 90/07861 号）、抗原結合能を維持させながら一部の CDR のアミノ酸配列を修飾してなる抗体が挙げられる。

【0206】

本明細書では、707 抗体、Ch069707 抗体、463 抗体又は Ch069463 抗体由来のヒト化抗体は、707 抗体、Ch069707 抗体、463 抗体又は Ch069463 抗体に特有の 6 つの CDR 配列を全て保持し、かつ、内在化活性を有するものでさえあれば、特定のヒト化抗体に限定されない。当該ヒト化抗体の一部の CDR のアミノ酸配列は、内在化活性を有するものでさえあれば、さらに修飾されていてもよい。

30

【0207】

当該 Ch069707 抗体のヒト化抗体の具体例としては、（1）配列番号 66 で示されるアミノ酸配列、（2）前記アミノ酸配列（1）に対して少なくとも 95% 以上の同一性を有するアミノ酸配列（好ましくは、各 CDR 配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも 95% 以上の配列同一性を有するアミノ酸配列）、（3）前記アミノ酸配列（1）中の 1 個又は数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加を含むアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖と、（4）配列番号 68 で示されるアミノ酸配列、（5）前記アミノ酸配列（4）に対して少なくとも 95% 以上の同一性を有するアミノ酸配列（好ましくは、各 CDR 配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも 95% 以上の配列同一性を有するアミノ酸配列）、（6）前記アミノ酸配列（4）中の 1 個又は数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加を含むアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖との任意の所定の組み合わせが挙げられる。任意に、当該重鎖定常領域は、ヒト Ig G 1 定常領域（配列番号 70）であってもよく、当該軽鎖定常領域は、ヒト Ig κ 定常領域（配列番号 71）であってもよく、特定のヒト化抗体は、以下にさらに記述されるように、それぞれ、CL069707-H1L1、CL069707-H1L2、CL069

40

50

707-H2L1、及びC L 069707-H2L2と命名される。

【0208】

いくつかの実施形態では、当該重鎖は、配列番号85で示されるアミノ酸配列又は配列番号85に対して少なくとも95%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は、配列番号86で示されるアミノ酸配列又は配列番号86に対して少なくとも95%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含んでもよい。

【0209】

いくつかの実施形態では、当該C h 069707抗体のヒト化抗体は、配列番号27及び29で示されるアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖と、配列番号34及び36で示されるアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖との任意の所定の組み合わせを含んでもよい。

10

【0210】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号74で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号76で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L 069707-H1L1と命名される。

【0211】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号74で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号77で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L 069707-H1L2と命名される。

20

【0212】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号75で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号76で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L 069707-H2L1と命名される。

【0213】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号75で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号77で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L 069707-H2L2と命名される。

【0214】

当該C h 069463抗体のヒト化抗体の具体例としては、(1)配列番号67で示されるアミノ酸配列、(2)前記アミノ酸配列(1)に対して少なくとも95%以上の同一性を有するアミノ酸配列(好ましくは、各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも95%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列)、(3)前記アミノ酸配列(1)中の1個又は数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加を含むアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖と、(4)配列番号69で示されるアミノ酸配列、(5)前記アミノ酸配列(4)に対して少なくとも95%以上の同一性を有するアミノ酸配列(好ましくは、各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも95%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列)、(6)前記アミノ酸配列(4)中の1個又は数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加を含むアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖との任意の所定の組み合わせが挙げられる。任意に、当該重鎖定常領域は、ヒトIgG1定常領域(配列番号70)であってもよく、当該軽鎖定常領域は、ヒトIgκ定常領域(配列番号71)であってもよく、当該ヒト化抗体は、C L 069463-H1L1、C L 069463-H1L2、C L 069463-H1L3、C L 069463-H2L1、C L 069463-H2L2、及びC L 069463-H2L3と命名される。

30

40

【0215】

いくつかの実施形態では、当該C h 069463抗体のヒト化抗体は、配列番号51及び54で示されるアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖と、配列番号58、63及び65で示されるアミノ酸配列からなる群から選ばれるいずれかのアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖との任意の所

50

定の組み合わせを含んでもよい。

【0216】

いくつかの実施形態では、当該重鎖は、配列番号87で示されるアミノ酸配列又は配列番号87に対して少なくとも95%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は、配列番号88で示されるアミノ酸配列又は配列番号88に対して少なくとも95%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含んでもよい。

【0217】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号78で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号82で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L O 6 9 4 6 3 - H 1 L 1と命名される。

10

【0218】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号78で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号83で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L O 6 9 4 6 3 - H 1 L 2と命名される。

【0219】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号78で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号84で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L O 6 9 4 6 3 - H 1 L 3と命名される。

【0220】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号79で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号82で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L O 6 9 4 6 3 - H 2 L 1と命名される。

20

【0221】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号79で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号83で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L O 6 9 4 6 3 - H 2 L 2と命名される。

【0222】

一実施形態では、当該重鎖は配列番号79で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該軽鎖は配列番号84で示されるアミノ酸配列を含んでもよく、当該ヒト化抗体はC L O 6 9 4 6 3 - H 2 L 3と命名される。

30

40

50

【表 2 - 1】

表 1 : マウス抗体、キメラ抗体及びヒト化抗体の配列

番号	説明	配列
1	CL069707 HCDR1;CL069463 HCDR1;Ch069707 HCDR1;Ch069463 HCDR1;	GFTF[NT]TYA
2	CL069707 HCDR1;Ch069707 HCDR1;	GFTFTTYA
3	CL069707 HCDR2;Ch069707 HCDR2;	IRIKNNNYAT
4	CL069707 HCDR3;Ch069707 HCDR3;	VRPDYGNYG LAY
5	CL069707 LCDR1;Ch069707 LCDR1;	SSISSHY
6	CL069707 LCDR2;Ch069707 LCDR2;	RSF
7	CL069707 LCDR3;Ch069707 LCDR3;	QQDIVPLT
8	CL069463 HCDR1;Ch069463 HCDR1;	GFTFNTYA
9	CL069463 HCDR2;Ch069463 HCDR2;	IKSKNKDYET
10	CL069463 HCDR3;Ch069463 HCDR3;	VRQNWNYFDY
11	CL069463 LCDR1;Ch069463 LCDR1;	ENIYYS
12	CL069463 LCDR2;Ch069463 LCDR2;	NAN
13	CL069463 LCDR3;Ch069463 LCDR3;	QQAYDVPPT
14	CL069707 HFR1;Ch069707 HFR1;	EVHLVESGGGLVQPKGSLKLSCVAS
15	CL069707 HFR2;Ch069707 HFR2;CL069707-H1 HFR2	MNWVRQAPGKGLEWVAR

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

16	CL069707 HFR3;Ch069707 HFR3	YYADSVTDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYC
17	CL069707 HFR4;Ch069707 HFR4	WGQGLTVTVSA
18	CL069707 VH;Ch069707 VH	EVHLVESGGGLVQPKGSLKLSCVASGFTFTTYAMNWVRQAPGK GLEWVARIRIKNNNYATYYADSVTDRFTISRDDSQSMLYLQMN NLKTEDTAMYYCVRPDYGNYGLEYWGQGLTVTVSA
19	CL069707 LFR1;Ch069707 LFR1	EIVLTQSPTTMAASPGEKITITCSAS
20	CL069707 LFR2;Ch069707 LFR2	LHWYQQKPGFSPKLLIY
21	CL069707 LFR3;Ch069707 LFR3	YLASGVPLRFTGSGSGTSYSLTIGTMEAEDVATYYC
22	CL069707 LFR4;Ch069707 LFR4	FGAGTKLELK
23	CL069707 VL;Ch069707 VL	EIVLTQSPTTMAASPGEKITITCSASSSISSHYLHWYQQKPGF SPKLLIYRSFYLASGVPLRFTGSGSGTSYSLTIGTMEAEDVAT YYCQQDIVPLTFGAGTKLELK
24	CL069707-H1 HFR1;CL069707-H2 HFR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
25	CL069707-H1 HFR3;CL069707-H2 HFR3	YYADSVTDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC
26	CL069707-H1 HFR4;CL069707-H2 HFR4;CL069463-H2 HFR4	WGQGLTVTVSS
27	CL069707-H1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTYAMNWVRQAPGK GLEWVARIRIKNNNYATYYADSVTDRFTISRDDSKNSLYLQMN SLKTEDTAVYYCVRPDYGNYGLEYWGQGLTVTVSS
28	CL069707-H2 HFR2	MNWVRQAPGKGLEWVGR
29	CL069707-H2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTYAMNWVRQAPGK GLEWVGRIRIKNNNYATYYADSVTDRFTISRDDSKNSLYLQMN SLKTEDTAVYYCVRPDYGNYGLEYWGQGLTVTVSS
30	CL069707-L1 LFR1;CL069707-L2 LFR1	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSAS
31	CL069707-L1 LFR2;CL069707-L2 LFR2	LHWYQQKPGKSPKLLIY
32	CL069707-L1 LFR3	YLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
33	CL069707-L1 LFR4;CL069707-L2 LFR4	FGQGTKLEIK

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

34	CL069707-L1 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHYLHWYQQKPGK SPKLLIYRSFYLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQDIVPLTFGQGTKLEIK
35	CL069707-L2 LFR3	YLASGVPLRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
36	CL069707-L2 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHYLHWYQQKPGK SPKLLIYRSFYLASGVPLRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQDIVPLTFGQGTKLEIK
37	CL069463 HFR1;Ch069463 HFR1;	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAAS
38	CL069463 HFR2;Ch069463 HFR2;CL069463-H2 HFR2	LTWVRQAPGKGLEWVGR
39	CL069463 HFR3;Ch069463 HFR3	YYADSVKDRFTISRNDQSLLYLQMNNLKTEDTAIYYC
40	CL069463 HFR4;Ch069463 HFR4	WGQGTTLTVSS
41	CL069463 VH;Ch069463 VH	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYALTWVRQAPGK GLEWVGRIKSKNKDYETYADSVKDRFTISRNDQSLLYLQMN NLKTEDTAIYYCVRQNWNYFDYWGQGTTLTVSS
42	CL069463 LFR1;Ch069463 LFR1	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRAS
43	CL069463 LFR2;Ch069463 LFR2	LAWYQQRQGKSPQLLIY
44	CL069463 LFR3;Ch069463 LFR3	SLKDGVPSPRFSGSGSGTQYSMKINSMQPEDTATYFC
45	CL069463 LFR4;Ch069463 LFR4 CL069463-L1 LFR4	FGGGTKLEIK
46	CL069463 VL;Ch069463 VL	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQRQGS PQLLIYNANSLKDGVPSPRFSGSGSGTQYSMKINSMQPEDTATY FCQQAYDVPPTFGGGTKLEIK
47	CL069463-H1 HFR1	EVQLVESGGGLVQPSGSLKLSCAAS
48	CL069463-H1 HFR2	LTWVRQASGKGLEWVGR
49	CL069463-H1 HFR3	YYADSVKDRFTISRDDSIISTLYLQMNLSLKTEDTALYYC
50	CL069463-H1 HFR4	WGQGTMLTVSS
51	CL069463-H1 VH	EVQLVESGGGLVQPSGSLKLSCAASGFTFNTYALTWVRQASGK GLEWVGRIKSKNKDYETYADSVKDRFTISRDDSIISTLYLQMN SLKTEDTALYYCVRQNWNYFDYWGQGTMLTVSS
52	CL069463-H2 HFR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
53	CL069463-H2 HFR3	YYADSVKDRFTISRDDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYYC
54	CL069463-H2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYALTWVRQAPGK GLEWVGRIKSKNKDYETYADSVKDRFTISRDDSKNTLYLQMN SLKTEDTAVYYCVRQNWNYFDYWGQGTMLTVSS
55	CL069463-L1 LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGQRTITCRAS

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

56	CL069463-L1 LFR2	LAWYQQKPGKPPRLLIY
57	CL069463-L1 LFR3	SLKDGVPSPRFSGSGSGTQYTMITISMQPEDFATYYC
58	CL069463-L1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGQRVTITCRASENIYYSLAWYQQKPGKP PRLLIYNANSLKDGVPSPRFSGSGSGTQYTMITISMQPEDFATY YCQQAYDVPPTFGGGTKLEIK
59	CL069463-L2 LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS
60	CL069463-L2 LFR2;CL069463-L3 LFR2	LAWYQQKPGKAPKLLIY
61	CL069463-L2 LFR3;CL069463-L3 LFR3	SLKDGVPSPRFSGSGSGTDYTMITISSMQPEDFATYYC
62	CL069463-L2 LFR4;CL069463-L3 LFR4	FGGGTKVEIK
63	CL069463-L2 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYYSLAWYQQKPGKA PKLLIYNANSLKDGVPSPRFSGSGSGTDYTMITISSMQPEDFATY YCQQAYDVPPTFGGGTKVEIK
64	CL069463-L3 LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGERVTITCRAS
65	CL069463-L3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGERVTITCRASENIYYSLAWYQQKPGKA PKLLIYNANSLKDGVPSPRFSGSGSGTDYTMITISSMQPEDFATY YCQQAYDVPPTFGGGTKVEIK
66	CL069707-H1 VH;CL069707-H2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTYAMNWVRQAPGK GLEWV[AG]RIRIKNNYATYYADSVTDRTISRDDS[IK] QMNSLKTEDTAVYYCVRPDYGNGLAYWGQGLTVTVSS
67	CL069463-H1 VH;CL069463-H2 VH	EVQLVESGGGLVQP[GS]GSLKLSAASGFTFTTYALTWVRQA [PS]GKLEWVGRIKSKNKDYETYYADSVKDRFTISRDDS[IK] [NS]TLYLQMNSLKTEDTA[LV]YYCVRQNNWYFDYWGQGT[LM][LV]TVSS
68	CL069707-L1 VL;CL069707-L2 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSISSHYLHWYQQKPGK SPKLLIYRSFYLASGVP[LS]RFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQDIVPLTFGGGTKEIK
69	CL069463-L1 VL;CL069463-L2 VL;CL069463-L3 VL	DIQMTQSPSSLSASVG[DEQ]RVTITCRASENIYYSLAWYQQK PGK[AP]P[KR]LLIYNANSLKDGVPSPRFSGSGSGT[DQ]YTM TI[ST]SMQPEDFATYYCQQAYDVPPTFGGGTK[LV]EIK
70	重鎖定常領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
71	軽鎖定常領域	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
72	Ch069707 HC	EVHLVESGGGLVQPGSLKLSCLVASGFTFTTYAMNWVRQAPGK GLEWVARIRIKNNYATYYADSVTDRTISRDDSQSMYLYLMN NLKTEDTAMYYCVRPDYGNGLAYWGQGLTVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKV

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

		DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
73	Ch069707 LC	EIVLTQSPSTMAASPGKITITCSASSSISSHYLHWYQQKPGF SPKLLIYRSFYLASGVPLRFTGSGSGTSYSLTIGTMEAEDVAT YYCQQDIVPLTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
74	CL069707-H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTYAMNWRQAPGK GLEWVARIRIKNNNYATYYADSVTRFTISRDDSKNSLYLQMN SLKTEDTAVYYCVRPDYGNVGLAYWGQGTLLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
75	CL069707-H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTYAMNWRQAPGK GLEWVGRIKNNNYATYYADSVTRFTISRDDSKNSLYLQMN SLKTEDTAVYYCVRPDYGNVGLAYWGQGTLLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
76	CL069707-L1	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHYLHWYQQKPGK SPKLLIYRSFYLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQDIVPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
77	CL069707-L2	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHYLHWYQQKPGK SPKLLIYRSFYLASGVPLRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQDIVPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
78	CL069463-H1	EVQLVESGGGLVQPSGSLKLSCAASGFTFNTYALTWVRQASGK GLEWVGRIKSKNDYETYYADSVKDRFTISRDDSIISTLYLQMN SLKTEDTALYYCVRQNWNYFDYWGQGTMLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

10

20

30

40

50

【表 2 - 6】

		QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK
79	CL069463-H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYALTWVRQAPGK GLEWVGRIKSKNKDYETYYADSVKDRFTISRDDSKNTLYLQMN SLKTEDTAVYYCVRQNWNYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK
80	Ch069463 HC	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYALTWVRQAPGK GLEWVGRIKSKNKDYETYYADSVKDRFTISRNDSSQLLYLQMN NLKTEDTAIYYCVRQNWNYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK
81	Ch069463 LC	DIQMTQSPASLAASVGETVITCRASENIYYSLAWYQQRQGS PQLLIYNANSLKDGVPSPRFGSGSGTQYSMKINSMQPEDTATY FCQQAYDVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
82	CL069463-L1	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASENIYYSLAWYQQKPGKP PRLLIYNANSLKDGVPSPRFGSGSGTQYTMITSMQPEDFATY YCQQAYDVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	CL069463-L2	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASENIYYSLAWYQQKPGKA PKLLIYNANSLKDGVPSPRFGSGSGTDYTMITISSMQPEDFATY YCQQAYDVPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	CL069463-L3	DIQMTQSPSSLSASVGERVTITCRASENIYYSLAWYQQKPGKA PKLLIYNANSLKDGVPSPRFGSGSGTDYTMITISSMQPEDFATY YCQQAYDVPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
85	CL069707-H1; CL069707-H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFTTYAMNWVRQAPGK GLEWV[AG]RIRIKNNYATYYADSVTDRFTISRDDSKNSLYL QMNSLKTEDTAVYYCVRPDYGNGLAYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

10

20

30

40

【表 2 - 7】

		WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
86	CL069707- L1;CL069707-L2	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHYLHWYQQKPGK SPKLLIYRSFYLASGVP[LS]RFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQDIVPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
87	CL069463- H1;CL069463-H2	EVQLVESGGGLVQP[GS]GSLKLSCAASGFTFNTYALTWVRQA [PS]GKGLEWVGRIKSKNKDYETYADSVKDRFTISRDDS[IK][NS]TLYLQMNSLKTEDTA[LV]YYCVRQNWNYFDYWGQGT[LM][LV]TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
88	CL069463- L3;CL069463- L2;CL069463-L1	DIQMTQSPSSLSASVG[DEQ]RVTITCRASENIYYSLAWYQQK PGK[AP]P[KR]LLIYNANSLKDGVPSPRFSGSGSGT[DQ]YTM TI[ST]SMQPEDFATYYCQQAYDVPPTFGGGTK[LV]EIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
89	CL069066 HCDR1;Ch069066 HCDR1	GFDFSRYW
90	CL069066 HCDR2;Ch069066 HCDR2	INPDSSTI
91	CL069066 HCDR3;Ch069066 HCDR3	TRRPHYGYFDS
92	CL069066 LCDR1;Ch069066 LCDR1	ESVEYYGTTL
93	CL069066 LCDR2;Ch069066 LCDR2	AGS
94	CL069066 LCDR3;Ch069066 LCDR3	QQSRKVPWT
95	CL069066 VH;Ch069066 VH	EVKLLSEGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMTWVRQAPGK GLEWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMNKV TSEDALYYCTRRPHYGYFDSWGQGTTLTVSS
96	CL069066 VL;Ch069066 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTTLMQWYQQK PGQPPQLLIYAGSNVESGVPARFSGSGSGTEFSLNIHPVEEDD IGMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
97	CL069439 HCDR1;Ch069439 HCDR1	GYSFTGY

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

98	CL069439 HCDR2;Ch069439 HCDR2	ISCFNGDT
99	CL069439 HCDR3;Ch069439 HCDR3	VRGRYGNFNYFDY
100	CL069439 LCDR1;Ch069439 LCDR1	ESVEFYGTSL
101	CL069439 LCDR2;Ch069439 LCDR2	ATS
102	CL069439 LCDR3;Ch069439 LCDR3	QQSRRIPT
103	CL069439 VH;Ch069439 VH	EVQLQQSGTELVRTGASVKISKASGYSFTGYIHWIKQSHGE SLEWIGYISCFNGDTSYNQNFKDRATFNVDTSSTAYMQFISL TSEDSAVYYCVRGRYGNFNYFDYWGQGTTTLTVSS
104	CL069439 VL;Ch069439 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEFYGTSLMQWFQK PGHPPQLLIYATSNVDSGVPARFSASGSGTDFSLNIHPVEEAD IAMYFCQQSRRIPWTFGGGTKLEIK
105	H01L02 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRNFMHWRQAPGQ GLEWMGWIYPGDGETEYAKKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCARGVYGGFAGGYFDWGGGTLTVTVSS
106	H01L02 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNIYKNLAWYQKPGKA PKLLIYDANTLQGTGVPSPRFSGSGSGSDFTLTISLQPEDFATY FCQQYYSGWAFGGGTKVEIK

10

20

【0223】

本明細書におけるアミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換であることが好ましい。当該保存的アミノ酸置換は、特定のアミノ酸側鎖に関連するアミノ酸群内で起きる置換である。好ましいアミノ酸群は次のとおりである。酸性群＝アスパラギン酸及びグルタミン酸、塩基性群＝リシン、アルギニン及びヒスチジン、非極性群＝アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン及びトリプトファン、それに、非荷電極性ファミリー＝グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン及びチロシン。その他の好ましいアミノ酸群は次のとおりである。脂肪族ヒドロキシ群＝セリン及びトレオニン、アミド含有群＝アスパラギン及びグルタミン、脂肪族群＝アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン、それに、芳香族群＝フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン。アミノ酸置換は、元のアミノ酸配列を有する物質の特性を損なわずに行うことが好ましい。

30

【0224】

上記の重鎖アミノ酸配列及び軽鎖アミノ酸配列に対して高い同一性を示す配列を組み合わせることにより、上記の各抗体と同等の生物学的活性を有する抗体を選ぶことが可能である。このような同一性は、一般的に80%以上、好ましくは90%以上、より好ましくは95%以上、最も好ましくは99%以上の同一性である。また、重鎖又は軽鎖のアミノ酸配列に対して、1つ又は数個のアミノ酸残基の置換、欠失又は付加を含む重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列を組み合わせることによっても、上記の各抗体と同等の生物学的活性を有する抗体を選ぶことが可能である。

40

【0225】

当該抗CDH6ヒト抗体は、遺伝子組み換え技術により、このようなヒト抗体の重鎖及び軽鎖のそれぞれをコードするcDNA、又は好ましくはcDNAを含むベクターで真核

50

細胞を形質転換し、次に、遺伝子修飾ヒトモノクローナル抗体を生成する形質転換細胞を培養し、培養上清から当該抗体を得ることにより得てもよい。この場合に、真核細胞、好ましくは、CHO細胞、リンパ球、又は骨髓腫などの哺乳動物細胞を、例えば、宿主として使用してもよい。

【0226】

さらに、ヒト抗体ライブラリーから選ばれたファージディスプレイ由来ヒト抗体を得る方法 (Wormstone, I. M. et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science* (2002), 43 (7): p. 2301-2308、Carmen, S. et al., *Briefings in Functional Genomics and Proteomics* (2002), 1 (2): p. 189-203、Siriwardena, D. et al., *Ophthalmology* (2002), 109 (3): p. 427-431などを参照する) も知られている。

【0227】

(免疫複合体)

本願の抗CDH6抗体は活性部分に結合することができ、当該活性部分は薬物部分及び／又は標識を含んでもよい。

【0228】

いくつかの実施形態では、当該薬物部分は細胞傷害性薬物、サイトカイン、核酸、核酸関連分子、放射性核種、ケモカイン、免疫(共)刺激分子、免疫抑制分子、デスリガンド、アポトーシス誘導タンパク質、キナーゼ、プロドラッグ変換酵素、リボヌクレアーゼ、アゴニスト抗体又は抗体断片、アンタゴニスト抗体又は抗体断片、成長因子、ホルモン、凝固因子、線維素溶解タンパク質、これらを模倣したペプチド、及びそれらの断片、融合タンパク質又は誘導体からなる群から選ばれる。

【0229】

いくつかの実施形態では、当該標識は放射性標識、発蛍光団、発色団、造影剤及び金属イオンからなる群から選ばれる。

【0230】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物は微小管阻害剤及び／又はDNA損傷剤を含む。

【0231】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物は、パクリタキセル (Paclitaxel); サイトカラシンB (cytochalasin B); ショートバクテリオシンD (short bacteriocin D); 臭化エチジウム (ethidium bromide); エメチン (emetine); マイトマイシン (mitomycin); エトポシド (etoposide); オニコチオシド (onychothioside); チエノシド (thienoside); ビンクリスチン (vincristine); コルヒチン (colchicine); ドキソルビシン (doxorubicin); エリスロマイシン (erythromycin); ジヒドロキシカルバマイシンジオン (dihydroxycarbamycin dione); チューブリン阻害剤; ミトキサントロン (mitoxantrone); アクチノマイシンD (actinomycin D); 1-デヒドロテストステロン (1-dehydrotestosterone); 糖質コルチコイド (glucocorticoid); プロカイン (procaine); ブピバカイン (bupivacaine); リドカイン (lidocaine); プロプラノロール (propranolol); ピューロマイシン (puromycin); カリクレイン (kallikrein) 若しくはその類似体若しくは誘導体; 代謝拮抗剤; アルキル化剤; 抗生物質; 有糸分裂阻害剤; ジフテリア毒素 (diphtheria toxin) 及び関連分子とその活性断片及びヘテロ二量体分子、リシン毒素 (ricin toxin)、コレラ毒素 (cholera toxin)、志賀毒素様毒素 (shiga-like toxin)、LT毒素、C3毒素、志賀毒素 (shiga

10

20

30

40

50

toxin)、百日咳毒素(pertussis toxin)、破傷風毒素(tetanus toxin)、大豆由来の Bowman-Birk protease inhibitor)、緑膿菌外毒素(Pseudomonas exotoxin)、アロリン(alorin)、フコシド(fucoside)、カプシジン(capsidin)、ゲラニン(gelatin)、インゲンマメ毒素鎖A(phaseolus toxin chain A)、カプシジン鎖A(capsidin chain A)、 α -ブロモトキシン(alpha-bromotoxin)、オレウロペイン(oleuropein)、スタフィリンタンパク質(staphylin protein)、アメリカ産商用タンパク質、ゴーヤ阻害剤(bitter melon inhibitor)、ジャトロファ毒素(jatropha toxin)、クロトン毒素(croton toxin)、サボンソウ阻害剤(soapwort inhibitor)、ホワイトツリー毒素(white tree toxin)、ミトゲリン(mitogellin)、リミティング・トリコテセン(limiting trichothecene)、フェノマイシン(phenomycin)及びエノキシシン毒素(enoxycin Toxin);リボヌクレアーゼ(RNase);DNA分解酵素I(DNase I)、ブドウ球菌内毒素A(staphylococcal endotoxin A);米国産商用陸上抗ウイルスタンパク質(American commercial land antiviral protein);ジフテリア毒素(diphtheria toxin);及び緑膿菌内毒素(Pseudomonas endotoxin)から選ばれてもよい。

10

20

【0232】

いくつかの実施形態では、当該チューブリン阻害剤は、メデンシンI(medensin I)若しくはその類似体若しくは誘導体であってもよく、当該代謝拮抗剤は、アミノプテリン(aminopterin)、6-メルカプトプリン(6-mercaptopurine)、6-チオグアニン(6-thioguanine)、シタラビン(cytarabine)、フルダラビン(fludarabine)、5-フルオロウラシル(5-fluorouracil)、ダカルバジン(dacarbazine)、ヒドロキシ尿素(hydroxyurea)、アスパラギナーゼ(asparaginase)、ゲムシタビン(gemcitabine)又はクラドリビン(cladribine)であり、当該アルキル化剤は、アザシチジン(azacitidine)、チオフアン(thiophan)、アザシチジン安息香酸塩(azacitidine benzoate)、メルファラン(melphalan)、カラザシチジン(carazacitidine)(BSNU)、ロムスチン(lomustine)(CCNU)、シクロホスファミド(cyclophosphamide)、ロイコボリン(leucovorin)、ジブロモマンナン(dibromomannan)、ストレプトゾトシン(streptozotocin)、ダカルバジン(dacarbazine)(DTIC)、プロカルバジン(procarbazine)、マイトマイシンC(mitomycin C)、シスモリブデン(cis-molybdenum)、カルボモリブデン(carbomolybdenum)、デュオカルマイシンA(duocarmycin A)、デュオカルマイシンSA(duocarmycin SA)、ラカマイシン(rachelmycin、CC-1065)若しくはその類似体若しくは誘導体であり、当該抗生物質は、ブレオマイシン(bleomycin)、アドリアマイシン(adriamycin)、イダルビシン(idarubicin)(又はマイトマイシン(mitomycin)、ミトキサントロン(mitoxantrone)、プッカマイシン(puccamycin)、アントリキシン(antrixin)(AMC))であり、当該有糸分裂阻害剤は、モノメチルアウリスチンE又はFであり、当該ジフテリア毒素関連分子は、ジフテリア毒素A鎖(diphtheria A chain)であり、当該リシン毒素(ricin toxin)は、リシンA(ricin A)又は脱グリコシル化リシンA鎖毒素(deglycosylated ricin A chain toxin)であり、当該志賀毒素様毒素(shiga-like toxin)は、SLT I、SLT I

30

40

50

I 及び S L T I I V であり、当該アメリカ産商用タンパク質は、P A P I、P A P I I、P A P S である。

【0233】

いくつかの実施形態では、当該放射性核種は、A t²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、I¹²³、Y⁹⁰、R e¹⁸⁶、R e¹⁸⁸、S m¹⁵³、B i²¹²、P³²、P b²¹²、T c⁹⁹、S³⁵、F¹⁹、N¹⁵、C¹⁴、C¹³又はH³を含み、任意に、当該放射性核種は、キレート剤によって抗体に結合されてもよい。

【0234】

いくつかの実施形態では、当該サイトカインは、I L-2、I L-4、I L-6、I L-7、I L-10、I L-12、I L-13、I L-15、I L-18、I L-23、I L-24、I L-27、I L-28 a、I L-28 b、I L-29、K G F I F N α、I F N β、I F N γ、G M-C S F、C D 4 0 L、F l t 3 リガンド、幹細胞因子、アニシジン又はT N F αを含む。

10

【0235】

(抗C D H 6 抗体薬物複合体)

本願の抗C D H 6 抗体をリンカー構造部分を介して薬物に結合して抗C D H 6 抗体薬物複合体を製造してもよい。当該薬物としては、リンカー構造と連結可能な置換基又は部分構造を有するものであれば特に限定されない。当該抗C D H 6 抗体薬物複合体は、結合された薬物に応じて様々な目的で使用されてもよい。このような薬物の例としては、抗腫瘍活性を有する物質、血液疾患に有効な物質、自己免疫疾患に有効な物質、抗炎症物質、抗

20

【0236】

(細胞傷害性薬物)

以下、本発明の抗C D H 6 抗体薬物複合体に結合させる化合物として細胞傷害性薬物を用いた例を説明する。当該細胞傷害性薬物は、抗腫瘍効果を有し、リンカー構造と連結可能な置換基又は部分構造を有する化合物であれば特に限定されない。腫瘍細胞内でリンカーの一部又は全部が切断されると、当該細胞傷害性薬物が放出され、細胞傷害性薬物は抗腫瘍効果を発揮する。当該リンカーが当該薬物との連結位置で切断されるため、当該細胞傷害性薬物は元の構造のまま放出され、その本来の抗腫瘍効果を発揮する。

【0237】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物はチューブリン阻害剤及び／又はトポイソメラーゼ阻害剤を含む。例えば、当該細胞傷害性薬物は、モノメチルアウリスタチンE (M M A E)、モノメチルアウリスタチンF (M M A F)、メデンシンI (m e d e n s i n I)、ピロロベンゾジアゼピン (P B D)、カンプトテシン、ネモルビシン (n e m o r u b i c i n)、P N U-159682、アントラサイクリン系、ベタカマイシン (b e t a c a m y c i n)、ペリリルアルカロイド (p e r i l l y l a l k a l o i d)、パクリタキセル (p a c l i t a x e l)、モンテルカスト (m o n t e l u k a s t)、エリナフィド (e l i n a f i d e)、カリクレイン (k a l l i k r e i n)、デュオカルマイシン (d u o c a r m y c i n)、ラカマイシン (r a c h e l m y c i n、C C-1065) 又はその類似体、誘導体又はプロドラッグを含んでもよい。

30

40

【0238】

いくつかの実施形態では、当該細胞傷害性薬物はトポイソメラーゼI阻害剤を含む。例えば、当該細胞傷害性薬物はカンプトテシン (C P T) 又はその誘導体を含んでもよい。

【0239】

非限定的な例として、当該カンプトテシンは、カンプトテシン及びカンプトテシン誘導体を含んでもよく、イリノテカン (i r i n o t e c a n)、トポテカン (t o p o t e c a n)、ルートテカン (l u r t o t e c a n)、シラテカン (s i l a t e c a n)、エチリノテカンペゴル (e t i r i n o t e c a n p e g o l)、T A S 103、9-アミノカンプトテシン (9-a m i n o c a m p t o t h e c i n)、7-エチルカンプトテシン (7-e t h y l c a m p t o t h e c i n)、10-ヒドロキシカンプト

50

テシン (10-hydroxycamptothecin)、9-ニトロカンプトテシン (9-nitrocampthecin)、10, 11-メチレンジオキシカンプトテシン (10, 11-methylenedioxcampthecin)、9-アミノ-10, 11-メチレンジオキシカンプトテシン (9-amino-10, 11-methylenedioxcampthecin)、9-クロロ-10, 11-メチレンジオキシカンプトテシン (9-chloro-10, 11-methylenedioxcampthecin)、7-(4-メチルピペラジノメチレン)-10, 11-エチレンジオキシ-20(S)-カンプトテシン (7-(4-methylpiperazinomethylene)-10, 11-ethylenedioxy-20(S)-campthecin)、7-(4-メチルピペラジノメチレン)-10, 11-メチレンジオキシ-20(S)-カンプトテシン (7-(4-methylpiperazinomethylene)-10, 11-methylenedioxy-20(S)-campthecin)、7-(2-(N-イソプロピルアミノ)エチル)-(20S)-カンプトテシン (7-(2-N-isopropylamino)ethyl)-(20S)-campthecin)、及びそれらの立体異性体、塩及びエステルを含むが、これらに限定されるものではない。

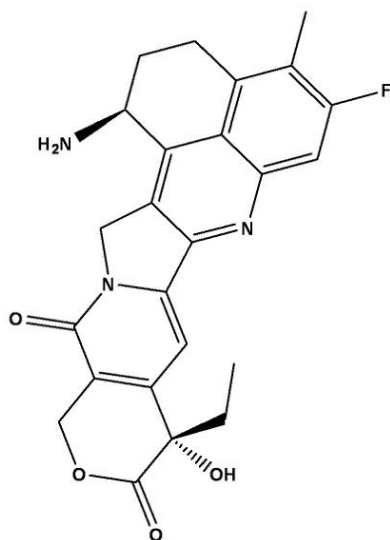
10

【0240】

本発明で使用する細胞傷害性薬物の一例として、カンプトテシン誘導体であるエキサテカン (exatecan) ((1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4': 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H)-ジオン、(1S, 9S)-1-amino-9-ethyl-5-fluoro-2, 3-dihydro-9-hydroxy-4-methyl-1H, 12H-benzod[e]pyrano [3', 4': 6, 7] indolizino [1, 2-b] quinoline-10, 13 (9H, 15H)-dione、下式で表される) が好ましく使用されてもよい。

20

【化12】



30

40

式II

【0241】

エキサテカンは、例えば、米国特許公開第US2016/0297890号に記載されている方法、又は他の既知の方法により容易に得ることができ、1位のアミノ基は、リンカー構造への連結位置として好ましく利用されてもよい。

【0242】

エキサテカンはカンプトテシン構造を有するため、酸性の水性媒体 (例えば、pH 3程度) の中でラクトン環が形成された構造 (閉環) に平衡が移行し、塩基性の水性媒体 (例えば、pH 10程度) の中でラクトン環が開いた構造 (開環) に平衡が移行することが知

50

られている。本明細書で検討される式ⅠⅠには、それらの互変異性体、メソマー、ラセミ体、エナンチオマー、若しくはジアステレオマー、若しくはそれらの混合物、若しくは薬学的に許容されるそれらの塩若しくは溶媒和物が含まれる。このような閉環構造及び／又は開環構造に対応するエキサテカン残基が導入された薬物複合体も同等の抗腫瘍効果を有することが期待され、このような薬物複合体のいずれもが本発明の範囲に含まれることは言うまでもない。

【0243】

当該細胞傷害性薬物の他の例としては、文献（*Pharmacological Reviews*, 68:3-19, 2016）に記述されている細胞傷害性薬物が挙げられる。具体例としては、ドキシソルビシン（doxorubicin）、カリケアマイシン（calicheamicin）、ドラスタチン10（dolastatin 10）、モノメチルアウリスタチンE（MMAE）、モノメチルアウリスタチンF（MMAF）などのアウリスタチン類（auristatin）、DM1、DM4などのメイタンシノイド類（maytansinoid）、ピロロベンゾジアゼピン二量体SG2000（SJG-136）、カンプトテシン誘導体SN-38、CC1065などのデュオカルマイシン類（duocarmycin）、アマニチン（amanitin）、ダウノルビシン（daunorubicin）、マイトマイシンC（mitomycin C）、ブレオマイシン（bleomycin）、シクロシチジン（cyclocytidine）、ビンクリスチン（vincristine）、ビンブラスチン（vinblastine）、メトトレキサート（methotrexate）、白金系抗腫瘍剤（シスプラチン（cisplatin）及びその誘導体）、パクリタキセル（Taxo）及びその誘導体が挙げられる。

【0244】

当該抗体薬物複合体では、抗体分子1個あたりの結合薬物分子数とその有効性と安全性に影響を与える重要な要因である。当該抗体薬物複合体の製造は、反応に用いる出発物質や試薬の量などの反応条件を規定して、結合薬物分子数が一定になるように行われる。一般的に、異なる数の結合薬物分子を含む混合物が得られる低分子量化合物の化学反応とは異なる。抗体分子1個あたりの結合薬物分子数は、平均値、即ち結合薬物分子の平均数として定義され、示される。特に断りのない限り、即ち、異なる数の結合薬物分子を有する抗体薬物複合体混合物に含まれる特定の数の結合薬物分子を有する抗体薬物複合体を表す場合を除き、本発明に係る結合薬物分子数も、原則として平均値を意味する。抗体分子に結合するエキサテカン分子の数は制御可能であり、抗体1個当たりの平均結合薬物分子数として、約1～10個のエキサテカン分子が結合されてもよい。エキサテカン分子の数は、好ましくは2～8個、3～8個、4～8個、5～8個、6～8個又は7～8個であり、より好ましくは5～8個、さらに好ましくは7～8個、一層好ましくは8個である。なお、当業者は、本願の実施例の記述に基づいて、抗体分子に必要な数の薬物分子を結合するための反応を設計することができ、結合エキサテカン分子数が制御された抗体薬物複合体を得ることができる。

【0245】

（リンカー構造）

本発明の抗CDH6抗体薬物複合体で、抗CDH6抗体に薬物部分を結合させるリンカー構造について説明する。本願の抗体薬物複合体では、抗CDH6抗体に薬物部分を結合させるリンカー構造は、得られる抗体薬物複合体を使用できるものであれば特に限定されない。当該リンカー構造は、使用目的に応じて適宜選択して使用されてもよい。当該リンカー構造の一例として、公知の文献（*Pharmacol Rev*, 68:3-19, 2016. 1, *Protein Cell DOI* 10.1007/s13238-016-0323-0, etc.）に記述されているリンカーを含んでもよい。

【0246】

以下に示すリンカー構造のいずれかが好ましく用いられる。なお、当該構造の左末端は抗体への連結位置であり、右末端は薬物への連結位置である。さらに、以下に示すリンカ

ー構造中のVAは、ペプチド結合されたバリンーアラニン（VA）からなるアミノ酸配列を示し、以下に示すリンカー構造中のGGFGは、ペプチド結合されたグリシンーグリシンーフェニルアラニンーグリシン（GGFG）からなるアミノ酸配列を示す。

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーPABCー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーPABCー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーPABCー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーPABCー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーPABCー、

ーCH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーPABCー、

ーC（=O）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーPABCー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂ーOーCH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂ーOーCH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂OーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ーCH₂ーC（=O）ーNHーCH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ーC（=O）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）ーGGFGーNHーCH₂CH₂CH₂ーC（=O）ー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂ーC（=O）ーVAーPABCー、

ー（スクシンイミジルー3ーイルーN）ーCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂ーC（=O）

10

20

30

40

50

$-VA-PABC-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)$
 $-VA-NH-PABC-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-VA-PABC-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-VA-PABC-$ 、
 $-CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2-C(=O)-VA-PABC-$ 、
 $-C(=O)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)-VA-PABC-$
 $-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-VA-NH-CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-VA-NH-CH_2CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)$
 $-VA-NH-CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)$
 $-VA-NH-CH_2CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)$
 $-VA-NH-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)$
 $-VA-NH-CH_2O-CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)$
 $-VA-NH-CH_2CH_2O-CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-VA-NH-CH_2CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-VA-NH-CH_2CH_2CH_2-C(=O)-$ 、
 $-(\text{スクシンイミジル}-3\text{-イル}-N)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-C(=O)-VA-NH-CH_2CH_2-C(=O)-$ 、及び
 $-C(=O)-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)-VA-NH-CH_2CH_2CH_2-C(=O)-$ 。

10

20

30

40

【0247】

いくつかの実施形態では、当該スペーサーは自己犠牲スペーサーを含む。例えば、当該自己犠牲スペーサーはp-アミノベンゾキシカルボニル基(PABC)又はp-アミノベンジル基(PAB)を含んでもよい。

【0248】

いくつかの実施形態では、当該切断可能なペプチドは直接当該スペーサーまでスプライスされてもよい。

【0249】

いくつかの実施形態では、当該Lは $-Val-Cit-PABC-$ 、 $-Val-Ala$

50

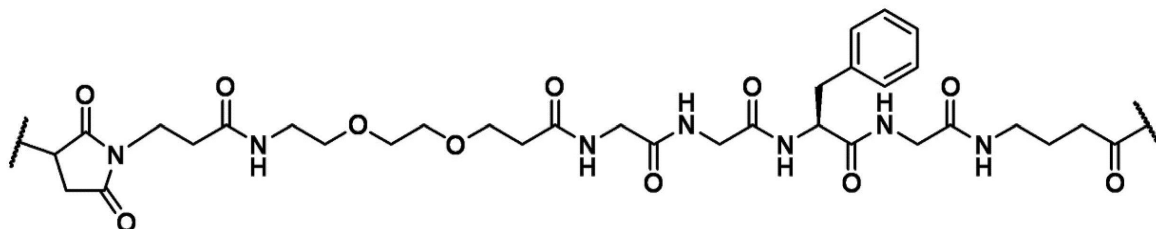
—PABC—、—Glu—Val—Cit—PABC—、—Ala—Ala—Asn—PABC—、—Gly—Val—Cit—PABC—、—Gly—Gly—Gly—PABC—、—Gly—Gly—Phe—Gly—PABC—、—Val—Cit—PAB—、—Val—Ala—PAB—、—Glu—Val—Cit—PAB—、—Ala—Ala—Asn—PAB—、—Gly—Val—Cit—PAB—、—Gly—Gly—Gly—PAB—又は—Gly—Gly—Phe—Gly—PAB—を含んでもよい。

【0250】

例えば、当該Lは、

【化13】

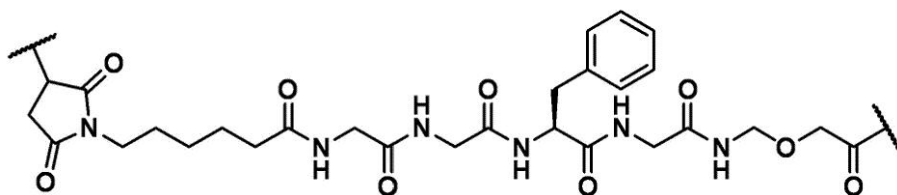
10



及び

【化14】

20



以上の構造から選ばれてもよい。

【0251】

いくつかの実施形態では、当該p-アミノベンゾキシカルボニル基（PABC）又はp-アミノベンジル基（PAB）はポリサルコシン（ポリ-N-メチルグリシン）残基を含む。

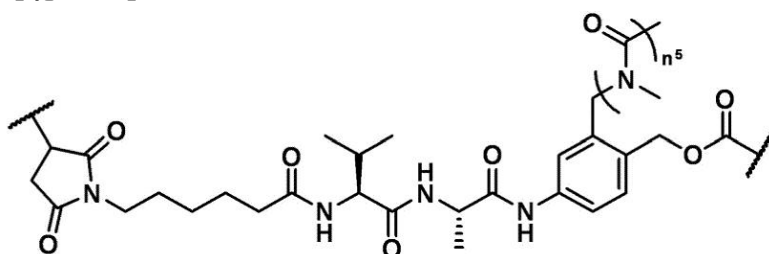
【0252】

30

いくつかの実施形態では、当該Lは、

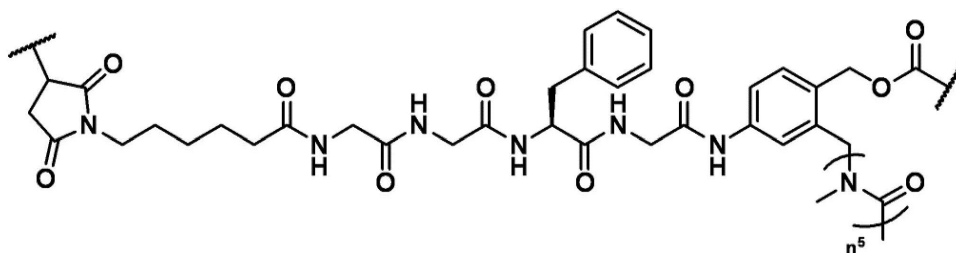
【化15】

40



及び

【化16】



50

以上の構造から選ばれ、

ここで、 n^5 は 0 ～ 20 の整数を表し、任意に、当該 n^5 は 1 ～ 15 の整数を表してもよい。

【0253】

例えば、当該 n^5 は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 又は 20 であってもよい。

【0254】

例えば、当該 n^5 は、1 ～ 20、1 ～ 19、1 ～ 18、1 ～ 17、1 ～ 16、1 ～ 15、1 ～ 14、1 ～ 13、1 ～ 12、1 ～ 11、1 ～ 10、1 ～ 9、1 ～ 8、1 ～ 7、1 ～ 6、1 ～ 5、1 ～ 4、1 ～ 3、1 ～ 2、2 ～ 20、2 ～ 19、2 ～ 18、2 ～ 17、2 ～ 16、2 ～ 15、2 ～ 14、2 ～ 13、2 ～ 12、2 ～ 11、2 ～ 10、2 ～ 9、2 ～ 8、2 ～ 7、2 ～ 6、2 ～ 5、2 ～ 4、2 ～ 3、3 ～ 20、3 ～ 19、3 ～ 18、3 ～ 17、3 ～ 16、3 ～ 15、3 ～ 14、3 ～ 13、3 ～ 12、3 ～ 11、3 ～ 10、3 ～ 9、3 ～ 8、3 ～ 7、3 ～ 6、3 ～ 5、3 ～ 4、4 ～ 20、4 ～ 19、4 ～ 18、4 ～ 17、4 ～ 16、4 ～ 15、4 ～ 14、4 ～ 13、4 ～ 12、4 ～ 11、4 ～ 10、4 ～ 9、4 ～ 8、4 ～ 7、4 ～ 6、4 ～ 5、5 ～ 20、5 ～ 19、5 ～ 18、5 ～ 17、5 ～ 16、5 ～ 15、5 ～ 14、5 ～ 13、5 ～ 12、5 ～ 11、5 ～ 10、5 ～ 9、5 ～ 8、5 ～ 7、5 ～ 6、6 ～ 20、6 ～ 19、6 ～ 18、6 ～ 17、6 ～ 16、6 ～ 15、6 ～ 14、6 ～ 13、6 ～ 12、6 ～ 11、6 ～ 10、6 ～ 9、6 ～ 8、6 ～ 7、7 ～ 20、7 ～ 19、7 ～ 18、7 ～ 17、7 ～ 16、7 ～ 15、7 ～ 14、7 ～ 13、7 ～ 12、7 ～ 11、7 ～ 10、7 ～ 9、7 ～ 8、8 ～ 20、8 ～ 19、8 ～ 18、8 ～ 17、8 ～ 16、8 ～ 15、8 ～ 14、8 ～ 13、8 ～ 12、8 ～ 11、8 ～ 10、8 ～ 9、9 ～ 20、9 ～ 19、9 ～ 18、9 ～ 17、9 ～ 16、9 ～ 15、9 ～ 14、9 ～ 13、9 ～ 12、9 ～ 11、9 ～ 10、10 ～ 20、10 ～ 19、10 ～ 18、10 ～ 17、10 ～ 16、10 ～ 15、10 ～ 14、10 ～ 13、10 ～ 12 又は 10 ～ 11 の整数を表してもよい。

10

20

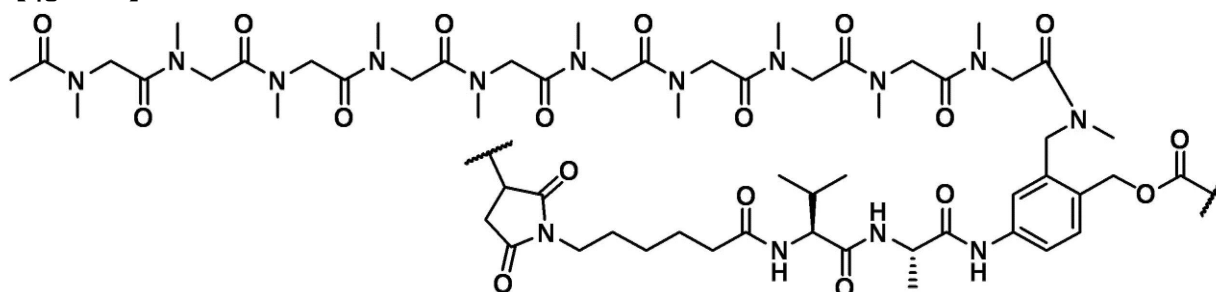
【0255】

例えば、当該 n^5 は 1 ～ 7 の整数を表してもよい。例えば、当該 n^5 は 8 ～ 15 の整数を表してもよい。

【0256】

例えば、当該 L は、

【化17】

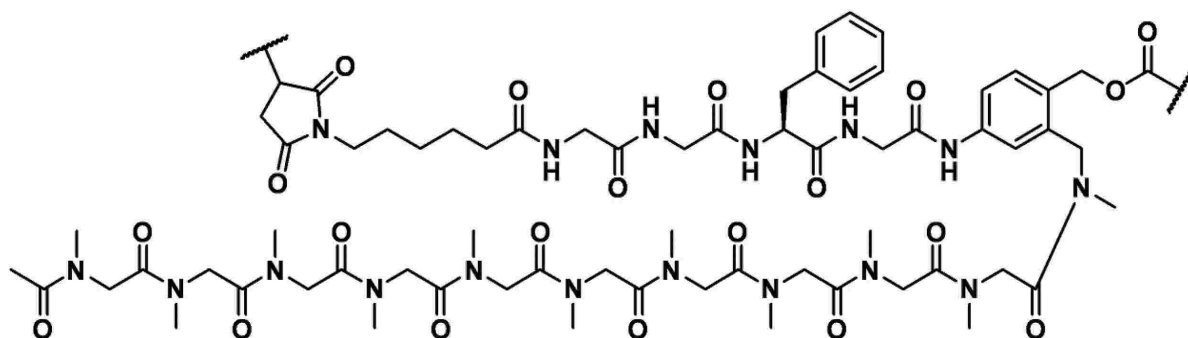


40

及び

50

【化 1 8】



10

以上の構造から選ばれてもよい。

【0257】

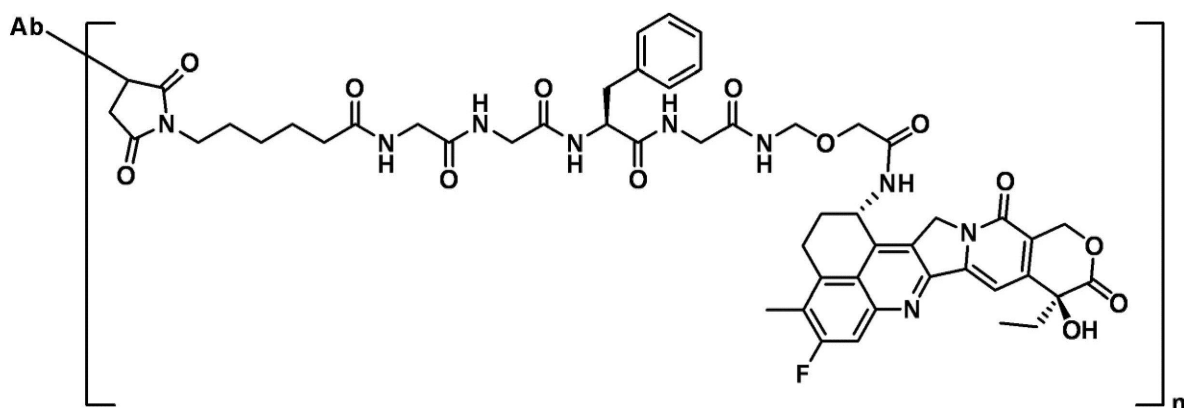
当該抗体薬物複合体は、既知の方法（例えば、公開特許文献US2016／297890に記述されている方法（例えば、段落〔0336〕～〔0374〕に記述されている方法））により得られる化合物と、スルフィドリル基を有する抗体とを反応させることにより生成されてもよい。当該スルフィドリル基を有する抗体は、当業者に熟知されている方法（Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp. 56－136, pp. 456－493, Academic Press (1996)）で得てもよい。

20

【0258】

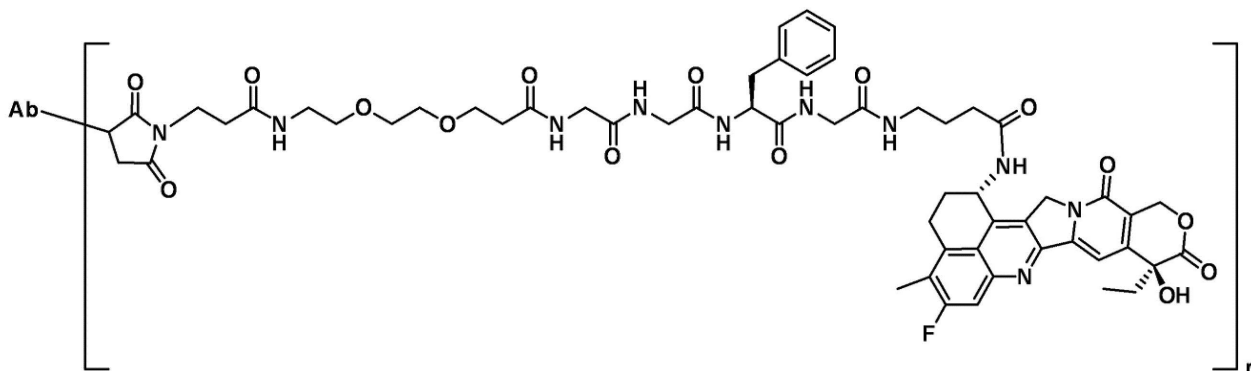
本発明の抗体薬物複合体の具体例として、下式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられる。

【化 1 9】



30

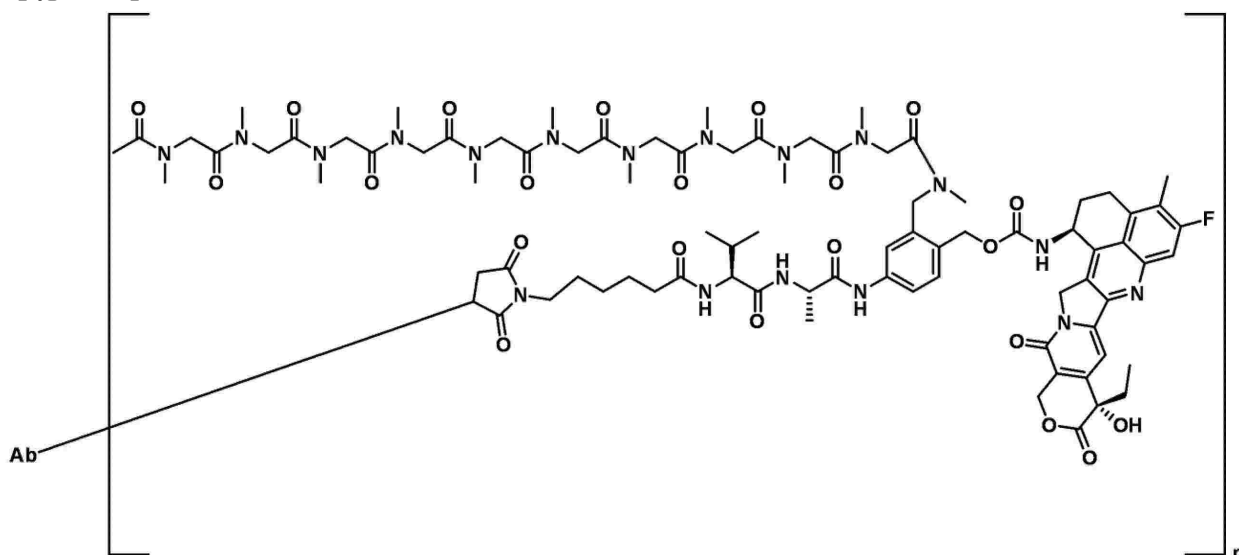
【化 2 0】



40

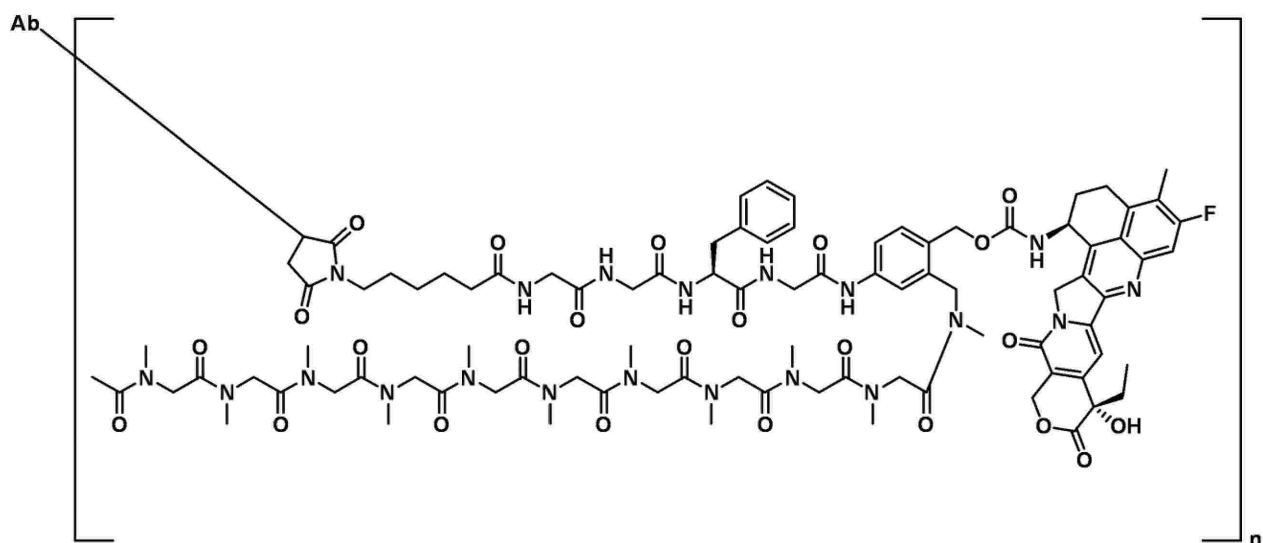
50

【化 2 1】



及び

【化 2 2】



ここで、 n は、1～10の任意の数字であってもよい。例えば、当該 n は、1～9.5、1～9、1～8.5、1～8、1～7.5、1～7、1～6.5、1～6、1～5.5、1～5、1～4.5、1～4、1～3.5、1～3、1～2.5、1～2、1～1.5、1.5～9.5、1.5～9、1.5～8.5、1.5～8、1.5～7.5、1.5～7、1.5～6.5、1.5～6、1.5～5.5、1.5～5、1.5～4.5、1.5～4、1.5～3.5、1.5～3、1.5～2.5、1.5～2、2～9.5、2～9、2～8.5、2～8、2～7.5、2～7、2～6.5、2～6、2～5.5、2～5、2～4.5、2～4、2～3.5、2～3、2～2.5、2.5～9.5、2.5～9、2.5～8.5、2.5～8、2.5～7.5、2.5～7、2.5～6.5、2.5～6、2.5～5.5、2.5～5、2.5～4.5、2.5～4、2.5～3.5、2.5～3、3～9.5、3～9、3～8.5、3～8、3～7.5、3～7、3～6.5、3～6、3～5.5、3～5、3～4.5、3～4、3～3.5、3.5～9.5、3.5～9、3.5～8.5、3.5～8、3.5～7.5、3.5～7、3.5～6.5、3.5～6、3.5～5.5、3.5～5、3.5～4.5、3.5～4、4～9.5、4～9、4～8.5、4～8、4～7.5、4～7、4～6.5、4～6、4～5.5、4～5、4～4.5、4.5～9.5、4.5～9、4.5～8.5、4.5～8、4.5～7.5、4.5～7、4.5～6.5、4.5～6、4.5～5.5、4.5

～5、5～9、5、5～9、5～8、5、5～8、5～7、5、5～7、5～6、5、5～6、5～5、5、5、5～9、5、5、5～9、5、5～8、5、5、5～8、5、5～7、5、5、5～7、5、5～6、5、5、5～6、6～9、5、6～9、6～8、5、6～8、6～7、5、6～7、6～6、5、6、5～9、5、6、5～9、6、5～8、5、6、5～8、6、5～7、5、6、5～7、7～9、5、7～9、7～8、5、7～8、7～7、5、7、5～9、5、7、5～9、7、5～8、5、7、5～8、8～9、5、8～9、8～8、5、8、5～9、5、又は8、5～9の任意の数字であってもよい。

【0259】

ここで、Abは、本明細書に開示されている抗CDH6抗体を表し、当該抗体は、当該抗体に由来するスルフィドリル基を介してリンカーペイロードに結合されている。ここで、nは、いわゆるDAR（薬物抗体比）と同じ意味を有し、抗体当たりの薬物抗体比を表す。具体的には、nは、抗体分子当たりの結合薬物分子の数を表し、平均値、即ち結合薬物分子の平均数として定義され、示される数値である。本発明では、通常の手順Fで測定する場合、nは、2～8であってもよく、好ましくは5～8であり、より好ましくは7～8であり、さらに好ましくは8である。

【0260】

本発明の抗体薬物複合体の一例として、上記の式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられ、ここで、Abで表される抗体は、以下の抗体(a)～(k)からなる群から選ばれるいずれかの抗体、当該抗体の機能的断片、及び当該抗体薬物複合体の薬理学的に許容される塩を含む。

(a) 配列番号72で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号73で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(b) 配列番号74で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号76で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(c) 配列番号74で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号77で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(d) 配列番号75で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号76で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(e) 配列番号75で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号77で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(f) 配列番号80で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号81で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(g) 配列番号78で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号82で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(h) 配列番号78で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号83で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(i) 配列番号78で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号84で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(j) 配列番号79で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号82で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(k) 配列番号79で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号83で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(l) 配列番号79で示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号84で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖とからなる抗体、

(m) 抗体(a)～(j)からなる群から選ばれるいずれかの抗体であって、重鎖又は軽鎖が、N結合型糖鎖化、O結合型糖鎖化、N末端プロセッシング、C末端プロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化、N末端へのメチオニン残基の付加、プロリン残基のアミド化、及びN末端グルタミン又はN末端グルタミン酸のピログルタミン酸への変換、及びカルボキシル末端の1つ又は2つのアミノ酸の欠失に代表され

10

20

30

40

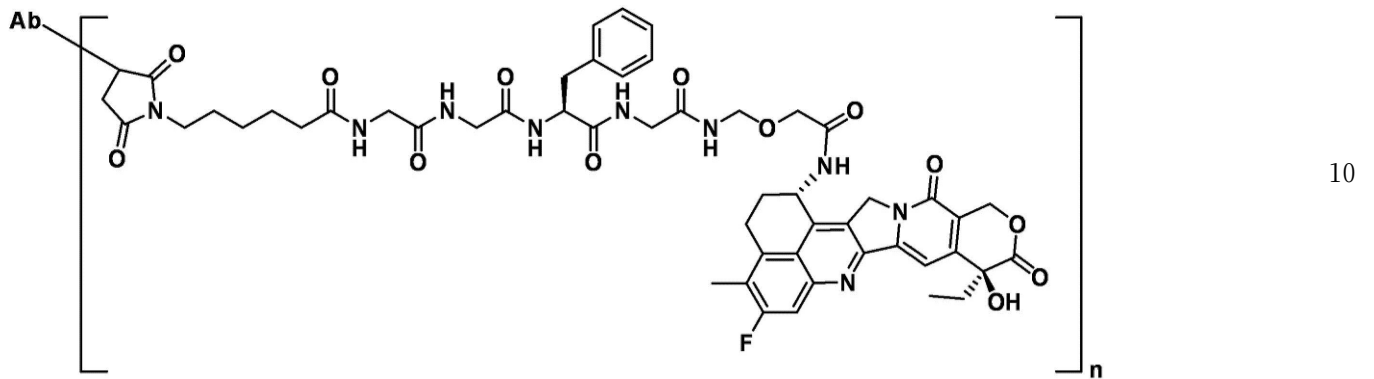
50

る翻訳後修飾からなる群から選ばれる1つ又は2つ以上の修飾を含む抗体。

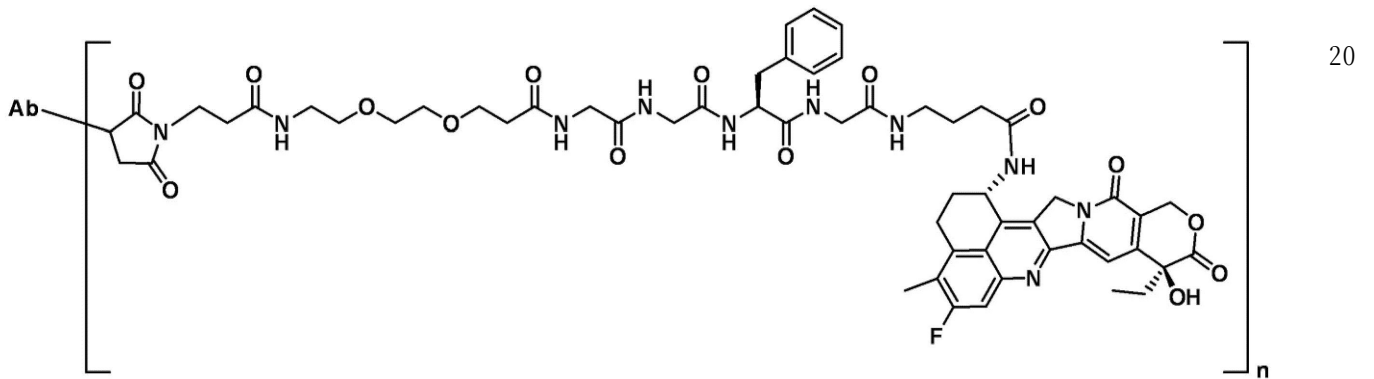
【0261】

本発明の抗体薬物複合体の一例として、以下の式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられる。

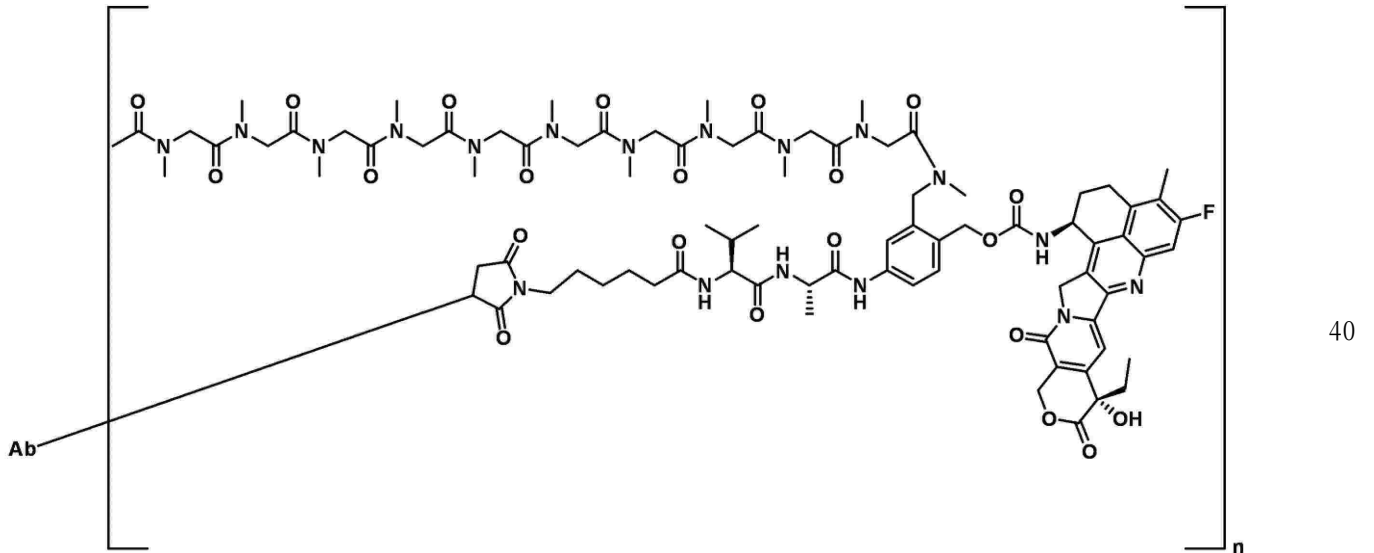
【化23】



【化24】



【化25】



又は

10

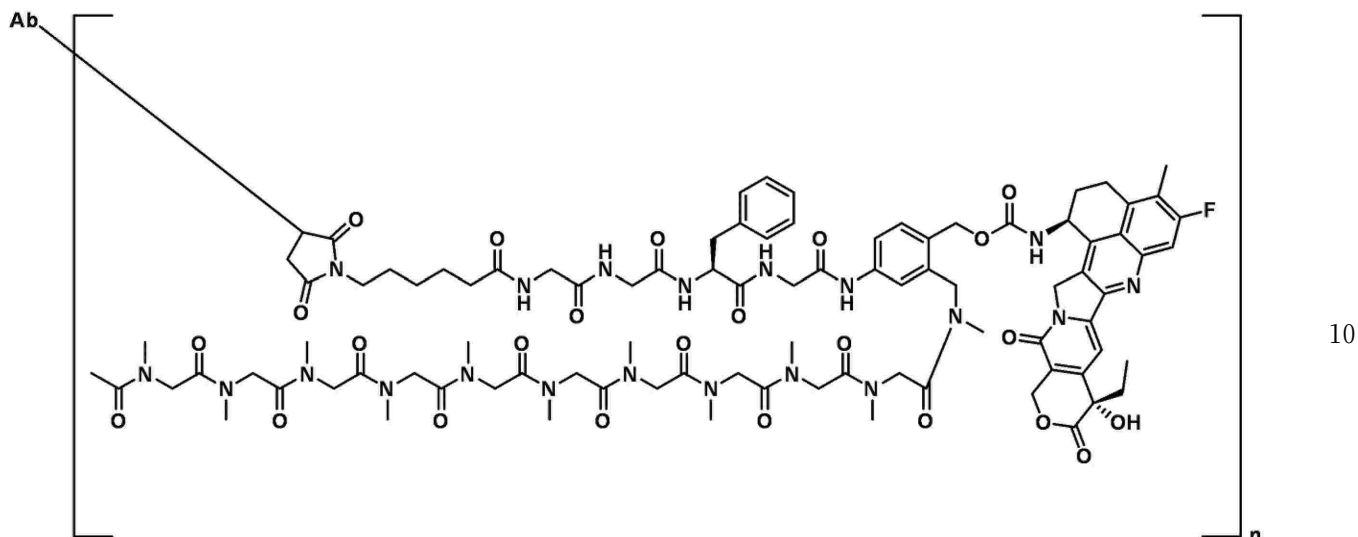
20

30

40

50

【化 2 6】



ここで、 n は、1～10の任意の数字であってもよく、

ここで、Abで表される抗体は、(1)配列番号2のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1(HCDR1)、(2)配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2(HCDR2)、(3)配列番号4のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3(HCDR3)を含む重鎖可変領域(VH)、及び／又は、(1)配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1(LCDR1)、(2)配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2(LCDR2)、(3)配列番号7のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3(LCDR3)を含む軽鎖可変領域(VL)を含み、ここで、 n は、1～10(例えば、2～10、4～10、5～10、6～10、7～10、8～10)の数字である。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号18で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号23で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号66で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号68で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1、C L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 2、C L 0 6 9 7 0 7 - H 2 L 1又はC L 0 6 9 7 0 7 - H 2 L 2を含む。

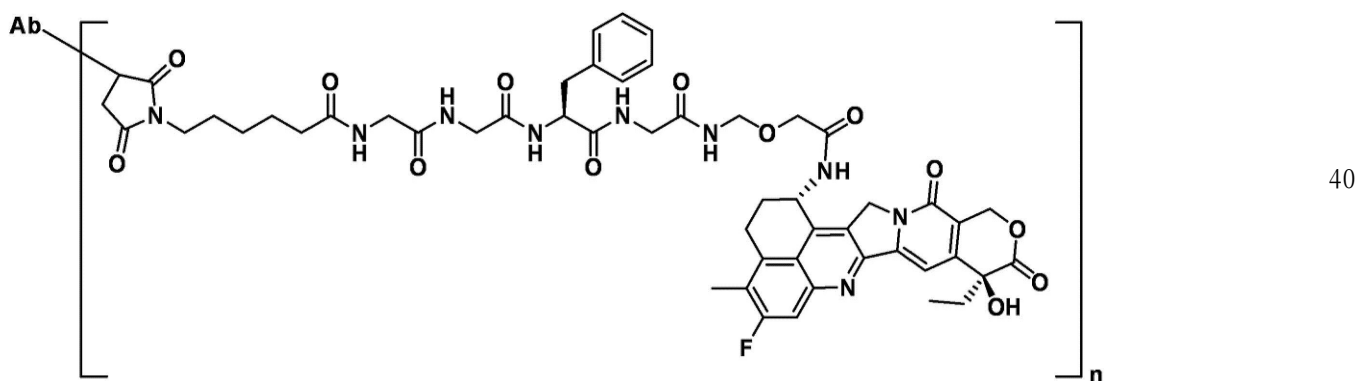
20

30

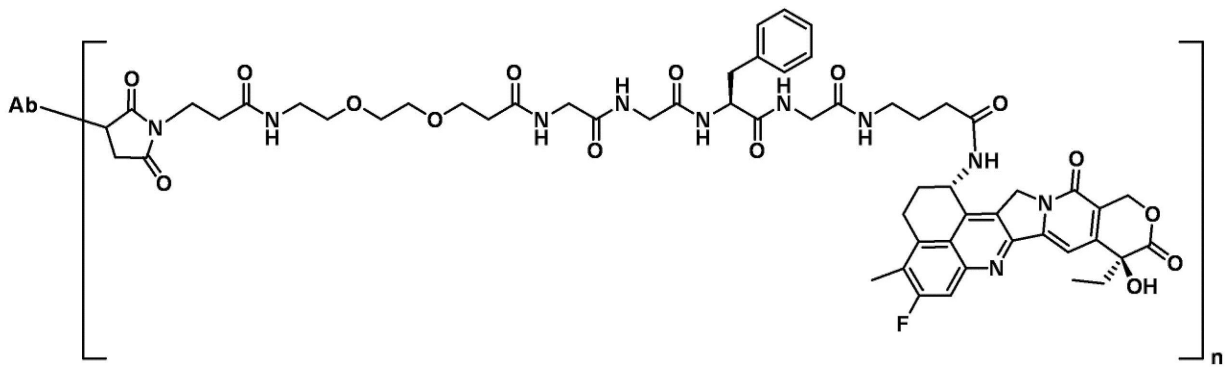
【0 2 6 2】

本発明の抗体薬物複合体の一例として、以下の式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられる。

【化 2 7】

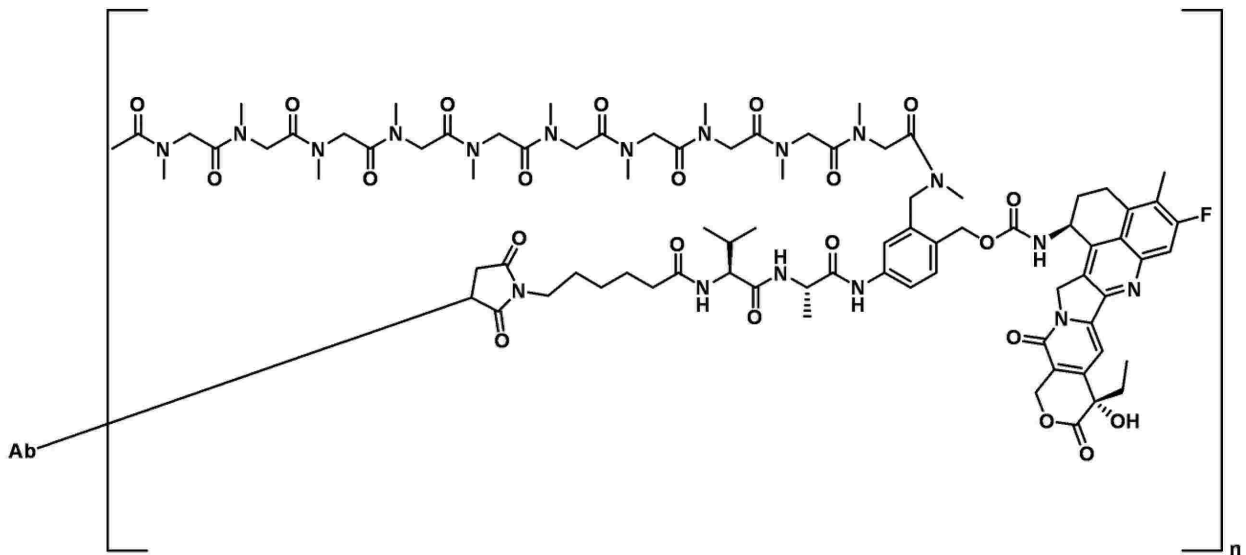


【化 2 8】



10

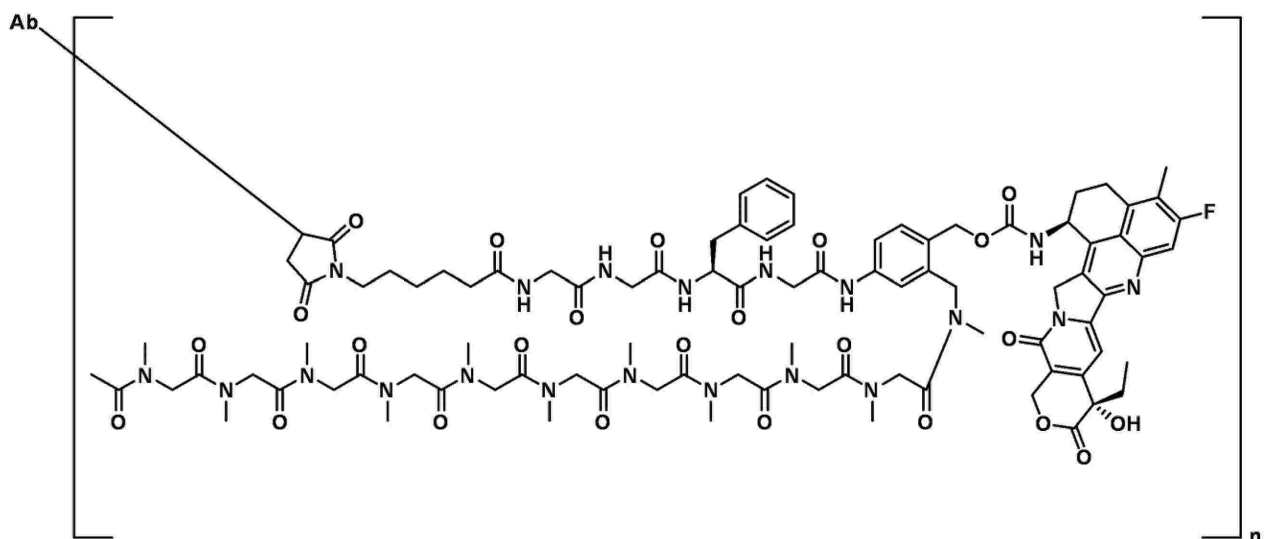
【化 2 9】



20

又は

【化 3 0】



30

40

ここで、 n は、1～10の任意の数字であってもよく、

ここで、 Ab で表される抗体は、(1) 配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1(HCDR1)、(2) 配列番号9のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2(HCDR2)、(3) 配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3(HCDR3)を含む重鎖可変領域(VH)、及び／又は、(1) 配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR

50

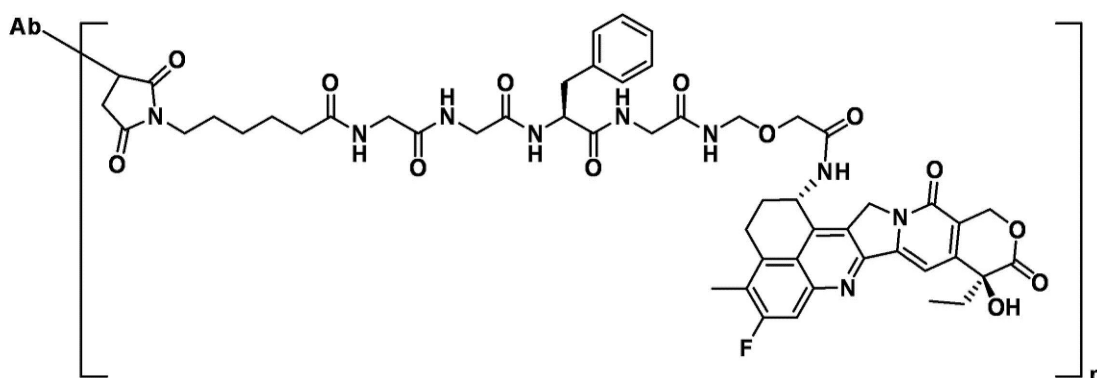
1 (LCDR1)、(2) 配列番号12のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 (LCDR2)、(3) 配列番号13のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3 (LCDR3)を含む軽鎖可変領域 (VL)を含み、ここで、nは、1~10 (例えば、2~10、4~10、5~10、6~10、7~10、8~10)の数字である。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号41で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号46で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号67で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号69で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、CL069463-H1L1、CL069463-H1L2、CL069463-H1L3、CL069463-H2L1、CL069463-H2L2又はCL069463-H2L3を含む。

10

【0263】

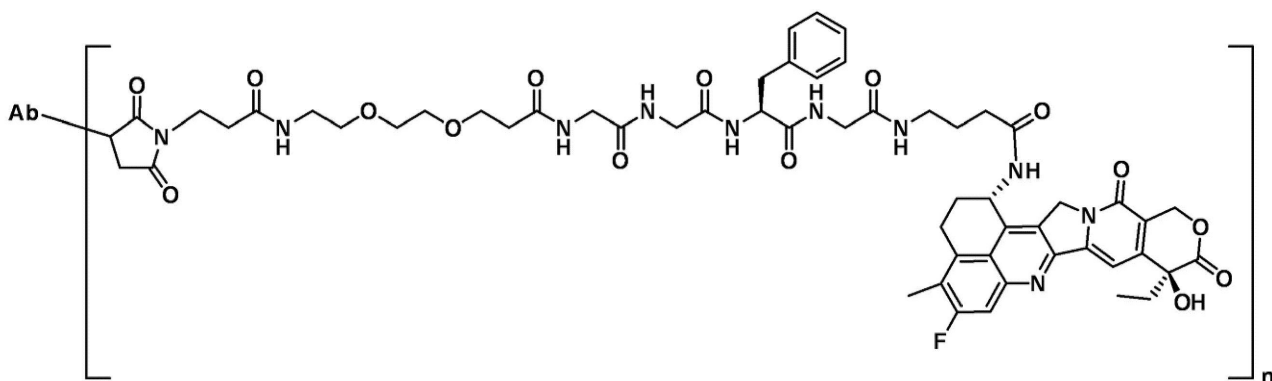
本発明の抗体薬物複合体の一例として、以下の式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられる。

【化31】



20

【化32】

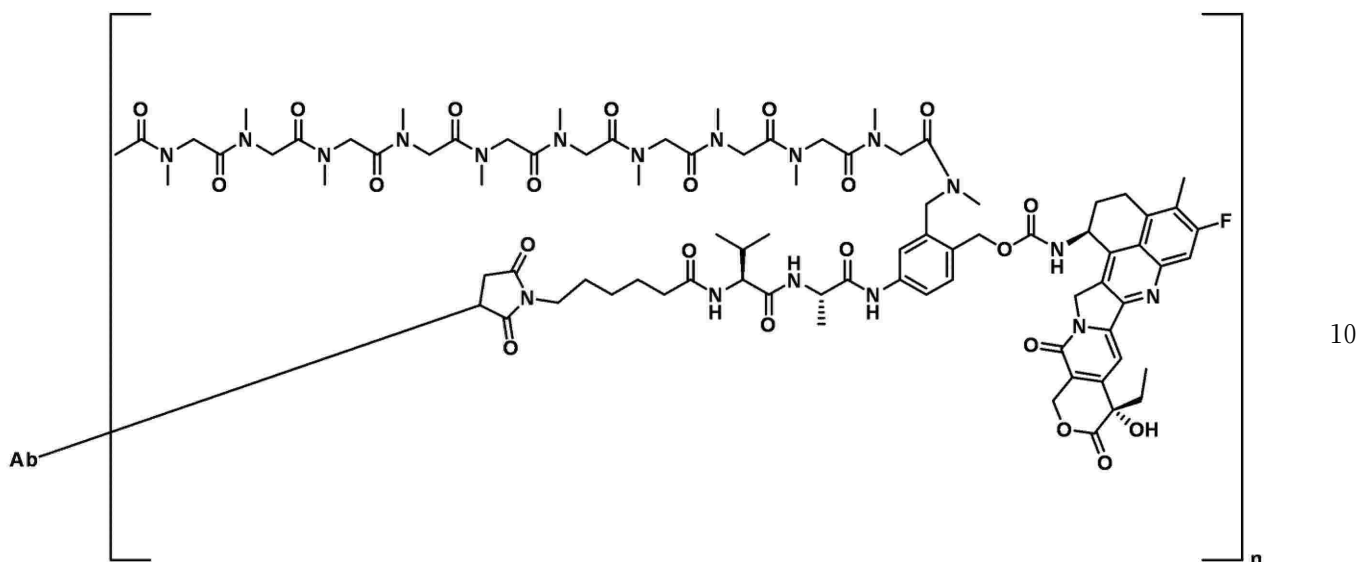


30

40

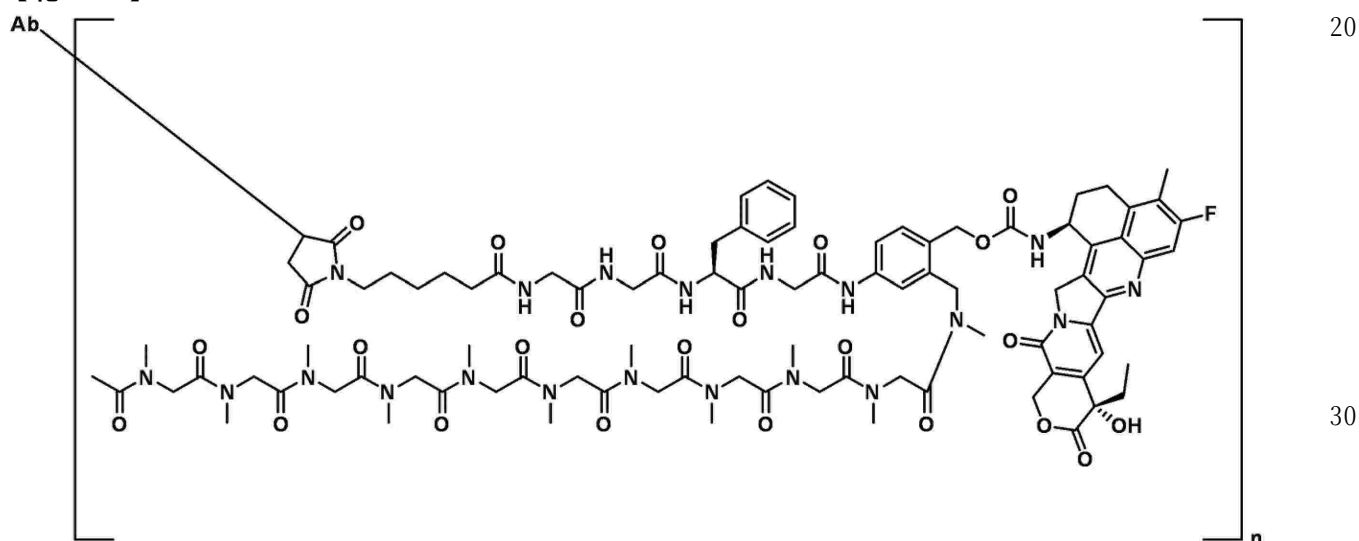
50

【化 3 3】



又は

【化 3 4】



ここで、 n は、1～10の任意の数字であってもよく、

ここで、 Ab で表される抗体は、(1) 配列番号89のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 (HCDR1)、(2) 配列番号90のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 (HCDR2)、(3) 配列番号91のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 (HCDR3)を含む重鎖可変領域 (VH)、及び／又は、(1) 配列番号92のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 (LCDR1)、(2) 配列番号93のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 (LCDR2)、(3) 配列番号94のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3 (LCDR3)を含む軽鎖可変領域 (VL)を含み、ここで、 n は、1～10 (例えば、2～10、4～10、5～10、6～10、7～10、8～10)の数字である。いくつかの実施形態では、 Ab で表される抗体は、配列番号95で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号96で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

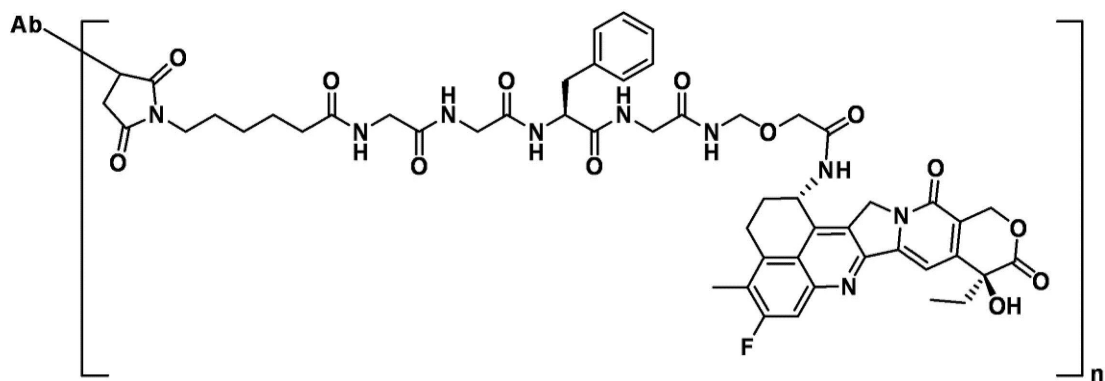
40

【0264】

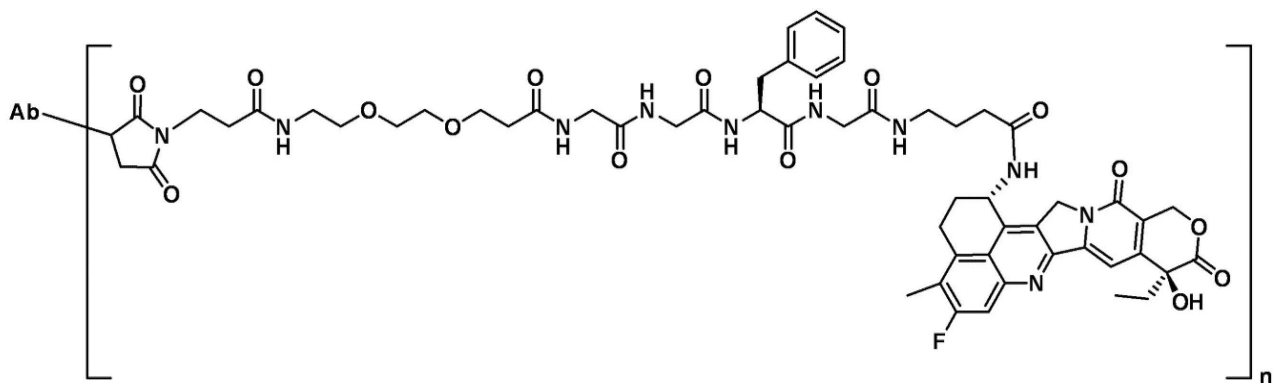
本発明の抗体薬物複合体の一例として、以下の式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられる。

50

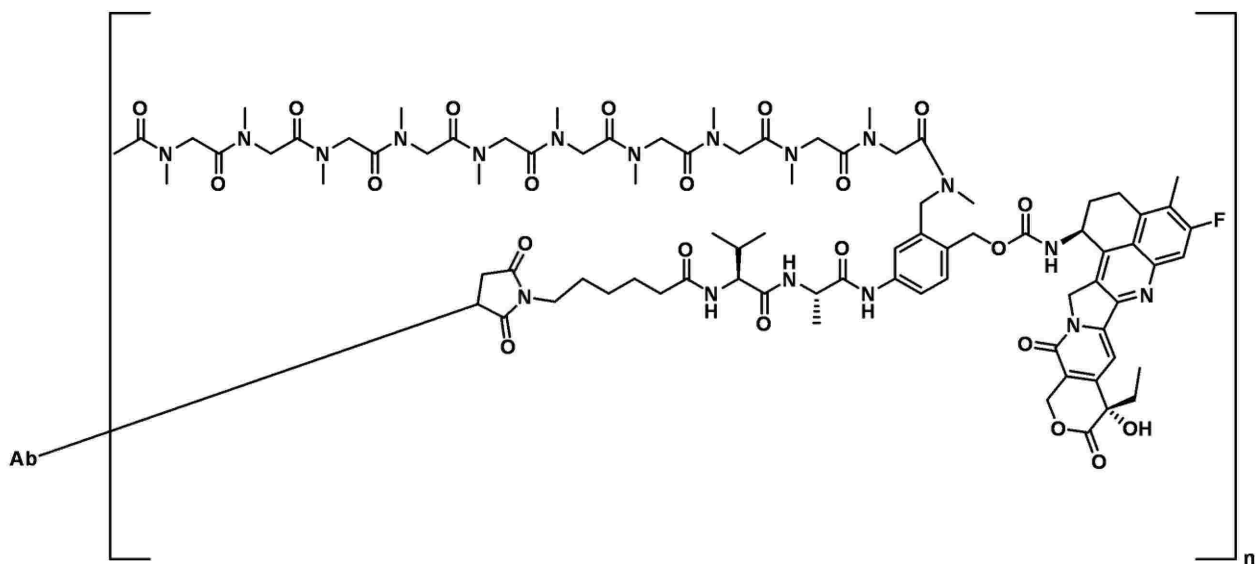
10



20

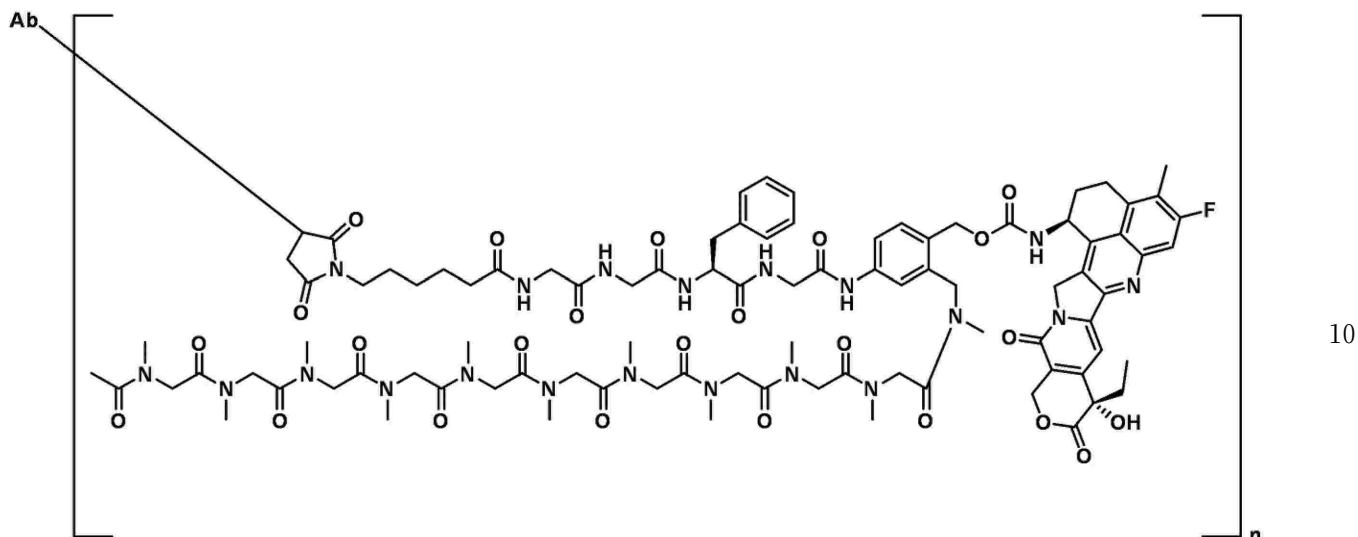


30



又は

【化 3 8】



ここで、 n は、1～10の任意の数字であってもよく、

ここで、Abで表される抗体は、(1)配列番号97のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1(HCDR1)、(2)配列番号98のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2(HCDR2)、(3)配列番号99のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3(HCDR3)を含む重鎖可変領域(VH)、及び／又は、(1)配列番号100のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1(LCDR1)、(2)配列番号101のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2(LCDR2)、(3)配列番号102のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3(LCDR3)を含む軽鎖可変領域(VL)を含み、ここで、 n は、1～10(例えば、2～10、4～10、5～10、6～10、7～10、8～10)の数字である。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号103で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号104で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

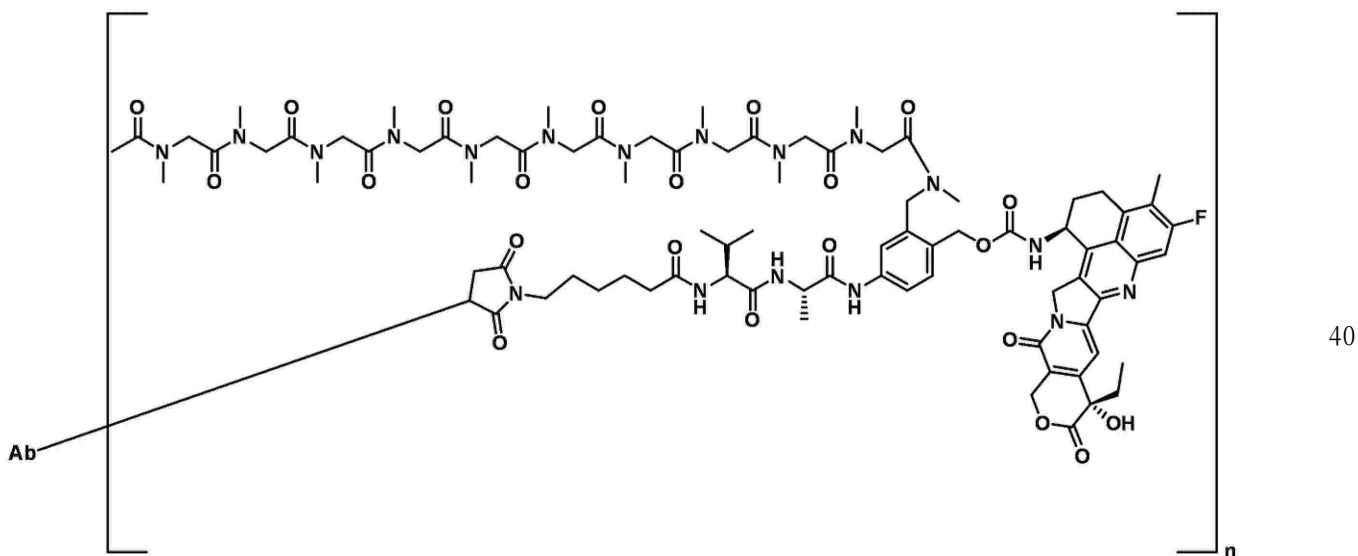
20

【0265】

本発明の抗体薬物複合体の一例として、以下の式で表される構造を有する抗体薬物複合体が挙げられる。

30

【化 3 9】



ここで、 n は、1～10の任意の数字であってもよく、

ここで、Abで表される抗体は、(1)配列番号2のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1(HCDR1)、(2)配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2(HCDR2)、(3)配列番号4のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3(HCDR3)を含む重鎖可

50

変領域（VH）、及び／又は、（１）配列番号５のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1（LCDR1）、（２）配列番号６のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2（LCDR2）、（３）配列番号７のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3（LCDR3）を含む軽鎖可変領域（VL）を含み、ここで、nは、１～１０（例えば、２～１０、４～１０、５～１０、６～１０、７～１０、８～１０）の数字である。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号１８で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号２３で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体は、配列番号６６で示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号６８で示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、Abで表される抗体はC L 0 6 9 7 0 7 - H 1 L 1を含む。

10

【０２６６】

（薬物）

実施例における抗CDH6抗体薬物複合体は、抗CDH6抗体及び／又は内在化活性を有する抗体の機能的断片と、細胞傷害活性などの抗腫瘍活性を有する薬物との複合体である。当該抗CDH6抗体薬物複合体は、CDH6を発現するがん細胞に対して抗腫瘍活性を示すため、薬物、特にがんの治療剤及び／又は予防剤として使用することができる。

【０２６７】

本発明の抗CDH6抗体薬物複合体は、例えば、空气中に静置したり、再結晶か精製工程に供したりすると、水分を吸収したり、吸着水を有したりして、水和物に変わることがある。このような水を含む化合物や薬理学的に許容される塩も本発明に含まれる。また、本発明は、抗体薬物複合体を構成する１個以上の原子をその原子の同位体で置き換えた抗CDH6抗体薬物複合体を含んでもよい。このような同位体で標識された抗体薬物複合体を含む組成物は、例えば、治療剤、予防剤、研究用試薬、アッセイ試薬、診断剤、生体内診断造影剤として有用である。

20

【０２６８】

本発明の抗CDH6抗体薬物複合体が適用されるがんのタイプは、治療対象になるがん細胞中にCDH6を発現しているがんであれば特に限定されない。その例として、腎細胞がん（例えば、腎淡明細胞がん又は乳頭状腎細胞がん）、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん（例えば、小細胞肺がん又は非小細胞肺がん）、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍、神経芽細胞腫が挙げられるが、CDH6を発現しているがんであればこれらに限定されるものではない。より好ましいがんの例として、腎細胞がん（例えば、腎淡明細胞がん、乳頭状腎細胞がん）、卵巣がんが挙げられる。

30

【０２６９】

本発明の抗CDH6抗体薬物複合体は、好ましくは哺乳類に、より好ましくはヒトに投与されてもよい。

【０２７０】

本発明の抗CDH6抗体薬物複合体を含む医薬組成物に用いられる物質は、当分野で通常用いられる医薬添加物などから、適用量又は適用濃度に応じて適宜選んで使用されてもよい。

40

【０２７１】

本発明の抗CDH6抗体薬物複合体は、１種以上の薬学的に適合する成分を含む医薬組成物として投与されてもよい。例えば、当該医薬組成物は、典型的には、１種以上の医薬担体（例えば、滅菌液体（例えば、水及び油（石油及び動物由来、植物由来又は合成由来の油（例えば、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油）を含む））を含む。当該医薬組成物が静脈内投与される場合、水はより典型的な担体である。生理食塩水溶液、デキストロース水溶液、及びグリセロール水溶液も、特に注射液用の液体担体として使用されてもよい。適切な医薬ビヒクルは、当分野で知られている。所望により、当該組成物は、微量の保湿剤、乳化剤、又はpH緩衝剤を含んでもよい。

【０２７２】

50

様々な送達システムが知られており、本発明の抗CDH6抗体薬物複合体を投与するためにそれらを使用してもよい。投与経路の例として、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下経路が挙げられるが、これらに限定されるものではない。投与は、例えば、注射又はボラス注射（bolus injection）によって行われてもよい。特定の好ましい実施形態によれば、上記の抗体薬物複合体の投与は、注射によって行われる。非経口投与が好ましい投与経路である。

【0273】

本願は、以下の具体的な実施形態を開示する。

（実施形態1）カドヘリン-6（CDH6）エピトープに特異的に結合し、かつ、

i) ELISAアッセイでは約 3.1×10^{-9} M未満のKD値でCDH6タンパク質に結合できること、

10

ii) CDH6に結合する時にCDH6発現細胞によって内在化される能力を有すること、

以上の特性の1つ以上を有する抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0274】

（実施形態2）当該CDH6が哺乳類CDH6タンパク質である、実施形態1に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0275】

（実施形態3）当該CDH6がヒトCDH6タンパク質である、実施形態1又は2に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

20

【0276】

（実施形態4）当該抗体がモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、多量体、完全抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体及び／又はキメラ抗体を含む、実施形態1～3のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0277】

（実施形態5）当該抗原結合断片がFab、Fab'、Fv断片、F(ab')₂、scFv、di-scFv及び／又はdAbを含む、実施形態1～4のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0278】

（実施形態6）当該抗体がモノクローナル抗体である、実施形態1～5のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

30

【0279】

（実施形態7）当該抗体がキメラ抗体、ヒト化抗体及び／又はヒト抗体である、実施形態1～6のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0280】

（実施形態8）当該抗体又は抗原結合断片が重鎖可変領域（VH）の少なくとも1つのCDR（相補性決定領域）を含み、当該VHは配列番号18、配列番号66、配列番号41、配列番号67、配列番号95又は配列番号103で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～7のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

40

【0281】

（実施形態9）当該抗体又は抗原結合断片が軽鎖可変領域（VL）の少なくとも1つのCDRを含み、当該VLは配列番号23、配列番号68、配列番号46、配列番号69、配列番号96又は配列番号104で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～8のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0282】

（実施形態10）VHを含み、ここで、当該VHはHCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、当該HCDR1は配列番号1で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～9

50

のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0283】

(実施形態 11) VH を含み、ここで、当該 VH は HCDR1、HCDR2、HCDR3 を含み、当該 HCDR1 は配列番号 2、配列番号 8、配列番号 89 又は配列番号 97 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～10 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0284】

(実施形態 12) VH を含み、ここで、当該 VH は HCDR1、HCDR2、HCDR3 を含み、当該 HCDR2 は配列番号 3、配列番号 9、配列番号 90 又は配列番号 98 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～11 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

10

【0285】

(実施形態 13) VH を含み、ここで、当該 VH は HCDR1、HCDR2、HCDR3 を含み、当該 HCDR3 は配列番号 4、配列番号 10、配列番号 91 又は配列番号 99 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～12 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0286】

(実施形態 14) VH を含み、ここで、当該 VH は HCDR1、HCDR2、HCDR3 を含み、当該 HCDR1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 3 又は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 4 又は配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～13 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

20

【0287】

(実施形態 15) VH を含み、ここで、当該 VH は HCDR1、HCDR2、HCDR3 を含み、ここで、当該 HCDR1 は配列番号 2 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該 HCDR1 は配列番号 8 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

30

ここで、当該 HCDR1 は配列番号 89 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 90 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 91 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該 HCDR1 は配列番号 97 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 98 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 99 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～14 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0288】

(実施形態 16) VH を含み、ここで、当該 VH は配列番号 18、配列番号 66、配列番号 41、配列番号 67、配列番号 95 又は配列番号 103 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～15 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

40

【0289】

(実施形態 17) 抗体重鎖定常領域を含む、実施形態 1～16 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0290】

(実施形態 18) 当該抗体重鎖定常領域がヒト IgG 由来の定常領域を含む、実施形態 17 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0291】

(実施形態 19) 当該抗体重鎖定常領域が配列番号 70 で示されるアミノ酸配列を含む

50

、実施形態 17 又は 18 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0292】

(実施形態 20) 抗体重鎖を含み、当該抗体重鎖は配列番号 72、配列番号 85、配列番号 80 又は配列番号 87 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～16 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0293】

(実施形態 21) VL を含み、ここで、当該 VL は LCDR1、LCDR2、LCDR3 を含み、当該 LCDR1 は配列番号 5、配列番号 11、配列番号 92 又は配列番号 100 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～20 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

10

【0294】

(実施形態 22) VL を含み、ここで、当該 VL は LCDR1、LCDR2、LCDR3 を含み、当該 LCDR2 は配列番号 6、配列番号 12、配列番号 93 又は配列番号 101 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～21 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0295】

(実施形態 23) VL を含み、ここで、当該 VL は LCDR1、LCDR2、LCDR3 を含み、当該 LCDR3 は配列番号 7、配列番号 13、配列番号 94 又は配列番号 102 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～22 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

20

【0296】

(実施形態 24) VL を含み、ここで、当該 VL は LCDR1、LCDR2、LCDR3 を含み、当該 LCDR1 は配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR2 は配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR3 は配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該 LCDR1 は配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR2 は配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR3 は配列番号 13 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該 LCDR1 は配列番号 92 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR2 は配列番号 93 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR3 は配列番号 94 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

30

ここで、当該 LCDR1 は配列番号 100 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR2 は配列番号 101 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR3 は配列番号 102 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～23 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0297】

(実施形態 25) VH 及び VL を含み、ここで、当該 VH は HCDR1、HCDR2、HCDR3 を含み、当該 VL は LCDR1、LCDR2、LCDR3 を含み、ここで、当該 HCDR1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 3 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 4 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR1 は配列番号 5 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR2 は配列番号 6 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR3 は配列番号 7 で示されるアミノ酸配列を含み、又は

40

ここで、当該 HCDR1 は配列番号 1 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR2 は配列番号 9 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 HCDR3 は配列番号 10 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR1 は配列番号 11 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR2 は配列番号 12 で示されるアミノ酸配列を含み、当該 LCDR3 は配列番号 13 で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態 1～24 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

50

【0298】

(実施形態26) V H及びV Lを含み、ここで、当該V HはH C D R 1、H C D R 2、H C D R 3を含み、当該V LはL C D R 1、L C D R 2、L C D R 3を含み、ここで、当該H C D R 1は配列番号2で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 2は配列番号3で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 3は配列番号4で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 1は配列番号5で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 2は配列番号6で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 3は配列番号7で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該H C D R 1は配列番号8で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 2は配列番号9で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 3は配列番号10で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 1は配列番号11で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 2は配列番号12で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 3は配列番号13で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該H C D R 1は配列番号89で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 2は配列番号90で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 3は配列番号91で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 1は配列番号92で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 2は配列番号93で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 3は配列番号94で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該H C D R 1は配列番号97で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 2は配列番号98で示されるアミノ酸配列を含み、当該H C D R 3は配列番号99で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 1は配列番号100で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 2は配列番号101で示されるアミノ酸配列を含み、当該L C D R 3は配列番号102で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～25のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0299】

(実施形態27) V Lを含み、ここで、当該V Lは配列番号23、配列番号68、配列番号46、配列番号69、配列番号96又は配列番号104で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～26のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0300】

(実施形態28) V H及びV Lを含み、ここで、当該V Hは配列番号18で示されるアミノ酸配列を含み、当該V Lは配列番号23で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該V Hは配列番号41で示されるアミノ酸配列を含み、当該V Lは配列番号46で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該V Hは配列番号66で示されるアミノ酸配列を含み、当該V Lは配列番号68で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該V Hは配列番号67で示されるアミノ酸配列を含み、当該V Lは配列番号69で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該V Hは配列番号95で示されるアミノ酸配列を含み、当該V Lは配列番号96で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該V Hは配列番号103で示されるアミノ酸配列を含み、当該V Lは配列番号104で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～27のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0301】

(実施形態29) 抗体軽鎖定常領域を含む、実施形態1～28のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0302】

(実施形態30) 当該抗体軽鎖定常領域が配列番号71で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～29のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0303】

(実施形態31) 抗体重鎖を含み、ここで、当該抗体重鎖は配列番号73、配列番号86、配列番号81又は配列番号88で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～30のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0304】

(実施形態32) 抗体重鎖及び抗体軽鎖を含み、ここで、当該抗体重鎖は配列番号72で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号73で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該抗体重鎖は配列番号85で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号86で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該抗体重鎖は配列番号80で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号81で示されるアミノ酸配列を含み、又は

ここで、当該抗体重鎖は配列番号87で示されるアミノ酸配列を含み、当該抗体軽鎖は配列番号88で示されるアミノ酸配列を含む、実施形態1～31のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0305】

(実施形態33) 当該抗体又はその抗原結合断片に結合した活性部分をさらに含む、実施形態1～32のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0306】

(実施形態34) 当該活性部分が薬物部分及び／又は標識を含む、実施形態33に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0307】

(実施形態35) 当該薬物部分が細胞傷害性薬物、サイトカイン、核酸、核酸関連分子、放射性核種、ケモカイン、免疫(共)刺激分子、免疫抑制分子、デスリガンド、アポトーシス誘導タンパク質、キナーゼ、プロドラッグ変換酵素、リボヌクレアーゼ、アゴニスト抗体又は抗体断片、アンタゴニスト抗体又は抗体断片、成長因子、ホルモン、凝固因子、線維素溶解タンパク質、これらを模倣したペプチド、及びそれらの断片、融合タンパク質又は誘導体からなる群から選ばれる、実施形態34に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0308】

(実施形態36) 当該標識が放射性標識、発蛍光団、発色団、造影剤及び金属イオンからなる群から選ばれる、実施形態34に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0309】

(実施形態37) 当該細胞傷害性薬物が微小管阻害剤及び／又はDNA損傷剤を含む、実施形態35又は36に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0310】

(実施形態38) 当該細胞傷害性薬物がチューブリン阻害剤及び／又はトポイソメラーゼ阻害剤を含む、実施形態35～37のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0311】

(実施形態39) 当該細胞傷害性薬物がトポイソメラーゼⅠ阻害剤を含む、実施形態35～38のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0312】

(実施形態40) 当該細胞傷害性薬物がカンプトテシン又はその誘導体を含む、実施形態35～39のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0313】

10

20

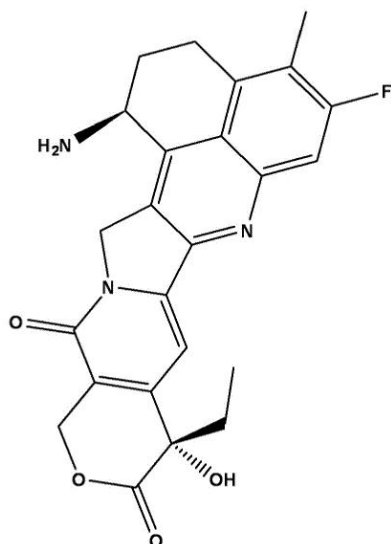
30

40

50

(実施形態 4 1) 当該細胞傷害性薬物が以下の式 I I の構造を含む、実施形態 3 5 ~ 4 0 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【化 4 0】



10

(I I)

【 0 3 1 4 】

20

(実施形態 4 2) 式 (I) の抗体薬物複合体 (A D C) を含み、

$A b - (L - (D)_m)_n$

(I)

ここで、A b は実施形態 1 ~ 4 1 のいずれか 1 つに記載の抗体又は抗原結合タンパク質であり、

L はリンカーであり、

D は薬物部分であり、

m は 1 ~ 8 の整数であり、且つ

n は 1 ~ 1 0 の任意の数字である、実施形態 1 ~ 4 1 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

30

【 0 3 1 5 】

(実施形態 4 3) 当該 L が切断可能なリンカー及び切断不可能なリンカーから選ばれる、実施形態 4 2 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 1 6 】

(実施形態 4 4) 当該 L が切断可能なペプチドを含む、実施形態 4 2 又は 4 3 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 1 7 】

(実施形態 4 5) 当該切断可能なペプチドは酵素によって切断可能である、実施形態 4 4 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 1 8 】

40

(実施形態 4 6) 当該酵素がカテプシン B を含む、実施形態 4 5 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 1 9 】

(実施形態 4 7) 当該切断可能なペプチド又は L がアミノ酸単位を含む、実施形態 4 4 ~ 4 6 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 2 0 】

(実施形態 4 8) 当該アミノ酸単位がジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド又はペンタペプチドを含む、実施形態 4 7 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 2 1 】

50

(実施形態 49) 当該アミノ酸単位が Val-Cit、Val-Ala、Glu-Val-Cit、Ala-Ala-Asn、Gly-Val-Cit、Gly-Gly-Gly 及び Gly-Gly-Phe-Gly から選ばれる、実施形態 47 又は 48 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0322】

(実施形態 50) 当該 L がスペーサーを含む、実施形態 42～49 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0323】

(実施形態 51) 当該スペーサーが自己犠牲スペーサーを含む、実施形態 50 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

10

【0324】

(実施形態 52) 当該自己犠牲スペーサーが p-アミノベンゾキシカルボニル基 (PABC) 又は p-アミノベンジル基 (PAB) を含む、実施形態 51 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0325】

(実施形態 53) 当該切断可能なペプチドは直接当該スペーサーまでスプライスされる、実施形態 44～52 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0326】

(実施形態 54) 当該 L が -Val-Cit-PABC-、-Val-Ala-PABC-、-Glu-Val-Cit-PABC-、-Ala-Ala-Asn-PABC-、-Gly-Val-Cit-PABC-、-Gly-Gly-Gly-PABC-、-Gly-Gly-Phe-Gly-PABC-、-Val-Cit-PAB-、-Val-Ala-PAB-、-Glu-Val-Cit-PAB-、-Ala-Ala-Asn-PAB-、-Gly-Val-Cit-PAB-、-Gly-Gly-Gly-PAB- 又は -Gly-Gly-Phe-Gly-PAB- を含む、実施形態 42～53 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

20

【0327】

(実施形態 55) 当該スペーサーが $-NH-(CH_2)^{n^1}-La-Lb-Lc-$ で示される構造を含み、ここで、La は $-O-$ 又は単結合を表し、Lb は $-CR^2(-CR^3)-$ 又は単結合を表し、ここで、 R^2 及び R^3 はそれぞれ独立して $C_1\sim C_6$ アルキル基、 $-(CH_2)^{n^a}-NH_2$ 、 $-(CH_2)^{n^b}-COOH$ 又は $-(CH_2)^{n^c}-OH$ を表し、 n^1 は 0～6 の整数を表し、 n^a 、 n^b 及び n^c はそれぞれ独立して 1～4 の整数を表し、ただし、 n^a が 0 であるとき、 R^2 と R^3 は同じではなく、Lc は $-C(=O)-$ を表す、実施形態 42～54 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

30

【0328】

(実施形態 56) 当該スペーサーが $-NH-(CH_2)_3-C(=O)-$ 、 $-NH-CH_2-O-CH_2-C(=O)-$ 又は $-NH-(CH_2)_2-O-CH_2-C(=O)-$ を含む、実施形態 55 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

40

【0329】

(実施形態 57) 当該 L が $-L_1-L_2-L_3-$ で示される構造を含み、ここで、 L_1 は $-(スクシンイミジル-3-イル-N)-C(=O)-$ 、 $-CH_2-C(=O)-NH-(CH_2)^{n^2}-C(=O)-$ 又は $-C(=O)-(CH_2)^{n^4}-C(=O)-$ を表し、ここで、 n^2 は 2～8 の整数を表し、 n^3 は 1～8 の整数を表し、 n^4 は 1～8 の整数を表し、 L_2 はアミノ酸単位を表し、 L_3 は自己分解性スペーサーを表す、実施形態 42～56 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0330】

(実施形態 58) 当該 L が、

50

- (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - NH - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - PABC -,
 - CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - PABC -,
 - C(=O) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - NH - CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - NH - CH₂CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - NH - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - NH - CH₂-O-CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - GGFG - NH - CH₂CH₂-O-CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂O - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂-C(=O) -,
 - CH₂-C(=O) - NH - CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂CH₂-C(=O) -,
 - C(=O) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O) - GGFG - NH - CH₂CH₂CH₂-C(=O) -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O) - VA - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - VA - PABC -,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)
) - VA - NH - PABC -,

- (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - C(=O)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-PABC-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - (スクシンイミジル-3-イル-N) - CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-,
 - CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、及び
 - C(=O)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-VA-NH-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-

から選ばれる、実施形態42～57のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0331】

(実施形態59) 当該p-アミノベンゾキシカルボニル基(PABC)又はp-アミノベンジル基(PAB)がポリサルコシン(ポリ-N-メチルグリシン)残基を含む、実施形態52～58のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0332】

(実施形態60) 当該Lが、

10

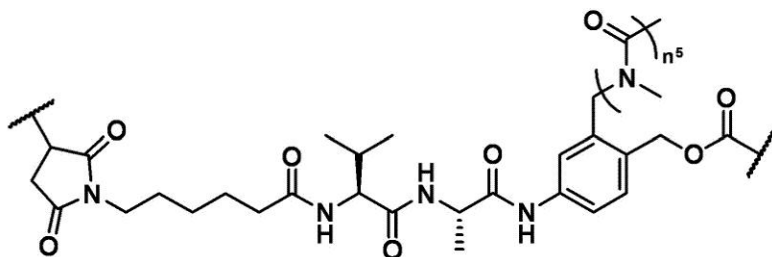
20

30

40

50

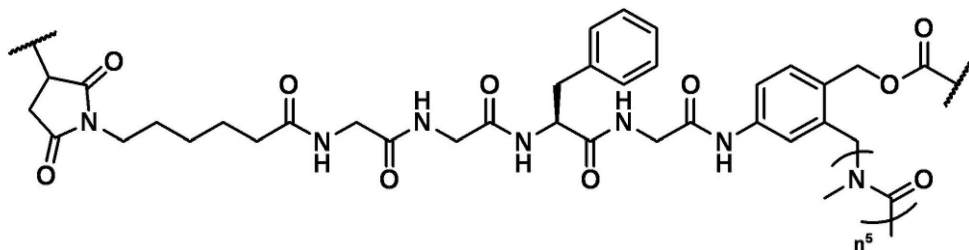
【化 4 1】



及び

10

【化 4 2】



以上の構造から選ばれ、

20

ここで、 n^5 は 0 ～ 20 の整数を表す、実施形態 42 ～ 59 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

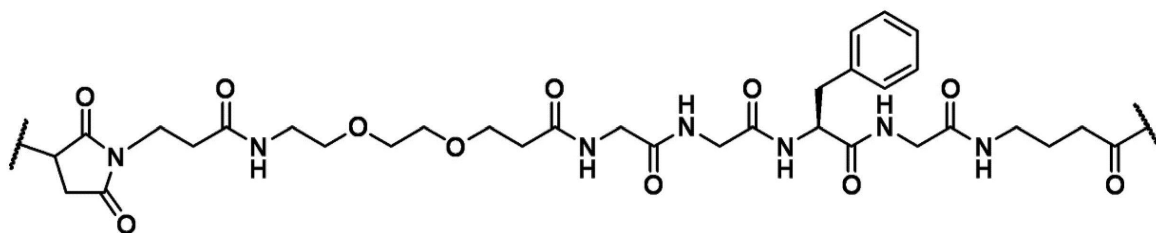
【0333】

(実施形態 61) n^5 が 8 ～ 15 の整数を表す、実施形態 60 に記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

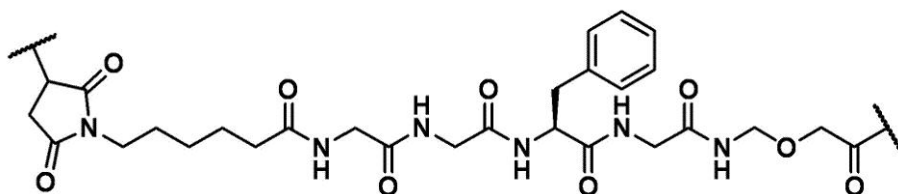
【0334】

(実施形態 62) 当該 L が、

【化 4 3】



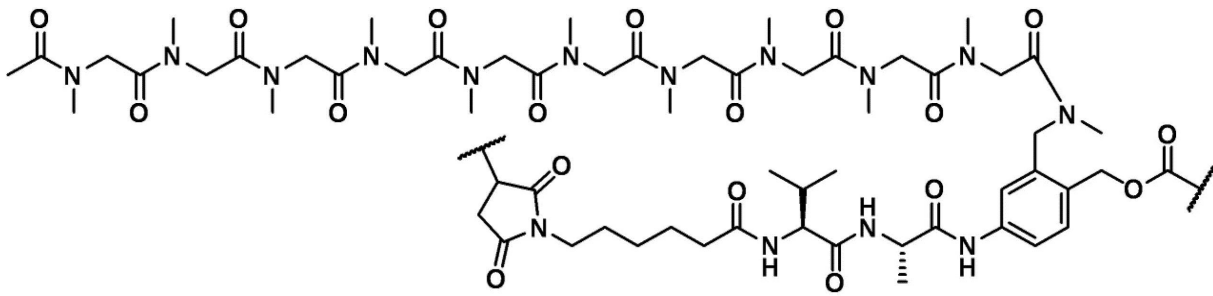
30

、
【化 4 4】

40

50

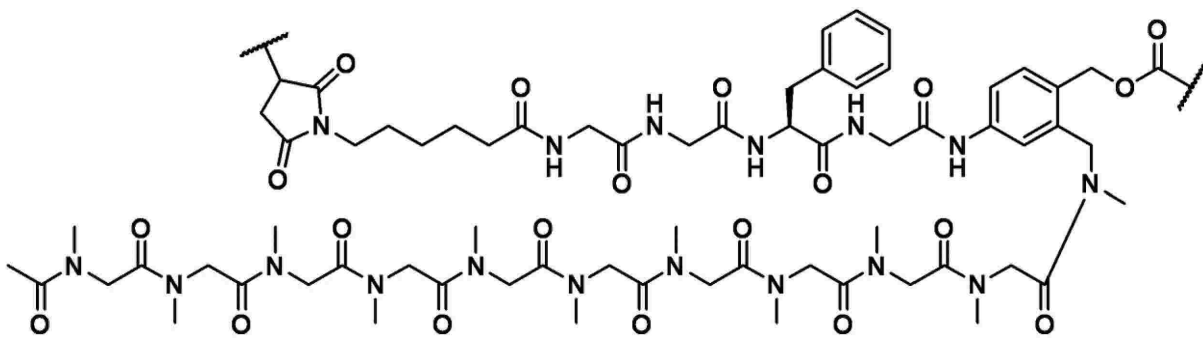
【化 4 5】



10

及び

【化 4 6】



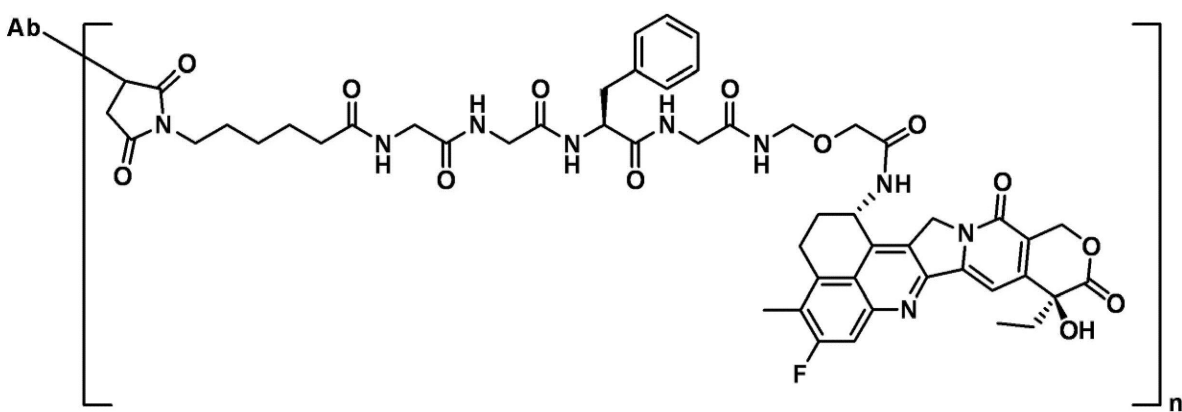
20

以上の構造から選ばれる、実施形態 4 2 ～ 6 1 のいずれか 1 つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【 0 3 3 5】

(実施形態 6 3) 当該抗体薬物複合体が、

【化 4 7】

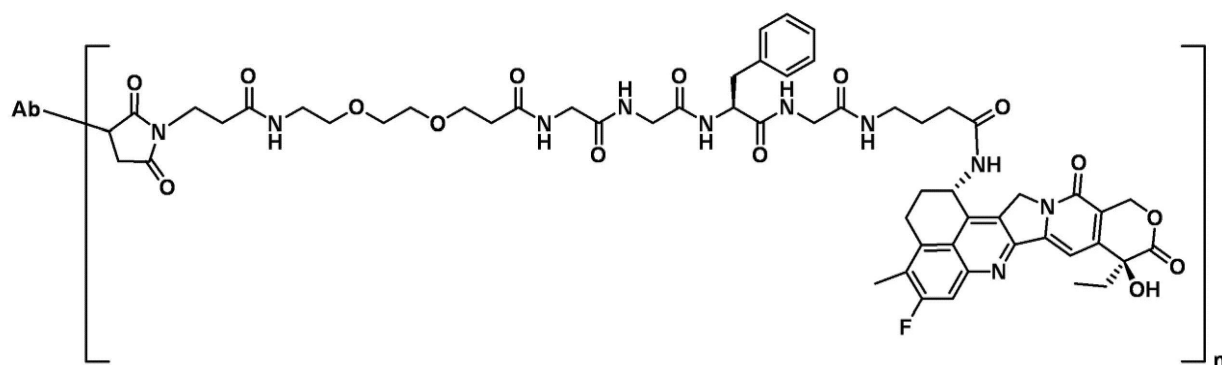


30

40

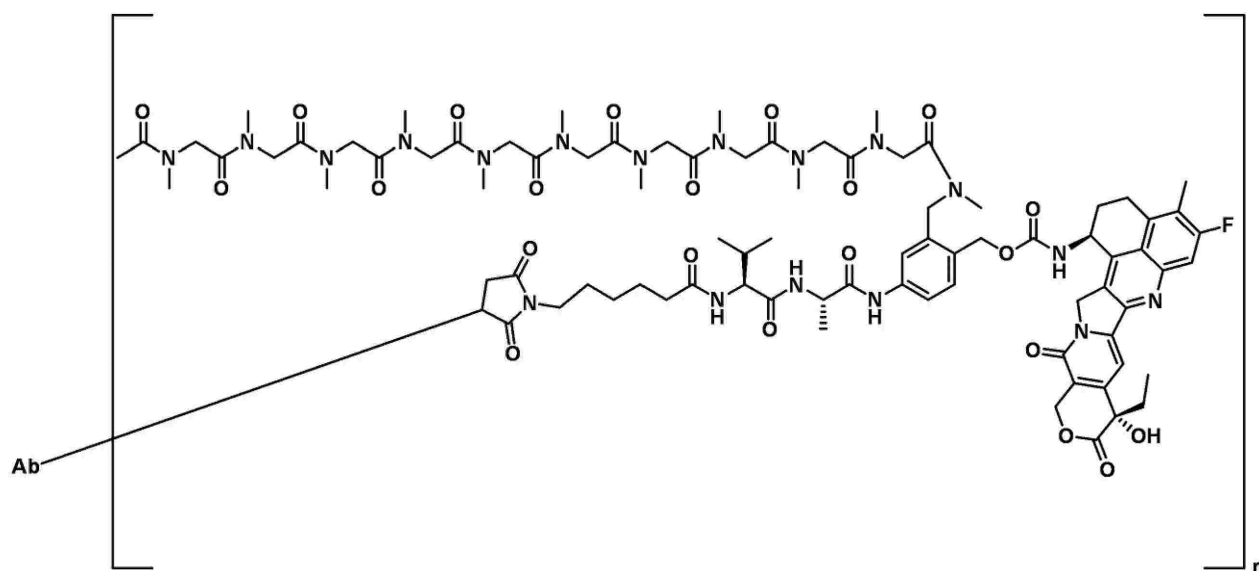
50

【化 4 8】



10

【化 4 9】

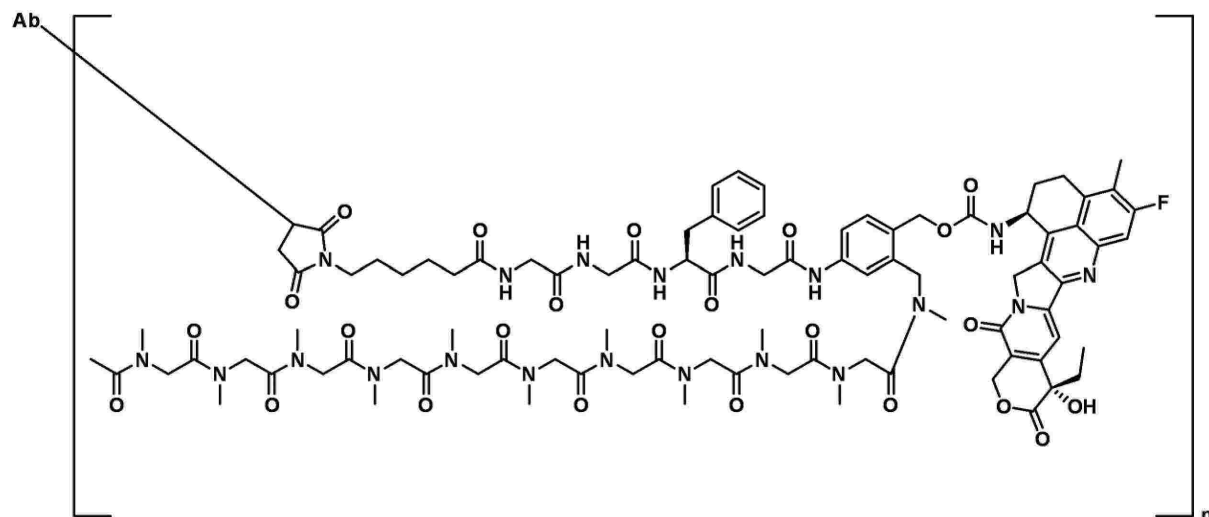


20

及び

30

【化 5 0】



40

以上の構造から選ばれ、

ここで、 n は1～10の任意の数字である、実施形態42～62のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0336】

(実施形態64) n が2～8の任意の数字である、実施形態63に記載の免疫複合体又

50

は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物。

【0337】

(実施形態65) 実施形態1～64のいずれか1つに記載の抗体又はその抗原結合断片を薬物-リンカー中間体化合物と反応させるステップを含む、実施形態1～64のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物の製造方法。

【0338】

(実施形態66) 実施形態1～64のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を含む、医薬組成物。

【0339】

(実施形態67) 薬学的に許容される担体又は賦形剤をさらに含む、実施形態66に記載の医薬組成物。

【0340】

(実施形態68) 腫瘍を治療する薬物の製造における、実施形態1～64のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物又は実施形態66若しくは67に記載の医薬組成物の使用。

【0341】

(実施形態69) 当該腫瘍がCDH6発現腫瘍である、実施形態68に記載の使用。

【0342】

(実施形態70) 当該腫瘍が腎細胞がん、腎臓明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む、実施形態68又は69に記載の使用。

【0343】

(実施形態71) 実施形態1～64のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物を対象に投与することを含む、腫瘍を治療する方法。

【0344】

(実施形態72) 当該腫瘍がCDH6発現腫瘍である、実施形態71に記載の方法

【0345】

(実施形態73) 当該腫瘍が腎細胞がん、腎臓明細胞がん、乳頭状腎細胞がん、卵巣がん、卵巣漿液性腺がん、甲状腺がん、胆管がん、肺がん、小細胞肺がん、膠芽腫、中皮腫、子宮がん、膵臓がん、ウィルムス腫瘍又は神経芽細胞腫を含む、実施形態71又は72に記載の方法。

【0346】

(実施形態74) 実施形態1～64のいずれか1つに記載の免疫複合体又は薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物から選ばれる少なくとも1つの成分と、少なくとも1つの抗腫瘍薬とを含む医薬組成物を対象に同時に、別々に、又は順次投与することを含む、腫瘍を治療する方法。

【0347】

(実施例)

以下の実施例は、当業者に本発明の製造及び使用方法を完全に開示及び記述するために記載されており、発明者がその発明とみなす範囲を限定することを意図したものではなく、また以下の実験が行われた全ての、又は唯一の実験であることを示すことを意図したものでもない。使用される数値（例えば、量、温度など）に関して正確さを確保するための努力をしたが、実験上の誤差及び偏差が多少あることを考慮に入れる必要がある。特に明記しない限り、部は重量部、分子量は重量平均分子量、温度は摂氏度、圧力は大気圧又は大気圧付近である。標準的な略語が使用される場合がある。例えば、b p = 塩基対、k b = キロベース、p l = ピコリットル、s 又は s e c = 秒、m i n = 分、h 又は h r = 時間、a a = アミノ酸、n t = ヌクレオチド、i . m . = 筋肉内（副詞も）、i . p . = 腹腔内（副詞も）、s . c . = 皮下（副詞も）など。

【0348】

10

20

30

40

50

実施例 1：リンカー-ペイロードの製造

1. 1 化合物 LP-1 の調製

ステップ 1：中間体 11-1 の合成

室温で、化合物 11-1 A (Mc-V al-A la-OH、Med Chem Express Shanghai から購入、2.4 g、6.29 mmol) 及び 11-1 B (3.18 g、6.29 mmol) の DCM:MeOH (v:v=2:1、90 mL) 混合物溶液に、EEDQ (1.86 g、7.55 mmol) を加えた。反応物を室温で 24 時間攪拌し、真空下で溶媒を除去し、フラッシュクロマトグラフィーで粗残留物をさらに精製して、化合物 11-1 (3.9 g、71%) を得た。LC-MS (ESI, m/z): 868.49 (M+H)。

10

【0349】

ステップ 2：中間体 11-2 の合成

化合物 11-1 (2 g、2.3 mmol) を無水 THF (50 mL) に溶解し、0℃で、アルゴン雰囲気下、フッ化水素-ピリジン (4.6 g、46 mmol) を加え、次に、反応混合物を 0℃で 2 時間攪拌した。水を加えて反応をクエンチし、DCM で抽出し、有機相を乾燥させ、濃縮した。シリカゲルクロマトグラフィーで残留物を精製して、化合物 11-2 (1.1 g、76%) を得た。LC-MS (ESI, m/z): 630.31 (M+H)。

【0350】

ステップ 3：中間体 11-3 の合成

化合物 11-2 (700 mg、1.11 mmol) を無水 DMF (4 mL) に溶解し、室温で、アルゴン雰囲気下、DIPEA (0.39 mL、2.23 mmol) 及び炭酸ビス(4-ニトロフェニル) (406 mg、1.33 mmol) を加え、室温で反応混合物を一晩攪拌した。濃縮して溶媒を除去し、生成物を MTBE から沈殿させ、濾過して黄色の固体を収集し、ジエチルエーテルで洗浄し、乾燥させて、化合物 11-3 を得て、直接次のステップに使用した。LC-MS (ESI, m/z): 795.41 (M+H)。

20

【0351】

ステップ 4：中間体 11-4 の合成

化合物 11-3 (300 mg、0.44 mmol) を無水 DMF (4 mL) に溶解し、乾燥ピリジン (1 mL) を加え、続いてエキサテカンメシル酸塩 (Med Chem Express Shanghai から購入、234 mg、0.44 mmol) 及び HOBt (60 mg、0.44 mmol) を加えた。反応混合物を室温で、アルゴンの中で一晩攪拌した。分取 HPLC で生成物を精製して、中間体 11-4 (230 mg、48%) を得た。LC-MS (ESI, m/z): 1091.53 (M+H)。

30

【0352】

ステップ 5：中間体 11-5 の合成

化合物 11-4 (200 mg、0.183 mmol) を 1 mL の無水 DCM に溶解し、0℃で 300 µL の TFA を加え、反応混合物を室温で 30 分間攪拌し、濃縮して溶媒を除去し、TFA 塩として中間体 11-5 を得て、これをさらに精製することなく次のステップに使用した。LC-MS (ESI, m/z): 991.47 (M+H)。

40

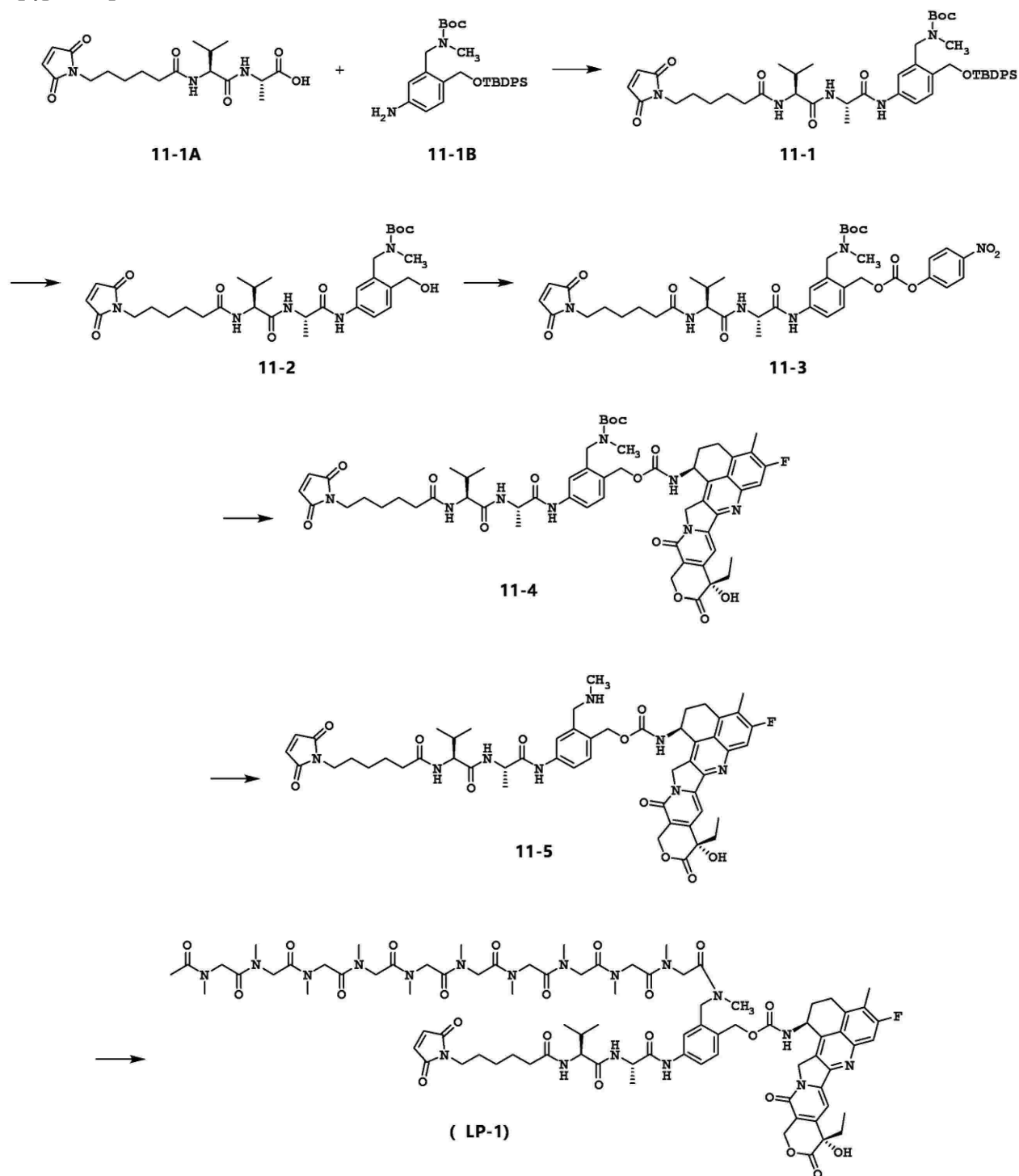
【0353】

ステップ 6：化合物 LP-1 の合成

化合物 11-5 (120 mg、0.109 mmol) を 1 mL の無水 DMF に溶解し、Ac-Sar10-COOH (84 mg、0.109 mmol) を加え、続いて HATU (50 mg、0.130 mmol) 及び DIPEA (38 µL、0.22 mmol) を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌し、濃縮して溶媒を除去し、分取 HPLC で粗生成物を精製して、化合物 LP-1 (74 mg、38%) を得た。LC-MS (ESI, m/z): 1743.85 (M+H)。

50

【化 5 1】



【 0 3 5 4】

1. 2 化合物 LP-2 の調製

10

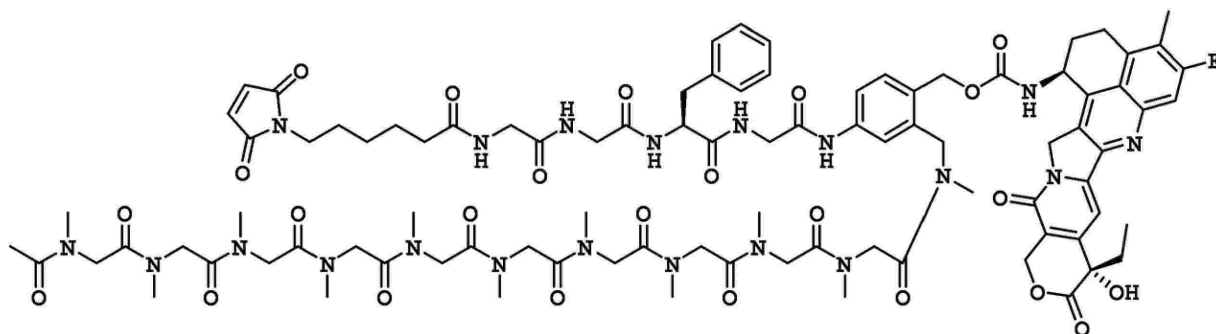
20

30

40

50

【化 5 2】



10

LP-2

化合物LP-2の合成は、化合物LP-1の手順に従って行われ、出発物質11-1AをMc-GFG-OH (Med Chem Express Shanghaiから購入) に置き換えて、ベージュ色の非晶質固体として化合物LP-2を得た。LC-MS (ESI, m/z): 1891.90 (M+H).

【0355】

実施例2: ヒト化抗CDH6抗体の作製とスクリーニング

マウス抗CDH6抗体CLO69707をCDRグラフトイング (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)) によってヒト化した。CLO69707のCDR領域を最も類似したヒト生殖細胞系列配列にグラフトした。重要な主要残基のいくつかを、例えば、Queenら (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)) によって提示された基準に基づいて逆変異した。

20

【0356】

2種のヒト化重鎖変異体をCLO69707-H1、CLO69707-H2と命名した。CLO69707-H1重鎖のアミノ酸配列は、配列番号74に示されている。CLO69707-H2重鎖のアミノ酸配列は、配列番号75に示されている。2種のヒト化軽鎖変異体をCLO69707-L1、CLO69707-L2と命名した。CLO69707-L1軽鎖のアミノ酸配列は、配列番号76に示されている。CLO69707-L2軽鎖のアミノ酸配列は、配列番号77に示されている。

30

【0357】

CLO69707-H1、CLO69707-H2、CLO69707-L1、CLO69707-L2の全長アミノ酸配列をコードするDNA配列を合成し、pCDNA3.1発現ベクターに組み込んだ。293細胞の中で重鎖と軽鎖を組み合わせることにより、抗体CLO69707-H1L1、CLO69707-H1L2、CLO69707-H2L1及びCLO69707-H2L2を生成した。

【0358】

腫瘍細胞に対するヒト化抗体の結合のEC₅₀を次のように測定した。37℃で、5%のCO₂の雰囲気の中、ヒト卵巣がん細胞株OVCAR-3 (National Collection of Authenticated Cell Culturesから購入) の細胞培養物を独立した単層培養物としてインビトロで維持した。トリプシン-EDTA部分消化により細胞を回収し、続いて1000rpmで5分間遠心分離した。細胞を冷PBSに再懸濁し、Ch069707及びCLO69707-H1L1、CLO69707-H1L2、CLO69707-H2L1及びCLO69707-H2L2抗体の系列希釈液を加えた。Ch069707抗体はキメラ抗体であった。可変領域はCLO69707の可変領域と同じであり、定常領域はヒトIgG1定常領域 (配列番号70及び配列番号71) と同じであった。細胞溶液を混合して、4℃でインキュベートし、第2抗体複合体 (検出用) を加える前に冷PBSで洗浄した。4℃でのインキュベーション後、PBSで細胞を洗浄し、次に、フローサイトメトリー (FACS) 分析にかけた。図1A

40

50

は、CL069707-H1L1、CL069707-H1L2、CL069707-H2L1及びCL069707-H2L2がOVCA R-3細胞に対して同様のEC₅₀を有したことを示している。図1Bは、CL069707-H1L1のOVCA R-3細胞に対するEC₅₀がCh069707のそれよりわずかに低かったことを示している。

【0359】

マウス抗CDH6抗体CL069463を同様の方法でヒト化した。結果を図2に示す。CL069463-H1L1、CL069463-H2L2、CL069463-H2L3は、OVCA R-3細胞に対してCh069463と同様のEC₅₀を有した。Ch069463抗体はキメラ抗体であった。可変領域はCL069463の可変領域と同じであり、定常領域はヒトIgG1定常領域（配列番号70及び配列番号71）と同じであった。

10

【0360】

実施例3：ヒト化CL069707-H1L1のインビトロ評価

3.1 CL069707-H1L1のヒトCDH6、CDH9及びCDH10への結合の分析

CDH9及びCDH10は、CDH6に最も密接に関係しているファミリーメンバーである。CL069707-H1L1のヒトCDH6、CDH9及びCDH10 ECDドメインへの結合をELISA結合アッセイによって分析した。ヒトCDH6-ECD-His、CDH9-ECD-His及びCDH10-ECD-His抗原は、Acro Biosystems, Inc. から入手した。PBSで希釈した1µg/mLの抗原100µLを96ウェルプレートに加え、4℃で一晩インキュベートした。当該プレートを300µLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。次に、1%のBSAブロッキング試薬を100µL/ウェルでプレートに加え、37℃で1時間インキュベートした後、ブロッキング試薬を捨てた。CL069707-H1L1の3倍系列希釈液をプレートに加えた後、37℃で1時間インキュベートした。次に、当該プレートを300µLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。1%のBSAで希釈したHRP結合抗ヒト抗体を100µL/ウェルでプレートに加えた後、37℃で1時間インキュベートした。当該プレートを300µLの洗浄緩衝液で3回洗浄した。TMB基質を100µL/ウェルでプレートに加え、室温で約10分間インキュベートした。次に、停止溶液100µL/ウェルで反応を停止した。プレートリーダーでOD450を読み取ってデータを処理した。結果を図3に示す。CL069707-H1L1は、ヒトCDH6-ECD-HisにEC₅₀ 0.1nMで結合し、CL069707-H1L1はCDH9-ECD-His又はCDH10-ECD-Hisタンパク質に結合しない。

20

30

【0361】

3.2 ヒト、カニクイザル、マウス及びラットCDH6抗原に対するCL069707-H1L1のELISA結合EC₅₀の評価

ヒト、カニクイザル、マウス又はラットCDH6抗原に対するCL069707-H1L1の結合をELISAで分析した。ヒト、カニクイザル、マウス及びラットCDH6-ECD-His抗原はAcro Biosystems, Inc. から入手した。ELISAは実施例3.1と同じ方法で行った。結果を図4に示す。CL069707-H1L1は、同様のEC₅₀でヒト、カニクイザル、マウス及びラットCDH6-ECD-His抗原に結合する。

40

【0362】

3.3 CL069707-H1L1及びCh069707のヒト及びカニクイザルCDH6抗原に対する結合定数の評価

バイオレイヤー干渉(BLI)技術に基づくOctet(登録商標)システムを用いてCL069707-H1L1及びCh069707の結合親和性を測定した。抗体を100nMの濃度でAHC(抗hIgG Fcキャプチャー)にロードした。次に、3.13nM、6.25nM、12.5nM、25nM、50nM及び100nMのヒトCDH6-ECD-His又はカニクイザルCDH6-ECD-His抗原を抗体結合バイオセン

50

サーチアップとインキュベートし、抗原と抗体の結合を測定した。各抗原濃度から得られた6つの異なる結合曲線から、1:1結合モデルに基づいて結合定数(KD)を計算した。結果を表2に示す。CL069707-H1L1及びCh069707は同様の親和性でヒトCDH6-ECD-His抗原に結合する。CL069707-H1L1は同様の親和性でヒトCDH6-ECD-His及びカニクイザルCDH6-ECD-His抗原に結合する。

【表3】

表2

抗体	抗原	KD(M)
Ch069707	カニクイザル CDH6-ECD-His	2.19E-09
Ch069707	ヒト CDH6-ECD-His	2.28E-9
CL069707-H1L1	カニクイザル CDH6-ECD-His	2.69E-9
CL069707-H1L1	ヒト CDH6-ECD-His	3.08E-9

10

【0363】

実施例4：抗体薬物複合体の製造

抗体薬物複合体を製造する一般的な方法

本発明の抗体薬物複合体に使用できる抗体は、内在化活性を有する抗CDH6抗体又は当該抗体の機能的断片であれば特に限定されない。

【0364】

20

次に、本発明の抗体薬物複合体の典型的な製造方法を記述する。なお、以下の記述で、各反応スキームで示される「化合物番号」は、化合物を表すために用いられる。具体的には、各化合物を「式(1)の化合物」「化合物(1)」などと称する。他の化合物番号についても同様である。

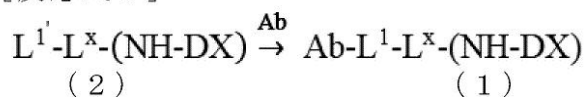
【0365】

抗CDH6抗体がチオエーテルを介してリンカー構造に連結されている、以下の式(1)で表される抗体薬物複合体は、抗CDH6抗体の還元によりジスルフィド結合から変換されたスルフィドリル基を有する抗体と化合物(2)とを反応させることにより製造されてもよい。当該抗体薬物複合体は、例えば、以下の方法で製造されてもよい。

【化53】

30

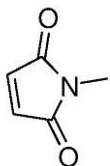
[反応式1]



ここで、Abはスルフィドリル基を有する抗体を表し、ただし、 L^1 は-(スクシンイミジル-3-イル-N)-で表される構造を有し、 $L^{1'}$ は下式で表されるマレイミジル基を表す。

【化54】

[式1]

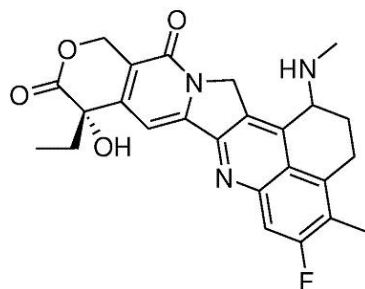


40

ここで、(NH-DX)は下式で表される構造を有する。

50

[式 2]



50

50

【0366】

上記の反応スキームでは、抗体薬物複合体（1）は、1つの抗体に対して薬物からリンカー末端までの1つの構造部分が連結した構造を有するものと理解される。しかしながら、このように記述しているのは便宜を図るためで、実際には1つの抗体分子に対して上記の構造部分が複数連結している場合が多い。以下に記述される製造方法の解釈について同様である。

【0367】

スルフィドリル基を有する抗体は、当業者に熟知される方法（Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, pp. 56-136, pp. 456-493, Academic Press (1996)）により得てもよい。当該方法の例には、抗体のアミノ基とトラウト試薬を反応させること、抗体のアミノ基とN-スクシンイミジルS-アセチルチオアルカノエートを反応させ、続いてヒドロキシアミンと反応させること、抗体とN-スクシンイミジル3-（ピリジルジチオ）プロピオネートを反応させ、次に、還元剤と反応させること、抗体とジチオトレイトール、2-メルカプトエタノール又はトリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（TCEP）などの還元剤を反応させて抗体中の鎖間ジスルフィド結合を還元することにより、スルフィドリル基を形成することが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0368】

具体的には、抗体中の鎖間ジスルフィド結合1個当たり0.3～3モル当量のTCEPを還元剤として用い、キレート剤を含む緩衝溶液中で抗体と反応させることにより、鎖間ジスルフィド結合が部分的又は完全に還元された抗体を得ることができる。当該キレート剤としては、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）などが挙げられる。当該キレート剤は1～20mMの濃度で使用されてもよい。当該緩衝溶液としては、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、酢酸ナトリウムなどの溶液を使用してもよい。

【0369】

なお、薬物-リンカー部分へのスルフィドリル基の付加反応により、当該薬物-リンカー部分をチオエーテル結合により結合させることができる。

【0370】

次に、スルフィドリル基を有する抗体1個当たり2～20モル当量の化合物（2）を用いて、抗体1個当たり2～8個の薬物分子が結合した抗体薬物複合体（1）を製造することができる。具体的には、スルフィドリル基を有する抗体を含有する緩衝溶液に、化合物（2）を溶解した溶液を加えて反応させてもよい。この場合に、緩衝溶液としては、酢酸ナトリウム溶液、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウムなどを使用してもよい。当該反応のpHは5～9であり、より好ましくはpH7付近で反応させてもよい。化合物（2）を溶解する溶媒としては、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ジメチルホルムアミド（DMF）、ジメチルアセトアミド（DMA）、又はN-メチル-2-ピロリドン（NMP）などの有機溶媒を使用してもよい。当該反応は、化合物（2）を有機溶媒に1～20% v/v溶解した溶液を、スルフィドリル基を有する抗体を含有する緩衝溶液に加えることにより行ってもよい。反応温度は0～37℃で、より好ましくは10～25℃であり、反応時間は0.5～2時間である。反応は、未反応の化合物（2）の反応性をチオール含有試薬で不活性化することにより停止させてもよい。チオール含有試薬としては、例えば、システイン又はN-アセチル-L-システイン（NAC）が挙げられる。より具体的には、使用した化合物（2）に対して1～2モル当量のNACを加え、得られた混合物を室温で10～30分間インキュベートすることにより反応を停止させてもよい。

【0371】

（抗体薬物複合体の同定）

以下に記述される通常の手順に従って、製造された抗体薬物複合体（1）に対して濃縮、緩衝液交換、精製、抗体濃度及び抗体分子当たりの結合薬物分子の平均数の測定を行って、抗体薬物複合体（1）を同定してもよい。

10

20

30

40

50

【0372】

通常の手順A：抗体又は抗体薬物複合体の水溶液の濃縮

Amicon Ultra (50000MWCO、Millipore Corporation) 容器に抗体又は抗体薬物複合体の溶液を加え、遠心分離 (2000~3800Gで5~20分間遠心分離) により当該抗体又は抗体薬物複合体の溶液を濃縮した。

【0373】

通常の手順B：抗体濃度の測定

マイクロプレートリーダー (Multiskan GO、Thermo Scientific Inc.) を使用して、製造元が規定した方法に従って抗体の吸光度を測定した。この場合に、抗体ごとに異なる280nmの吸光係数 ($1.3 \sim 1.8 \text{ mL mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) を用いた。

10

【0374】

通常の手順C：抗体の緩衝液交換

製造元が規定した方法に従って、塩化ナトリウム (50mM) 及びEDTA (2mM) を含有するリン酸緩衝液 (50mM、pH 7.0) (本明細書ではPBS 7.0/EDTAと称する) でZeba (商標) 脱塩スピカラム (5mL、40kMWCO、Thermo Scientific (商標)) を平衡化した。抗体の水溶液をZeba (商標) (5mL) カラムあたり2mLの量でロードした後、脱塩カラムを遠心分離 (1000Gで4分間遠心分離) して画分 (約2mL) を収集した。当該画分を通常の手順Aによって濃縮してもよい。通常の手順Bを用いて抗体濃度を測定した後、PBS 7.0/EDTAを使用して抗体濃度が10mg/mLを超えるように調整した。

20

【0375】

通常の手順D：抗体薬物複合体の精製

塩化ナトリウム (150mM) を含有するヒスチジン-酢酸塩緩衝液 (20mMヒスチジン、pH 5.5) 又は塩化ナトリウム (50mM) を含有するリン酸緩衝液 (50mM、pH 7.0) などのいずれかの入手可能な製剤緩衝溶液でZeba (商標) 脱塩スピカラム (5mL、40kMWCO、Thermo Scientific (商標)) を平衡化した。抗体薬物複合体の水性反応溶液 (約2mL) をZeba (商標) カラム (5mL) にロードし、次に、脱塩カラムを遠心分離 (1000Gで4分間遠心分離) して抗体画分 (約2mL) を収集した。収集した画分を再びZeba (商標) 脱塩カラムにロードし、遠心分離により溶出するゲル濾過精製プロセスを合計で2回繰り返して、非結合リンカー-ペイロード及び低分子量化合物 (トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン塩酸塩 (TCEP)、N-アセチル-L-システイン (NAC)、ジメチルスルホキシド) を除いた抗体薬物複合体を得た。

30

【0376】

通常の手順E：抗体薬物複合体中の抗体濃度と抗体分子当たりの結合薬物分子の平均数の測定

抗体薬物複合体中の結合薬物濃度は、抗体薬物複合体の水溶液のUV吸光度を280nmと370nmの2つの波長で測定し、次に、以下に示す計算を行うことによって算出してもよい。

40

【0377】

任意の所定の波長における総吸光度は、系内に存在する全ての光吸収化学種の吸光度の合計に等しい「吸光度の加法性」。したがって、抗体と薬物のモル吸光係数は抗体と薬物の結合の前後で変化しないという仮説に基づいて、抗体薬物複合体中の抗体濃度と薬物濃度は下式で表される。

$$A_{280} = A_D, 280 + A_{A, 280} = \epsilon_{D, 280} C_D + \epsilon_{A, 280} C_A \quad \text{式 (1)}$$

$$A_{370} = A_D, 370 + A_{A, 370} = \epsilon_{D, 370} C_D + \epsilon_{A, 370} C_A \quad \text{式 (2)}$$

【0378】

この場合に、 A_{280} は抗体薬物複合体の水溶液の280nmでの吸光度を表し、 A_{370} は抗体薬物複合体の水溶液の370nmでの吸光度を表し、 $A_{A, 280}$ は抗体の2

50

80 nmでの吸光度を表し、 $A_{A, 370}$ は抗体の370 nmでの吸光度を表し、 $A_{D, 280}$ は複合体前駆体の280 nmでの吸光度を表し、 $A_{D, 370}$ は複合体前駆体の370 nmでの吸光度を表し、 $\epsilon_{A, 280}$ は抗体の280 nmでのモル吸光係数を表し、 $\epsilon_{A, 370}$ は抗体の370 nmでのモル吸光係数を表し、 $\epsilon_{D, 280}$ は複合体前駆体の280 nmでのモル吸光係数を表し、 $\epsilon_{D, 370}$ は複合体前駆体の370 nmでのモル吸光係数を表し、 C_A は抗体薬物複合体中の抗体濃度を表し、 C_D は抗体薬物複合体中の薬物濃度を表す。

【0379】

この場合に、 $\epsilon_{A, 280}$ 、 $\epsilon_{A, 370}$ 、 $\epsilon_{D, 280}$ 、及び $\epsilon_{D, 370}$ については、予め用意された値（計算による推定値又は化合物のUV測定による測定値）が用いられる。例えば、 $\epsilon_{A, 280}$ は、既知の計算方法（Protein Science, 1995, vol. 4: 2411-2423）により抗体のアミノ酸配列から推定されてもよい。 $\epsilon_{A, 370}$ は一般的にゼロである。 $\epsilon_{D, 280}$ 及び $\epsilon_{D, 370}$ は、使用する複合体前駆体を特定のモル濃度で溶解した溶液の吸光度を測定することにより、ランベルト・ベールの法則（吸光度モル濃度×モル吸光係数×セルパス長）に従って得てもよい。 C_A 及び C_D は、抗体薬物複合体の水溶液の A_{280} 及び A_{370} を測定し、次に、それらの値を代入して式（1）と式（2）の連立方程式を解くことにより決定してもよい。さらに、 C_D を C_A で割って、抗体あたりの結合薬物分子の平均数を決定してもよい。

【0380】

通常の手順F：抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数の測定－（2）

抗体薬物複合体中の抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数は、上記の「通常の手順E」の他に、次の方法を用いる液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）による分析で測定してもよい。以下では、抗体がジスルフィド結合によってリンカー-ペイロードに結合している場合の結合薬物分子の平均数をLC-MSで測定する方法について記述する。当業者は、当該方法を参照して、抗体とリンカー-ペイロードとの連結の方式に応じて、結合薬物分子の平均数をLC-MSで適切に測定することができる。

【0381】

LC-MS分析用のサンプルの調製（抗体薬物複合体の還元）

抗体薬物複合体溶液（約5 mg/mL、6 μ L）をジチオトレイトール（DTT）の水溶液（100 mM、3 μ L）と21 μ Lの水と混合した。37°Cで混合物を30分間インキュベートすることにより、抗体薬物複合体の軽鎖と重鎖との間のジスルフィド結合を切断する。得られたサンプルをLC-MS分析に使用する。

【0382】

（HPLCパラメータ）

カラム：Agilent PLRP-S、1000 Å、50×2.1 mm、8 μ m

検出波長：280 nm

バンド幅：4 nm

カラムオープン温度：80°C

オートサンプラーサーモスタット：5°C

流量：0.5 mL/分

注入量：5 μ L

移動相A：0.05%のTFA、H₂O

移動相B：0.05%のTFA、ACN

勾配プログラム（B%）：25%－34%（0～0.7分）、34%－45%（0.7～5分）、45%－90%（5～6分）、90%（6～7分）、90%－25%（7～7.10分）、25%（7.10～10分）

（MSパラメータ）

ガス温度：350°C

乾燥ガス：13 L/分

ネブライザー圧力：45 psig

キャピラリー電圧：5000V
 フラグメンター電圧：350V
 質量範囲：500～8000m/z
 取得速度：1スペクトル／秒

【0383】

(データ分析)

ESIスキャングラムにより、薬物分子に結合した軽鎖（i薬物分子に結合した軽鎖L_i）と薬物分子に結合した重鎖（i薬物分子に結合した重鎖H_i）を検出することができる。

【0384】

各鎖のピーク面積比（%）は、ピーク面積の総補正值に対して、以下の式に従って計算される。

i薬物分子に結合した軽鎖のピーク面積比 = $100\% \times A_{Li} / (A_{L0} + A_{L1})$

i薬物分子に結合した重鎖のピーク面積比 = $100\% \times A_{Hi} / (A_{H0} + A_{H1} + A_{H2} + A_{H3})$

【0385】

抗体薬物複合体中の抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数は、以下の式に従って計算される。

結合薬物分子の平均数 = $(L0 \text{ピーク面積比} \times 0 + L1 \text{ピーク面積比} \times 1 + H0 \text{ピーク面積比} \times 0 + H1 \text{ピーク面積比} \times 1 + H2 \text{ピーク面積比} \times 2 + H3 \text{ピーク面積比} \times 3) \times 2$

【0386】

通常の手順G：抗体薬物複合体中の抗体凝集の測定

抗体薬物複合体中の凝集は、以下の方法を用いる高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析におけるサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって決定されてもよい。

【0387】

HPLCシステム：Agilent 1260 Infinity II HPLCシステム（Agilent Technologies, Inc.）

検出器：紫外線吸収分光計（測定波長：280nm）

SECカラム：TOSOH TSKgel G3000SWXL（7.8×300mm、5μm）

移動相：200mmol/LのKH₂PO₄、150mmol/LのNaCl、15%（v/v）のイソプロパノール、pH7.0

流量：0.75mL／分

アイソクラティック作業：18分

カラム温度：室温

サンプル注入量：50μg

【0388】

(データ分析)

品質管理（QC、CL069707-H1L1）のSECクロマトグラムを図5Aに示しており、主なQC生成物の分子量は約150kDaで、モノマーの保持時間は約9.5～10.5分であることが確認されている。また、凝集の保持時間はモノマーの保持時間より早い。

【0389】

通常の手順H：抗体薬物複合体中の抗体の親水性の比較

抗体薬物複合体の親水性は、以下の方法を用いる高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析における疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）によって決定されてもよい。

【0390】

HPLCシステム：Agilent 1260 Infinity II HPLCシ

システム (Agilent Technologies, Inc.)

検出器：紫外線吸収分光計 (測定波長：280 nm)

HIC-カラム：TOSOH TSK gel Butyl-NPR (内径4.6 mm × 3.5 cm、2.5 μm)

移動相A：1.5 mol/Lの(NH₄)₂SO₄、50 mmol/LのKH₂PO₄、pH 7.0

移動相B：50 mmol/LのKH₂PO₄、25% (v/v)のイソプロパノール、pH 7.0

アイソクラティック作業：25分

カラム温度：室温

勾配プログラム (B%)：0% - 25% (0~1分)、25% (1~3分)、25% - 80% (3~13分)、80% (13~17分)、80% - 0% (17~17.10分)、0% (17.10~25分)

サンプル注入量：10 μL

【0391】

(データ分析)

品質管理 (QC、CL069707-H1L1)のHICクロマトグラムを図5Bに示した。非結合抗体と比較して、抗体薬物複合体はより高い疎水性を示すため、保持時間がより長い。保持時間が短いほど、サンプルの親水性は良いことが確認されている。

【0392】

4.1 CL069707-H1L1-薬物複合体の製造

4.1.1 抗体薬物複合体CL069707-H1L1-LP1の製造

ステップ1：抗体薬物複合体

抗体の還元であって、CL069707-H1L1を、製造方法に記述されている通常の手順B (1.423 mg mL⁻¹ cm⁻¹を280 nmの吸光係数として用いる)及びCを利用して、PBS 7.0/EDTAで9 mg/mLに調整した。この溶液 (1.099 mL)に5 mM TCEPの水溶液 (0.101 mL、抗体分子あたり7.0当量)を加えた。溶液のpHが7.0 ± 0.1以内であることを確認した後、この溶液を37℃で2時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0393】

抗体とリンカー-ペイロードの結合であって、上記の溶液を4℃で10分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中のLP1の10 mMの溶液 (0.108 mL、抗体分子あたり15当量)を加え、得られた混合物を22℃で30分間インキュベートしてリンカー-ペイロードを抗体に結合させた。

【0394】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順Dで精製して、1.2 mLの表題の抗体薬物複合体「CL069707-H1L1-LP1」を含有する溶液を得た。

【0395】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順E (ε_{D, 280} = 6384、ε_{D, 370} = 16180を用いる)、手順F、手順G及び手順Hを利用して、次の特性値を得た。

【0396】

抗体濃度：7.82 mg/mL、通常の手順Eで測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n)：8.55。通常の手順Fで測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n)：7.65。通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体の凝集：2.83% (図6A)。通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体の保持時間：7.505分 (図6B)。

【0397】

4.1.2 抗体薬物複合体CL069707-H1L1-LP2の製造

ステップ1：抗体薬物複合体

抗体の還元であって、CL069707-H1L1を、製造方法に記述されている通常の手順B（ $1.423\text{ mL mg}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ を 280 nm の吸光係数として用いる）及びCを利用して、PBS 7.0/EDTAで 9 mg/mL に調整した。この溶液（ 1.099 mL ）に 5 mM TCEPの水溶液（ 0.101 mL 、抗体分子あたり 7.0 当量）を加えた。溶液のpHが 7.0 ± 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37°C で2時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0398】

抗体とリンカーペイロードの結合であって、上記の溶液を 4°C で10分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中のLP2の 10 mM の溶液（ 0.108 mL 、抗体分子あたり 15 当量）を加え、得られた混合物を 22°C で30分間インキュベートしてリンカーペイロードを抗体に結合させた。

【0399】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順Dで精製して、 1.2 mL の表題の抗体薬物複合体「CL069707-H1L1-LP2」を含有する溶液を得た。

【0400】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順E（ $\epsilon_{D, 280} = 5814$ 、 $\epsilon_{D, 370} = 14742$ を用いる）、手順F、手順G及び手順Hを利用して、次の特性値を得た。

【0401】

抗体濃度： 7.37 mg/mL 、通常の手順Eで測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数（ n ）： 9.27 。通常の手順Fで測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数（ n ）： 7.72 。通常の手順Gで測定した抗体薬物複合体の凝集： 2.96% （図7A）。通常の手順Hで測定した抗体薬物複合体の保持時間： 7.820 分（図7B）。

【0402】

4.1.3 抗体薬物複合体CL069707-H1L1-GGFG-DXdの製造 ステップ1：抗体薬物複合体

抗体の還元であって、CL069707-H1L1を、製造方法に記述されている通常の手順B（ $1.423\text{ mL mg}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ を 280 nm の吸光係数として用いる）及びCを利用して、PBS 7.0/EDTAで 9 mg/mL に調整した。この溶液（ 0.275 mL ）に 5 mM TCEPの水溶液（ 0.025 mL 、抗体分子あたり 7.0 当量）を加えた。溶液のpHが 7.0 ± 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37°C で2時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0403】

抗体とリンカーペイロードの結合であって、上記の溶液を 4°C で10分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中のGGFG-DXd（DC Chemicalsから購入、DC7556）の 10 mM の溶液（ 0.027 mL 、抗体分子あたり 15 当量）を加え、得られた混合物を 22°C で30分間インキュベートしてリンカーペイロードを抗体に結合させた。

【0404】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順Dで精製して、 0.3 mL の表題の抗体薬物複合体「CL069707-H1L1-GGFG-DXd」を含有する溶液を得た。

【0405】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順E（ $\epsilon_{D, 280} = 5178$ 、 $\epsilon_{D, 370} = 20217$ を用いる）、手順G及び手順Hを利用して、次の特性値を得た。

【0406】

10

20

30

40

50

抗体濃度：6.78 mg/mL、通常の手順 E で測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n)：6.88。通常の手順 G で測定した抗体薬物複合体の凝集：0.92 % (図 8 A)。通常の手順 H で測定した抗体薬物複合体の保持時間：8.802 分 (図 8 B)。

【0407】

4.1.4 抗体薬物複合体 DS-6000a (本明細書では参照 ADC と称する) の製造

ステップ 1：抗体薬物複合体

DS-6000a mAb (本明細書では参照抗体と称する) の配列は、US 2020/0390900 A1 (抗体 H01L02) に開示されていた。参照抗体の重鎖可変領域の配列は、配列番号 105 に示されている。参照抗体の軽鎖可変領域の配列は、配列番号 106 に示されている。参照抗体の重鎖定常領域及び軽鎖定常領域の配列は、それぞれ、配列番号 70 及び配列番号 71 に示されている。

10

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRNFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGETEYAKFKQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYGGFAGGYFD FWGQG T L V T V S S (配列番号 109)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNIYKNLAWYQQKPGKAPKLLIYDANTLQTGVPSTRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYSGWAFGQGTKEIK (配列番号 110)

20

【0408】

抗体の還元であって、参照抗体を、製造方法に記載されている通常の手順 B (1.678 mL mg⁻¹ cm⁻¹ を 280 nm の吸光係数として用いる) 及び C を利用して、PBS 7.0/EDTA で 14.8 mg/mL に調整した。この溶液 (0.659 mL) に 5 mM TCEP の水溶液 (0.130 mL、抗体分子あたり 10.0 当量) を加えた。溶液の pH が 7.0 ± 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37°C で 2 時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0409】

抗体とリンカー-ペイロードの結合であって、上記の溶液を 4°C で 10 分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中の GGFg-DXd の 10 mM の溶液 (0.098 mL、抗体分子あたり 15 当量) を加え、得られた混合物を 22°C で 30 分間インキュベートしてリンカー-ペイロードを抗体に結合させた。

30

【0410】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記載されている通常の手順 D で精製して、1.4 mL の表題の抗体薬物複合体「参照 ADC」を含有する溶液を得た。

【0411】

特性決定であって、製造方法に記載されている通常の手順 E ($\epsilon_{D, 280} = 5178$ 、 $\epsilon_{D, 370} = 20217$ を用いる)、手順 G 及び手順 H を利用して、次の特性値を得た。

【0412】

40

抗体濃度：4.46 mg/mL、通常の手順 E で測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n)：7.02。通常の手順 G で測定した抗体薬物複合体の凝集：2.68 % (図 9 A)。通常の手順 H で測定した抗体薬物複合体の保持時間：7.672 分 (図 9 B)。

【0413】

4.1.5 抗体薬物複合体参照抗体-LP1 の製造

ステップ 1：抗体薬物複合体

抗体の還元であって、参照抗体を、製造方法に記載されている通常の手順 B (1.678 mL mg⁻¹ cm⁻¹ を 280 nm の吸光係数として用いる) 及び C を利用して、PBS 7.0/EDTA で 12.7 mg/mL に調整した。この溶液 (0.106 mL)

50

に 5 mM TCEP の水溶液 (12.6 μ L、抗体分子あたり 7 当量) を加えた。溶液の pH が 7.0 $\pm$ 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37 $^{\circ}$ C で 2 時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0414】

抗体とリンカー-ペイロードの結合であって、上記の溶液を 4 $^{\circ}$ C で 10 分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中の LP1 の 10 mM の溶液 (13.5 μ L、抗体分子あたり 15 当量) を加え、得られた混合物を 22 $^{\circ}$ C で 30 分間インキュベートしてリンカー-ペイロードを抗体に結合させた。

【0415】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順 D で精製して、200 μ L の表題の抗体薬物複合体「参照抗体-LP1」を含有する溶液を得た。

10

【0416】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順 E (ϵ_D , 280 = 6384、 ϵ_D , 370 = 16180 を用いる)、手順 G 及び手順 H を利用して、次の特性値を得た。

【0417】

抗体濃度: 8.07 mg/mL、通常の手順 E で測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n): 7.11。通常の手順 G で測定した抗体薬物複合体の凝集: 0.89% (図 10A)。通常の手順 H で測定した抗体薬物複合体の保持時間: 6.422 分 (図 10B)。

20

【0418】

4.1.6 抗体薬物複合体ヒト IgG-LP1 の製造

ステップ 1: 抗体薬物複合体

抗体の還元であって、ヒト IgG (Solarbio から購入) を、製造方法に記述されている通常の手順 B (1.35 mL mg^{-1} cm^{-1} を 280 nm の吸光係数として用いる) 及び C を利用して、PBS 7.0/EDTA で 10 mg/mL に調整した。この溶液 (1.33 mL) に 5 mM TCEP の水溶液 (0.267 mL、抗体分子あたり 10 当量) を加え。溶液の pH が 7.0 $\pm$ 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37 $^{\circ}$ C で 2 時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0419】

30

抗体とリンカー-ペイロードの結合であって、上記の溶液を 4 $^{\circ}$ C で 10 分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中の LP1 の 10 mM の溶液 (0.2 mL、抗体分子あたり 15 当量) を加え、得られた混合物を 22 $^{\circ}$ C で 30 分間インキュベートしてリンカー-ペイロードを抗体に結合させた。

【0420】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順 D で精製して、2 mL の表題の抗体薬物複合体「ヒト IgG-LP1」を含有する溶液を得た。

【0421】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順 E (ϵ_D , 280 = 6384、 ϵ_D , 370 = 16180 を用いる)、手順 G 及び手順 H を利用して、次の特性値を得た。

40

【0422】

抗体濃度: 11.08 mg/mL、通常の手順 E で測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n): 9.15。通常の手順 G で測定した抗体薬物複合体の凝集: 4.38% (図 11A)。通常の手順 H で測定した抗体薬物複合体の保持時間: 6.213 分 (図 11B)。

【0423】

4.1.7 抗体薬物複合体ヒト IgG-LP2 の製造

ステップ 1: 抗体薬物複合体

抗体の還元であって、ヒト IgG (Solarbio から購入) を、製造方法に記述さ

50

れている通常の手順 B ($1.35 \text{ mL mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を 280 nm の吸光係数として用いる) 及び C を利用して、PBS 7.0 / EDTA で 10 mg/mL に調整した。この溶液 (0.467 mL) に 5 mM TCEP の水溶液 (0.093 mL 、抗体分子あたり 10 当量) を加えた。溶液の pH が 7.0 ± 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37°C で 2 時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0424】

抗体とリンカー-ペイロードの結合であって、上記の溶液を 4°C で 10 分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中の LP2 の 10 mM の溶液 (0.07 mL 、抗体分子あたり 15 当量) を加え、得られた混合物を 22°C で 30 分間インキュベートしてリンカー-ペイロードを抗体に結合させた。

【0425】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順 D で精製して、 1 mL の表題の抗体薬物複合体「ヒト IgG-LP2」を含有する溶液を得た。

【0426】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順 E ($\epsilon_{D, 280} = 5814$ 、 $\epsilon_{D, 370} = 14742$ を用いる)、手順 G 及び手順 H を利用して、次の特性値を得た。

【0427】

抗体濃度: 4.68 mg/mL 、通常の手順 E で測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n): 9.18 。通常の手順 G で測定した抗体薬物複合体の凝集: 2.92% (図 12 A)。通常の手順 H で測定した抗体薬物複合体の保持時間: 6.506 分 (図 12 B)。

【0428】

4.1.8 抗体薬物複合体ヒト IgG-GGFG-DXd の製造

ステップ 1: 抗体薬物複合体

抗体の還元であって、ヒト IgG (Solarbio から購入) を、製造方法に記述されている通常の手順 B ($1.35 \text{ mL mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を 280 nm の吸光係数として用いる) 及び C を利用して、PBS 7.0 / EDTA で 10 mg/mL に調整した。この溶液 (2.45 mL) に 5 mM TCEP の水溶液 (0.327 mL 、抗体分子あたり 10 当量) を加えた。溶液の pH が 7.0 ± 0.1 以内であることを確認した後、この溶液を 37°C で 2 時間インキュベートして抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元した。

【0429】

抗体とリンカー-ペイロードの結合であって、上記の溶液を 4°C で 10 分間インキュベートした。続いて、ジメチルアセトアミド中の GGFG-DXd の 10 mM の溶液 (0.294 mL 、抗体分子あたり 18 当量) を加え、得られた混合物を 22°C で 30 分間インキュベートしてリンカー-ペイロードを抗体に結合させた。

【0430】

精製であって、上記の溶液を製造方法に記述されている通常の手順 D で精製して、 1 mL の表題の抗体薬物複合体「ヒト IgG-GGFG-DXd」を含有する溶液を得た。

【0431】

特性決定であって、製造方法に記述されている通常の手順 E ($\epsilon_{D, 280} = 5178$ 、 $\epsilon_{D, 370} = 20217$ を用いる)、手順 G 及び手順 H を利用して、次の特性値を得た。

【0432】

抗体濃度: 8.20 mg/mL 、通常の手順 E で測定した抗体分子あたりの結合薬物分子の平均数 (n): 7.08 。通常の手順 G で測定した抗体薬物複合体の凝集: 4.25% (図 13 A)。通常の手順 H で測定した抗体薬物複合体の保持時間: 8.222 分 (図 13 B)。

【0433】

その他の抗体薬物複合体「CL069707-MMAE」「CL069707-DXd」

10

20

30

40

50

」「CL069066-MMAE」「CL069066-DXd」「CL069439-MMAE」及び「CL069439-DXd」の製造は、上記のサンプルと同じであった。

【0434】

実施例5：抗体薬物複合体のインビトロ評価

5.1 抗体薬物複合体の内在化活性

37℃で、5%のCO₂の雰囲気の中、ヒト卵巣がん細胞株PA-1（Zhejiang Meisen Cell Technology Co., Ltd. から購入）、OVCAR-3（National Collection of Authenticated Cell Culturesから購入）及びヒト腎がん細胞株786-O（Shanghai Xunqing Biotechnology Co., Ltd. から購入）細胞培養物を独立した単層培養物としてインビトロで維持した。トリプシン-EDTA部分消化により細胞を回収し、続いて1000rpmで5分間遠心分離した。細胞を冷PBSに再懸濁し、50µg/mLのCL069707-H1L1-LP1を加えた。細胞溶液を混合して、4℃で30分間インキュベートした後、PBSで細胞を洗浄して、5等分し、37℃で0時間、0.5時間、1時間、2時間、4時間インキュベートした。各時点にサンプルを採取して、第2抗体複合体（検出用）を加える前に冷PBSで洗浄した。4℃でのインキュベーション後、PBSで細胞を洗浄し、次に、フローサイトメトリー（FACS）分析にかけた。結果を図14に示す。CL069707-H1L1-LP1は、時間依存的にPA-1、OVCAR-3、786-Oに内在化された。

【0435】

5.2 抗体薬物複合体のインビトロ腫瘍成長抑制活性

CDH6陽性ヒト卵巣がん細胞株OVCAR-3（National Collection of Authenticated Cell Culturesから購入）及びPA-1（Zhejiang Meisen Cell Technology Co., Ltd. から購入）を、2000細胞/100µL/ウェルで96ウェルプレートの培地に播種し、次に、細胞を一晩培養した。翌日、各複合体を、最終濃度が0.01~100nMになるように細胞に加えた。5日間培養した後、細胞から培地を取り除き、製造元の説明に従ってCKK-8（Cell Counting Kit-8）生存率アッセイを行った。細胞生存率は、腫瘍細胞だけを含む対照ウェルの%として計算した。図15A~図15Dは、各抗体薬物複合体をCDH6陽性OVCAR-3及びPA-1細胞に加えたときの濃度依存的な細胞成長抑制活性を示す。図15A及び図15Bでは、全てのヒト化CL069707-GGFG-DXd（H1L1、H1L2、H2L1及びH2L2）は、OVCAR-3細胞及びPA-1細胞に対して同様の優れた腫瘍細胞成長抑制活性を示した。図15C及び図15Dでは、2種の陽性抗体薬物複合体はいずれも優れた腫瘍細胞成長抑制活性を示し、中でもCL069707-H1L1-LP1はOVCAR-3細胞に対して最も顕著な抑制活性を示し、CL069707-H1L1-LP2がそれに続き、このうちCL069707-H1L1-LP1及びCL069707-H1L1-LP2はPA-1細胞に対して同等の抑制活性を示した。

【0436】

実施例6：vc-MMAE又はGGFG-DXdに結合したマウス抗CDH6抗体CL069707、CL069439、CL069066のインビトロ細胞傷害活性

CDH6陽性ヒト卵巣がん細胞株OVCAR-3（National Collection of Authenticated Cell Culturesから購入）を2000細胞/100µL/ウェルで96ウェルプレートの培地に播種し、次に、細胞を一晩培養した。翌日、CL069707-vc-MMAE、CL069439-vc-MMAE、CL069066-vc-MMAEをそれぞれ最終濃度が0.005~30nMになるように細胞に加え、CL069707-GGFG-DXd、CL069439-GGFG-DXd、CL069066-GGFG-DXdをそれぞれ最終濃度が0.05~300nMになるように細胞に加えた。5日間培養した後、細胞から培地を取り除き、製

造元の説明に従ってCCK-8 (Cell Counting Kit-8) 生存率アッセイを行った。細胞生存率は、腫瘍細胞だけを含む対照ウェルの%として計算した。図16Aは、3種の複合体はいずれもOVCAR-3細胞に対して濃度依存的な細胞成長抑制活性を有したことを示した。さらに、CL069707-vc-MMAEはCL069439-vc-MMAE及びCL069066-vc-MMAEよりも強い細胞傷害活性を示した。図16Bは、3種の複合体はいずれもOVCAR-3細胞に対して濃度依存的な細胞成長抑制活性を有したことを示した。さらに、CL069707-GGFG-DXdはCL069439-GGFG-DXd及びCL069066-GGFG-DXdよりも強い細胞傷害活性を示した。

【0437】

実施例7：PA-1異種移植モデルにおける抗体薬物複合体のインビボ抗腫瘍効果

JSJ Laboratory (中国上海) から6週齢の雌のBalb/cマウスを購入した。ヒト卵巣がん細胞株PA-1 (Zhejiang Meisen Cell Technology Co., Ltd. から購入) 細胞をマトリゲルと混合し、次に、動物1匹あたり1000万の細胞で皮下移植した。PA-1細胞移植後15目 (平均腫瘍サイズが約150mm³) に、IgG-LP2、CL069707-H1L1-LP1、CL069707-H1L1-LP2又はCL069707-H1L1-GGFG-DXdの1つを10mg/kgでマウスに静脈内注射した。腫瘍体積は、治療開始日から週2回キャリパーで測定し、 $TV = (\text{幅} \times \text{長さ})^2 / 2$ より計算した。結果を図17A、図17Bに示す。全ての抗体薬物複合体は、マウスの体重に顕著な影響を与えることなく、単一用量投与後に腫瘍の体積を顕著に減少させた。

【0438】

実施例8：PA-1異種移植モデルにおける抗体薬物複合体のインビボ抗腫瘍効果

JSJ Laboratory (中国上海) から6週齢の雌のBalb/cマウスを購入した。ヒト卵巣がん細胞株PA-1 (Zhejiang Meisen Cell Technology Co., Ltd. から購入) 細胞をマトリゲルと混合し、次に、動物1匹あたり1000万の細胞で皮下移植した。PA-1細胞移植後14目 (平均腫瘍サイズが約150mm³) に、PBS、CL069707-H1L1-LP1 (2.5mg/kg及び5mg/kg)、CL069707-H1L1-LP2 (2.5mg/kg及び5mg/kg) 又はCL069707-H1L1-GGFG-DXd (5mg/kg) の1つをマウスに静脈内注射した。腫瘍体積は、治療開始日から週2回キャリパーで測定し、 $TV = (\text{幅} \times \text{長さ})^2 / 2$ より計算した。結果を図18A、図18Bに示す。全ての抗体薬物複合体は、マウスの体重に顕著な影響を与えることなく、単一用量投与後に用量依存的に腫瘍の体積を減少させた。特に、5mg/kgのCL067707-H1L1-LP1は、CL069707-H1L1-LP2及びCL067707-H1L1-GGFG-DXdよりも優れた腫瘍抑制効果を有した。

【0439】

実施例9：OVCAR-3異種移植モデルにおける抗体薬物複合体のインビボ抗腫瘍効果

Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd. (中国上海) から6~8週齢のBalb/cマウスを購入した。ヒト卵巣がん細胞株OVCAR-3 (ATCC-HTB-161) 細胞をマトリゲルと混合し、次に、動物1匹あたり1000万の細胞で皮下移植した。OVCAR-3細胞移植後35日目 (平均腫瘍サイズが約150mm³) に、PBS及び10mg/kg CL069707-H1L1-LP1の1つをマウスに静脈内注射した。腫瘍体積は、治療開始日から週2回キャリパーで測定し、 $TV = (\text{幅} \times \text{長さ})^2 / 2$ より計算した。結果を図19A、図19Bに示す。単一用量のCL069707-H1L1-LP1は、マウスの体重に影響を与えることなく腫瘍の体積を顕著に減少させた。

【0440】

実施例10：786-O異種移植モデルにおける抗体薬物複合体のインビボ抗腫瘍効果

gempharmatech (中国蘇州) から6週齢のNCGマウスを購入した。ヒト腎がん細胞株786-O (Shanghai Xunqing Biotechnology Co., Ltd. から購入) 細胞を無血清培地に再懸濁し、次に、動物1匹あたり650万の細胞で皮下移植した。786-O細胞移植後15目(平均腫瘍サイズが約150mm³)及び36目に、PBS、10mg/kg IgG-LP1及び10mg/kg CL069707-H1L1-LP1の1つをマウスに静脈内注射した。腫瘍体積は、治療開始日から週2回キャリパーで測定し、 $TV = (\text{幅} \times \text{長さ})^2 / 2$ より計算した。結果を図20A、図20Bに示す。CL069707-H1L1-LP1は、IgG-LP1と比較した場合、マウスの体重に影響を与えることなく、腫瘍の体積を顕著に減少させた。

10

【0441】

実施例11：腎がん患者由来異種移植(PDX)モデルにおける抗体薬物複合体のインビボ抗腫瘍効果

Zhejiang Charles River Co., Ltd. から6~8週齢のNu/Nuマウスを購入した。腫瘍を3mm×3mm×3mm(約50~90mg)の断片にスライスし、マウスの右側腹部の皮下に移植した。次に、動物における腫瘍の成長と体重を毎日確認した。平均腫瘍体積が約150mm³に達している時点で、マウスをランダムに5群に分けた。群分けをした日を0日目と見なした。次に、10mg/kg IgG-LP1、CL069707-H1L1-LP1、IgG-GGFG-DXd、参照ADC及び参照抗体-LP1の1つを10mg/kgでマウスに静脈内注射した。腫瘍体積は、治療開始日から週2回キャリパーで測定し、 $TV = (\text{幅} \times \text{長さ})^2 / 2$ より計算した。結果を図21A、図21Bに示す。CL069707-H1L1-LP1は、IgG-LP1と比較した場合、マウスの体重に影響を与えることなく、腫瘍の体積を顕著に減少させ、参照抗体-LP1が続いた。参照ADCは、IgG-GGFG-DXdと比較した場合、腫瘍成長抑制活性を示さなかった。

20

【0442】

実施例12：CDH6タンパク質のマウスモノクローナル抗体ハイブリドーマ細胞の調製

12.1 抗原の調製

CDH6細胞外領域(Ser 54-Ala 615)を免疫原として使用し、当該抗原は、ACRO Biosystemsから購入され、カタログ番号がCA6-H5229であった。

30

【0443】

12.2 マウスの免疫

各抗原群は、12匹のBalb/cマウス(8~12週齢)を免疫するために利用され、免疫されたマウスの血清力価は最適な免疫回数を決定するために監視される。最適化されたアジュバントと免疫化方法により、殆どの抗原ポリペプチドに対して高い親和性を持つ抗体(IgGサブタイプ)を生成できる。最初の免疫化の後、3~4回の強化免疫を行い、強化免疫後に、力価を検出するためにマウス血清を採取した(組換えタンパク質を抗原コーティングとして使用した)。適格な力価の血清を持つマウスは融合のために強化免疫され、不適格な力価の血清を持つマウスは融合前の最高力価になるまで1~2回の強化免疫を継続する。

40

【0444】

12.3 血清検出とスクリーニング

免疫化されたマウスの眼窩から血液を採取し、ELISAにより血清力価を検出した(組換えタンパク質を抗原コーティングとして使用した)。血清力価が10Kを超える必要があり、そうでない場合は強化免疫を継続した。

【0445】

12.4 融合とスクリーニング

脾臓全体とリンパ節の半分を採取し、骨髓腫SP2/0細胞株と融合した。当該プロセ

50

ス是最適化されたPEG融合であった。融合細胞を4枚の384ウェルプレート（ウェルあたり $10^2 \sim 10^4$ 個の細胞）に播種し、培養した。全てのウェルから上清を収集し、ELISAにより陽性細胞株をスクリーニングして、CDH6組換えタンパク質に対する細胞上清の応答を検出し、細胞をミラーリングしたウェルを96ウェルプレートに移してさらに培養した。数日間成長した後、全てのウェルから上清を収集し、ELISAによりCDH6組換えタンパク質との反応性を検出した。さらに親和性のランク付けのために、陽性ウェルに対して、様々な希釈度での細胞上清とCDH6組換えタンパク質の結合能力を検出し、親和性の最も高い120個の親クローンをサブクローニングのために選択した。

【0446】

10

12.5 サブクローニングとスクリーニング

限界希釈法とELISAスクリーニングによりサブクローニングを行って、モノクローナルハイブリドーマ細胞を得た。細胞を96ウェルプレートに播種し、プレートの底部約1/6を覆うように培養した。各ウェルの上清のCDH6組換えタンパク質に対する応答をELISAで検出し、OD値が高く細胞状態が良好な2つのウェルを次のサブクローニングに使用した。ウェル内の細胞株の陽性率が100%になるまで、上記のステップを繰り返した。次に、モノクローナル細胞株を得た。最後のサブクローニングラウンドの後、全ての陽性細胞を直ちに増殖させ、一部は後で使用するために凍結し、他の部分は腹水として調製した。

【0447】

20

12.6 腹水調製と抗体精製

最後に、13種のモノクローナル細胞株を得て、抗体の生成のためにF1マウスの腹部に注入した。生成された腹水をプロテインA/Gで精製し、その後の検出に使用した。

【0448】

実施例13：抗体の抗原結合活性

組換えタンパク質CDH6を $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ でELISAプレートにコーティングして、 4°C で一晩保持した。PBSTで洗浄した後、プレートに10%ウシ胎児血清を加え、混合物を 37°C で1時間ブロックした。プレートに13種の異なる希釈度（ $0.1 \sim 100 \text{ ng}/\text{mL}$ ）のCDH6モノクローナル抗体を加え、混合物を 37°C で1時間反応させた。PBSTで洗浄した後、プレートに西洋ワサビペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒトIgG二次抗体（ヤギ抗マウス（HRP）、Thermo Fisher Scientific）を加え、混合物を 37°C で30分間反応させた。プレートをPBSTで5回繰り返し洗浄した後、吸収紙に残っている液滴をなるべく軽く叩いた。プレートの各ウェルに $100 \mu\text{L}$ のTMB（eBioscience）を加え、暗所で室温（ $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ）下1.5分間置いた。プレートの各ウェルに $100 \mu\text{L}$ の $2 \text{ N } \text{H}_2\text{SO}_4$ 停止緩衝液を加えて基質反応を停止させ、マイクロプレートリーダーを使用して 450 nm でのOD値を読み取り、抗体の標的抗原CDH6への結合能力を分析した。表1及び図23に示すように、本願の抗CDH6抗体及びCDH6組換えタンパク質の感度は、 $12.5 \text{ ng}/\text{mL}$ 以下であり、そのうち、13番（CL069463抗体）は $3.125 \text{ ng}/\text{mL}$ 以下、23番（CL069707抗体）は $1.56 \text{ ng}/\text{mL}$ 以下、4番（CL069066抗体）は $6.3 \text{ ng}/\text{mL}$ 以下、16番（CL069439抗体）は $1.0 \text{ ng}/\text{mL}$ 以下となった。

30

40

50

【表 4】

表 3：CDH6 抗原に対する抗体の結合活性の ELISA による検出

番号	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	NC
4	2.382	2.111	1.685	1.076	0.577	0.300	0.170	0.094	0.063	0.050	0.048	0.056
9	3.553	3.267	2.930	2.249	1.644	1.081	0.470	0.255	0.135	0.077	0.057	0.050
11	3.900	3.900	3.900	3.672	3.194	2.490	1.467	0.796	0.457	0.183	0.102	0.049
12	3.732	3.254	2.818	2.159	1.554	0.865	0.456	0.299	0.157	0.097	0.072	0.053
13	2.619	2.320	1.798	1.697	0.975	0.596	0.374	0.211	0.139	0.086	0.073	0.061
14	3.872	3.872	3.763	3.161	2.787	1.588	0.929	0.558	0.279	0.157	0.107	0.057
15	3.536	3.411	3.536	2.258	1.448	0.812	0.391	0.202	0.120	0.078	0.072	0.060
16	3.900	3.888	3.691	3.619	2.824	1.873	1.113	0.647	0.255	0.181	0.106	0.061
17	3.778	3.334	3.213	2.618	2.088	1.323	0.615	0.349	0.176	0.106	0.071	0.072
20	2.052	1.266	0.893	0.698	0.363	0.205	0.120	0.078	0.062	0.049	0.057	0.048
21	3.567	3.759	3.634	3.315	2.638	1.580	1.169	0.635	0.299	0.171	0.086	0.054
22	2.405	2.439	2.230	2.337	2.240	1.539	0.800	0.508	0.262	0.174	0.090	0.051
23	1.409	1.326	1.183	1.273	1.011	0.831	0.577	0.305	0.165	0.101	0.069	0.064

10

【0449】

実施例 14：細胞表面に発現された CDH6 抗原の抗体による特異的認識

13 種の CDH6 モノクローナル抗体の細胞表面上の CDH6 への結合を、陽性細胞として OVCAR-3 細胞（ヒト卵巣がん細胞）を、陰性細胞として HepG2 細胞（ヒト肝臓がん細胞）を用いてフローサイトメトリー（FCM）で分析した。対数増殖期の細胞を収集して、 5×10^6 個の細胞/mL の細胞密度に調整し、氷上で予冷した。13 種の CDH6 モノクローナル抗体を 2% の FBS 含有予冷生理食塩水で $20 \mu\text{g/mL}$ に希釈した。100 μL の細胞を取得して、等量の上記の希釈 CDH6 モノクローナル抗体を加え、混合物を暗所で 4°C 下 30 分間反応させた。反応終了後、細胞を 2% の FBS 含有予冷生理食塩水で 2 回洗浄した（6000 rpm、45 秒）。二次抗体 PE 抗マウス IgG（BD Pharmingen）を 2% の FBS 含有予冷生理食塩水で 1：500 に希釈し、洗浄した各細胞を 100 μL の希釈二次抗体で再懸濁し、暗所で 4°C 下 30 分間反応させた。反応終了後、細胞を 2% の FBS 含有予冷生理食塩水で 2 回洗浄した（6000 rpm、45 秒）。細胞を 400 μL の生理食塩水に再懸濁した。フローサイトメーター（BD Calibur）を使用して、抗体の細胞表面抗原への結合能力を分析した。

20

30

【0450】

結果を図 24 に示す。結果は、CL069463、CL069707 など 11 種の抗体は OVCAR-3 細胞（ヒト卵巣がん細胞）を特異的に認識できた（図 24）が、陰性細胞の HepG2 細胞（ヒト肝臓がん細胞）では結合が見られなかったということを示した。

【0451】

本発明の好ましい実施形態が本明細書に示され、記述されているが、そのような実施形態は例示としてのみ提供されていることは当業者には明らかである。本発明は、本明細書で提供されている特定の例によって限定されることを意図していない。本発明は前述した明細書を参照して記述されているが、本明細書の実施形態の記述及び図解は限定的な意味で解釈されるべきではない。当業者であれば、本発明から逸脱することなく、数多くの変化、変更、及び置き換えに想到できるであろう。さらに、本発明の全ての態様は、様々な条件及び変数に依存する本明細書に記載されている特定の記述、構成、又は相対的な比率に限定されないことを理解されたい。

40

【0452】

本発明の好ましい実施形態が本明細書に示され、記述されているが、そのような実施形態は例示としてのみ提供されていることは当業者には明らかである。本発明は、本明細書で提供されている特定の例によって限定されることを意図していない。本発明は前述した

50

明細書を参照して記述されているが、本明細書の実施形態の記述及び図解は限定的な意味で解釈されるべきではない。当業者であれば、本発明から逸脱することなく、数多くの変化、変更、及び置き換えに想到できるであろう。さらに、本発明の全ての態様は、様々な条件及び変数に依存する本明細書に記載されている特定の記述、構成、又は相対的な比率に限定されないことを理解されたい。

【0453】

本発明を実施するにあたり、本明細書に記載した本発明の実施形態の様々な代替の形態を用いてもよいということは理解される。したがって、本発明は、そのような代替の形態、修正、変化、又は同等物もカバーするものと想定される。以下の請求項は本発明の範囲を限定し、これらの請求項の範囲のうちにある方法、構造、及びそれらの同等物は、それによってカバーされることが意図されている。

10

【0454】

(参考文献)

(1) Wheelock, M. J. and Johnson, K. R. (2003) Annu Rev Cell Dev Biol 19, 207-35.

(2) Christofori, G. (2003) EMBO J 22, 2318-23.

(3) Hazan, R. B. et al. (2004) Ann N Y Acad Sci 1014, 155-63.

(4) Bryant, D. M. and Stow, J. L. (2004) Trends Cell Biol 14, 427-34.

20

(5) Rabascio, C. et al. (2004) Cancer Res 64, 4373-7.

(6) Yamaoka-Tojo, M. et al. (2006) Arterioscler Thromb Vasc Biol 26, 1991-7.

(7) Patel, I. S. et al. (2003) Int J Cancer 106, 172-7.

(8) Sanders, D. S. et al. (2000) J Pathol 190, 526-30.

(9) Goepfert, B. et al. (2016) Epigenetics 11, 780-790.

30

(10) Zhao, L. et al. (2016) Clin Endocrinol (Oxf) 84, 748-55.

(11) Sancisi, V. et al. (2013) PLoS One 8, e75489.

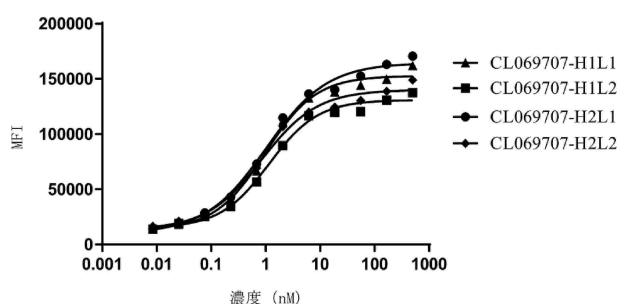
(12) Gugnoni, M. et al. (2017) Oncogene 36, 667-677.

(13) Bialucha, C. U. et al. (2017) Cancer Discov 7, 1030-1045.

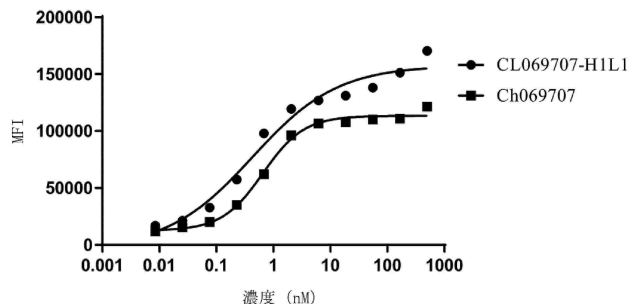
【図面】

40

【図1A】

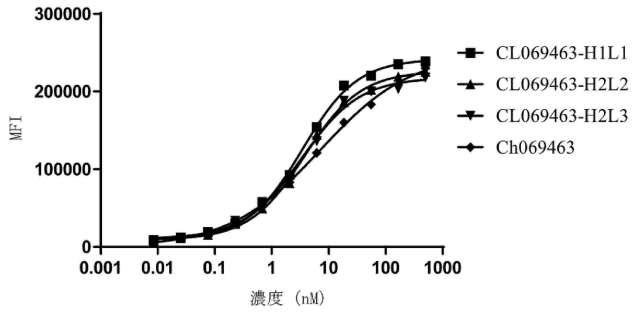


【図1B】

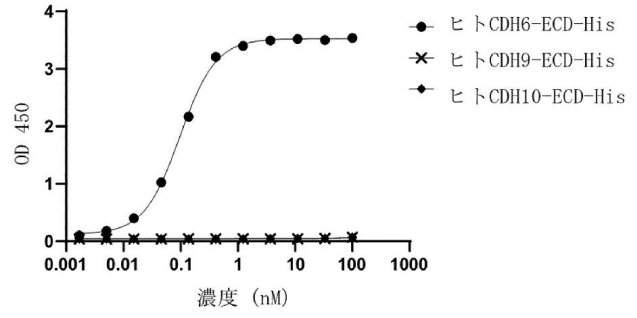


50

【図 2】

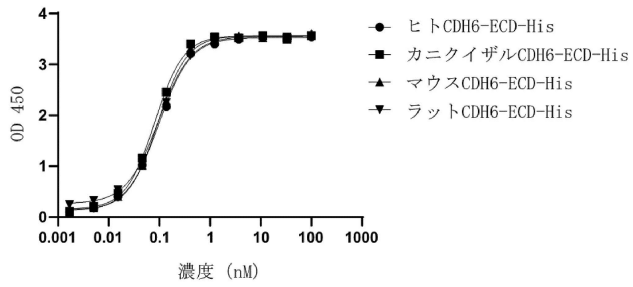


【図 3】

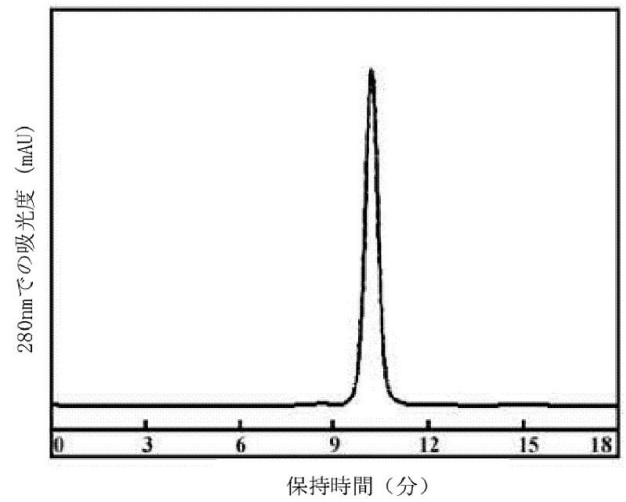


10

【図 4】

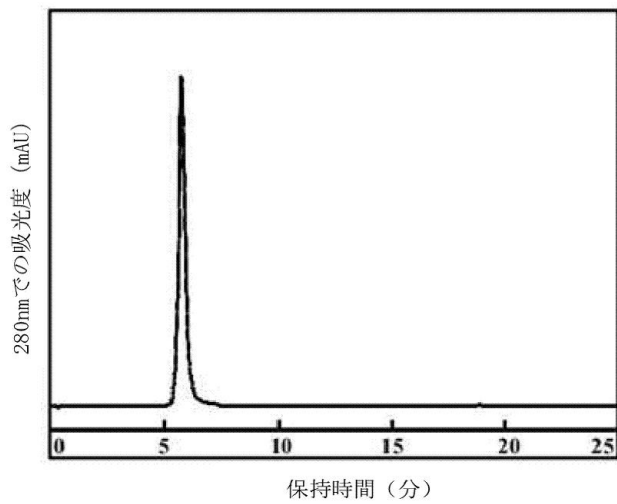


【図 5 A】

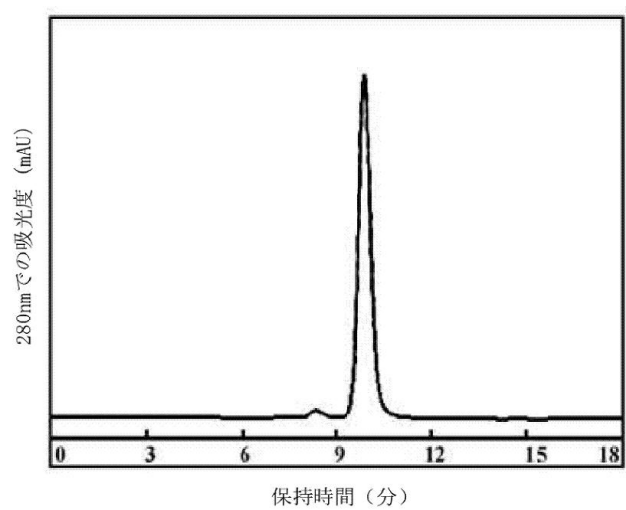


20

【図 5 B】



【図 6 A】

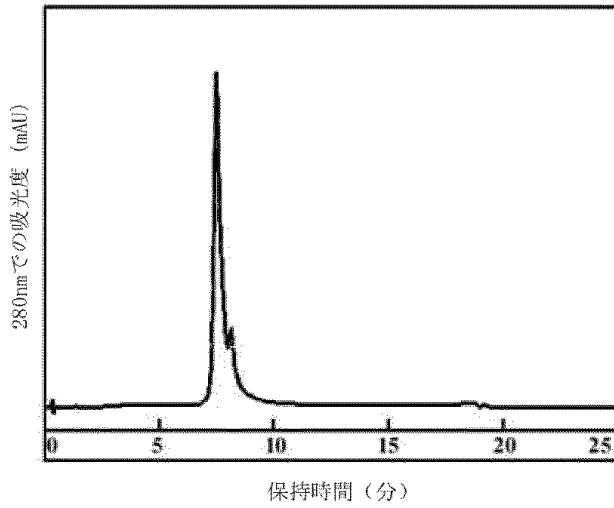


30

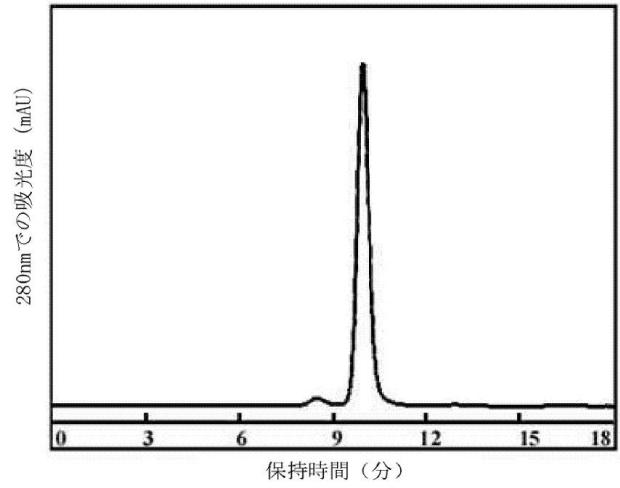
40

50

【図 6 B】

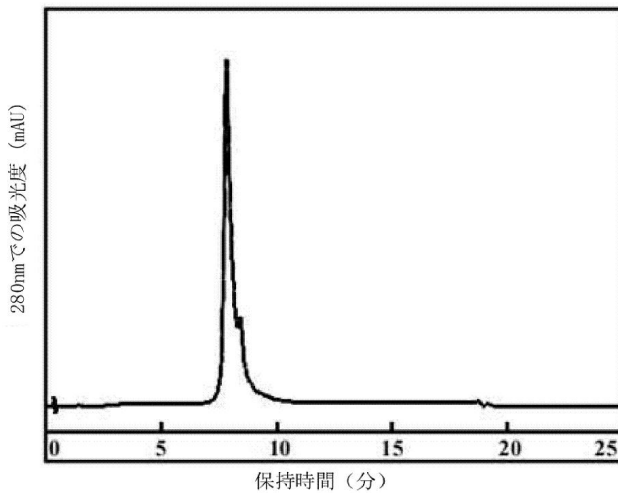


【図 7 A】

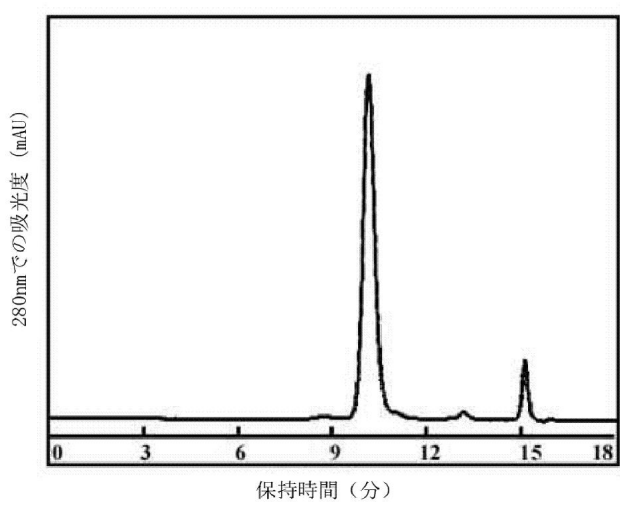


10

【図 7 B】



【図 8 A】



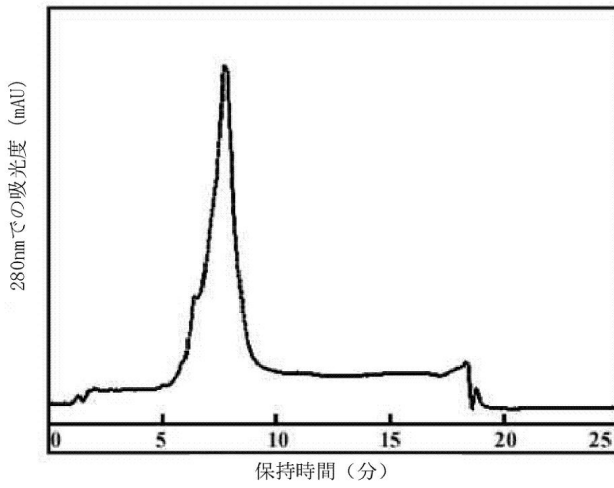
20

30

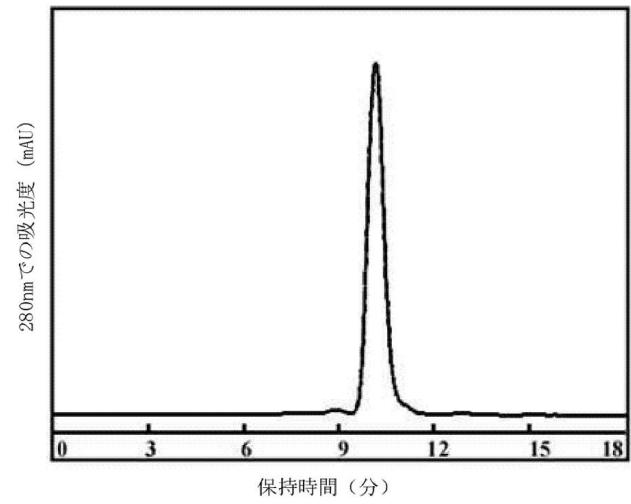
40

50

【図 8 B】

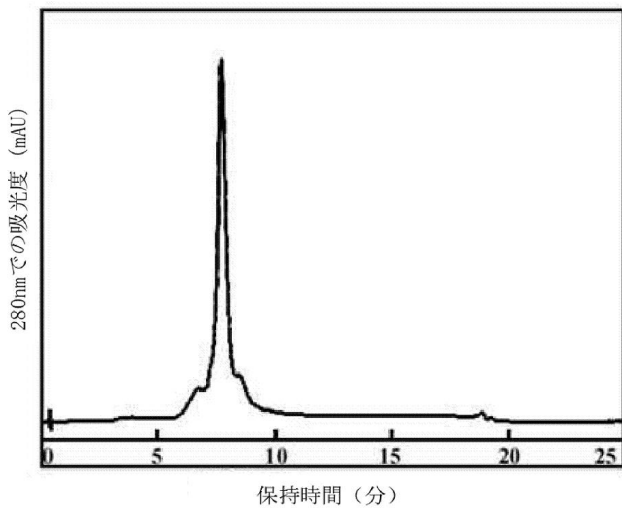


【図 9 A】

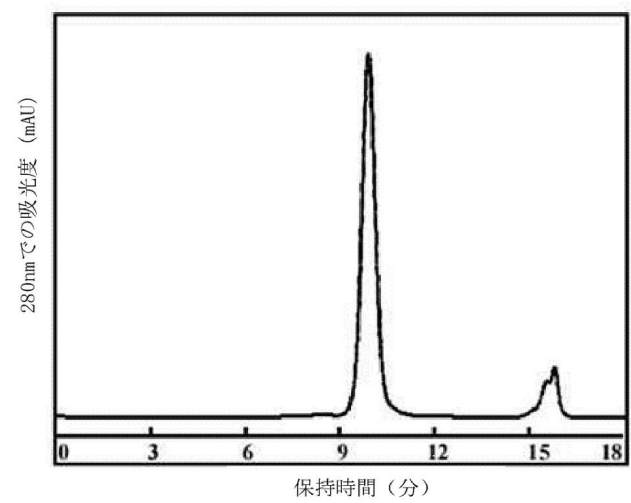


10

【図 9 B】



【図 10 A】



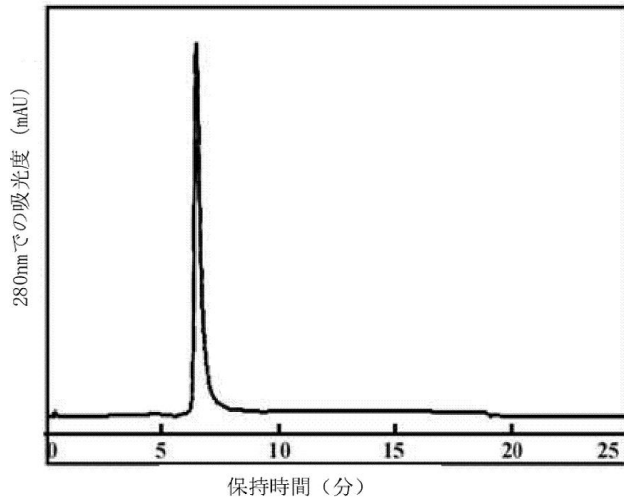
20

30

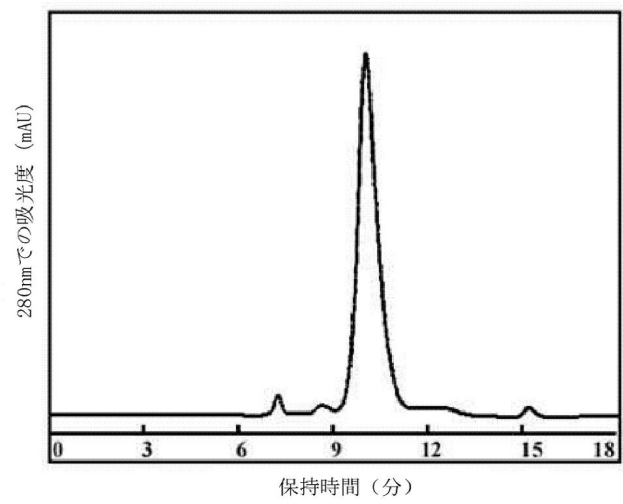
40

50

【図 10 B】

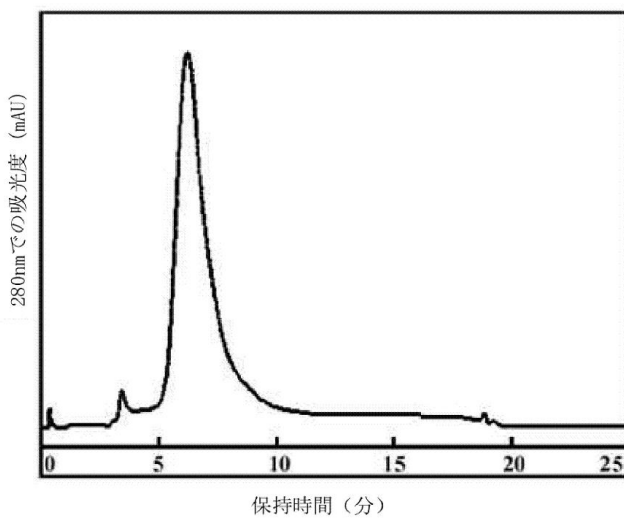


【図 11 A】

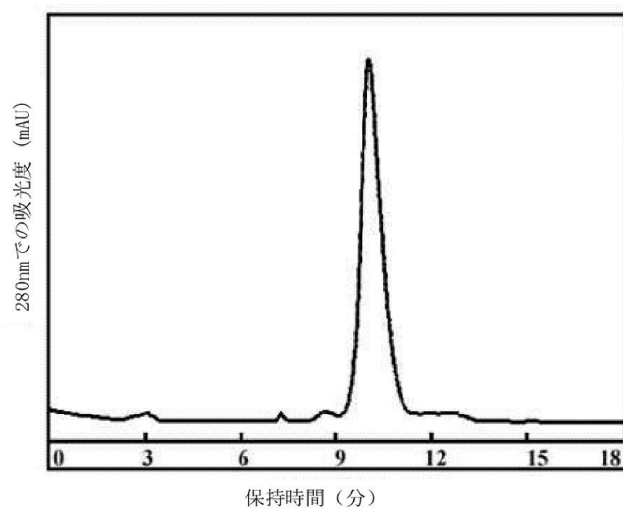


10

【図 11 B】



【図 12 A】



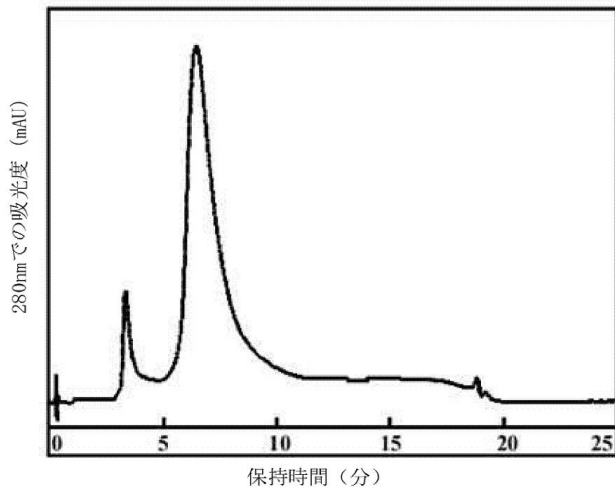
20

30

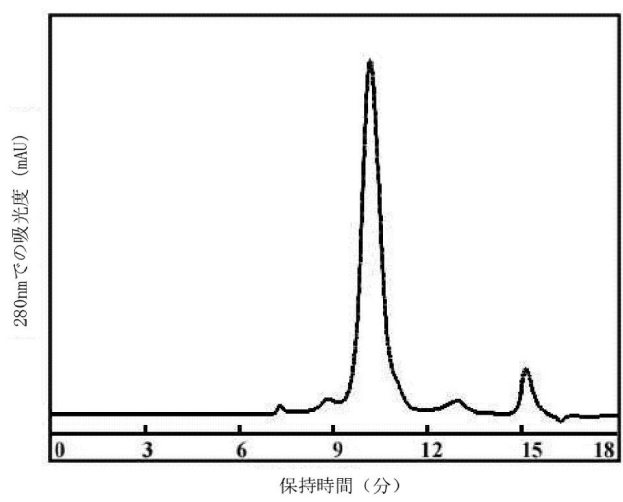
40

50

【図 1 2 B】

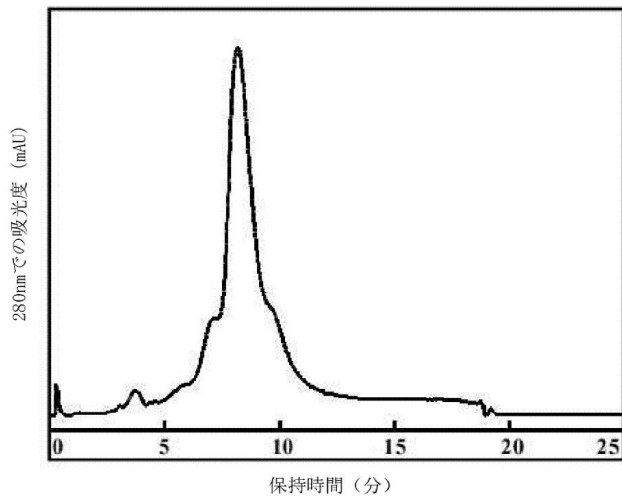


【図 1 3 A】

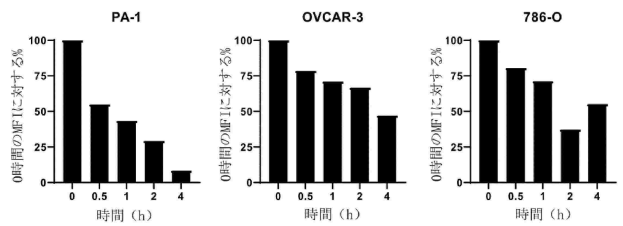


10

【図 1 3 B】



【図 1 4】



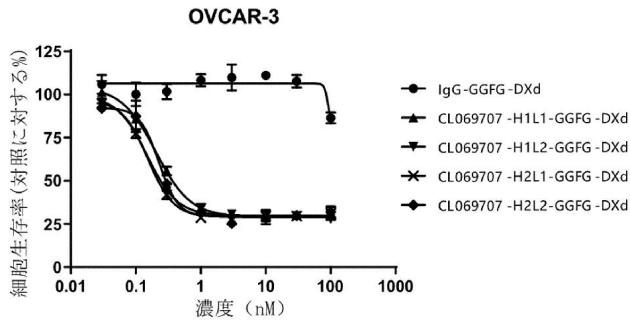
20

30

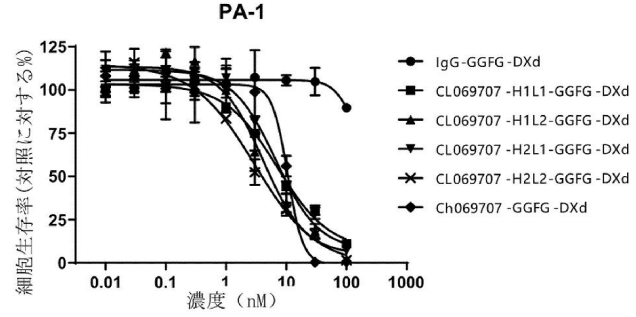
40

50

【図 1 5 A】

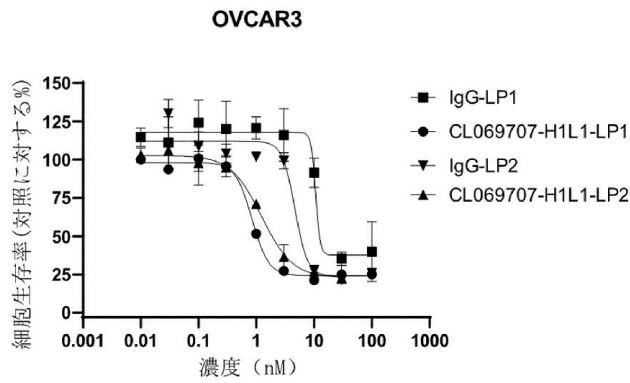


【図 1 5 B】

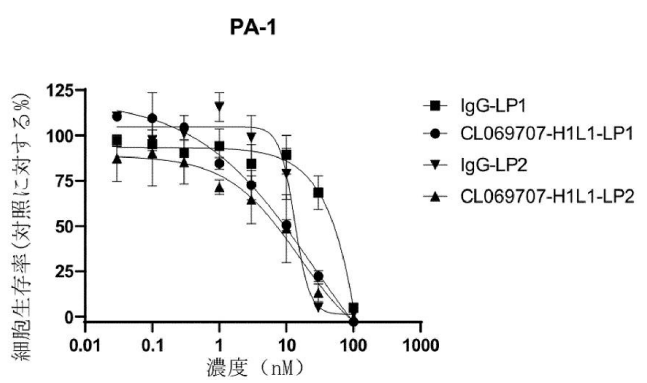


10

【図 1 5 C】

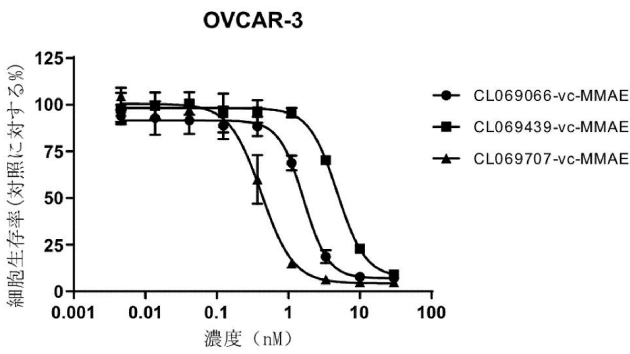


【図 1 5 D】

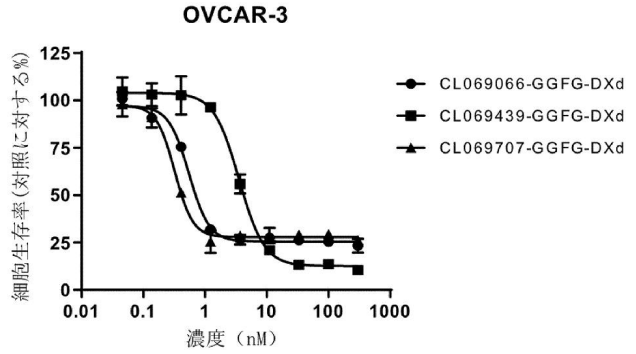


20

【図 1 6 A】



【図 1 6 B】

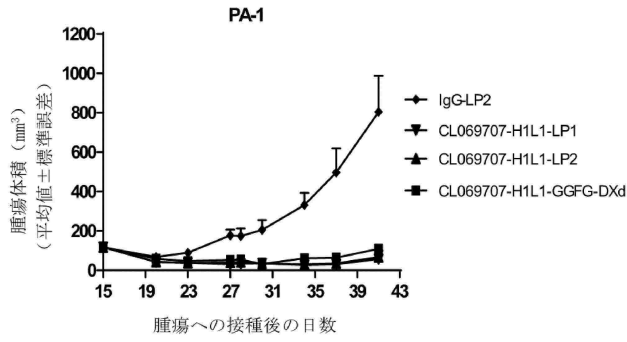


30

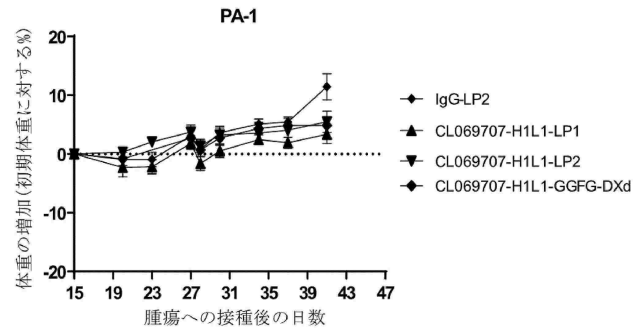
40

50

【図 17 A】

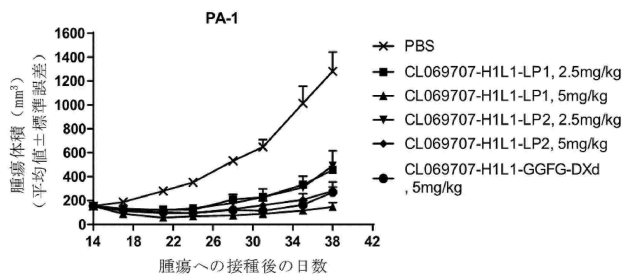


【図 17 B】

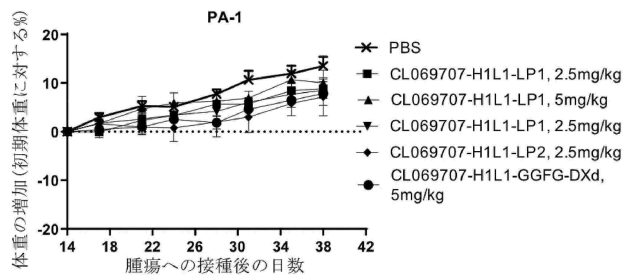


10

【図 18 A】

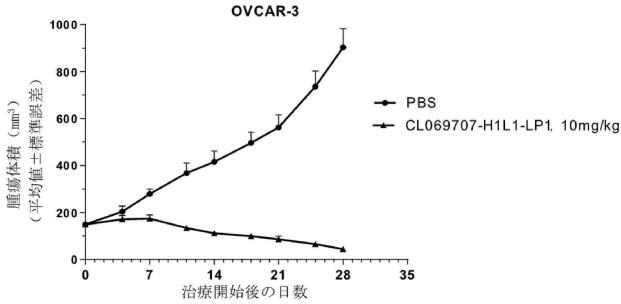


【図 18 B】

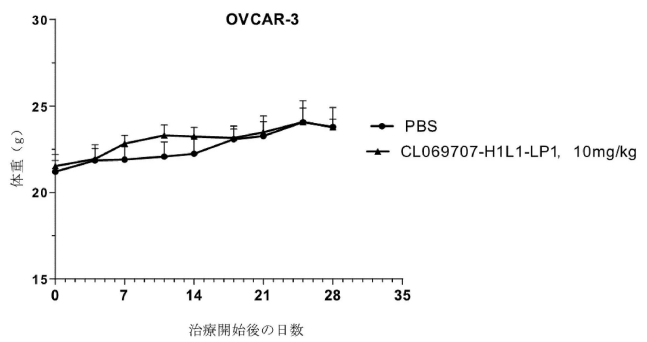


20

【図 19 A】



【図 19 B】

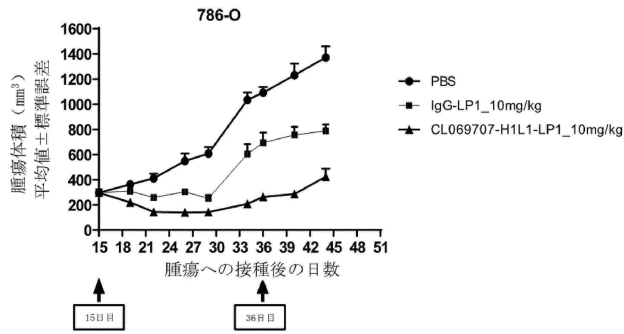


30

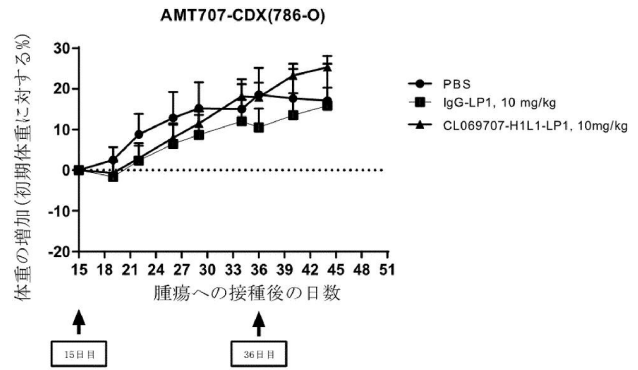
40

50

【図 20 A】

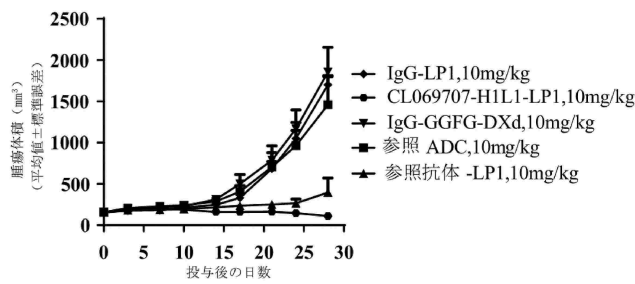


【図 20 B】

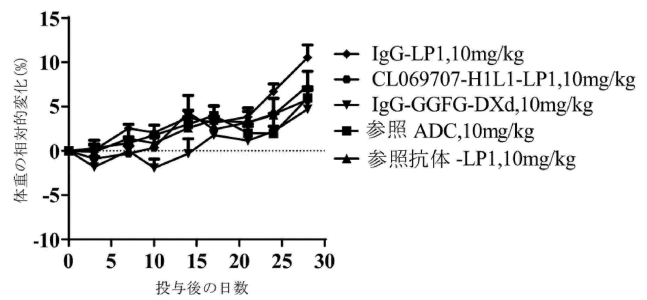


10

【図 21 A】

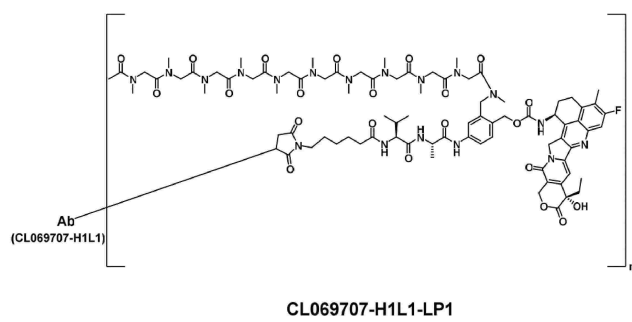


【図 21 B】

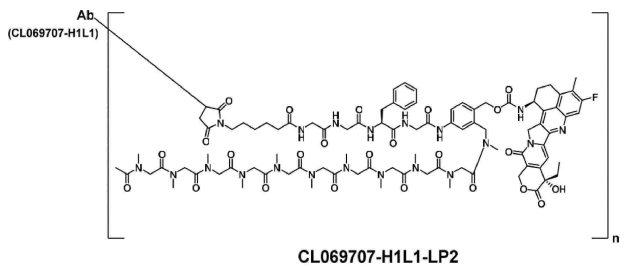


20

【図 22 A】



【図 22 B】

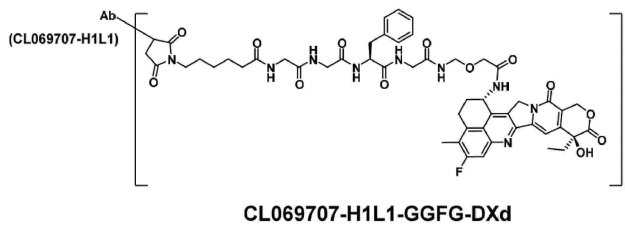


30

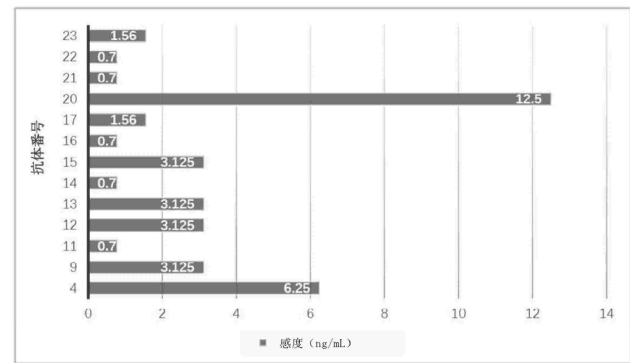
40

50

【図 2 2 C】

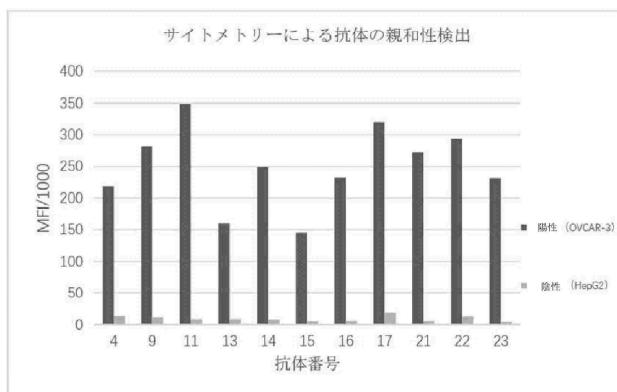


【図 2 3】



10

【図 2 4】



20

【配列表】

2024545170000001.xml

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2022/137932
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 47/68(2017.01)i; C07K 16/28(2006.01)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) A61K; C07K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS,CNXTXT,WOTXT,USTXT,JPTXT,KRTXT,VEN,CNKI, pubmed, ISI web of science, STN: MULTITUDE THERAPEUTICS INC, MENGXun, Cadherin-6, CDH6, CDH-6, SEQ ID NOs: 1-106, internalize+, antibody+ Ch069707, Ch069463, Ch069707, Ch069463, monoclonal, mab, EILSA, human, humanized, IgG, constant region, polynucleotide, vector, cell, drug, renal cell carcinoma, exatecan, linker, antibody-drug conjugate, chimeric		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020171163 A1 (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 04 June 2020 (2020-06-04) paragraphs 26-27, 116, 140, 149, 169, 174-213, 272-273, examples 1-4	1-102
A	US 2019048090 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACION CIENTÍFICAS) 14 February 2019 (2019-02-14) the whole document	1-102
A	WO 2018185618 A1 (NOVARTIS AG) 11 October 2018 (2018-10-11) the whole document	1-102
A	EP 3882349 A1 (DAIICHI SANKYO DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 22 September 2021 (2021-09-22) the whole document	1-102
A	BIALUCHA, C.U. et al. "Discovery and Optimization of HKT288, a Cadherin-6-Targeting ADC for the Treatment of Ovarian and Renal Cancers" <i>CANCER DISCOVERY</i> , Vol. 7, No. 9, 19 May 2017 (2017-05-19), pages 1030-1045	1-102
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 January 2023		Date of mailing of the international search report 28 January 2023
Name and mailing address of the ISA/CN National Intellectual Property Administration, PRC 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China		Authorized officer SUN,Qian
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No. 86-(10)-53962101

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

International application No.

PCT/CN2022/137932

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SCHÖFFSKI, P. et al. "A Phase 1 Study of a CDH6-Targeting Antibody-Drug Conjugate in Patients with Advanced Solid Tumors with Evaluation of Inflammatory and Neurological Adverse Events" <i>ONCOLOGY RESEARCH AND TREATMENT</i> , Vol. 44, No. 10, 19 August 2021 (2021-08-19), pages 547-556	1-102

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/137932

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:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

[1] The actual submitted sequence listing is an ST.26 standard XML file.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/137932

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.: **99-102**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] The subject-matter of claim 99-102 relates to a method of treating disease in a subject, therefore does not warrant an international search according to the criteria set out in Rule 39.1 (iv). However, the research has also been carried out based on the use of the bi-functional molecule of any of claims 99-102 for manufacturing a medicament for treating a disorder in a subject.
2. ☐ Claims Nos.:
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:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/137932

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2020171163	A1	04 June 2020	EP	3626825	A1	25 March 2020
				TW	201900683	A	01 January 2019
				CA	3063827	A1	09 December 2019
				BR	112019023832	A2	28 July 2020
				CO	2019013020	A2	17 January 2020
				CN	110651045	A	03 January 2020
				AU	2018270961	A1	19 December 2019
				RU	2019141268	A	16 June 2021
				JP	2022090057	A	16 June 2022
				JP	2021059599	A	15 April 2021
				JP	WO2018212136	A1	27 February 2020
				WO	2018212136	A1	22 November 2018
				US	2020390900	A1	17 December 2020
				PH	12019502545	A1	25 January 2021
				KR	20200006061	A	17 January 2020
US	2019048090	A1	14 February 2019	JP	2018513141	A	24 May 2018
				EP	3286218	A1	28 February 2018
				WO	2016169581	A1	27 October 2016
				CA	2980495	A1	27 October 2016
				AU	2015392603	A1	12 October 2017
WO	2018185618	A1	11 October 2018	None			
EP	3882349	A1	22 September 2021	WO	2020100954	A1	22 May 2020
				BR	112021009251	A2	10 August 2021
				CA	3119956	A1	22 May 2020
				KR	20210091711	A	22 July 2021
				US	2022016257	A1	20 January 2022
				CN	113166764	A	23 July 2021
				SG	11202104993S	A	29 June 2021
				TW	202031298	A	01 September 2020
				AU	2019379418	A1	03 June 2021
				JP	WO2020100954	A1	30 September 2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 31/4745 (2006.01)
 A 6 1 K 47/65 (2017.01)

C 1 2 N 1/15
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 P 21/08
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 39/395
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 31/4745
 A 6 1 K 47/65

4 C 0 8 6
 4 H 0 4 5

T

,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,D
 K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
 A(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,B
 B,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,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,
 PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,V
 N,WS,ZA,ZM,ZW

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 リウ、シュイーホイ

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 シ、ジン

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 ワン、ミンチャオ

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 パン、ロン

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 ジャン、ユエユン

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 ワン、イーチャン

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

(72)発明者 ワン、ジャオホイ

中華人民共和國 2 0 0 2 3 3 シャンハイ、シュイホイ・ディストリクト、グイピン・ロード・ナン
 バー 3 3 3、ビルディング 1、3 / フロア

F ターム (参考)

4B064 AG27 AG30 CA19 DA05 DA14
 4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46
 4C076 AA95 BB11 CC27 EE59 FF70
 4C084 AA13 AA19 NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZC202 ZC411 ZC412 ZC752
 4C085 AA13 AA14 AA16 BB36 BB41 BB43 BB44 CC23 EE01
 4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA13 ZB26
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA76 DA83 EA28 FA72 FA74