(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-548310
(P2023-548310A)
(43)公表日　令和5年11月16日(2023.11.16)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*47/64*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/64		４Ｃ０７６
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*31/69*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/69		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ	*31/337*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/337		４Ｃ２０６

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全111頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-526266(P2023-526266)
(86)(22)出願日　令和3年10月29日(2021.10.29)
(85)翻訳文提出日　令和5年6月28日(2023.6.28)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/057330
(87)国際公開番号　WO2022/094262
(87)国際公開日　令和4年5月5日(2022.5.5)
(31)優先権主張番号　63/108,020
(32)優先日　令和2年10月30日(2020.10.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/197,926
(32)優先日　令和3年6月7日(2021.6.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　520395695
アバクタ・ライフ・サイエンシーズ・リミテッド
Ａｖａｃｔａ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｌｉｍｉｔｅｄ
英国エルエス２３・７エフエイ、ウェザビー、ソープ・アーチ・エステイト、アッシュ・ウェイ、ユニット２０
(71)出願人　319009901
トラスティーズ オブ タフツ カレッジ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１５５ メドフォード バルー ホール
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100156144
最終頁に続く

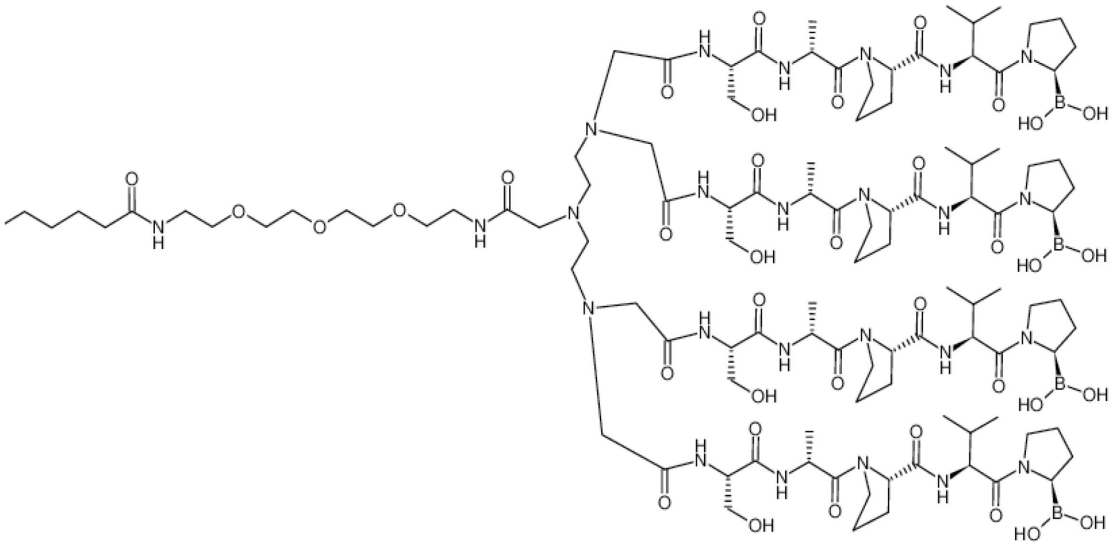
(54)【発明の名称】　ＦＡＰ活性化血清半減期延長型治療用コンジュゲート

(57)【要約】
本明細書において、循環血清半減期が延長された、治療用コンジュゲートが開示される。治療用コンジュゲートは、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含む。治療用コンジュゲートを使用する方法もまた、提供される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含み、インビボにおける、治療用コンジュゲートの循環血清半減期が、少なくとも４８時間であり、コンジュゲートが、細胞の細胞表面タンパク質に、1×10^{-6}Ｍまたはこれ未満のK_dで結合する細胞結合性部分を含まない、治療用コンジュゲート。
【請求項２】
線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含み、インビボにおける、治療用コンジュゲートの循環血清半減期が、遊離治療用部分の循環血清半減期と比べて、２倍を超えて延長され、コンジュゲートが、細胞の細胞表面タンパク質に、1×10^{-6}Ｍまたはこれ未満のK_dで結合する細胞結合性部分を含まない、治療用コンジュゲート。
【請求項３】
半減期延長部分が、血清タンパク質を含む、請求項１または２に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４】
血清タンパク質が、フィブロネクチン、トランスフェリン、およびヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）から選択される、請求項３に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項５】
半減期延長部分が、フィブロネクチン、トランスフェリンおよびＨＳＡから選択されてもよい血清タンパク質に結合する分子を含む、請求項１から４のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項６】
血清タンパク質に結合する分子が、Ｆａｂ、$F(ab)_2$、Ｆ（ａｂ’）、$F(ab')_2$、$F(ab')_3$、Ｆｄ、Ｆｖ、ジスルフィド連結型Ｆｖ、ｄＡｂ、またはｓｄＡｂ［またはＮＡＮＯＢＯＤＹ（登録商標）］、ＣＤＲ、ｓｃＦｖ、$(scFv)_2$、ｄｉ－ｓｃＦｖ、ｂｉ－ｓｃＦｖ、ｔａｓｃＦｖ（タンデムｓｃＦｖ）、ＡＶＩＢＯＤＹ（登録商標）（例えば、ダイアボディー、トリアボディー、およびテトラボディー）、Ｔ細胞エンゲージャー［ＢｉＴＥ（登録商標）］、Ｆｃ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、Ｆｃａｂ、mAb_2、ＳＭＩＰ（ｓｍａｌｌ ｍｏｄｕｌａｒ ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ）、Ｇｅｎｍａｂ／ユニボディーまたはデュオボディー、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮＡＲ、ミニボディー、ＩｇＧＡＣＨ２、ＤＶＤ－Ｉｇ、プロボディー、イントラボディー、および多特異性抗体からなる群から選択されてもよい抗体である、請求項５に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項７】
血清タンパク質に結合する分子が、アフィボディー、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド、アフィリン、アンチカリン、アトリマー、アビマー、ＤＡＲＰｉｎ、ＦＮ３土台（例えば、Ａｄｎｅｃｔｉｎｓ、Ｃｅｎｔｙｒｉｎｓ）、フィノマー、Ｋｕｎｉｔｚドメイン、ナノフィチン、プロネクチン、トリボディー、バイサイクリックペプチド、およびＣｙｓノットからなる群から選択されてもよい非抗体分子である、請求項５に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項８】
半減期延長部分が、ステフィンポリペプチド［すなわち、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド］の、ＨＳＡ結合性組換え操作変異体を含む、請求項７に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項９】
ステフィンポリペプチド［ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド］の、組換え操作変異体が、配列番号１１０～１３２のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の同一性を有する

アミノ酸配列を含む、請求項８に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項１０】
半減期延長部分が、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、もしくはＩｇＭ、またはこれらのサブクラスに由来してもよい、抗体のＦｃドメインを含む、請求項１または２に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項１１】
半減期延長部分が、ポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ）、ヒドロキシエチルデンプン、ＸＴＥＮ（商標）ポリマー、およびプロリン－アラニン－セリンポリマーからなる群から選択されてもよい生体適合性ポリマーを含む、請求項１または２に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項１２】
式：
$X-L^{1}-SRS-L^{2}-TM$
［式中、
Ｘは、半減期延長部分であり、
L^{1}は、スペーサーまたは結合であり、
ＳＲＳは、ＦＡＰαにより切断可能な基質認識配列であり、
L^{2}は、自壊性リンカーまたは結合であり、
ＴＭは、治療用部分である］
のうちの１つにより表される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項１３】
式：
$X-(L^{1}-SRS-L^{2}-TM)_{n}$；
$X-L^{1}-(SRS-L^{2}-TM)_{n}$；
$(X)m-(L^{1}-SRS-L^{2}-TM)_{n}$；または
$(X)m-L^{1}-(SRS-L^{2}-TM)_{n}$
［式中、
Ｘは、半減期延長部分であり、
L^{1}は、スペーサーまたは結合であり、
ＳＲＳは、ＦＡＰαにより切断可能な基質認識配列であり、
L^{2}は、自壊性リンカーまたは結合であり、
ＴＭは、治療用部分であり、
ｍは、１～６の整数であり、
ｎは、１～５００であるが、１～１００、１～１０、または１～５でもよい整数である］
のうちの１つにより表される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項１４】

【化１】



を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項１５】

ＦＡＰα切断型リンカーが、オリゴペプチドである、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項１６】

オリゴペプチドが、治療用部分へと共有結合的に連結された（結合または自壊性リンカーを介してであってもよい））Ｃ末端プロリン、および／またはＮ末端保護基を含む、請求項１５に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項１７】

結合が、ＦＡＰαのタンパク質分解活性により切断される場合があり、この場合、結合が、アミド結合であってもよい、請求項１６に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項１８】

自壊性リンカーが、Ｈｉｓ－Ａｌａ、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢＣ）、または２，４－ビス（ヒドロキシメチル）アニリンでもよい複素環性自壊性部分を含む、請求項１２から１７のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

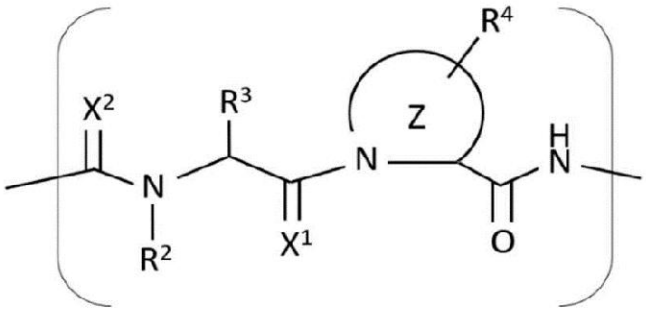
【請求項１９】

ＦＡＰα切断型リンカーが、配列であるＤ－Ａｌａ－Ｐｒｏ、または配列であるＤ－Ｓｅｒであってもよい、Ｄ－Ａｌａ－Ｐｒｏ、ＰＰＧＰ（配列番号１３６）、（Ｄ／Ｅ）－（Ｒ／Ｋ）－Ｇ－（Ｅ／Ｄ）－（Ｔ／Ｓ）－Ｇ－Ｐ（配列番号１３７）、ＤＲＧＥＴＧＰ（配列番号１３８）、およびＧＰＡＸ（配列番号１３９）から選択される配列を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

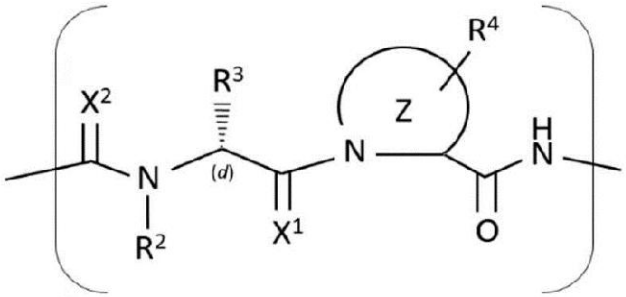
【請求項２０】

ＦＡＰα切断型リンカーの基質認識配列（ＳＲＳ）が、

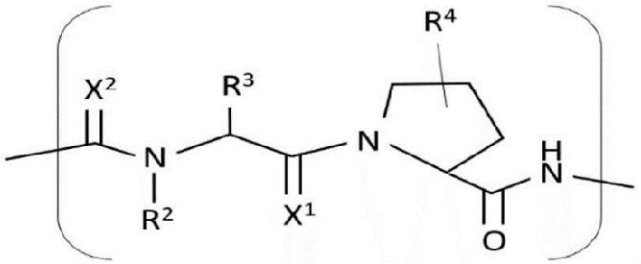
【化２】



,

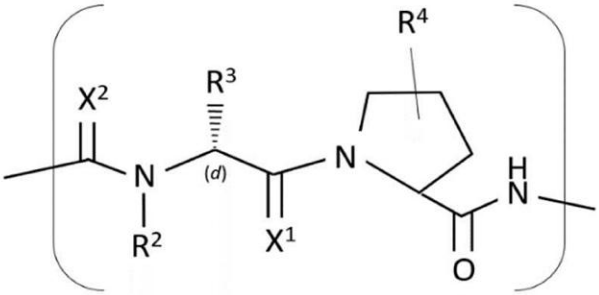


,

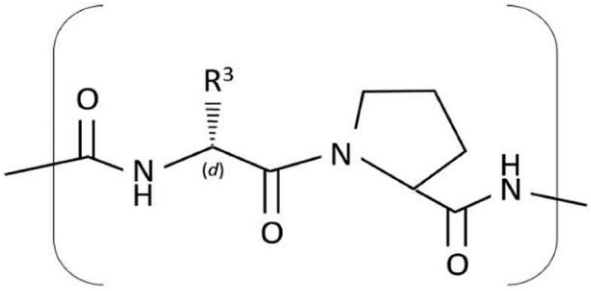


,

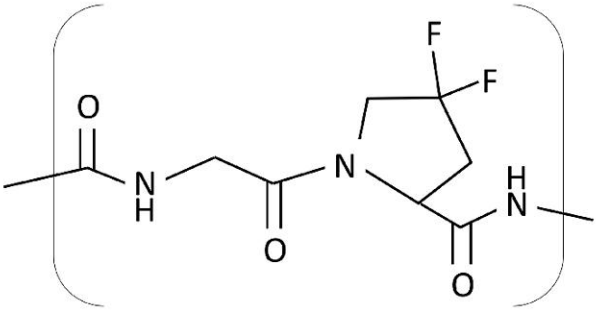
【化３】



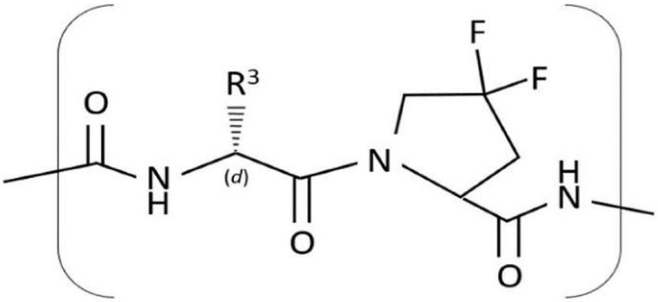
,



,



,または



［式中、
　Ｒ^{2}は、水素または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$）アルキルであり、
　Ｒ^{3}は、水素、または分枝鎖状低級アルキルもしくは直鎖状低級アルキルであり；
　Ｒ^{4}は、分枝鎖状低級アルコキシまたは直鎖状低級アルコキシであり；
　Ｘ^{1}は、ＯもしくはＳであり；かつ／または
　Ｘ^{2}は、ＯもしくはＳである］
により表される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２１】
　ＦＡＰα切断型リンカーの基質認識配列が、（ｄ）－Ａｌａに対して、Ｎ末端側にあってもよい、第３のアミノ位置を含み、第３のアミノ酸位置におけるアミノ酸は、セリンまたはトレオニンであってもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２２】

治療用部分が、細胞傷害剤である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２３】

治療用部分が、細胞増殖抑制剤である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２４】

治療用部分が、エピジェネティック剤である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２５】

治療用部分が、化学療法薬部分である、請求項１から２１のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２６】

化学療法薬部分が、タキサン、白金ベースの薬剤、およびプロテアソーム阻害剤からなる群から選択される、請求項２５に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２７】

タキサンが、パクリタキセル、ドセタキセル、およびカバジタキセルからなる群から選択される、請求項２６に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２８】

白金ベースの薬剤が、オキサリプラチン、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン、ピコプラチン、フェナントリプラチン、トリプラチン、スピロプラチン、サトラプラチン、イプロプラチン、およびサトラプラチンからなる群から選択される、請求項２６に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項２９】

プロテアソーム阻害剤が、ボルテゾミブ、ラクタシスチン、ジスルフィラム、エピガロカテキン－３－ガレート、マリゾミブ（サリノスポラミドＡ）、オプロゾミブ（ＯＮＸ－０９１２）、デランゾミブ（ＣＥＰ－１８７７０）、エポキソミシン、およびベーター－ヒドロキシベーター－メチルブチレートからなる群から選択される、請求項２６に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３０】

治療用部分が、インビボにおける、自然免疫応答を誘導する、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３１】

治療用部分が、急性毒性である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３２】

治療用部分が、ＴＬＲアゴニスト、ＲＩＧ－Ｉアゴニスト、ｉＤＡＳＨ阻害剤、およびＳＴＩＮＧアゴニストから選択される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３３】

治療用部分が、Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ（タラボスタット）である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３４】

治療用部分が、受容体リガンドを含む、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３５】

受容体リガンドが、ソマトスタチン、コレシストキニン－２（ＣＣＫ２）、葉酸、ボムベシン、ガストリン放出ペプチド、ニューロテンシン、Ｐ物質、グルカゴン様ペプチド１、神経ペプチドＹ、およびこれらの類似体から選択される、請求項３４に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項３６】

治療用部分が、
【化４】

$$-\mathrm{RBM}-(\mathrm{Z})_{p}$$

［式中、ＲＢＭは、受容体結合性部分であり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分であり、ｐは、０（Ｚは、存在しない）、または１～８の整数である］
により表される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項３７】
ｐが、１である、請求項３６に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項３８】
治療用部分が、
【化５】

$$-\mathrm{RBM}-\mathrm{L}^{3}-\mathrm{Z}$$

［式中、ＲＢＭは、受容体結合性部分であり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分であり、L^{3}は、結合、または切断型リンカーもしくは非切断型リンカーである］
により表される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項３９】
L^{3}が、酸不安定性または酵素感受性であるリンカーを含む、請求項３８に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４０】
L^{3}が、カテプシン切断部位を含む、請求項３９に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４１】
治療用部分が、遊離治療用部分の循環血清半減期の、少なくとも５、１０、２５、５０、１００、なおまたは１０００倍である循環血清半減期を有する、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４２】
治療用部分が、少なくとも１０、２５、５０、１００、２００、または３００時間である循環血清半減期を有する、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４３】
少なくとも１０、２４、４８、７２、９６、または１２０時間にわたり、同じ期間にわたる、全身循環中の遊離治療用部分の、少なくとも２、５、１０、２０、５０、７５、または１００倍の濃度である、ＦＡＰαを発現する標的組織内の遊離治療用部分濃度をもたらす、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４４】
ＦＡＰα＋腫瘍を有する対象へと投与される場合に、少なくとも１０、２４、４８、７２、９６、または１２０時間の期間にわたり、遊離治療用部分の抗腫瘍活性についてのＥC_{50}であるか、またはこれを上回る、遊離治療用部分の腫瘍内濃度をもたらす、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４５】
ＦＡＰα＋腫瘍を有する対象へと投与される場合に、抗腫瘍活性について、少なくとも２、５、１０、２５、５０、１００、または５００の治療指数を有する、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。
【請求項４６】
ＦＡＰα＋腫瘍を有する対象へと投与される場合に、抗腫瘍活性について、遊離治療用部分の治療指数の、少なくとも２、１０、５０、１００、２５０、５００、１０００、５

０００、または１０，０００倍である治療指数を有する、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項４７】

遊離治療用部分に比べて、等用量ベースにおいて比較された場合に、より大きな百分率の遊離治療用部分が、ＦＡＰαを発現する標的組織内に局在し、遊離治療用部分に比べて、等用量の治療用コンジュゲートで、他の組織（血液、肝臓、または心臓など）と比べた、標的組織内に局在する遊離治療用部分の比が、少なくとも２、５、１０、１００、または１０００倍であってもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項４８】

治療用コンジュゲートの最大耐量が、遊離治療用部分の最大耐量の、少なくとも２、５、１０、１００、または１０００倍である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項４９】

治療用コンジュゲートの細胞透過率が、遊離治療用部分の細胞透過率より、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、９９％、または９９．９％小さい、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項５０】

治療用コンジュゲートの循環半減期が、遊離治療用部分の循環半減期より、少なくとも２５％、５０％、７５％、１００％、１５０％、２００％、５００％、７５０％、または１０００％長い、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項５１】

治療用コンジュゲートが、腫瘍細胞に対して、遊離治療用部分と比べて、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、９９％、９９．９％、または９９．９９％未満の、細胞傷害活性または細胞溶解活性を有する、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲート。

【請求項５２】

前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲートと、薬学的に許容される賦形剤とを含む組成物。

【請求項５３】

対象へと、前記請求項のいずれか一項に記載の、治療用コンジュゲートまたは組成物を投与することを含み、対象が、罹患組織を有し、がんを有してもよい方法。

【請求項５４】

治療用コンジュゲートまたは組成物が、対象の腫瘍微小環境内における、乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）の放出を、対照の非処置対象と比べて、少なくとも０．５倍、または少なくとも１倍増大させるのに有効な量において投与される、請求項５３に記載の方法。

【請求項５５】

腫瘍であってもよい罹患組織の容量が、治療用コンジュゲートまたは組成物の投与の約２～３週間後に、少なくとも５０％、少なくとも６０％、または少なくとも７０％低減される、請求項５３または５４に記載の方法。

【請求項５６】

がんであってもよい罹患組織を処置するための方法における使用のための、前記請求項のいずれか一項に記載の、治療用コンジュゲートまたは組成物。

【請求項５７】

がんであってもよい罹患組織を処置するための医薬の製造における、前記請求項のいずれか一項に記載の治療用コンジュゲートの使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

本出願は、３５　Ｕ．Ｓ．Ｃ．§１１９（ｅ）の下において、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、２０２０年１０月３０日に出願された、ＵＳ６３／１０８，０２０、および２０２１年６月７日に出願された、ＵＳ６３／１９７，９２６の利益を主張する。

【背景技術】

【０００２】

多様な治療用薬物、例えば、自然免疫応答を誘導する薬物は、免疫関連毒性および他の用量制限因子のために、実際上の有効性を欠くが、これらの薬物は、全身使用のためには、毒性が強すぎることが多い。これは、全身における自然免疫の活性化が、投与されうる用量を大幅に制限するためである。したがって、多くの対象において、最大耐量は、治療レベルに到達しない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００３】

治療剤またはイメージング剤の、血清半減期延長型薬物コンジュゲートであって、切断部位において、治療用部分を放出するように、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）により、選択的に切断されうるＦＡＰα基質を含むリンカーを有する薬物コンジュゲートが開示される。ＦＡＰαにより、ＦＡＰα基質が切断されると、薬物コンジュゲートは、その活性形態にあるか、またはその活性形態へとたやすく代謝される（または他の形で転換される）形態にある治療用部分を放出する。薬物コンジュゲートを含む医薬組成物のほか、ＦＡＰαの上方調節により特徴づけられる障害を処置するための薬物コンジュゲートを使用する方法もまた、開示される。

【課題を解決するための手段】

【０００４】

一部の態様において、対象において、急性毒性を誘導せずに、対象の腫瘍微小環境内において、治療有効量の薬物（または他の治療用部分）を放出する治療用コンジュゲートがデザインされる。驚くべきことに、本開示のコンジュゲートは、細胞結合性（例えば、ターゲティング）部分の非存在下においてもなお、治療有効量の薬物の局所性デリバリーが可能である。本開示のコンジュゲートは、ターゲティング部分または他の細胞特異性ホーミング機構ではなく、半減期延長部分と、腫瘍微小環境内特異的な、薬物（または他の治療用部分）の局所的蓄積および放出を可能とする切断型リンカーとを含む。半減期延長部分は、薬物の局所的蓄積を可能とする一方、腫瘍微小環境内に、高レベルにおいて存在するＦＡＰα酵素により、特異的に切断される切断型リンカーを使用して、特異性も達成される。したがって、ＦＡＰαによる、リンカーの特異的切断は、薬物の全身デリバリーと典型的に関連する毒性副作用を伴わずに、腫瘍微小環境内における、治療有効量の薬物の局所的放出を結果としてもたらす。

【０００５】

本開示の一部の態様は、ＦＡＰα切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含み、インビボ（ｉｎ　ｖｉｖｏ）における、治療用コンジュゲートの循環血清半減期が、少なくとも４８時間であり、コンジュゲートは、細胞の細胞表面タンパク質に、1×10^{-6}Ｍまたはこれ未満のK_dで結合する細胞結合性部分を含まない、治療用コンジュゲートを提示する。

【０００６】

本開示の他の態様は、ＦＡＰα切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含み、インビボにおける、治療用コンジュゲートの循環血清半減期が、少なくとも４８時間であり、コンジュゲートは、腫瘍微小環境内の、細胞の細胞表面タンパク質に結合する細胞結合性部分を含まない、治療用コンジュゲートを提示する。

【０００７】

本開示のさらに他の態様は、ＦＡＰα切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含み、インビボにおける、治療用コンジュゲートの循環血清半減期

が、半減期延長部分へと連結されていない治療用部分の循環血清半減期と比べて、少なくとも２倍延長され、コンジュゲートは、細胞の細胞表面タンパク質に、１×１０$^{-6}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$で結合する細胞結合性部分を含まない、治療用コンジュゲートを提示する。

【０００８】

本開示のなおも他の態様は、ＦＡＰα切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含み、インビボにおける、治療用コンジュゲートの循環血清半減期が、半減期延長部分へと連結されていない治療用部分の循環血清半減期と比べて、少なくとも２倍延長され、コンジュゲートは、腫瘍微小環境内の、細胞の細胞表面タンパク質に結合する細胞結合性部分を含まない、治療用コンジュゲートを提示する。

【０００９】

本明細書において、半減期延長部分へと連結されていない治療用部分は、「遊離」治療用部分（すなわち、ＦＡＰαによる、コンジュゲートの切断から結果として得られる、治療用部分の親分子）と称される。

【００１０】

一部の実施形態において、半減期延長部分は、血清タンパク質を含む。例えば、血清タンパク質は、フィブロネクチン、トランスフェリン、およびヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）から選択されうる。

【００１１】

一部の実施形態において、半減期延長部分は、血清タンパク質に結合する分子を含む。例えば、血清タンパク質に結合する分子は、フィブロネクチン、トランスフェリン、またはＨＳＡでありうる。

【００１２】

一部の実施形態において、血清タンパク質に結合する分子は、抗体である。抗体は、例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）２、Ｆ（ａｂ’）、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆ（ａｂ’）３、Ｆｄ、Ｆｖ、ジスルフィド連結型Ｆｖ、ｄＡｂ、またはｓｄＡｂ［またはＮＡＮＯＢＯＤＹ（登録商標）］、ＣＤＲ、ｓｃＦｖ、（ｓｃＦｖ）２、ｄｉ－ｓｃＦｖ、ｂｉ－ｓｃＦｖ、ｔａｓｃＦｖ（タンデムｓｃＦｖ）、ＡＶＩＢＯＤＹ（登録商標）（例えば、ダイアボディー、トリアボディー、およびテトラボディー）、Ｔ細胞エンゲージャー［ＢｉＴＥ（登録商標）］、Ｆｃ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、Ｆｃａｂ、ｍＡｂ２、ＳＭＩＰ（ｓｍａｌｌ ｍｏｄｕｌａｒ ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ）、Ｇｅｎｍａｂ／ユニボディーまたはデュオボディー、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮＡＲ、ミニボディー、ＩｇＧＡＣＨ２、ＤＶＤ－Ｉｇ、プロボディー、イントラボディー、または多特異性抗体でありうる。

【００１３】

一部の実施形態において、血清タンパク質に結合する分子は、非抗体分子である。非抗体分子は、例えば、アフィボディー、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド、アフィリン、アンチカリン、アトリマー、アビマー、ＤＡＲＰｉｎ、ＦＮ３土台（例えば、Ａｄｎｅｃｔｉｎｓ、Ｃｅｎｔｙｒｉｎｓ）、フィノマー、Ｋｕｎｉｔｚドメイン、ナノフィチン、プロネクチン、トリボディー、バイサイクリックペプチド、またはＣｙｓノットでありうる。血清タンパク質に結合する、他の非抗体分子も、本開示に包含される。

【００１４】

一部の実施形態において、半減期延長部分は、ステフィンポリペプチド［すなわち、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド］の、ＨＳＡ結合性組換え操作変異体を含む。

【００１５】

一部の実施形態において、ステフィンポリペプチド［すなわち、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド］の組換え操作変異体は、配列番号１１０～１３２のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００１６】

一部の実施形態において、半減期延長部分は、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、もし

くはＩｇＭ、またはこれらのサブクラスに由来してもよい、抗体のＦｃドメインを含む。

【００１７】

一部の実施形態において、半減期延長部分は、ポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ）、ヒドロキシエチルデンプン、ＸＴＥＮ（商標）ポリマー、およびプロリン－アラニン－セリンポリマーからなる群から選択されてもよい生体適合性ポリマーを含む。

【００１８】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、式：Ｘ－Ｌ^{1}－ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ［式中、Ｘは、半減期延長部分であり、Ｌ^{1}は、スペーサーまたは結合であり、ＳＲＳは、ＦＡＰαにより切断可能な基質認識配列であり、Ｌ^{2}は、自壊性リンカー（ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ　ｌｉｎｋｅｒ）（例えば、遊離治療用部分を放出するように、ＦＡＰαによる切断の後に、代謝されるか、さもなければ消失させられる）または結合であり、ＴＭは、治療用部分である］のうちの１つにより表される。

【００１９】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、式：Ｘ－（Ｌ^{1}－ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ）ｎ；Ｘ－Ｌ^{1}－（ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ）ｎ；（Ｘ）ｍ－（Ｌ^{1}－ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ）ｎ；または（Ｘ）ｍ－Ｌ^{1}－（ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ）ｎ［式中、Ｘは、半減期延長部分であり、Ｌ^{1}は、スペーサーまたは結合であり、ＳＲＳは、ＦＡＰαにより切断可能な基質認識配列であり、Ｌ^{2}は、自壊性リンカーまたは結合であり、ＴＭは、治療用部分であり、ｍは、１～６の整数であり、ｎは、１～５００であるが、１～１００、１～１０、または１～５でもよい整数］のうちの１つにより表される。

【００２０】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、インビボの、患者の循環血清中のアルブミンまたは他のタンパク質に、化学的コンジュゲートすることが可能な部分を含む。一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、式：　Ｙ－Ｌ^{1}－ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ；Ｙ－（Ｌ^{1}－ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ）ｎ；またはＹ－Ｌ^{1}－（ＳＲＳ－Ｌ^{2}－ＴＭ）ｎ［式中、Ｌ^{1}、ＳＲＳ、Ｌ^{2}、およびＴＭは、上記において規定された通りであり、Ｙは、インビボにおける、タンパク質への化学的架橋が可能な反応性基である］のうちの１つにより表される。

【００２１】

一部の実施形態において、Ｙは、タンパク質内に存在する、遊離アミン（リシンの側鎖など）への化学的架橋が可能な反応性基である。非限定例は、図６Ａに示されるリンカーなど、ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド）を含むリンカーを含む。

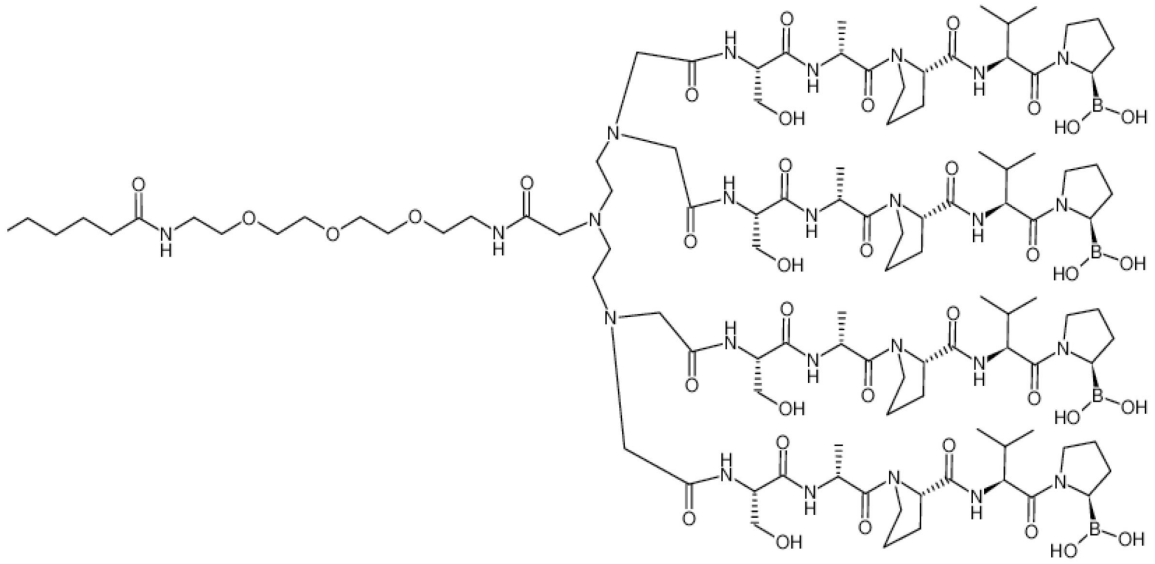
【００２２】

一部の実施形態において、Ｙは、タンパク質内に存在する、遊離チオール基（システインの側鎖など）への化学的架橋が可能な反応性基である。非限定例は、図６Ｂに示されるリンカーなど、マレイミドを含むリンカーを含む。

【００２３】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、

【化１】



である。

【００２４】

一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーは、オリゴペプチドである。一部の実施形態において、オリゴペプチドは、治療用部分へと共有結合的に連結された（結合または自壊性リンカーを介してであってもよい）Ｃ末端プロリン、および／またはＮ末端保護基を含む。一部の実施形態において、結合は、ＦＡＰのタンパク質分解活性により切断されうる結合、例えば、アミド結合である。一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーは、ＦＡＰのＰ１’特異性に寄与する（ＦＡＰにより、Ｐ１’残基として認識される）。

【００２５】

一部の実施形態において、結合は、ＦＡＰαのタンパク質分解活性により切断される場合があり、この場合、結合は、アミド結合であってもよい。

【００２６】

一部の実施形態において、自壊性リンカーは、Ｈｉｓ－Ａｌａ、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢＣ）、または２，４－ビス（ヒドロキシメチル）アニリンでもよい複素環性自壊性部分を含む。

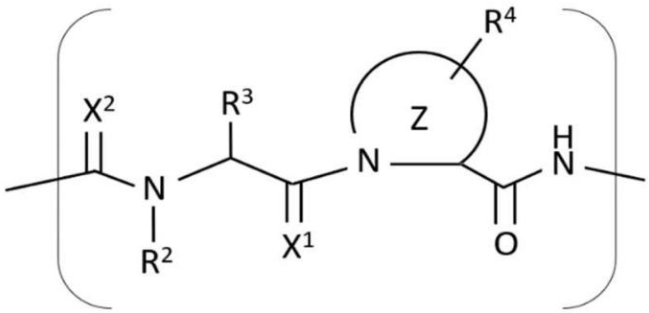
【００２７】

一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーは、配列であるＤ－Ａｌａ－Ｐｒｏ、または配列であるＤ－Ｓｅｒであってもよい、Ｄ－Ａｌａ－Ｐｒｏ、ＰＰＧＰ（配列番号１３６）、（Ｄ／Ｅ）－（Ｒ／Ｋ）－Ｇ－（Ｅ／Ｄ）－（Ｔ／Ｓ）－Ｇ－Ｐ（配列番号１３７）、ＤＲＧＥＴＧＰ（配列番号１３８）、およびＧＰＡＸ（配列番号１３９）から選択される配列を含む。

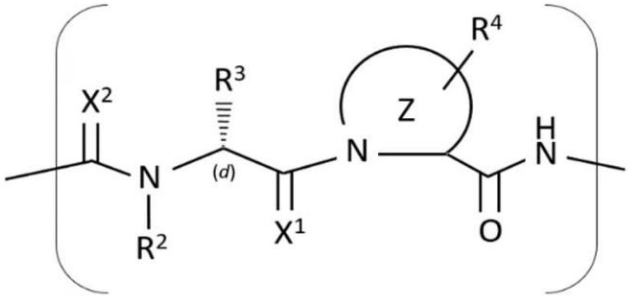
【００２８】

一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーの基質認識配列（ＳＲＳ）は、

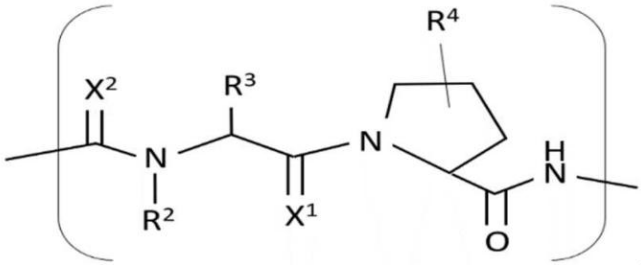
【化２】



,

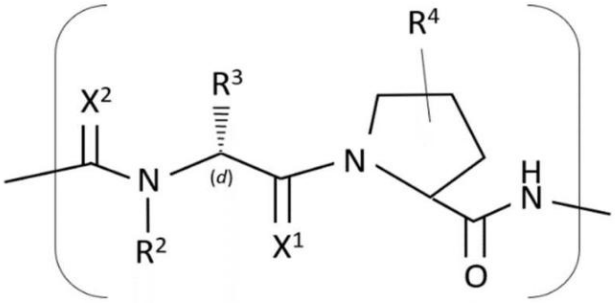


,

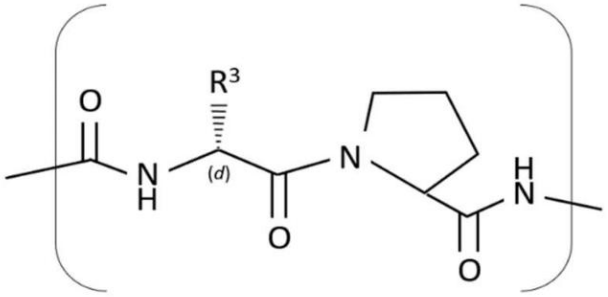


,

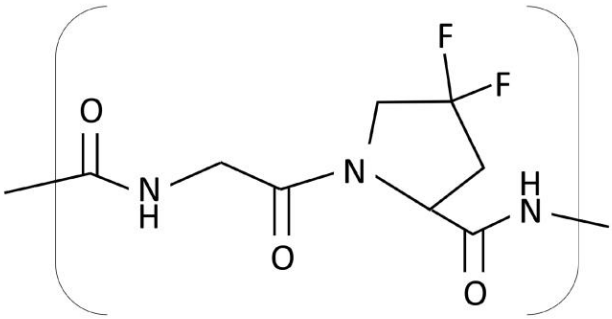
【化３】



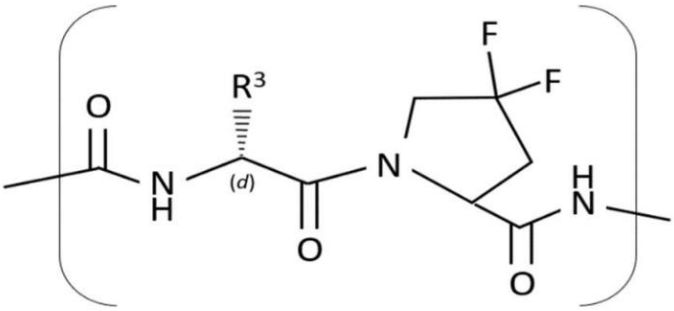
,



,



または



{式中、Ｒ^{2}は、水素または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$）アルキルまたは水素であり、Ｒ^{3}は、水素、または分枝鎖状低級アルキルもしくは直鎖状低級アルキル、例えば、メチルなどの低級アルキル［（ｄ）が、アミノ酸側鎖である場合、Ｒ^{3}は、水素ではない］であり、Ｒ^{4}は、ヒドロキシメチル（例えば、セリンについて）など、分枝鎖状低級アルコキシまたは直鎖状低級アルコキシ、または１－ヒドロキシエチル（例えば、トレオニンについて）（一実施形態において、Ｒ^{4}は、ヒドロキシメチルである）であり、Ｘ^{1}は、ＯもしくはＳであり、かつ／またはＸ^{2}は、ＯまたはＳである}
により表される。

【００２９】

一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーの基質認識配列は、（ｄ）－Ａｌａに対して、Ｎ末端側にあってもよい、第３のアミノ位置（またはこの位置における、他の（ｄ）－アミノ酸であり、Ｒ３により形成される）を含み、この場合、第３のアミノ酸位

置におけるアミノ酸は、セリンまたはトレオニンであってもよい。

【００３０】

一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーは、ＦＡＰαによる切断についてのｋｃａｔ／Ｋｍが、プロリルエンドペプチダーゼによる切断についてのｋｃａｔ／Ｋｍの、少なくとも１０倍、少なくとも１００倍、１０００倍、５０００倍、または１０，０００倍である（ＥＣ３．４．２１．２６；ＰＲＥＰ）。

【００３１】

一部の実施形態において、治療用部分は、細胞傷害剤、すなわち、治療用コンジュゲートから放出されると、治療用コンジュゲートが投与される濃度において、標的細胞の細胞死を引き起こす細胞傷害剤である。

【００３２】

一部の実施形態において、治療用部分は、細胞増殖抑制剤、すなわち、治療用コンジュゲートから放出されると、治療用コンジュゲートが投与される濃度において、標的細胞の有糸分裂の停止または休止を引き起こす細胞増殖抑制剤である。

【００３３】

一部の実施形態において、治療用部分は、エピジェネティック剤、すなわち、治療用コンジュゲートから放出されると、治療用コンジュゲートが投与される濃度において、標的細胞のエピジェネティック変化を引き起こし、例えば、細胞の、別の細胞表現型への分化（または脱分化）を結果としてもたらしうる、エピジェネティック剤である。

【００３４】

一部の実施形態において、治療用部分は、化学療法薬部分である。例えば、化学療法薬部分は、タキサン、白金ベースの薬剤、またはプロテアソーム阻害剤でありうる。他の化学療法薬部分も、本開示に包含される。

【００３５】

一部の実施形態において、タキサンは、パクリタキセル、ドセタキセル、およびカバジタキセルからなる群から選択される。一部の実施形態において、タキサンは、パクリタキセルである。他のタキサンも、本開示に包含される。

【００３６】

一部の実施形態において、白金ベースの薬剤は、オキサリプラチン、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン、ピコプラチン、フェナントリプラチン、トリプラチン、スピロプラチン、サトラプラチン、イプロプラチン、およびサトラプラチンからなる群から選択される。一部の実施形態において、白金ベースの薬剤は、オキサリプラチンである。他の白金ベースの薬剤も、本開示に包含される。

【００３７】

一部の実施形態において、プロテアソーム阻害剤は、ボルテゾミブ、ラクタシスチン、ジスルフィラム、エピガロカテキン－３－ガレート、マリゾミブ（サリノスポラミドＡ）、オプロゾミブ（ＯＮＸ－０９１２）、デランゾミブ（ＣＥＰ－１８７７０）、エポキソミシン、およびベーター－ヒドロキシベーター－メチルブチレートからなる群から選択される。他のプロテアソーム阻害剤も、本開示に包含される。

【００３８】

一部の実施形態において、治療用部分は、インビボにおいて、自然免疫応答（獲得免疫応答と対比される）を誘導する。一部の実施形態において、治療用部分は、急性毒性である。急性毒性は、例えば、短時間（例えば、２４時間未満）内の、単回曝露または複数回曝露から生じる、薬物の有害作用について記載する。急性毒性の有害作用は、典型的に、薬物の投与後、１４日間以内に生じる。一部の実施形態において、治療用部分は、ＴＬＲアゴニスト、ＲＩＧ－Ｉアゴニスト、ｉＤＡＳＨ阻害剤、およびＳＴＩＮＧアゴニストから選択される。一部の実施形態において、治療用部分は、Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ（タラボスタット）である。

【００３９】

一部の実施形態において、治療用部分は、治療用コンジュゲートから放出されると、細

胞表面受容体の細胞外リガンド結合性ドメインに結合することが可能なリガンドなどの、受容体に対するリガンドを含む。例示的な受容体リガンドは、ソマトスタチン、コレシストキニン２（ＣＣＫ２）、葉酸、ボムベシン、ガストリン放出ペプチド、ニューロテンシン、Ｐ物質、グルカゴン様ペプチド１、神経ペプチドＹ、およびこれらのリガンドの類似体を含む。受容体リガンドは、それ自体、薬理学的活性を有するか、または、コンジュゲートされた薬物部分、毒素、または放射性同位元素をデリバリーするのに使用されうる。

【００４０】

一部の実施形態において、治療用部分は、一般式：

【化４】

$$-\mathrm{RBM}-(\mathrm{Z})_p$$

［式中、ＲＢＭは、受容体結合性部分であり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分であり、ｐは、０（Ｚは、存在しない）、または１～８の整数である］により表される。一部の実施形態において、ｐは、１である。

【００４１】

一部の実施形態において、治療用部分は、一般式：

【化５】

$$-\mathrm{RBM}-\mathrm{L}^3-\mathrm{Z}$$

［式中、ＲＢＭは、受容体結合性部分であり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分であり、L^3は、結合、または切断型リンカーもしくは非切断型リンカーである］により表される。例えば、L^3は、Ｚが、受容体結合性部分であるＲＢＭに依存する、細胞への結合を介する、－ＲＢＭ－L^3－Ｚ部分の内部化時に、細胞内に放出されるように、酸不安定性または酵素感受性（カテプシン切断部位を含むなど）であるリンカーでありうる。

【００４２】

一部の実施形態において、治療用部分は、遊離治療用部分の循環血清半減期の、少なくとも５、１０、２５、５０、１００、なおまたは１０００倍である循環血清半減期を有する。治療用部分の、循環血清半減期は、治療用部分の、血清中濃度が、５０％低減されるために要する時間として規定される、薬物動態パラメータである。

【００４３】

一部の実施形態において、治療用部分は、少なくとも１０、２５、５０、１００、２００、または３００時間である循環血清半減期を有する。

【００４４】

一部の実施形態において、少なくとも１０、２４、４８、７２、９６、または１２０時間にわたり、治療用コンジュゲートは、同じ期間にわたる、全身循環中の遊離治療用部分の、少なくとも２、５、１０、２０、５０、７５、または１００倍の濃度である、標的ＦＡＰα発現組織内の遊離治療用部分濃度をもたらす。例えば、遊離治療用部分濃度の、このような差違は、対象の、ＦＡＰα発現腫瘍と、血清との間において生じうる。

【００４５】

一部の実施形態において、ＦＡＰα＋腫瘍を有する対象へと投与される場合に、治療用コンジュゲートは、少なくとも１０、２４、４８、７２、９６、または１２０時間の期間にわたり、遊離治療用部分の抗腫瘍活性についてのＥＣ$_{50}$であるか、またはこれを上回る、遊離治療用部分の腫瘍内濃度をもたらす。

【００４６】

一部の実施形態において、ＦＡＰα＋腫瘍を有する対象へと投与される場合に、治療用コンジュゲートは、抗腫瘍活性について、少なくとも２、５、１０、２５、５０、１００

、または５００の治療指数を有する。治療指数（ＴＩ）は、薬物の相対的安全性についての、定量的尺度である。ＴＩとは、治療効果を引き起こす治療剤の量の、毒性を引き起こす量（ＴＩはまた、治療比とも称される）との比較である。

【００４７】

一部の実施形態において、ＦＡＰα＋腫瘍を有する対象へと投与される場合に、治療用コンジュゲートは、抗腫瘍活性について、遊離治療用部分の治療指数の、少なくとも２、１０、５０、１００、２５０、５００、１０００、５０００、または１０，０００倍である治療指数を有する。

【００４８】

一部の実施形態において、遊離治療用部分に比べて、等用量ベースにおいて比較された場合に、より大きな百分率の遊離治療用部分が、ＦＡＰαを発現する標的組織内に局在し、遊離治療用部分に比べて、等用量の治療用コンジュゲートで、他の組織（血液、肝臓、または心臓など）と比べた、標的組織内に局在する遊離治療用部分の比は、少なくとも２、５、１０、１００、または１０００倍であってもよい。

【００４９】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートの最大耐量は、遊離治療用部分の最大耐量の、少なくとも２、５、１０、１００、または１０００倍である。最大耐量は、具体的な期間において、許容不可能な副作用または過剰な毒性を引き起こさない、治療用部分（例えば、薬物）の最高用量である。最大耐量は、臨床試験において、許容可能な副作用が見出される最高用量まで、異なる被験者群に対する用量を増大させて調べることにより決定されうる。

【００５０】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートの細胞透過率は、遊離治療用部分の細胞透過率より、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、９９％、または９９．９％小さい。

【００５１】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートの循環半減期は、遊離治療用部分の循環半減期より、少なくとも２５％、５０％、７５％、１００％、１５０％、２００％、５００％、７５０％、または１０００％長い。

【００５２】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、腫瘍細胞に対して、遊離治療用部分と比べて、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、９９％、９９．９％、または９９．９９％未満の、細胞傷害活性または細胞溶解活性を有する。

【００５３】

本明細書の一部の態様において、前出の段落のうちのいずれか１つによる治療用コンジュゲートと、薬学的に許容される賦形剤とを含む組成物もまた提示される。

【００５４】

本明細書の一部の態様において、対象へと、前出の段落のうちのいずれか１つによる治療用コンジュゲートまたは組成物を投与することを含み、対象が、罹患組織を有し、がんを有してもよい方法もさらに提示される。

【００５５】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートまたは組成物は、対象の腫瘍微小環境内における、乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）の放出を、対照の非処置対象と比べて、少なくとも０．５倍、または少なくとも１倍増大させるのに有効な量において投与される。一部の実施形態において、治療用コンジュゲートまたは組成物は、対象の腫瘍微小環境内における、ＬＤＨの放出を、約０．５倍、約０．６倍、約０．７倍、約０．８倍、約０．９倍、約１倍、約１．５倍、または約２倍増大させるのに有効な量において投与される。一部の実施形態において、治療用コンジュゲートまたは組成物は、対象の腫瘍微小環境内における、ＬＤＨの放出を、約０．５倍～約１．５倍、約０．５倍～約２倍、または約１倍～約２倍増大させるのに有効な量において投与される。

【００５６】
一部の実施形態において、腫瘍であってもよい罹患組織の容量は、治療用コンジュゲートまたは組成物の投与の約２～３週間後において、少なくとも５０％、少なくとも６０％、または少なくとも７０％低減される。一部の実施形態において、腫瘍であってもよい罹患組織の容量は、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、または約８０％低減される。一部の実施形態において、腫瘍であってもよい罹患組織の容量は、約５０％～約６０％、または約５０％～約７０％、または約５０％～約８０％低減される。

【００５７】
一部の態様は、がんであってもよい罹患組織を処置するための方法における使用のための、前出の段落のうちのいずれか１つによる治療用コンジュゲートまたは組成物を提供する。

【００５８】
他の態様は、がんであってもよい罹患組織を処置するための医薬の製造における、前出の段落のうちのいずれか１つによる治療用コンジュゲートの使用を提供する。

【００５９】
本開示の一部の態様は、ＦＡＰα切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された、化学療法剤である治療用部分を含む、治療用コンジュゲートを提示するが、この場合、化学療法剤部分は、インビボにおける、自然免疫応答を誘導し、かつ／または急性毒性であり、インビボにおける、治療用コンジュゲートの循環血清半減期は、少なくとも４８時間であり、治療用コンジュゲートは、細胞の細胞表面タンパク質に、1×10^{-8}Ｍまたはこれ未満のK_dで結合する細胞結合性部分を含まない。一部の実施形態において、化学療法剤部分は、ＴＬＲアゴニスト、ＲＩＧ－Ｉアゴニスト、ｉＤＡＳＨ阻害剤、およびＳＴＩＮＧアゴニストから選択される。一部の実施形態において、化学療法剤部分は、Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ（タラボスタット）である。一部の実施形態において、半減期延長部分は、抗体Ｆｃドメインである。一部の実施形態において、半減期延長部分は、ＨＳＡである。一部の実施形態において、半減期延長部分は、ステフィンポリペプチド［すなわち、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド］の、ＨＳＡ結合性組換え操作変異体であり、配列番号１１０～１３２のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含んでもよい。

【図面の簡単な説明】

【００６０】
【図１】図１は、本明細書において記載される、半減期延長型治療用コンジュゲートについての実施形態を例示する概略図である。略図において、「Ｘ」は、血清半減期（ｈａｌｆ－ｌｉｋｅ）延長部分、この場合、システイン残基のチオール側鎖を伴う、マレイミドコンジュゲートを介して、ＦＡＰαの基質配列、ＦＡＰによるリンカーの切断時に放出される薬物部分（表示のＩ－ＤＡＳＨ阻害剤である、バリンボロプロリン）を含むリンカーへと連結されたタンパク質を表す。

【図２】図２は、結腸癌についてのマウスモデルにおける腫瘍容量により指し示される、本明細書において記載される治療用コンジュゲートの例の抗腫瘍活性を示すグラフである。「ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５」群は、細胞ターゲティング部分を伴わない、治療用コンジュゲートである。「ＡＶＡ０４－１８２」群は、細胞ターゲティング部分を含む。

【図３】図３は、表示の投与量レベルにおける、治療用コンジュゲートの投与の後の、腫瘍内および血清中における、遊離Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ（タラボスタット）の量を示すグラフである。

【図４】図４Ａ～４Ｂは、マウスおよびラットにおいて、単独で投与されたタラボスタット（図４Ａ）、および本明細書において記載される治療用コンジュゲートと共に投与されたタラボスタット（図４Ｂ）のEC_{50}を示すグラフである。

【図５】図５Ａ～５Ｄは、ビヒクル（図５Ａ）、細胞結合性部分を含むコンジュゲート（図５Ｂ）、および本明細書において記載される治療用コンジュゲート（細胞結合性部分を伴わない、図５Ｂのコンジュゲート）（図５Ｃ）を投与された後の、マウスにおける、腫瘍容量および体重の変化パーセントを描示するグラフである。図５Ｃにおけるマウスについての、体重の変化パーセントもまた、測定した（図５Ｄ）。

【図６】図６Ａは、タンパク質のリシン残基へのコンジュゲーションのためのＮＨＳ基を含む、例示的ＦＡＰ活性化Ｉ－ＤＡＳＨ阻害剤である、「６３２５」についての構造である。図６Ｂは、タンパク質のリシン残基へのコンジュゲーションのためのマレイミド基を含む、例示的ＦＡＰ活性化Ｉ－ＤＡＳＨ阻害剤である、「６３２３」についての構造である。図６Ｃは、タンパク質のリシン残基へのコンジュゲーションのためのマレイミド基を含む、例示的四分枝状ＦＡＰ活性化Ｉ－ＤＡＳＨ阻害剤である、「６５０１」についての構造である。

【図７】図７は、ビヒクル（対照）、ＭＳＡ－６３２５（６３２５とコンジュゲートされた、マウス血清アルブミン）、およびＰＥＧ－６３２５（２０ＫＤａの４アーム型機能的ＰＥＧである、ＳＵＮＢＲＩＧＨＴ　ＰＴＥ－２００　ＰＡと反応させた６３２５）のいずれかを投与された、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ＋マウスにおける、時間経過にわたる腫瘍容量の変化を示すグラフである。

【図８】図８Ａ～８Ｂは、６３２５とコンジュゲートされたヒトＦｃ断片（図８Ａ）、または６３２５とコンジュゲートされた、完全ヒトＩｇＧ抗体（図８Ｂ）を投与された、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ＋マウスにおける、時間経過にわたる個々の動物の腫瘍容量の増殖曲線を示すグラフである。

【図９】図９は、ＦＡＰ活性化ソマトスタチン類似体（オクトレオチド）ベースのコンジュゲート［式中、Ｘは、半減期延長部分であり、Ｌ１は、スペーサーまたは結合であり、Ｘ１およびＸ２は、独立に、ＯまたはＳであり、Ｒ２は、水素または（Ｃ１～Ｃ６）アルキルまたは水素であり、Ｒ３は、水素、または分枝鎖状低級アルキルもしくは直鎖状低級アルキル、例えば、メチルなどの低級アルキルであり、Ｒ４は、ヒドロキシメチル（例えば、セリンについて）など、分枝鎖状低級アルコキシまたは直鎖状低級アルコキシ、または１－ヒドロキシエチル（例えば、トレオニンについて）（一実施形態において、Ｒ４は、ヒドロキシメチルである）であり、Ｌ３は、結合、または切断型リンカーもしくは非切断型リンカーであり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分である］についての、例示的一般構造を例示する。

【図１０】図１０は、ＦＡＰ活性化葉酸ベースのコンジュゲート［式中、Ｘは、半減期延長部分であり、Ｌ１は、スペーサーまたは結合であり、Ｘ１およびＸ２は、独立に、ＯまたはＳであり、Ｒ２は、水素または（Ｃ１～Ｃ６）アルキルまたは水素であり、Ｒ３は、水素、または分枝鎖状低級アルキルもしくは直鎖状低級アルキル、例えば、メチルなどの低級アルキルであり、Ｒ４は、ヒドロキシメチル（例えば、セリンについて）など、分枝鎖状低級アルコキシまたは直鎖状低級アルコキシ、または１－ヒドロキシエチル（例えば、トレオニンについて）（一実施形態において、Ｒ４は、ヒドロキシメチルである）であり、Ｘ３は、ＯまたはＮ（Ｈ）であり、Ｌ３は、結合、または切断型リンカーもしくは非切断型リンカーであり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分である］についての、例示的一般構造を例示する。

【図１１】図１１は、ＦＡＰ基質認識配列（タンパク質コンジュゲーションのためのリンカーを示す）、葉酸ターゲティングリガンド、ペプチドスペーサー、自壊性ジスルフィドリンカー、および細胞毒性薬物である、デスアセチルビンブラスチンモノヒドラジン（ＤＡＶＬＢＨ）から構成される、ＦＡＰ活性化葉酸ベースのＳＭＤＣビンタフォリドについての例示である。

【図１２】図１２は、ＦＡＰ基質認識配列（タンパク質コンジュゲーションのためのリンカーを示す）、葉酸ターゲティング部分、自壊性ジスルフィドリンカー、および親水性Ｐ

ＥＧ化ジペプチドスペーサー（可溶化スペーサー）、および化学療法薬物Ｔａｘｏｌの誘導体である、タキソイドＳＢ－Ｔ－１２１４（Seitz et al. Bioorg. Med. Chem., 2015, 23, 2187-2194を参照されたい）を組み込む、ＦＡＰ活性化葉酸－タキソイドコンジュゲートについての例示である。

【図１３】図１３Ａ～１３Ｂは、ＨＤＡＣ阻害剤である、ＦＡＰ活性化葉酸－ドキソルビシン（図１３Ａ）およびチオレート（ｔｈｉｏｌｏａｔｅ）（図１３Ｂ）の構造を例示する。

【図１４】図１４は、ＦＡＰ基質認識配列（タンパク質コンジュゲーションのためのリンカーを示す）、葉酸ターゲティング部分、自壊性ジスルフィドリンカー、および抗チューブリン細胞毒性マイタンシノイド薬物部分であるＤＭ４を組み込む、ＦＡＰ活性化葉酸－細胞毒性（ｃｙｔｏｔｉｘ）マイタンシノイドコンジュゲートを示す。

【図１５】図１５は、ＦＡＰ活性化葉酸－ＭＭＡＥの構造を例示する。

【図１６】図１６は、カンプトテシンの構造を例示する。

【図１７】図１７は、ｒｈＦＡＰαの存在下（白色バー）または非存在下（グレーの塗りつぶしバー）において、ＦＡＰ活性化Ｉ－ＤＡＳＨ阻害剤である、６３２５の多様なバージョン（Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５、Ｈｕ　ＩｇＧ１－６３２５、ＭＳＡ－６３２５、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　ＣＦ－６３２５、またはＳＱＴ－Ｇｌｙ　ＣＧ－６３２５）のうちの１つと共に、２４時間にわたり培養されたＪ７７４Ａ．１マウスマクロファージ系細胞から、培養物上清へと放出された、乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ；ピロトーシスのマーカー）の増大倍数を示すグラフを含む。実験の各セットについて、非処置対照を使用し、Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ（ＶｂＰ）による対照実験もまた実施した（データは示さない）。全ての値は、平均値±ＳＥＭを表す。「ＦＡＰαあり」と対比した「ＦＡＰαなし」についての統計学的解析は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍにおいて、多重Ｔ検定を介して実施した（＊Ｐ＜０．０５；＊＊Ｐ＜０．０１；＊＊＊Ｐ＜０．００１）。

【図１８】図１８Ａ～１８Ｂは、Ｆｃ上における遊離ＳＨの、マレイミドリンカーによる複合プロドラッグである、６３２３（図１８Ａ）および６５０１（図１８Ｂ）に対する比の測定により決定される、チオール（ＳＨ）基のコンジュゲーションを示すグラフである。

【図１９】図１９Ａ～１９Ｂは、ＦＡＰα特異性阻害剤である、５０５７の存在下または非存在下の、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ腫瘍保有マウスの血清試料中（図１９Ａ）および腫瘍試料中（図１９Ｂ）において、Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５から放出されたＶｂＰの薬物動態を示すグラフである。各時点は、群１つ当たりのマウス３匹を含む。

【図２０】図２０Ａ～２０Ｂは、同系マウス結腸がんモデル（ＣＴ２６－ｍＦＡＰ$^{+}$マウス）における、時間経過にわたる腫瘍容量として測定された、ＳＱＴ－Ｇｌｙコンジュゲート（図２０Ａ）、およびＨｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃコンジュゲート（図２０Ｂ）の有効性を示すグラフである。

【図２１】図２１は、マウス結腸がんモデル（ＣＴ２６－ｍＦＡＰ$^{+}$マウス）の、マウス血清中および腫瘍内において、異なるＦＡＰ活性化プロドラッグから放出されたＶｂＰの薬物動態および組織分布を示すグラフを含む。測定は、液体クロマトグラフィー質量分析（ＬＣ－ＭＳ）を使用して行った。各投与群は、１、４、および２４時間後だけからなった、２４μｇの３８９２を例外として、１、４、６、２４、および４８時間後の回収時点（群１つ当たりのｎ＝３）を表す、５群ずつのサブセットからなった。

【図２２】図２２Ａ～２２Ｂは、マウス結腸がんモデル（ＣＴ２６－ｍＦＡＰ$^{+}$マウス）の、マウス血清中および腫瘍内において、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２コンジュゲート（図２２Ａ）、およびＩｇＧ　Ｆｃコンジュゲート（図２２Ｂ）から放出されたＶｂＰの薬物動態および組織分布を示すグラフを含む。測定は、ＬＣ－ＭＳを使用して行った。各投与群は、１、４、６、２４、および４８時間後の回収時点（群１つ当たりのｎ＝３）を表す、５群ずつのサブセットからなった。

【図２３】図２３は、非腫瘍保有ＢＡＬＢ／ｃマウスにおける、ＦＡＰ活性化プロドラッ

グに対する、血清サイトカインであるＧ－ＣＳＦの応答レベルを描示するグラフである。ビヒクル（ＰＢＳ）、４２ＣＱ－６５０１、および４２ＣＱ－６５０１＋ＭＳＡの、マウス１匹当たり２００ｕｇにおける投与後の、マウス血清中における、Ｇ－ＣＳＦのレベルを示す。

【図２４】図２４Ａ～２４Ｂは、マレイミドリンカーによる複合プロドラッグ（６３２３）の、ステフィンポリペプチドの組換え操作変異体（ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標））－Ｆｃタンパク質の、ヒンジ領域のシステイン残基へのコンジュゲーションを示すグラフである。コンジュゲーションは、還元ＳＨ　１モル当たりの６３２３　０、１０、２０、および４０モルの反応物比（ＳＱＴＧｌｙＣＦ　１個当たりのＳＨ　４個）により実施した。遊離ＳＨ基対反応物比の変化を、図２４Ａに示す。時限コンジュゲーション反応は、ＳＨ基　１個当たりの６３２３　４０個の反応物比により行い、６３２３を添加した、０、５、１０、１５および２０分後に、反応を停止させた。ＳＨ　１個当たりの６３２３　４０個の反応物比による、６３２３の、ＳＱＴＧｌｙＣＦへのコンジュゲーションの反応速度を、図２４Ｂに示す。

【図２５】図２５Ａ～２５Ｂは、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ腫瘍保有マウスにおいて、４２ＣＱ－６５０１の投与後に放出されたＶｂＰの薬物動態を示すグラフである。各投与群は、１、４、６、２４、および４８時間後の回収時点を表す、５群ずつのサブセット（群１つ当たりのｎ＝３）からなった。ＶｂＰは、血清試料中（図２５Ａ）および腫瘍試料中（図２５Ｂ）において、ＬＣ－ＭＳにより測定した。

【図２６】図２６Ａ～２６Ｂは、同系マウス結腸がんモデル（ＣＴ２６－ｍＦＡＰ$^{+}$マウス）における、時間経過にわたる腫瘍容量として測定された、４２ＣＱ－６３２３コンジュゲート（図２６Ａ）、および４２ＣＱ－６５０１コンジュゲート（図２６Ｂ）±ＭＳＡの有効性を示すグラフである。

【図２７】図２７Ａ～２７Ｂは、野生型マウスおよびＦＡＰαノックアウトマウス（群１つ当たりのｎ＝３）において、４２ＣＱ－６３２３コンジュゲート（図２７Ａ）、および４２ＣＱ－６５０１コンジュゲート（図２７Ｂ）の投与後に放出されたＶｂＰの薬物動態を示すグラフである。

【図２８】図２８は、ＶｂＰの例示的プロドラッグである、「３８９２」についての構造である。

【発明を実施するための形態】

【００６１】

本明細書において提示されるデータは、予測外に、本開示の治療用コンジュゲートが、細胞結合性（例えば、細胞ターゲティング）部分を伴わずに全身デリバリーされうるが、それでもなお、直接（例えば、同じ投与経路により）デリバリーされる治療用部分の治療指数を上回る治療指数を維持しつつ、治療有効量の治療用部分（例えば、薬物）を標的罹患組織へとデリバリーすることが可能であることを裏付ける。本明細書において記載される治療用コンジュゲートは、細胞結合性部分ではなく、組み合わされると、腫瘍微小環境（またはＦＡＰαを発現する、他の標的組織）内における、局所性蓄積および治療用部分の放出を可能とする一方、ＦＡＰαを、標的組織より低度のレベルにおいて発現する非標的組織の曝露を低減する半減期延長部分と、ＦＡＰα切断型リンカーとを含む。したがって、本明細書において提示される治療用コンジュゲートは、（１）ＦＡＰαによるプロドラッグの局在化切断、および循環血清半減期の延長に起因する、標的組織内において放出された治療用部分の、高百分率の最大有効濃度に到達する、優れた有効性および／または能力、ならびに（２）親治療用部分と比べて、低度の全身Ｃｍａｘ濃度、および／または低減された全身毒性において投与される可能性に起因する、治療指数（ＴＩ）の改善のうちの１つまたは複数を裏付ける。

【００６２】

本明細書において、線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）切断型リンカーを介して、半減期延長部分へと連結された治療用部分を含む、治療用コンジュゲートが記載される。これらのコンジュゲートの、各構成要素については、下記において、詳細に記

載される。

【００６３】

半減期延長部分

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、半減期延長部分を含む。半減期延長部分は、インビボにおける、治療用部分の、循環血清半減期を延長する。循環血清半減期とは、治療用部分の、血清中の濃度または量が、半量（５０％）に低減されるのに要する時間の長さである。半減期は、対象血清中の、治療用部分濃度を、時間経過にわたり測定することにより、実験的に決定されうる。半減期は、式：０．６９３×（Ｖｄ／ＣＬ）［式中、Ｖｄは、分布容量を表し、ＣＬは、クリアランスを表す］を使用して計算されうる。分布容量とは、血漿中において観察される、同じ濃度の治療用部分総量を含有するのに必要とされる、理論容量（例えば、体内の治療用部分量の、血中、血漿中、および間質液中の遊離形態において測定される、治療用部分濃度に対する比）である。クリアランスとは、単位時間当たりにおいて、治療用部分が、完全に除去される、血漿の容量である。半減期はまた、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、蛍光アッセイ、ラジオアッセイ、ラジオイムノアッセイ、および基礎的質量分析アッセイを使用しても決定されうる。

【００６４】

半減期延長部分は、循環血清分子の半減期を、半減期延長部分へと連結されていない、循環血清分子の半減期と比べて、少なくとも２倍延長しうる。一部の実施形態において、半減期延長部分は、循環血清分子の半減期を、半減期延長部分へと連結されていない、循環血清分子の半減期と比べて、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも６倍、少なくとも７倍、少なくとも８倍、少なくとも９倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、または少なくとも３０倍延長する。一部の実施形態において、半減期延長部分は、循環血清分子の半減期を、半減期延長部分へと連結されていない、循環血清分子の半減期と比べて、２倍～５倍、２倍～１０倍、３倍～５倍、３倍～１０倍、１５倍～５倍、４倍～１０倍、または５倍～１０倍延長する。

【００６５】

一部の実施形態において、半減期延長部分は、例えば、インビボ投与の少なくとも１週間後において、治療用部分の循環血清半減期を、半減期延長部分へと連結されていない治療用部分の循環血清半減期と比べて、少なくとも１０時間、少なくとも１２時間、少なくとも１５時間、少なくとも２０時間、少なくとも２４時間、少なくとも４８時間、少なくとも７２時間、または少なくとも９６時間延長する。

【００６６】

一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも１０時間の、循環血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも２４時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも４８時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも７２時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも９６時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも１２０時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも１４４時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも１６８時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも１９２時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも２１６時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも２４０時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも２６４時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも２８８時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも３１２時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対

象において、少なくとも３３６時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、少なくとも３６０時間の、血清半減期を有する。一部の実施形態において、治療用部分は、ヒト対象において、２４～３６０時間、４８～３６０時間、７２～３６０時間、９６～３６０時間、または１２０～３６０時間の、血清半減期を有する。

【００６７】

血清タンパク質および抗体Ｆｃドメインは、本明細書において提示される通り、半減期延長部分として使用されうる、２つの主要なタンパク質の非限定例である。Ｆｃコンジュゲートおよび血清タンパク質コンジュゲートのいずれも、治療用部分のサイズの増大により、半減期の延長を達成するだけではなく、いずれも、体内の天然の再循環機構：新生児Ｆｃ受容体である、ＦｃＲｎもまた利用する。これらのタンパク質の、ＦｃＲｎへのｐＨ依存性結合は、エンドソーム内における、治療用コンジュゲートの分解を阻止する。これらのタンパク質を使用するコンジュゲートは、３～１６日間の範囲内の半減期を有しうる。抗体Ｆｃドメインまたは血清タンパク質を含むコンジュゲートは、治療用部分の可溶性および安定性を改善しうる。

【００６８】

血清タンパク質

一部の実施形態において、半減期延長部分は、血清タンパク質［例えば、ヒトの血液（例えば、血清）中の、タンパク質の天然に存在するバージョンまたは改変バージョン］を含む。血清タンパク質は、例えば、フィブロネクチン、トランスフェリン、またはアルブミンでありうる。

【００６９】

一部の実施形態において、血清タンパク質は、フィブロネクチンである。フィブロネクチンは、インテグリンと呼ばれる膜貫通型受容体タンパク質に結合する、細胞外マトリックスの、高分子量（約４４０ｋＤａ）糖タンパク質である。フィブロネクチンは、Ｃ末端のジスルフィド結合対により連結された、２つのほぼ同一なポリペプチド鎖を含むタンパク質二量体として存在する。各フィブロネクチンサブユニットは、２３０～２５０ｋＤａの分子量を有し、３種類のモジュール：Ｉ、ＩＩ、およびＩＩＩ型を含有する。３つのモジュールは、全て、２つのアンチパラレルβシートから構成される結果として、ベータサンドイッチをもたらすが、Ｉ型およびＩＩ型が、鎖内ジスルフィド結合により安定化させられるのに対し、ＩＩＩ型モジュールは、ジスルフィド結合を含有しない。ＩＩＩ型モジュールにおける、ジスルフィド結合の非存在は、加えられる力の存在下において、それらを、部分的にフォールディングさせずにおく。フィブロネクチンはまた、コラーゲン、フィブリン、およびヘパラン硫酸プロテオグリカン（例えば、シンデカン）など、他の細胞外マトリックスタンパク質にも結合する。フィブロネクチンは、ジスルフィド結合対により連結された、２つのほぼ同一な単量体からなるタンパク質二量体として存在する。フィブロネクチンタンパク質は、単一の遺伝子から産生されるが、そのプレ－ｍＲＮＡの、代替的スプライシングは、いくつかのアイソフォームの創出をもたらす。

【００７０】

一部の実施形態において、血清タンパク質は、トランスフェリンである。トランスフェリンは、脊椎動物において見出され、鉄（Ｆｅ）に結合する結果として、血漿を介する鉄の輸送を媒介する糖タンパク質である。トランスフェリンは、肝臓内において産生され、２つのFe^{3+}原子に対する結合性部位を含有する。ヒトトランスフェリンは、ＴＦ遺伝子によりコードされ、７６ｋＤａの糖タンパク質として産生される。糖タンパク質であるトランスフェリンは、鉄に、緊密に結合するが、可逆的である。トランスフェリンに結合した鉄は、全体内鉄のうちの、０．１％（４ｍｇ）未満であるが、これは、代謝回転速度が最高度（２４時間当たり２５ｍｇ）である、死活的に最重要の鉄プールを形成する。トランスフェリンは、約８０ｋＤａの分子量を有し、２つの、特異的な、高アフィニティーの、Ｆｅ（ＩＩＩ）結合性部位を含有する。トランスフェリンの、Ｆｅ（ＩＩＩ）に対するアフィニティーは、極めて高度（ｐＨ７．４における会合定数は、１０２０M^{-1}であ

る）であるが、ｐＨが中性を下回ると、徐々に低下する。トランスフェリンは、鉄への結合だけに限定されず、異なる金属イオンにもまた結合する。

【００７１】

一部の実施形態において、血清タンパク質は、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）である。ＨＳＡは、ＡＬＢ遺伝子によりコードされるタンパク質である。ＨＳＡは、約２０日間の血清半減期を有する、５８５アミノ酸のポリペプチド（約６７ｋＤａ）であり、血液の膠質浸透圧、血液ｐＨ、ならびに多数の内因性リガンドおよび外因性リガンドの、輸送および分布の維持の主因となる。ＨＳＡは、３つの構造的に相同なドメイン（ドメインＩ、ＩＩ、およびＩＩＩ）を有し、ほぼ完全に、アルファ－ヘリックスのコンフォメーションにあり、１７のジスルフィド架橋により、高度に安定化させられている。代表的なＨＳＡ配列は、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｐｒｉｍａｒｙ受託番号Ｐ０２７６８により提供されており、その他のヒトアイソフォームを含みうる。

【００７２】

血清タンパク質結合性分子

一部の実施形態において、半減期延長部分は、ペプチド結合性ドメインまたはタンパク質結合性ドメインを介して、抗体（その抗原結合性部分を含む）などの血清タンパク質に、非共有結合的に結合するタンパク質など、血清タンパク質に結合する分子を含む。抗体の例は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）$_2$、Ｆ（ａｂ’）、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆ（ａｂ’）$_3$、Ｆｄ、Ｆｖ、ジスルフィド連結型Ｆｖ、ｄＡｂ、またはｓｄＡｂ（またはＮＡＮＯＢＯＤＹ（登録商標））、ＣＤＲ、ｓｃＦｖ、（ｓｃＦｖ）$_2$、ｄｉ－ｓｃＦｖ、ｂｉ－ｓｃＦｖ、ｔａｓｃＦｖ（タンデムｓｃＦｖ）、ＡＶＩＢＯＤＹ（例えば、ダイアボディー、トリアボディー、およびテトラボディー）、Ｔ細胞エンゲージャー（ＢｉＴＥ）、Ｆｃ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、Ｆｃａｂ、ｍＡｂ２、ＳＭＩＰ（ｓｍａｌｌ　ｍｏｄｕｌａｒ　ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ）、Ｇｅｎｍａｂ／ユニボディーまたはデュオボディー、Ｖ－ＮＡＲドメイン、ＩｇＮＡＲ、ミニボディー、ＩｇＧＡＣＨ２、ＤＶＤ－Ｉｇ、プロボディー、イントラボディー、および多特異性抗体を含むがこれらに限定されない。他の例は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、ＵＳ２００５／０２８７１５３において提示されている。

【００７３】

一部の実施形態において、血清タンパク質結合性分子は、アシル化ペプチド［例えば、Zorzi et al., Nature Communications vol 8:16092(2017)におけるアシル化ヘプタペプチド；リラグルチドのアシル基］など、血清アルブミンと会合する疎水性部分である。

【００７４】

一部の実施形態において、血清タンパク質に結合する分子は、非抗体分子であり、その非限定例は、アフィボディー、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド、アフィリン、アンチカリン、アトリマー、アビマー、ＤＡＲＰｉｎ、ＦＮ３土台（例えば、Ａｄｎｅｃｔｉｎｓ、Ｃｅｎｔｙｒｉｎｓ）、フィノマー、Ｋｕｎｉｔｚドメイン、ナノフィチン、プロネクチン、トリボディー、バイサイクリックペプチド、およびＣｙｓノットを含む。

【００７５】

一部の実施形態において、ＨＳＡなどの血清タンパク質に結合する分子は、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドを含む。ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ステフィンポリペプチドの組換え操作変異体である、高度に安定的な小型ポリペプチド（例えば、タンパク質）である。したがって、本明細書において、「ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド」という用語は、「ステフィンポリペプチドの組換え操作変異体」という用語と、互換的に使用されうる。ステフィンポリペプチドは、シスタチンスーパーファミリー（複数のシスタチン様配列を含有するタンパク質を包含するファミリー）内の、タンパク質の亜集団である。シスタチンファミリーの、ステフィン亜集団は、比較的小型（約１００アミノ酸）の、単一ドメインタンパク質である。ステフィン亜集団は、公知の翻訳後修飾を受けず、ジスルフィド結合を欠くことから、これらが、広範囲にわたる細胞外

環境および細胞内環境において、同一のフォールディングが可能であることを示唆する。ステフィンＡは、９８アミノ酸の、単量体、単鎖の、単一ドメインタンパク質である。ステフィンＡの構造は、解明されており、ステフィンＡの、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドへの、合理的突然変異を容易とする。シスタチンについて公知である、唯一の生体活性は、カテプシン活性の阻害であり、操作タンパク質の、生体活性の残存についての、悉皆的試験を可能としている。

【００７６】

ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、全てが、モノクローナル抗体と同様に、高度のアフィニティーおよび特異性により、所望の標的タンパク質に結合するようにランダム化されうる、２つのペプチドループおよびＮ末端配列を提示する。ステフィンＡタンパク質土台による、２つのペプチドの安定化は、ペプチドが取りうる、可能なコンフォメーションを制約することから、遊離ペプチドライブラリーと比較して、結合アフィニティーおよび特異性を増大させる。これらの、操作、非抗体結合性タンパク質は、異なる適用における、モノクローナル抗体の分子的認識特徴を模倣するようにデザインされる。ステフィンＡポリペプチド配列の、他の部分に対する変異を実行される場合があり、このような変異は、例えば、安定性を増大する、ある温度範囲およびｐＨ範囲にわたって、それらをロバストにするなど、これらのアフィニティー試薬の特性を改善する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ヒトステフィンＡなど、ステフィンＡの野生型配列との、実質的な同一性を共有する、ステフィンＡに由来する配列を含む。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ヒトステフィンＡに対応する配列に対する、少なくとも２５％、３５％、４５％、５５％、または６０％の同一性を共有するアミノ酸配列を有する。例えば、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９４％、少なくとも９５％の同一性を共有し、例えば、配列の変異が、所望の標的に結合する土台の能力に、有害な影響を及ぼさず、例えば、野生型ステフィンＡにより保有されるが、本明細書において記載される、突然変異性変化において失われる生体機能などの生体機能を、回復させたり、発生させたりしないアミノ酸配列を有しうる。

【００７７】

抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、溶媒にアクセス可能なループのうちの少なくとも１つが、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドが、ＨＳＡに選択的に結合し、一部の実施形態において、10^{-6}Ｍまたはこれ未満のK_dにより結合することを可能とするアミノ酸配列を有する、野生型ステフィンＡタンパク質に由来する、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドを含む。

【００７８】

一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-9}Ｍ～1×10^{-6}ＭのK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-6}Ｍまたはこれ未満のK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-7}Ｍまたはこれ未満のK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-8}Ｍまたはこれ未満のK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-9}Ｍまたはこれ未満のK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-10}Ｍまたはこれ未満のK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４～７．６において、1×10^{-11}Ｍまたはこれ未満のK_dにより、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、1×10^{-9}Ｍ～1×10^{-6}

ＭのＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、１×１０$^{-6}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、１×１０$^{-7}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、１×１０$^{-8}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、１×１０$^{-9}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、１×１０$^{-10}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。一部の実施形態において、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、ｐＨ７．４において、１×１０$^{-11}$Ｍまたはこれ未満のＫ$_{d}$により、ＨＳＡに結合する。

【００７９】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、骨格配列を有する野生型ヒトステフィンＡタンパク質に由来し、この場合、ループ２［（Ｘａａ）$_{n}$と名指される］およびループ４［（Ｘａａ）$_{m}$と名指される］の一方または両方は、一般式（Ｉ）：

ＦＲ１－（Ｘａａ）ｎ－ＦＲ２－（Ｘａａ）ｍ－ＦＲ３　（Ｉ）

［式中、ＦＲ１は、ＭＩＰＧＧＬＳＥＡＫ　ＰＡＴＰＥＩＱＥＩＶ　ＤＫＶＫＰＱＬＥＥＫ　ＴＮＥＴＹＧＫＬＥＡ　ＶＱＹＫＴＱＶＬＡ（配列番号１）に対する、少なくとも７０％の同一性を有するアミノ酸配列であり；ＦＲ２は、ＧＴＮＹＹＩＫＶＲＡ　ＧＤＮＫＹＭＨＬＫＶ　ＦＫＳＬ（配列番号２）に対する、少なくとも７０％の同一性を有するアミノ酸配列であり；ＦＲ３は、ＥＤＬＶＬＴＧＹＱＶ　ＤＫＮＫＤＤＥＬＴＧ　Ｆ（配列番号３）に対する、少なくとも７０％の同一性を有するアミノ酸配列であり；Ｘａａは、出現ごとに、個別に、アミノ酸であり；ｎは、３～２０の整数であり、ｍは、３～２０の整数である］を有するように、代替的ループ配列である、（Ｘａａ）$_{n}$および（Ｘａａ）$_{m}$により置きかえられる。

【００８０】

一部の実施形態において、ＦＲ１は、配列番号１との、８０％～９８％、８２％～９８％、８４％～９８％、８６％～９８％、８８％～９８％、９０％～９８％、９２％～９８％、９４％～９８％、または９６％～９８％の相同性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ１は、配列番号１との、８０％、８２％、８４％、８６％、８８％、９０％、９２％、９４％、９６％、または９５％の相同性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ１は、配列番号１のポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ２は、配列番号２との、少なくとも８０％～９６％、８４％～９６％、８８％～９６％、または９２％～９６％の相同性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ２は、配列番号２との、少なくとも８０％、８４％、８８％、９２％、または９６％の相同性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ２は、配列番号２との、少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、なおまたは９８％の同一性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ２は、配列番号２のポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ３は、配列番号３との、少なくとも８０％～９５％、８５％～９５％、または９０％～９５％の相同性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ３は、配列番号３との、少なくとも８０％、８５％、９０％、または９５％の相同性を有するポリペプチド配列である。一部の実施形態において、ＦＲ３は、配列番号３のポリペプチド配列である。

【００８１】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、一般式（ＩＩ）：

MIP-Xaa1-GLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA-(X

aa)$_n$-Xaa2-TNYYIKVRAGDNKYMHLKVF-Xaa3-Xaa4-Xaa5-(Xaa)$_m$-Xaa6-D-Xaa7-VLTGYQVDKNKDDELTGF（配列番号４）（ＩＩ）、
［式中、Ｘａａは、出現ごとに、個別に、アミノ酸であり；ｎは、３～２０の整数であり、ｍは、３～２０の整数であり；Ｘａａ１は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ａｒｇ、Ｌｙｓ、Ａｓｐ、またはＧｌｕであり；Ｘａａ２は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｓｅｒ、またはＴｈｒであり；Ｘａａ３は、Ａｒｇ、Ｌｙｓ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒであり；Ｘａａ４は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｓｅｒ、またはＴｈｒであり；Ｘａａ５は、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｇｌｙ、またはＰｒｏであり；Ｘａａ６は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ａｓｐ、またはＧｌｕであり；Ｘａａ７は、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ａｒｇ、またはＬｙｓである］で表されるアミノ酸配列を含む。

【００８２】

一部の実施形態において、Ｘａａ１は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ａｒｇ、またはＬｙｓである。一部の実施形態において、Ｘａａ１は、ＧｌｙまたはＡｒｇである。一部の実施形態において、Ｘａａ２は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｓｅｒ、またはＴｈｒである。一部の実施形態において、Ｘａａ２は、ＧｌｙまたはＳｅｒである。一部の実施形態において、Ｘａａ３は、Ａｒｇ、Ｌｙｓ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒである。一部の実施形態において、Ｘａａ３は、Ａｒｇ、Ｌｙｓ、Ａｓｎ、またはＧｌｎである。一部の実施形態において、Ｘａａ３は、ＬｙｓまたはＡｓｎである。一部の実施形態において、Ｘａａ４は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｓｅｒ、またはＴｈｒである。一部の実施形態において、Ｘａａ４は、ＧｌｙまたはＳｅｒである。一部の実施形態において、Ｘａａ５は、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｇｌｙ、またはＰｒｏである。一部の実施形態において、Ｘａａ５は、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、またはＰｒｏである。一部の実施形態において、Ｘａａ５は、ＬｅｕまたはＰｒｏである。一部の実施形態において、Ｘａａ６は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ａｓｐ、またはＧｌｕである。一部の実施形態において、Ｘａａ６は、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ａｓｐ、またはＧｌｕである。一部の実施形態において、Ｘａａ６は、ＡｌａまたはＧｌｕである。一部の実施形態において、Ｘａａ７は、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ａｒｇ、またはＬｙｓである。一部の実施形態において、Ｘａａ７は、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、またはＡｒｇである。一部の実施形態において、Ｘａａ７は、ＬｅｕまたはＡｒｇである。

【００８３】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）は、一般式（ＩＩＩ）：

MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKT

QVLA-(Xaa)n-STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP-(Xaa)m-ADR VLTGYQVDKNKDDELTGF（配列番号５）（ＩＩＩ）、
［式中、Ｘａａは、出現ごとに、個別に、アミノ酸であり；ｎは、３～２０の整数であり、ｍは、３～２０の整数である］で表されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、ｎは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０である。一部の実施形態において、ｎは、８～１０、７～１１、６～１２、５～１３、４～１４、または３～１５である。一部の実施形態において、ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０である。一部の実施形態において、ｍは、８～１０、７～１１、６～１２、５～１３、４～１４、または３～１５である。

【００８４】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、式（ＩＶ）：

ａａ１－ａａ２－ａａ３－ａａ４－ａａ５－ａａ６－ａａ７－ａａ８－ａａ９　（ＩＶ）
［式中、ａａ１は、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ２は、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ３は、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ４は、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ５は、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ６は、正に帯電した極性親水性側鎖を伴う

アミノ酸であり；ａａ７は、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ８は、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ９は、中性の非極性親水性側鎖を伴うアミノ酸である］
により表される。
【００８５】
一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、式（Ｖ）：
ａａ１－ａａ２－ａａ３－ａａ４－ａａ５－ａａ６－ａａ７－ａａ８－ａａ９　（Ｖ）
［式中、ａａ１は、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ２は、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ３は、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ４は、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ５は、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ６は、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ７は、負に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ８は、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸であり；ａａ９は、中性の非極性親水性側鎖を伴うアミノ酸である］
により表される。
【００８６】
中性の非極性親水性側鎖を伴うアミノ酸の例は、システイン（Ｃｙｓ）およびグリシン（Ｇｌｙ）を含む。一部の実施形態において、中性の非極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｃｙｓである。一部の実施形態において、中性の非極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｇｌｙである。
【００８７】
中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸の例は、アラニン（Ａｌａ）、イソロイシン（Ｉｌｅ）、ロイシン（Ｌｅｕ）、メチオニン（Ｍｅｔ）、フェニルアラニン（Ｐｈｅ）、プロリン（Ｐｒｏ）、トリプトファン（Ｔｒｐ）、およびバリン（Ｖａｌ）を含む。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ａｌａである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｉｌｅである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｌｅｕである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｍｅｔである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｐｒｏである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、中性の非極性疎水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｖａｌである。
【００８８】
中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸の例は、アスパラギン（Ａｓｎ）、グルタミン（Ｇｌｎ）、セリン（Ｓｅｒ）、トレオニン（Ｔｈｒ）、およびチロシン（Ｔｙｒ）を含む。一部の実施形態において、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｔｈｒである。一部の実施形態において、中性の極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｔｙｒである。
【００８９】
正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸の例は、アルギニン（Ａｒｇ）、ヒスチジン（Ｈｉｓ）、およびリシン（Ｌｙｓ）を含む。一部の実施形態において、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、正に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ｌｙｓである。
【００９０】
負に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸の例は、アスパラギン酸（Ａｓｐ）、およびグルタミン酸（Ｇｌｕ）を含む。一部の実施形態において、負に帯電した極性親水性側鎖を伴うアミノ酸は、Ａｓｐである。一部の実施形態において、負に帯電した極性親水性

側鎖を伴うアミノ酸は、Ｇｌｕである。

【００９１】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_{n}$は、式（ＩＶ）：

ａａ１－ａａ２－ａａ３－ａａ４－ａａ５－ａａ６－ａａ７－ａａ８－ａａ９　（ＩＶ）

［式中、ａａ１は、Ａｓｐ、Ｇｌｙ、Ａｓｎ、およびＶａｌから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｈｉｓ、およびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ３は、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｇｌｙ、Ｔｒｐ、およびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ４は、Ｇｌｎ、Ａｌａ、およびＰｒｏから選択されるアミノ酸であり；ａａ５は、Ａｌａ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ａｒｇ、およびＳｅｒから選択されるアミノ酸であり；ａａ６は、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、およびＴｙｒから選択されるアミノ酸であり；ａａ７は、ＴｒｐおよびＧｌｎから選択されるアミノ酸であり；ａａ８は、ＰｒｏおよびＨｉｓから選択されるアミノ酸であり；かつ／またはａａ９は、Ｈｉｓ、Ｇｌｙ、およびＧｌｎから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｐである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｐｒｏである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｇｌｕである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ７は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ７は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｐｒｏである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ｇｌｎである。

【００９２】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_{m}$は、式（ＩＶ）：

ａａ１－ａａ２－ａａ３－ａａ４－ａａ５－ａａ６－ａａ７－ａａ８－ａａ９　（ＩＶ）

［式中、ａａ１は、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｔｒｐ、およびＡｓｎから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、Ｌｙｓ、Ｐｒｏ、Ｈｉｓ、Ａｌａ、およびＴｈｒから選択されるアミノ酸であり；ａａ３は、Ｖａｌ、Ａｓｎ、Ｇｌｙ、Ｇｌｎ、Ａｌａ、およびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ４は、Ｈｉｓ、Ｔｈｒ、Ｌｙｓ、Ｔｒｐ、Ｌｙｓ、Ｖａｌ、およびＡｒｇから選択されるアミノ酸であり；ａａ５は、Ｇｌｎ、Ｓｅｒ、Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、およびＡｓｎから選択されるアミノ酸であり；ａａ６は、Ｓｅｒ、Ｔｙｒ、Ｇｌｕ、Ｌｅｕ、Ｌｙｓ、およびＴｈｒから選択されるアミノ酸であり；ａａ７は、Ｓｅｒ、Ａｓｐ、Ｖａｌ、およびＬｙｓから選択されるアミノ酸であり；ａａ８は、Ｇｌｙ、Ｌｅｕ、Ｓｅｒ、Ｐｒｏ、Ｈｉｓ、Ａｓｐ、およびＡｒｇから選択されるアミノ酸であり；かつ／またはａａ９は、Ｇｌｙ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、およびＡｌａから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｐｒｏである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｈｒである。一部の実施形態において、ａａ３は

、Ｖａｌである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｔｈｒである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｖａｌである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｐｒｏである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｇｌｕである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｌｅｕである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｔｈｒである。一部の実施形態において、ａａ７は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ７は、Ａｓｐである。一部の実施形態において、ａａ７は、Ｖａｌである。一部の実施形態において、ａａ７は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｌｅｕである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｐｒｏである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ａｓｐである。一部の実施形態において、ａａ８は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ｇｌｕである。一部の実施形態において、ａａ９は、Ａｌａである。

【００９３】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、式（Ｖ）：

Ａｓｎ－ａａ１－ａａ２－Ｇｌｎ－Ｇｌｎ－Ａｒｇ－Ａｒｇ－Ｔｒｐ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ（Ｖ）（配列番号１４０）

［式中、ａａ１は、ＴｒｐおよびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、ＴｙｒおよびＰｈｅから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｐｈｅである。

【００９４】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、式（ＶＩ）：

ａａ１－ａａ２－Ｔｒｐ－ａａ３－ａａ４－Ｌｙｓ－Ｔｒｐ－Ｐｒｏ－ａａ５　（ＶＩ）（配列番号１４１）

［式中、ａａ１は、ＡｓｐおよびＧｌｙから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、およびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ３は、ＧｌｎおよびＡｌａから選択されるアミノ酸であり；ａａ４は、ＡｌａおよびＳｅｒから選択されるアミノ酸であり；ａａ５は、ＨｉｓおよびＧｌｙから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｐである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｇｌｙである。

【００９５】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、式（ＶＩＩ）：

ａａ１－ａａ２－ａａ３－ａａ４－ａａ５－ａａ６－Ｔｒｐ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ　（ＶＩ

Ｉ）
［式中、ａａ１は、ＧｌｙおよびＡｓｎから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｔｒｐ、およびＨｉｓから選択されるアミノ酸であり；ａａ３は、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、およびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ４は、ＡｌａおよびＧｌｎから選択されるアミノ酸であり；ａａ５は、Ａｌａ、Ｓｅｒ、Ｇｌｎ、およびＡｒｇから選択されるアミノ酸であり；ａａ６は、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、およびＴｙｒから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｇｌｙである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｔｙｒである。

【００９６】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_{n}$は、式（ＩＸ）：

Ｇｌｙ－ａａ１－ａａ２－Ａｌａ－ａａ３－ａａ４－Ｔｒｐ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ　（ＩＸ）（配列番号１４２）

［式中、ａａ１は、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、およびＨｉｓから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、ＴｒｐおよびＴｙｒから選択されるアミノ酸であり；ａａ３は、Ａｌａ、Ｓｅｒ、およびＡｒｇから選択されるアミノ酸であり；ａａ４は、ＬｙｓおよびＴｙｒから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｐｈｅ　Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｓｅｒである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｔｙｒである。

【００９７】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_{n}$は、式（Ｘ）：

ａａ１－ａａ２－ａａ３－Ｇｌｎ－ａａ４－ａａ５－Ｔｒｐ－Ｐｒｏ－ａａ６　（Ｘ）

［式中、ａａ１は、ＡｓｐおよびＡｓｎから選択されるアミノ酸であり；ａａ２は、ＴｒｐおよびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ３は、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、およびＰｈｅから選択されるアミノ酸であり；ａａ４は、Ａｌａ、Ｇｌｎ、およびＡｒｇから選択されるアミノ酸であり；ａａ５は、ＬｙｓおよびＡｒｇから選択されるアミノ酸であり；ａａ６は、ＨｉｓおよびＧｌｙから選択されるアミノ酸である］により表される。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｐである。一部の実施形態において、ａａ１は、Ａｓｎである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ２は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｒｐである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｔｙｒである。一部の実施形態において、ａａ３は、Ｐｈｅである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ａｌａである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ｇｌｎである。一部の実施形態において、ａａ４は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ｌｙｓである。一部の実施形態において、ａａ５は、Ａｒｇである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｈｉｓである。一部の実施形態において、ａａ６は、Ｇｌｙである。

【００９８】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号６～５６、１３４～１３５（表１）のうちのいずれか１つから選択される、ループ２のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号５７～１０９（表１）のうちのいずれか１つから選択される、ループ４のアミノ酸配列を含む。

【００９９】

【表１】

表1:HSA AFFIMER(登録商標)ポリペプチドループ配列の例

名称	ループ2	配列番号	ループ4	配列番号
HSA-00	WTQPKNEHH	134	RFKYFAHYQ	57
HSA-01	HLKHTDAQP	135	FHDFWHRRW	58
HSA-02	HDQDVLHAW	6	DWYHYWWEV	59
HSA-03	KFHRQEWAD	7	STRSIHVTT	60
HSA-04	PEDFWDPEH	8	KQHHHYLDK	61
HSA-05	VVRTTGHVV	9	HSAQDREIP	62
HSA-06	YWWFCTGQS	10	WVQSGYNSQ	63
HSA-07	IHHRQARSL	11	AVFWGKWSD	64
HSA-08	SHRRRAYIW	12	QSFDKPWTT	65
HSA-09	WDSHHWRAP	13	HYPLKYSFE	66
HSA-10	DKRVKYGQ	14	WHHPWHRNR	67
HSA-11	SDWVYALQL	15	DPWWAWVVW	68
HSA-12	FWWFWY	16	FDNQDLIQY	69
HSA-13	VRDWPWNTF	17	EKKNWYKWD	70
HSA-14	QKKRDEDYI	18	DRHKSRWGI	71
HSA-15	GVHEEPRKL	19	LNPFTPSVT	72
HSA-16	EWWQKHWPS	20	YKGALLNHD	73
HSA-17	NFFQRRWPG	21	WKFRNTERG	74
HSA-18	DWWQAKWPH	22	YKVHQSSGG	75
HSA-19	GIWQSRWPG	23	FHPIAGRPW	76
HSA-20	GYWAAKWPG	24	FPNTSYDLQ	77
HSA-21	GFYADHWPG	25	FAHYNLKSG	78
HSA-22	NWYQQRWPG	26	WHNYGESSG	79
HSA-23	GFYARHWPG	27	KFYYADHQW	80
HSA-24	DFWKAHWPG	28	YTHADPHSQ	81
HSA-25	DFYSVRWPG	29	FGVPQLGAG	82
HSA-26	YWAANHASK	30	YSGFPFAGF	83
HSA-27	IKRLEHWEY	31	WFSWPYTPL	84
HSA-28	EWDSPWSEN	32	YYHPSIQST	85
HSA-29	KHKNLRWPF	33	FLGWKDTVV	86
HSA-30	RHFPKQTNW	34	DWWKWWWAK	87
HSA-31	VWGPEYQHQ	35	NAGWPLVPE	88
HSA-32	TWKNNGQDV	36	YALDPFGGK	89
HSA-33	ATWLNYYLP	37	GYKFWGVSD	90
HSA-34	DQESLFLNN	38	QGKQYILLR	91
HSA-35	GFYAQHWPD	39	YKRHSAHDY	92
HSA-36	GHYARYWPG	40	WAQKSKVHQ	93
HSA-37	GFWASKWPG	41	FTAVSKKDA	94
HSA-38	GFWQRKWPN	42	WGDKENIWF	95
HSA-39	VWPADNDLK	43	WSGHPWVQK	96
HSA-40	HWAWTSPGY	44	YADYPLSPK	97
HSA-41/ HSA-52	NFFQRRWPG	45	WKFRNTDRG	98
HSA-42	HHSHRLKGQ	46	QTVATHYHY	99
HSA-43	YQNTIFLSI	47	WHAKHLLSH	100
HSA-44	FQDQFTWSQ	48	SGIKKADSV	101
HSA-45	GEPHWPWQA	49	KANLINVKS	102
HSA-46	ADPRHPWVE	50	WKSHVEVRS	103
HSA-47	FHKRFQSQG	51	WVTQKYIIQ	104
HSA-48	EWWQNRWPN	52	WEHAKDWPT	105
HSA-49	EWYQTRWPG	53	FHSKVLDKA	106
HSA-50	EFWQRHWPG	54	YGAQKQAVW	107
HSA-51	KFYERHWPG	55	FSASHFTSQ	108
コンセンサス	GWWQRRWPG	56	$X_1X_2AX_3KX_4DX_5Q$	109

【０１００】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号６～５５、１３４～１３５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の

同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号６～５５、１３４～１３５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号６～５５、１３４～１３５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。

【０１０１】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２、２４、２６、３５、４０、４１、および４５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２４のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号３５のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４０のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４１のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４５のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２４のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号３５のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４０のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４１のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４５のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１０２】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２、２４、２６、３５、４０、４１、および４５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２４のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２６のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号３５のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４０のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４１のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４５のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１０３】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２、２４、２６、３５、４０、４１、および４５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２２のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘ

ａａ）$_n$は、配列番号２４のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号２６のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号３５のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４０のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４１のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_n$は、配列番号４５のアミノ酸配列を含む。

【０１０４】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号５７～１０８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号５７～１０８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号５７～１０８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。

【０１０５】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７５、７７、７９、８８、９３、９４、および９８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７５のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７７のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７９のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号８８のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９３のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９４のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９８のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７５のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７７のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７９のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号８８のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９３のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９４のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９８のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１０６】

一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７５、７７、７９、８８、９３、９４、および９８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７５、７７、７９、８８、９３、９４、および９８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７５のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７７のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号７９のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態に

おいて、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号８８のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９３のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９４のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、（Ｘａａ）$_m$は、配列番号９８のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１０７】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０～１１６および１３３（表２）のうちのいずれか１つから選択されるアミノ酸配列を含む。

【０１０８】

【表２】

表2:HSA AFFIMER(登録商標)ポリペプチド配列の例

名称	配列	配列番号
HSA-18	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**DWWQAKWPH**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**YKVHQSSGG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	110
HSA-20	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**GYWAAKWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**FPNTSYDLQ**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	111
HSA-22	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NWYQQRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WHNYGESSG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	112
HSA-31	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**VWGPEYQHQ**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**NAGWPLVPE**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	113
HSA-36	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**GHYARYWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WAQKSKVHQ**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	114
HSA-37	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**GFWASKWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**FTAVSKKDA**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	115
HSA-41	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	116
HSA-52	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAAAGGRAEQKLISEEDLGCAENLYFQGGAAGHHHHHH	133

【０１０９】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０～１１６、および１３３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１１のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１２のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商

標）ポリペプチドは、配列番号１１５のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１６のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１３３のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１１０】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１１のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１２のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１５のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１６のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１３３のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１１１】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０～１１６および１３３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０～１１６および１３３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１０のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１１のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１２のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１５のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１６のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１３３のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１１２】

一部の実施形態において、本明細書において提示される、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、別の分子へと連結され、この分子（例えば、治療用ポリペプチド）の半減期を延長する。本明細書において、ある範囲、例えば、マウスおよびカニク

イザル（ｃｙｎｏ）など、他の種と交差反応する範囲の結合アフィニティーを伴う、ある範囲の抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲＳ（登録商標）が提示される。一部の実施形態において、これらの抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲＳ（登録商標）は、ＡＦＦＩＭＥＲ　ＸＴ（商標）プラットフォームと称されるプラットフォームを構成する。これらの抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲＳ（登録商標）は、インビボ薬物動態（ＰＫ）研究において、それが、例えば、Ｅ．コリー（Ｅ．Ｃｏｌｉ）内において作製されうる、単一の遺伝子融合体内においてコンジュゲートされた、他の任意のＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド治療剤の血清半減期を、制御された形で延長することが示されている。ＡＦＦＩＭＥＲ　ＸＴ（商標）はまた、他のペプチド治療剤またはタンパク質治療剤の半減期を延長するのにも使用される。

【０１１３】

「半減期」という用語は、治療用ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドなどの物質が、その薬理学的活性もしくは薬理学的濃度、または生理学的活性もしくは生理学的濃度のうちの半量を喪失するのに要する時間の長さを指す。生体半減期は、体内の、ある特定の臓器または組織における、物質の消失、排出、分解（例えば、酵素的分解）、または吸収、および濃縮の影響を受ける場合がある。生体半減期は、例えば、物質の血漿濃度が、その定常状態レベルの半量に到達するのに要する時間（「血漿半減期」）を決定することにより評価されうる。

【０１１４】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、インビボにおける、分子（例えば、治療用ポリペプチド）の血清半減期を延長する。例えば、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、分子の半減期を、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドへと連結されていない分子の半減期と比べて、少なくとも２倍延長しうる。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、分子の半減期を、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドへと連結されていない分子の半減期と比べて、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも６倍、少なくとも７倍、少なくとも８倍、少なくとも９倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、または少なくとも３０倍延長する。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、分子の半減期を、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドへと連結されていない分子の半減期と比べて、２倍～５倍、２倍～１０倍、３倍～５倍、３倍～１０倍、１５倍～５倍、４倍～１０倍、または５倍～１０倍延長する。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、例えば、インビボ投与の少なくとも１週間後において、分子の半減期を、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドへと連結されていない分子の半減期と比べて、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも４８時間、少なくとも７２時間、少なくとも９６時間延長する。

【０１１５】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、血清半減期が延長されており、配列番号１１７～１２７（表３）のうちのいずれか１つから選択されるアミノ酸配列を含む。

【０１１６】

【表３－１】

表3:半減期延長直列型融合体である、AFFIMER(登録商標)ポリペプチド配列の例

配列	配列番号
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**KEHGPDSWW**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**QEKNQWVEE**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	117
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**KEHGPDSWW**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**QEKNQWVEE**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	118
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**HAYGPRDWD**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**PADHVLEEA**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	119
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**HAYGPRDWD**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**PADHVLEEA**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	120
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**KEYGPEEWW**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**GDYEQVLIH**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	121
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**KEYGPEEWW**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**GDYEQVLIH**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	122
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	123

【表３－２】

配列	配列番号
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	124
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	125
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFC	126
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**FALPEFEYM**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**PMIRRKNEV**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**FALPEFEYM**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**PMIRRKNEV**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	127
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**GGGGGGGGG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**GGGGGGGGG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**GGGGGGGGG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**GGGGGGGGG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	128

【表３－３】

配列	配列番号
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	129
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**REGRQDWVL**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WVPFPHQQL**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFC	130
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	131
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGSGGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA**NFFQRRWPG**STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP**WKFRNTDRG**ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	132

【０１１７】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１７～１２７のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１７のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１８のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１９のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２０のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２１のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２２のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２４のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２５のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦ

ＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２７のアミノ酸配列に対する、少なくとも８０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１１８】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１７のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１８のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１９のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２０のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２１のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２２のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２４のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２５のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２７のアミノ酸配列に対する、少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１１９】

一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１７～１２７のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１７～１２７のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１７のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１８のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１１９のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２０のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２１のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２２のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２３のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２４のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２５のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳ

Ａ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２６のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、抗ＨＳＡ　ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチドは、配列番号１２７のアミノ酸配列に対する、８０％～９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１２０】

Ｆｃドメイン

一部の実施形態において、半減期延長部分は、抗体Ｆｃドメインを含む。「Ｆｃドメイン」という用語は、抗体Ｆｃドメインの機能的断片を含む。治療用コンジュゲートは、例えば、ＦＡＰ切断型リンカーを介して、治療用部分へと連結された、抗体のＦｃ領域（エフェクター機能および薬物動態を容易とする）（本明細書において、「Ｆｃ融合体」ともまた称される）を含みうる。一部の実施形態において、Ｆｃ融合体は、Ｆｃ融合体ホモ二量体を形成するように二量体化される場合もあり、非同一なＦｃドメインを使用して、Ｆｃ融合体ヘテロ二量体を形成するように二量体化される場合もある。

【０１２１】

本開示の治療用コンジュゲートの作出における使用のために、ヒト抗体のＦｃドメインを選ぶことには、いくつかの理由が存在する。根拠となる原理は、抗体の薬物動態プロファイルと比較して、同様の薬物動態プロファイルを裏付け、Ｆｃドメインにより付与される特性を利用するのに十分な程度に大型である安定的タンパク質を作製することであり；これは、エンドサイトーシス後における、Ｆｃ融合体の、細胞表面への、ＦｃＲｎ媒介性再循環を伴い、リソソームによる分解を回避し、血流への還流的放出を結果としてもたらし、これにより、血清半減期の延長に寄与する、新生児ＦｃＲｎ受容体サルベージ経路を含む。別の明白な利点は、治療用コンジュゲートの作製時における、下流の加工を簡略化し、高純度の治療用コンジュゲート調製物の作出を許容しうる、Ｆｃドメインの、プロテインＡへの結合である。

【０１２２】

一部の実施形態において、Ｆｃドメインは、免疫グロブリンの第１の定常領域ドメインを除く、抗体の定常領域を含む。したがって、Ｆｃドメインとは、ＩｇＡの、最後の２つの免疫グロブリンの定常領域ドメイン、ＩｇＤ、およびＩｇＧ、ならびにＩｇＥおよびＩｇＭの、最後の３つの免疫グロブリンの定常領域ドメイン、ならびにこれらのドメインに対して、Ｎ末端側である、可撓性ヒンジを指す。ＩｇＡおよびＩｇＭについて、Ｆｃは、Ｊ鎖を含みうる。ＩｇＧについて、Ｆｃは、免疫グロブリンドメインである、Ｏｙ２およびＣｙ３、ならびにＯｙ１（Ｏｙｌ）と、Ｏｙ２との間のヒンジを含む。Ｆｃドメインの境界は、変動しうるが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、通例、残基である、Ｃ２２６またはＰ２３０～そのカルボキシル末端を含むように規定され、この場合、番号づけは、Ｋａｂａｔ［Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, Bethesda, Md. (1991)］において明示されている、ＥＵインデックスに従う。Ｆｃは、単離された、この領域を指す場合もあり、全抗体、抗体断片、またはＦｃ融合体タンパク質の文脈における、この領域を指す場合もある。多数の異なるＦｃ位置において、多型が観察されており、本明細書において使用されるＦｃドメインとしてもまた含まれる。

【０１２３】

Ｆｃドメインは、抗体Ｆｃドメインの機能的断片を含む。機能的Ｆｃ断片は、ＦｃＲｎに結合する能力を保持する。機能的Ｆｃ断片は、ＦｃＲｎに結合するが、エフェクター機能を保有しない。Ｆｃ領域またはその断片が、ＦｃＲｎに結合する能力は、当技術分野において公知である、標準的結合アッセイにより決定されうる。例示的エフェクター機能は、Ｃ１ｑへの結合；補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）；Ｆｃ受容体への結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）；食作用；および細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体；ＢＣＲ）の下方調節を含む。このようなエフェクター機能は、このような抗体エフェクター機能について査定するための、当技術分野において公知である、多様なアッセイを使用して評価されうる。

【０１２４】
例示的実施形態において、Ｆｃドメインは、ＩｇＧ１サブクラスに由来するが、他のサブクラス（例えば、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、およびＩｇＧ４）もまた、使用されうる。一部の実施形態において、Ｆｃドメインは、ＩｇＧ１サブクラスに由来し、ＬＡＬＡ突然変異をさらに含む。
【０１２５】
Ｆｃドメイン、機能的Ｆｃ断片、および特定の配列についての他の非限定例は、参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１９／２３６５６７において提示されている。
【０１２６】
生体適合性ポリマー
多種多様な生体適合性高分子ポリマーおよび他の分子が、半減期延長部分として使用されうる。ポリマーの分子量は、約１００Ｄａ～約１００，０００Ｄａの間、またはこれを超える分子量を含むがこれらに限定されない、広範囲の分子量でありうる。ポリマーの分子量は、１００，０００Ｄａ、９５，０００Ｄａ、９０，０００Ｄａ、８５，０００Ｄａ、８０，０００Ｄａ、７５，０００Ｄａ、７０，０００Ｄａ、６５，０００Ｄａ、６０，０００Ｄａ、５５，０００Ｄａ、５０，０００Ｄａ、４５，０００Ｄａ、４０，０００Ｄａ、３５，０００Ｄａ、３０，０００Ｄａ、２５，０００Ｄａ、２０，０００Ｄａ、１５，０００Ｄａ、１０，０００Ｄａ、９，０００Ｄａ、８，０００Ｄａ、７，０００Ｄａ、６，０００Ｄａ、５，０００Ｄａ、４，０００Ｄａ、３，０００Ｄａ、２，０００Ｄａ、１，０００Ｄａ、９００Ｄａ、８００Ｄａ、７００Ｄａ、６００Ｄａ、５００Ｄａ、４００Ｄａ、３００Ｄａ、２００Ｄａ、および１００Ｄａを含むがこれらに限定されない、約１００Ｄａ～約１００，０００Ｄａの間でありうる。一部の実施形態において、ポリマーの分子量は、約１００Ｄａ～約５０，０００Ｄａの間である。一部の実施形態において、ポリマーの分子量は、約１００Ｄａ～約４０，０００Ｄａの間である。一部の実施形態において、ポリマーの分子量は、約１，０００Ｄａ～約４０，０００Ｄａの間である。一部の実施形態において、ポリマーの分子量は、約５，０００Ｄａ～約４０，０００Ｄａの間である。一部の実施形態において、ポリマーの分子量は、約１０，０００Ｄａ～約４０，０００Ｄａの間である。
【０１２７】
半減期を延長する目的のために、ＰＥＧ化、ポリシアル化、ＨＥＳ化、グリコシル化、または可撓性かつ親水性のアミノ酸鎖（５００～６００アミノ酸）へと融合させた、組換えＰＥＧ類似体を含む、多様な方法が開発されている（Chapman, (2002) Adv Drug Deliv Rev. 54. 531-545; Schlapschy et al., (2007) Prot Eng Des Sel. 20, 273-283; Contermann (2011) Curr Op Biotechnol. 22, 868-876; Jevsevar et al., (2012) Methods Mol Biol. 901, 233- 246を参照されたい）。
【０１２８】
半減期延長部分として使用されうる、生体適合性ポリマーの例は、ポリアルキルエーテルおよびそのアルコキシキャップ類似体（例えば、ポリオキシエチレングリコール、ポリオキシエチレン／プロピレングリコール、およびそのメトキシキャップ類似体またはエトキシキャップ類似体、とりわけ、ポリオキシエチレングリコールであり、後者はまた、ポリエチレングリコールまたはＰＥＧとしても公知である）；ｄＰＥＧ（ｄｉｓｃｒｅｔｅＰＥＧ）；ポリビニルピロリドン；ポリビニルアルキルエーテル；ポリオキサゾリン、ポリアルキルオキサゾリン、およびポリヒドロキシアルキルオキサゾリン；ポリアクリルアミド、ポリアルキルアクリルアミド、およびポリヒドロキシアルキルアクリルアミド（例えば、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミドおよびその誘導体）；ポリヒドロキシアルキルアクリレート；ポリシアル酸およびその類似体；親水性ペプチド配列；デキストラン、およびデキストラン誘導体、例えば、カルボキシメチルデキストラン、デキストランスルフェート、アミノデキストランを含む、多糖およびそれらの誘導体；セルロースおよびその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース；キチンおよびその誘導体、例えば、キトサン、スクシニルキトサン、カルボキシメチルキ

チン、カルボキシメチルキトサン；ヒアルロン酸およびその誘導体；デンプン；アルギネート；硫酸コンドロイチン；アルブミン；プルランおよびカルボキシメチルプルラン；ポリアミノ酸およびその誘導体、例えば、ポリグルタミン酸、ポリリシン、ポリアスパラギン酸、ポリアスパルタミド；スチレン無水マレイン酸コポリマー、ジビニルエチルエーテル無水マレイン酸コポリマーなどの無水マレイン酸コポリマー；ポリビニルアルコール；これらのコポリマー；これらのターポリマー；これらの混合物；ならびに前出の誘導体を含むがこれらに限定されない。

【０１２９】

選択されるポリマーは、それが構成要素である治療用コンジュゲートが、生理学的環境などの水性環境内に沈殿しないように、水溶性でありうる。水溶性ポリマーは、直鎖状、二分枝状、または多分枝状を含むがこれらに限定されない、任意の構造形態でありうる。一部の実施形態において、水溶性ポリマーは、ポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ）などのポリ（アルキレングリコール）であるが、他の水溶性ポリマーもまた、使用されうる。例を目的として述べると、本開示についての、一部の実施形態では選択される、特定のＰＥＧの特性が、本開示に従う治療用コンジュゲートの循環血清半減期を延長することを条件として、ＰＥＧが使用される。

【０１３０】

一部の実施形態において、生体適合性ポリマーは、ポリ（エチレングリコール）、ヒドロキシエチルデンプン、ＸＴＥＮ、およびプロリン－アラニン－セリンポリマーからなる群から選択される。

【０１３１】

ポリマーについての、他の非限定例は、参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１９／２３６５６７において提示されている。

【０１３２】

線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）切断型リンカー

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、半減期延長部分を、治療用部分へと連結する線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰα）切断型リンカーを含む。ＩＩ型膜貫通セリンプロテアーゼであるＦＡＰαは、間質線維芽細胞内において発現される腫瘍関連抗原である（Chai et al., Acta Pharmacologica Sinica, 2018, 39: 415-424）。ＦＡＰαは、正常成体組織内において、ほぼ検出不能であるので、ＦＡＰαの発現は、ほぼもっぱら、腫瘍塊に限定される。線維芽細胞は、腫瘍微小環境内において、腫瘍悪性度に関わらない、ＦＡＰの発現の、実質的な増大により特徴づけられる形態変換を経る（Henry et al., Clin Cancer Res, 2007, 13(6): 1736）。

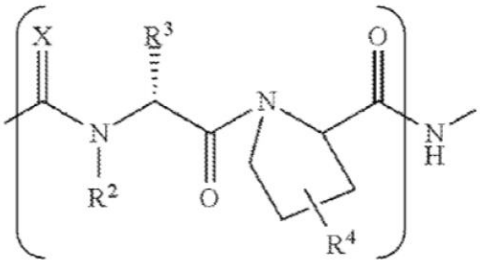
【０１３３】

ＦＡＰは、プロリン残基の後において、ペプチド基質を選択的に切断する、ＤＡＳＨファミリーのプロリン後切断酵素である。理論に束縛されることは望まないが、治療用コンジュゲート内の、ＦＡＰα切断型リンカーの組入れは、治療用コンジュゲートが、ＦＡＰαに近接し、この時点において、ＦＡＰαが、リンカーを切断し、治療用部分を活性化させるまで、治療用部分が、なおも非活性であることを可能とすると考えられる。ＦＡＰαは、腫瘍組織内に存在し、健常組織内に存在しないので、治療用部分は、主に、腫瘍組織の近傍／腫瘍組織内において活性化させられるであろう。

【０１３４】

一部の実施形態において、リンカーは、ＦＡＰαにより切断可能な基質認識配列（ＳＲＳ）を含む。例えば、一部の実施形態において、ＳＲＳは、ＦＡＰαにより切断され、

【化６】

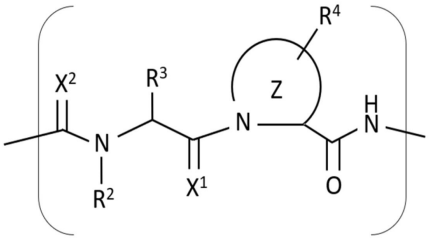


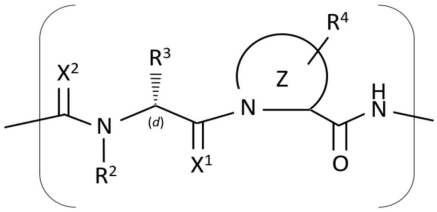
［式中、Ｒ^{2}は、Ｈまたは（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$）アルキルを表し、例えば、Ｈであり；Ｒ^{3}は、Ｈまたは（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$）アルキルを表し、例えば、メチル、エチル、プロピル、またはイソプロピルであり；Ｒ^{4}は、非存在であるか、または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$）アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ$_{2}$、もしくはハロゲンを表し；Ｘは、ＯまたはＳを表し；ＮＨは、Ｌ^{2}が、自壊性リンカーである場合に、Ｌ^{2}の一部であるアミンを表すか、またはＬ^{2}が、結合である場合に、治療用部分の一部を表す］
により表される。

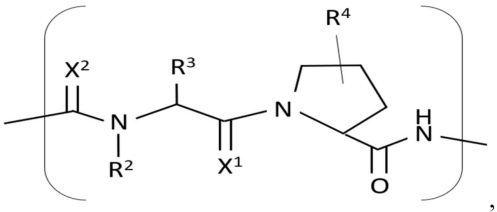
【０１３５】

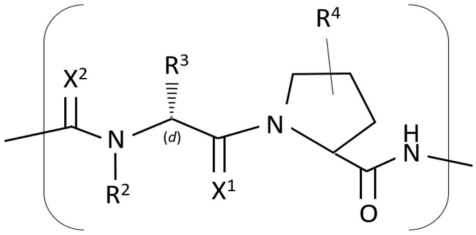
一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーまたはＳＲＳは、

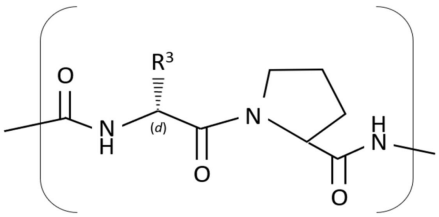
【化７】

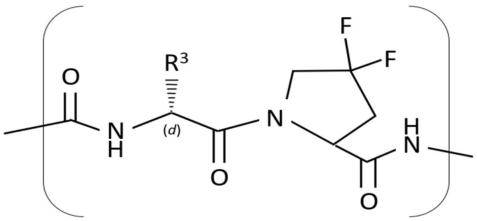

,


,


,


,


, または



［式中、
Ｒ^{2}は、水素または（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$）アルキルである］により表される。一部の実施形態において、Ｒ^{2}は、水素である。

【０１３６】

Ｒ^{3}は、水素、または分枝鎖状低級アルキルもしくは直鎖状低級アルキル、例えば、メチルなどの低級アルキルである。（ｄ）が、アミノ酸側鎖である場合、Ｒ^{3}は、水素ではない。

【０１３７】

Ｒ^{4}は、ヒドロキシメチル（例えば、セリンについて）など、分枝鎖状低級アルコキシ

または直鎖状低級アルコキシ、または１－ヒドロキシエチル（例えば、トレオニンについて）である。一実施形態において、R^4は、ヒドロキシメチルである。

【０１３８】

X^1は、ＯまたはＳである。

【０１３９】

X^2は、ＯまたはＳである。

【０１４０】

一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーまたはＳＲＳは、第３のアミノ酸位置［例えば、（ｄ）－Ａｌａに対して、Ｎ末端側］を含む。一部の実施形態において、切断部位からＰ３である、この位置は、セリンである。一部の実施形態において、この位置は、トレオニンである。

【０１４１】

一部の実施形態において、リンカーは、Ｄ－Ａｌａ－Ｐｒｏなど、ＦＡＰαにより切断可能な基質認識配列（ＳＲＳ）を含む。一部の実施形態において、ＦＡＰαにより切断可能なＳＲＳ配列は、ＰＰＧＰ（配列番号１３６）、（Ｄ／Ｅ）－（Ｒ／Ｋ）－Ｇ－（Ｅ／Ｄ）－（Ｔ／Ｓ）－Ｇ－Ｐ（配列番号１３７）、ＤＲＧＥＴＧＰ（配列番号１３８）、ＧＰＡＸ（配列番号１３９）［配列中、Ｘは、任意のアミノ酸である］（Aggarwal et al., Biochemistry. 2008; 47(3): 1076-1086; Ji et al., Angew Chem Int Ed Engl. 2016; 55(3):1050-1055）である。

【０１４２】

スペーサー

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、ＦＡＰαにより切断可能な、半減期延長部分と、基質認識配列（ＳＲＳ）との間の、スペーサーまたは結合（L^1）を含む。

【０１４３】

スペーサーは、任意の分子、例えば、１つまたは複数のヌクレオチド、アミノ酸、化学的官能基でありうる。一部の実施形態において、スペーサーは、ペプチドリンカー（例えば、２つまたはこれを超えるアミノ酸）である。スペーサーは、ポリペプチドの発現、分泌、または生体活性に、有害な影響を及ぼさないものとする。一部の実施形態において、スペーサーは、抗原性ではなく、免疫応答を誘発しない。免疫応答は、自然免疫系および／または獲得免疫系に由来する応答を含む。したがって、免疫応答は、細胞媒介応答の場合もあり、かつ／または体液性免疫応答の場合もある。免疫応答は、例えば、Ｔ細胞応答、Ｂ細胞応答、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞応答、単球応答、および／またはマクロファージ応答でありうる。本明細書において、他の細胞応答も想定される。一部の実施形態において、リンカーは、タンパク質非コードリンカーである。

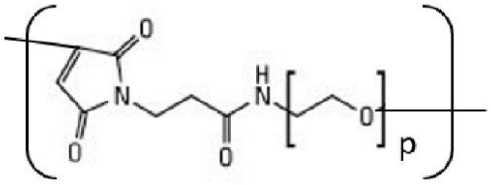
【０１４４】

一部の実施形態において、L^1は、６－マレイミドカプロイル、マレイミドプロパノイルシクロヘキサン－１－カルボキシレート、およびマレイミドメチルシクロヘキサン－１－カルボキシレート（ｍａｌｅｉｍｉｄｏｍ ｅｔｈｙｌ ｃｙｃｌｏｈｅｘａｎｅ－ｌ－ｃａｒｂｏｘｙｌａｔｅ）などの炭水化物（直鎖状または環状）であるか、またはL^1は、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート、Ｎ－スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１カルボキシレート、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエートである。

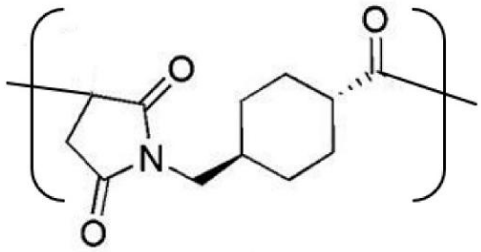
【０１４５】

一部の実施形態において、L^1は、ポリ（エチレングリコール）または他の親水性リンカーなどのポリエーテルである。例えば、ＣＢＭが、チオール（システイン残基など）を含む場合、L^1は、マレイミド部分を介して、チオール基へとカップリングされた、ポリエチレングリコールでありうる。本開示に従う使用のためのリンカーの非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号において記載されている。

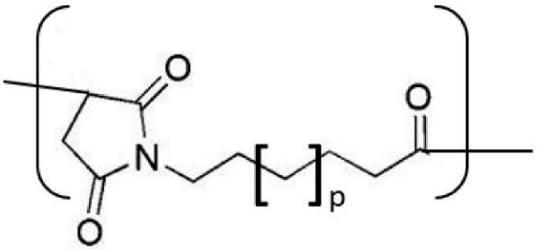
【０１４６】
自壊性リンカー
　一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、ＦＡＰαのための基質認識配列（ＳＲＳ）と、治療用部分との間に、式
【化８】



［式中、ｐは、１～１００、好ましくは、６～５０、より好ましくは、６～１２の整数を表す］で表される自壊性リンカーなどの自壊性リンカー（Ｌ^{2}）を含む。
【０１４７】
　ＣＢＭが、チオールを含み、Ｌ^{1}が、マレイミド部分を介して、チオール基へとカップリングされた炭水化物部分である、他の実施形態においてＬ^{1}は、式：
【化９】



または



［式中、ｐは、１～２０、好ましくは、１～４の整数を表す］
で表されうる。
【０１４８】
　自壊性部分は、間隔を置かれた、２つの化学的部分を、通常の安定分子へと、共有結合的に、一体に連結することから、間隔を置かれた化学的部分のうちの一方を、酵素的切断により、分子から放出し；酵素的切断の後、二官能性化学基の残りの部分から、自発的に切断されて、前記間隔を置かれた化学的部分のうちの他方を放出することが可能である、二官能性化学基として規定されうる。したがって、一部の実施形態において、自壊性部分は、その末端のうちの一方において、アミド結合により、リガンドへと、直接的に、または、スペーサーユニットを介して、間接的に、共有結合的に連結され、その他方の末端において、治療用部分から吊下がる、化学的反応性部位（官能基）へと、共有結合的に連結される。自壊性部分を伴う治療用部分の誘導は、薬物が切断されるまで、薬物を、薬理学的に低活性（例えば、低毒性）とする場合もあり、完全に不活性とする場合もある。
【０１４９】
　治療用コンジュゲートは、一般に、循環中において安定であるか、または、少なくとも、基質認識配列（ＦＡＰα切断型リンカー）と、自壊性部分との間のアミド結合を切断することが可能な酵素の非存在下において、これが成り立つはずである。治療用コンジュゲ

ートが、適切な酵素へ（ＦＡＰα）と曝露されると、アミド結合が切断され、自発的自壊反応を誘発する結果として、自壊性部分を、治療用部分へと共有結合的に連結する結合の切断をもたらして、これにより、その非誘導形態または薬理学的活性形態において、遊離治療用部分の放出をもたらす。コンジュゲート内の自壊性部分は、１つまたは複数のヘテロ原子を組み込み、これにより、可溶性の改善をもたらすか、切断速度を改善し、コンジュゲートの凝集への傾向を低下させる。

【０１５０】

一部の実施形態において、L^2は、ベンジルオキシカルボニル基である。他の実施形態において、自壊性リンカーL^2は、－ＮＨ－（CH_2）$_4$－Ｃ（＝Ｏ）－、または－ＮＨ－（CH_2）$_3$－Ｃ（＝Ｏ）－である。なおも他の実施形態において、自壊性リンカーL^2は、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢＣ）である。さらに他の実施形態において、自壊性リンカーL^2は、２，４－ビス（ヒドロキシメチル（ｈｙｄｒｏｘｙｍｅｉｈｙｌ））アニリンである。

【０１５１】

本開示の治療用コンジュゲートは、治療用部分および切断可能な基質認識配列へと、共有結合的に連結された、複素環性自壊性部分を利用しうる。自壊性部分は、間隔を置かれた、２つの化学的部分を、通常の安定分子へと、共有結合的に、一体に連結し、前記間隔を置かれた化学的部分のうちの一方を、酵素的切断により、分子から放出し；前記酵素的切断の後、二官能性化学基の残りの部分から、自発的に切断されて、前記間隔を置かれた化学的部分のうちの他方を放出することが可能である二官能性化学基として規定されうる。本開示に従い、自壊性部分は、その末端のうちの一方において、アミド結合により、リガンドへと、直接的に、または、スペーサーユニットを介して、間接的に、共有結合的に連結され、その他方の末端において、薬物から吊下がる、化学的反応性部位（官能基）へと、共有結合的に連結されうる。自壊性部分を伴う治療用部分の誘導は、薬物が切断されるまで、薬物を、薬理学的に低活性（例えば、低毒性）とする場合もあり、完全に不活性とする場合もある。

【０１５２】

治療用コンジュゲートは、一般に、循環中において安定であるか、または、少なくとも、基質認識配列と、自壊性部分との間のアミド結合を切断することが可能な酵素の非存在下において、これが成り立つはずである。しかし、治療用コンジュゲートが、適切な酵素へと曝露されると、アミド結合が切断され、自発的自壊反応を誘発する結果として、自壊性部分を、薬物へと共有結合的に連結する結合の切断をもたらして、これにより、その非誘導形態または薬理学的活性形態において遊離治療用部分の放出をもたらす。

【０１５３】

一部の実施形態において、本開示のコンジュゲート内の自壊性部分は、１つまたは複数のヘテロ原子を組み込み、これにより、可溶性の改善をもたらすか、切断速度を改善し、コンジュゲートの凝集への傾向を低下させる。本開示の複素環性自壊性リンカーコンストラクトによる、非複素環性ＰＡＢ型リンカーに対する、これらの改善は、有効性の増大、毒性の低下、およびより所望される薬物動態などの驚くべき予想外の生物学的特性を結果としてもたらしうる。

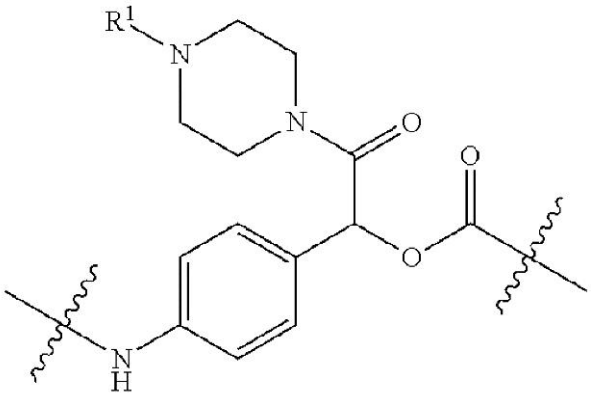
【０１５４】

一部の実施形態において、L^2は、ベンジルオキシカルボニル基である。

【０１５５】

一部の実施形態において、L^2は、

【化１０】

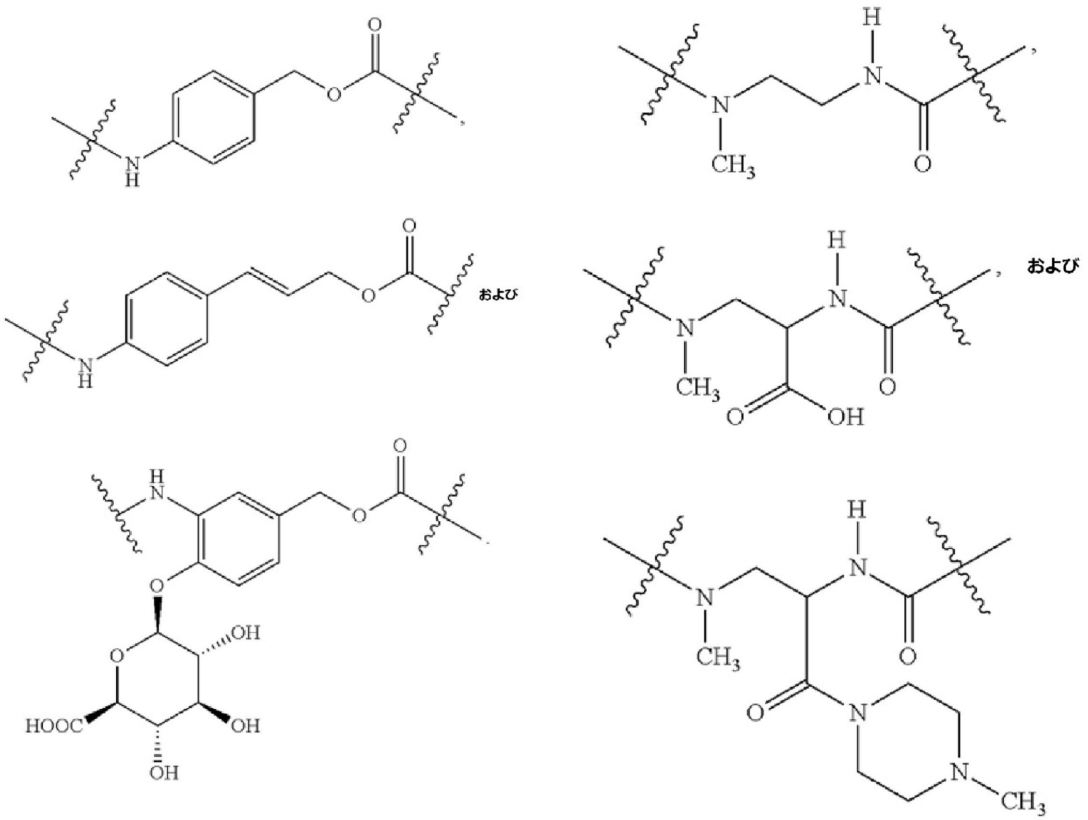


［式中、Ｒ^{1}は、水素、非置換Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$アルキルもしくは置換Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$アルキル、または非置換ヘテロシクリルもしくは置換ヘテロシクリルである］である。一部の実施形態において、Ｒ^{1}は、水素である。場合によって、Ｒ^{1}は、メチルである。

【０１５６】

一部の実施形態において、Ｌ^{2}は、

【化１１】

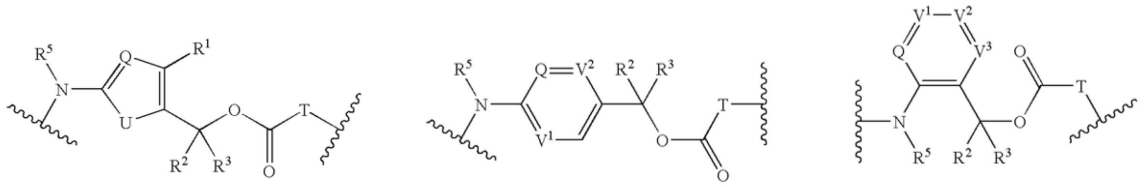


から選択される。

【０１５７】

一部の実施形態において、自壊性部分である、Ｌ$_{2}$は、

【化１２】



［式中、
Ｕは、Ｏ、Ｓ、またはＮＲ^{6}であり；
Ｑは、ＣＲ^{4}またはＮであり；
Ｖ^{1}、Ｖ^{2}、およびＶ^{3}は、式ＩＩおよびＩＩＩについて、Ｑ、Ｖ^{1}、およびＶ^{2}のうちの少なくとも１つが、Ｎであることを条件として、独立に、ＣＲ^{4}またはＮであり；
Ｔは、前記治療用部分から吊下がる、ＮＨ、ＮＲ^{6}、Ｏ、またはＳであり；
Ｒ^{1}、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、およびＲ^{4}は、独立に、Ｈ、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、Ｉ、ＯＨ、－Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$、－Ｎ（Ｒ^{5}）$_{3}^{+}$、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$ハロゲン化アルキル、カルボキシレート、スルフェート、スルファメート、スルホネート、－ＳＯ$_{2}$Ｒ^{5}、－Ｓ（＝Ｏ）Ｒ^{5}、－ＳＲ^{5}、－ＳＯ$_{2}$Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ^{5}、－ＣＯ$_{2}$Ｒ^{5}、－Ｃ（＝Ｏ）Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$、－ＣＮ、－Ｎ$_{3}$、－ＮＯ$_{2}$、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルコキシ、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$ハロ置換アルキル、ポリエチレンオキシ、ホスホネート、ホスフェート、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$置換アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$置換アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$アルキニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$置換アルキニル、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$アリール、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$置換アリール、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{20}$複素環、およびＣ$_{1}$～Ｃ$_{20}$置換複素環から選択されるか；または、一体に考えられた場合、Ｒ^{2}と、Ｒ^{3}とは、カルボニル（＝Ｏ）、もしくは炭素原子３～７個によるスピロ炭素環を形成し；
Ｒ^{5}およびＲ^{6}は、独立に、Ｈ、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$置換アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$置換アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$アルキニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$置換アルキニル、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$アリール、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$置換アリール、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{20}$複素環、およびＣ$_{1}$～Ｃ$_{20}$置換複素環から選択されるが；
この場合、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$置換アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$置換アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{8}$置換アルキニル、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$置換アリール、およびＣ$_{2}$～Ｃ$_{20}$置換複素環は、独立に、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、Ｉ、ＯＨ、－Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$、－Ｎ（Ｒ^{5}）$_{3}^{+}$、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$ハロゲン化アルキル、カルボキシレート、スルフェート、スルファメート、スルホネート、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキルスルホネート、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキルアミノ、４－ジアルキルアミノピリジニウム、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキルヒドロキシル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキルチオール、－ＳＯ$_{2}$Ｒ^{5}、－Ｓ（＝Ｏ）Ｒ^{5}、－ＳＲ^{5}、－ＳＯ$_{2}$Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ^{5}、－ＣＯ$_{2}$Ｒ^{5}、－Ｃ（＝Ｏ）Ｎ（Ｒ^{5}）$_{2}$、－ＣＮ、－Ｎ$_{3}$、－ＮＯ$_{2}$、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルコキシ、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$トリフルオロアルキル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{12}$炭素環、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$アリール、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{20}$複素環、ポリエチレンオキシ、ホスホネート、およびホスフェートから選択される、１つまたは複数の置換基により置換される］
から選択される。

【０１５８】
Ｔは、ＮＨである場合、治療用部分（自壊性部分へとカップリングする前における）から吊下がる、一級アミン（－ＮＨ２）に由来し、ＴがＮである場合、治療用部分（自壊性部分へとカップリングする前における）に由来する、二級アミン（－ＮＨ－）に由来することが理解されるであろう。同様に、Ｔは、ＯまたはＳである場合、自壊性部分へとカップリングする前に、治療用部分から吊下がる、それぞれ、ヒドロキシル（－ＯＨ）基またはスルフヒドリル（－ＳＨ）基に由来する。

【０１５９】
一部の実施形態において、自壊性リンカーＬ^{2}は、－ＮＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{4}$－Ｃ（＝Ｏ）－、または－ＮＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$－Ｃ（＝Ｏ）－である。

【０１６０】
一部の実施形態において、自壊性リンカーＬ^{2}は、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢＣ）である。
【０１６１】
一部の実施形態において、自壊性リンカーＬ^{2}は、２，４－ビス（ヒドロキシメチル）アニリンである。
【０１６２】
本明細書において記載される治療用コンジュゲートにおける使用のために、たやすく適合させられる、自壊性リンカーの他の例については、例えば、米国特許第７，７５４，６８１号；ＷＯ２０１２／０７４６９３Ａ１；ＵＳ９，０８９，６１４；ＥＰ１，７３２，６０７；ＷＯ２０１５／０３８４２６Ａ１（それらの全てが、参照により本明細書に組み込まれる）；それらの各々の教示が、参照により本明細書に組み込まれる、Walther et al. “Prodrugs in medicinal chemistry and enzyme prodrug therapies” Adv Drug Deliv Rev. 2017 Sep 1; 118:65-77； and Tranoy-Opalinski et al. “Design of self- immolative linkers for tumour-activated prodrug therapy”, Anticancer Agents Med Chem. 2008 Aug;8(6):6l8-37において教示されている。
【０１６３】
本開示に従う使用のための、さらに他の自壊性リンカーの非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号において記載されている。
【０１６４】
治療用部分
一部の実施形態において、治療用部分（－ＴＭ）は、自然免疫応答および／または獲得免疫応答の活性化を結果としてもたらす炎症を誘導する薬剤などの免疫誘導剤である。
【０１６５】
一部の実施形態において、治療用部分（－ＴＭ）は、細胞傷害剤、すなわち、治療用コンジュゲートから放出されると、治療用コンジュゲートが投与される濃度において、標的細胞の細胞死を引き起こす細胞傷害剤である。
【０１６６】
一部の実施形態において、治療用部分（－ＴＭ）は、細胞増殖抑制剤、すなわち、治療用コンジュゲートから放出されると、治療用コンジュゲートが投与される濃度において、標的細胞の有糸分裂の停止または休止を引き起こす細胞増殖抑制剤である。
【０１６７】
一部の実施形態において、治療用部分（－ＴＭ）は、エピジェネティック剤、すなわち、治療用コンジュゲートから放出されると、治療用コンジュゲートが投与される濃度において、標的細胞のエピジェネティック変化を引き起こし、例えば、細胞の、別の細胞表現型への分化（または脱分化）を結果としてもたらしうる、エピジェネティック剤である。
【０１６８】
一部の実施形態において、治療用部分は、一般式：
【化１３】

$$-\mathrm{RBM}-(\mathrm{Z})_p$$

［式中、ＲＢＭは、受容体結合性部分であり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分であり、ｐは、０（Ｚは、存在しない）、または１～８の整数である］により表される。一部の実施形態において、ｐは、１である。
【０１６９】
一部の実施形態において、治療用部分は、一般式：

【化１４】

$$-RBM-L^3-Z$$

［式中、ＲＢＭは、受容体結合性部分であり、Ｚは、細胞毒性部分、細胞増殖抑制性部分、もしくはエピジェネティック部分、または放射性同位元素含有部分であり、L^3は、結合、または切断型リンカーもしくは非切断型リンカーである］により表される。例えば、L^3は、Ｚが、受容体結合性部分であるＲＢＭに依存する、細胞への結合を介する、－ＲＢＭ－L^3－Ｚ部分の内部化時に、細胞内に放出されるように、酸不安定性または酵素感受性（カテプシン切断部位を含むなど）であるリンカーでありうる。

【０１７０】

さらに例示すると、受容体結合性部分（ＲＢＭ）は、治療用コンジュゲートから放出されると、細胞表面受容体の細胞外リガンド結合性ドメインに結合することが可能なリガンドなどの、受容体に対するリガンドでありうる。例示的な受容体リガンドは、ソマトスタチン、コレシストキニン２（ＣＣＫ２）、葉酸［ｆｏｌａｔｅ（ｆｏｌｉｃ　ａｃｉｄ）］、ボムベシン、ガストリン放出ペプチド、カルシトニン、オキシトシン、ＥＧＦ、α－メラノサイト刺激ホルモン、ミニガストリン、ニューロテンシン、Ｐ物質、グルカゴン様ペプチド１、神経ペプチドＹ、およびこれらのリガンドの類似体を含む。受容体リガンドは、それ自体、それ自体における薬理学的活性、およびそれ自体の薬理学的活性を有するか、または、コンジュゲートされた治療用部分（例えば、薬物部分）、毒素、または放射性同位元素を、受容体を発現する細胞へと（かつ、好ましくは、細胞内へと）デリバリーするのに使用されうる。

【０１７１】

さらなる例は、受容体結合性部分が、葉酸誘導体（葉酸受容体に結合し、卵巣がんおよび他の悪性腫瘍において過剰発現されるタンパク質）（Low, PS et al 2008, acc. chem. res.41, 120-9）；グルタミン酸尿素誘導体（前立腺特異性膜抗原、前立腺がん細胞についての表面マーカーに結合する）（Hillier, SM et al, 2009, Cancer res. 69, 6932-40）；ソマトスタチン（また、成長ホルモン阻害ホルモン（ＧＨＩＨ）、または成長ホルモン放出阻害因子（ＳＲＩＦ）、または成長ホルモン放出阻害ホルモンとしても公知である）、ならびにオクトレオチド（Ｓａｎｄｏｓｔａｔｉｎ）およびランレオチド（Ｓｏｍａｔｕｌｉｎｅ）（特に、神経内分泌腫瘍、ＧＨ産生型下垂体腺腫、傍神経節腫、非機能的下垂体腺腫、褐色細胞腫）など、その相同体（Ginj, M., et al, 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103,16436-41）、以下の腫瘍：ＧＨ分泌型下垂体腺腫（Reubi JC, L and olt, AM1984J. Clin. Endocrinol Metab 59: 1148-51; Re JC, L and olt AM 1987 Clin. Endocrinol Metab 65: 65. C.73; Moyse E, et al, J Clin Endocrinol Metab 61: 98-103）、胃腸膵管腫瘍（Reubi JC, et al, 1987J Clin Endocrinol Metab 65: 1127-34; Reubi, J.C, et al, 1990Cancer Res 50: 5969-77）、褐色細胞腫（Epel-baum J, et al, 1995J Clin Endocrinol Metab80: 1837-44; Reubi J C, et al, 1992J Clin Endocrinol Metab 74: 1082-9）、神経芽細胞腫（Prevost G,1996 neoendocrinolology 63: 188) 197; Mortel, Mill.L, et al, 1994 Amob J P102: 752-752）、甲状腺髄様癌（Reubi, J.C, et al, 1991Lab 64: 7J, 1987J, 1987, et al, 1987J, 1987J）における、ソマトスタチン受容体亜型（ｓｓｔ１、ｓｓｔ２、ｓｓｔ３、ｓｓｔ４、およびｓｓｔ５）；結腸がんについてのマウス結腸受容体；ボムベシン（Ｐｙｒ－Ｇｌｎ－Ａｒｇ－Ｌｅｕ－Ｇｌｙ－Ａｓｎ－Ｇｌｎ－Ｔｒｐ－Ａｌａ－Ｖａｌ－Ｇｌｙ－Ｈｉｓ－Ｌｅｕ－Ｍｅｔ－ＮＨ２）（配列番号１４３）、またはガストリン放出ペプチド（ＧＲＰ）およびその受容体サブクラス（ＢＢ１、ＧＲＰ受容体サブクラス（ＢＢ２）、ＢＢ３、およびＢＢ４）（Ohlsson, b., et al, 1999, Sc and j.gastroenterology 34(12) 1224-9; weber, HC,2009, cur. opin. endocri. dib. obesity16(1): 66-71, Gonzalez N, et al, 2008, cur. opin. endocri. dib. obesity 15(1), 58-64）；ニューロテンシン受容体およびそれらの受容体亜型（ＮＴＲ１、ＮＴＲ２、ＮＴＲ３）；Ｐ

物質受容体およびそれらの受容体亜型（例えば、神経膠腫についてのＮＫ１受容体；Hennig I M, et al 1995int. J. cancer 61, 786-cake 792）；神経ペプチドＹ（ｎｐｙ）受容体およびその受容体亜型（Ｙ１－Ｙ６）；細胞表面発現についての、ＲＧＤ（Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ）、ＮＧＲ（Ａｓｎ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ）、二量体環状ＲＧＤペプチドおよび多量体環状ＲＧＤペプチド（例えば、ｃＲＧＤｆＶ）（Laakkonen P, Vuorine K.2010, Integr Biol (Camb). sub.2 (7-8): 326-337; ChenK, Chen X.2011, Theranostics.1: 189-200; Garanger E, et al, Anti-Cancer Agents Med. 7(5): 552-558; Kerr, JS et al, Antincerner Research,19(2A), 959-968; Thumshirn, G, et al, 2003Chem. Eur.J.9, 7-2725）、およびＴＡＡＳＧＶＲＳＭＨ（配列番号１４４）、またはＬＴＬＲＷＶＧＬＭＳ（配列番号１４５）（コンドロイチン硫酸プロテオグリカンＮＧ２受容体）およびＦ３（ヌクレオリン受容体結合性ペプチド）（ＲＧ受容体）（アミノ酸受容体３１、ＢＴＥ－Ｇｌｙ－２６；proc.nat.acad.sci.usa 99(11), 7444-9）を含むホーミングペプチド；細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）（Nakase I, et al, 2012, J.Control Release.159(2), 181-188）；ブセレリン（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｓｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－ＮＨＥｔ）（配列番号１４６）、ゴナドレリン（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｇｌｙ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－ＮＨ２）（配列番号１４７）、ゴセレリン（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｓｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－ＡｚＧｌｙ－ＮＨ２）（配列番号１４８）、ヒマラレリン（Ｈｉｍａｌａｒｅｌｉｎ）（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｈｉｓ（Ｎ－Ｂｎ）－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－ＮＨＥｔ）（配列番号１４９）、レウプロリド（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｌｅｕ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－ＮＨＥｔ）（配列番号１５０）、ナファレリン（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－２Ｎａｌ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－ＮＨ２）（配列番号１５１）、トリプトレリン（Ｐｙｒ－Ｈｉｓ－Ｔｒｐ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｔｒｐ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－ＮＨ２）（配列番号１５２）、ナファレリン、デスロライン、アベレリン（Ａｃ－Ｄ－２Ｎａｌ－Ｄ－４－クロロＰｈｅ－Ｄ－３－（３－ピリドール）Ａｌａ－Ｓｅｒ－（Ｎ－Ｍｅ）Ｔｙｒ－Ｄ－Ａｓｎ－Ｌｅｕ－イソプロピル（ｉｓｏｐｙＬ）Ｌｙｓ－Ｐｒｏ－ＤＡｌａ－ＮＨ２）（配列番号１５３）、セトロレリクス（Ａｃ－Ｄ－２Ｎａｌ－Ｄ－４－クロロ－Ｐｈｅ－Ｄ－３－（３－ピリドール）Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－Ｃｉｔ－Ｌｅｕ－Ａｒｇ－Ｐｒｏ－Ｄ－Ａｌａ－ＮＨ２）（配列番号１５４）、デガレリクス（Ａｃ－Ｄ－２Ｎａｌ－Ｄ－４－クロロＰｈｅ－Ｄ－３－（３－ピリドール）Ａｌａ－Ｓｅｒ－４－アミノＰｈｅ（Ｌ－ヒドロキシル）－Ｄ－４－アミノＰｈｅ（カルバモイル）－Ｌｅｕ－イソプロピル（ｉｓｏｐｒｏｙｌ）Ｌｙｓ－Ｐｒｏ－Ｄ－Ａｌａ－ＮＨ２）（配列番号１５５）、およびガランガル（Ａｃ－Ｄ－２Ｎａｌ－Ｄ－４－クロロＰｈｅ－Ｄ－３－（３－ピリドール）Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ－Ｄ－（Ｎ９、Ｎ１０－ジエチル）－ホモＡｒｇ－Ｌｅｕ－（Ｎ９、Ｎ１０－ジエチル）－ホモＡｒｇ－Ｐｒｏ－Ｄ－Ａｌａ－ＮＨ２）（配列番号１５６）など、濾胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）および黄体形成ホルモン（ＬＨ）のほか、テストステロンの産生をターゲティングすることにより作用する、黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）のアゴニストおよびアンタゴニスト、ゴナドトロピン放出ホルモン（ＧｎＲＨ）アゴニストなどのペプチドホルモン（Thundimadathil, J., J.Aminoacids in Urology3(3): 127-140; Debruyne, F.,2006, Future Oncology,2 (6); 677 696; Schally A.V; Nagy, A.1999Eur J Endocrinol 141: 1-14; Koppan M, et al 1999 Protate 38: 151-158）；Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）、Ｃ型レクチン、およびＮＯＤ（ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｏｌｉｇｏｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ）様受容体（ＮＬＲ）などのパターン認識受容体（ＰＲＲ）（Fukata, M.et al, 2009, Semin. 21, Immunol 242-253）からなる群から選択されるリガンド、または受容体アゴニストである実施形態を含む。短鎖ペプチドである、ＧＲＧＤＳＰＫ（配列番号１５７）、およびシクロ（ＲＧＤｆＶ）（配列番号１６０）（Ｌ１）およびその誘導体｛［シクロ（－Ｎ（Ｍｅ）Ｒ－ＧＤｆＶ］（配列番号１５８）、シク

ロ（Ｒ－Ｓａｒ－ＤｆＶ）（配列番号１５９）、シクロ－［ＲＧ－Ｎ（Ｍｅ）Ｄ－ｆＶ］（配列番号１７６）、シクロ［ＲＧＤ－Ｎ（Ｍｅ）ｆＶ］（配列番号１７７）、シクロ［ＲＧＤｆ－Ｎ（Ｍｅ）Ｖ－］（シレンジタイド）（配列番号１７８）｝などの環状ＲＧＤペンタペプチドは、インテグリン受容体に対する、高アフィニティーを有する（Dechantsreiter, MA et al, 1999J.Med.chem.42,3033-40, Goodman, SL, et al, 2002J.Med.chem.45, 1045-51）。

【０１７２】

一部の実施形態において、受容体結合性部分は、インテグリンαｖβ３、ガストリン放出ペプチド受容体（ＧＲＰＲ）、ソマトスタチン受容体（ソマトスタチン受容体亜型２など）、メラノコルチン受容体、コレシストキニン２受容体、神経ペプチドＹ受容体、またはニューロテンシン受容体に結合する。

【０１７３】

一部の実施形態において、受容体結合性部分は、葉酸受容体αに結合し、葉酸または葉酸類似体（エタルフォラチド、ビンタフォリド、ロイコボリン、およびメトトレキサートなど）などの葉酸受容体リガンドでありうる。

【０１７４】

一部の実施形態において、受容体結合性部分は、ソマトスタチン受容体に結合し、ソマトスタチン、またはオクトレオテート、オクトレオチド、もしくはペンテトレオチドなどのソマトスタチン類似体、でありうる。

【０１７５】

一部の実施形態において、受容体結合性部分は、αＩＩｂβ３に結合し、シクロ（－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ－Ｄ－Ｐｈｅ　Ｖａｌ－）［「ｃ（ＲＧＤｆＶ）」］（配列番号１６０）、c(RGDfK)（配列番号１６１）、c(RGDfC)（配列番号１６２）、c(RADfC)（配列番号１６３）、c(RADfK)（配列番号１６４）、c(RGDfE)（配列番号１６５）、c(RADfE)（配列番号１６６）、RGDSK（配列番号１６７）、RADSK（配列番号１６８）、RGDS（配列番号１６９）、c(RGDyC)（配列番号１７０）、c(RADyC)（配列番号１７１）、c(RGDyE)（配列番号１７２）、c(RGDyK)（配列番号１７３）、c(RADyK)（配列番号１７４）およびH-E[c(RGDyK)]$_2$（配列番号１７５）、ＥＭＤ　１２１９４、ＤＭＰ７２８、ＤＭＰ７５７およびＳＫ＆Ｆ１０７２６０など、例示的な環状ＲＧＤペプチドを含む、ＲＧＤまたはＲＧＤ類似体（すなわち、二量体類似体または多量体類似体）などのαＩＩｂβ３標的リガンドでありうる。

【０１７６】

一部の実施形態において、治療用部分は、インビボにおける、自然免疫応答を誘導するそれらの能力に基づき選択される。自然免疫応答は、サイトカインの発現および放出の増大ならびに細胞死を結果としてもたらす、典型的に、ウイルス由来または細菌由来の外因性核酸または外因性タンパク質に対する細胞応答を含む。したがって、自然免疫応答は、サイトカイン（例えば、１型インターフェロン）の発現レベルまたは活性レベルにより測定される場合もあり、インターフェロン調節性遺伝子（例えば、ｔｏｌｌ様受容体）の発現レベルにより測定される場合もある。一部の実施形態において、自然免疫応答は、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）の発現レベルまたは活性レベルにより測定される。応答はまた、細胞死のレベルによっても測定されうる。

【０１７７】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、治療用部分単独と比較して、低度の自然免疫応答を誘導する。例えば、一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、治療用部分が単独で投与される場合に誘導される自然免疫応答より、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、または１００％低度の自然免疫応答を誘導する。

【０１７８】

一部の実施形態において、治療用部分は、急性毒性である。本明細書において使用される、「急性毒性」である部分とは、対象への投与から１４日以内に、有害作用を及ぼす部

分を指す。急性毒性は、時間経過にわたる、治療用部分の蓄積が、治療用部分の毒性を結果としてもたらす、慢性毒性または累積毒性と対比される。

【０１７９】

毒性は、任意の方法を使用して測定されうる。一部の実施形態において、毒性は、肝活動により測定される。一部の実施形態において、毒性は、腎活動により測定される。一部の実施形態において、毒性は、膵活動により測定される。

【０１８０】

一部の実施形態において、毒性は、アスパラギン酸トランスアミナーゼ（ＡＳＴ）および／またはアラニントランスアミナーゼ（ＡＬＴ）などの循環肝酵素について評価することにより測定される。治療用部分の投与後の時点におけるＡＳＴレベルおよび／またはＡＬＴレベルは、投与の前に得られるベースライン値、例えば、治療用部分を施されなかった対照動物の値、または過去の実験（歴史対照）、もしくは文献に由来する、正常動物と関連することが公知の値と比較されうる。

【０１８１】

一部の実施形態において、毒性は、アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）レベルについて評価することにより測定される。治療用部分の投与後の時点におけるＡＬＰレベルは、投与の前に得られるベースライン値、例えば、治療用部分を施されなかった対照動物の値、または過去の実験（歴史対照）、もしくは文献に由来する、正常動物と関連することが公知の値と比較されうる。

【０１８２】

一部の実施形態において、毒性は、総ビリルビン（ＴＢＩＬ）レベルについて評価することにより測定される。治療用部分の投与後の時点におけるＴＢＩＬレベルは、投与の前に得られるベースライン値、例えば、治療用部分を施されなかった対照動物の値、または過去の実験（歴史対照）、もしくは文献に由来する、正常動物と関連することが公知の値と比較されうる。

【０１８３】

一部の実施形態において、毒性は、アルブミンレベルについて評価することにより測定される。治療用部分の投与後の時点におけるアルブミンレベルは、投与の前に得られるベースライン値、例えば、治療用部分を施されなかった対照動物の値、または過去の実験（歴史対照）、もしくは文献に由来する、正常動物と関連することが公知の値と比較されうる。

【０１８４】

一部の実施形態において、毒性は、血清グルコースレベルについて評価することにより測定される。治療用部分の投与後の時点における血清グルコースレベルは、投与の前に得られるベースライン値、例えば、治療用部分を施されなかった対照動物の値、または過去の実験（歴史対照）、もしくは文献に由来する、正常動物と関連することが公知の値と比較されうる。

【０１８５】

一部の実施形態において、毒性は、乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）レベルについて評価することにより測定される。治療用部分の投与後の時点における乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）レベルは、投与の前に得られるベースライン値、例えば、治療用部分を施されなかった対照動物の値、または過去の実験（歴史対照）、もしくは文献に由来する、正常動物と関連することが公知の値と比較されうる。

【０１８６】

理論に束縛されることは望まないが、治療用コンジュゲートは、ＦＡＰαが、リンカーを切断するまで、治療用部分が、活性とならないようにすると考えられる。このように、治療用コンジュゲートは、急性毒性ではなく、遊離治療用部分より高度な治療指数（ＴＩ）を有する。ＴＩとは、治療効果を引き起こす治療用部分（またはコンジュゲート）の量を、毒性を引き起こす治療用部分（またはコンジュゲート）の量と比較することにより計算される、治療用部分の相対的安全性についての定量的尺度である。一部の実施形態にお

いて、治療用コンジュゲートは、全身デリバリーされた場合に、遊離治療用部分の全身デリバリーの、少なくとも２倍、例えば、遊離治療用部分の全身デリバリーの、少なくとも５、１０、２０、３０、４０、５０、１００、２５０、５００、なおまたは１０００倍である治療指数（ＴＩ）を有する。一部の実施形態において、治療用コンジュゲートの治療指数（ＴＩ）は、全身に施された場合に、遊離治療用部分についての治療指数の、少なくとも５倍、例えば、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、７５、なおまたは１００倍である。

【０１８７】

このように、用量制限毒性のためにかつて無効だった治療用部分（薬物）（例えば、タラボスタット）は、本明細書において記載される治療用量（例えば、７５ｎＭ、８０ｎＭ、８５ｎＭ、９０ｎＭ、９５ｎＭ、１００ｎＭ、１２５ｎＭ、１５０ｎＭ、１７５ｎＭ、２００ｎＭ、またはこれを超える腫瘍内濃度）において投与されうる。

【０１８８】

本明細書において提示される治療用部分は、それらのプロドラッグ形態において、不活性（例えば、全身毒性の危険性が低減され、細胞透過率が低減された）であるが、ＦＡＰα切断型リンカーの切断により活性化させられる薬物（例えば、１０ｋＤまたはこれ未満の分子量を有する低分子）である、プロドラッグでありうる。切断されると、治療用部分は、罹患組織（例えば、腫瘍）の細胞外腔へと放出され、そこで、局所的炎症応答を引き起こし、免疫細胞の浸潤を促進し、一部の実施形態において、自然免疫応答を誘導しうる。罹患組織が、腫瘍である場合、活性化治療用部分はまた、腫瘍間質を分解する場合もあり、かつ／または腫瘍細胞を死滅させる場合もある。

【０１８９】

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、細胞内標的と相互作用し、治療用部分の薬理学的効果が、細胞透過性である遊離治療用部分、すなわち、その細胞内標的と相互作用することが可能である遊離治療用部分に依存するのに対し、結合剤－薬物コンジュゲートの一部である場合、治療用部分は、実質的に細胞不透過性である。例えば、結合剤－薬物コンジュゲートの、細胞内における蓄積速度は、遊離治療用部分についての速度の５０％未満、例えば、遊離治療用部分についての速度の２５％、１０％、５％、１％未満、なおまたは０．１％未満である。例えば、遊離治療用部分の薬理学的効果についてのＥＣ５０は、結合剤－薬物コンジュゲートの２分の１以下（の効力）、例えば、結合剤－薬物コンジュゲートの、５、１０、２０、３０、４０、５０、１００、２５０、５００、なおまたは１０００分の１以下である。

【０１９０】

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、細胞外標的と相互作用し、L^1へと、共有結合的に連結されると、治療用部分の薬理学的効果は、実質的に弱められる。例えば、遊離治療用部分の薬理学的効果についてのＥＣ５０は、結合剤－薬物コンジュゲートの２分の１以下（の効力）、例えば、結合剤－薬物コンジュゲートの、５、１０、２０、３０、４０、５０、１００、２５０、５００、なおまたは１０００分の１以下である。

【０１９１】

一部の実施形態において、結合剤－薬物コンジュゲートは、全身デリバリーされた場合に、遊離治療用部分の全身デリバリーの、少なくとも２倍、例えば、遊離治療用部分の全身デリバリーの、少なくとも５、１０、２０、３０、４０、５０、１００、２５０、５００、なおまたは１０００倍である治療指数を有する。

【０１９２】

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、免疫モジュレーター（免疫活性化剤および／または自然免疫経路応答の誘導剤として作用する薬物部分を含む）である。一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＩＦＮ－αの産生を誘導する。一部の実施形態において、遊離治療用部分は、炎症促進性サイトカインの産生を誘導する。一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＩＬ－１βの産生を誘導する。一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＩＬ－１８の産生を誘導する。

【０１９３】
一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＮＫ細胞、γδＴ細胞、およびＣＤ８＋Ｔ細胞を含むエフェクター細胞の拡大および生存を促進する。
【０１９４】
一部の実施形態において、遊離治療用部分は、損傷関連分子パターンの分子である。一部の実施形態において、遊離治療用部分は、病原体関連分子パターンの分子である。
【０１９５】
本明細書における使用のための治療用部分は、例えば、公式米国薬局方、公式ＨＰＵＳ（Ｈｏｍｅｏｐａｔｈｉｃ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ）、公式ＮＦ（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｆｏｒｍｕｌａｒｙ）、またはこれらの任意の補遺において認知された治療用部分を含み、低分子化学物質／薬物、ポリヌクレオチド（例えば、ｍｉＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、およびアンチセンスＲＮＡなどのＲＮＡ干渉分子）、およびポリペプチド（例えば、抗体）を含むがこれらに限定されない。本明細書において提示される通りに使用されうる、治療用分子のクラスは、組換えタンパク質、抗体、細胞傷害剤、代謝拮抗剤、アルキル化剤、抗生剤、増殖因子［例えば、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、ケラチノサイト増殖因子）］、サイトカイン、ケモカイン、インターフェロン（例えば、インターフェロンアルファ、インターフェロンベータ、インターフェロンガンマ）、血液因子［例えば、第ＶＩＩＩ因子、第ＶＩＩａ（Ｖｉｌａ）因子、第ＩＸ因子、トロンビン、アンチトロンビン］、有糸分裂阻害剤、毒素、アポトーシス剤、（例えば、ＤＮＡアルキル化剤）、トポイソメラーゼ阻害剤、小胞体ストレス誘導剤、白金化合物、代謝拮抗剤、ビンカアルカロイド（ｖｉｎｃａｌｋａｌｏｉｄｓ）、タキサン、エポチオロン、酵素阻害剤、受容体アンタゴニスト、チロシンキナーゼ阻害剤、放射線増感剤、化学療法組合せ療法、受容体トラップ、受容体リガンド、血管新生薬剤、抗血管新生薬剤、抗凝固剤および血栓溶解剤（例えば、組織プラスミノーゲン活性化因子、ヒルジン、プロテインＣ）、神経伝達物質、赤血球産生刺激剤、インスリン、成長ホルモン［例えば、ヒト成長ホルモン（ｈＧＨ）、濾胞刺激ホルモン］、代謝ホルモン（例えば、インクレチン）、組換えＩＬ－１受容体アンタゴニスト、および二特異性Ｔ細胞エンゲージング分子［ＢＩＴＥ（登録商標）］を含むがこれらに限定されない。
【０１９６】
一部の実施形態において、遊離治療用部分は、環状ジヌクレオチドである。一部の実施形態において、遊離薬物部分は、ＡＤＵ－Ｓ１００である。一部の実施形態において、遊離薬物部分は、がん関連線維芽細胞（ＣＡＦ）に対して、細胞毒性である。
【０１９７】
一部の実施形態において、遊離治療用部分は、腫瘍関連マクロファージ集団を、Ｍ１マクロファージへと分極させ、かつ／またはＭ２マクロファージの免疫抑制活性を阻害する。
【０１９８】
一部の実施形態において、遊離治療用部分は、Ｔ細胞プライミングおよび／または樹状細胞トラフィッキングを加速化させる。
【０１９９】
一部の実施形態において、遊離治療用部分は、免疫抑制機能またはリンパ節および／もしくは腫瘍微小環境への遊走を遮断することなどにより、Ｔｒｅｇ細胞を阻害するか、またはこれを枯渇させる。
【０２００】
一部の実施形態において、治療用部分は、化学療法薬部分である。化学療法薬部分の例は、白金ベースの薬物（例えば、オキサリプラチン、シスプラチン、カルボプラチン、スピロプラチン、イプロプラチン、サトラプラチンなど）、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、イホスファミド、クロランブシル、ブスルファン、メルファラン、メクロレタミン、ウラムスチン、チオテパ、およびニトロソウレア）、代謝拮抗剤［例えば、５

－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、アザチオプリン、メトトレキサート、ロイコボリン、カペシタビン、シタラビン、フロクスウリジン、フルダラビン、ゲムシタビン、ペメトレキセド、およびラルチトレキセド］、植物アルカロイド［例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、ビンデシン、ポドフィロトキシン、パクリタキセル（タキソール）、およびドセタキセル］、トポイソメラーゼ阻害剤｛例えば、イリノテカン［ＣＰＴ－ＩＩ（ＣＰＴ－ｌ　ｌ）；Ｃａｍｐｔｏｓａｒ］、トポテカン、アムサクリン、エトポシド（ＶＰ１６）、エトポシドリン酸、およびテニポシド｝、抗腫瘍抗生剤（例えば、ドキソルビシン、アドリアマイシン、ダウノルビシン、エピルビシン、アクチノマイシン、ブレオマイシン、マイトマイシン、ミトキサントロン、およびプリカマイシン）、チロシンキナーゼ阻害剤［例えば、ゲフィチニブ（ｇｅｆｌｔｉｎｉｂ）［ＩＲＥＳＳＡ（登録商標）］、スニチニブ［ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）；ＳＵ１１２４８］、エルロチニブ［ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）；ＯＳＩ－１７７４］、ラパチニブ（ＧＷ５７２０１６；ＧＷ２０１６）、カネルチニブ（ＣＩ１０３３）、セマキシニブ（ＳＵ５４１６）、バタラニブ（ＰＴＫ７８７／ＺＫ２２２５８４）、ソラフェニブ（ＢＡＹ４３－９００６）、イマチニブ［ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）；ＳＴＩ５７１］、ダサチニブ（ＢＭＳ－３５４８２５）、レフルノミド（ＳＵ１０１）、バンデタニブ［ＺＡＣＴＩＭＡ（商標）；ＺＤ６４７４］、薬学的に許容されるこれらの塩、これらの立体異性体、これらの誘導体、これらの類似体、およびこれらの組合せを含むがこれらに限定されない。

【０２０１】

治療用部分の、他の非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１９／２３６５６７において提示されている。

【０２０２】

タキサン／タキソイド

一部の実施形態において、治療用部分は、タキサンである。タキサンは、ジテルペンのクラスである。タキサンクラスの薬物の、主要な作用機構は、微小管機能の破壊である。微小管は、細胞分裂に不可欠であり、タキサンは、微小管内のＧＤＰ結合型チューブリンを安定化させ、これにより、脱重合が阻止されるので、細胞分裂過程を阻害する。したがって、本質的に、タキサンは、有糸分裂阻害剤である。タキサンと対照的に、ビンカアルカロイドは、チューブリン重合の阻害を介して、有糸分裂紡錘体の形成を阻止する。したがって、タキサンおよびビンカアルカロイドのいずれも、紡錘体毒または有糸分裂毒と名付けられるが、異なる方式において作用する。タキサンはまた、放射線増感性であるとも考えられる。タキサンの非限定例は、パクリタキセル、ドセタキセル、およびカバジタキセルを含む。

【０２０３】

白金ベースの薬剤

一部の実施形態において、治療用部分は、白金ベースの薬剤である。白金ベースの抗新生物薬（非公式に、プラチンと呼ばれる）は、典型的に、がんを処置するのに使用される化学療法剤である。白金ベースの抗新生物剤は、単一付加体としてのＤＮＡの架橋、鎖間架橋、鎖内架橋、またはＤＮＡ－タンパク質間架橋を引き起こす。大半において、白金ベースの抗新生物剤は、隣接する、グアニンのＮ７位に作用し、１，２鎖内架橋を形成する。結果として得られる架橋は、がん細胞内のＤＮＡの修復および／またはＤＮＡの合成を阻害する。白金ベースの抗新生物剤は、場合によって、アルキル基を有さないが、アルキル化抗新生物剤と同様の効果のために、「アルキル化様」抗新生物剤として記載される。白金ベースの薬剤の非限定例は、オキサリプラチン、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン、ピコプラチン、フェナントリプラチン、トリプラチン、スピロプラチン、サトラプラチン、イプロプラチン、およびサトラプラチンを含む。

【０２０４】

プロテアソーム阻害剤

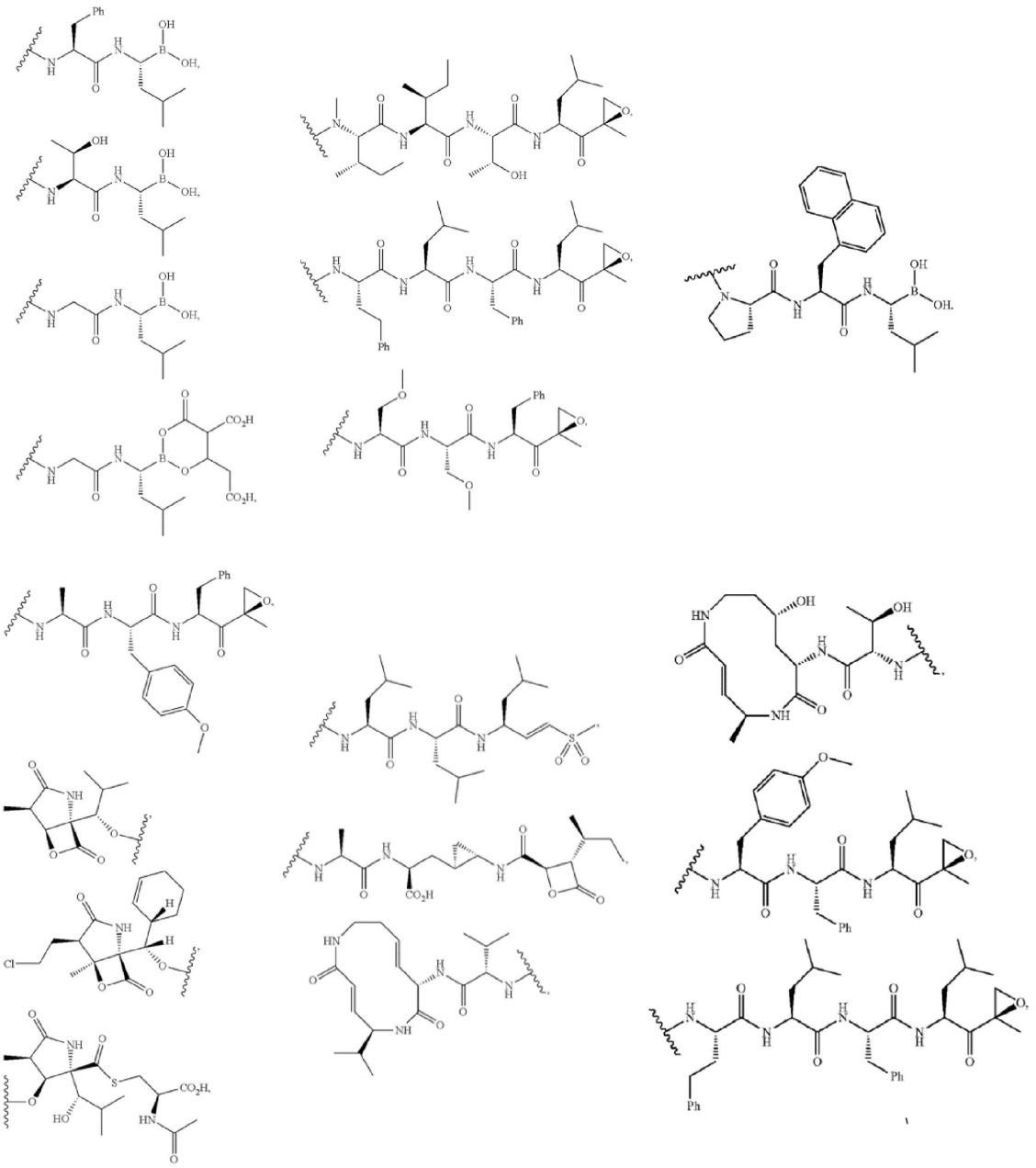
一部の実施形態において、治療用部分は、プロテアソーム阻害剤である。プロテアソーム阻害剤は、タンパク質を分解する細胞内複合体である、プロテアソームの作用を遮断す

る薬物である。複数の機構が関与する可能性があるが、プロテアソームの阻害は、アポトーシス促進経路の抑制に依存する、新生物性細胞内におけるプログラム細胞死の活性化を可能とする、ｐ５３タンパク質などのアポトーシス促進因子の分解を防止しうる。例えば、ボルテゾミブは、細胞内ペプチドレベルの、急速かつ劇的な変化を引き起こす。プロテアソーム阻害剤の非限定例は、ボルテゾミブ、ラクタシスチン、ジスルフィラム、エピガロカテキン－３－ガレート、マリゾミブ（サリノスポラミドＡ）、オプロゾミブ（ＯＮＸ－０９１２）、デランゾミブ（ＣＥＰ－１８７７０）、エポキソミシン、およびベータ－ヒドロキシベータ－メチルブチレートを含む。

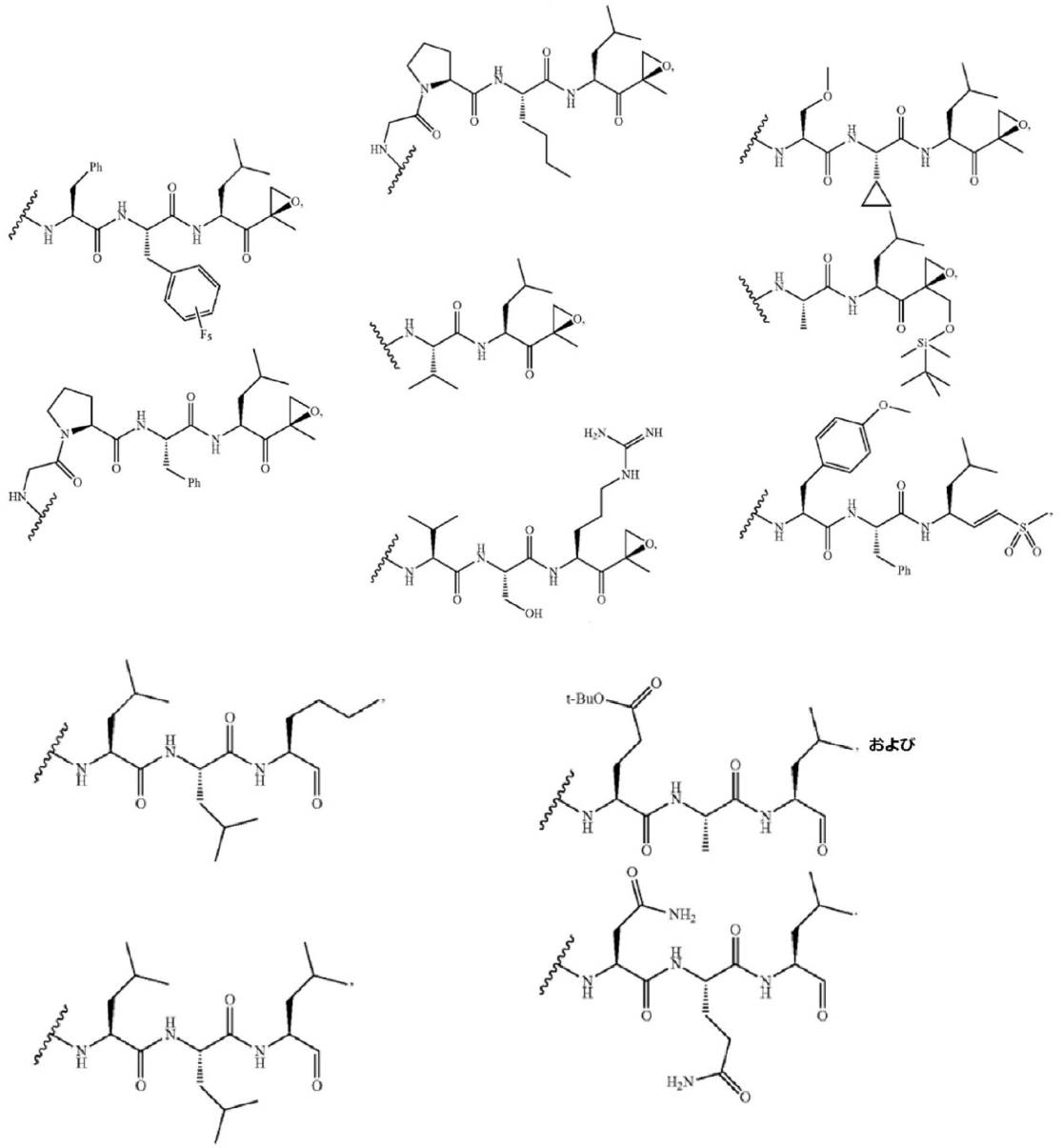
【０２０５】

例示的なプロテアソーム阻害剤は、

【化１５】



【化１６】



を含む。

【０２０６】

ｔｏｌｌ様受容体アゴニスト

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＴＬＲ１／２アゴニスト、ＴＬＲ２アゴニスト、ＴＬＲ３アゴニスト、ＴＬＲ４アゴニスト、ＴＬＲ５アゴニスト、ＴＬＲ６／２アゴニスト、ＴＬＲ７アゴニスト、ＴＬＲ７／８アゴニスト、ＴＬＲ７／９アゴニスト、ＴＬＲ８アゴニスト、ＴＬＲ９アゴニスト、およびＴＬＲ１１アゴニストからなる群から選択されるＴＬＲアゴニストなどのｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）アゴニストであり、例えば、ＴＬＲ３アゴニスト、ＴＬＲ７アゴニスト、ＴＬＲ７／８アゴニスト、およびＴＬＲ９アゴニストからなる群から選択されるＴＬＲアゴニストである。ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）アゴニストは、自然免疫応答および獲得免疫応答のいずれの活性化にも関与する。大半のＴＬＲアゴニストは、樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞（ＡＰＣ）を活性化させ、Ｔ細胞と相互作用する。ＴＬＲは、自然免疫にとって中心的であり、ＴＬＲアゴニストは、ＴＬＲ活性を増強し、これと関連して、自然免疫応答を活性化させるのに使用されている。ＴＬＲアゴニストは、典型的に、ＣｐＧジヌクレオチドモチーフを含む、短い合成一本鎖ＤＮＡの連なりである。

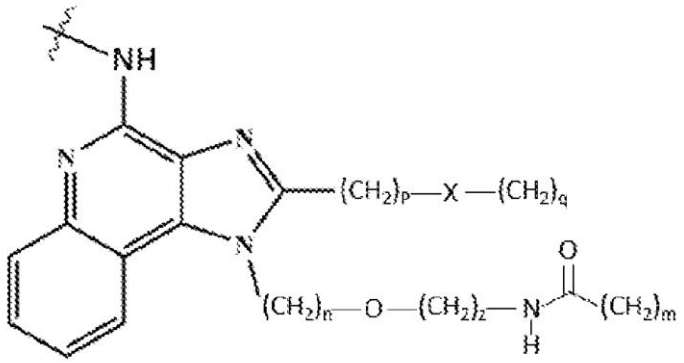
【０２０７】
　ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）アゴニストの例は、ＴＬＲ１／２アゴニスト、ＴＬＲ２アゴニスト、ＴＬＲ３アゴニスト（例えば、ＰｏｌｙＴＣ）、ＴＬＲ４アゴニスト（例えば、Ｓ型リポ多糖、パクリタキセル、リピドＡ、およびモノホスホリルリピドＡ）、ＴＬＲ５アゴニスト（例えば、フラジェリン）、ＴＬＲ６／２アゴニスト（例えば、ＭＡＬＰ－２）、ＴＬＲ７アゴニスト、ＴＬＲ７／８アゴニスト（例えば、ガルジキモド、イミキモド、ロキソリビン、およびレシキモド（Ｒ８４８））、ＴＬＲ７／９アゴニスト（例えば、ヒドロキシクロロキンスルフェート）、ＴＬＲ８アゴニスト（例えば、モトリモド（ＶＴＸ－２３３７））、ＴＬＲ９アゴニスト（例えば、ＣｐＧ－ＯＤＮ）、およびＴＬＲ１１アゴニスト（例えば、プロフィリン）を含むがこれらに限定されない。

【０２０８】
　コンジュゲート内の治療用部分として使用されうる、ＴＬＲアゴニストの例は、Ｓ－２７６０９、ＣＬ３０７、ＵＣ－ＩＶ１５０、イミキモド、ガルジキモド、レシキモド、モトリモド、ＶＴＳ－１４６３ＧＳ－９６２０、ＧＳＫ２２４５０３５、ＴＭＸ－１０１、ＴＭＸ－２０１、ＴＭＸ－２０２、イサトリビン、ＡＺＤ８８４８、ＭＥＤＩ９１９７、３Ｍ－０５１、３Ｍ－８５２、３Ｍ－０５２、３Ｍ－８５４Ａ、Ｓ－３４２４０、ＫＵ３４Ｂ、またはＣＬ６６３、または、適宜、連結の方向付けおよび基質認識配列からの放出に適切な官能基を伴うか、もしくは自壊性リンカーへの連結を介する、その類似体を含む。

【０２０９】
　ＴＬＲのアゴニスト、特に、ＴＬＲ７アゴニスト、ＴＬＲ８アゴニスト、およびＴＬＲ７／８アゴニストの例は、イサトリビン、ロキソリビン、ブロピリミン、イミキモド、レシキモド、ガルジキモド、ＣＬ０９７、３Ｍ－００２、Ｒ８４８、ＳＭ３６０３２０、ＣＬ２６４、３Ｍ－００３、ＩＭＤＱ、ＰＦ－０４８７８６９１、モトリモド（ＶＴＸ－２３３７）、およびＧＳＫ２２４５０３５を含む。前出のＴＬＲアゴニストの化学構造について、例えば、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号を参照されたい。

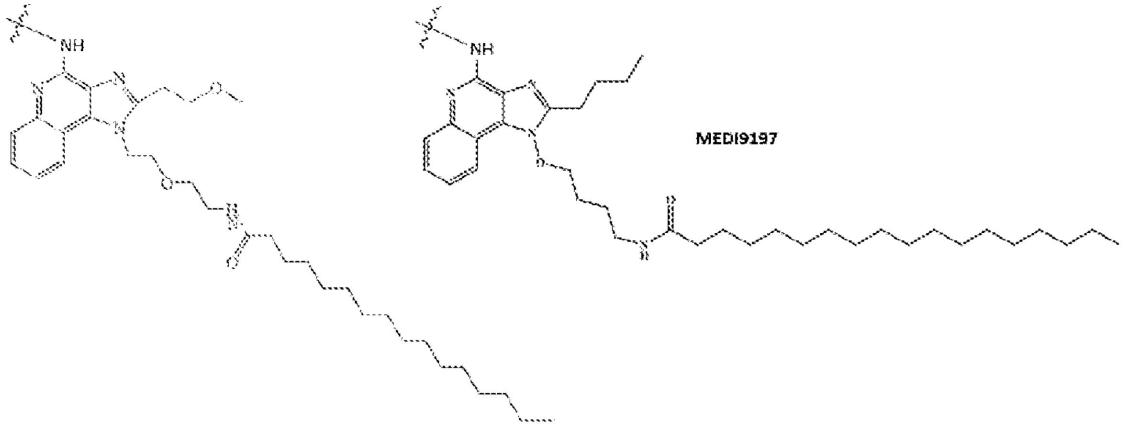
【０２１０】
　一部の実施形態において、治療用部分は、一般式：

【化１７】



［式中、
　Ｘは、ＣＨ$_2$、Ｏ、Ｓ、またはＮ、例えば、ＣＨ$_2$、Ｏ、またはＮであり；
　ｎは、０（Ｎから、Ｏへの、直接的結合）、または１～５、例えば、１もしくは２の整数であり；ｚは、１～５の整数であり；
　ｍは、１～２０、例えば、１～１６の整数であり；
　ｐは、０（環から、Ｘへの、直接的結合）、または１～５、例えば、１もしくは２の整数であり；ｑは、１～５、例えば、１または２の整数である］で表される、ＴＲＬ７／８アゴニストである。例えば、ＴＲＬアゴニストは、

【化１８】



のうちの１つなどのＴＲＬ７／８アゴニストである。

【０２１１】

国際公開第ＷＯ２００８／１３５７９１号および同第ＷＯ２０１６／１４１０９２号はまた、ＴＬＲ７を介して作用する、免疫モジュレーティング特性を有する、イミダゾキノリン化合物のクラスについても記載している。

【０２１２】

コンジュゲートの治療用部分としての使用のためにたやすく適合させられる、ＴＲＬアゴニストの他の例については、例えば、Yoo et al. “Structure-activity relationships in Toll-like receptor 7 agonistic lH-imidazo[4,5- cjpyridines” Org. Biomol. Chem., 2013, 11, 6526-6545；Fletcher et al. “Masked oral prodrugs of Toll-like receptor 7 agonists: a new approach for the treatment of infectious disease”, 2006 Current opinion in investigational drugs (London, England). 7. 702-708；およびPryde et al. “The discovery of a novel prototype small molecule TLR7 agonist for the treatment of hepatitis C virus infection” Med. Chem. Commun., 2011, 2, 185-189において開示されている。

【０２１３】

本開示に従う使用のための、他のＴＬＲアゴニストの非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号において記載されている。

【０２１４】

当業者により、特に、自壊性リンカーの使用に関して、ＴＲＬアゴニストが、例えば、遊離ヒドロキシル基を介するなど、上記において示された、アミン以外の官能基を介して、リンカーへとカップリングされうることもまた理解されるであろう。

【０２１５】

ＲＩＧ－Ｉ（ｒｅｔｉｎｏｉｃ ａｃｉｄ－ｉｎｄｕｃｉｂｌｅ ｇｅｎｅ Ｉ）アゴニスト

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＲＩＧ－１アゴニストである。ＲＩＧ－Ｉ（ｒｅｔｉｎｏｉｃ ａｃｉｄ－ｉｎｄｕｃｉｂｌｅ ｇｅｎｅ Ｉ）アゴニストは、自然免疫応答を誘導するのに使用される。ＲＩＧ－Ｉは、１型インターフェロン（ＩＦＮ１）応答の一因となる。活性化すると、ＲＩＧ－Ｉは、ピロトーシス、プログラム細胞死の免疫原性機構のほか、炎症促進性サイトカインの誘導をもたらす、そのＲＩＧ－Ｉインフラマソームを活性化させる（Elion et al., Oncotarget. 2018; 9(48): 29007-29017）。ピロトーシスは、低張性の細胞膨張、およびＤＡＭＰ（ｄａｍａｇｅ ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｐａｔｔｅｒｎ）を含む、細胞内内容物の漏出をもたらす、細胞膜内の小孔の形成を結果としてもたらす。ＤＡＭＰおよびサイトカインは、局所的な急性炎症性免疫応答をもたらす。

【０２１６】

ＲＩＧ－Ｉアゴニストの例は、ＫＩＮ７００、ＫＩＮ１１４８、ＫＩＮ６００、ＫＩＮ５００、ＫＩＮ１００、ＫＩＮ１０１、ＫＩＮ４００、ＫＩＮ２０００、ＲＧＴ１００、およびＳＤ－９２００を含む。

【０２１７】

本開示に従う使用のための、他のＲＩＧ－Ｉアゴニストの非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号において記載されている。

【０２１８】

ｉＤＡＳＨ阻害剤

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、インビトロ（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ）および／またはインビボにおいて、ＤＰＰ８およびＤＰＰ９の酵素活性を阻害し、マクロファージのピロトーシスを誘導する、免疫ＤＡＳＨ阻害剤である。ｉＤＡＳＨ阻害剤は、プロリン後切断型酵素である、ＤＰＰ４、ＤＰＰ８、およびＤＰＰ９の阻害剤であり、ＤＡＳＨ酵素を伴う、免疫チェックポイントに対する、チェックポイント阻害剤として作用する。細胞内標的および細胞外標的の両方を含む、これらの標的酵素の阻害は、Ｔ細胞の細胞傷害作用（がん細胞の死を結果としてもたらす、がん細胞抗原の放出）の増大、樹状細胞のトラフィッキング（がん抗原の提示）の増大、免疫刺激性サイトカイン（ＡＰＣおよびＴ細胞のプライミングおよび活性化）の増大、腫瘍内ＣＸＣＬ１０の半減期（Ｔ細胞の、腫瘍へのトラフィッキング）の増大、Ｔ細胞の、腫瘍への浸潤、Ｔ細胞による、がん細胞の認識、および骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）による、ＭＤＳＣ免疫抑制活性の枯渇化および不全化を結果としてもたらす。ｉＤＡＳＨ阻害剤の非限定例については、その全内容が、参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１９／２３６５６７において記載されている。

【０２１９】

一部の実施形態において、ｉＤＡＳＨ阻害剤は、ＤＡＳＨ酵素であるＤＰＰ８およびＤＰＰ９（かつまた、一部の実施形態において、ＤＰＰ－４および／またはＦＡＰであってもよい）のボロン酸阻害剤である。

【０２２０】

一部の実施形態において、ｉＤＡＳＨ阻害剤は、ＤＡＳＨ酵素であるＤＰＰ８およびＤＰＰ９（かつまた、一部の実施形態において、ＤＰＰ－４および／またはＦＡＰであってもよい）のジペプチドボロン酸阻害剤である。一部の実施形態において、ジペプチドボロン酸である、ｉＤＡＳＨ阻害剤は、Ｐ１位において、プロリンまたはプロリン類似体を有する。対象のｉＤＡＳＨ阻害剤は、免疫媒介機構による腫瘍退縮を媒介しうる。対象のｉＤＡＳＨ阻害剤は、マクロファージのピロトーシスを誘導し、直接的に、または間接的に、免疫原性モジュレーションなどの活性をもたらし、抗原特異性ＣＴＬによる殺滅へと、腫瘍細胞を感作し、免疫細胞のサブセットおよび機能を変更し、樹状細胞のトラフィッキングのモジュレーションを介して、Ｔ細胞プライミングを加速化させ、全般的なＴ細胞媒介抗腫瘍活性を惹起する。

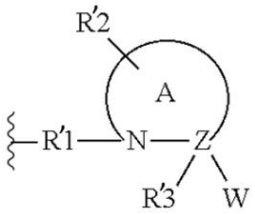
【０２２１】

ｉＤＡＳＨ阻害剤の例は、サキサグリプチン、シタグリプチン、リナグリプチン、アログリプチン、Ｖａｌｉｎｅ－ｂｏｒｏＰｒｏｌｉｎｅ（ＰＴ１００）、ビルダグリプチン、ゲミグリプチン、アナグリプチン、テネリグリプチン、トレラグリプチン、オマリグリプチン、エボグリプチン、ゴソグリプチン、デュトグリプチンを含む。

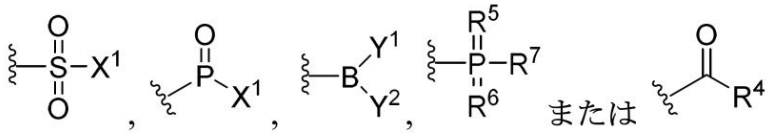
【０２２２】

一部の実施形態において、本開示の方法における使用のための、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、一般式：

【化１９】



［式中、
Ａは、ＮおよびＣα炭素を含む、４～８員複素環を表し；
Ｚは、ＣまたはＮを表し；
Ｗは、－ＣＮ、－ＣＨ＝ＮＲ５、
【化２０】



を表し；
Ｒ’１は、そのアミン末端が、Ｌ１と共有結合を形成するか、または、Ｌ１が、結合である場合、基質認識配列と共有結合を形成する、Ｃ末端連結アミノ酸残基もしくはＣ末端連結アミノ酸類似体、またはＣ末端連結ペプチドもしくはＣ末端連結ペプチド類似体を表し；
Ｒ’２は、非存在であるか、または環であるＡに対する、１つまたは複数の置換であって、その各々が、独立に、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＯＨ、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＳＨ、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７でありうる置換を表し；
Ｘが、Ｎである場合、Ｒ’３は、水素を表し、Ｘが、Ｃである場合、Ｒ’３は、水素またはハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＯＨ、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＳＨ、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７を表し；
Ｒ５は、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、－Ｃ（Ｘ１）（Ｘ２）Ｘ３、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_n$－ＯＨ、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｏ－アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｏ－アルケニル、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｏ－アルキニル、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_n$－ＳＨ、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｓ－アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｓ－アルケニル、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｓ－アルキニル、－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｓ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）$_n$Ｈ２、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ’７を表し；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＯＨ、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ

Ｈ、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｒ７を表し；

Ｒ７は、出現ごとに、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換複素環もしくは非置換複素環を表し；

Ｒ’７は、出現ごとに、水素、あるいは置換アルキルもしくは非置換アルキル、置換アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換複素環もしくは非置換複素環を表し；

Ｙ１およびＹ２は、独立に、または一体に、ＯＨ、またはヒドロキシル基へと加水分解されることが可能な基であって、Ｙ１と、Ｙ２とが、環構造（ピナコールなど）内に、５～８個の原子を有する環を介して接続される環状誘導体を含む基であることが可能であり；

Ｒ５０は、ＯまたはＳを表し；

Ｒ５１は、Ｎ$_3$、ＳＨ$_2$、ＮＨ$_2$、ＮＯ$_2$、またはＯ－Ｒ’７を表し；

Ｒ５２は、水素、低級アルキル、アミン、ＯＲ’７、もしくは薬学的に許容される塩を表すか、またはそれらが接合されたリン原子と一体とされた、Ｒ５１およびＲ５２は、環構造内に、５～８個の原子を有する複素環を補完し；

Ｘ１は、ハロゲンを表し；

Ｘ２およびＸ３は、各々、水素またはハロゲンを表し；

ｍは、ゼロ、または１～８の範囲内の整数であり；

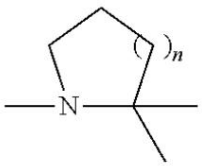
ｎは、１～８の範囲内の整数である］

により表される。

【０２２３】

好ましい実施形態において、環であるＡは、例えば、式：

【化２１】

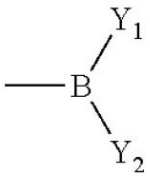


により表される、５、６、または７員環であり、より好ましくは、５または６員環（例えば、ｎは、また、３または４でもありうるが、１または２である）である。環は、さらに置換されてもよい。

【０２２４】

好ましい実施形態において、Ｗは、

【化２２】

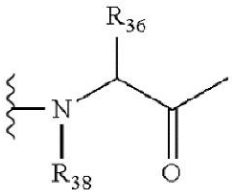


を表す。

【０２２５】

好ましい実施形態において、Ｒ’１は、

【化２３】



［式中、Ｒ３６は、小型の疎水性基、例えば、低級アルキルまたはハロゲンであり、Ｒ３８は、水素であるか、Ｒ３６と、Ｒ３７とは、一体に、上記のＡについて規定された通り、ＮおよびＣα炭素を含む、４～７員複素環を形成する］
である。

【０２２６】

好ましい実施形態において、Ｒ’２は、非存在であるか、または低級アルキルまたはハロゲンなどの小型の疎水性基を表す。

【０２２７】

好ましい実施形態において、Ｒ’３は、水素、または低級アルキルまたはハロゲンなどの小型の疎水性基である。

【０２２８】

好ましい実施形態において、Ｒ’５は、水素、またはハロゲン化低級アルキルである。

【０２２９】

好ましい実施形態において、Ｘ１は、フッ素であり、Ｘ２およびＸ３は、ハロゲンである場合、フッ素である。

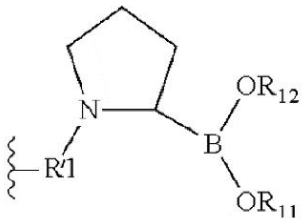
【０２３０】

前述の化合物のうちのいずれかへと、加水分解的に転換されうる、任意の化合物であって、ボロン酸エステルおよびハロゲン化物、ならびにアセタール、ヘミアセタール、ケタール、およびヘミケタール、ならびに環状ジペプチド類似体を含む、カルボニル同等物を含む化合物もまた、同等物と見なされる。

【０２３１】

一部の好ましい実施形態において、対象の方法は、免疫ＤＡＳＨ阻害剤として、アミノ酸のボロン酸類似体を活用する。例えば、本開示は、対象の方法における、ボロプロリル誘導体の使用を想定する。本開示の、例示的なボロン酸誘導阻害剤は、一般式：

【化２４】



［式中、

Ｒ’１は、そのアミン末端が、Ｌ１と共有結合を形成するか、または、Ｌ１が、結合である場合、基質認識配列と共有結合を形成する、Ｃ末端連結アミノ酸残基もしくはＣ末端連結アミノ酸類似体、またはＣ末端連結ペプチドもしくはＣ末端連結ペプチド類似体を表し；

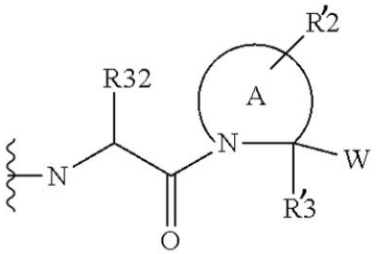
Ｒ１１およびＲ１２は、各々、独立に、水素、アルキル、もしくは薬学的に許容される塩を表すか、またはそれらが接合されたＯ－Ｂ－Ｏ原子と一体とされた、Ｒ１１およびＲ１２は、環構造内に、５～８個の原子を有する複素環を補完する］
により表される。

【０２３２】

一部の実施形態において、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、特異性位置であるＰ１における、プ

ロリル基またはその類似体と、特異性位置であるＰ２における、非極性（であり、かつ、好ましくは、疎水性である）アミノ酸、例えば、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、もしくはメチオニン、またはこれらの類似体などの非極性アミノ酸とを含むペプチドまたはペプチド模倣体である。他の実施形態において、Ｐ２位は、アルギニン、リシン、アスパラギン酸、またはグルタミン酸などの帯電側鎖を伴うアミノ酸が占める。例えば、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、ジペプチド配列である、Ａｌａ－ＰｒｏもしくはＶａｌ－Ｐｒｏ、またはこれらの同等物を含むことが可能であり、一般式：

【化２５】

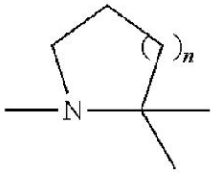


で表されうる。

【０２３３】

好ましい実施形態において、環であるＡは、例えば、式：

【化２６】



により表される、５、６、または７員環である。

【０２３４】

一部の好ましい実施形態において、Ｒ３２は、小型の疎水性基、例えば、低級アルキルまたはハロゲンである。

【０２３５】

一部の好ましい実施形態において、Ｒ３２は、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＮＨ－Ｃ（＝Ｎ）（ＮＨ$_2$）、－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＮＨ２、または－（ＣＨ$_2$）$_m$－ＣＯＯＨ［式中、ｍは、１～６、好ましくは、１～３である］などの、－低級アルキルグアニジン、－低級アルキルアミン、低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨである。

【０２３６】

好ましい実施形態において、Ｒ’２は、非存在であるか、または低級アルキルまたはハロゲンなどの小型の疎水性基を表す。

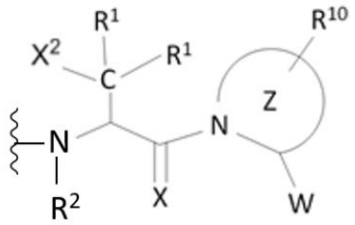
【０２３７】

好ましい実施形態において、Ｒ’３は、水素、または低級アルキルまたはハロゲンなどの小型の疎水性基である。

【０２３８】

本開示の別の態様は、式ＩＩＩ：

【化２７】



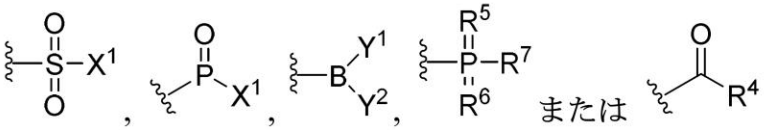
(III)

［式中、

環であるＺは、ＮおよびＣα炭素を含む、４～１０員複素環を表し；

Ｗは、－ＣＮ、－ＣＨ＝ＮＲ４、標的の活性部位残基と反応する官能基、または

【化２８】



を表し；

Ｘは、ＯまたはＳであり；

Ｘ２は、Ｈ、ハロゲン、または低級アルキルであり；

Ｙ１およびＹ２は、独立に、ＯＨであるか、もしくはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な基を表すか、またはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な５～８員環を形成し；

Ｒ１は、独立に、出現ごとに、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル、チオカルボニル、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、－CF_3、－$(CH_2)_m$－Ｒ３、－$(CH_2)_m$ＯＨ、－$(CH_2)_m$－Ｏ－低級アルキル、－$(CH_2)_m$－Ｏ－低級アルケニル、－$(CH_2)_n$－Ｏ－$(CH_2)_m$－Ｒ３、－$(CH_2)_m$－ＳＨ、－$(CH_2)_m$－Ｓ－低級アルキル、－$(CH_2)_m$－Ｓ－低級アルケニル、または－$(CH_2)_n$－Ｓ－$(CH_2)_m$－Ｒ３を表し；

Ｒ２は、出現ごとに、水素、低級アルキル、低級アルキニル、－$(CH_2)_m$－Ｒ３、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルケニル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキニル、または－Ｃ（＝Ｏ）－$(CH_2)_m$－Ｒ３を表し；

Ｒ３は、出現ごとに、水素、あるいは置換低級アルキルもしくは非置換低級アルキル、置換低級アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換複素環もしくは非置換複素環を表し；

Ｒ４は、水素、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、－$(CH_2)_m$－Ｒ３、－$(CH_2)_n$－ＯＨ、－$(CH_2)_n$－Ｏ－低級アルキル、－$(CH_2)_n$－Ｏ－アルケニル、－$(CH_2)_n$－Ｏ－アルキニル、－$(CH_2)_n$－Ｏ－$(CH_2)_m$－Ｒ７、－$(CH_2)_n$－ＳＨ、－$(CH_2)_n$－Ｓ－低級アルキル、－$(CH_2)_n$－Ｓ－低級アルケニル、－$(CH_2)_n$－Ｓ－低級アルキニル、－$(CH_2)_n$－Ｓ－$(CH_2)_m$－Ｒ３、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）NH_2、または－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ８を表し；

Ｒ５は、ＯまたはＳを表し；

Ｒ６は、Ｎ３、ＳＨ、NH_2、NO_2、またはＯＲ８を表し；

Ｒ７は、水素、低級アルキル、アミン、ＯＲ８、もしくは薬学的に許容される塩を表すか、またはそれらが接合されたリン原子と一体とされた、Ｒ５およびＲ６は、環構造内に、５～８個の原子を有する複素環を補完し；

Ｒ８は、水素、置換アルキルもしくは非置換アルキル、置換アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換ヘテロシクリルもしくは非置換ヘテロシクリルを表し；

Ｒ１０は、非存在であるか、またはそれらが付加される環であるＺに対する、１つ～３つの置換であって、それらの各々が、独立に、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、イソシアノ、チオシアナト、イソチオシアナト、シアナト、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニル；－（CH_2）$_m$－Ｒ７、－（CH_2）$_m$－ＯＨ、－（CH_2）$_m$－Ｏ－低級アルキル、－（CH_2）$_m$－Ｏ－低級アルケニル、－（CH_2）$_n$－Ｏ－（CH_2）$_m$－Ｒ３、－（CH_2）$_m$－ＳＨ、－（CH_2）$_m$－Ｓ－低級アルキル、－（CH_2）$_m$－Ｓ－低級アルケニル、－（CH_2）$_n$－Ｓ－（CH_2）$_m$－Ｒ３でありうる置換を表し；

ｎは、０、１、２、または３であり；

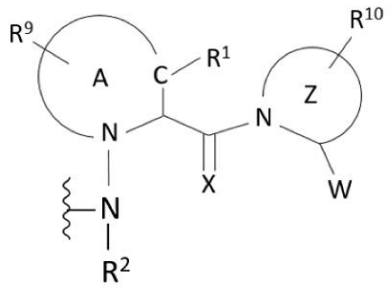
ｍは、０、１、２、または３である］

により表される、免疫ＤＡＳＨ阻害剤、またはその薬学的塩に関する。

【０２３９】

本開示の別の態様は、式ＩＶ：

【化２９】



(IV)

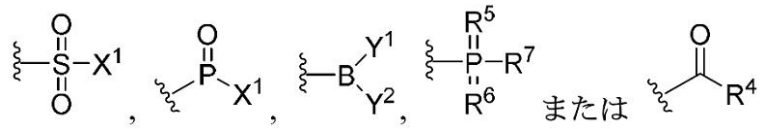
［式中、

環であるＡは、Ｎを含む、３～１０員環構造を表し；

環であるＺは、ＮおよびＣα炭素を含む、４～１０員複素環を表し；

Ｗは、－ＣＮ、－ＣＨ＝ＮＲ４、標的の活性部位残基と反応する官能基、または

【化３０】



を表し；

Ｘは、ＯまたはＳであり；

Ｘ１は、ハロゲンを表し；

Ｙ１およびＹ２は、独立に、ＯＨであるか、もしくはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な基を表すか、またはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な５～８員環を形成し；

Ｒ１は、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル、チオカルボニル、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、－ＣＦ３、－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３、－（ＣＨ２）ｍＯ

Ｈ、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）ｎ－Ｏ－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３、－（ＣＨ２）ｍ－ＳＨ、－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－低級アルケニル、または－（ＣＨ２）ｎ－Ｓ－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３を表し；

Ｒ２は、出現ごとに、水素、低級アルキル、低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_{m}$－Ｒ３、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルケニル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキニル、または－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ２）$_{m}$－Ｒ３を表し；

Ｒ３は、出現ごとに、水素、あるいは置換低級アルキルもしくは非置換低級アルキル、置換低級アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換複素環もしくは非置換複素環を表し；

Ｒ４は、水素、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_{m}$－Ｒ３、－（ＣＨ２）$_{n}$－ＯＨ、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｏ－アルケニル、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｏ－アルキニル、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｏ－（ＣＨ２）$_{m}$－Ｒ７、－（ＣＨ２）$_{n}$－ＳＨ、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｓ－低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_{n}$－Ｓ－（ＣＨ２）$_{m}$－Ｒ３、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、または－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ８を表し；

Ｒ５は、ＯまたはＳを表し；

Ｒ６は、Ｎ３、ＳＨ、ＮＨ２、ＮＯ２、またはＯＲ８を表し；

Ｒ７は、水素、低級アルキル、アミン、ＯＲ８、もしくは薬学的に許容される塩を表すか、またはそれらが接合されたリン原子と一体とされた、Ｒ５およびＲ６は、環構造内に、５～８個の原子を有する複素環を補完し；

Ｒ８は、水素、置換アルキルもしくは非置換アルキル、置換アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換ヘテロシクリルもしくは非置換ヘテロシクリルを表し；

Ｒ９およびＲ１０は、各々、独立に、非存在であるか、またはそれらが付加される環であるＡまたは環であるＺに対する、１つ～３つの置換であって、それらの各々が、独立に、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、イソシアノ、チオシアナト、イソチオシアナト、シアナト、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ７、－（ＣＨ２）ｍ－ＯＨ、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）ｎ－Ｏ－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３、－（ＣＨ２）ｍ－ＳＨ、－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）ｎ－Ｓ－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３でありうる置換を表し；

ｎは、０、１、２、または３であり；

ｍは、０、１、２、または３である］

により表される、免疫ＤＡＳＨ阻害剤、またはその薬学的塩に関する。

【０２４０】

一部の好ましい実施形態において、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、ＤＡＳＨ酵素であるＤＰＰ８およびＤＰＰ９（かつまた、ＤＰＰ－４および／またはＦＡＰであってもよい）のボロン酸阻害剤である。

【０２４１】

一部の好ましい実施形態において、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、ＤＡＳＨ酵素であるＤＰＰ８およびＤＰＰ９（かつまた、ＤＰＰ－４および／またはＦＡＰであってもよい）のジペプチドボロン酸阻害剤である。一部の好ましい実施形態において、ジペプチドボロン酸で

ある、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、Ｐ１位において、プロリンまたはプロリン類似体を有する。対象の免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、免疫媒介機構による腫瘍退縮を媒介しうる。対象の免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、マクロファージのピロトーシスを誘導し、直接的に、または間接的に、免疫原性モジュレーションなどの活性をもたらし、抗原特異性ＣＴＬによる殺滅へと、腫瘍細胞を感作し、免疫細胞のサブセットおよび機能を変更し、樹状細胞のトラフィッキングのモジュレーションを介して、Ｔ細胞プライミングを加速化させ、全般的なＴ細胞媒介抗腫瘍活性を惹起する。

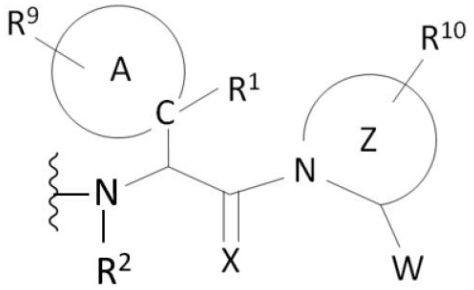
【０２４２】

一部の実施形態において、対象の、免疫ＤＡＳＨ阻害剤と、ＰＤ－１阻害剤との組合せは、１つまたは複数の他の化学療法剤、免疫腫瘍治療剤、または放射線を伴う治療の一部として投与されうる。組合せはまた、腫瘍ワクチン、養子細胞療法、遺伝子治療、腫瘍溶解性ウイルス療法などを含む治療の一部としても使用されうる。

【０２４３】

一部の実施形態において、本方法の免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式Ｉ：

【化３１】



(I)

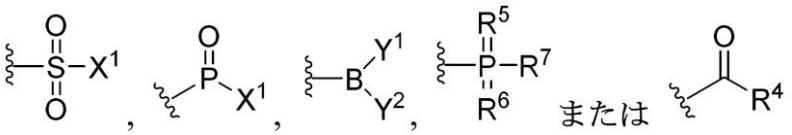
［式中、

環であるＡは、３～１０員環構造を表し；

環であるＺは、ＮおよびＣα炭素を含む、４～１０員複素環を表し；

Ｗは、－ＣＮ、－ＣＨ＝ＮＲ４、標的の活性部位残基と反応する官能基、または

【化３２】



を表し；

Ｘは、ＯまたはＳであり；

Ｘ１は、ハロゲンを表し；

Ｙ１およびＹ２は、独立に、ＯＨであるか、もしくはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な基を表すか、またはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な５～８員環を形成し；

Ｒ１は、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル、チオカルボニル、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、－ＣＦ３、－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３、－（ＣＨ２）ｍＯＨ、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）ｎ－Ｏ－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３、－（ＣＨ２）ｍ－ＳＨ、－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－低級アルケニル、または－（ＣＨ２）ｎ－Ｓ－（ＣＨ２）ｍ－Ｒ３を表し；

Ｒ２は、出現ごとに、水素、低級アルキル、低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルケニル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキニル、また

は－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３を表し；

Ｒ３は、出現ごとに、水素、あるいは置換低級アルキルもしくは非置換低級アルキル、置換低級アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換複素環もしくは非置換複素環を表し；

Ｒ４は、水素、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－（ＣＨ２）$_n$－ＯＨ、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－アルキニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ２）$_n$－ＳＨ、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、または－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ８を表し；

Ｒ５は、ＯまたはＳを表し；

Ｒ６は、Ｎ３、ＳＨ、ＮＨ２、ＮＯ２、またはＯＲ８を表し；

Ｒ７は、水素、低級アルキル、アミン、ＯＲ８、もしくは薬学的に許容される塩を表すか、またはそれらが接合されたリン原子と一体とされた、Ｒ５およびＲ６は、環構造内に、５～８個の原子を有する複素環を補完し；

Ｒ８は、水素、置換アルキルもしくは非置換アルキル、置換アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換ヘテロシクリルもしくは非置換ヘテロシクリルを表し；

Ｒ９およびＲ１０は、各々、独立に、非存在であるか、またはそれらが付加される環であるＡまたは環であるＺに対する、１つ、２つ、もしくは３つの置換であって、それらの各々が、独立に、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、イソシアノ、チオシアナト、イソチオシアナト、シアナト、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニル；－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ２）$_m$－ＯＨ、－（ＣＨ２）$_m$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－（ＣＨ２）$_m$－ＳＨ、－（ＣＨ２）$_m$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３でありうる置換を表し；

ｎは、０、１、２、または３であり；

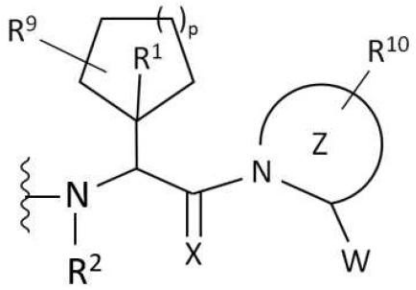
ｍは、０、１、２、または３である］

で表されるか、またはその薬学的塩である。

【０２４４】

一部の実施形態において、式Ｉの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式Ｉａ：

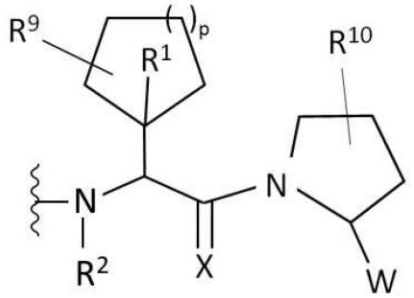
【化３３】



(Ia)

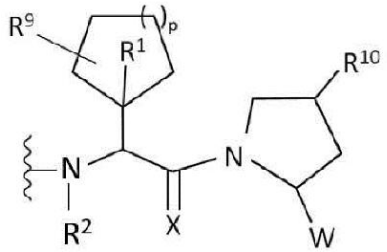
［式中、Ｘ、Ｗ、Ｚ、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式Ｉについて、上記において

規定された通りであり、ｐは、１、２、または３である］
で表されるか、またはその薬学的塩である。
【０２４５】
　式Ｉａについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ１は、低級アルキルであり；Ｒ９は、非存在であるか、または、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。
【０２４６】
　一部の実施形態において、式Ｉの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式Ｉｂ：
【化３４】



(Ib)

［式中、Ｘ、Ｗ、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式Ｉについて、上記において規定された通りであり、ｐは、１、２、または３である］
で表されるか、またはその薬学的塩である。
【０２４７】
　式Ｉｂについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ１は、低級アルキルであり；Ｒ９は、非存在であるか、または、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。
【０２４８】
　一部の実施形態において、式Ｉの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式Ｉｃ：
【化３５】



(Ic)

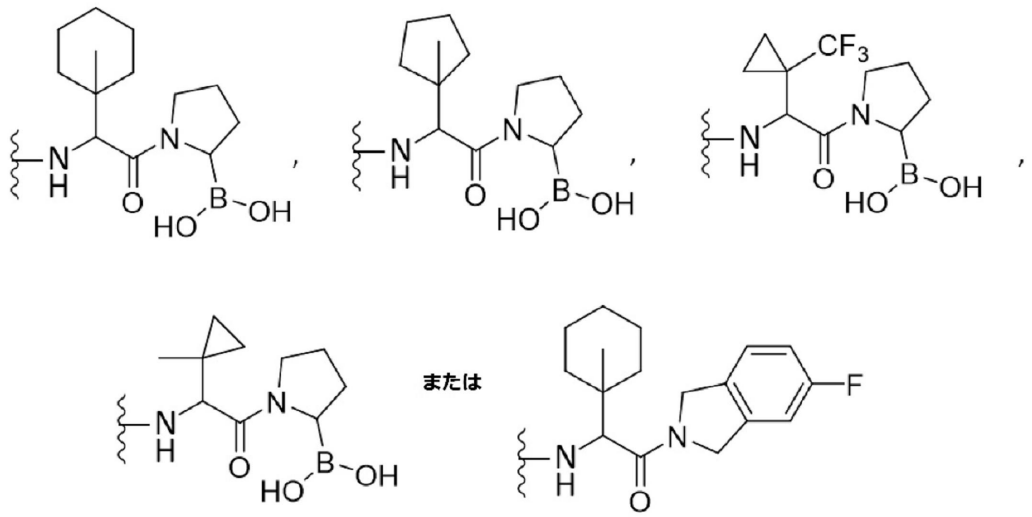
［式中、Ｘ、Ｗ、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式Ｉについて、上記において規定された通りであり、ｐは、１、２、または３である］
で表されるか、またはその薬学的塩である。
【０２４９】
　式Ｉｃについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ１は、低級アルキルであり；

Ｒ９は、非存在であるか、または、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。

【０２５０】

一部の実施形態において、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、

【化３６】

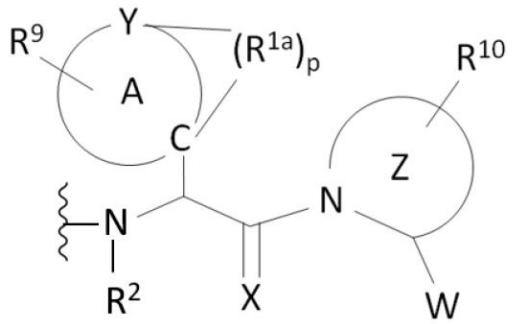


により表される。

【０２５１】

本開示の別の態様は、式ＩＩ：

【化３７】



(II)

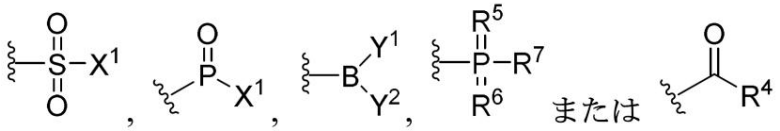
［式中、

環であるＡは、Ｒ１ａの各生起と共に、７～１２員多環式環構造を表し；

環であるＺは、ＮおよびＣα炭素を含む、４～１０員複素環を表し；

Ｗは、－ＣＮ、－ＣＨ＝ＮＲ４、標的の活性部位残基と反応する官能基、または

【化３８】

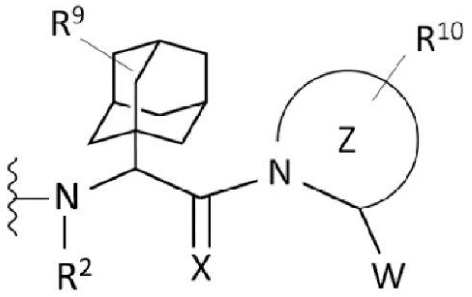


を表し；

Ｘは、ＯまたはＳであり；

Ｘ１は、ハロゲンを表し；
Ｙは、ＣまたはＮであり；
Ｙ１およびＹ２は、独立に、ＯＨであるか、もしくはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な基を表すか、またはそれらが接合されたホウ素原子と一体に、ボロン酸へと加水分解可能な５～８員環を形成し；
Ｒ１ａは、低級アルキル、－（ＣＨ２）ｍ－、－（ＣＨ２）ｍ－Ｏ－（ＣＨ２）ｍ－；－（ＣＨ２）ｍ－Ｎ－（ＣＨ２）ｍ－；または－（ＣＨ２）ｍ－Ｓ－（ＣＨ２）ｍ－を表し；
Ｒ２は、出現ごとに、水素、低級アルキル、低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルケニル、－Ｃ（＝Ｏ）－アルキニル、または－Ｃ（＝Ｏ）－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３を表し；
Ｒ３は、出現ごとに、水素、あるいは置換低級アルキルもしくは非置換低級アルキル、置換低級アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換複素環もしくは非置換複素環を表し；
Ｒ４は、水素、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－（ＣＨ２）$_n$－ＯＨ、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－アルキニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ２）$_n$－ＳＨ、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－低級アルキニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、または－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）ＯＲ８を表し；
Ｒ５は、ＯまたはＳを表し；
Ｒ６は、Ｎ３、ＳＨ、ＮＨ２、ＮＯ２、またはＯＲ８を表し；
Ｒ７は、水素、低級アルキル、アミン、ＯＲ８、もしくは薬学的に許容される塩を表すか、またはそれらが接合されたリン原子と一体とされた、Ｒ５およびＲ６は、環構造内に、５～８個の原子を有する複素環を補完し；
Ｒ８は、水素、置換アルキルもしくは非置換アルキル、置換アルケニルもしくは非置換アルケニル、置換アリールもしくは非置換アリール、置換アラルキルもしくは非置換アラルキル、置換シクロアルキルもしくは非置換シクロアルキル、置換シクロアルケニルもしくは非置換シクロアルケニル、または置換ヘテロシクリルもしくは非置換ヘテロシクリルを表し；
Ｒ９およびＲ１０は、各々、独立に、非存在であるか、またはそれらが付加される環であるＡまたは環であるＺに対する、１つ、２つ、もしくは３つの置換であって、それらの各々が、独立に、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、イソシアノ、チオシアナト、イソチオシアナト、シアナト、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニル；－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ７、－（ＣＨ２）$_m$－ＯＨ、－（ＣＨ２）$_m$－Ｏ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｏ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｏ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３、－（ＣＨ２）$_m$－ＳＨ、－（ＣＨ２）$_m$－Ｓ－低級アルキル、－（ＣＨ２）$_m$－Ｓ－低級アルケニル、－（ＣＨ２）$_n$－Ｓ－（ＣＨ２）$_m$－Ｒ３でありうる置換を表し；
ｎは、０、１、２、または３であり；
ｍは、０、１、２、または３であり；
ｐは、１、２、または３である］
により表される、免疫ＤＡＳＨ阻害剤、またはその薬学的塩に関する。
【０２５２】
一部の実施形態において、式ＩＩの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式ＩＩａ：

【化３９】



(IIa)

［式中、Ｘ、Ｗ、Ｚ、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式ＩＩについて、上記において規定された通りである］
で表されるか、またはその薬学的塩である。

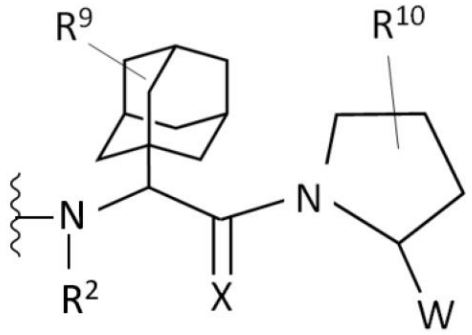
【０２５３】

式ＩＩａについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ９は、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。

【０２５４】

一部の実施形態において、式ＩＩの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式ＩＩｂ：

【化４０】



(IIb)

［式中、Ｘ、Ｗ、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式ＩＩについて、上記において規定された通りである］
で表されるか、またはその薬学的塩である。

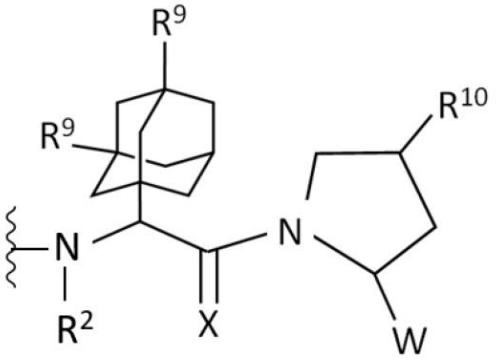
【０２５５】

式ＩＩｂについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ９は、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。

【０２５６】

一部の実施形態において、式ＩＩの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式ＩＩｃ：

【化４１】



(IIc)

［式中、Ｘ、Ｗ、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式ＩＩについて、上記において規定された通りである］
で表されるか、またはその薬学的塩である。

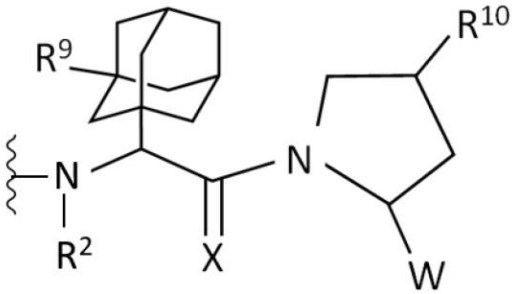
【０２５７】

式ＩＩｃについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ９は、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。

【０２５８】

一部の実施形態において、式ＩＩの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式ＩＩｄ：

【化４２】



(IId)

［式中、Ｘ、Ｗ、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式ＩＩについて、上記において規定された通りである］
で表されるか、またはその薬学的塩である。

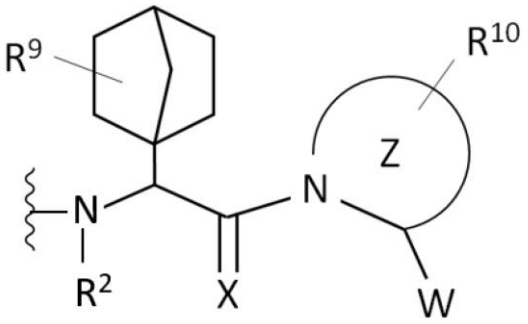
【０２５９】

式ＩＩｄについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ９は、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。

【０２６０】

一部の実施形態において、式ＩＩの免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、式ＩＩｅ：

【化４３】



(IIe)

［式中、Ｘ、Ｗ、Ｚ、Ｒ２、Ｒ９、およびＲ１０は、式ＩＩについて、上記において規定された通りである］
で表されるか、またはその薬学的塩である。

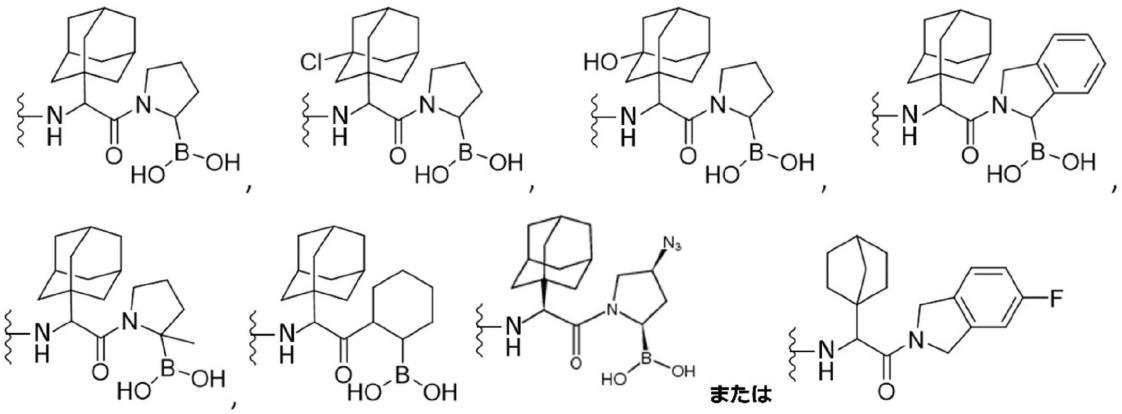
【０２６１】

式ＩＩｅについての、一部の好ましい実施形態において、Ｒ９は、独立に、出現ごとに、低級アルキル、－ＯＨ、－ＮＨ２、－Ｎ３、－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－Ｏ－低級アルキル、－Ｏ－低級アルキル－Ｃ（Ｏ）ＯＨ、－グアニジニルであり；Ｘは、Ｏであり；各Ｒ２は、水素であり；Ｒ１０は、非存在であるか、または－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＮ、または－Ｎ３の単一置換を表し；Ｚは、ピロリジン環またはピペリジン環（かつ、より好ましくは、ピロリジン環）であり；Ｗは、－Ｂ（ＯＨ）２または－ＣＮ（かつ、より好ましくは、－Ｂ（ＯＨ）２）である。

【０２６２】

一部の実施形態において、免疫ＤＡＳＨ阻害剤は、以下：

【化４４】



のうちの１つである。

【０２６３】

本開示に従う使用のための、他のｉＤＡＳＨ阻害剤の非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号において記載されている。

【０２６４】

ＳＴＩＮＧ（ｓｔｉｍｕｌａｔｏｒ ｏｆ ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ ｇｅｎｅｓ ｐｒｏｔｅｉｎ）アゴニスト

一部の実施形態において、遊離治療用部分は、ＳＴＩＮＧアゴニストである。ＳＴＩＮＧ（ｓｔｉｍｕｌａｔｏｒ ｏｆ ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ ｇｅｎｅｓ ｐｒｏｔｅｉｎ）アゴニストは、ＳＴＩＮＧに結合し、ＩκＫ関連キナーゼである、ＴＡＮＫ結合性キナーゼ１（ＴＢＫ１）によるシグナル伝達を促進する、ＳＴＩＮＧ経路を活性化させる。ＴＢＫ１シグナル伝達は、腫瘍微小環境内の免疫細胞内の、核因子カッパＢ（ＮＦ－ｋＢ）

およびインターフェロン調節的因子３（ＩＲＦ３）を活性化させる。これらの活性化は、インターフェロン（ＩＦＮ）を含む、炎症促進性サイトカインの産生をもたらす。ＩＦＮ－ベータの発現は、ＣＤ８α＋樹状細胞およびＣＤ１０３＋樹状細胞による、腫瘍関連抗原の、細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）への交差提示を促進する。これは、腫瘍細胞に対するＣＴＬ媒介免疫応答を結果としてもたらし、腫瘍細胞溶解を引き起こす。

【０２６５】

ＳＴＩＮＧアゴニストは、例えば、修飾ヌクレオ塩基、修飾リボース、または修飾リン酸連結を含む、修飾環状ジヌクレオチドなどの環状ジヌクレオチドおよびその誘導体を含む。一部の実施形態において、修飾環状ジヌクレオチドは、修飾リン酸連結、例えば、チオリン酸を含む。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、２’，５’リン酸連結または３’，５’リン酸連結を有する、環状ジヌクレオチド（例えば、修飾環状ジヌクレオチド）を含む。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、リン酸結合の近傍に、Ｒｐ立体化学またはＳｐ立体化学を有する、環状ジヌクレオチドを含む。

【０２６６】

一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、Ｒｐ、Ｒｐジチオ２’、３’ｃ－ジ－ＡＭＰ｛例えば、Ｒｐ、Ｒｐ－ジチオｃ－［Ａ（２’，５’）ｐＡ（３’，５’）ｐ］｝、またはこれらの環状ジヌクレオチド類似体である。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、米国特許公開第ＵＳ２０１５／００５６２２４号において記載されている化合物である。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、ｃ－［Ｇ（２’，５’）ｐＧ（３’，５’）ｐ］、そのジチオリボースＯ置換誘導体である。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、ｃ－［Ａ（２’，５’）ｐＡ（３’，５’）ｐ］またはそのジチオリボースＯ置換誘導体である。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、ｃ－［Ｇ（２’，５’）ｐＡ（３’，５’）ｐ］またはそのジチオリボースＯ置換誘導体である。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、２’－Ｏ－プロパルギルサイクリック－［Ａ（２’，５’）ｐＡ（３’，５’）ｐ］（２’－Ｏ－プロパルギル－ＭＬ－ＣＤＡ）である。

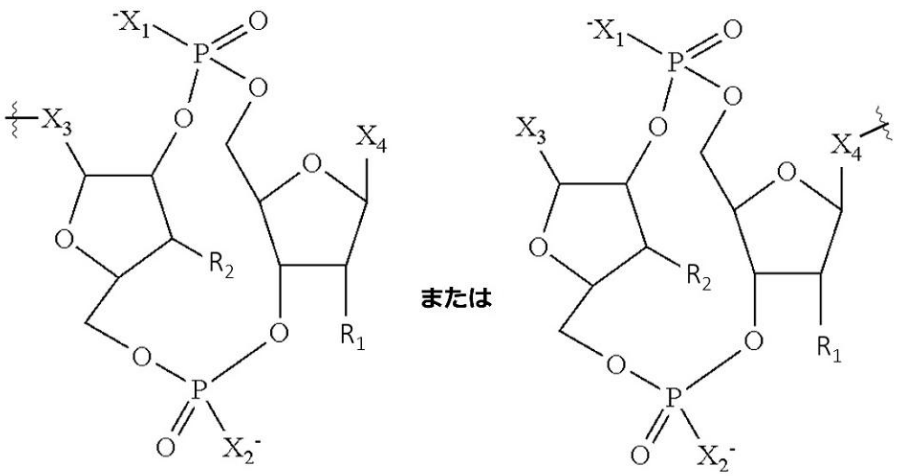
【０２６７】

ＳＴＩＮＧアゴニストはまた、フラボン酢酸（ＦＡＡ）、キサンテン酢酸（ＸＡＡ）、ジメチルキサンテノン－４－酢酸（ＤＭＸＡＡ）、およびこれらの誘導体を含む、キサンテノンおよびその誘導体も含む。ＳＴＩＮＧアゴニストの例は、ＡＤＵ－Ｓ１００（ＭＬ－ＲＲ－Ｓ２－ＣＤＡまたはＭＩＷ８１５）、ＭＫ－１４５４、バジメザン（５，６－ジメチルキサンテノン－４－酢酸（ＤＭＸＡＡ））、２’３’－ｃＧＡＭＰ、ｃ－ジ－ＧＭＰ、３’３’－ｃＧＡＭＰ、およびＭＬ－ＲＲ－ＣＤＡを含む。

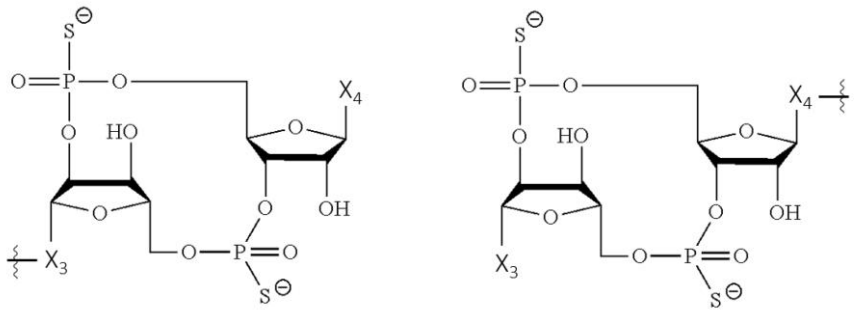
【０２６８】

ＳＴＩＮＧアゴニストの非限定例は、一般式：

【化４５】

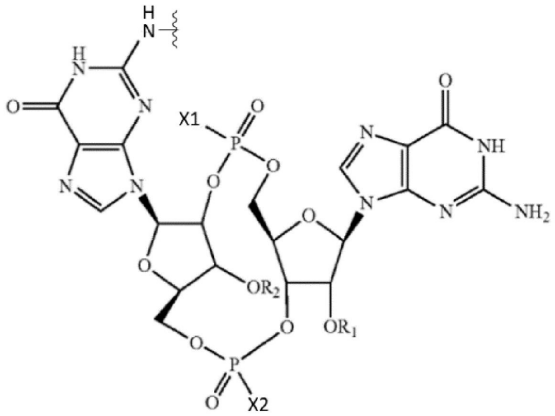


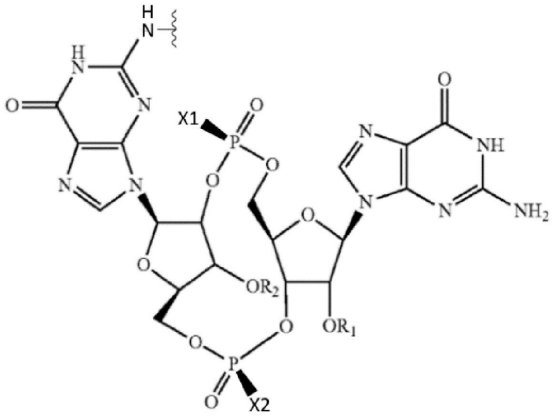
［式中、
　X_1およびX_2は、独立に、ＯまたはＳであり、好ましくは、同じ（Ｏ、ＯまたはＳ、Ｓ）であり；
　X_3およびX_4は、独立に、グアニンもしくはグアニン類似体などのプリン、またはピリミジン（ｐｙｍｒｉｄｉｎｅ）であり、この場合、波線は、Ｌ１への共有結合的接合部位を指し示すか、またはＬ１は、基質認識配列への結合であり；
　R_1およびR_2は、独立に、Ｈ、ヒドロキシル、ハロゲン（好ましくは、ＦまたはＣｌ）であるか、または炭素１～１８個およびヘテロ原子０～３個による、置換直鎖状アルキルでもよく、炭素１～９個による、置換アルケニルでもよく、炭素１～９個による、置換アルキニルでもよく、置換アリールでもよく、この場合、置換（複数可）は、存在する場合、独立に、直鎖状C_1～C_6アルキルまたは分枝鎖状C_1～C_6アルキル、ベンジル、ハロゲン、トリハロメチル、C_1～C_6アルコキシ、－NO_2、－NH_2、－ＯＨ、＝Ｏ、－ＣＯＯＲ’、または－ＯＲ’からなる群から選択されうるが、この場合、R_1およびR_2は、いずれも、Ｈではなく；
　Ｒ’は、Ｈ、または低級アルキル、－CH_2OH、もしくは－$CONH_2$である］
のうちの１つで表されるアゴニストを含む。
【０２６９】
　一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、以下の式：
【化４６】

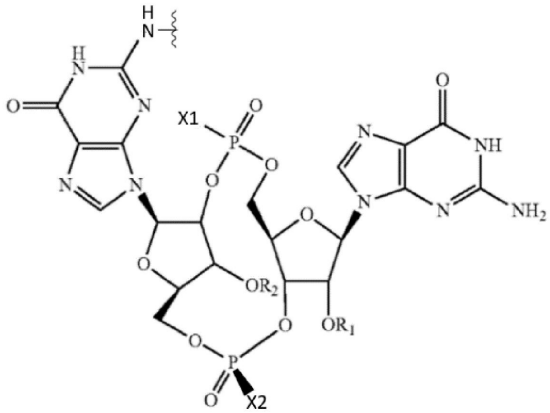


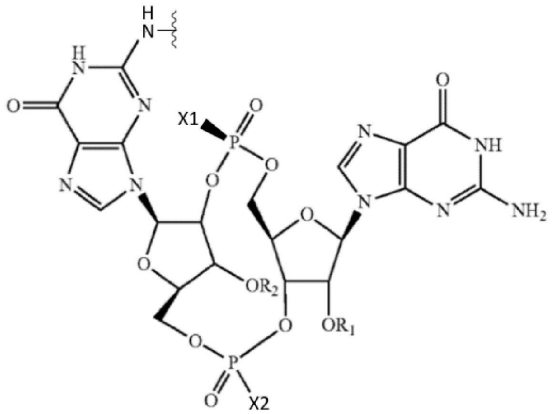
のうちの１つで表される。
【０２７０】
　上記のＳＴＩＮＧアゴニスト構造において、X_3およびX_4は、Ｘ３またはＸ４のうちの一方が、L^2が自壊性リンカーである場合に、L^2が結合を共有する官能基、またはL^2が（この）結合である場合に、ＤＭが結合を共有する官能基を含むことを条件として、各々、独立に、例えば、９－プリン、９－アデニン、９－グアニン、９－ヒポキサンチン、９－キサンチン、９－尿酸、または９－イソグアニンでありうる。
【０２７１】
　X_3およびX_4は、同一の場合もあり、異なる場合もある。
【０２７２】
　一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、主に、Ｒｐ，Ｒｐ立体異性体またはＲｐ，Ｓｐ立体異性体の形態において提供されうる。一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、主に、Ｒｐ，Ｒｐ立体異性体の形態において提供されうる。
【０２７３】
　例示的なＳＴＩＮＧアゴニストは、

【化４７】

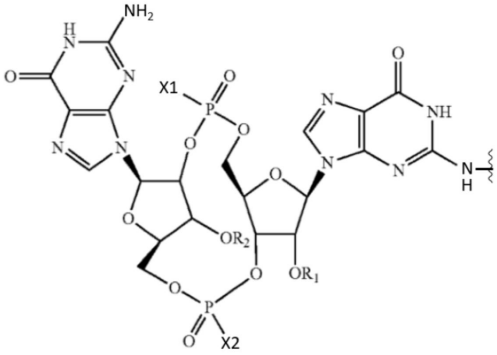


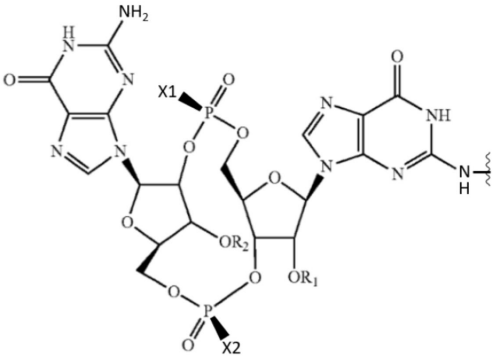


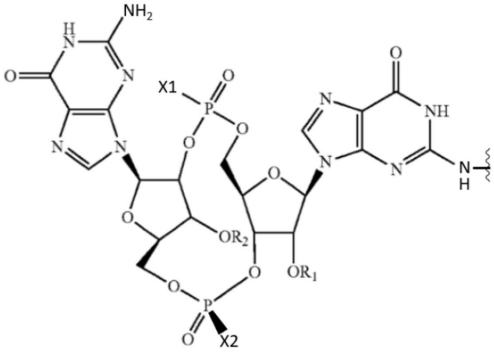


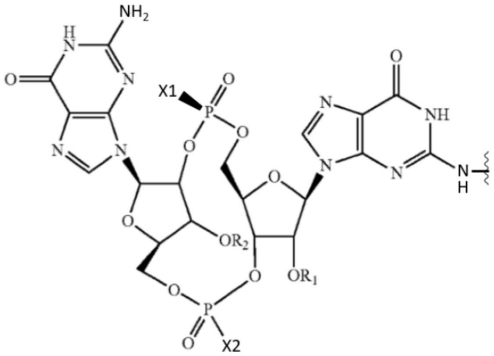


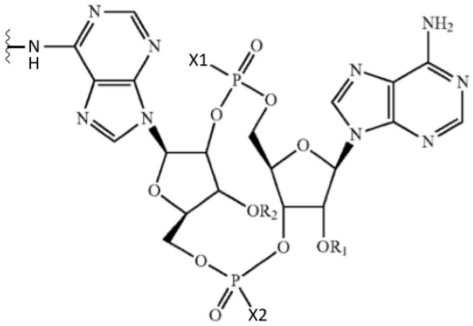
【化４８】

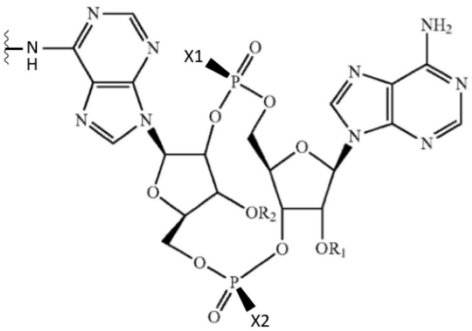


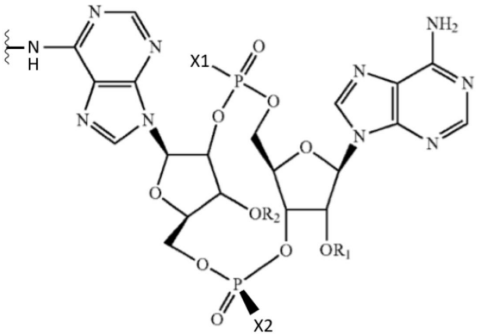


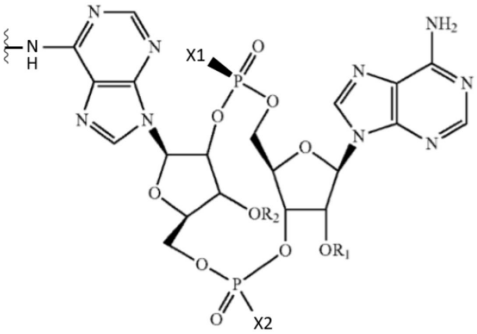




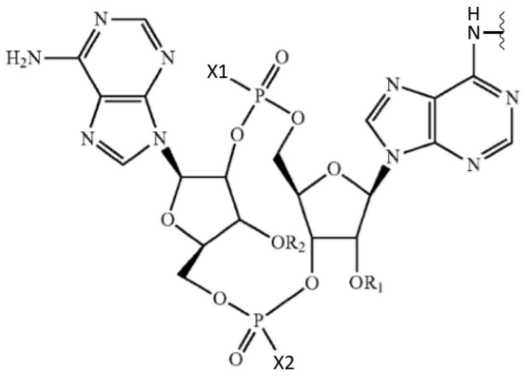


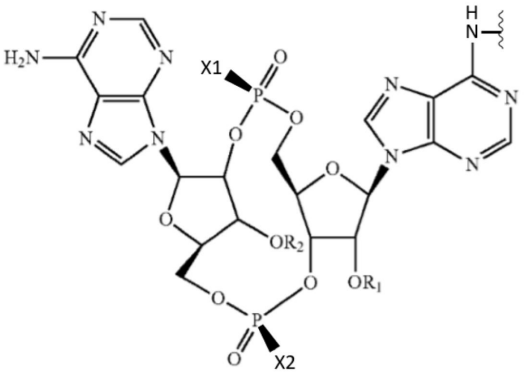


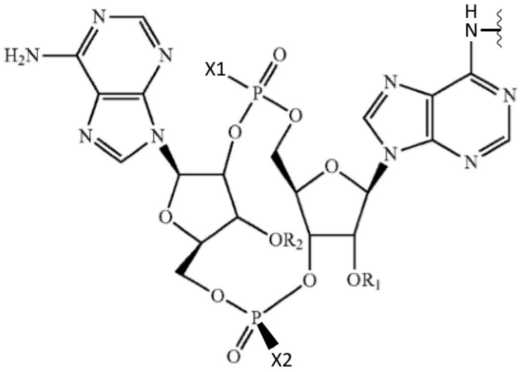


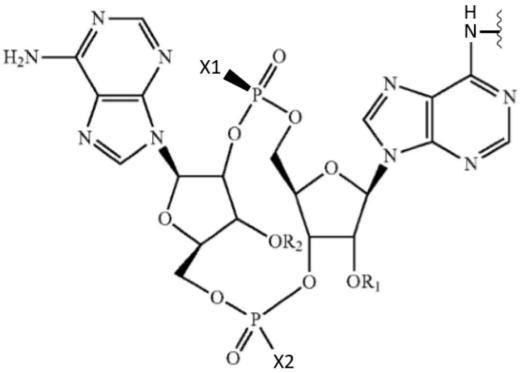


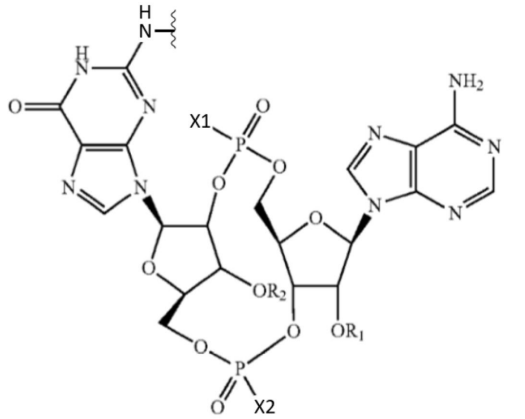
【化４９】

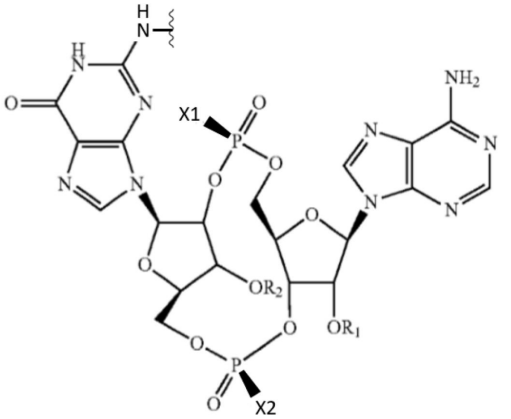




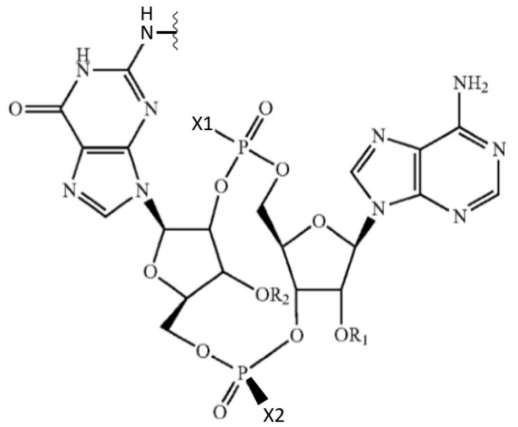
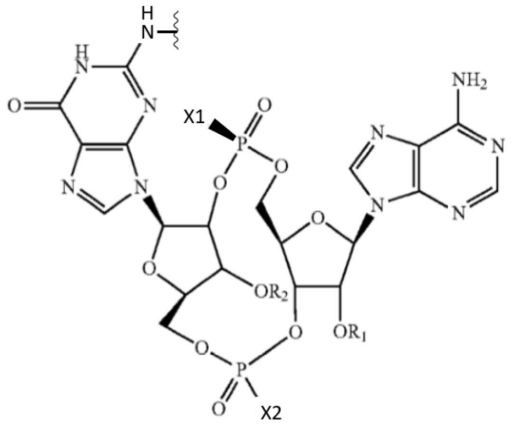
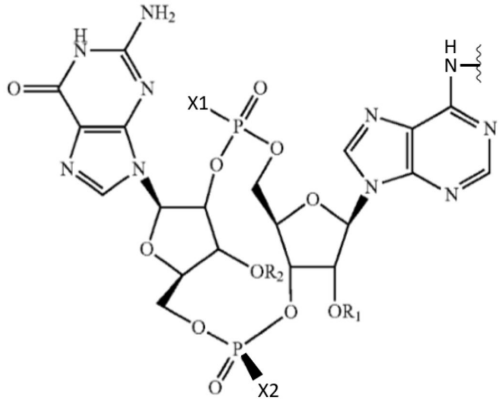
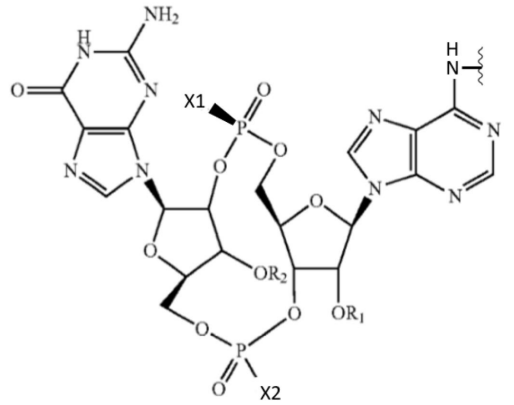
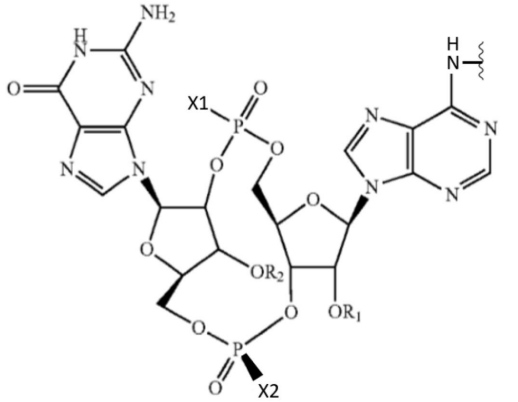
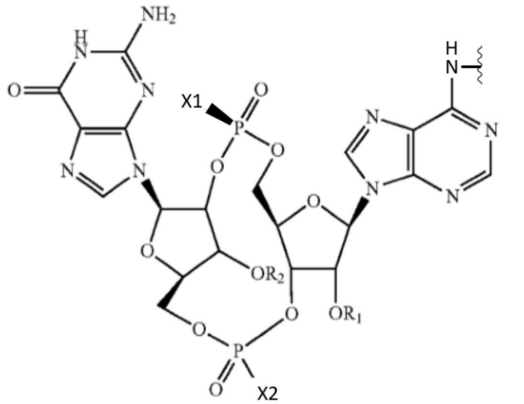








【化５０】

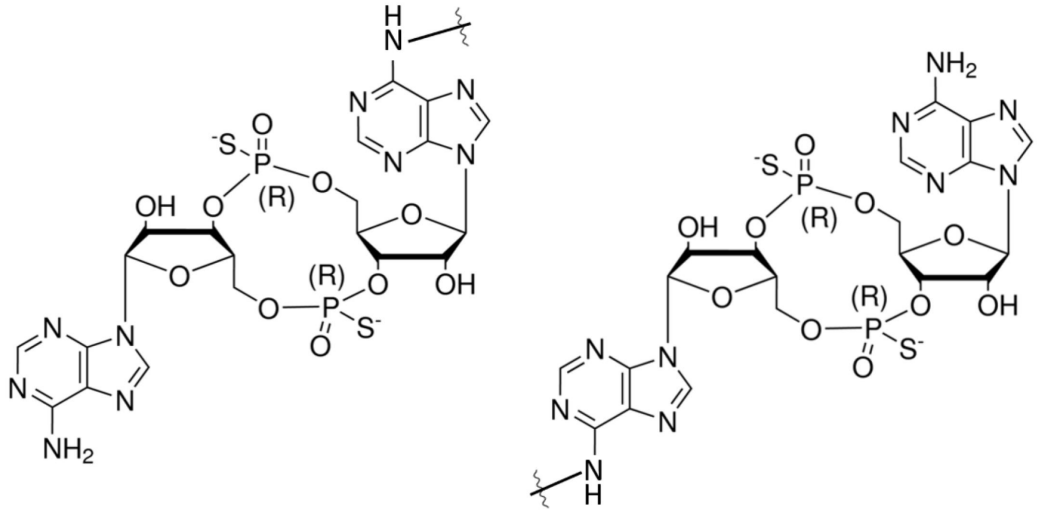







を含む。

【０２７４】

一部の実施形態において、ＳＴＩＮＧアゴニストは、以下の構造：

【化５１】

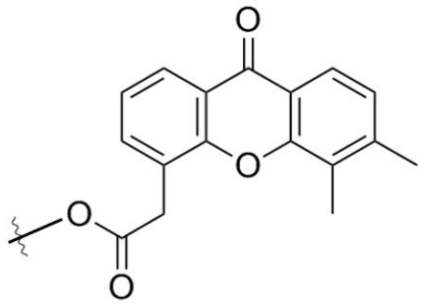


のうちの１つで表される。

【０２７５】

本結合剤コンジュゲート内において、薬物部分として使用されうる、さらに別のＳＴＩＮＧアゴニストは、

【化５２】



である。

【０２７６】

当業者により、特に、自壊性リンカーの使用に関して、ＳＴＩＮＧアゴニストが、例えば、遊離ヒドロキシル基を介するなど、上記において示された、アミン以外の官能基を介して、リンカーへとカップリングされうることもまた理解されるであろう。

【０２７７】

本開示に従う使用のためのＳＴＩＮＧアゴニストの非限定例については、参照により本明細書に組み込まれる、２０１９年１２月１２日に公開された、国際公開第ＷＯ２０１９／２３６５６７号において記載されている。ＳＴＩＮＧアゴニストの、さらなる例については、国際公開第ＷＯ２０１７／１２３６６９号および同第ＷＯ２０１５／０７７３５４号のほか、米国特許公開第ＵＳ２０１５／００５６２２４号において記載され、それらの各々が、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２７８】

当業者により、特に、自壊性リンカーの使用に関して、ＳＴＩＮＧアゴニストが、例えば、遊離ヒドロキシル基を介するなど、上記において示された、アミン以外の官能基を介して、リンカーへとカップリングされうることもまた理解されるであろう。

【０２７９】

アントラサイクリン

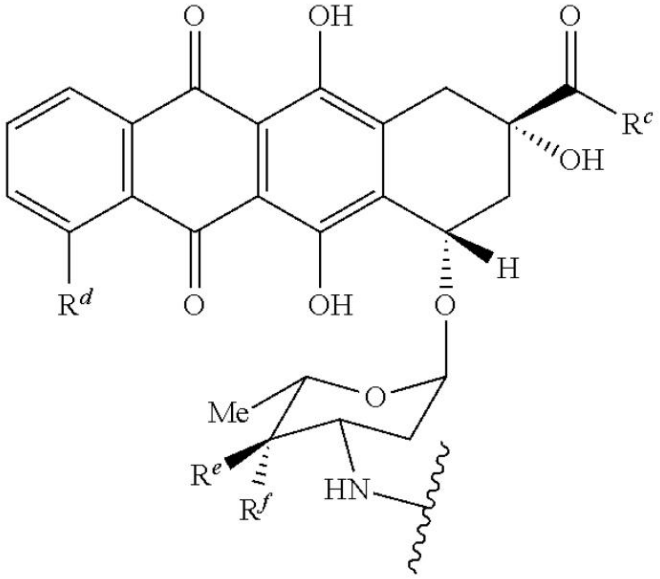
一部の実施形態において、薬物部分は、アントラサイクリンまたはその誘導体、好まし

くは、ドキソルビシン、または腫瘍細胞の、免疫原性細胞死を誘導することが可能である、他の類似体である。

【０２８０】

アントラサイクリンおよびその類似体は、限定せずに述べると、ドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ピラルビシン、バルルビシン、アクラルビシン、ミトキサントロン、アクチノマイシン、ブレオマイシン、プリカマイシン、およびマイトマイシンを具体的に含む。例えば、アントラサイクリン部分は、式：

【化５３】



［式中、

R^cは、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ヒドロキシアルキル、または（C_1～C_6）アルカノイルオキシ（C_1～C_6）アルキル、特に、メチル、ヒドロキシメチル、ジエトキシアセトキシメチル、またはブチリロキシメチルを表し；

R^dは、水素、ヒドロキシル、または（C_1～C_6）アルコキシ、特に、メトキシを表し；

R^eおよびR^fのうちの一方は、水素原子を表し；他方は、水素原子、またはヒドロキシ基もしくはテトラヒドロピラン（ｔｅｔｒａｈｙｄｒｏｐｙｒａｎｙ）－２－イルオキシ（ＯＴＨＰ）基を表す］

により表されうる。

【０２８１】

放射性薬剤

一部の実施形態において、治療用部分は、放射性薬剤である。例えば、治療用部分は、放射線療法またはイメージング手順に有用な放射性核種のためのキレート剤を含みうる。本開示中において有用な放射性核種は、ガンマ放射体、陽電子放射体、オージェ電子放射体、Ｘ線放射体、および蛍光放射体を含み、ベータ放射体またはアルファ放射体は、治療的使用のための放射性核種である。放射線療法における毒素として有用な放射性核種の例は、^{43}Ｋ、^{47}Ｓｃ、^{51}Ｃｒ、^{57}Ｃｏ、^{58}Ｃｏ、^{59}Ｆｅ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｇａ、^{67}Ｃｕ、^{68}Ｇａ、^{71}Ｇｅ、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{77}Ａｓ、^{81}Ｒｂ、^{90}Ｙ、^{97}Ｒｕ、^{99m}Ｔｃ、^{100}Ｐｄ、^{101}Ｒｈ、^{103}Ｐｂ、^{105}Ｒｈ、^{109}Ｐｄ、^{111}Ａｇ、^{111}Ｉｎ、^{113}Ｉｎ、^{119}Ｓｂ ^{121}Ｓｎ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、^{127}Ｃｓ、^{128}Ｂａ、^{129}Ｃｓ、^{131}Ｉ、^{131}Ｃｓ、^{143}Ｐｒ、^{153}Ｓｍ、^{161}Ｔｂ、^{166}Ｈｏ、^{169}Ｅｕ、^{177}Ｌｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{189}Ｒｅ、^{191}Ｏｓ、^{193}Ｐｔ、^{194}Ｉｒ、^{197}Ｈｇ、^{199}Ａｕ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｐｂ、^{212}Ｂｉおよび^{213}Ｂｉを含む。キレート剤が、金属を配位させる条件について

は、例えば、Ｇａｎｓｏｗら、米国特許第４，８３１，１７５号、同第４，４５４，１０６号、および同第４，４７２，５０９号により記載されている。キレート剤の例は、１，４，７－トリアザシクロノナン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’－三酢酸（ＮＯＴＡ）、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）、１，４，８，１１－テトラアザシクロテトラデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＴＥＴＡ）を含む。

【０２８２】

治療用コンジュゲート組成物および使用法

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、組成物を形成するように、薬学的に許容される賦形剤と共に製剤化される。一部の実施形態において、ＦＡＰα切断型リンカーまたはＳＲＳは、組成物を形成するように、薬学的に許容される賦形剤と共に製剤化される。分子または他の物質／薬剤は、ヒトを含む動物における使用について、米国連邦政府もしくは州政府の規制機関により承認されるか、もしくは承認可能であるか、または米国薬局方もしくは他の一般に認知された薬局方に収載されている場合、「薬学的に許容される」と考えられる。賦形剤は、治療用コンジュゲートと組み合わせて投与される、任意の不活性（非活性）の非毒性薬剤でありうる。薬学的に許容される賦形剤は、糖類（グルコース、ラクトースなど）、抗微生物剤などの保存剤、復元補助剤、着色剤、生理食塩液（リン酸緩衝生理食塩液など）、および緩衝剤を含むがこれらに限定されない、当技術分野において公知である、様々な材料を含む。

【０２８３】

一部の実施形態において、治療用コンジュゲートまたは組成物は、対象へと投与される。対象は、ヒト、非ヒト霊長動物、イヌ科動物、ネコ科動物、および齧歯動物を含むがこれらに限定されない、任意の動物（例えば、哺乳動物）でありうる。「対象」とは、ヒト対象を指す。一部の実施形態において、対象は、がんなどの罹患組織を有する。

【０２８４】

したがって、治療用コンジュゲートまたは組成物は、がんなどの罹患組織を処置するように、対象へと投与されうる。一部の実施形態において、治療用コンジュゲートは、罹患組織（例えば、がん）を処置するための医薬を製造するのに使用される。がんの非限定例は、皮膚がん（例えば、黒色腫、または基底細胞がんもしくは扁平上皮がんなどの非黒色腫）、肺がん、前立腺がん、乳がん、結腸直腸がん、腎［ｋｉｄｎｅｙ（ｒｅｎａｌ）］がん、膀胱がん、非ホジキンリンパ腫、甲状腺がん、子宮内膜がん、外分泌がん、および膵がんを含む。本明細書において、他のがんも想定される。当技術分野において公知の、「～を処置する」という用語は、疾患（例えば、がん）と関連する、少なくとも１つの症状を緩和する過程を指す。症状は、疾患の、身体的顕在化、精神的顕在化、または病理学的顕在化でありうる。多様な疾患と関連する症状が公知である。特定の状態を処置または防止するために、本明細書において提示される治療用コンジュゲートは、状態を処置または防止するのに使用される、任意の量でありうる、有効量において投与されるものとする。したがって、一部の実施形態において、有効量とは、処置される、特定の疾患と関連する症状を緩和するのに使用される量である。例えば、多様な治療用分子の有効量を決定するための方法が公知である。

【０２８５】

投与経路は、静脈内経路、筋内経路、腫瘍内経路、腹腔内経路、鼻腔内経路、および皮下経路を含む。他の投与経路も、本開示に包含される。

【０２８６】

したがって、本開示の治療用コンジュゲートは、静脈内投与、筋内投与、腫瘍内投与、腹腔内投与、鼻腔内投与、または皮下投与のために製剤化されうる。

【実施例】

【０２８７】

実施例１　－　療用コンジュゲートの抗腫瘍活性

ＦＡＰα切断型リンカーを介して、タラボスタット（Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ）とコン

ジュゲートされたＦｃを含む治療用コンジュゲートを作出し、マウス結腸がんのために使用され、ＦＡＰα遺伝子をノックインされた同系モデルである、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ＋マウスへと注射した。マウスにおける腫瘍容量は、２０日間にわたり、９回測定した。図２において見られうる通り、治療用コンジュゲートを注射されたマウス（「ＳＱＴ－Ｇｌｙ」群）は、腫瘍容量が、細胞結合性部分を含む治療用コンジュゲートを注射された、それらの対応マウスの一部（「ＡＶＡ０４－１８２」群）、および対照より小さかった。理論に束縛されることは望まないが、ＡＶＡ０４－１８２群は、ＳＱＴ－Ｇｌｙ群と同様に、抗薬物抗体により除去されたため、働かなかったと考えられる。

【０２８８】

薬物動態研究もまた企図した。治療用コンジュゲートはまた、異なる用量においても注射し、遊離タラボスタットの量を、５０時間にわたり測定した。図３において見られうる通り、治療用コンジュゲートは、ＦＡＰにより放出されたｉＤＡＳＨ阻害剤への、優先的な腫瘍内曝露を示す。

【０２８９】

実施例２　－　EC_{50}研究

タラボスタット単独を投与されたマウスおよびラット（図４Ａ）と、タラボスタットを含む治療用コンジュゲートを投与されたマウスおよびラット（図４Ｂ）との差違について検討するために、５０％有効濃度（EC_{50}）研究を企図した。タラボスタットが、単独において投与される場合、タラボスタットの最大耐量（ＭＴＤ）は、マウス腫瘍モデルにおいて、約３ｍｇ／m^2であり、ラットにおいて、０．１８ｍｇ／m^2である。すなわち、タラボスタットのＭＴＤは、腫瘍モデルのEC_{50}の１／１７である（図４Ａ）。これに対し、タラボスタットが、治療用コンジュゲートの一部として投与される場合、ＭＴＤは、マウスモデルにおいて、１６０ｍｇ／m^2であり、ラットについてのEC_{50}は、５００ｍｇ／m^2を超える（図４Ｂ）。治療用コンジュゲートの一部としてのタラボスタットは、ラットおよびマウスへと、治療有効用量において投与されうる。

【０２９０】

実施例３　－　インビボ腫瘍研究

ＣＴ２６－ｍＦＡＰ＋マウスに、ビヒクル（図５Ａ）、細胞結合性部分を含む治療用コンジュゲート（図５Ｂ）、またはＦＡＰα切断型リンカーを介して、タラボスタット（Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ）とコンジュゲートされたＦｃ（図５Ｃ）を注射し、腫瘍容量は、２２日間にわたり測定した。ビヒクル群において、腫瘍容量の低減を示したマウスは、１０匹中０匹であり、全てのマウスを、研究終了前（約２０日目）に　殺した。細胞結合性部分を含む治療用コンジュゲートを施された群において、マウス１０匹中３匹が、腫瘍容量を減少させ、ベースラインへと戻した。これに対し、本明細書において記載される治療用コンジュゲート（細胞結合性部分を伴わない）は、研究期間中に、マウス１０匹中６匹が、腫瘍容量を減少させ、ベースラインへと戻す結果をもたらした。さらに、研究期間中に、マウスの体重も測定し、体重の変化パーセントを計算した（図５Ｄ）。測定されたマウスのうちのいずれも、体重の変化パーセントが、１５％を超えなかった。

【０２９１】

別の実験セットにおいて、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ＋マウスに、ビヒクル（対照）、２００μｇまたは４００μｇのＭＳＡ－６３２５（６３２５とコンジュゲートされたマウス血清アルブミン）、または７４０μｇのＰＥＧ－６３２５（２０ＫＤａの４アーム型機能的ＰＥＧである、ＳＵＮＢＲＩＧＨＴ　ＰＴＥ－２００　ＰＡと反応させた６３２５）を注射し、腫瘍容量の変化は、時間経過にわたり測定した（図７）。「６３２５」（図６Ａ）は、タンパク質のリシン残基へのコンジュゲーションのためのＮＨＳ基を含む、例示的ＦＡＰ活性化Ｉ－ＤＡＳＨ阻害剤である。

【０２９２】

さらに別の実験セットにおいて、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ＋マウスに、６３２５とコンジュゲートされたヒトＦｃ断片（図８Ａ）、または６３２５とコンジュゲートされた完全ヒトＩｇＧ抗体（図８Ｂ）を注射し、腫瘍容量の変化は、時間経過にわたり測定した。

【０２９３】

実施例４　－　インビトロ研究

さらなるインビトロ研究において、いくつかのコンジュゲートを、ＦＡＰαの非存在下および存在下にあるＪ７７４細胞内において、ピロトーシスを誘導する、それらの能力について調べた。略述すると、Ｊ７７４Ａ．１マウスマクロファージ系細胞を、ｒｈＦＡＰαの存在下または非存在下、ＶｂＰ（データは示さない）、またはＦＡＰ活性化Ｉ－ＤＡＳＨ阻害剤（Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５、Ｈｕ　ＩｇＧ１－６３２５、ＭＳＡ－６３２５、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　ＣＦ－６３２５、またはＳＱＴ－Ｇｌｙ　ＣＧ－６３２５）のうちの１つの１０倍の系列希釈液を伴う三連ウェル内、２５ｎＭの最終濃度において、２４時間にわたり培養した。各実験は、非処置対照を組み入れた。インキュベーションの後、培養物上清へと放出された乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ；ピロトーシスのマーカー）のレベルは、製造元の指示書に従い、ＣｙｔｏＴｏｘ　９６　Ｎｏｎ－ｒａｄｉｏａｃｔｉｖｅ　Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ　Ａｓｓａｙを使用して測定した。結果を、ＬＤＨ放出の増大倍数として、図１７に示す。全ての被験コンジュゲートは、ＦＡＰαを伴うか、またはこれを伴わないかにより、統計学的に有意な、明確な差別化を呈した。これが、ＶｂＰ単独（データは示さない）に当てはまらなかったことは、応答の変動が、ＦＡＰαによる、プロドラッグの活性化のためであることを指し示した。

【０２９４】

さらなる研究において、２つのプロドラッグ［６３２３および６５０１（図６Ｃ）］の、ｈｕＩｇＧ１　Ｆｃの、ヒンジ領域のシステイン残基へのコンジュゲーションについて検討した。略述すると、マレイミドリンカーによる複合プロドラッグ（６３２３および６５０１）を、ＤＭＳＯ中に、１００ｍＭの濃度において溶解させた。６３２３または６５０１を、還元Ｆｃへと添加し、試料を、室温においてインキュベートした。反応しなかった６３２３または６５０１は、Ｚｅｂａスピンカラムにより除去した。遊離チオール（ＳＨ）基を測定する前に、試料を、再度還元し、試料を、Ｚｅｂａスピン脱塩カラム上に、再度流過させることにより、ジチオトレイトール（ＤＴＴ）を除去した。エルマン試薬を使用して、遊離ＳＨ基を測定することにより、チオール基のコンジュゲーションを決定した。還元Ｆｃ試料の濃度は、６６５００$M^{-1}cm^{-1}$の減衰定数を使用して、２８０ｎｍの吸光度により決定した。コンジュゲーションは、還元ＳＨ　１モル当たりの６３２３または６５０１　０、１０、２０、および４０モルの反応物比（Ｆｃ　１個当たりのＳＨ　４個）により行った。６３２３（図１８Ａ）または６５０１（図１８Ｂ）へのコンジュゲーションによる、Ｆｃ上の遊離ＳＨ基数の減少を、遊離ＳＨ基対反応物比の変化として表す。

【０２９５】

６３２３の、ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）－Ｆｃタンパク質へのコンジュゲーションに関する研究を企図した。マレイミドリンカーによる複合プロドラッグ（６３２３）を、ＤＭＳＯ中に、１００ｍＭの濃度において溶解させた。還元ＳＱＴＧｌｙＣＦ試料の濃度は、２８０ｎｍの吸光度により決定した。６３２３を、還元ＳＱＴＧｌｙＣＦへと添加し、試料を、室温においてインキュベートした。反応しなかった６３２３は、Ｚｅｂａスピンカラムにより除去した。遊離ＳＨ基を測定する前に、上記において記載された通りに、試料を、再度還元して、反応しなかったシステインが還元されていることを確認した。エルマン試薬を使用して、遊離ＳＨ基を測定することにより、チオール基のコンジュゲーションを決定した。チオールの濃度は、１４，１５０$M^{-1}cm^{-1}$の減衰定数を使用して、４１２ｎｍの吸光度により決定した。

【０２９６】

ＳＱＴＧｌｙＣＦ　１個当たりのチオール数は、チオール濃度の、タンパク質濃度に対する比（［ＳＨ］／［ＳＱＴＧｌｙＣＦ］）として計算した。コンジュゲーションは、還元ＳＨ　１モル当たりの６３２３　０、１０、２０、および４０モルの反応物比（ＳＱＴＧｌｙＣＦ　１個当たりのＳＨ　４個）により行った。遊離ＳＨ基対反応物比の変化を、

図２４Ａに示す。時限コンジュゲーション反応は、ＳＨ　１個当たりの６３２３　４０個の反応物比により行い、６３２３を添加した、０、５、１０、１５および２０分後に、反応を停止させた。ＳＨ基　１個当たりの６３２３　４０個の反応物比による、６３２３の、ＳＱＴＧｌｙＣＦへのコンジュゲーションの反応速度を、図２４Ｂに示す。

【０２９７】

実施例５　－　薬物動態研究（腫瘍マウスモデル）

異なる化合物の薬物動態を、がんについてのマウスモデルにおいて検討した。マウス（ＢＡＬＢ／ｃ）の右脇腹に、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ細胞５×１０^{5}個を皮下接種した。腫瘍を確立させ、その後、動物を、５０５７（ＦＡＰα阻害剤）を伴うか、またはこれを伴わずに、２４時間にわたり処置した。次いで、動物を、ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５（Ｆｃ－６３２５；動物１匹当たり２００μｇ）により、１、４、６、２４および４８時間にわたり処置した。表示の時点において、ＬＣ－ＭＳ上において、Ｖａｌ－ｂｏｒｏＰｒｏ（ＶｂＰ）を測定するように、血液試料および腫瘍試料を回収した。Ｆｃ－６３２５による処置は、全ての時点において、腫瘍内における、血清中より高濃度のＶｂＰを結果としてもたらした。ＦＡＰα阻害剤は、ＶｂＰレベルを、著明に低減したが、２４および４８時間後における、腫瘍内のＶｂＰ値は、１～６時間後より大きかった。これは、ＦＡＰの阻害が、６～２４時間後の間に減衰したためであったと考えられる。血清試料（図１９Ａ）または腫瘍試料（図１９Ｂ）についての、時間経過にわたる（時間）、ＶｂＰ（ｎＭ）の濃度を示す。各時点は、群１つ当たりのマウス３匹を含む。

【０２９８】

次に、異なる化合物についてのコンジュゲートについて調べた。マウス（群１つ当たりのｎ＝１０；ＢＡＬＢ／ｃ）の右脇腹に、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ細胞５×１０^{5}個を皮下接種した。腫瘍容量の平均が、約５０～１００ｍｍ^{3}に達したら、コンジュゲートを、腹腔内注射した。処置は、毎週２回ずつ、３週間にわたり投与した。ビヒクル（対照）、またはＳＱＴ－Ｇｌｙコンジュゲート（図２０Ａ）、またはＨｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃコンジュゲート（図２０Ｂ）を投与された、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ$^{+}$マウスにおける、腫瘍容量の、時間経過にわたる変化を示す。図２０Ａ～２０Ｂにおいて、点線は、毎週２回（ＢＩＷ）の投与を表す。被験ＳＱＴ－Ｇｌｙコンジュゲートは、以下の通り：６３２５（ＮＨＳ）または６３２３（ＭＡＬ）とコンジュゲートされた、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２（ＩｇＧ１　Ｆｃ）、および６３２５または６３２３とコンジュゲートされたＳＱＴ－Ｇｌｙ　ＣＦ（ＩｇＧ１　ＬＡＬＡ　Ｆｃ）であった。被験ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃコンジュゲートは、以下の通り：６３２５または６３２３または６５０１とコンジュゲートされた、Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ断片（四量体プロドラッグ；図６Ｃ）であった。２０日目において、コンジュゲートにより処置された、全てのマウスは、腫瘍サイズを、ビヒクル対照と比較して低減した。ＮＨＳ（６３２５）コンジュゲートまたはＭＡＬ（６３２３または６５０１）コンジュゲートの有効性は、ＳＱＴ－Ｇｌｙおよびｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃによる半減期延長バージョンの間において同等であった。

【０２９９】

加えて、異なるＦＡＰ活性化プロドラッグから放出されたＶｂＰの薬物動態および組織分布についても検討した。マウス（ＢＡＬＢ／ｃ）の右脇腹に、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ細胞５×１０^{5}個を皮下接種した。腫瘍を確立させ、その後、動物に、２００ｕＬの腹腔内注射を介して、２４μｇの３８９２（３８９２の構造を、図２８に示す）、１１３８μｇの３８９２、５２μｇの６３２３、５６μｇの６３２５、または１１１３μｇの６４３５（Ｎ－Ａｃ－Ｌｙｓ－６３２５）を投与した。各投与群は、１、４、および２４時間後だけからなった、２４ｕｇの３８９２を例外として、１、４、６、２４、および４８時間後の回収時点（群１つ当たりのｎ＝３）を表す、５群ずつのサブセットからなった。回収時点の、ＬＣ－ＭＳ上において、ＶｂＰレベルを測定するように、血液試料および腫瘍試料を回収した。プロドラッグ投与後の、血清中および腫瘍内における、ＶｂＰ濃度対時間を、図２１に表す。３８９２の用量１１３８ｕｇおよび６４３５（Ｎ－Ａｃ－Ｌｙｓ－６３２５）の用量１１１３ｕｇは、それぞれ、放出されたＶｂＰの、２０ｕｇのＶｂＰ単独と比

較した、２５倍当量および１０倍当量を表した。いずれも、ＶｂＰ単独と同様の、血清中分布プロファイルおよび腫瘍内分布プロファイルを呈し、ピーク濃度が、投与の１時間後において生じるのに続き、時間経過にわたり、定常的に減衰した。コンジュゲートと関連して含有されるＶｂＰ濃度の近似値を表すように、３８９２　２４μｇ、６３２５　５２μｇ、および６３２５　５６μｇの低プロドラッグ用量を選択した。６３２３および６３２５のいずれも、早期時点において、定常を維持するのに続き、２４～４８時間において、４００ｎＭへと増大する、約２００ｎＭの腫瘍内ＶｂＰ濃度を結果としてもたらした。

【０３００】

次に、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２コンジュゲートおよびＩｇＧ　Ｆｃコンジュゲートから放出されたＶｂＰの薬物動態および組織分布について検討した。マウス（ＢＡＬＢ／ｃ）の右脇腹に、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ細胞５×１０^{5}個を皮下接種した。腫瘍を確立させ、その後、動物に、腹腔内注射（２００μｇ／２００ｕＬ）を介して、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２３、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５、マウスＩｇＧ２ａ　Ｆｃ－６３２５、またはＨｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５を投与した。各投与群は、１、４、６、２４、および４８時間後の回収時点（群１つ当たりのｎ＝３）を表す、５群ずつのサブセットからなった。回収時点において、ＬＣ－ＭＳを使用して、放出されたＶｂＰレベルを測定するように、血液試料および腫瘍試料を回収した。ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２コンジュゲート（図２２Ａ）またはＩｇＧ　Ｆｃコンジュゲート（図２２Ｂ）の投与の後の、血清中および腫瘍内におけるＶｂＰ濃度対時間を示す。

【０３０１】

ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２３についての、血清中ＰＫ／ＴＤプロファイルおよび腫瘍内ＰＫ／ＴＤプロファイルを、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５との比較のために評価した。ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５についての血清中ＶｂＰレベルが、全ての被験時点において、低レベル（＜１０ｎＭ）を維持したのに対し、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２３が、１時間後において、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２５の＞１０倍のスパイクを結果としてもたらした（３７対３ｎＭ）ことは、ＭＡＬコンジュゲーション部位が、血清中ＦＡＰによるプロドラッグの切断に対するアクセス可能性を増大させることを、潜在的に指し示す。腫瘍ＶｂＰレベルはまた、ＳＱＴ－Ｇｌｙ　Ｖ．２－６３２３についても高度であったが、これは、ＭＡＬコンジュゲートによる、プロドラッグ活性化の増大をさらに裏書きしうる。

【０３０２】

Ｍｕ　ＩｇＧ２ａ　Ｆｃ－６３２５を、Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５との比較のために評価した。後者の有効性は、半減期延長型プロドラッグとしてのそのデザインだけに起因するのではなく、また、外来抗原（Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ）の存在により誘発された二次免疫応答の結果としての有効性でもある可能性がある。Ｍｕ　ＩｇＧ２ａ　Ｆｃは、マウス由来であるので、この問題を回避するためにデザインされた。２つのプロドラッグのＰＫ／ＴＤプロファイルは、極めて同様であった。２４～４８時間後の間において、Ｍｕ　ＩｇＧ２ａ　Ｆｃ－６３２５について、Ｈｕ　ＩｇＧ１　Ｆｃ－６３２５について観察されなかった、腫瘍内のＶｂＰレベルの低減が観察されたが、これは、マウスコンジュゲートの半減期が、ヒトコンジュゲートより短いことを指し示しうる。

【０３０３】

実施例６　－　４２ＣＱベースのコンジュゲート

非腫瘍保有ＢＡＬＢ／ｃマウスにおける、ＦＡＰ活性化プロドラッグに対する、血清サイトカインであるＧ－ＣＳＦの応答について検討した。処置１つ当たりのマウス５匹ずつの群内の、１１～１２週齢の雌ＢＡＬＢ／ｃマウスに、マウス１匹当たり２００μｇにおいて、ビヒクル（ＰＢＳ）、４２ＣＱ－６５０１、または４２ＣＱ－６５０１＋ＭＳＡを腹腔内注射した。

【０３０４】

ＶｂＰ単独は、大きな血清Ｇ－ＣＳＦ応答を誘発することが公知である。サイトカインの動員は、腫瘍免疫において、重要な役割を果たすと考えられるが、血清中のその存在は

、全身応答を表し、これは、望ましくない有害作用をもたらしうる。４２ＣＱベースのコンジュゲートのパネルをスクリーニングして、それらが、血清Ｇ－ＣＳＦ応答の、ＶｂＰと比較した減少を結果としてもたらすのかどうかについて評価した。４２ＣＱは、血清アルブミンに結合するようにデザインされたＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）ポリペプチド（配列番号１３３）である。こうして、ＭＳＡへのあらかじめの結合を伴うか、またはこれを伴わずに、４２ＣＱベースのコンジュゲート（６５０１との）を調製して、２つの製剤の間に、明らかな差違が存在するのかどうかを決定した。

【０３０５】

投与の６時間後、マウスＧ－ＣＳＦ Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ ＥＬＩＳＡキットを使用して、血清中のＧ－ＣＳＦを測定するように、血液を回収した。被験用量において、４２ＣＱ－６５０１は、Ｇ－ＣＳＦの血清濃度の、ビヒクル処置マウスと比較した、著明な増大を誘導したが、４２ＣＱ－６５０１をＭＳＡとあらかじめ結合させることは、Ｇ－ＣＳＦの血清濃度の、４２ＣＱ－６５０１と比較した、著明な減少を結果としてもたらした（図２３）。

【０３０６】

次に、４２ＣＱ－６５０１コンジュゲートの、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ腫瘍保有マウスにおける薬物動態について検討した。略述すると、ＢＡＬＢ／ｃマウスの右脇腹に、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ細胞５×１０^{5}個を皮下接種した。腫瘍を確立させ、その後、動物に、腹腔内注射を介して、動物１匹当たり１００または２００μｇの４２ＣＱ－６５０１を投与した。各投与群は、１、４、６、２４、および４８時間後の回収時点（群１つ当たりのｎ＝３）を表す、５群ずつのサブセットからなった。回収時点において、ＬＣ－ＭＳ上において、ＶｂＰレベルを測定するように、血液試料および腫瘍試料を回収した。動物１匹当たり１００または２００μｇの４２ＣＱ－６５０１の投与後の血清中（図２５Ａ）および腫瘍内（図２５Ｂ）における、ＶｂＰ濃度対時間を示す。全ての時点において、ＶｂＰの平均値血清レベルは、４２ＣＱ－６５０１のいずれの用量についても、腫瘍レベルの、４～１５分の１の間であった。

【０３０７】

さらなる実験において、同系マウス結腸がん（ＣＴ２６）モデルにおける、４２ＣＱベースのコンジュゲート±ＭＳＡの、腫瘍増殖に対する効果について検討した。マウス（群１つ当たりのｎ＝１０；ＢＡＬＢ／ｃ）の右脇腹に、ＣＴ２６－ｍＦＡＰ細胞５×１０^{5}個を皮下接種した。ＭＳＡへのあらかじめの結合は、ＶｂＰへの全身への放出を減少させうるので、コンジュゲートである、４２ＣＱ－６３２３および４２ＣＱ－６５０１の両方の有効性を、ＭＳＡへのあらかじめの結合を伴う場合、およびこれを伴わない場合において調べた。腫瘍容量の平均が、約５０～１００ｍｍ^{3}に達したら、４２ＣＱベースのコンジュゲート±ＭＳＡを、腹腔内注射した。４２ＣＱ－６３２３±ＭＳＡおよび４２ＣＱ－６５０１±ＭＳＡについての腫瘍増殖の阻害を、それぞれ、図２６Ａおよび２６Ｂに示す。点線は、毎週２回の投与を表す。ＭＳＡを伴わない４２ＣＱ－６５０１を除く、４２ＣＱベースのコンジュゲートにより処置された、全てのマウスは、腫瘍サイズを、対照と比較して低減した。

【０３０８】

さらなる実験において、野生型（ＷＴ）マウスおよびＦＡＰαノックアウト（ＫＯ）マウスにおいて、ＦＡＰα活性化ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）プロドラッグ（４２ＣＱ－６３２３および４２ＣＱ－６５０１）から放出されるＶｂＰの薬物動態について検討した。腫瘍を保有しない、ＷＴマウスまたはＦＡＰα ＫＯマウス（群１つ当たりのｎ＝３）に、腹腔内注射を介して、動物１匹当たり２００μｇの、４２ＣＱ－６３２３、４２ＣＱ－６３２３－ＭＳＡ、４２ＣＱ－６５０１、または４２ＣＱ－６５０１－ＭＳＡを投与した。ＬＣ－ＭＳ上において血漿中のＶｂＰ濃度を測定するように、投与の０（投与前）、１５、３０、６０、１２０、および２４０分間後、ならびに２４時間後において、血液を回収した。動物１匹当たり２００μｇの４２ＣＱ－６３２３±ＭＳＡまたは４２ＣＱ－６５０１±ＭＳＡの投与の後における、血漿中のＶｂＰ濃度対時間を、それぞれ、図２７Ａお

よび２７Ｂに表す。

【０３０９】

いずれの時点においても、ＦＡＰαノックアウトマウスにおいて、ＶｂＰは検出されなかった。血漿中ＶｂＰレベルが、コンジュゲートである、６５０１について、コンジュゲートである、６３２３より高レベルであったことは、コンジュゲートである、６５０１についての、有効薬物－ＡＦＦＩＭＥＲ（登録商標）タンパク質比（ＤＡＲ）が、大きいことと符合する。注射の前における、アルブミンへのあらかじめの結合は、血中のＶｂＰの最初のスパイクを制限すると考えられる（ＭＳＡ群を、非ＭＳＡ群と比較されたい）。

【０３１０】

本明細書で開示される、全ての参考文献、特許、および特許出願は、それについてそれらの各々が引用される対象物に関して、参照により組み込まれ、場合によって、文献の全体を包含しうる。

【０３１１】

本明細書および特許請求の範囲において使用される不定冠詞である、「ある（ａ）」および「ある（ａｎ）」は、逆のことが明確に指し示されない限りにおいて、「少なくとも１つの」を意味するように理解されるものとする。

【０３１２】

逆のことが明確に指し示されない限り、本明細書において特許請求される任意の方法であって、１つを超える工程または行為を含む方法において、方法の工程または行為の順序は、必ずしも、方法の工程または行為が列挙される順序に限定されないこともまた理解されたい。

【０３１３】

特許請求の範囲、ならびに上記の明細書において、「～を含むこと（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「～を含むこと（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「～を保有すること」、「～を有すること」、「～を含有すること」、「～を伴うこと」、「～を保持すること」、「～から構成されること」など、全ての移行句は、オープンエンドである、すなわち、「～を含むがこれらに限定されないこと」を意味するように理解されるものとする。United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03において明示されている通り、「～からなること」および「～から本質的になること」という移行句だけが、それぞれ、クローズドまたはセミクローズドの移行句であるものとする。

【０３１４】

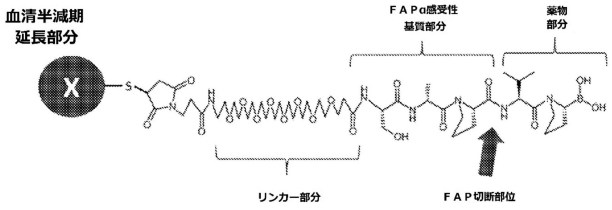
数値に前置される、「約」または「実質的に」という用語は、列挙された数値から±１０％を意味する。

【０３１５】

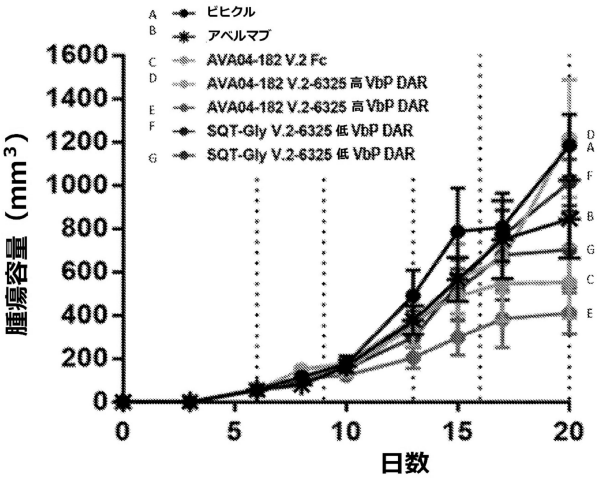
本明細書において、値の範囲が提示される場合、範囲の上端と、下端との間の各値が具体的に想定され、記載される。

【図面】

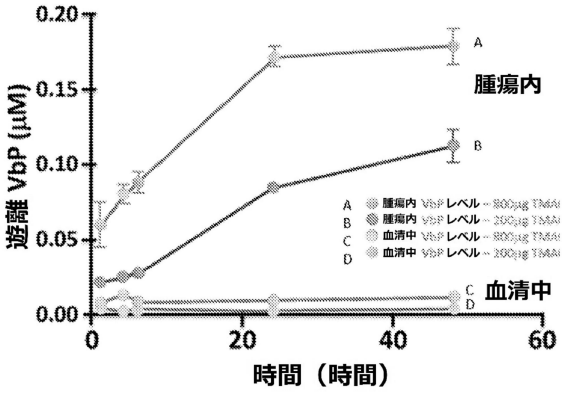
【図１】


血清半減期
延長部分
X
ＦＡＰα感受性
基質部分
薬物
部分
リンカー部分
ＦＡＰ切断部位

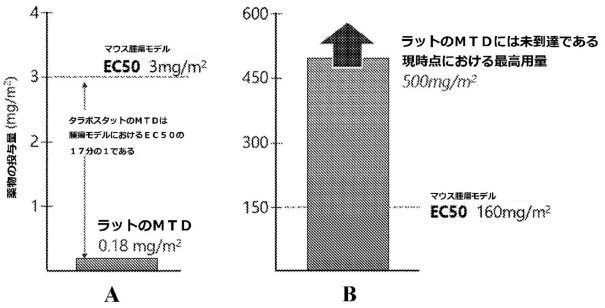
【図２】


A ビビクル
B アベルマブ
C AVA04-182 V.2 Fc
D AVA04-182 V.2-6325 高 VbP DAR
E AVA04-182 V.2-6325 高 VbP DAR
F SQT-Gly V.2-6325 低 VbP DAR
G SQT-Gly V.2-6325 低 VbP DAR
腫瘍容量（mm³）
日数

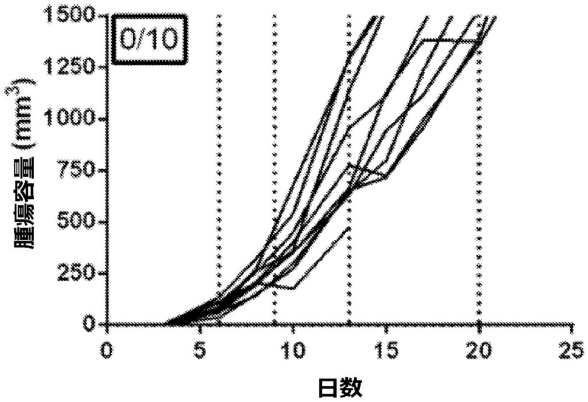
【図３】


遊離 VbP (μM)
時間（時間）
腫瘍内
血清中
A 腫瘍内 VbP レベル ~ 800μg TMAI
B 腫瘍内 VbP レベル ~ 200μg TMAI
C 血清中 VbP レベル ~ 800μg TMAI
D 血清中 VbP レベル ~ 200μg TMAI

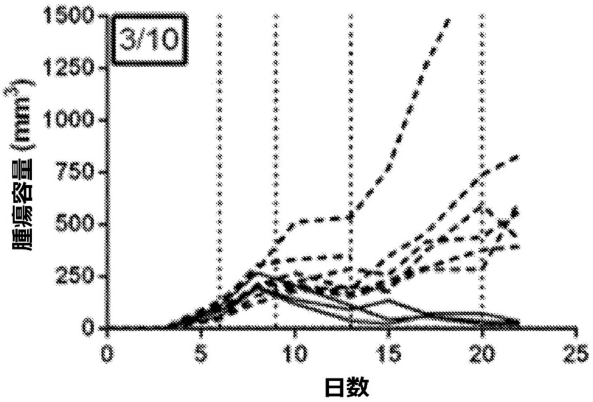
【図４】


薬物の投与量 (mg/m²)
マウス腫瘍モデル
EC50 3mg/m²
タラポスタットのＭＴＤは
腫瘍モデルにおけるＥＣ５０の
１７分の１である
ラットのＭＴＤ
0.18 mg/m²
A
ラットのＭＴＤには未到達である
現時点における最高用量
500mg/m²
マウス腫瘍モデル
EC50 160mg/m²
B

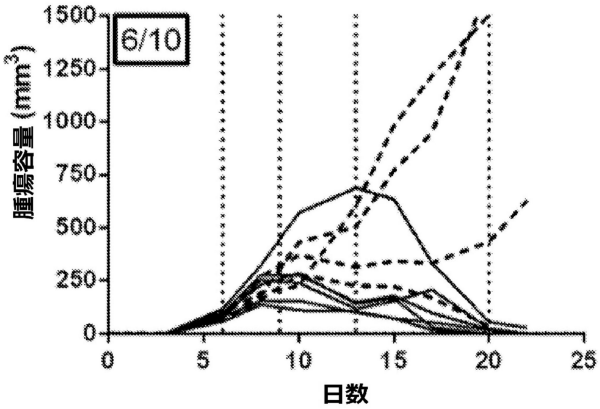
【図５Ａ】



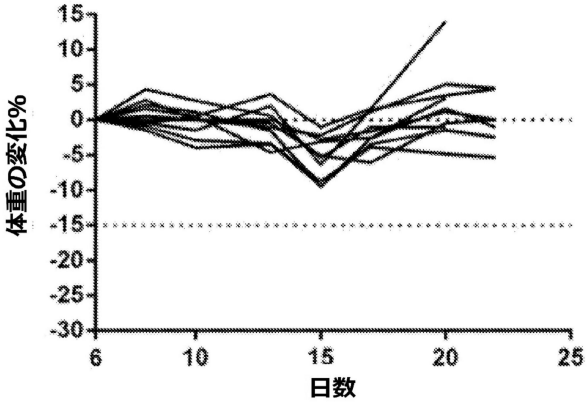
【図５Ｂ】



【図５Ｃ】

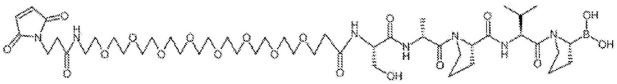


【図５Ｄ】

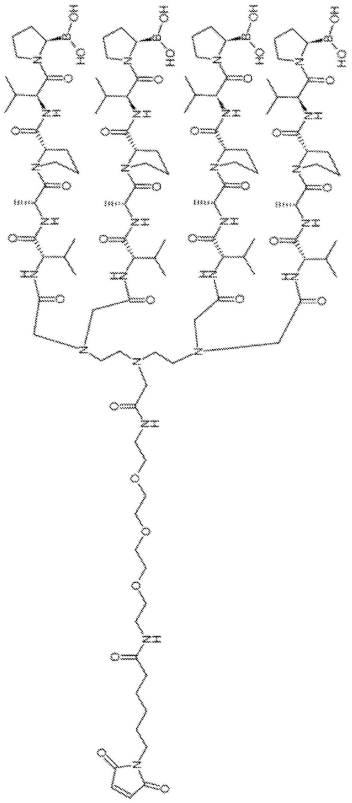


【図６Ａ】

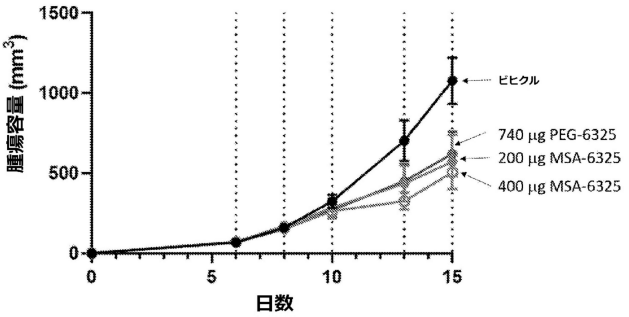
【図６Ｂ】



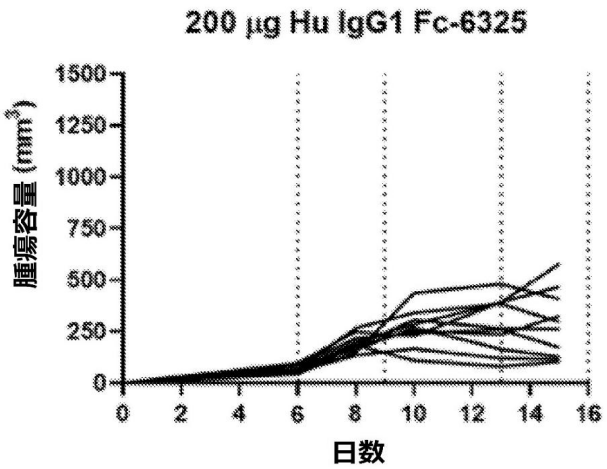
【図６Ｃ】



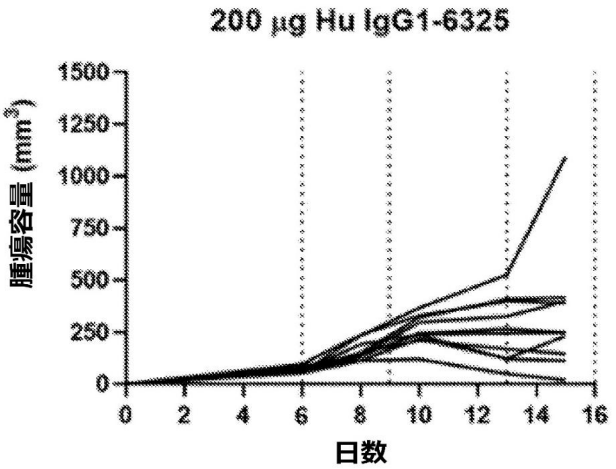
【図７】



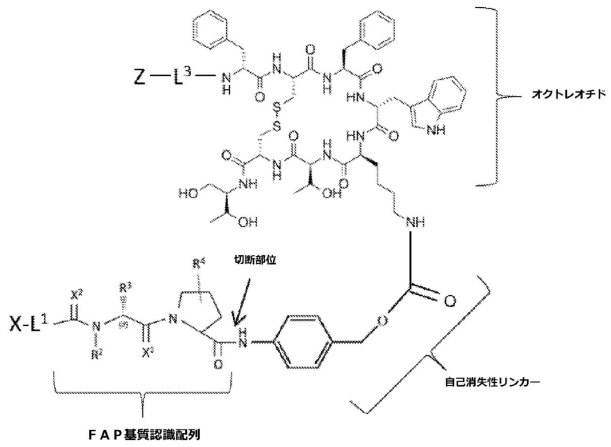
【図８Ａ】



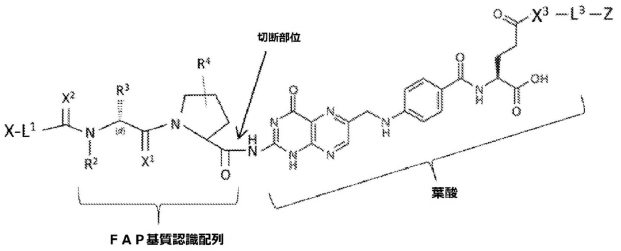
【図８Ｂ】



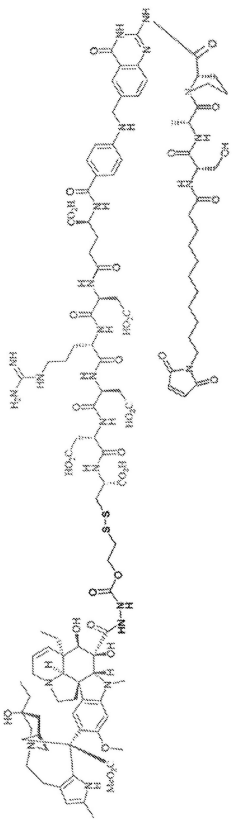
【図９】



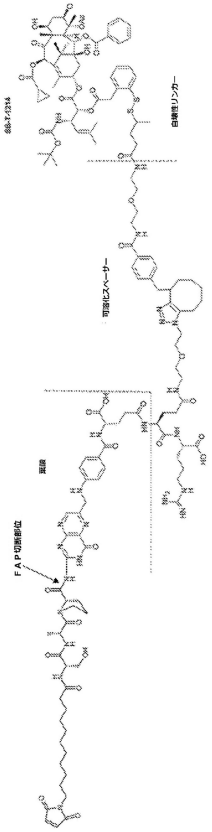
【図１０】



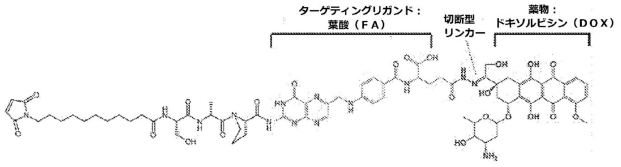
【図１１】



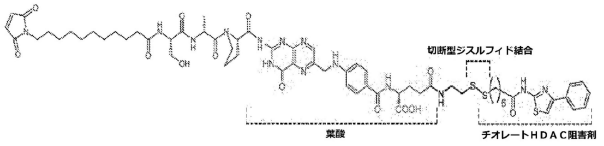
【図１２】



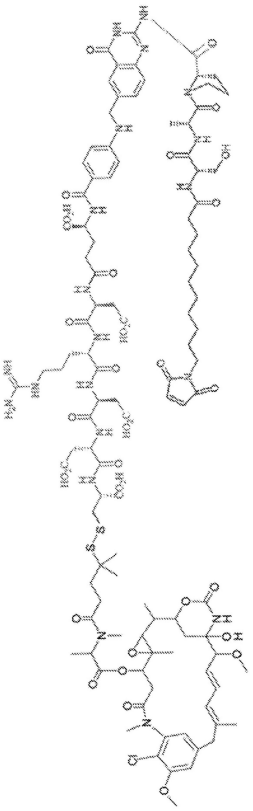
【図１３Ａ】



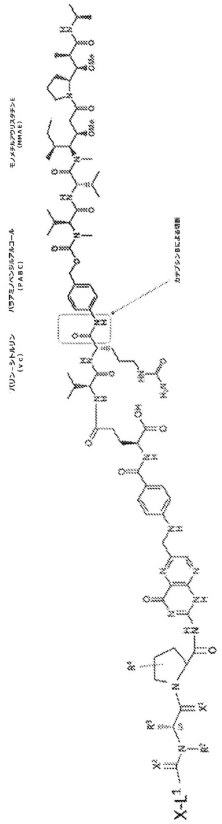
【図１３Ｂ】



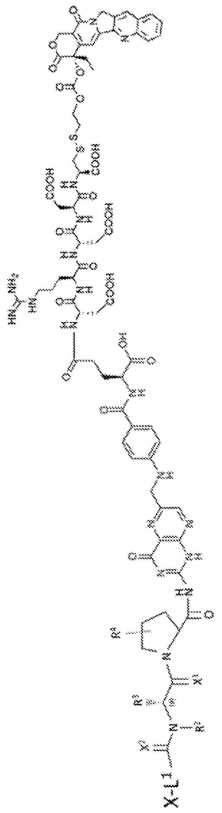
【図１４】



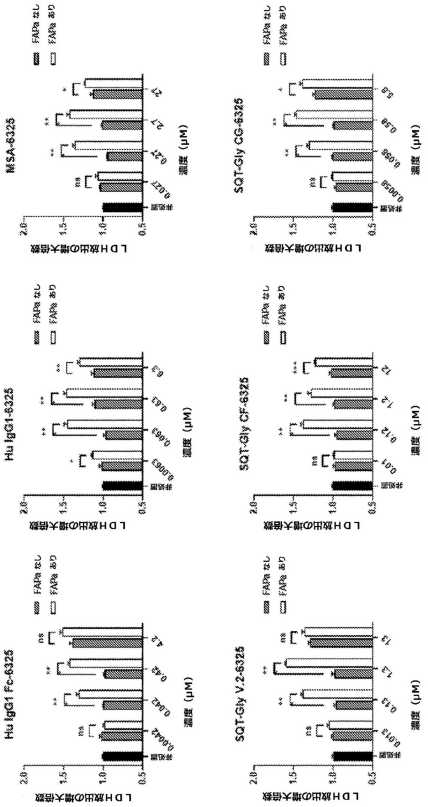
【図１５】



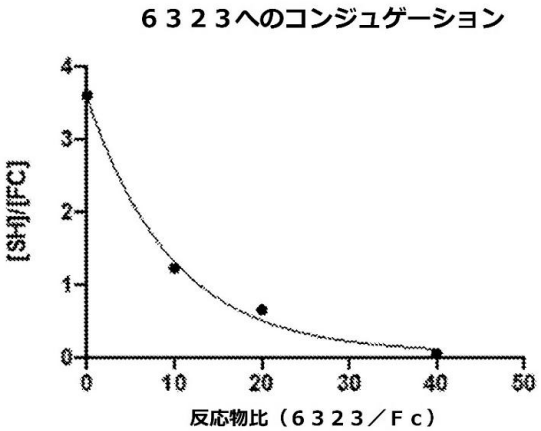
【図１６】



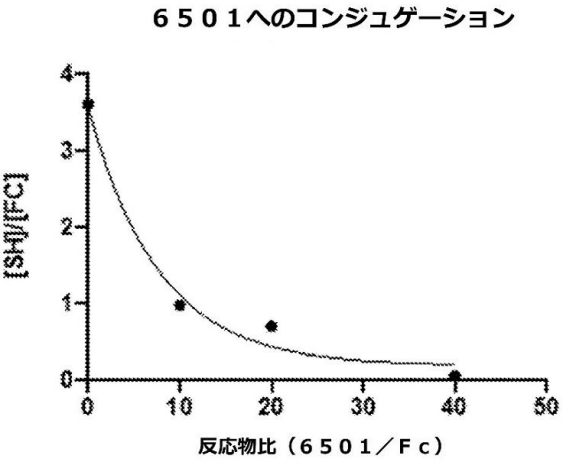
【図１７】



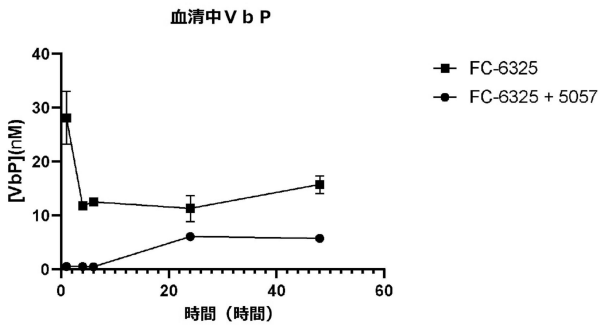
【図１８Ａ】



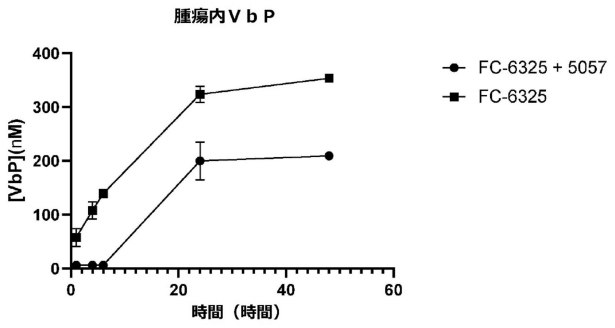
【図１８Ｂ】



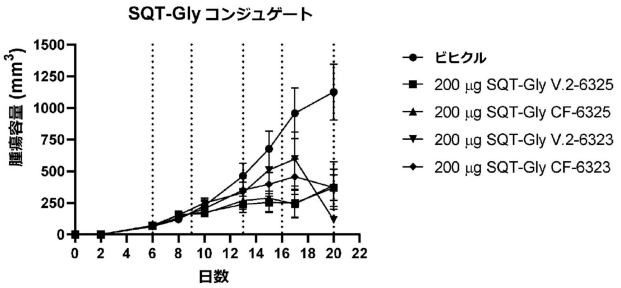
【図１９Ａ】



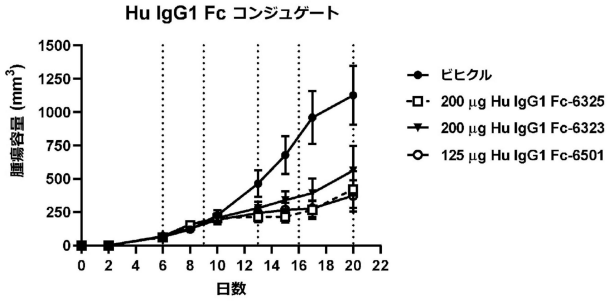
【図１９Ｂ】



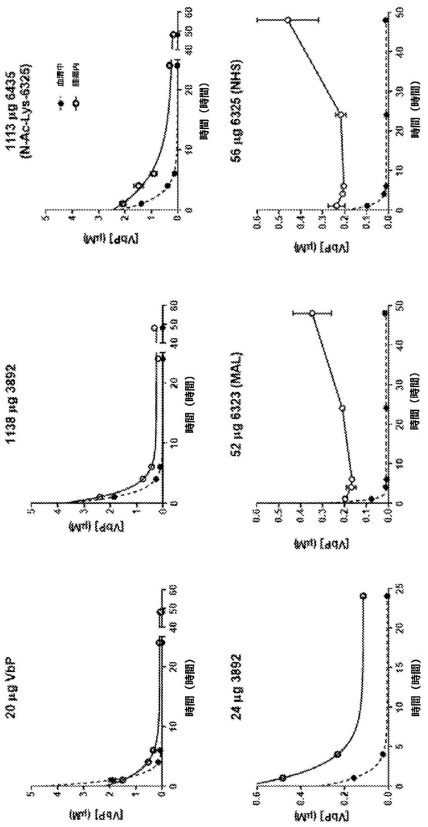
【図２０Ａ】



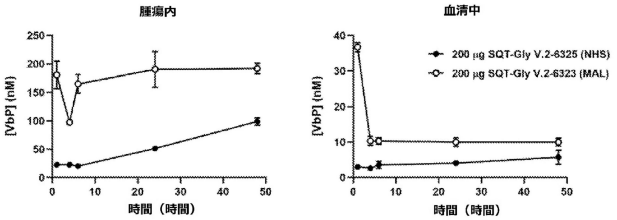
【図２０Ｂ】



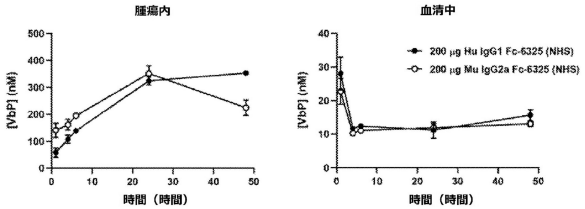
【図２１】



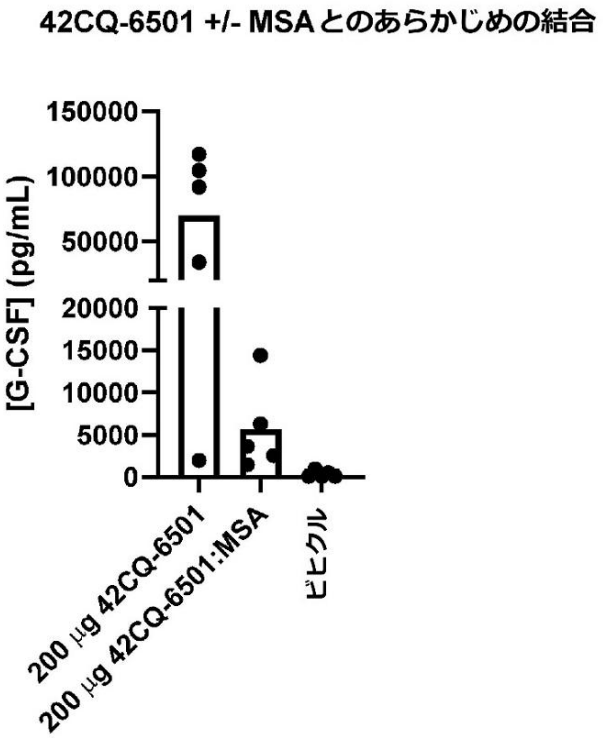
【図２２Ａ】



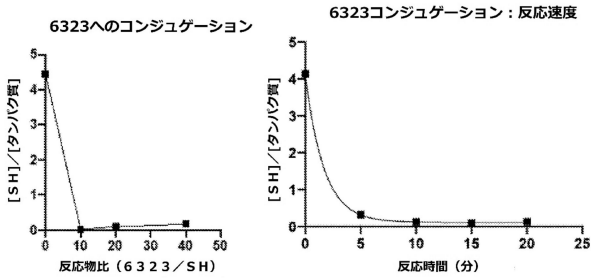
【図２２Ｂ】



【図２３】

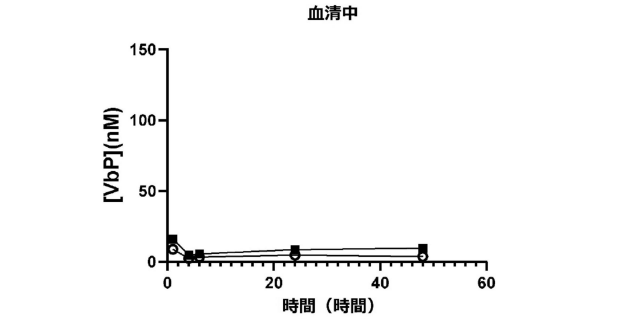


【図２４】

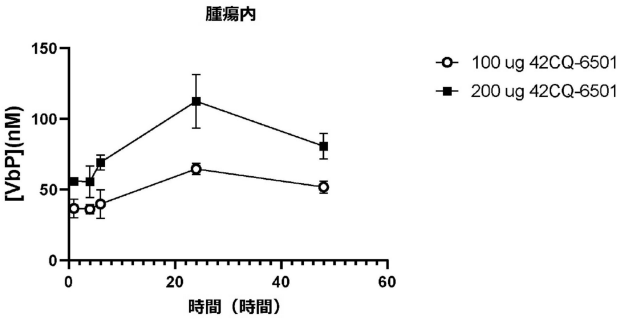


A B

【図２５】

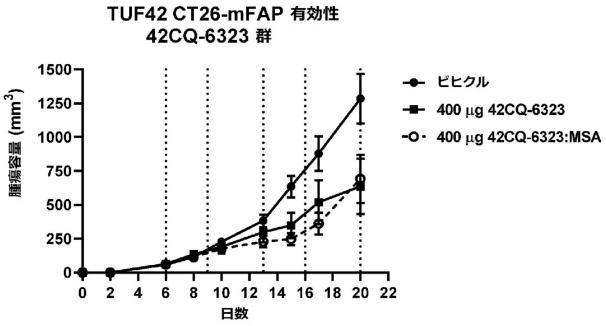


A

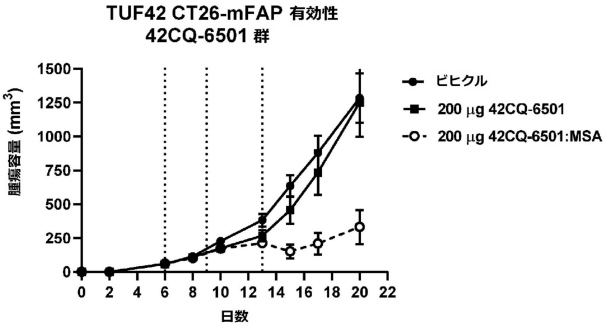


B

【図２６】

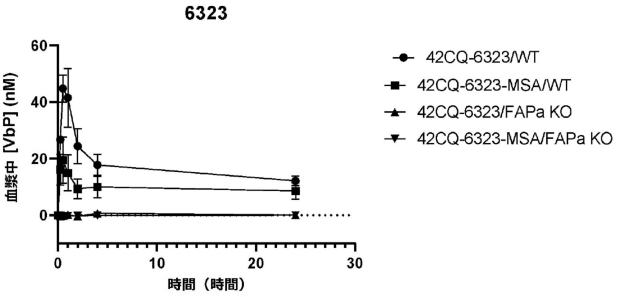


A

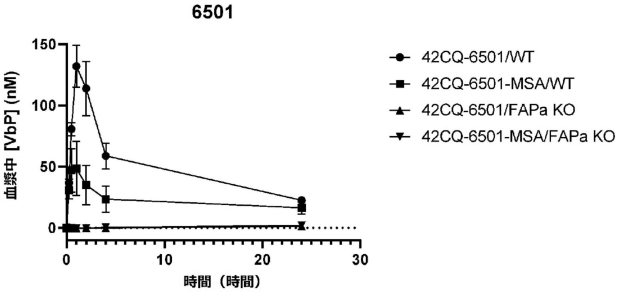


B

【図２７】

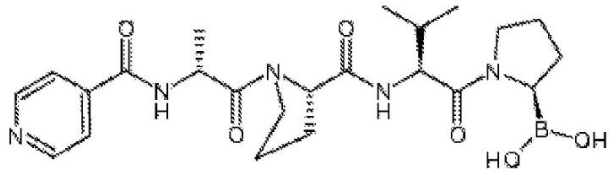


A



B

【図２８】



【配列表】

2023548310000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/057330

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/65 A61K47/68 A61K47/64 A61K47/60 A61P35/00
ADD.

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 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)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE, INSPEC, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/236567 A2 (TUFTS COLLEGE [US]; AVACTA LIFE SCIENCES LTD [GB]) 12 December 2019 (2019-12-12) cited in the application page 2, lines 12-24 page 7, line 15 - page 8, line 1 page 20, lines 28-32 page 51, line 31 - page 52, line 4 page 52, lines 9-10 page 75, line 12 - page 79, line 4 page 104, lines 8-14 page 108, lines 6-12 page 131, line 12 - page 135, line 19 examples 15-18,34 figures 9,11 ----- -/--	1-57

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] 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	Date of mailing of the international search report
3 February 2022	14/02/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Villard, Anne-Laure

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/057330

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/192123 A1 (TUFTS COLLEGE [US]) 17 December 2015 (2015-12-17) page 3, lines 2-8 page 6, line 27 - page 7, line 15 page 8, line 16 - page 9, line 20 page 22, lines 14-15 examples -----	1,2,12, 13, 15-33, 41-53, 55-57
A	BRENNEN W. NATHANIEL ET AL: "Rationale Behind Targeting Fibroblast Activation Protein-Expressing Carcinoma-Associated Fibroblasts as a Novel Chemotherapeutic Strategy", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 11, no. 2, 1 February 2012 (2012-02-01), pages 257-266, XP055885981, US ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0340 Retrieved from the Internet: URL:https://mct.aacrjournals.org/content/molcanther/11/2/257.full.pdf> page 262, left-hand column, paragraph 2 - page 264, right-hand column -----	1-57

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/057330

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. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] 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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2021/057330

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019236567 A2	12-12-2019	AU 2019282150 A1	29-10-2020
		CA 3101640 A1	12-12-2019
		CN 112601554 A	02-04-2021
		EP 3801634 A2	14-04-2021
		JP 2021527042 A	11-10-2021
		KR 20210016372 A	15-02-2021
		SG 11202010890P A	27-11-2020
		TW 202015736 A	01-05-2020
		US 2021353652 A1	18-11-2021
		WO 2019236567 A2	12-12-2019
WO 2015192123 A1	17-12-2015	CA 2952051 A1	17-12-2015
		CN 106573073 A	19-04-2017
		CN 113786495 A	14-12-2021
		CN 113956325 A	21-01-2022
		CN 113967258 A	25-01-2022
		EP 3154594 A1	19-04-2017
		JP 6744826 B2	19-08-2020
		JP 2017519753 A	20-07-2017
		JP 2020183448 A	12-11-2020
		US 2017119901 A1	04-05-2017
		US 2020016114 A1	16-01-2020
		US 2021275491 A1	09-09-2021
		US 2021308090 A1	07-10-2021
		WO 2015192123 A1	17-12-2015

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61K	*31/282 (2006.01)*	A61K	31/282		4H045
A61K	*33/24 (2019.01)*	A61K	33/24		
A61K	*31/4015(2006.01)*	A61K	31/4015		
A61K	*31/145 (2006.01)*	A61K	31/145		
A61K	*31/353 (2006.01)*	A61K	31/353		
A61K	*31/407 (2006.01)*	A61K	31/407		
A61K	*38/07 (2006.01)*	A61K	38/07		
A61K	*31/19 (2006.01)*	A61K	31/19		
A61K	*38/31 (2006.01)*	A61K	38/31		
A61K	*38/22 (2006.01)*	A61K	38/22		
A61K	*31/519 (2006.01)*	A61K	31/519		
A61K	*47/65 (2017.01)*	A61K	47/65		
A61K	*38/39 (2006.01)*	A61K	38/39		
A61K	*38/40 (2006.01)*	A61K	38/40		
A61K	*38/38 (2006.01)*	A61K	38/38		
A61K	*39/395 (2006.01)*	A61K	39/395	D	
A61K	*47/68 (2017.01)*	A61K	39/395	N	
A61K	*47/60 (2017.01)*	A61K	47/68		
C07K	*14/78 (2006.01)*	A61K	47/60		
C07K	*14/765 (2006.01)*	C07K	14/78	ZNA	
C07K	*14/79 (2006.01)*	C07K	14/765		
C07K	*16/00 (2006.01)*	C07K	14/79		
C07K	*19/00 (2006.01)*	C07K	16/00		
C07K	*14/575 (2006.01)*	C07K	19/00		
C07K	*14/655 (2006.01)*	C07K	14/575		
C07K	*14/605 (2006.01)*	C07K	14/655		
		C07K	14/605		

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,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,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士　落合 康

(72)発明者　バスラン，アムリック
英国シービー１・８ピーワイ、ケンブリッジ、ボーモント・ロード４２

(72)発明者　ビンセント，マシュー ピー
アメリカ合衆国０１９１３－５５１２マサチューセッツ州エイムズベリー、クインビー・レイン１２

(72)発明者　ジェンキンス，エマ
英国シーエム２４・８ビービー、エセックス、スタンステッド、ブルック・ロード４７

(72)発明者　アダム，エステル
英国エスジー５・１ユーイー、ヒッチン、ベアートン・ロード４２ビー

(72)発明者　バホフチン，ウィリアム
アメリカ合衆国０２１７６－２１０９マサチューセッツ州メルローズ、ワーウィック・ロード７１

Ｆターム（参考）　4C076　BB11 CC27 EE59 FF31
4C084　AA02 AA17 BA01 BA10 BA16 BA23 BA32 CA18 DA37 DB11 DB13 DB42 DB43 DB59 DC50 MA66 NA12 ZB26
4C085　AA13 AA14 BB31 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB43 EE01 GG01

Fターム（参考）

4C086 AA01 AA02 AA03 BA02 BA06 BA08 CB09 CB22 DA43 HA12 HA28 MA01 MA04 MA66 NA12 ZB26
4C206 AA01 AA02 DA07 JA72 JB14 JB16 JB17 MA86 NA12 ZB26
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 BA50 CA40 DA30 DA35 DA45 DA70 DA75 EA20