

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-511333

(P2021-511333A)

(43) 公表日 令和3年5月6日(2021.5.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	4 B 0 6 4
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 C	4 C 0 8 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 L	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 O 5	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 253 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-540253 (P2020-540253)	(71) 出願人	518445159
(86) (22) 出願日	平成31年1月18日 (2019.1.18)		マジエンタ セラピューティクス インコ
(85) 翻訳文提出日	令和2年8月25日 (2020.8.25)		ーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/IB2019/050446		M A G E N T A T H E R A P E U T I C
(87) 国際公開番号	W02019/142147		S, I N C.
(87) 国際公開日	令和1年7月25日 (2019.7.25)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
(31) 優先権主張番号	62/619,106		2 1 3 9 ケンブリッジ テクノロジー
(32) 優先日	平成30年1月18日 (2018.1.18)		スクエア 1 0 0 フィフス フロア
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100147485
			弁理士 杉村 憲司
		(74) 代理人	230118913
			弁護士 杉村 光嗣
		(74) 代理人	100175477
			弁理士 高橋 林太郎
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 C D 1 3 4 + 細胞の枯渇のための組成物および方法

(57) 【要約】

CD134またはCD278に特異的に結合する抗体-薬物結合体(ADC)の本発明による造血細胞の選択的枯渇によって、移植療法から生じるものなどの移植片対宿主病および自己免疫疾患を予防および治療する方法を提供する。本明細書中に記載される組成物および方法は、自己免疫疾患、幹細胞障害、および他の血中状態を含む種々の病理を処置するために使用され得る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

それを必要とするヒト患者における移植片対宿主病(GVHD)を治療または予防する方法であって、有効量の抗体またはその抗原結合フラグメントを患者に投与することを含む方法はCD134に結合することができ、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される。

【請求項 2】

移植片対宿主病(GVHD)に罹患しているか、またはその危険性があるヒト患者においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD134に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を患者に投与することを含み、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される、方法。 10

【請求項 3】

それを必要とするヒト患者における同種移植片拒絶を治療または予防する方法であって、有効量の抗体またはその抗原結合フラグメントを患者に投与することを含む方法はCD134に結合することができ、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される。

【請求項 4】

アロガフト拒絶が宿主対移植片病(HvGD)で請求項3記載の方法。

【請求項 5】

同種移植片拒絶に罹患しているか、または同種移植片拒絶の危険性があるヒト患者においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD134に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を患者に投与することを含む方法であって、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される。 20

【請求項 6】

同種異系拒絶がHvGDで請求項5に記載の方法。

【請求項 7】

抗体またはその抗原結合フラグメントがモノクローナル抗体で請求項1~6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗体が、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群より選択されるアイソタイプを有する、請求項1~6のいずれか1項に記載の方法。 30

【請求項 9】

前記抗体がIgGであり、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプFcドメインを含む、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

細胞毒素が微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターで請求項1~6に記載の方法。

【請求項 11】

微小管結合剤がメイタンシンまたはメイタンシノイドで請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

マイサンチノイドが、DM1、DM3、およびDM4、ならびにマイタンシノールからなる群から選択される、請求項11に記載の方法。 40

【請求項 13】

RNAポリメラーゼインヒビターがアマトキシシンで請求項10に記載の方法。

【請求項 14】

前記方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者の前に、前記抗体またはその抗原結合フラグメントを前記ヒト患者に投与することを含む、請求項1~6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

前記抗体、その抗原結合フラグメントを、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記ヒト患者に投与することを含む、請求項14に記載の方法。 50

【請求項 16】

前記方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に、前記抗体、その抗原結合フラグメントを前記ヒト患者に投与することを含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 17】

方法が患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 18】

患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日後に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項18に記載の方法。

【請求項 20】

移植が、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植で請求項14～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

ヒト患者が、造血幹細胞を含む同種移植を受けた、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 22】

CD134陽性細胞が活性化T細胞で請求項2または5に記載の方法。

【請求項 23】

抗体、その抗原結合フラグメントが、接点でT細胞によって内在化される、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 24】

前記抗体、その抗原結合フラグメントが、死亡を促進するか、またはT細胞の増殖を抑制する、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 25】

前記患者が幹細胞障害を患っている、請求項1～24のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 26】

前記患者が、異常ヘモグロビン症障害、免疫不全障害、代謝障害、またはがん罹患している、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

異常ヘモグロビン症障害が、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニー貧血、およびウィスコット-アルドリッチ症候群からなる群から選択される、請求項26記載の方法。

【請求項 28】

前記免疫不全障害が先天性免疫不全症または後天性免疫不全症で請求項26に記載の方法。

【請求項 29】

前記後天性免疫不全症がヒト免疫不全ウイルスまたは後天性免疫不全症候群で請求項28に記載の方法。

【請求項 30】

代謝障害が、グリコーゲン蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ脂質投与量、および異染性白質ジストロフィーからなる群より選択される、請求項26記載の方法。

【請求項 31】

前記がんが、白血病、リンパ腫、多発性骨髓腫および骨髓異形成症候群、ならびに神経芽細胞腫からなる群より選択される、請求項26に記載の方法。

【請求項 32】

それを必要とするヒト患者において移植片対宿主病(GVHD)を治療する方法であって、GVHDが治療されるように、抗CD134抗体薬物結合体(ADC)をヒト患者に投与することを含み、ADCが微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD13

10

20

30

40

50

4抗体を含む、方法。

【請求項 3 3】

GVHDを有するか、またはGVHDを発症する危険性があるヒト対象においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD134細胞の集団が枯渇するように、ヒト患者に抗CD134 ADCを投与することを含む方法であって、ADCが、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む、前記方法。

【請求項 3 4】

それを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を治療する方法であって、GVHDが治療されるように、抗CD134抗体薬物結合体(ADC)をヒト患者に投与することを含み、ADCが、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む、方法。

10

【請求項 3 5】

同種移植片拒絶反応を有するか、または同種移植片拒絶反応を発症する危険性があるヒト対象においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD134細胞の集団が枯渇するようにヒト患者に抗CD134 ADCを投与することを含み、ADCが微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む、方法。

【請求項 3 6】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項32～35のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項36に記載の方法。

20

【請求項 3 8】

前記方法が、造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項32～35のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記方法が前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項32～35のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項39に記載の方法。

30

【請求項 4 1】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項40に記載の方法。

【請求項 4 2】

微小管結合剤がメイタンシノイドで請求項32～35のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 4 3】

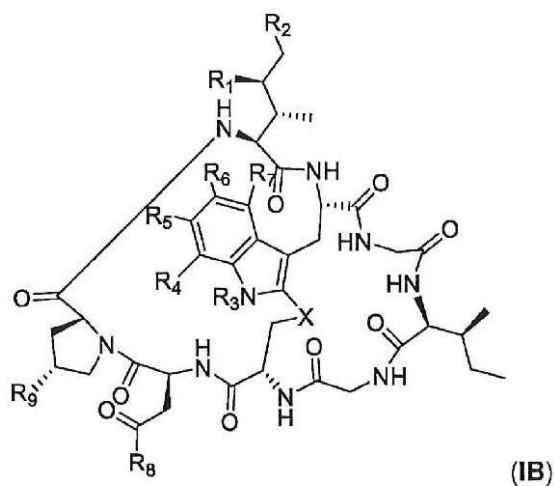
RNAポリメラーゼインヒビターがアマトキシシンで請求項32～35のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 4 4】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここでAbはCD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシシンであり、ここでAm-L-Zは式(1B)によって表される、請求項43に記載の方法(1B)

40

【化 1】



10

20

30

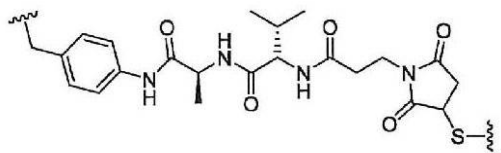
40

ここで、 R_1 はH、OH、 OR_A 、または OR_C である； R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ； OR_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する； R_3 はH、 R_C 、または R_D ； R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ； R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ； R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ； R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ； R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である； R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ； X は $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ ； $OBis$ は $-L-Z$ ； R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1-C_6 アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2-C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2-C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキル、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである； L はリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1-C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1-C_6 ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 アルキニレン)、オプションで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、オプションで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、PT、またはそれらの組合せ； Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、CD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造である。式中、 Am は正確に1個の R_C 置換基を含む。

【請求項 45】

$L-Z$ が、で請求項44に記載の方法

【化 2】

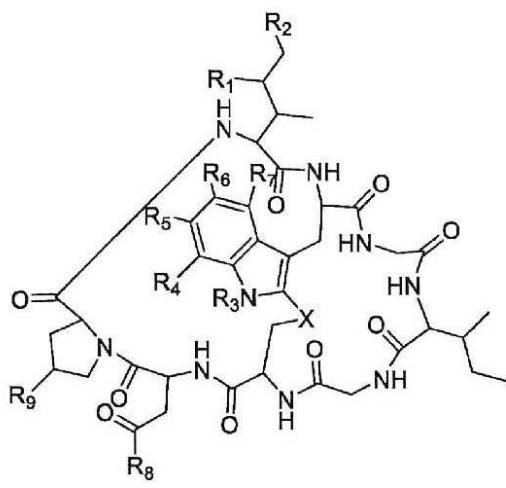


50

【請求項46】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここでAbはCD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシンであり、ここでAm-L-Zは式(I)によって表される、請求項43に記載の方法

【化3】



10

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

20

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

30

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、C₁-C₆のアルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、C₁-C₆のヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、C₂-C₆アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、C₂-C₆のヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、C₂-C₆アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、C₂-C₆のヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールである

40

Lはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、C₁-C₆アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C₁-C₆ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、C₂-C₆アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、C₂-C₆ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、C₂-C₆アルキニレン)、オプションで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、C₂-C₆ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、またはオプションで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、-(C=O)-、ペプト、またはそれらの組合せ；

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134に結合する抗体内に存在する反応性置

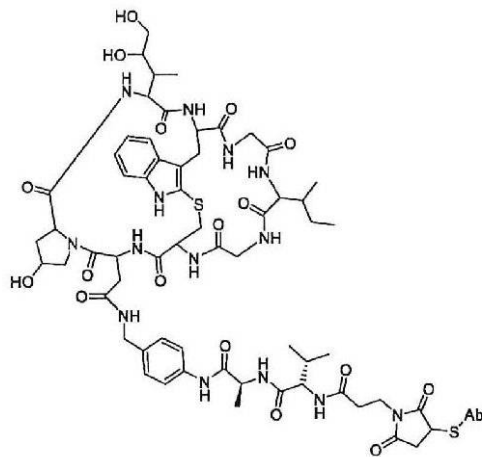
50

換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造である。

【請求項 47】

Am-L-Z-Abが、によって表される、請求項44に記載の方法

【化 4】



10

【請求項 48】

RNAポリメラーゼインヒビターがアマニチンで請求項32~35のいずれか1項に記載の方法

20

。

【請求項 49】

前記アマニチンが、 α アマニチン、 β アマニチン、 γ アマニチン、 ϵ アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリニン酸、およびプロアマヌリンからなる群より選択される、請求項48に記載の方法。

【請求項 50】

同種移植を受けたヒト患者において同種反応性T細胞を枯渇させる方法であって、同種反応性T細胞が枯渇するように抗CD134 ADCをヒト患者に投与することを含む方法であって、ADCが細胞毒素に結合した抗CD134抗体を含む、前記方法。

【請求項 51】

移植が、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植で請求項50記載の方法。

30

【請求項 52】

移植片が造血細胞を含む、請求項50に記載の方法。

【請求項 53】

前記造血幹細胞またはその子孫が前記造血幹細胞の前記患者への移植の2日間以上後に、造血幹細胞の機能的潜在能力を維持する、請求項52に記載の方法。

【請求項 54】

細胞毒素がRNAポリメラーゼインヒビターで請求項50~53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 55】

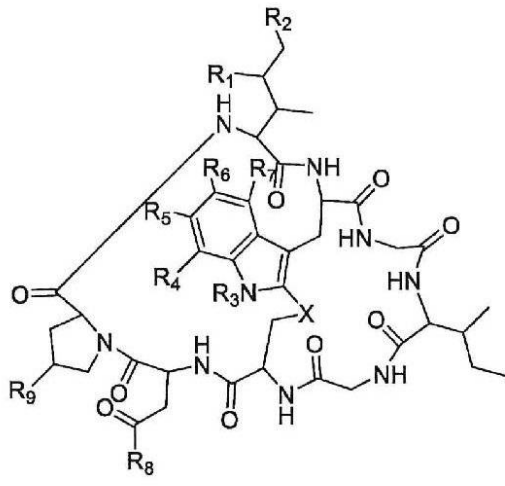
RNAポリメラーゼインヒビターがアマトキシシンで請求項54に記載の方法。

40

【請求項 56】

前記ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここで、Abは抗CD134抗体であり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシシンであり、Am-L-Zは式(I)によって表される、請求項55に記載の方法

【化 5】



10

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1 - C_6 のアルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 のヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 のヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 のヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールである

30

Lはリンカー、例えば、オプショで置換されるアルキレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキレン)、オプショで置換されるヘテロアルキレン(C_1 - C_6 ヘテロアルキレン)、オプショで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルケニレン)、オプショで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニレン)、オプショで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルキニレン)、オプショで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン)、オプショで置換されるシクロアルキレン、オプショで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプショで置換されるアリーレン、またはオプショで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、-(C=O)-、ペプト、またはそれらの組合せ；

40

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134に結合する抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される化学的部分構造である。

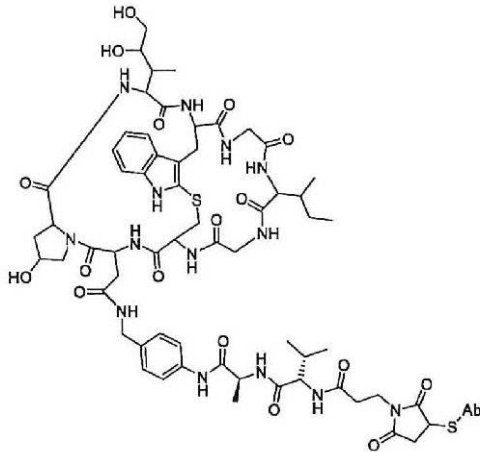
【請求項 57】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、Abが抗CD134抗体であり、Lがリンカーであり、Zが化学的な

50

部分構造であり、Amがアマトキシシンであり、Am-L-Z-Abが次式で表される、請求項55に記載の方法

【化 6】



10

【請求項 58】

RNAポリメラーゼインヒビターがアマニチンで請求項54に記載の方法。

【請求項 59】

請求項58の方法は、 α -amanitin、 β -amanitin、 γ -amanitin、 ϵ -amanitin、amanin、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸およびプロマヌリンからなるグループからアマニチンを選択する。

20

【請求項 60】

ペプチドリinkerを介して細胞毒素に共役された抗CD134抗体を含む抗体薬物共役(ADC)であって、細胞毒素が微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターで共役。

【請求項 61】

RNAポリメラーゼ阻害剤がアマトキシシンで請求項60に記載のADC。

【請求項 62】

前記アマトキシシンがアマニチンで請求項61に記載の抗CD134 ADC。

【請求項 63】

請求項62の抗CD134 ADCは、 α -amanitin、 β -amanitin、 γ -amanitin、 ϵ -amanitin、amanin、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸およびプロマヌリンからなる群からアマニチンを選択する。

30

【請求項 64】

請求項60～63のいずれか1項に記載のADCと、薬学的に活性な担体とを含む医薬組成物。

【請求項 65】

それを必要とするヒト患者において移植片不全またはGVHDを治療する方法であって、前記方法はヒト患者に、請求項60～63のいずれか1項に記載のADCの有効量を投与することを含み、前記ヒト患者は、以前に移植を受けた、ことを特徴とする、移植片不全またはGVHDを治療する。

40

【請求項 66】

前記ヒト患者が、前記ADCの投与の4日前までに前記移植を受けた、請求項65に記載の方法。

【請求項 67】

移植片不全またはGVHDを有する危険性のあるヒト患者を治療する方法であって、前記方法は移植片不全またはGVHDを有する危険性のあるヒト患者に、請求項60～63のいずれか1項に記載のADCの有効量を投与すること、およびその後、ヒト対象に移植片を投与することを含む、方法。

【請求項 68】

ADCが単回投与としてヒト患者に投与される、請求項60～67のいずれか1項に記載の方法

50

。

【請求項 69】

それを必要とするヒト患者における移植片対宿主病(GVHD)を治療または予防する方法であって、有効量の抗体またはその抗原結合フラグメントを患者に投与することを含む方法はCD278に結合することができ、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される。

【請求項 70】

移植片対宿主病(GVHD)に罹患しているか、またはその危険性があるヒト患者においてCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD278に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を患者に投与することを含み、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される、方法。 10

【請求項 71】

それを必要とするヒト患者における同種移植片拒絶を治療または予防する方法であって、有効量の抗体またはその抗原結合フラグメントを患者に投与することを含む方法はCD278に結合することができ、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される。

【請求項 72】

アロガフト拒絶が宿主対移植片病(HvGD)で請求項71に記載の方法。

【請求項 73】

同種移植片拒絶に罹患しているか、または同種移植片拒絶の危険性があるヒト患者においてCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD278に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を患者に投与することを含み、ここで、抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素に結合される、方法。 20

【請求項 74】

同種異系拒絶がHvGDで請求項73に記載の方法。

【請求項 75】

抗体またはその抗原結合フラグメントがモノクローナル抗体で請求項69~74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 76】

前記抗体が、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群より選択されるアイソタイプを有する、請求項69~74のいずれか1項に記載の方法。 30

【請求項 77】

前記抗体がIgGであり、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプFcドメインを含む、請求項76に記載の方法。

【請求項 78】

細胞毒素が微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターで請求項69~74に記載の方法。

【請求項 79】

前記微小管結合剤がマイタンシンまたはマイタンシノイドで請求項78に記載の方法。

【請求項 80】

マイサンチノイドが、DM1、DM3、およびDM4、ならびにマイタンシノールからなる群から選択される、請求項79に記載の方法。 40

【請求項 81】

RNAポリメラーゼインヒビターがアマトキシンで請求項78に記載の方法。

【請求項 82】

方法が造血幹細胞を含む移植を患者が受ける前に、ヒト患者に抗体またはその抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項69~74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 83】

前記抗体、その抗原結合フラグメントを、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記ヒト患者に投与することを含む、請求項82に記載の方法。 50

【請求項 84】

方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項69～74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 85】

方法が患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項69～74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 86】

患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日後に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項85に記載の方法。

【請求項 87】

患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、抗体、その抗原結合フラグメントをヒト患者に投与することを含む、請求項86に記載の方法。

【請求項 88】

移植が、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植で請求項71～74のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 89】

ヒト患者が、造血幹細胞を含む同種移植を受けた、請求項69～74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 90】

CD278陽性細胞が活性化T細胞で請求項70または73に記載の方法。

【請求項 91】

抗体、その抗原結合フラグメントが、接点でT細胞によって内在化される、請求項69～74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 92】

前記抗体、その抗原結合フラグメントが、死亡を促進するか、またはT細胞の増殖を抑制する、請求項69～74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 93】

前記患者が幹細胞障害を患っている、請求項69～74のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 94】

前記患者が、異常ヘモグロビン症障害、免疫不全障害、代謝障害、またはがん罹患している、請求項69～74のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 95】

異常ヘモグロビン症障害が、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニー貧血、およびウィスコット-アルドリッチ症候群からなる群から選択される、請求項94記載の方法。

【請求項 96】

前記免疫不全疾患が、先天性免疫不全症または後天性免疫不全症で請求項94記載の方法。

【請求項 97】

前記後天性免疫不全症がヒト免疫不全ウイルスまたは後天性免疫不全症候群で請求項96に記載の方法。

【請求項 98】

代謝障害が、グリコーゲン蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ脂質投与量、および異染性白質ジストロフィーからなる群より選択される、請求項94記載の方法。

【請求項 99】

前記がんが、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫および骨髄異形成症候群、ならびに神経芽細胞腫からなる群より選択される、請求項94記載の方法。

【請求項 100】

それを必要とするヒト患者において移植片対宿主病(GVHD)を治療する方法であって、GVHDが治療されるように、抗CD278抗体薬物結合体(ADC)をヒト患者に投与することを含み、ADCが微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD27

10

20

30

40

50

8抗体を含む、方法。

【請求項101】

GVHDを有するか、またはGVHDを発症する危険性があるヒト対象においてCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD278細胞の集団が枯渇するように、ヒト患者に抗CD278 ADCを投与することを含み、ADCが微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD278抗体を含む、方法。

【請求項102】

それを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を治療する方法であって、GVHDが治療されるように、抗CD278抗体薬物結合体(ADC)をヒト患者に投与することを含み、ADCが、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒に連結された抗CD278抗体を含む、方法。

10

【請求項103】

同種移植片拒絶反応を有するか、または同種移植片拒絶反応を発症する危険性があるヒト対象においてCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法であって、CD278細胞の集団が枯渇するようにヒト患者に抗CD278 ADCを投与することを含み、ADCが微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD278抗体を含む、方法。

【請求項104】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項100～103のいずれか1項に記載の方法。

【請求項105】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項104に記載の方法。

20

【請求項106】

前記方法が、造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項100～103のいずれか1項に記載の方法。

【請求項107】

前記方法が前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項100～103のいずれか1項に記載の方法。

【請求項108】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項107に記載の方法。

30

【請求項109】

前記方法は前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項107に記載の方法。

【請求項110】

微小管結合剤がメイタンシノイドで請求項100～103のいずれか1項に記載の方法。

【請求項111】

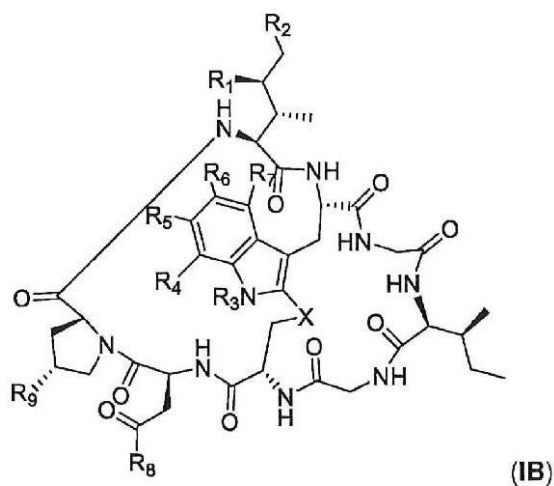
RNAポリメラーゼインヒビターがアマトキシシンで請求項100～103のいずれか1項に記載の方法。

【請求項112】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここで、AbはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシシンであり、ここで、ADCは式Ab-Z-L*Amであり、ここで、AbはCD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシシンであり、ここで、Am-L-Zは式(1B)によって表される、請求項111に記載の方法

40

【化 7】



10

20

30

40

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1 - C_6 アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである；

Lはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1 - C_6 ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルキニレン)、オプションで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、オプションで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、-(C=O)-、PT、またはそれらの組合せ；

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造である

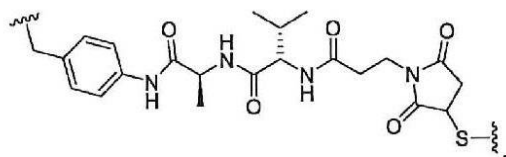
式中、Amは正確に1個の R_C 置換基を含む。

50

【請求項 1 1 3】

L-Zが、で請求項112に記載の方法

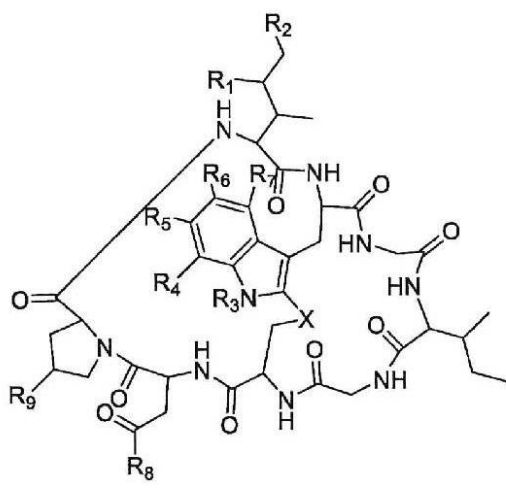
【化 8】



【請求項 1 1 4】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここで、AbはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシンであり、Am-L-Zは式(I)で表される、請求項111に記載の方法

【化 9】



(I)

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

OR_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1 - C_6 のアルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 のヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 のヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 のヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールであるLはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1 - C_6 ヘテロア

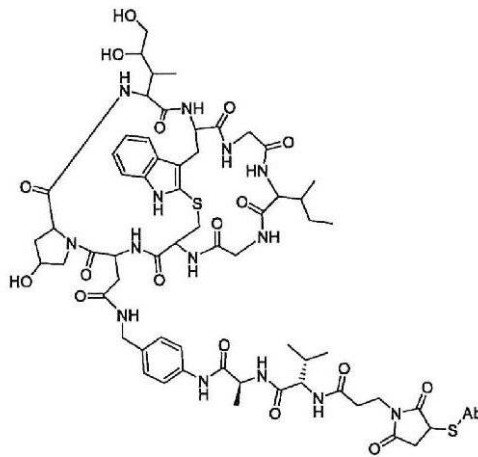
ルキレン)、オプシオンで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 アルケニレン)、オプシオンで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン)、オプシオンで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 アルキニレン)、オプシオンで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン)、オプシオンで置換されるシクロアルキレン、オプシオンで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプシオンで置換されるアリーレン、またはオプシオンで置換されるヘテロアリーレン;ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプト、またはそれらの組合せ;

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD278に結合する抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造である。

【請求項 115】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここで、AbはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシンであり、Am-L-Z-Abは以下の式で表される、請求項111に記載の方法。

【化 10】



【請求項 116】

RNAポリメラーゼインヒビターがアマニチンで請求項100～103のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 117】

請求項116の方法は、 α -amanitin、 β -amanitin、 γ -amanitin、 ϵ -amanitin、amanin、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸およびプロマヌリンからなるグループからアマニチンを選択する方法。

【請求項 118】

同種異系移植を受けたヒト患者において同種反応性T細胞を枯渇させる方法であって、同種反応性T細胞が枯渇するように抗CD278 ADCをヒト患者に投与することを含む方法であって、ADCが細胞毒素に結合した抗CD278抗体を含む、前記方法。

【請求項 119】

前記移植が、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植で請求項118に記載の方法。

【請求項 120】

移植片が造血細胞を含む、請求項118に記載の方法。

【請求項 121】

前記造血幹細胞またはその子孫が前記造血幹細胞を前記患者に移植した後、2日間以上経過した後に、造血幹細胞の機能的潜在能力を維持する、請求項120に記載の方法。

【請求項 122】

細胞毒素がRNAポリメラーゼインヒビターで請求項118～121のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 123】

10

20

30

40

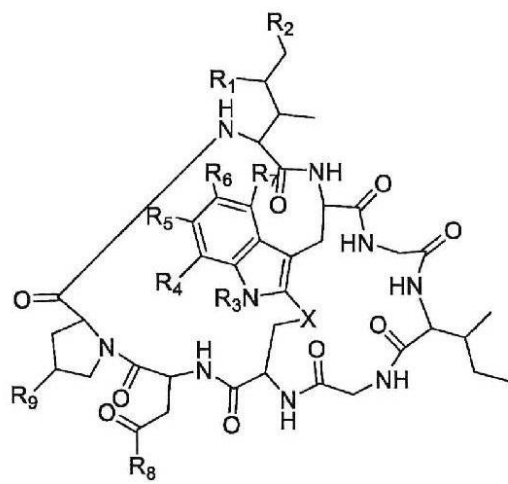
50

RNAポリメラーゼインヒビターがアマトキシシンで請求項122に記載の方法。

【請求項124】

前記ADCが式Ab-Z-L-Amであり、ここで、Abは抗CD278抗体であり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシシンであり、Am-L-Zは式(I)によって表される、請求項118に記載の方法

【化11】



(I)

10

20

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1 - C_6 のアルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 のヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 のヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 のヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールであるLはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1 - C_6 ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルキニレン)、オプションで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、またはオプションで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、-(C=O)-、ペプト、またはそれらの組合せ；

30

40

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD278に結合する抗体内に存在する反応性置

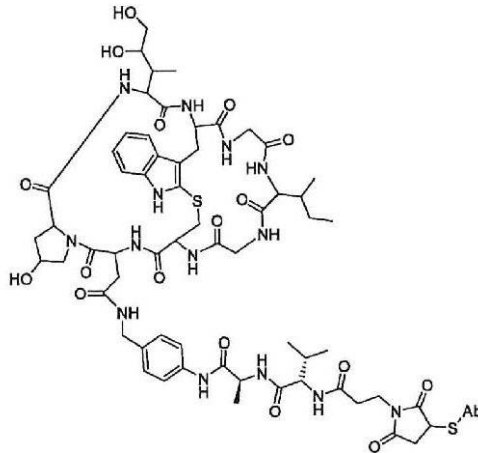
50

換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造である。

【請求項 1 2 5】

ADCが式Ab-Z-L-Amであり、Abが抗CD278抗体であり、Lがリンカーであり、Zが化学的な部分構造であり、Amがアマトキシンであり、Am-L-Z-Abが次式で表される、請求項118に記載の方法。

【化 1 2】



10

20

【請求項 1 2 6】

RNAポリメラーゼインヒビターがアマニチンで請求項122に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

請求項126の方法は、 α -amanitin、 β -amanitin、 γ -amanitin、 ϵ -amanitin、amanin、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロマヌリンからなるグループからアマニチンを選択する方法。

【請求項 1 2 8】

ペプチドリinkerを介して細胞毒素に共役された抗CD278抗体を含む抗体薬物共役(ADC)であって、細胞毒素が微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターで共役。

30

【請求項 1 2 9】

RNAポリメラーゼ阻害剤がアマトキシンで請求項128に記載のADC。

【請求項 1 3 0】

前記アマトキシンがアマニチンで請求項129に記載の抗CD278 ADC。

【請求項 1 3 1】

請求項130の抗CD278 ADCは、 α -amanitin、 β -amanitin、 γ -amanitin、 ϵ -amanitin、amanin、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸およびプロマヌリンからなる群からアマニチンを選択するADC。

【請求項 1 3 2】

請求項128~131のいずれか1項に記載のADCと、薬学的に活性な担体とを含む医薬組成物。

40

【請求項 1 3 3】

それを必要とするヒト患者において移植片不全またはGVHDを治療する方法であって、前記方法はヒト患者に、請求項128~131のいずれか1項に記載のADCの有効量を投与することを含み、前記ヒト患者は、以前に移植を受けた、ことを特徴とする、移植片不全またはGVHDを治療する方法。

【請求項 1 3 4】

前記ヒト患者は、前記ADCの投与の4日前までに前記移植を受けたことを特徴とする請求項133に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

50

移植片不全またはGVHDを有する危険性のあるヒト患者を治療する方法であって、前記方法は移植片不全またはGVHDを有する危険性のあるヒト患者に、128～131のいずれか1項に記載のADCの有効量を投与すること、およびその後、ヒト対象に移植片を投与することを含む、方法。

【請求項 1 3 6】

ADCが単回投与としてヒト患者に投与される、請求項133～135のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【関連出願】

【0001】

本出願は、平成30年1月18日に出願された米国仮出願第62/619,106号の優先権を主張する。上記出願の含有量は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【技術分野】

【0002】

本発明は移植治療の分野に関し、抗体、抗体-薬物結合体、および造血細胞によって発現される抗原に結合することができるリガンド-薬物結合体の投与による、自己免疫疾患または移植片対宿主病(GVHD)の処置のための方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

造血幹細胞は著しい治療可能性を有するが、臨床におけるそれらの使用を妨げている限界は細胞移植の数日間または数週間後の移植片対宿主病(GVHD)の発症であった。移植後のGVHDの治療に関してかなりの進歩がなされてきたが、特にGVHDによる死亡率の低下に関して、方法の改善が当技術分野において依然として必要とされている。GVHDの従来の治療には、コルチコステロイドやシクロスポリンなどの強力な薬物による全身性免疫抑制療法が必要である。ステロイド耐性GVHD患者には、ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン(シロリムス)、イマチニブ、リツキシマブなどの薬剤が使用される。しかしながら、これらの治療は有効性が限られており、しばしば重度の有害作用を引き起こす。GVHD患者の50%のみが診断後5年以内に免疫抑制治療を中止でき、10%は5年を超える継続治療を必要とする。残りの40%は、GVHDが解決する前に死亡または再発悪性腫瘍を発症する。高リスクGVHD(血小板(platelet)数が10万/マイクロリットル未満またはGVHDからの進行性発症)の5年生存率は40～50%に過ぎない。このように、GVHDを予防および治療するための革新的戦略の開発は、重要な未充足の臨床的ニーズを表している。

【0004】

GVHDと同様に、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、I型糖尿病などの自己免疫疾患は、正常な自己組織に対する異常な免疫反応を特徴とする。自己免疫疾患は自己反応性T細胞の産生と宿主組織に反応する抗体(自己抗体)を特徴とする。自己免疫疾患の従来の治療法には、免疫反応を全体的に減弱させる免疫抑制剤がある。このような薬剤の有益性は、日和見感染に対する感受性、悪性腫瘍の長期リスク、毒性およびその他の好ましくない副作用によって、しばしば抑えられる。したがって、GVHDと自己免疫疾患の両方の細胞性メディエーターをより特異的に標的とする戦略を開発する必要がある。

【発明の概要】

【0005】

GVHDおよび自己免疫疾患に関連する罹患率および死亡率を減少させるために、造血幹細胞移植療法を受けているヒト患者などの患者において、急性および慢性形成の移植片対宿主病(GVHD)または自己免疫疾患を予防および治療するための方法を提供する。本発明はさらに、とりわけ、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニー貧血、ウィスコット-アルドリッチ症候群、アデノシン・デアミナーゼ欠損症重度複合免疫不全症、異染色性白質ジストロフィー、ダイヤモンド-ブラックファン貧血およびシュワッハマン-ダイヤモンド症候群、ヒト免疫不全ウイルス感染、および後天性免疫不全症候群などの様々な造血状態を治療する方法を特徴とする。

【0006】

ある特定の実施形態に、本明細書中に開示される方法および組成物は、同種骨髄移植を受けた(または受けようとしている)ヒト患者における同種移植片拒絶を処置または予防するために使用される。

【0007】

患者内の造血細胞(例えば、T細胞)の本発明を枯渇させるために、造血細胞(例えば、CD134またはCD278)によって発現されるタンパク質を結合し得る、抗体、抗体-薬物結合体(ADC)、リガンド、およびリガンド-薬物結合体で患者を処置する方法を特徴とする。このT細胞の選択的除去は、GVHDおよび自己免疫疾患を有意に減少させる一方で、全生存率および無再燃生存率を改善する。

10

【0008】

第1の局面において、本発明は、CD134に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者における移植片対宿主病(GVHD)を処置または予防する方法を特徴とする。

【0009】

第2の局面において、本発明は、CD134に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者におけるCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。

0010 第3の局面において、本発明は、CD134に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者における自己免疫疾病を処置する方法を特徴とする。

20

【0010】

第4の局面において、本発明は、CD134に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、自己免疫疾病に罹患しているか、または自己免疫疾病の危険性があるヒト患者におけるCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。

0012 別の態様において、本発明は、CD134に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者における同種移植片拒絶を処置または予防する方法を特徴とする。ある特定の

30

【0011】

別の態様において、本発明は、CD134に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、同種移植片拒絶に罹患しているか、または同種移植片拒絶の危険性があるヒト患者におけるCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法

【0012】

別の態様において、本発明は、CD278に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者においてGVHDを処置または予防する方法を特徴とする。

40

【0013】

別の態様において、本発明は、CD278に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者におけるCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。

【0014】

別の態様において、本発明は、CD278に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者における自己免疫疾病を処置する方法を特徴とする。

50

【0015】

別の態様において、本発明は、CD278に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、自己免疫疾病に罹患しているか、または自己免疫疾病の危険性があるヒト患者におけるCD278+細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。

【0016】

別の態様において、本発明は、CD278に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者における同種移植片拒絶を処置または予防する方法を特徴とする。ある特定の実施形態に、同種移植片拒絶は宿主対移植片病(HvGD)である。

10

【0017】

別の態様において、本発明は、CD278に結合し得る抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体薬物結合体(ADC)の有効量を患者に投与することによって、同種移植片拒絶に罹患しているか、または同種移植片拒絶の危険性があるヒト患者において、CD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とする。ある特定の実施形態に、同種移植片拒絶は宿主対移植片病(HvGD)である。

【0018】

いくつかの実施形態に、抗体、その抗原結合フラグメント、または抗体-薬物結合体はヒトCD134に結合し、そのアミノ酸配列は以下に提供される

(NCBI参考配列: NP_003318.1):

20

mcvgarrlgr gpcaalllllg lglstvtglh cvgdtypsnd rcchecrp gn gmvsrscrsqntvcrpcpgp fynd
vvsskp ckpctwcnlr sgserkqlct atqdtvcr cr agtqpldsykpgvdcapcpp ghfsgpdnqa ckpwtnc t
la gkhtlqpasn ssdaicedrd ppatqpqetqgpparpitvq pteawprtsq gpstrpvevp ggravaailg l
glvlgllgp laillalyllrrdqr lppda hkppgggsfr tpiqeeqada hstlaki:(配列番号(SEQ ID NO
): 1)

【0019】

いくつかの実施形態に、抗体、その抗原結合フラグメント、または抗体-薬物結合体はヒトCD278に結合し、そのアミノ酸配列は以下に提供される

(NCBI参考配列: NP_036224.1):

30

VLFLRLIKFLCLRIGGSINGSINGSIEMFIGVQKQFQILQFQKQFQKQKLLGCDLTKGSNTKGSNSLKVNSFFQNSNYL
DHSNYLDHSNYFCLSNYLSIFCFPPPFKTLGYLYESQCCLQFLQFKWLPIGCAAFVVVVCCILGCICILICWLITKKKYS
SSSSVHDPNGEYMFVNTAKSRLTDVTL(配列番号(SEQ ID NO): 2)

【0020】

いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、またはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメント、ポリクローナル抗体またはその抗原結合フラグメント、ヒト化抗体またはその抗原結合フラグメント、バイスペシフィック抗体(bispecific antibody)またはその抗原結合フラグメント、二重可変免疫グロブリン・ドメイン、単鎖Fv分子(scFv)、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質足場、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムdi-scFvからなる群より選択される。別の実施形態において、抗CD134もしくは抗CD278抗体、またはその抗原結合フラグメントはIgGであり、そしてヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプFcドメインを含む。

40

【0021】

いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体は、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群より選択されるアイソタイプを有する。

【0022】

いくつかの実施形態に、FcドメインはヒトIgG1アイソタイプFcドメインである。いくつかの実施形態に、FcドメインはヒトIgG2アイソタイプFcドメインである。いくつかの実施形態に、FcドメインはヒトIgG3アイソタイプFcドメインである。いくつかの実施形態に、

50

FcドメインはヒトIgG4アイソタイプFcドメインである。

【0023】

別の態様において、本発明はそれを必要とするヒト患者においてGVHDを処置する方法を特徴とし、この方法は、有効量の抗CD134 ADCを患者に投与する工程を包含する。

【0024】

別の態様において、本発明はGVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者において、CD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、この方法は、有効量の抗CD134または水溶性CD134リガンドを患者に投与する工程を包含する。

【0025】

別の態様において、本発明はそれを必要とするヒト患者における自己免疫病を処置する方法を特徴とし、この方法は、有効量の抗CD134 ADCまたは水溶性CD134リガンドを患者に投与する工程を包含する。

10

【0026】

別の態様において、本発明は自己免疫病に罹患しているかまたは自己免疫病の危険性があるヒト患者においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、この方法は、有効量の抗CD134 ADCまたは水溶性CD134リガンドを患者に投与する工程を包含する。

【0027】

別の態様において、本発明はそれを必要とするヒト患者においてGVHDを処置する方法を特徴とし、この方法は、有効量の抗CD278 ADCを患者に投与する工程を包含する。

【0028】

別の態様において、本発明はGVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者において、CD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、この方法は、有効量の抗CD278 ADCを患者に投与する工程を包含する。

20

【0029】

別の態様において、本発明はそれを必要とするヒト患者における自己免疫病を処置する方法を特徴とし、この方法は、有効量の抗CD278 ADCを患者に投与する工程を包含する。

【0030】

別の態様において、本発明は自己免疫病に罹患しているかまたは自己免疫病の危険性があるヒト患者においてCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、この方法は、有効量の抗CD278 ADCを患者に投与する工程を包含する。

30

【0031】

別の態様において、本発明は同種移植を受けたヒト患者において同種反応性T細胞を枯渇させる方法の特徴とし、この方法は抗CD134 ADC(または抗CD278 ADC)を、同種反応性T細胞が枯渇するようにヒト患者に投与する工程を包含し、ここで、ADCは、細胞毒素に結合された抗CD134抗体(または抗CD278)を含む。いくつかの実施形態では、移植は骨髄移植、末梢血移植、臍帯血移植である。いくつかの実施形態に、移植片は造血細胞を含む。いくつかの実施形態に、造血幹細胞またはその子孫は、造血幹細胞の移植後2日以上後に造血幹細胞の機能的能力を維持する。いくつかの実施形態に、細胞毒素はRNAポリメラーゼインヒビターである。他の実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤がアマトキシンである。

40

【0032】

いくつかの実施形態に、抗体(例えば、抗CD134抗体または抗CD278抗体)またはその抗原結合フラグメントは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターのような細胞毒に結合される。いくつかの実施形態に、抗CD134もしくは抗CD278抗体もしくはその抗原結合フラグメント、または水溶性CD134もしくはCD278リガンドは、リンカーによって微小管結合剤に結合される。いくつかの実施形態に、抗CD134もしくは抗CD278抗体もしくはその抗原結合フラグメント、または水溶性CD134もしくはCD278リガンドは、リンカーによってRNAポリメラーゼインヒビターに結合される。

【0033】

いくつかの実施形態に、微小管結合剤はメイタンシンまたはメイタンシノイドである。

50

【0034】

いくつかの実施形態に、メイタンシノイドは、DM1、DM3、およびDM4、ならびにメイタンシノールからなる群から選択される。

【0035】

いくつかの実施形態に、メイタンシノイドはメイタンシノールアナログである。

【0036】

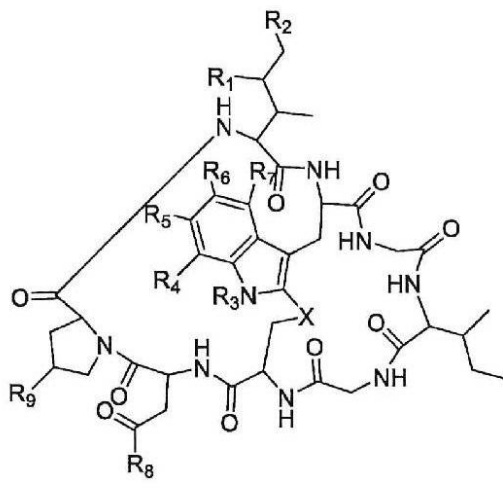
いくつかの実施形態に、RNAポリメラーゼインヒビターはアマトキシシンである。

【0037】

上記の局面のいずれかのいくつかの実施形態において、細胞毒素は、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンなどのアマトキシシンまたはその誘導体である。ある実施形態に、細胞毒素はアマニチンである。上記の局面のいずれかのいくつかの実施形態において、細胞毒素はアマトキシシンであり、そして抗体またはその抗原結合フラグメントはリンカーおよび化学的な部分構造を介してアマトキシシンに結合されて、式Ab-Z-L-Am(ここで、Abは抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、そしてAmはアマトキシシン)によって表されるADCを形成する。

0040 いくつかの実施形態に、アマトキシシンはリンカーに結合される。いくつかの実施形態に、アマトキシシン-リンカー共役Am-L-Zは、式(I)で表される

【化1】



【0038】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

【0039】

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、C₁-C₆アルキル)、任意選択的に置

換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2-C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニール(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニール)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2-C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニール(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニール)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである；

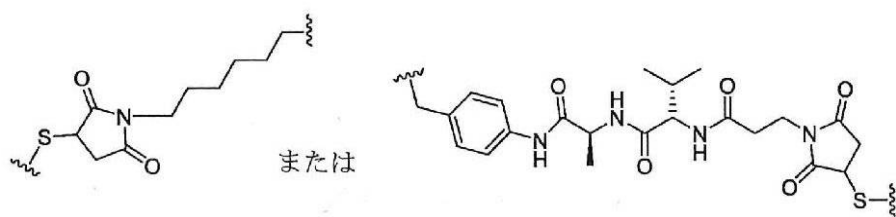
【0040】

Lは任意に代替されたアルキレン(例えば C_1-C_6 アルキレン)、任意に代替されたヘトルキレン(C_1-C_6 アルキレン)、任意に代替されたアルケニレン(例えば C_2-C_6 アルケニレン)、任意に代替されたヘテロアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン)、任意に代替されたアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 アルキニレン)、任意に代替されたリンカー(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン)、任意に代替されたヘテロールキレン、任意に代替されたヘテロールキレン、任意に代替されたアリーレン、又は任意に代替されたヘテロアリーレン；ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、又はその組合せ；ZはLに存在する反応代替物質と抗体内に存在する反応代替物質、又はその抗原結合断片との間の結合反応から形成される化学的な部分構造であり、CD134又はCD278を結合する。

【0041】

いくつかの実施形態に、Amは正確に1個の R_c 置換基を含む。

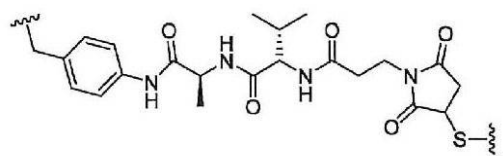
【化2】



【0042】

いくつかの実施形態に、リンカーLおよび化学的な部分構造Zは、ともにL-Zとみなされ、ここで、SはCD134またはCD278(例えば、システイン残基の-SH基由来)に結合する、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である。

【化3】



【0043】

いくつかの実施形態に、L-Zは0044であり、いくつかの実施形態に、Am-L-Z-Abはである：

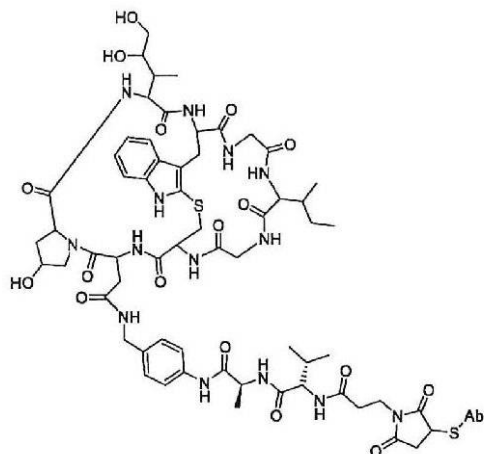
10

20

30

40

【化 4】

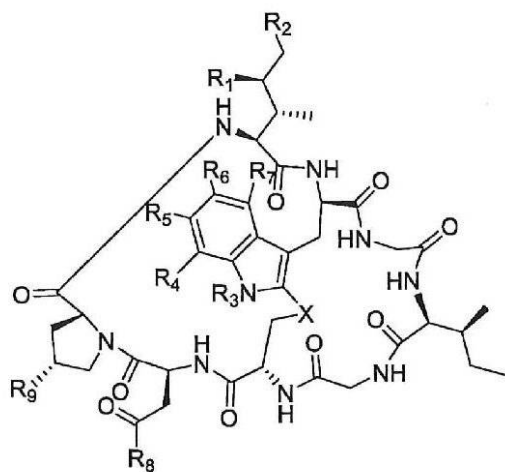


10

【 0 0 4 4】

いくつかの実施形態中、Am-L-Zは、式(IA)で表される

【化 5】



(IA)

20

30

(IA)

【 0 0 4 5】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

40

【 0 0 4 6】

OBis -L-Z；

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、C₁-C₆アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、C₁-C₆ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、C₂-C₆アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニール(

50

例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニール)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2-C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニール(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニール)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリーール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである;

Lはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1-C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1-C_6 ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 アルキニレン)、オプションで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、オプションで置換されるヘテロアリーレン;ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、PT、またはそれらの組合せ;

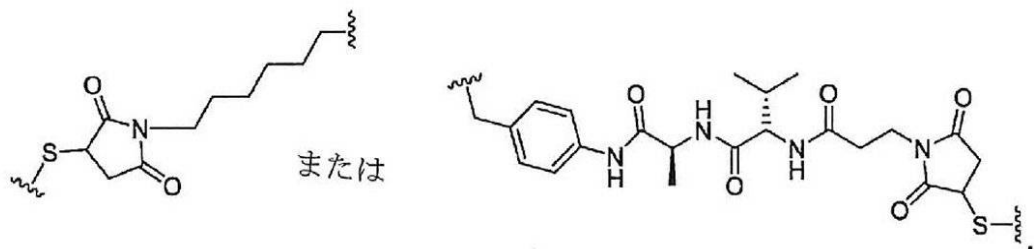
【0047】

ZはL上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造であり、ここで、Amは、正確に1つの R_c 置換基を含む。

【0048】

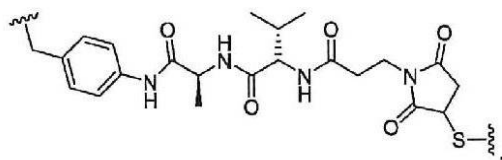
いくつかの実施形態に、リンカーL及び化学的な部分構造Zは、L-Zとして一緒になって

【化6】



L-Zは、いくつかの実施形態である。

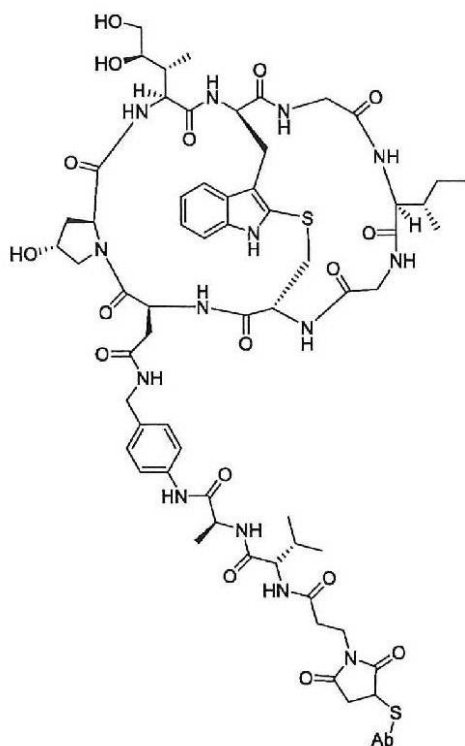
【化7】



【0049】

Am-L-Z-Abは、いくつかの実施形態である。

【化 8】



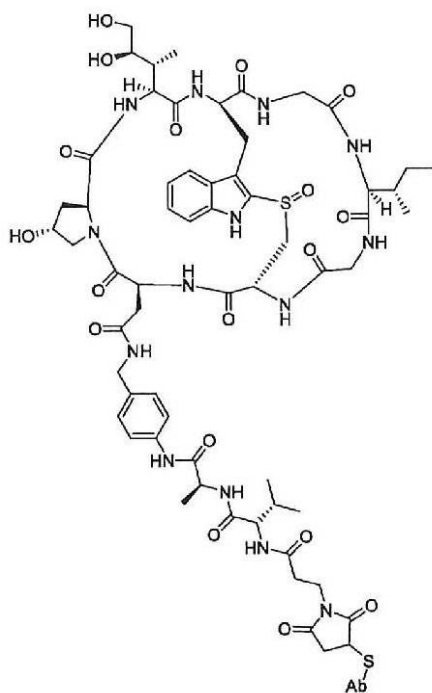
10

20

【 0 0 5 0】

Am-L-Z-Abは、いくつかの実施形態である。

【化 9】



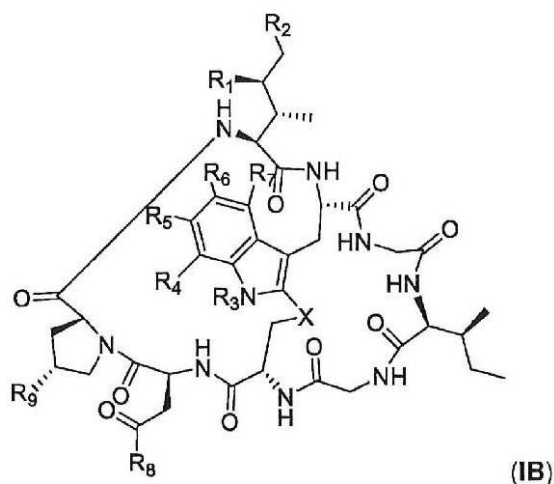
30

40

【 0 0 5 1】

いくつかの実施形態中、Am-L-Zは、式(1B)で表される

【化 10】



10

【0052】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

20

【0053】

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

30

OBis -L-Z；

【0054】

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1 - C_6 アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリーール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである；

Lはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1 - C_6 ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルキニレン)、オプションで置換されるヘテロアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、オプションで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、-(C=O)-、PT、またはそれらの組合せ；

40

【0055】

ZはL上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体内に存在する反応

50

性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造であり、ここで、Amは、正確に1つの R_C 置換基を含む。

【0056】

いくつかの実施形態において、Am-L-Zは数式(I)、(IA)または(IB)で表され、 R_1 はH、OH、 OR_A 、または OR_C である；

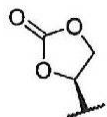
【0057】

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

R_A と R_B が存在する場合、それらがバインドされているアトムと一緒に結合して形成される；

【化11】

10



R_3 がHまたは R_C ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C ；

R_9 はHまたはOHであり、ここで、X、 R_C および R_D は、それぞれ上記で定義されたとおりである。

20

【0058】

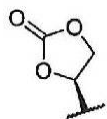
いくつかの実施形態において、Am-L-Zは数式(I)、(IA)または(IB)で表され、 R_1 はH、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

R_A と R_B はそれらが結合されている原子と共に、結合して形成される；

【化12】

30



R_3 がHまたは R_C ；

R_4 と R_5 はそれぞれ個別にH、OH、 OR_C 、 R_C 、または OR_D ；

R_6 と R_7 はそれぞれH；

R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C ；

R_9 はHまたはOHであり、ここで、Xおよび R_C は、上記で定義されたとおりである。

j か k

40

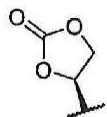
【0059】

0052 いくつかの実施形態において、Am-L-Zは数式(I)、(IA)または(IB)で表され、 R_1 はH、OHまたは OR_A である；

R_2 はH、OH、または OR_B ；

R_A と R_B はそれらが結合されている原子と共に、結合して形成される；

【化 1 3】



R_3 、 R_4 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_5 が OR_C ;

R_8 がOHまたは NH_2 ;

R_9 はHまたはOHであり、ここで、Xおよび R_C は、上記で定義されたとおりである。

【0060】

いくつかの実施形態において、Am-L-Zは数式(I)、(IA)または(IB)で表され、ここで、 R_1 および R_2 はそれぞれ独立にHまたはOHである;

R_3 が R_C ;

R_4 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_5 は、H、OH、または OC_1-C_6 のバイトである;

R_8 がOHまたは NH_2 ;

R_9 はHまたはOHであり、ここで、Xおよび R_C は、上記で定義されたとおりである。

【0061】

いくつかの実施形態において、Am-L-Zは数式(I)、(IA)または(IB)で表され、ここで、 R_1 および R_2 はそれぞれ独立にHまたはOHである;

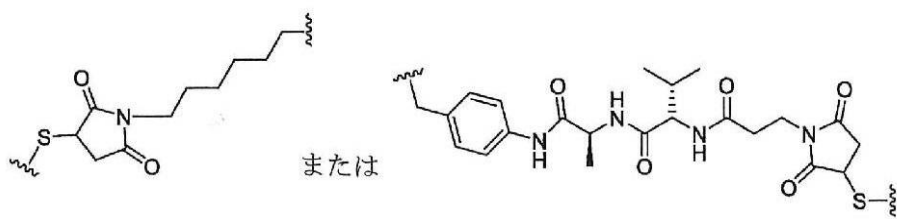
R_3 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_4 と R_5 はそれぞれ個別にH、OH、 OR_C 、または R_C ;

R_8 がOHまたは NH_2 ;

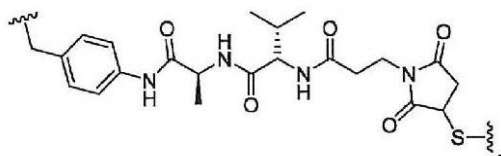
R_9 はHまたはOHであり、ここで、Xおよび R_C は、上記で定義されたとおりである。

【化 1 4】



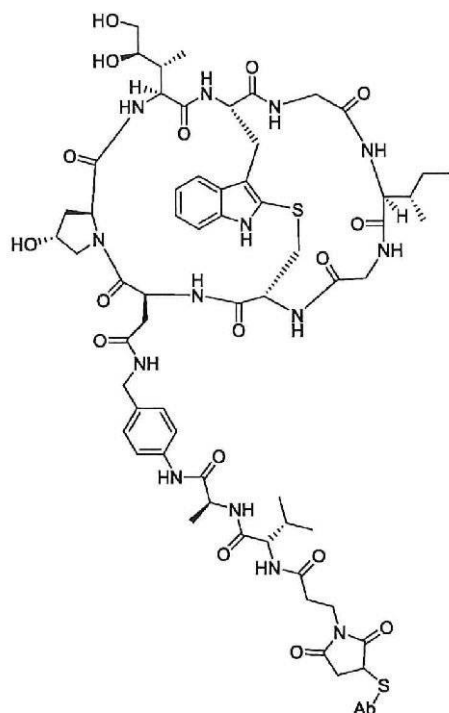
L-Zは、いくつかの実施形態である。

【化 1 5】



Am-L-Z-Abは、いくつかの実施形態である。

【化 1 6】



10

20

Am-L-Z-Abは、いくつかの実施形態である。

【0062】

いくつかの実施形態において、Am-L-Zは数式(I)、(IA)または(IB)で表され、ここで、 R_1 および R_2 はそれぞれ独立にHまたはOHである；

R_3 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH；

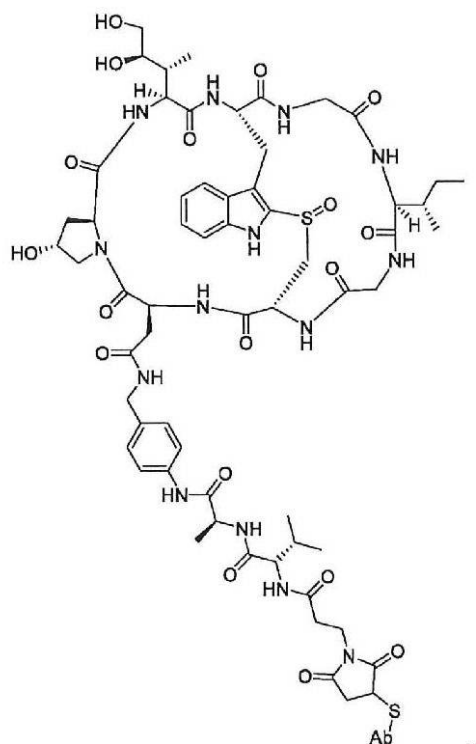
R_4 と R_5 はそれぞれ独立してHまたはOHである；

R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C ；

R_9 はHまたはOHであり、ここで、Xおよび R_C は、上記で定義されたとおりである。

30

【化 1 7】

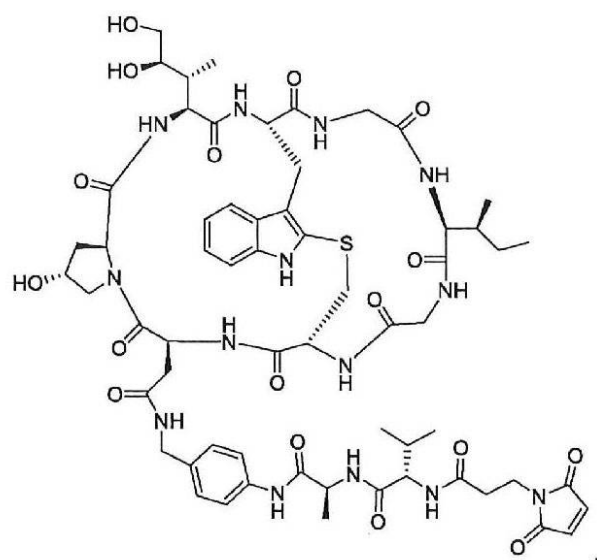


10

20

Am-L-Z-Abは、いくつかの実施形態である。

【化 1 8】

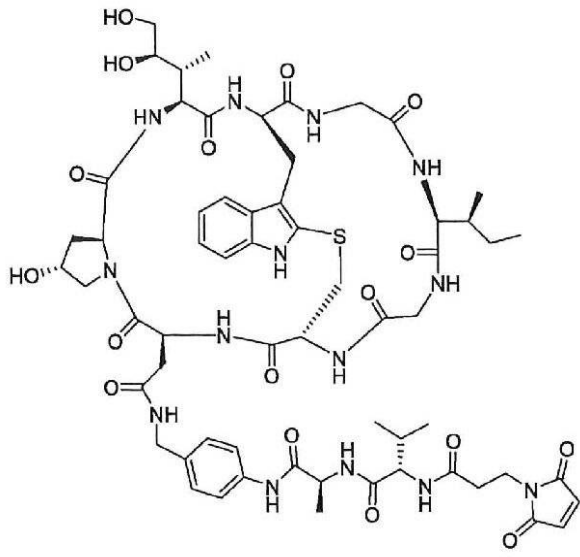


30

40

Am-L-Z-Abは、いくつかの実施形態である。

【化 1 9】



10

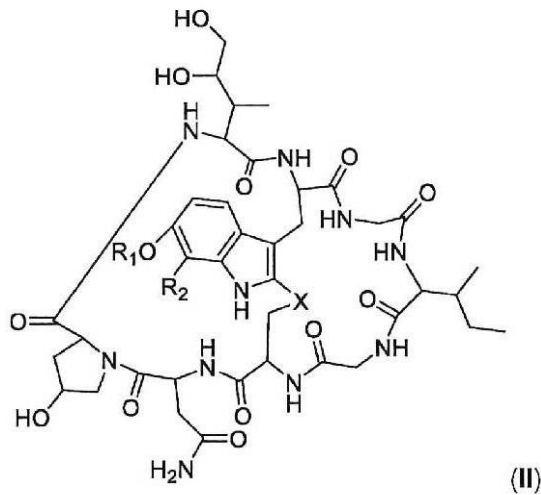
いくつかの実施形態に、リンカーLおよび化学的な部分構造ZはL-Zとして一緒になって

、いくつかの実施形態、Am-L-Z-Ab前駆物質はマレイミドが抗体中のシステイン上に見出さ
れるチオール基と反応するものである。

いくつかの実施形態に、Am-L-Z-Ab前駆体は、マレイミドが抗体中のシステイン上に見ら
れるチオール基と反応するものである。

いくつかの実施形態に、Am-L-Zは、式(II)、式(IIA)、または式(IIB)で表される

【化 2 0】

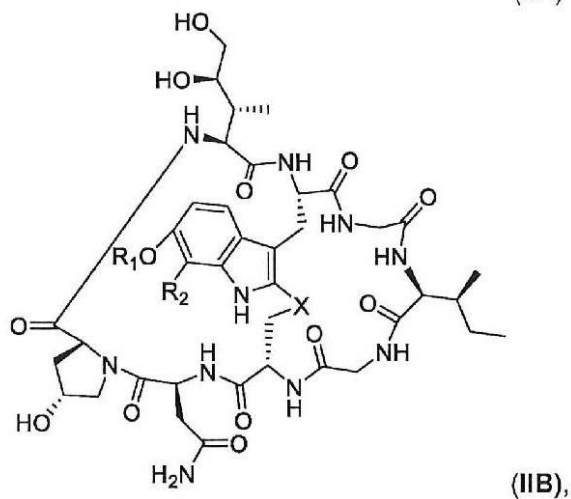
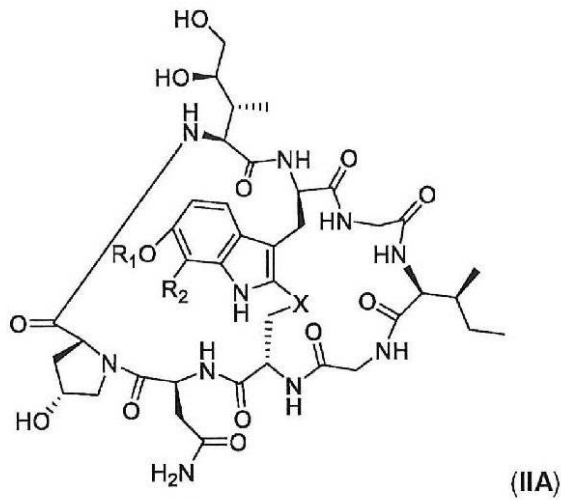


(II)

30

40

【化 2 1】



【0063】

(IIB)(式中、XはS、SO、またはSO₂; R₁であり、リンカー上に存在する反応性置換基と抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される、化学的な部分構造Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合したHまたはリンカーであり; R₂はリンカー上に存在する反応性置換基と抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される、化学的な部分構造Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合したHまたはリンカーであり; ここで、R₁がHである場合、R₂はリンカーであり、R₂がHである場合、R₁はリンカー)。

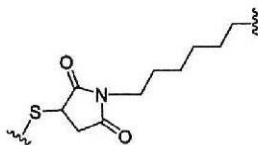
30

【0064】

いくつかの実施形態に、リンカーは-(CH)_{2n}ユニットを含み、ここでnは2~6の整数である。

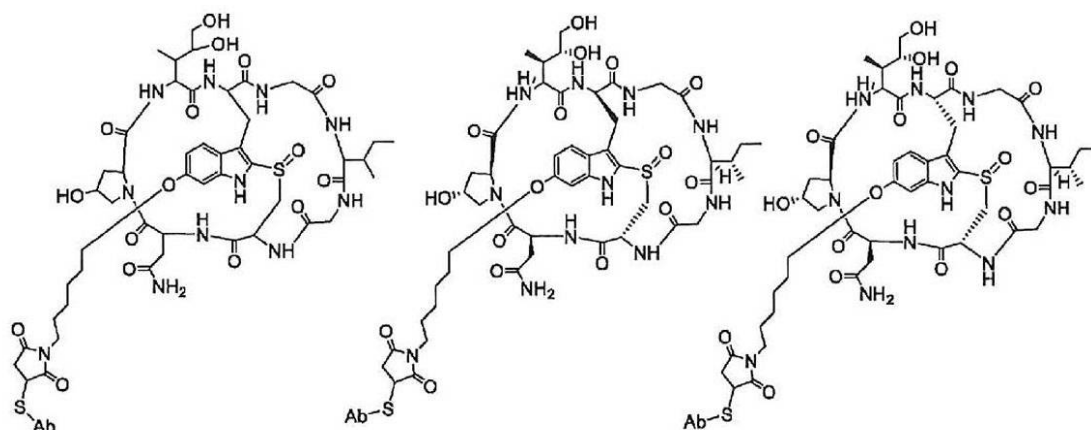
40

【化 2 2】



いくつかの実施形態に、 R_1 はリンカーであり、 R_2 はHであり、L-Zとして一緒になって、Am-L-Z-Abであり、リンカーおよび化学的な部分構造はの1つ:

【化 2 3】



10

【0065】

いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に患者に送達される。

20

いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または細胞毒に結合された水溶性CD134リガンドは患者への造血幹細胞の投与の約3日前に患者に送達される(例えば、約1時間~約7日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日)。

【0066】

いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に患者に送達される。

30

【0067】

いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に患者に送達される。

【0068】

いくつかの実施形態において、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンド(例えば、微小管結合剤のような細胞毒素に結合された)は患者に送達される(例えば、約1時間~10日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日)外生的造血幹細胞移植後よりも、例えば、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、抗体-薬物結合体は、移植の約3~4日後に投与され得る。

40

【0069】

いくつかの実施形態に、移植は同種異系である。いくつかの実施形態に、移植片は自己由来である。

50

【0070】

いくつかの実施形態では、移植は骨髓移植、末梢血移植、臍帯血移植である。

【0071】

いくつかの実施形態に、移植は造血細胞(例えば、造血幹細胞)を含む。

【0072】

いくつかの実施形態に、造血幹細胞またはその子孫は、造血幹細胞の移植後2日以上後に造血幹細胞の機能的能力を維持する。

【0073】

いくつかの実施形態に、造血幹細胞またはその子孫は造血幹細胞の移植後の2日以上(例えば、約2～約5日、約2～約7日、約2～約20日、約2～約30日、例えば、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日またはそれ以上)後に造血幹細胞の機能的能力を維持する。

いくつかの実施形態に、造血幹細胞またはその子孫は造血組織(例えば、骨髓)に局在し得、そして/または造血幹細胞の移植後の造血を再確立し得る。

【0074】

いくつかの実施形態に、患者に移植すると、造血幹細胞は、メガ核細胞、血小板(thrombocytes)、血小板(platelets)、赤血球、マスト細胞、マイオブラスト、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、T細胞およびB細胞からなる群から選択される細胞の集団の回収をもたらす。

【0075】

いくつかの実施形態に、移植片は白血球を含む。

【0076】

いくつかの実施形態に、患者への移植時に、造血細胞は、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、がん細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。

【0077】

いくつかの実施形態に、患者への移植時に、白血球は、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、がん細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。

【0078】

いくつかの実施形態として、CD134陽性細胞は、活性化T細胞、B細胞、樹状細胞、NK細胞、マクロファージ、がん細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。いくつかの実施形態に、本細胞は、該患者の抗原に対する反応性を示す。いくつかの実施形態として、CD278陽性細胞は、活性化T細胞、B細胞、樹状細胞、NK細胞、マクロファージ、がん細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、コンタクト時にT細胞によって内在化される。他の実施形態において、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、T細胞の死滅を促進するか、または増殖を抑制する。

【0079】

いくつかの実施形態に、CD134+細胞を含む造血細胞がT細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー(NK)方法、マクロファージ、がん細胞、および好酸球からなる群から選択される、CD134に結合することができる抗体、または抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドの有効量を患者に投与することによって、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者においてCD134+細胞、好中球、好塩基球の集団を枯渇させる細胞を提供する。

【0080】

いくつかの実施形態に、CD278+細胞を含む造血細胞がT細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュ

ラルキラー(NK)方法、マクロファージ、がん細胞、および好酸球からなる群より選択される、CD278に結合することができる抗体、または抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD278リガンドの有効量を患者に投与することによって、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者においてCD278+細胞、好中球、好塩基球の集団を枯渇させる細胞を提供する。

【0081】

いくつかの実施形態として、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、ガン細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択されるCD134+細胞は、患児の抗原に対する反応性を示す。

【0082】

いくつかの実施形態として、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、ガン細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択されるCD278+細胞は、患児の抗原に対する反応性を示す。

【0083】

いくつかの実施形態に、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、該患者への投与後にCD134+細胞によって内在化される。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドはレセプター媒介エンドサイトーシスによって(例えば、細胞表面CD134に結合すると)CD134+ T細胞によって内在化され得る。いくつかの実施形態に、抗CD134抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCに共有結合した細胞毒素は化学的切断(例えば、本明細書中に記載されるリンカーの酵素的または非特異的切断)によって細胞内に放出され得る。次いで、細胞毒素はCD134+ T細胞の死滅を促進するように、その細胞内標的(とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核DNA、リボソームRNA、またはトポイソメラーゼなど)にアクセスし得る。

【0084】

いくつかの実施形態に、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD278リガンドは、該患者への投与後にCD278+細胞によって内在化される。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD278リガンドはレセプター媒介エンドサイトーシスによって(例えば、細胞表面CD278に結合すると)CD278+ T細胞によって内在化され得る。いくつかの実施形態に、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCに共有結合した細胞毒素は化学的切断(例えば、本明細書中に記載されるリンカーの酵素的または非特異的切断)によって細胞内に放出され得る。次いで、細胞毒素はCD278+ T細胞の死滅を促進するように、その細胞内標的(とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核DNA、リボソームRNA、またはトポイソメラーゼなど)にアクセスし得る。

【0085】

いくつかの実施形態に、抗CD134抗体、その抗原結合フラグメント、またはADC、または水溶性CD134リガンドは有糸分裂停止を促進し、CD134+ T細胞の増殖を抑制する(例えば、微小管動的不安定性を抑制することによって)ことができる。他の実施形態では、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADC、または水溶性CD278リガンドはCD278+ T細胞の有糸分裂停止を促進し、増殖を抑制することができる(例えば、微小管動的不安定性を抑制することによって)。

【0086】

いくつかの実施形態に、抗CD134抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球を補充することによって、細胞の死滅を促進し得る。いくつかの実施形態に、募集はT細胞に対するものである。いくつかの実施形態に、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD278リガンドは患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球を補充することによって、細胞の死滅を促進し得る。いくつかの実施形態に、募集はT細胞に対するものである。

【0087】

いくつかの実施形態に、抗CD134抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD134リガンドは、患者への投与時に1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球を動員することによって、CD134+ T細胞の死滅を促進し得る。いくつかの実施形態に、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または水溶性CD278リガンドは、患者への投与時に1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球を動員することによって、CD278+ T細胞の死滅を促進し得る。

【0088】

いくつかの実施形態に、抗体またはその抗原結合フラグメント、抗体-薬物結合体、または水溶性CD134リガンドは、TまたはBセルドリブン自己免疫病を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、またはI型糖尿病である。

【0089】

いくつかの実施形態に、微小管結合剤のような細胞毒に結合した抗体または抗原結合フラグメントの有効量を患者に投与することにより、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性があるヒト患者においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。ある特定の実施形態に、造血細胞はT細胞を含む。

【0090】

いくつかの実施形態に、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、該患者への投与後にCD278+細胞によって内在化される。例えば、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADCはレセプター媒介エンドサイトーシスによって(例えば、細胞表面CD278に結合すると)CD278+ T細胞によって内在化され得る。いくつかの実施形態に、抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCに共有結合した細胞毒素は化学的切断(例えば、本明細書中に記載されるリンカーの酵素的または非特異的切断)によって細胞内に放出され得る。次いで、細胞毒素はCD278+ T細胞の死滅を促進するように、その細胞内標的(とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核DNA、リボソームRNA、またはトポイソメラーゼなど)にアクセスし得る。

【0091】

いくつかの実施形態に、抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは有糸分裂停止を促進し、CD278+ T細胞の増殖を抑制することができる(例えば、微小管の力学的不安定性を抑制することによって)。

【0092】

いくつかの実施形態に、抗CD278抗体またはその抗原結合フラグメント、抗体-薬物結合体、またはそのADCは、TまたはBセルドリブン自己免疫病を処置するために使用される。

【0093】

いくつかの実施形態に、本方法は、造血幹細胞を含む移植を受けた患者などの患者における1つまたは複数の障害または癌を治療するために使用される。例えば、該患者は、幹細胞障害を患っている患者であり得る。いくつかの実施形態では、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニー貧血やウィスコット-アルドリッチ症候群などの異常ヘモグロビン症障害に悩まされている。患者は先天性免疫不全症障害または後天性免疫不全症障害(例えば、ヒト免疫不全ウイルスまたは後天性免疫不全症候群)のような免疫不全障害に罹患している可能性がある。いくつかの実施形態では、グリコーゲン蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ脂質投与、異染性白質ジストロフィーなどの代謝性疾患に罹患している。いくつかの実施形態では、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫や骨髄異形成症候群、神経芽細胞腫などのがんに罹患している。いくつかの実施形態に、患児はアデノシン・デアミナーゼ欠損症および重度複合免疫不全症、高免疫グロブリンM症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、大理石骨病、骨形成不全症、貯蔵疾患、サラセミア・メジャー、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus)、多発性硬化症、ならびに若年性関節リウマチからなる群から選択される障害に罹患している。いくつかの実施形態に、該患者は、造血幹細胞の集団を含む移植を受けている。他

10

20

30

40

50

の実施形態では、本方法ががんの障害を治療する。

【0094】

さらなる局面において、本発明はそれを必要とするヒト患者における移植片対宿主病(GVHD)を処置、予防または減少させる方法の特徴とし、この方法はGVHDが予防されるように、抗CD134抗体薬物結合体(ADC)をヒト患者に投与することを包含し、ここで、ADCは、細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む。ある実施形態に、細胞毒素は微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである。ある実施形態に、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、患者にADCを投与することを包含し、別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を患者が受ける約3日前に、患者にADCを投与することを包含し、別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に、ADCを患者に投与することを包含し、更なる実施形態において、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、ADCを患者に投与することを包含し、さらに別の実施形態では、方法が患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後、ADCを患者に約1時間~約10日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日)投与することを包含し、更なる実施形態において、この方法は、患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3~4日後に患者にADCを投与することを包含し、他の実施形態では、移植片は同種異系である。

【0095】

さらに別の局面において、本方法はGVHDを有するか、またはGVHDを発症する危険性があるヒト対象においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、この方法はCD134細胞の集団が枯渇するように、ヒト患者に抗CD134 ADCを投与する工程を包含し、ここで、ADCは、細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む。ある実施形態に、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、患者にADCを投与することを包含し、別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を患者が受ける約3日前に、患者にADCを投与することを包含し、別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に、ADCを患者に投与することを包含し、更なる実施形態において、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、ADCを患者に投与することを包含し、さらに別の実施形態では、方法が患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後、ADCを患者に約1時間~10日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日)投与することを包含し、更なる実施形態において、この方法は、患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3~4日後に患者にADCを投与することを包含し、他の実施形態では、移植片は同種異系である。

【0096】

さらなる局面において、本発明はそれを必要とするヒト患者において移植片対宿主病(GVHD)を処置、予防または減少させる方法の特徴とし、この方法はGVHDが予防されるように、ヒト患者に抗CD278抗体薬物結合体(ADC)を投与する工程を包含し、ここで、ADCは、細胞毒素に連結された抗CD278抗体を含む。ある実施形態に、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、患者にADCを投与することを包含し、別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を患者が受ける約3日前に、患者にADCを投与することを包含し、別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に、ADCを患者に投与することを包含し、更なる実施形態において、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、ADCを患者に投与することを包含し、さらに別の実施形態では、方法が患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後、ADCを患者に約1時間~10日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日

、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日)投与することを含む。更なる実施形態において、この方法は、患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3~4日後に患者にADCを投与することを含む。他の実施形態では、移植片は同種異系である。

【0097】

さらに別の局面において、本発明はGVHDを有するか、またはGVHDを発症する危険性があるヒト対象においてCD278陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、この方法はCD278細胞の集団が枯渇するように、ヒト患者に抗CD278 ADCを投与する工程を包含し、ここで、ADCは、細胞毒素に連結された抗CD278抗体を含む。ある実施形態に、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、患者にADCを投与することを含む。別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を患者が受ける約3日前に、患者にADCを投与することを含む。別の実施形態では、この方法が造血幹細胞を含む移植を受ける患者と同時に、ADCを患者に投与することを含む。更なる実施形態において、この方法は患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、ADCを患者に投与することを含む。さらに別の実施形態では、方法が患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後、ADCを患者に約1時間~10日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日)投与することを含む。更なる実施形態において、この方法は、患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3~4日後に患者にADCを投与することを含む。他の実施形態では、移植片は同種異系である。

10

20

【0098】

さらに別の局面において、本発明はGVHDが処置されるように、ヒト患者に抗CD134抗体薬物結合体(ADC)を投与することによって、それを必要とするヒト患者における同種移植片拒絶を処置する方法の特徴とし、ここで、ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む。

【0099】

さらに別の局面において、本発明はGVHDが処置されるように、ヒト患者に抗CD278抗体薬物結合体(ADC)を投与することによって、それを必要とするヒト患者における同種移植片拒絶を処置する方法の特徴とし、ここで、ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD278抗体を含む。

30

【0100】

さらに別の局面において、本発明はCD134細胞の集団が枯渇するように、ヒト患者に抗CD134 ADCを投与することによって、同種移植片拒絶を有するか、または同種移植片拒絶を発症する危険性があるヒト対象においてCD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、ここで、ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD134抗体を含む。

【0101】

さらに別の局面において、本発明はCD278細胞の集団が枯渇するように、ヒト患者に抗CD278 ADCを投与することによって、同種移植片拒絶を有するか、または同種移植片拒絶を発症する危険性があるヒト対象において、CD134陽性細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とし、ここで、ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである細胞毒素に連結された抗CD278抗体を含む。

40

【0102】

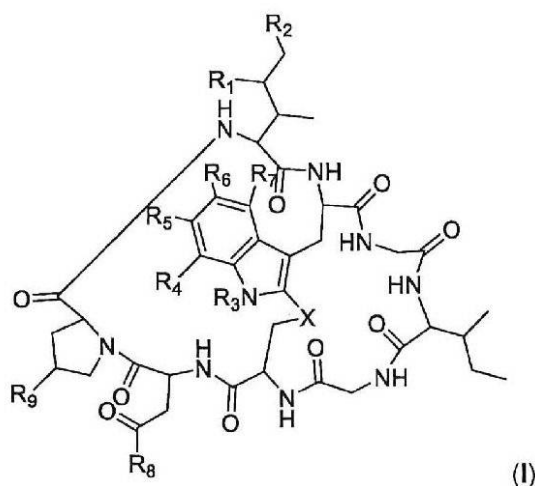
さらに別の局面において、本発明はペプチドリンカーを介して細胞毒素に結合された抗CD134抗体(または抗CD278抗体)を含む抗体薬物結合体(ADC)の特徴とし、ここで、細胞毒素は、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼインヒビターである。いくつかの実施形態に、RNAポリメラーゼインヒビターはアマトキシシンである。他の実施形態では、アマトキシシンはアマニチンである。さらに他の実施形態では、アマニチンが α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群より選択される。

50

【0103】

ある特定の実施形態に、Abは抗CD278抗体(または抗CD278抗体)であり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシンであり、Am-L-Zは式(I)で表される式Ab-Z-L-Amである

【化24】



10

20

【0104】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis -L-Z；

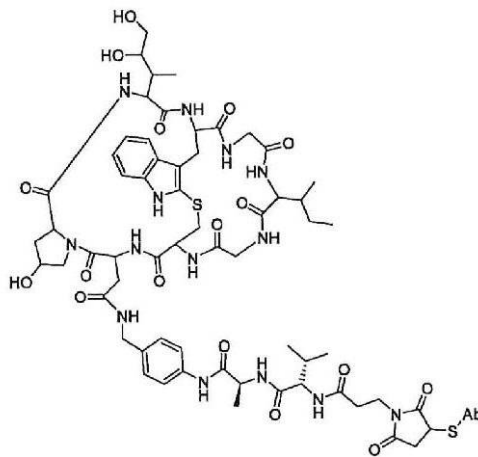
30

【0105】

R_D は任意選択的に置換されるアルケニール(例えば、 C_1 - C_6 アルキ)、任意選択的に置換されるアルケニール(例えば、 C_2 - C_6 アルケニール)、任意選択的に置換されるアルキニール(例えば、 C_2 - C_6 アルキニール)、任意選択的に置換されるヘテロアルキニール(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニール)、任意選択的に置換されるヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されるアリール、または任意選択的に置換されるヘテロアリールである。オプショナル置換アルキレン(例えば C_1 - C_6 アルキレン)、オプショナル置換ヘテロアルキレン(例えば、アルキレン)、オプショナル置換ヘテロアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン)、オプショナル置換ヘテロアルキニレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキニレン)、オプショナル置換シクロアルキレン、オプショナル置換アルキレン、またはオプショナル置換ヘテロアルキレン)、-(C)「=O)-」、「アルファベット」、またはこれらの組み合わせ；および「Z」は、L上に存在する反応性置換基と、CD278と結合する、その中に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部分である。

40

【化 2 5】



10

【0106】

他の実施形態ではADCはAb-Z-L-Am、ここでAbは抗CD278抗体(または抗CD278抗体)、Lはリンカー、Zは化学的な部分構造、Amはアマトキシシン、Am-L-Z-Abは0107で表され、ある特定の実施形態では抗CD134抗体は抗体BER-ACT35、抗体443318、または明細書される抗体7D6である。ある特定の実施形態に、抗CD278抗体は本明細書中に記載されるように、抗体DX29または抗体669238である。

20

【0107】

さらに別の局面において、本発明は、ペプチドリリンカーを介して細胞毒素に結合された抗CD134抗体(または抗CD278抗体)を含む抗体薬物結合体(ADC)と、薬学的に活性な担体とを含む医薬組成物を特徴とする。

【0108】

さらに別の局面において、本発明は本明細書中に記載されるようなADCの有効量をヒト患者に投与することによって、それを必要とするヒト患者において移植不全またはGVHDを処置する方法を特徴とし、ここで、ヒト患者は、以前に移植を受けた。いくつかの実施形態的に、ヒト患者は、ADCの投与の4日前までに移植を受けた。

30

【0109】

さらに別の局面において、本明細書中に記載されるようなADCの有効量を、移植片不全またはGVHDを有する危険性のあるヒト患者に投与し、続いてヒト対象に移植片を投与することによって、移植片不全またはGVHDを有する危険性のあるヒト患者を処置する方法を特徴とする。いくつかの実施形態に、ADCは、ヒト患者に単回投与として投与される。

【図面の簡単な説明】

【0110】

【図1】図1は、活性化および休止調節性T細胞(Tregs)の両方におけるCD134の発現を測定するフロー・サイトメトリーアッセイの結果をグラフで示す。活性化後24時間では、T細胞は制御(0時間活性化)と比較してCD134に対して56.9%正であった。

40

【図2】図2はCD134が活性化されたT細胞上に発現されているが、静止T細胞上では有意に発現されていないことを示す、3つの個々の健康なドナー対照からの新鮮全血のTreg流解析の成績をグラフで示す。

【図3】図3は、活性化T細胞への抗CD134抗体結合を示すインビトロ細胞結合アッセイの結果をグラフで示す。

【図4】図4A~4Dは、活性化T細胞への抗CD278抗体(図4A)および抗CD134抗体(図4C)結合を示すインビトロ細胞結合アッセイの結果をグラフで示す。図4Bおよび図4Dは、それぞれ、抗CD45ポジティブ・コントロールと比べて同じ結果を示す。

【図5】図5はネガティブ・コントロール(すなわち、「hIgG-アマニチン」)と比較して

50

、抗CD134-アマニチンADC(すなわち、「CD134-アマニチン」)および抗CD278-アマニチンADC(すなわち、「CD278-アマニチン」)を含むインビトロT細胞殺傷試験の結果をグラフで示す。結果は、抗体濃度(x軸)に応じた生存活性化T細胞の数(y軸)を示す。

【図6】図6Aは防CD134-アマニチンADC(すなわち、「CD134-ACT35-mIgG1-amanitin」)および防CD278-アマニチンADC(すなわち、「CD278-DX29-mIgG1-amanitin」および「CD278-669238-mIgG1-amanitin」)を含むインビトロT細胞殺滅アッセイの結果を、ネガティブ・コントロール(すなわち、「hIgG-amanitin」)と比較して図示する。結果は、抗体濃度(x軸)に応じた生存活性化T細胞の数(y軸)を示す。図6Bは防CD134-MMAF ADC(すなわち、「CD134-ACT35-mIgG1-MMAF」)および防CD278-MMAF ADC(すなわち、「CD278-DX29-mIgG1-MMAF」および「CD278-669238-mIgG1-MMAF」)を含むインビトロT細胞殺滅アッセイの結果を、ネガティブ・コントロール(すなわち、「hIgG-MMAF」)と比較して図示する。結果は、抗体濃度(x軸)に応じた生存活性化T細胞の数(y軸)を示す。

10

【図7】図7A~7Bは、特定の陽性およびネガティブ・コントロール抗体(図7A)ならびにFab-SAP(サポリン)と組合せた抗CD134 ADCおよび特定の抗CD278ADCを含むインビトロT細胞殺傷アッセイの結果をグラフで示す(図7B)。結果は、抗体濃度(x軸)に応じた生存活性化(ブラスト)T細胞(y軸)の数を示す。定義

【0111】

本明細書中で使用される場合、用語「約」は記載される値より10%高いかまたは低い値をいい、例えば、用語「約5 nM」は、4.5nM~5.5 nMの範囲を示す。

【0112】

20

本明細書で使用される「同種異系」という用語は同じ種に属するが遺伝的に異なり、したがって免疫学的に不適合である個体からの細胞または組織を指し、したがって、「同種異系細胞」という用語は遺伝的に異なるが、同じ種に属する細胞型を指し、典型的には「同種異系」という用語が同じ種の供与者から受容者に移植される幹細胞などの細胞を定義するために使用される。

【0113】

本明細書中で使用される場合、用語「アマトキシシン」はAmanita phalloides mushroomsによって産生されるペプチドのアマトキシシンファミリーの部材、またはその変形例もしくは誘導体(例えば、RNAポリメラーゼII活性を阻害し得るその変形例もしくは誘導体)をいう。合成アマトキシシンも含まれる(例えば、米国特許第9676702号(本明細書中に参考として援用される)を参照のこと)。本明細書に記載される組成物および方法と併せて有効なアマトキシシンには、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニチン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリン、ならびに式(III)、(IIIA)、または(IIIB)によって記載されるようなそれらの誘導体が含まれる。本明細書に記載されているように。本明細書中に記載されるように、アマトキシシンは例えば、リンカー部分(L)によってCD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントに結合され得る(したがって、結合体(抗体薬物結合体(ADC)とも呼ばれる)を形成する)。このようなADCは式Ab-Z-L-Amによって表され、ここで、Abは抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシシンである。いくつかの実施形態に、アマトキシシンはリンカーに結合される。いくつかの実施形態に、アマトキシシン-リンカー共役Am-L-Zは、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)または(IIIB)によって表される。このようなプロセスに有効なアマトキシシンコンジュゲーションおよびリンカーの例示的な方法は、本明細書中に以下に記載される。組成物および方法による抗体または抗原結合フラグメントへの結合に有用な例示的なリンカー含有アマトキシシンもまた、本明細書に記載される。

30

40

【0114】

本明細書で使用される「アンタゴニスト」という語は、標的分子、例えばCD134またはCD278の生物学的活性を阻害または低下させる任意の分子を表す。

【0115】

本明細書中で使用される場合、用語「抗体」は特定の抗原に特異的に結合するか、また

50

は特定の抗原と免疫学的に反応性である免疫グロブリン分子を指し、そして抗体のポリクローナル、モノクローナル、遺伝子工学的に操作された、および改変された形態を含み、これにはキメラ抗体、ヒト化抗体、ヘテロコンジュゲート抗体(例えば、二重、三重、および四重特異性抗体、ダイアボディ、トリアボディ)、ならびに抗体の抗原結合フラグメント(例えば、Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rlgG、およびscFvフラグメントを含む)が挙げられるが、これらに限定されない。用語「モノクローナル抗体」(mAb)は標的タンパク質に特異的に結合することができる完全な分子、ならびにその抗体フラグメント(例えば、FabおよびF(ab')₂フラグメントを含む)の両方を含むことを意味する。本明細書中で使用される場合、FabおよびF(ab')₂フラグメントは、完全な抗体のFcフラグメントを欠く抗体フラグメントをいう。これらの抗体フラグメントの例は、本明細書に記載されている。

10

【0116】

抗体の重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に依存して、抗体は、種々のクラスに割り当てられ得る。免疫グロブリンには5つの主要なクラス: IgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMがあり、これらのいくつかはサブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2にさらに分けることができる。様々なクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖一定ドメインは、それぞれ、アルファ、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ と呼ばれる。種々のクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および三次元配置は周知であり、例えば、Abbasらに一般的に記載されている。Cellular and Mol. Immunology、4th ed.(2000)。抗体は、抗体と1つ以上の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合または非共有結合によって形成される、より大きな融合分子の一部であり得る。

20

【0117】

本明細書中で使用される場合、用語「抗原結合フラグメント」は標的抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の1つ以上のフラグメントをいう。抗体の抗原結合機能が全長抗体のフラグメントによって実施され得る。抗体フラグメントが例えば、Fab、F(ab')₂、scFv、ダイアボディ、トリアボディ、アフイボディ、ナノボディ、アプタマー、またはドメイン抗体であり得る。抗体の用語「抗原結合フラグメント」に包含される結合フラグメントの例は(i)Fabフラグメント、 v_L 、 v_H 、 C_L からなる一価フラグメント、および C_H1 ドメイン;(ii)F(ab')₂フラグメント、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFabフラグメントを含む二価フラグメント;(iii) v_H および C_H1 ドメインからなるFdフラグメント;(iv)抗体の単一アームの v_L and $O1$ domainからなるFvフラグメント;(V)OJ and v_L ドメイン;(vi)OOドメインからなるdAbフラグメント(例えば、Wardら、Nature 341:544-546、1989を参照のこと);(vii)OOaまたは₂domainからなるdAb;(viii)単離相補性決定領域(CDR);および(ix)合成リンカーによって任意に連結され得る2つ以上の(例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ)単離されたCDRの組み合わせ。さらに、Fvフラグメントの2つのドメイン、 V_L および V_H は別々の遺伝子によってコードされるが、それらは組換え方法を使用して、 V_L および V_H 領域が一对になって一価分子(単鎖Fv(scFv)として知られる)を形成する単一のタンパク質鎖として作製されることを可能にするリンカーによって、連結され得る。これらの抗体フラグメントは当業者に公知の従来の技術を使用して得ることができ、断片は、無傷の抗体と同じ様式で有用性についてスクリーニングすることができる。抗原結合フラグメントは組換えDNA技術、完全な免疫グロブリンの酵素的または化学的切断によって、またはある場合には当該分野で公知の化学的ペプチド合成手順によって産生され得る。

30

40

【0118】

本明細書で使用される「抗CD134抗体」または「抗CD134 ADC」という語はCD134(例えば、OX40、OX40Lレセプター、腫瘍壊死因子レセプタースーパーファミリーメンバー4(TNFRSF4)、ACT-4、ACT35、またはTXGP1Lとしても知られる)に特異的に結合する抗体、抗体フラグメント、またはADCを指し、ある実施形態において、抗体はヒトCD134(hCD134)に特異的に結合する。CD134はT-細胞に発現する。抗CD134抗体(または抗CD134共役)が結合するヒトCD134のアミノ酸配列を、以下の実施配列番号(SEQ ID NO): 1に記載する。

【0119】

50

本明細書で使用される「抗CD278抗体」または「抗CD278 ADC」という語は、CD278(ICOSとしても知られる)に特異的に結合する抗体、抗体フラグメント、またはADCを指す。ある実施形態に、抗体はヒトCD278(hCD278)に特異的に結合する。CD278はT-細胞上に認められる。抗CD278抗体(または抗CD278共役)が結合するヒトCD278のアミノ酸配列を、以下の実施配列番号(SEQ ID NO): 2に記載する。

【0120】

本明細書で使用される「バイスペシフィック抗体(bispecific antibody)」という語は例えば、少なくとも2つの異なった抗原に結合することができるモノクローナル、しばしばヒトまたはヒト化抗体を指す。例えば、結合特異性の1つはT細胞表面抗原(例えば、CD134またはCD278)に向けられ得、他方はとりわけ、細胞増殖を阻害または制限するシグナル伝達経路に参与するレセプターまたはレセプターサブユニットのような、別のT細胞表面抗原または別の細胞表面タンパク質に対するものであり得る。

【0121】

本明細書中で使用される場合、「キメラ」抗体という語は、重鎖および/または軽鎖の一部が特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同である一方で、鎖の残部が別の種に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する対応する配列と同一であるか、または相同である抗体、ならびにそのような抗体のフラグメントを指す(例えば、米国特許第4,816,567号およびMorrisonら、1984、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855を参照のこと)。ある実施形態に、キメラ抗体は、ネズミ重鎖および軽鎖可変領域、ならびにヒト軽鎖および重鎖定常領域を含む。

【0122】

本明細書中で使用される場合、用語「相補性決定領域」および「CDR」は、抗体の軽鎖および重鎖可変ドメインの両方に見出される超可変領域をいう。可変ドメインのより高度に保存された部分は、骨格領域(FR)と呼ばれる。抗体の超可変領域を描写するアミノ酸位置は、文脈および当該分野で公知の種々の定義に依存して、変化し得る。可変ドメイン内のいくつかの位置は、これらの位置が1組の基準の下では超可変領域内にあると見なされ、一方、別の組の基準の下では超可変領域外にあると見なされ得るという点で、ハイブリッド超可変位置と見なされ得る。これらの位置の1つ以上はまた、拡張超可変領域において見出され得る。本明細書中に記載される抗体は、これらのハイブリッドハイパー可変位置における改変を含み得る。天然の重いおよび軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、 β -シート構造を主に採用する4つの骨格領域を含み、3つのCDRによって連結され、 β -シート構造を連結し、場合によってはその一部を形成するループを形成する。各々の鎖におけるCDRはFR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4の順序でフレームワーク領域によって近接して一緒に保持され、他の抗体鎖由来のCDRと共に、抗体の標的結合部位の形成に寄与する(例えば、Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、国立衛生研究所、Bethesda, MD, 1987または<http://www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/DomainGapAlign.cgi>)を参照のこと)。免疫グロブリンアミノ酸残基の番号付けは、カバットらの免疫グロブリンアミノ酸残基番号付けシステムに従って行うことができる。

【0123】

本明細書中で使用される場合、用語「コンジュゲート」は、抗体またはその抗原結合フラグメントなどの1つの分子の反応性官能基と、本明細書中に記載される細胞毒素などの別の分子の適切に反応性の官能基との化学結合によって形成される化合物を指す。複合体は互いに結合した2つの分子(例えば、抗CD134抗体と細胞毒素、または抗CD278抗体と細胞毒素)の間、例えば、抗体と細胞毒素の間のリンカーを含むことができる。コンジュゲートの形成に用いることができるリンカーの例には、ペプチド含有リンカー、例えば、D-アミノ酸のような天然に存在する又は天然に存在しないアミノ酸を含有するものが含まれる。リンカーは、本明細書中に記載され、そして当該分野で公知の種々のストラテジーを使用して調製され得る。その中の反応性成分に依存して、リンカーは例えば、酵素的加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、基本条件加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求

核切断、または有機金属切断によって切断され得る(例えば、Lericheら、Bioorg.Med.Chem.,20:571-582,2012を参照のこと)。特に、「コンジュゲート」(化合物に言及する場合)という語は、本明細書では「薬物抗体コンジュゲート」または「抗体薬物コンジュゲート」(ADC)とも互換的に言及される。

【0124】

本明細書で使用される「カップリング反応」という語は、互いに反応するのに適した2つ以上の置換基が反応して、それぞれの置換基に結合した分子断片を結合(例えば共有結合)する化学的な部分構造を形成する化学反応を指す。カップリング反応は、当技術分野で公知であるか、または本明細書に記載される細胞毒素などの細胞毒素であるフラグメントに結合した反応性置換基が当技術分野で公知であるか、または本明細書に記載されるCD 134またはCD278についてであるフラグメントに結合した適切に反応性の置換基と反応するものを含む。適切な反応性置換基の例としては、求核/求電子対(例えば、特に、チオール/ハロアルキル対、アミン/カルボニル化合物対、またはチオール/ α , β -不飽和カルボニル化合物対)、ジエン/ジエノフィル対(例えば、とりわけ、アジド/アルキン対)などが挙げられる。カップリング反応性、チオールアルキル化、ヒドロキシアルキル化、アミンアルキル化、アミン縮合、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、環化付加(例えば、とりわけ、[4+2]Diels-Alder環化付加、[3+2]Huisgen環化付加)、芳香族求核置換、アミン縮合、芳香族求電子置換、および当技術分野で公知であるか、または本明細書に記載される他の反応性様式が挙げられるが、これらに限定されない。

【0125】

本明細書で使用される「供与体」という語は、細胞またはその子孫を受領者に投与する前に1つ以上の細胞が単離されたヒトまたは動物を指す。1つ以上の細胞は例えば、造血幹細胞の集団であり得る。

【0126】

本明細書中で使用される場合、「ダイアボディ」という語は2つのポリペプチド鎖を含む二価抗体をいい、ここで、各々のポリペプチド鎖は同じペプチド鎖上の V_H ドメインおよび V_L ドメインの分子内会合を可能にするには短すぎるリンカー(例えば、5つのアミノ酸から構成されるリンカー)によって連結された V_H ドメインおよび V_L ドメインを含む。この構成は、それぞれのドメインを別のポリペプチド鎖上の相補的ドメインと対構造せて、ホモ二量体を形成する。したがって、「トリアボディ」という語は3つのペプチド鎖を含む3価抗体を指し、その各々は同じペプチド鎖内の V_H および V_L ドメインの分子内会合を可能にするために、非常に短いリンカー(例えば、1~2アミノ酸からなるリンカー)によって連結された1つの V_H ドメインおよび1つの V_L ドメインを含む。このようにして組成されたペプチドはその生来の構造に吸収するために、隣接するペプチドチェーンのOBand 000Cドメインを互いに立地的に近接するように三重化する(例えば、Holligerら、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48、1993を参照)。

【0127】

「薬剤対抗体比」または「DAR」という語はADCの抗体に結合した薬剤、例えば、アマトキシンの数を指す。ADCのDARは1~8であり得るが、抗体上の連結部位の個数に応じて、より高い負荷、例えば、10もあり得る。DARという語は個々の抗体に装填される薬物の数に関して使用されてもよく、あるいは、ADCの群の平均または平均DAR(すなわち、「平均DAR」)に関して使用されてもよい。

【0128】

本明細書中で使用される場合、「二重可変ドメイン免疫グロブリン」(「DVD-Ig」)はリンカーを介して2つのモノクローナル抗体の標的結合可変ドメインを組み合わせて、四価の二重標的化単剤を作製する抗体をいう(例えば、Guら、Meth.Enzymol、502:25-41、2012を参照のこと)。

【0129】

本明細書で使用される用語「内因性」はヒトのような特定の生物において自然に見出される分子、細胞、組織、または臓器(例えば、造血幹細胞または造血系列の細胞、例えば

巨核球、血小板(thrombocyte)、血小板(platelet)、赤血球、マスト細胞、筋芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラル・キラー細胞、T細胞、またはB細胞)などの物質を記載する。

【0130】

本明細書で使用される「外生的」という用語はヒト患者などの特定の生物において自然に見出されない分子、細胞、組織、または器官(例えば、赤血球、血小板(thrombocyte)、血小板(platelet)、赤血球、マスト細胞、マイオブラスト、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラル・キラー細胞、T細胞、またはB細胞などの、赤血球系の系列の細胞)などの物質を記述する。外因性物質には、外部供給源から生物またはそこから抽出された培養物に提供されるものが含まれる。

10

【0131】

本明細書中で使用される場合、「フレームワーク領域」、「FR」または「FW領域」という語は、抗体の可変領域内のCDRに近接するアミノ酸残基、またはその抗原結合フラグメントを含む。FW領域残渣はとりわけ、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、モノクローナル抗体、抗体フラグメント、Fabフラグメント、一本鎖抗体フラグメント、scFvフラグメント、抗体ドメイン、およびバイスペシフィック抗体(bispecific antibody)中に存在し得る。

【0132】

本明細書で使用される「半減期」という語は、体内の抗体薬物の血漿中濃度が半分または50%低下するのにかかる時間を指す。血清中濃度のこの50%の減少は循環する薬物の量を反映し、抗体除去の自然方法によって除去されない。

20

【0133】

本明細書で使用される「造血幹細胞」(「HSC」)という用語は顆粒球(例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球)、赤血球(例えば、網赤血球、赤血球)、血小板(例えば、巨核芽球、血小板(platelet)産生巨核球、血小板(platelets))、単球(例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球(例えば、細胞、B細胞およびT細胞)を含むが、これらに限定されない、多様な系統を含む、自己複製する能力および成熟血液細胞に分化する能力を有する未成熟血液NK細胞を指す。そのような細胞は、CD34⁺細胞を含むことができる。CD34⁺細胞は、CD34細胞表層マーカーを発現する未成熟細胞である。ヒトではCD34⁺細胞が上記で定義された幹細胞特性を有する細胞のサブ集団を含むと考えられるが、マウスではHSCはCD34⁻である。さらに、HSCはまた、長期再増殖HSC(LT-HSC)および短期再増殖HSC(ST-HSC)を指す。LT-HSCおよびST-HSCは、機能的可能性および細胞表面マーカー式に基づいて分化される。例えば、ヒトHSCは、CD34⁺、CD38⁻、CD45RA⁻、CD90⁺、CD49F⁺、lin(CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11b、CD19、CD20、CD56、CD235Aを含む成熟した直線マーカーについては負の値)。マウスとして、骨髄LT-HSCはCD34⁻、SCA-1⁺、C-kit⁺、CD135⁻、Slamf1/CD150⁺、CD48⁻、lin(Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系統マーカー陰性)であるが、ST-HSCはCD34⁺、SCA-1⁺、C-kit⁺、CD135⁻、Slamf1/CD150⁺、lin(Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、CD8、B220、IL7raを含む成熟系統マーカー陰性)。加えて、ST-HSCはホメオスタシス条件下でLT-HSCより静止性が低く、より増殖性である。しかしながら、LT-HSCはより大きな自己複製能を有する(すなわち、それらは成人期を通して生存し、連続したレシピエントを通して連続的に移植することができる)のに対し、ST-HSCは限定された自己複製を有する(すなわち、それらは限定された期間のみ生存し、シリアル移植能を有さない)。これらのHSCのいずれも、本明細書中に記載される方法において使用され得る。ST-HSCはそれらが高度に増殖性であり、従って、分化した子孫をより迅速に生じ得るので、特に有用である。

30

40

【0134】

本明細書中で使用される用語「造血幹細胞機能的可能性」は1)多能性(顆粒球(例えば、前骨髄球、好酸球、好塩基球)、赤血球(例えば、赤血球)、血小板(例えば、巨核球、血小板を産生する巨核球)、単球(例えば、単球、マクロファージ)、樹状細胞、ミクログリア

50

、破骨細胞、およびリンパ球(例えば、NK細胞、T細胞およびB細胞)を含むが、これらに限定されない)、2)自己複製(これは母細胞として同等の可能性を有する娘細胞を生じる能力を意味する)を含む、造血幹細胞の機能的特性を指す さらに、この能力は枯渇することなく、個々の寿命にわたって繰り返し起こることができ、そして、3)造血幹細胞またはその子孫がその時に移植レシピエントに再導入される能力 造血幹細胞のニッチに、生産的で持続的な造血を再確立する。

【0135】

本明細書で使用される「ヒト抗体」という語はタンパク質の実質的にすべての部分(例えば、すべてのCDR、骨格領域、C_L、C_Hドメイン(例えば、C_H1、C_H2、C_H3)、ヒンジ、およびV_LおよびV_Hドメイン)がヒトにおいて実質的に非免疫原性であり、ほんのわずかな配列変化または変異を伴う抗体を指す。ヒト抗体はヒト細胞においてインビトロで(例えば、組換え発現によって)、または機能的に再構成されたヒト免疫グロブリン(例えば、重鎖および/または軽鎖)遺伝子を発現し得る非ヒト動物または原核もしくは真核細胞によって産生され得る。ヒト抗体が一本鎖抗体である場合、天然のヒト抗体には見出されないリンカーペプチドを含むことができる。例えば、Fvは2〜約8個のグリシンまたは他のアミノ酸残基のようなリンカーペプチドを含み得、これは本重鎖の可変領域および本軽鎖の可変領域を連結する。このようなリンカーペプチドは、ヒト起源であると考えられる。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリを使用するファージディスプレイ方法を含む、当該分野で公知の種々の方法によって作製され得る。ヒト抗体はまた、機能的内因性免疫グロブリンを発現することができないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して産生され得る(例えば、PCT公開番号W01998/24893; W01992/01047; W01996/34096; W01996/33735; 米国特許第5,413,923号; 5,625,126号; 5,633,425号; 5,569,825号; 5,661,016号; 5,545,806号; 5,814,318号; 5,885,793号; 5,916,771号; および5,939,598号を参照のこと)。ある実施形態に、ヒト抗体は、抗体のグリコシル化パターンが性質に存在する場合、同じ配列を有する抗体とは異なっているように、組換え方法を使用して作製される。

【0136】

非ヒト(例えば、マウス)抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ抗体である。ある実施形態に、ヒト化抗体は、レシピエントのCDRからの残渣が所望の特異性、親和性、および/または容量を有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類などの非ヒト種(ドナー抗体)のCDRからの残渣によって置換されているヒト抗体(レシピエント抗体)である。いくつかの例において、ヒト抗体のフレームワーク領域(FR)残渣は、対応する非ヒト残渣によって置換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体に見出されない残渣を含み得る。これらの改変は、抗体性能をさらに洗練するために行われ得る。概して、ヒト化抗体は少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、ここで、超可変ループのすべてまたは実質的にすべては非ヒト抗体のものに対応し、FRのすべてまたは実質的にすべてはヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は場合により、抗体定常領域(Fc)、典型的にはヒト免疫グロブリンの少なくとも一部も含む。さらなる詳細については、Jonesら、Nature 321:522-525(1986); Riechmannら、Nature 332:323-329(1988); およびPresta、Curr Op. Struct. Biol. 2:593-596(1992)。以下の総説部材およびそこに引用される参考文献も参照のこと: VaswaniおよびHamilton, AN. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115(1998); Harris、Biochem. 学会。Transactions 23:1035-1038(1995); Hurle and Gross、Curr. Op. Biotech. 5:428-433(1994)。

【0137】

用語「全長抗体」および「無傷抗体」は、本明細書では実質的に無傷の形態の抗体を指すために互換的に使用され、本明細書で定義される抗体フラグメントではない。従って、IgG抗体について、インタクトな抗体は、各々が可変領域、定常領域およびFc領域を含む2つの重鎖、ならびに各々が可変領域および定常領域を含む2つの軽鎖を含む。より具体的には、インタクトIgGがそれぞれが軽鎖可変領域(VL)および軽鎖接地領域(CL)を含む2つの

軽鎖を含み、それぞれが重鎖可変領域(VH)および3つの重鎖定常領域(CH1、CH2、およびCH3)を含む2つの重鎖を含む。CH2およびCH3は、重鎖のFc領域を表す。

【0138】

「単離された」とは本明細書中で使用される場合、それが発現された細胞または細胞培養物から同定および分離および/または回収されたポリペプチド(例えば、抗体)をいい、通常、単離された抗体は少なくとも1つの精製工程によって調製され、従って、「単離された抗体」は種々の抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体をいう。

【0139】

本明細書中で使用される場合、用語「微小管結合剤」は、有糸分裂および間期細胞機能に必須である微小管ネットワークを破壊することによって作用する化合物をいう。微小管結合剤の例にはメイタシン、メイタンシノイド、およびそれらの誘導体、例えば本明細書に記載されているかまたは当技術分野で知られているもの、ビンカ・アルカロイド、例えばビンブラスチン、ビンブラスチン硫酸塩、ビンクリスチン、ビンクリスチン硫酸塩、ビンデシン、およびビノレルビン、タキサン、例えばドセタキセルおよびパクリタキセル、マクロライド、例えばディスコデルモリド、コキシシ、およびエポチロン、ならびにそれらの誘導体、例えばエポチロンBまたはそれらの誘導体が含まれるが、これらに限定されない。パクリタキセルはTAXOL(登録商標)として、ドセタキセルはTAXOTERE(登録商標)として、硫酸ビンブラスチンはVINBLASTIN R.P(登録商標)として、硫酸ビンクリスチンはFARMISTIN(登録商標)として市販されている。パクリタキセルの一般的な形態、ならびにパクリタキセルの種々の剤形もまた含まれる。パクリタキセルの一般的な形態としては塩酸ベタキソロールが挙げられるが、これに限定されない。パクリタキセルの種々の剤形はABRAXANE(登録商標);ONXOL(登録商標)、CYTOTAX(登録商標)として市販されているアルブミンナノ粒子パクリタキセルを含むが、これらに限定されない。ジスコデルモリドは例えば、米国特許に開示されているように得ることができる。No.5,010,099。米国特許に開示されているエポトリン誘導体も含まれる。No.6,194,181、W09810121、W09825929、W09808849、W09943653、W09822461およびW00031247(これらの各々の開示は、本明細書中に参考として援用される)。

【0140】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という語は任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを含む単一のクローンに由来する抗体を指し、それが産生される方法には由来しない。

【0141】

本明細書中で使用される場合、用語「GVHDの危険性のある患者」は、GVHDを発症するための1つ以上の危険因子を有する患者をいう。危険因子にはミスマッチしたヒト白血球抗原(HLA)ドナーおよび性不適合ドナー、T細胞補充幹細胞移植、ドナーおよびレシピエントの年齢、移植ドナーまたは宿主におけるサイトメガロウイルス(CMV)またはCMV抗体の存在、全身照射(TBI)の線量の増加、前後レジメン強度、急性GVHD予防、保護環境の欠如、脾臓摘出、免疫グロブリン使用、基礎疾患、ABO相溶性、ヘルペスウイルスへの以前の露光、ドナーの輸血、実績スコア、抗生物質腸管除染、および同種移植後の輸血を含むが、これらに限定されないが、これらに限定されない同種ドナー移植(例えば、骨髄移植からの造血幹細胞の移植)が含まれる。

【0142】

本明細書中で使用される場合、用語「自己免疫疾患の危険性のある患者」は、自己免疫疾患を発症するための1つ以上の危険因子を有する患者をいう。危険因子には年齢(ヤングから中年)、性別(雌型)、民族性(アフリカ系アメリカ人、アメリカインディアン人、またはラテンアメリカ人)、自己免疫疾患の家族歴、環境因子への曝露、過去の感染、慢性炎症、およびドナー移植(例えば、骨髄移植からの造血幹細胞の移植)が含まれるが、これらに限定されない。

【0143】

本明細書で使用される「受領者」という語は、造血幹細胞の集団を含む移植片などの移

10

20

30

40

50

植片を受ける被験体を指す。受領者に投与される移植細胞は例えば、自家、同系、または同種細胞であり得る。

【0144】

本明細書で使用される「サンプル」という語は対象から採取された検体(例えば、血液、血液成分(例えば、血清または血漿)、尿、唾液、羊水、脳脊髄液、組織(例えば、胎盤または真皮)、腭液、絨毛膜絨毛サンプル、および細胞)を指す。

【0145】

本明細書で使用される「scFv」という語は、重鎖の可変ドメインと抗体からの軽鎖とが結合して1つの鎖を形成している単鎖Fv抗体を指す。scFvフラグメントはリンカーによって分離された抗体軽鎖(V_L)(例えば、CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3)の可変領域および抗体重鎖(V_H)(例えば、CDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3)の可変領域を含む単一のポリペプチド鎖を含む。scFvフラグメントの V_L および V_H 領域を連結するリンカーは、タンパク質を構成するアミノ酸から構成されるペプチドリinkerであり得る。タンパク質分解(例えば、D-アミノ酸を含有するリンカー)に対するscFvフラグメントの耐性を増大させるために、scFvフラグメント(例えば、ポリエチレングリコール含有リンカーまたは繰り返しのグリシンおよびセリン残基を含有するポリペプチドなどの親水性リンカー)の溶解性を増大させるために、分子の生物物理学的安定性を改善するために(例えば、分子内または分子間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含有するリンカー)、またはscFvフラグメント(例えば、グリコシル化部位を含有するリンカー)の免疫原性を弱めるために、代替リンカーを使用することができる。本明細書に記載されるscFv分子の可変領域は、それらが誘導された抗体分子からのアミノ酸配列が変化するように修飾することができることも、当業者によって理解される。例えば、対応する抗体によって認識される抗原に結合するscFvの能力を保存または増強するために、保存的置換またはアミノ酸残基での変化をもたらすヌクレオチドまたはアミノ酸置換を(例えば、CDRおよび/またはフレームワーク残基において)行うことができる。

【0146】

「特異的結合」または「特異的結合」という用語は本明細書中で使用される場合、抗体(またはADC)が一般にタンパク質よりもむしろ特異的タンパク質構造(エピトープ)を認識し、結合する能力をいう。抗体またはADCがエピトープ「A」に特異的である場合、標識された「A」および抗体を含む反応物中のエピトープA(または遊離の非標識A)を含む分子の存在は抗体またはADCに結合する標識Aの量を減少させる。例えば、抗体は標識された場合、対応する非標識抗体によってその標的から競合して離れることができる場合、標的に「特異的に結合する」。ある実施形態に、抗体は標的、例えばCD134またはCD278に特異的に結合し、抗体が少なくとも約 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 $10K_D$ M以下(10^{-12} 未満の番号、例えば 10^{-13})の標的に対する 10^{-12} を有する場合。ある実施形態に、「CD134に特異的に結合する」または「CD134に特異的に結合する」という用語は本明細書で使用される場合、CD134に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定されるように 1.0×10^{-7} M以下の酸解離定数(K_D)を有する抗体またはADCを指し、別の実施形態では、「CD278に特異的に結合する」または「CD278に特異的に結合する」という用語が本明細書で使用される場合、CD278に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定されるように 1.0×10^{-7} M以下の酸解離定数(K_D)を有する抗体またはADCを指す。ある実施形態に、 K_D は、標準的なバイオ層干渉法(BLI)に従って測定される。しかし、抗体またはADCは、配列が関連する2つ以上の抗原に特異的に結合することができることを理解されたい。例えば、ある実施形態において、抗体はCD134のヒトおよび非ヒト(例えば、マウスまたは非ヒト霊長類)オルソログの両方に特異的に結合し得る。別の例として、ある実施形態に、抗体はCD278のヒトおよび非ヒト(例えば、マウスまたは非ヒト霊長類)オルソログの両方に特異的に結合し得る。

【0147】

本明細書中で使用される場合、用語「対象」および「患者」は、本明細書中に記載されるような特定の疾患または状態のための処置を受ける、ヒトのような生物をいう。例えば

、ヒト患者のような患者は抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはCD134またはCD278を結合し得る明細書されるようなリガンドの投与によって、GVHDを処置または予防するために、造血幹細胞移植治療の前に処置を可能になる。

【0148】

本明細書で使用されるように、「血液から実質的に除去される」という語句は患者から単離された血液サンプル中の治療薬剤の濃度が治療薬剤が従来の方法では検出できないようなものである場合(例えば、治療薬剤が治療薬剤を検出するために使用されるデバイスまたは検定の雑音しきい値を超えて検出できないような場合)、患者への治療薬剤(例えば、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンド)の投与後の時点を指す。当技術分野で公知の、または本明細書に記載のELISAベースの検出アッセイなどの、当技術分野で公知の種々の技術を使用して、抗体、抗体フラグメントおよびタンパク質リガンドを検出することができる。抗体、抗体フラグメント、およびタンパク質リガンドを検出するために使用され得るさらなるアッセイは、当技術分野で公知のとりわけ、免疫沈降技術およびイムノプロットアッセイを含む。

【0149】

本明細書中で使用される場合、「幹細胞障害」という語句は対象の標的組織を調整することによって、および/または標的組織中の内因性幹細胞集団を切除することによって(例えば、対象の骨髓組織から内因性造血幹または前駆細胞集団を切除することによって)、および/または対象の標的組織中に幹細胞を移植または移植することによって、処置または治療され得る任意の疾患、障害、または条件を広く指す。例えば、I型糖尿病は造血幹細胞移植によって治療されることが示されており、本明細書に記載の組成物および方法に従って調整することから利益を得ることができる。本明細書中に記載される組成物および方法を使用して処置され得るさらなる障害としては鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンコニー貧血、ウィスコット-アルドリッチ症候群、ADA SCID、HIV/AIDS、異染性白質ジストロフィー、ダイヤモンド-ブラックファン貧血、およびシュワツハマン-ダイヤモンド症候群が挙げられるが、これらに限定されない。被験体は遺伝性の血液疾患(例えば、鎌状赤血球貧血)または自己免疫疾患を有するか、またはその影響を受け得る。さらに、またはその代わりに、被験体は血液癌(例えば、白血病、リンパ腫、多発性骨髓腫、または骨髓異形成症候群)および神経芽細胞腫からなる群から選択される悪性腫瘍などの悪性腫瘍を有するか、またはその影響を受け得る。いくつかの実施形態に、被験体は代謝障害を有するか、またはそわなければ、代謝障害に罹患している。例えば、被験体はグリコーゲン蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ脂質投与量、異染性白質ジストロフィー、または本明細書に開示された治療および治療から利益を得ることができる他の疾患または障害からなる群から選択される代謝障害に罹患するか、そわなければ罹患することがあり、それらには重度複合免疫不全症、アルドリッチオールドリッチ症候群、高免疫グロブリンM(IgM)症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、大理石骨病、骨形成不全症、貯蔵疾患、サラセミア・メジャー、鎌状赤血球症、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus)、多発性硬化症、若年性関節リウマチおよび「非悪性疾患のための骨髓移植」、ASH教育書、1:319-338(2000)に記載された疾患または障害が含まれるが、これらに限定されるものではない。この開示は造血幹細胞移植療法の投与によって治療され得る病態に関連するために、その全体を参考として本明細書に組み込まれる。

【0150】

本明細書中で使用される場合、用語「疾患に罹患している」はGVHDまたは自己免疫疾患を経験している対象(例えば、ヒト)をいう。本発明は、任意の特定の徴候または症状、または疾患に限定されることを意図しない。したがって、本発明は亜臨床疾患からフルブローン疾患までの任意の範囲の疾患を経験している対象を包含し、対象はGVHDまたは自己免疫疾患に関連する徴候(例えば、徴候および症状)の少なくともいくつかを示すことが意図される。

【0151】

10

20

30

40

50

本明細書中で使用される場合、「トランスフェクション」という語は、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-dextran トランスフェクションなどのような、原核または真核宿主細胞への外因性DNAの導入のために一般的に使用される多種多様な技術のいずれかをいう。

【0152】

本明細書で使用する「移植」という語は、その起源部位からレシピエント部位に移された任意の臓器、身体組織、または細胞、またはそのようにする行為を指す。

【0153】

本明細書中で使用される場合、用語「予防する」または「予防する」は、GVHDまたは自己免疫疾患のような障害に関連する症状の停止、遅延および/または重症度の減少をいう。

10

【0154】

本明細書中で使用される場合、用語「処理する」または「処理」は治療処理をいい、ここで、目的は、望ましくない生理学的変化または障害を予防または減速(軽減)すること、または障害について処理される患者における有益な表現型を促進することである。有益なまたは所望の臨床結果には細胞数またはCD134またはCD278陽性細胞の相対濃度の減少、GVHDまたは自己免疫病の細胞および臨床症状の減少、および/または本明細書に記載されるような患者における外生的造血細胞の移植およびその後の造血幹細胞移植治療の促進が含まれるが、これらに限定されない。さらなる有益な結果としては、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性がある造血幹細胞の細胞数または比重の増大が挙げられる。本明細書に記載される治療の有益な結果は、また、ヘマトポアティック細胞移植療法に続いて、メガ核細胞、血小板(thrombocyte)、血小板(platelet)、赤血球、マスト細胞、マイオブラスト、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリルアル細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹枝状細胞、ナチュラル・キラー細胞、T細胞、またはB細胞のような、1つ以上の細胞のヘマトポアティック系統の幹細胞数または相対濃度の増大を含み得る。

20

【0155】

本明細書中で使用される場合、用語「有効量」または「治療有効量」は所望の結果を達成するために、またはGVHDまたは自己免疫疾患に対する効果を有するために十分な量をいう。任意の特定の患者についての特定の治療有効用量レベルは、治療される障害および障害の重症度;使用される所定の組成;患者の年齢、体重、一般的な健康、性別および食事;投与時間;投与経路;使用される特定の化合物の排泄速度;治療の期間;使用される特定の化合物と組み合わせて使用されるかまたは同時に使用される薬剤;および当該分野で周知の同様の因子を含む種々の因子に依存する。投薬量は、変動し得、そして1日または数日間、1回以上の用量投与で投与され得る。

30

【0156】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」とは、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインをいい、重鎖の可変ドメインを「VH」と呼ぶことがある。これらのドメインは軽鎖の可変ドメインを「VL」と呼ぶことがあり、一般に抗体の最も可変な部分であり、抗原結合部位(CDR)を含む。

40

【0157】

本明細書で使用する「ベクトル」という語は、プラスミド、DNAベクトル、プラスミド、RNAベクトル、ウイルス、または他の好適なレプリコンなどの核酸ベクトルを含む。本明細書中に記載される発現ベクターはポリヌクレオチド配列、ならびに、例えば、タンパク質の発現および/または哺乳動物細胞のゲノムへのこれらのポリヌクレオチド配列の組み込みのために使用されるさらなる配列エレメントを含み得る。抗体および抗体フラグメントの発現に用いることができる特定のベクターには、遺伝子転写を指示するプロモータ領域および向上剤などの調節配列を含むプラスミドが含まれる。抗体および抗体フラグメントの発現のための他の有効なベクトルは、これらの遺伝子の翻訳速度を増強するか、または遺伝子転写から結果mRNAの安定性または核外移行を改善するポリヌクレオチド配列

50

を含む。これらの配列要素は発現ベクター上に運ばれる遺伝子の効率的な転写を指示するために、例えば、5'および3'非翻訳領域、ならびにポリアデニル化シグナル部位を含み得る。本明細書中に記載される発現ベクターはまた、そのようなベクターを含有する細胞の選択のためのマーカーを符号化するポリヌクレオチドを含有し得る。適切なマーカーの例には、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、およびノウルセオスリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が含まれる。

【0158】

本明細書中で使用される場合、用語「アルキル」は例えば、鎖中に1~20個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基をいう。アルキル基の例としては、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル、イソヘキシルなどが挙げられる。

10

【0159】

本明細書中で使用される場合、用語「アルキレン」は、直鎖または分枝鎖の二価アルキル基をいう。二価の位置は、アルキル鎖内の同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。アルキレンの例には、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレンなどが含まれる。

【0160】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロアルキル」は例えば、鎖中に1~20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子(例えば、とりわけ、酸素、窒素、または硫黄)を含有する直鎖または分枝鎖アルキル基をいう。

20

【0161】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロアルキレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルキル基をいう。二価の位置は、ヘテロアルキル鎖内の同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。

【0162】

本明細書中で使用される場合、「アルケニル」という語は例えば、鎖中に2~20個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖のアルケニル基を指す。アルケニル基としては、例えば、ビニル、プロベニル、イソプロベニル、ブテニル、tert-ブチレニル、ヘキセニル等が挙げられる。

【0163】

本明細書で使用される「アルケニレン」という語は、直鎖または分岐鎖の二価アルケニル基を指す。二価の位置は、アルケニル連鎖内の同一または異なる原子上にあってもよい。アルケニレンの例としては、エテニレン、プロベニレン、イソプロベニレン、ブテニレンなどが挙げられる。

30

【0164】

本明細書で使用される「ヘテロアルケニル」という語は例えば、鎖中に2~20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子(例えば、とりわけ、酸素、窒素、またはイオウ)を含む直鎖または分岐鎖アルケニル基を指す。

【0165】

本明細書で使用される「ヘテロアルケニレン」という語は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルケニル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルケニル鎖内の同一または異なる原子上にあってもよい。

40

【0166】

本明細書で使用される「アルキニル」という語は例えば、鎖中に2~20個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキニル基を指す。アルキニル基の例としては、プロパルギル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル等が挙げられる。

【0167】

本明細書で使用される「アルキニレン」という語は、直鎖または分枝鎖の二価アルキニル基を指す。二価の位置は、アルキニル鎖内の同じ原子上にあっても異なってもよい。

50

【0168】

本明細書で使用される「ヘテロアルキニル」という語は例えば、鎖中に2~20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子(例えば、とりわけ、酸素、窒素、またはイオウ)を含む直鎖または分岐鎖アルキニル基を指す。

【0169】

本明細書中で使用される場合、「ヘテロアルキニレン」という語は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルキニル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルキニル鎖内の同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。

【0170】

本明細書中で使用される場合、用語「シクロアルキル」は飽和であり、例えば、3~12個の炭素環原子を有する、単環式、または縮合、架橋、またはスピロ多環式環構造を指す。シクロアルキル基の例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスシクロ[3.1.0]ヘキサンなどが含まれる。

【0171】

本明細書中で使用される場合、用語「シクロアルキレン」は、二価のシクロアルキル基をいう。二価の位置は、環構造内の同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。シクロアルキレンの例には、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレンなどが含まれる。

【0172】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキル」は飽和され、そして、例えば、とりわけ、炭素原子および、例えば、窒素、酸素、および硫黄から選択されるヘテロ原子から選択される環構造当たり3~12個の環原子を有する、単環式、または縮合、架橋、またはスピロ多環式環構造をいう。環構造は例えば、炭素、窒素、または硫黄環員上に1個以上のオキシ基を含んでいてもよい。ヘテロシクロアルキルの例としてはジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル(ピペリジル)、テトラヒドロチオフエニル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、テトラヒドロフランイル、テトラヒドロピラニル、ビス-テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、ピペラジニル、キヌクリジニル、およびモルホリニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0173】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキレン」は、二価のヘテロシクロアルキル基を指す。二価の位置は、環構造内の同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。

【0174】

本明細書中で使用される場合、用語「アリール」は例えば、6~19個の炭素原子を含む単環式または多環式芳香族環系をいう。アリール基としてはフェニル、フルオレニル、ナフチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0175】

本明細書で使用される「アリーレン」という語は、二価のアリール基を指す。二価の位置は、同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。

【0176】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロアリール」は単環式複素芳香族、または1つ以上の環原子がヘテロ原子(例えば、窒素、酸素、または硫黄)である二環式もしくは三環式縮合環ヘテロ芳香族基をいう。ヘテロアリール基には、ピリジル、ピロリル、チエニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、ピラゾリル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、1,2,3-トリアゾリル、[2,3-ジヒドロ]ベンゾフリル、ベンゾチエニル、ベンゾトリアゾリル、イソベンゾチエニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾイミダゾリル[1,2-a]ピリジル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリルが含まれる。キノリニル、キナゾリニル、キノリニル、キナフチジニル、ピリド[3,4-b]ピリジル、ピリド[

4,3-b]ピリジル、キノリル、テトラゾリル、5,6,7,8-テトラヒドロキノリル、5,6,7,8-テトラヒドロイソキノリル、プリニル、プテリジニル、カルバゾリル、キサランチニル、ベンゾキノリル等。

【0177】

本明細書で使用される「ヘテロアリーレン」という語は、2価のヘテロアリール基を指す。二価の位置は、同じ原子上にあっても、異なる原子上にあってもよい。

【0178】

個々の置換基の定義によって特に制約されない限り、前記の化学的な部分構造、例えば、「アルキル」、「アルキレン」、「ヘテロアルキレン」、「アルケニル」、「アルケニル」、「ヘテロアルケニレン」、「アルキニル」、「ヘテロアルキニル」、「ヘテロアルキニレン」、「シクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキル」、「アリール」、「ヘテロアリール」、「ヘテロアリール」、および「ヘテロアリーレン」基は例えば、アルキル、アルケニル、アルキルアルキニル、シクロアルキル、アリール、アルキルヘテロアリール、アルキルヘテロシクロアルキル、アミノ、アンモニウム、アシルオキシ、アミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリール、ヘテロアリール、スルフィニル、スルホニルで置換されていてもよい。アルコキシ、スルファニル、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、水酸基、メルカプト、ニトロ等。典型的な置換剤には-XOO(BR)₂、-S(=O)R、-C(=O)NH₂、-C(R)₂、-SO₃⁻、-SO₃H、-S(=O)₂R、-OS(=O)OB₂、-S(=O)R、C)SR、-C(=S)SR、-C(=O)NH₂、-C(=O)FS₂、-S(=O)R、-OP(=O)(OH)₂、-C(=NH)-OP(=O)(or)₂および、-P(=O)(or)が含まれるが、これらに限定されるものではない。ここで、それぞれのXはF、Cl、Br、およびIからのそれぞれのオカレンスに対して独立して選択され、それぞれのRはアルキ、ヘテロシクロアルクまたはヘテロアルヤルからのオカレンスごとに独立して選択され、グループおよびプロダクトモティーを保護する。基が「任意に置換されている」と記載されている場合はいつでも、その基は、各場合に独立して、上記の置換基の1つ以上で置換され得る。置換は隣接する置換基が閉環を受けて、例えば、ラクタム、ラクトン、環状無水物、アセタール、ヘミアセタール、チオアセタール、アミナール、およびヘミアミナールを形成し、例えば、保護基を与えるために閉環によって形成される、隣接する官能性置換基の閉環などの状況を含み得る。

【0179】

ある種のラジカル命名規則は、文脈に応じて、モノラジカルまたはジラジカルのいずれかを含むことができることを理解されたい。例えば、置換基が分子の残りの部分への2つの結合点を必要とする場合、置換基はジラジカルであることが理解される。例えば、2つの結合点を必要とするアルキルとして同定される置換基は、-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-、などのジラジカルを含む。他のラジカル命名規則は、ラジカルが「アルキレン」、「アルケニレン」、「アリーレン」、「ヘテロシクロアルキレン」などのようなジラジカルであることを明確に示す。

【0180】

置換基がジラジカルとして描かれている(すなわち、分子の残りの部分への2つの結合点を有する)場合はいつでも、別段の指示がない限り、置換基は任意の方向性配置で結合することができることを理解されたい。

【0181】

詳細説明

抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または造血細胞によって発現される抗原に結合することができる可溶性リガンドを投与することによって、移植片対宿主病(GVHD)および自己免疫疾患を予防および/または治療する方法を提供する。ある特定の実施形態に、本明細書中に開示される方法および組成物は、宿主対移植片病(HvGD)を含む同種移植片拒絶を予防または処置するために使用され得る。抗CD134またはCD278抗体またはADCの投与は、同種骨髄移植のような同種移植後の宿主に対して反応性である外生的T細胞の集団の選択的枯渇を引き起こし得る。CD134またはCD278に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドを患者に投与して、GVHDおよび自己免疫

疾患(例えば、造血幹細胞移植療法から生じる疾患)を予防および処置し得、ここで、抗CD134またはCD278剤は免疫細胞(特に、同種反応性T細胞)を標的化し、そして破壊し、その結果、移植が患者によって受容されるという発見に部分的に基づいている。本明細書中に記載される方法および組成物は、一般的な免疫抑制薬が必要とされず、その結果、患者の免疫系は一般的に無傷のままであり、一方、拒絶に少なくとも部分的に関与する細胞を特異的に標的化するという点で有利である。

【0182】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドの投与による、GVHDの予防および治療は様々な臨床症状において現れ得る(例えば、McDonald, Blood.127:1544-1440、2016、および華ら、Blood.125:606-615を参照のこと、これらの記載はそれぞれ、急性および慢性GVHDの測定可能な臨床的特徴に関連するが、これらに限定されないもので、参考として本明細書に援用される)。抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCの投与による、GVHDおよび自己免疫疾患の予防および治療は、種々の経験的測定において発現することができる。例えば、CD134+またはCD278+陽性細胞の枯渇は、移植後の間にin末梢血でCD134+またはCD278+白血球細胞数をそれぞれ測定するための当技術分野で公知の蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)解析方法によって、および/または骨髓吸引サンプルにおける供与体細胞による骨髓細胞の回収を測定することによって決定することができる。レシピエントの末梢血におけるインターフェロン- γ (IFN- γ)産生T細胞の計数は、GVHDおよび自己免疫疾患に対する防CD134または防CD278の有効性を評価することができる。FACSによって決定される免疫細胞集団の変化は、GVHDまたは自己免疫疾患を示すことができる。最後に、患者から採取した遺伝子およびプロテオームバイオマーカーは、GVHDまたは自己免疫疾患を示すこともできる。

【0183】

以下のセクションでは、GVHDまたは自己免疫疾患に苦しんでいる患者またはリスクのある患者、ならびに患者にかかる治療を実施する方法に対して、抗体、その抗原結合断片、ADC、または可溶性リガンドについて説明する。

【0184】

-抗CD134抗体とリガンド

0185 本発明は、部分的には抗体、その抗原結合フラグメント、抗体-薬物結合体(ADC)、またはCD134(OX40、OX40R、または腫瘍壊死因子レセプタースーパーファミリーメンバー4(TNFRSF4)とも呼ばれる)に結合することができる可溶性リガンドがGVHDまたは自己免疫疾患に罹患しているか、またはその危険性がある患者において、造血幹細胞からのGVHDを予防および治療するための治療薬剤として使用され得るという知見に基づく。さらに、ヒトCD134LなどのCD134に結合するリガンドは、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性がある患者を予防または治療するための治療薬剤として使用することができるが発見された。これらのリガンド(例えば、可溶性ヒトCD134)は例えば、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性(ADCC)を促進するために、エフェクタドメイン(例えば、Fcドメイン)に共有結合され得る。

【0185】

T細胞はこの抗原が共刺激分子の膜貫通TNFレセプター・スーパーファミリーであり、種々の造血細胞上で発現され、T細胞の増殖および生存を調節するので、CD134を発現することが示されている(例えば、Cannonsら、JImmunol.167:1313-1324、2001を参照のこと(その開示はT細胞によるCD134の発現に関連するので、本明細書中に参考として援用される))抗体、その抗原結合フラグメント、およびリガンドは当技術分野で公知であり、本明細書中に記載される技術を使用して、例えば、免疫化、計算モデル化技術、およびインビトロ選択方法(例えば、以下に記載されるファージディスプレイおよび細胞ベースのディスプレイプラットフォーム)によって同定され得る。

【0186】

ある実施形態に、本明細書中に記載される方法および組成物(ADCを含む)において使用

され得る抗CD134抗体は、マウスモノクローナル抗CD134抗体Ber-ACT35またはBer-ACT35抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD134抗体である。Ber-ACT35(Biolegend Cat.No.350004により販売Santa Cruz Biotechnology、Inc.Cat.Nosc-20073(2019年1月18日)も参照)。Ox40(BER-Act35)は、HuT 102 T細胞に対して作製されたマウスモノクローナル抗体である。

【0187】

ある実施形態に、抗CD134抗体は、抗CD134抗体ACT35のCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖、ならびに抗CD134抗体Ber-ACT35のCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域を含む。別の実施形態において、本明細書中に開示される組成物および方法において使用される抗CD134抗体は、ヒト化Ber-ACT35抗体である。

10

【0188】

ある実施形態に、本明細書中に記載される方法および組成物(ADCを含む)において使用され得る抗CD134抗体は、ネズミモノクローナル抗CD134抗体7D6または7D6抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD134抗体である。7D6(Thermo Fisher Scientific Cat.No.MA5-16548(2019年1月17日付)により販売されている);Bio Rad、Inc.も参照のこと。Cat. No.MCA2568GA(2019年1月18日付)。7D6は、CHO由来ネコCD134-Fc融合タンパク質に対して産生されたマウスモノクローナル抗体である。

【0189】

ある実施形態に、抗CD134抗体7D6のCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖、ならびに抗CD134抗体7D6のCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域を含む抗CD134抗体。別の実施形態において、本明細書中に開示される組成物および方法において使用される抗CD134抗体は、ヒト化7D6抗体である。

20

【0190】

ある実施形態に、本明細書中に記載される方法および組成物(ADCを含む)において使用され得る抗CD134抗体は、ラットモノクローナル抗CD134抗体443318または443318抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD134抗体である。443318(Novus Cat.No.MAB3388-SP(2019年1月17日付)により販売されている。Thermo Fisher Scientificも参照する。)。Cat. No.MA5-23676(2019年1月18日)。44318は、マウス骨髄腫細胞株NS0由来組換えヒトOX40/TNFRSF4 Leu29-Ala216(受託番号P43489)に対して作製されたラットモノクローナル抗体(IgG2A)である。

30

【0191】

ある実施形態に、抗CD134抗体は、抗CD134抗体443318のCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖、ならびに抗CD134抗体443318のCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域を含む。別の実施形態において、本明細書に開示される組成物および方法物において使用される抗CD134は、抗体化されたヒト化443318である。

【0192】

他の実施形態では本明細書に記載される方法および組成物(ADCを含む)と併せて使用され得る、さらなる抗CD134抗体およびその抗原結合フラグメントは以下を含む: MEDI6469(AgonOx、Medimmune)、PF-04518600(Pfizer)、vonlerizumab(pogalizumab、MOXR0916、RG7888; Genentechとしても公知)、KHK4083(Kyowa Hakko Kirin Co、Ltd、Kirin Pharma)、BMS 986178(Bristol-Myers Squibb、Pfizer)、tavolimab(MEDI-0562、tavolixizumabとしても公知)、INCAGN1949(INCAGN01949としても公知; Agenus Inc.)Incyte、GBR 830(VH6/VL9としても知られる)、ATOR-1015(ADC-1015としても知られる)、Alligator Bioscience、GSK3174998(GlaxoSmithKline / MD Anderson Cancer Center)、MEDI6383(Medimmune)、IBI101(Innovent Biologics)、UCB特許抗OX40(UCB S.A.)、米国特許抗OX40(Hu222としても知られる); University of Texas)、Crucell patent anti-OX40(Crucell)、Janssen patent anti-OX40(Bioceros B.V、Janssen Biotech Inc)、Glaxo patent anti-OX40(GlaxoSmithKline、Merck & Co、Inc.)、Spring Bioscience patent anti-OX40(Roche(FHoffmann-La Roche Ltd)、Spring Bioscience Corp.)、Roche patent anti-OX40 / FAP(Roche(FHoffmann-La Roche Ltd))、DingFu Biotarget patent anti-OX40(DingFu Biotarget Co.Ltd.)

40

50

、Cancer Research Tech patent anti-OX40(Cancer Research Technology)、Agenus patent anti-GITR / OX40(Agenus Inc、Ludwig Institute for Cancer Research、Sloan-Kettering Instfor Cancer Res.)、Inhibrx patent anti-PD-L1 / OX40(Inhibrx LLC)、Alligator patent anti-OX40 / X(Alligator Bioscience)、IGM Bio patent anti-OX40(IGM Biosciences)、Sorrento patent anti-OX40(Sorrento Therapeutics)、AbbVie patent anti-OX40(AbbVie、Inc.)、Roche特許anti-OX40/ Tenascin C(Roche(FHoffmann-La Roche Ltd))、Roche特許anti-OX40/ EpCAM(Roche(FHoffmann-La Roche Ltd))、およびAlligator特許anti-OX40/CTLA-4(Alligator Bioscience)。

【0193】

本明細書中に記載される細胞毒と組み合わせて含む、本明細書中に開示される方法および組成物において使用され得る抗CD134抗体は当該分野で公知の技術(例えば、ハイブリドーマ産生またはファージディスプレイ)を使用して同定され得る。ハイブリドーマは、マウス系を用いて調製することができる。免疫化およびその後の融合のための脾細胞の単離のためのプロトコールは、当該分野で公知である。ハイブリドーマ生成のための融合パートナーおよび手順もまた公知である。ヒト抗CD134抗体は、HuMAb-マウス(R)またはXenoMouseTMで生成することもできる。抗CD134抗体を作製する際に、CD134抗原を単離および/または精製する。CD134抗原は、CD134の細胞外ドメインからのCD134のフラグメントであってもよい。動物の免疫化は、当技術分野で公知の任意の方法によって行うことができる。例えば、HarlowおよびLane、抗体: A Laboratory Manual、New York: Cold Spring Harbor Press、1990を参照されたい。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシおよびウマなどの動物を免疫するための方法は、当技術分野で周知である。例えば、Harlow and Lane、supra、and U.SPat.を参照されたい。No.5,994,619。CD134抗原は、免疫反応を刺激するためにアジュバントと共に投与され得る。当技術分野で公知のアジュバントには、完全または不完全フロイントアジュバント、RIBI(ムラミルジペプチド)またはISCOM(免疫刺激複合体)が含まれる。CD134抗原で動物を免疫した後、免疫した動物から単離した細胞から抗体産生不死化細胞株を調製する。免疫化後、動物を屠殺し、そしてリンパ節および/または脾臓B細胞を、当該分野で公知の方法(例えば、癌遺伝子導入、癌性ウイルス形質導入、発癌性または変異化合物への露光、不死化細胞(例えば、骨髄腫細胞)との融合、および腫瘍サプレッサー遺伝子の不活性化)によって不死化する。例えば、HarlowおよびLane、前出を参照のこと。ハイブリドーマは、強固な増殖、高抗体産生、および所望の抗体特性を含む、所望の特性について選択、クローニング、およびさらにスクリーニングされ得る。

【0194】

抗CD134抗体は、本発明によって提供されるCD134結合分子のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子から生成され得る。ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列は、抗体の任意の一部、例えばCDR、1つ、2つ、または3つのCDRを含む配列、重鎖の可変領域、軽鎖の可変領域であってもよく、または全長重鎖または全長軽鎖であってもよい。本開示の核酸は例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。典型的には、核酸はcDNA分子である。

【0195】

抗体および抗原結合フラグメントに加えて、ヒトCD134リガンドなどの水溶性CD134リガンドを、本明細書に記載の方法に従って患者に投与して、造血幹細胞移植治療の前に患者を状態調節することができる。例えば、ヒトCD134リガンドのようなCD134リガンドは細胞毒素(例えば、以下に記載されるか、または当該分野で公知の方法に従って)または別のエフェクタ分子(例えば、Fcドメイン)に結合体化され得る。本明細書中に記載される方法と共に使用するためのメイタンシンな細胞毒は例えば、ヒトCD134リガンド-IgG1 Fc結合体、ヒトCD134リガンド-IgG2 Fc結合体、ヒトCD134リガンド-IgG3 Fc結合体、ヒトCD134リガンド-IgG4 Fc結合体、ヒトCD134リガンド-IgA Fc結合体、ヒトCD134リガンド-IgE Fc結合体、ヒトCD134リガンド-IgM Fc結合体、およびヒトCD134リガンド-IgD Fc結合体を含む。本明細書中に記載される組成物および方法と組み合わせて使用するための抗体および

リガンドはFcドメインを含むかまたは欠損する抗体フラグメント、ならびに本明細書中に記載される非ヒト抗体のヒト化変形例、および本明細書中に記載される抗体、抗体フラグメント、または水溶性抗体のCDRまたはその相当領域の1つ以上またはすべてを含む抗体様タンパク質足場(例えば、¹⁰Fv3ドメイン)などの、上記のリガンドの変形例を含む。前記の抗体の例示的な抗原結合フラグメントは、とりわけ、二重可変免疫グロブリン・ドメイン、単鎖Fv分子(scFv)、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質足場、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムdi-scFvを含む。本発明の抗体は例えば(Dall'Acquaら(2006)J Biol Chem 281: 23514-24)、(Zalevskyら(2010)Nat Biotechnol 28: 157-9)、(Hintonら(2004)J Biol Chem 279: 6213-6)、(Hintonら(2006)J Immunol 176: 346-56)、(Shieldsら(2001)J Biol Chem 276: 6591-604)、(Petkovaら(2006)Int Immunol 18: 1759-69)、(Datta-Mannanら(2007)Drug Metab Dispos 35: 86-94)、(Vaccaroら(2005)Nat Biotechnol 23: 1283-8)、(Yeungら(2010)Cancer Res 70: 3269-77および(Kimら、(1999)Eur J Immunol 29: 2819-25)を含む。250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434および435。単独でまたは組み合わせて作製され得る例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435AおよびH435R変異である。

10

【0196】

前述の抗CD134抗体、またはその抗原結合フラグメントは例えば、ヒト対象中のCD134+細胞の枯渇のためのin方法を含む、本明細書中に記載される種々の局面において使用され得る。前述の抗CD134抗体、またはその抗原結合フラグメントはまた、本明細書中に記載されるように、薬剤(例えば、細胞毒(例えば、アマトキシシン))に結合体化され得る。

20

【0197】

抗CD278抗体

本発明はさらに、抗体、その抗原結合断片、抗体・ドラッグ・コンjugate(ADC)、または結合可能なCD278(ICOS、AILIM、活性化誘発性イモジュレーター・イモジュレーション分子とも呼ばれる)を結合可能な溶性リガンドがGVHDまたは自己免疫疾患に苦しむ患者において、GVHDが血球幹細胞を予防し、治療するための治療薬剤として使用できるという発見に基づいている。

【0198】

CD278またはICOS(Inducible T-細胞共刺激因子)は、活性化T細胞上に発現するCD28-スーパーファミリー共刺激分子である。CD278はCD28およびCTLA-4細胞表面レセプターファミリーに属し、細胞細胞シグナル伝達、免疫反応、細胞増殖の調節に重要な役割をしている。ある実施形態に、抗CD278抗体は、抗CD278抗体DX29のCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖、ならびに抗CD134抗体DX29のCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域を含む。別の実施形態において、本明細書中に開示される組成物および方法において使用される抗CD278抗体は、ヒト化DX29抗体である。ある実施形態に、本明細書中に記載される方法および組成物(ADCを含む)において使用され得る抗CD278抗体は、マウスモノクローナル抗CD278抗体DX29またはDX29抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD278抗体である。DX29(BD Biosciences Cat.No.557801(2019年1月17日付)により販売);Fisher Scientificも参照。Cat.No.BDB557802(2019年1月18日)。DX29は、活性化されたヒトT細胞に対して産生されるマウスモノクローナル抗体である。

30

40

【0199】

ある実施形態に、抗CD278抗体は、抗CD278抗体669238のCDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖、ならびに抗CD134抗体669238のCDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域を含む。別の実施形態において、本明細書中に開示される組成物および方法物において使用される抗CD278は、抗体化されたヒト化669238である。

【0200】

ある実施形態に、本明細書中に記載される方法および組成物(ADCを含む)において使用され得る抗CD278抗体は、マウスモノクローナル抗CD278抗体DX29または669238抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD278抗体である。669238(Novus Cat.No.MAB69751-SPにより販

50

売されている;Fisher Scientific Cat.No.MAB69752(2019年1月18日)も参照のこと)。669238は、部分組換えヒトICOSタンパク質(アミノ酸21~141)[UniProt Q9Y6W8]に対して産生されたマウスモノクローナル抗体である。

【0201】

他の実施形態において、本明細書に記載される方法および組成物(ADCを含む)と併せて使用され得る、さらなる抗CD278抗体、およびその抗原結合フラグメントは、以下を含む: MEDI-570(JMab-136としても知られる; Medimmune)、GSK3359609(88-2、53-3、92-17、IgG4PEとしても知られる; GlaxoSmithKline、INSERM)、vopratelimab(JTX-2011としても知られる; Jounce Therapeutics)、XmAb23104(Xencor Inc.)、KY1044(Kymab Ltd.)、日本たばこ特許抗ICOS(Japan Tobacco Inc.)、Kymab特許抗ICOS(Kymab Ltd.)、およびBMS特許抗ICOS(Bristol-Myers Squibb)。

10

【0202】

本明細書中に記載される細胞毒と組み合わせて使用され得る抗CD278抗体は当該分野で公知の技術(例えば、ハイブリドーマ産生)を使用して同定され得る。ハイブリドーマは、マウス系を用いて調製することができる。免疫化およびその後の融合のための脾細胞の単離のためのプロトコールは、当該分野で公知である。ハイブリドーマ生成のための融合パートナーおよび手順もまた公知である。ヒト抗CD278抗体は、HuMab-マウス(R)またはXeno MouseTMで生成することもできる。抗CD278抗体を作製する際に、CD278抗原を単離および/または精製する。CD278抗原は、CD278の細胞外ドメインからのCD278のフラグメントであってもよい。動物の免疫化は、当該分野で公知の任意の方法によって行うことができる。例えば、HarlowおよびLane, 抗体: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990を参照されたい。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシおよびウマなどの動物を免疫するための方法は、当該分野で周知である。例えば、Harlow and Lane, supra, and U.S.Pat.を参照されたい。No.5,994,619。CD278抗原は、免疫反応を刺激するためにアジュバントと共に投与され得る。当該分野で公知のアジュバントには、完全または不完全フロイントアジュバント、RIBI(ムラミルジペプチド)またはISCOM(免疫刺激複合体)が含まれる。CD278抗原で動物を免疫化した後、免疫化動物から単離された細胞から抗体産生不死化細胞株を調製する。免疫化後、動物を屠殺し、そしてリンパ節および/または脾臓B細胞を、当該分野で公知の方法(例えば、癌遺伝子導入、癌原性ウイルス形質導入、発癌性または変異化合物への露光、不死化細胞(例えば、骨髄腫細胞)との融合、および腫瘍サプレッサー遺伝子の不活性化)によって不死化する。例えば、HarlowおよびLane、前出を参照のこと。ハイブリドーマは、強固な増殖、高抗体産生、および所望の抗体特性を含む、所望の特性について選択、クローニング、およびさらにスクリーニングされ得る。

20

30

【0203】

抗CD278抗体は、本発明によって提供されるCD278結合分子のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子から生成され得る。ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列は、抗体の任意の一部、例えばCDR、1つ、2つ、または3つのCDRを含む配列、重鎖の可変領域、軽鎖の可変領域であってもよく、または全長重鎖または全長軽鎖であってもよい。本開示の核酸は例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。典型的には、核酸はcDNA分子である。

40

【0204】

抗体および抗原結合フラグメントに加えて、ヒトCD278リガンドのような水溶性CD278リガンドは例えば造血幹細胞移植治療後の同種移植片拒絶を予防するために、本明細書中に記載される方法に従って患者に投与され得る。例えば、CD278リガンド(例えば、ヒトCD278リガンド)は細胞毒素(例えば、以下に記載されるかまたは当該分野で公知の方法に従って)または別のエフェクタ分子(例えば、Fcドメイン)に結合体化され得る。本明細書中に記載される方法と共に使用するためのメイタンシンな細胞毒は例えば、ヒトCD278リガンド-IgG1 Fc結合体、ヒトCD278リガンド-IgG2 Fc結合体、ヒトCD278リガンド-IgG3 Fc結合体、ヒトCD278リガンド-IgG4 Fc結合体、ヒトCD278リガンド-IgA Fc結合体、ヒトCD278リ

50

ガンド-IgE Fc結合体、ヒトCD278リガンド-IgM Fc結合体、およびヒトCD278リガンド-IgD Fc結合体を含む。本明細書中に記載される組成物および方法と組み合わせて使用するための抗体およびリガンドはFcドメインを含むかまたは欠損する抗体フラグメント、ならびに本明細書中に記載される非ヒト抗体のヒト化変形例、および本明細書中に記載される抗体、抗体フラグメント、または水溶性抗体のCDRまたはその相当領域の1つ以上またはすべてを含む抗体様タンパク質足場(例えば、¹⁰Fn3ドメイン)などの、上記のリガンドの変形例を含む。前記の抗体の例示的な抗原結合フラグメントは、とりわけ、二重可変免疫グロブリン・ドメイン、単鎖Fv分子(scFv)、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質足場、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムdi-scFvを含む。本発明の抗体は例えば(Dall'Acquaら(2006)J Biol Chem 281: 23514-24)、(Zalevskyら(2010)Nat Biotechnol 28: 157-9)、(Hintonら(2004)J Biol Chem 279: 6213-6)、(Hintonら(2006)J Immunol 176: 346-56)、(Shieldsら(2001)J Biol Chem 276: 6591-604)、(Petkovaら(2006)Int Immunol 18: 1759-69)、(Datta-Mannanら(2007)Drug Metab Dispos 35: 86-94)、(Vaccaroら(2005)Nat Biotechnol 23: 1283-8)、(Yeungら(2010)Cancer Res 70: 3269-77および(Kimら、(1999)Eur J Immunol 29: 2819-25)を含む。250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434および435。単独でまたは組み合わせて作製され得る例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435AおよびH435R変異である。

【0205】

前述の抗CD278抗体、またはその抗原結合フラグメントは例えば、ヒト対象中のCD278+細胞の枯渇のためのin方法を含む、本明細書中に記載される種々の局面において使用され得る。前述の抗CD278抗体、またはその抗原結合フラグメントはまた、本明細書中に記載されるように、薬剤(例えば、細胞毒(例えば、アマトキシシン))に結合体化され得る。

【0206】

本明細書中に記載される抗CD134またはCD278抗体または結合フラグメントはまた、当該分野で公知のように、抗体および/またはフラグメントの特性を改変する改変および/または変異(例えば、半減期を増大させる、ADCCを増大させる、または低下させるなど)を含み得る。ある実施形態に、抗CD134もしくは抗CD278抗体、またはその結合フラグメントは変異体Fc領域を含み、ここで、該変異体Fc領域は野生型Fc領域に対して少なくとも1つのアミノ酸修飾を含み、その結果、該分子は、FcγRに対する改変された親和性を有する。Fc領域内の特定のアミノ酸位置は、FcγRと直接接触させるための結晶学的研究によって知られている。具体的には、アミノ酸234~239(ヒンジ領域)、アミノ酸265~269(B/Cループ)、アミノ酸297~299(C'/Eループ)、およびアミノ酸327~332(F/G)ループである。(Sondermann et al、2000 Nature、406: 267-273参照)。従って、本明細書中に記載される抗CD134または抗CD278抗体は、構造的および結晶学的解析に基づいてFcγRと直接接する少なくとも1つの残渣の変形例を含む変形例Fc領域を含み得る。ある実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体(またはそのフラグメント)のFc領域はKabatら、Sequences ofタンパク質of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, MD(1991)におけるように、アミノ酸265におけるアミノ酸置換を含む。「カバットにおけるようなEU指数」は、ヒトIgG1 EU抗体の番号付けを指す。KabatまたはEU番号体系におけるEUインデックスまたはEUインデックスはEU抗体の番号付けを指す(Edelmanら、1969、Proc Natl Acad Sci USA 66: 78-85、引用により全体が本明細書に組み込まれる)ある実施形態に、Fc領域はD265A変異を含む。ある実施形態に、Fc領域はD265C変異を含む。いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体(またはそのフラグメント)のFc領域はカバットにおけるように、欧州連合指数に従うアミノ酸234でのアミノ酸置換を含む。ある実施形態に、Fc領域はL234A変異を含む。いくつかの実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体(またはそのフラグメント)のFc領域はカバットにおけるように、欧州指数に従うアミノ酸235でのアミノ酸置換を含む。ある実施形態に、Fc領域はL235A変異を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域がL234AおよびL235A突然変異を含む。更なる実施形態において、Fc領域は、D265C、L234A、お

よびL235A変異を含む。

【0207】

特定の局面において、改変体IgG Fcドメインは、1つ以上のアミノ酸置換を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcγRおよび/またはClqに対する結合親和性の減少または除去を生じる1つ以上のアミノ酸置換を含む。Fc結合相互作用は抗体依存性細胞媒介細胞毒性(ADCC)および補体依存性細胞毒性(CDC)を含むがこれらに限定されない、様々なエフェクター機能および下流シグナル伝達事象に必須である。従って、特定の局面において、改変されたFc領域を含む抗体(例えば、L234A、L235A、およびD265C変異を含む)は、実質的に減少したかまたは消失したエフェクター機能を有する。

【0208】

Fc領域に対する親和性は当技術分野で公知の様々な技術、例えば、平衡方法(例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA); KinExA、Rathanaswamiら)を用いて決定することができるが、これらに限定されない。Analytical Biochemistry、Vol. 373:52-60, 2008年、または表面プラズモン共鳴アッセイもしくは動態に基づくアッセイの他のメカニズム(例えば、BIACORETM解析またはOctetTM解析(forteBIO))、および間接結合アッセイ、競合結合アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィ(例えば、ゲルろ過)などの他の方法。これらおよび他の方法は検査される1つ以上の成分上の標識を利用し得、そして/または色素産生標識、蛍光標識、発光標識、または同位体標識を含むが、これらに限定されない、種々の検知方法を利用し得る。結合親和性および動態の詳細な記載はPaul、WE、ed、Fundamental Immunology、4th Ed、Lippincott-Raven、Philadelphia(1999)に見出すことができ、これは抗体免疫原相互作用に焦点を当てている。競合結合アッセイの一例は、増大する量の非標識抗原の存在下での標識抗原と目的の抗体とのインキュベーション、および標識抗原に結合した抗体の検出を含むラジオイムノアッセイである。特定の抗原に対する関心の抗体の親和性および結合速度は、スキャッチャードプロット解析によるデータから決定され得る。第2の抗体との競合はまた、ラジオイムノアッセイを使用して決定され得る。このケースでは、標識されていない第2の抗体の量を増加させながら、標識された化合物に結合された関心の抗体とインキュベートする。

【0209】

本明細書に記載の抗体は例えば(Dall'Acqua et al.(2006)J Biol Chem 281: 23514-24)、(Zalevsky et al.(2010)Nat Biotechnol 28: 157-9)、(Hinton et al.(2004)J Biol Chem 279: 6213-6)、(Hinton et al.(2006)J Immunol 176: 346-56)、(Shields et al.(2001)J Biol Chem 276: 6591-604)、(Petkova et al.(2006)Int Immunol 18: 1759-69)、(Datta-Mannan et al.(2007)Drug Metab Dispos 35: 86-94)、(Vaccaro et al.(2005)Nat Biotechnol 23: 1283-8(2010)Cancer Res 70: 3269-77および(Kimら、(1999)Eur J Immunol 29: 2819-25)を含む。250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434および435。単独でまたは組み合わせて作製され得る例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257L、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435AおよびH435R変異である。

【0210】

従って、ある実施形態に、Fc領域は、半減期の低下をもたらす変異を含む。短い半減期を有する抗体は、抗体が短命の治療薬として機能することが期待される特定の例において好都合であり得る。ある実施形態に、Fc領域は、435位に変異を含む(カバットによる欧州連合指数)。ある実施形態に、変異はH435A変異である。

【0211】

ある実施形態に、本明細書に記載の抗CD134または抗CD278抗体は、24時間以下の半減期、22時間以下の半減期、20時間以下の半減期、18時間以下の半減期、16時間以下の半減期、14時間以下、13時間以下、12時間以下、または11時間以下の半減期を有する。ある実施形態に、抗体の半減期は、11時間~24時間; 12時間~22時間; 10時間~20時間; 8時間~18時間;または14時間~24時間である。

【0212】

いくつかの局面において、Fc領域は半減期の減少を付与し、そして抗体のエフェクター機能を大幅に減少させるか、または完全に無効にする、2つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態に、Fc領域は半減期の低下をもたらす変異、およびFcγRと直接接することができる少なくとも1つの残渣の変異を含む(例えば、構造的および結晶学的解析に基づく)。ある実施形態に、Fc領域は、H435A突然変異、L234A突然変異、およびL235A突然変異を含む。ある実施形態に、Fc領域は、H435A突然変異およびD265C突然変異を含む。ある実施形態に、Fc領域は、H435A突然変異、L234A突然変異、L235A突然変異、およびD265C突然変異を含む。

【0213】

いくつかの実施形態に、抗体またはその抗原結合フラグメントは本抗体のFcドメインのシステイン残基またはその抗原結合フラグメントによって、細胞毒素(例えば、アマトキシン)に結合される。いくつかの実施形態に、システイン残基は、抗体またはその抗原結合フラグメントのFcドメインにおける変異によって導入される。例えば、システイン残基は、Cys118、Cys239、およびCys265からなる群から選択され得る。ある実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体(またはそのフラグメント)のFc領域はカバットにおけるように、欧州連合指数に従うアミノ酸265でのアミノ酸置換を含む。ある実施形態に、Fc領域はD265C変異を含む。ある実施形態に、Fc領域は、D265CおよびH435A変異を含む。ある実施形態に、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235A変異を含む。ある実施形態に、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435A変異を含む。

【0214】

これらのいくつかの実施形態局面において、システイン残基は、本抗体のFcドメインまたはその抗原結合フラグメント中に天然に存在する。例えば、FcドメインはヒトIgG1 FcドメインなどのIgG Fcドメインであってもよく、システイン残基はCys261、Cys321、Cys367、およびCys425からなる群から選択されてもよい。

【0215】

本明細書に記載される変形例Fcドメインは、それらを構成するアミノ酸修飾に従って定義される。Fc領域に関して本明細書中で議論される全てのアミノ酸置換について、番号付けは、常にEU指数に従う。従って、例えば、D265Cは、親Fcドメインに対してシステイン(C)で置換されたEU位置265のアスパラギン酸(D)を有するFc変形例である。同様に、例えば、D265C/L234A/L235Aは、母体Fcドメインに対してEU位置265(D~C)、234(L~A)、および235(L~A)に置換を有する変異体Fc変異体を定義する。変異体はまた、変異EUアミノ酸位置におけるその最終アミノ酸組成に従って指定され得る。例えば、L234A/L235A突然変異体は、LALAと呼ぶことができる。置換が提供される順序は任意であることに留意されたい。

【0216】

抗体識別方法

CD134またはCD278に結合し得る分子についての抗体、抗体フラグメント、およびリガンドのライブラリのハイスループットスクリーニングのための方法は例えば、GVHDまたは自己免疫疾患を予防および処置するために有効である成熟因子を同定および親和性するために使用され得る。このような方法には、とりわけ、ファージディスプレイ、細菌ディスプレイ、イーストディスプレイ、哺乳動物細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、mRNAディスプレイ、およびcDNAディスプレイなどの、当技術分野で公知のインビトロディスプレイ技術が含まれる。生物学的に関連する分子に結合する抗体、抗原結合フラグメント、または配位子を単離するためのファージディスプレイの使用は例えば、Feliciら、Biotechnolにおいて概説されている。Annual Rev.1:149-183、1995; Katz、Annual Rev. Biophys. Biomol. 構造。26:27-45、1997;およびHoogenboomら、Immunotechnology 4:1-20、1998、これらの各々の開示は、インビトロディスプレイ技術に関連するので、参照により本明細書に組み込まれる。ランダム化コンビナトリアル・ペプチド・ライブラリはKay、Perspectに記載されるように、細胞表面抗原に結合するポリペプチドを選択するために構築された。創薬デス。2:251-268、1995年およびKayら、Mol. ダイバー。1:139-140、1996

、これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見に関連するので、参照により本明細書に組み込まれる。タンパク質(例えば、多量体タンパク質)は機能的分子として首尾よくファージディスプレイされている(例えば、EP 0349578; EP 4527839; およびEP 0589877、ならびにChiswellおよびMcCafferty、Trends Biotechnolを参照のこと)。10:80-84 1992、これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のためのインビトロディスプレイ技術の使用に関するので、参照により本明細書に組み込まれる。さらに、機能的抗体フラグメント(例えば、FabフラグメントおよびscFvフラグメント)はインビトロディスプレイフォーマットにおいて発現されている(例えば、McCaffertyら、Nature 348:552554、1990; Barbasら、Procを参照のこと)。Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982、1991; およびClacksonら、Nature 352:624-628、1991(これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のためのインビトロディスプレイプラットフォームに関連するので、本明細書中に参考として援用される)。ヒト抗CD134抗体またはヒト抗CD278抗体は例えば、HuMAb-マウス(R)またはXenoMouseTMにおいて生成することもできる。これらの技術はとりわけ、CD134またはCD278に結合する抗体、抗体フラグメント、およびリガンドの親和性を同定および改善するために使用され得、次いで、これらは被験体における造血細胞を枯渇させるために使用され得る。

10

【0217】

インビトロディスプレイ技術に加えて、コンピュータモデリング技術を使用して、例えば、米国特許出願公開第2013/0288373号に記載された手順を使用して、コンピュータモデリング技術を使用して、抗CD134または抗CD278抗体、抗体フラグメントおよびリガンドをインシリコでデザインおよび同定することができ、その開示は、抗CD134または抗CD278抗体を同定するための分子モデリング方法に関するもので、本明細書に組み込まれる。例えば、計算モデル化技術を使用して、当業者のある者はCD134またはCD278上の特異的エピトープ(例えば、それぞれ、CD134またはCD278の細胞外エピトープ)に結合し得る分子について、抗体、抗体フラグメント、およびリガンドのライブラリをインシリコでスクリーンし得る。

20

【0218】

細胞(例えば、T細胞)表面CD134またはCD278に結合し、例えば、レセプター媒介エンドサイトーシスによって細胞によって内部移行される、抗体、抗原結合フラグメント、およびそれらの配位子を同定するために、さらなる技術を使用することができる。例えば、上記のインビトロディスプレイ技術は抗体、その抗原結合フラグメント、および造血幹細胞の表面上のCD134またはCD278に結合し、続いて内在化されるリガンドについてスクリーニングするために適合され得る。ファージディスプレイは、このスクリーニングパラダイムと組み合わせて使用され得る1つのこのような技術を表す。抗CD134または抗CD278抗体、そのフラグメント、およびCD134またはCD278に結合し、続いて造血幹細胞によって内在化される配位子を同定するために、当業者のある者はWilliamsら、白血病19:1432-1438, 2005に記載されているファージディスプレイ技術を使用することができ、その開示は、その全体が参考として本明細書に援用される。例えば、当技術分野で公知の突然変異誘発方法を使用して、とりわけscFvフラグメント、Fabフラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、および¹⁰ Fn3ドメインなどの抗体、抗体フラグメント、またはランダム化されたアミノ酸カセットを含むリガンド(例えば、CDRまたはその相当領域の1つ以上、またはすべて、または抗体もしくは抗体フラグメント)を符号化する組換えファージ・ライブラリを産生することができる。抗体または抗体フラグメントの骨格領域、ヒンジ、Fcドメイン、および他の領域は例えば、ヒト生殖系列抗体配列またはヒト生殖系列抗体と比較してわずかな変異しか示さない配列を有することによって、ヒトにおいて非免疫原性であるように設計され得る。

30

40

【0219】

本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知のファージディスプレイ技術を使用して、ファージ粒子に共有結合したランダム化抗体、抗体フラグメント、または配位子を含むファージ・ライブラリは例えば、最初にファージ・ライブラリをブロック剤(例えば、抗体を符号化するファージ、そのフラグメント、または非特異的タンパク質結合

50

を示す配位子、およびFcドメインに結合する抗体またはそのフラグメントを符号化するファージを除去するために、乳タンパク質、ウシ血清アルブミン、および/またはIgG)とインキュベートし、次いで、ファージ・ライブラリを、CD134+またはCD278+である造血幹細胞の集団とインキュベートすることによって、CD134またはCD278抗原とインキュベートされ得る。ファージ・ライブラリはCD134特異的抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンドが細胞表面CD134またはCD278に結合し、続いて造血幹細胞によってインターナライズされるのに十分な時間(例えば、4℃で1時間など、4℃で30分~6時間)、造血幹細胞とインキュベートすることができる。抗体、そのフラグメント、またはCD134またはCD278に対して結合を可能にするのに十分な親和性を示さないリガンドを含むファージは続いて、例えば、冷(4℃)0.1Mグリシンバッファー、pH 2.8で細胞を洗うことによって、造血幹細胞に結合し、それによるインターナライゼーションを除去することができる。造血幹細胞によって内在化された抗体、そのフラグメント、または配位子に結合したファージは例えば、細胞を溶解し、細胞培養培地から内在化ファージを回収することによって同定することができる。次いで、ファージは例えば、当該分野で公知の方法を使用して、2×YT媒体中で回収されたファージと共に細菌細胞をインキュベートすることによって、細菌細胞中で増幅され得る。次いで、この媒体から回収されたファージは例えば、ファージゲノム内に挿入された抗体、そのフラグメント、またはリガンドを符号化する遺伝子の核酸配列を決定することによって特徴付けられ得る。コードされた抗体、その断片、またはリガンドはその後、化学合成(例えば、scFv断片、またはCD134もしくはCD278リガンドなどの抗体フラグメントの)によって、または組換え発現(例えば、全長抗体の)によって、新たに調製することができる。

10

20

【0220】

調製された抗体、そのフラグメント、またはリガンドの内部移行能力は例えば、当該分野で公知の放射性核種内部移行アッセイを使用して評価され得る。例えば、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、抗体I、²¹¹At、⁶⁷Ga、¹¹¹In、⁹⁹Tc、¹⁶⁹Yb、¹⁸⁶Re、Cu ⁶⁷、¹³¹Lu、⁷⁷as、⁷²、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、²¹²Bi、⁶⁴Bi、または²²⁵Acなどの放射性同位体を組み込むことによって、本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知のインビトロディスプレイ技術を使用して同定される抗CD134または抗CD278 ¹⁷⁷、そのフラグメント、またはリガンドを官能化することができる。例えば、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、I ¹²²、I ¹²⁴、I ¹²⁹、¹³¹、Atなどの放射性ハロゲンは抗体、そのフラグメント、または電解ハロゲン試薬を含むポリスチレン¹²³などのビーズを使用するリガンドに組み込むことができる(例えば、ヨードネーションビーズ、サーモ・フィッシャー・サイエンティフィック社、ケンブリッジ、マネシア)。放射標識された抗体、そのフラグメント、ADC、またはリガンドは内在化を可能にするのに十分な時間(例えば、4℃で1時間など、4℃で30分~6時間)、造血幹細胞とともにインキュベートされ得る。次いで、細胞を洗浄して、(例えば、冷(4℃)0.1Mグリシンバッファー、pH 2.8を使用して)非内在化抗体またはそのフラグメントを除去することができる。内部化された抗体、そのフラグメント、またはリガンドは回収された洗浄バッファーの放出された照射(例えば、γ線)と比べて、得られた造血幹細胞の放出された照射(例えば、γ線)を検出することによって同定することができる。前記の内在化アッセイはまた、ADCを特徴付けるために使用され得る。

30

40

【0221】

抗体は例えば、米国特許に記載されるように、組換え方法および組成物を使用して産生され得る。No.4,816,567。ある実施形態に、本明細書に記載の抗CD134または抗CD278抗体を符号化する単離核酸が提供される。このような核酸はVLを含むアミノ酸配列および/または本抗体のVHを含むアミノ酸配列(例えば、本抗体の軽鎖および/または重鎖)をコードし得る。更なる実施形態において、このような核酸を含む1つ以上のベクトル(例えば、発現ベクトル)が提供される。更なる実施形態において、このような核酸を含む宿主細胞が提供される。1つのこのような実施形態において、宿主細胞は(1)本抗体のVLを含むアミノ酸配列および本抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクトル、または(2

50

)本抗体のVLを含むアミノ酸配列を含む核酸配列をコードする第1のベクトルおよび本抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクトルを含む(例えば、形質転換されている)。ある実施形態に、宿主細胞は真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞またはリンパ系細胞(例えばY0、NS0、Sp20細胞)である。ある実施形態に、抗CLL-1抗体を作製する方法が提供され、ここで、この方法は抗体の発現に適した条件下で、上記に提供されるような抗体を符号化する核酸を含む宿主細胞を培養すること、および任意に、宿主細胞(または宿主細胞培養培地)から抗体を回収することを含む。

【0222】

134または抗CD278抗体の組換え産生のために、抗体を符号化する核酸(例えば、上記のよう)は、単離され、そして宿主細胞におけるさらなるクローニングおよび/または式のために1つ以上のベクトルに挿入される。このような核酸は従来の手順を使用して(例えば、本抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合し得るオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって)容易に単離され得、そして配列決定され得る。

【0223】

抗体を符号化するベクトルのクローニングまたは発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載の原核生物または真核生物細胞が含まれる。例えば、抗体は特にグリコシル化およびFcエフェクタ機能が必要とされない場合に、inバクテリアで産生され得る。バクテリアにおける抗体フラグメント及びポリペプチドの表現については、例えばU.S.パットを参照のこと。番号。5,648,237、5,789,199、5,840,523。発現後、抗体を、可溶性画分中の細菌細胞糊から単離し、さらに精製することができる(Charlton, 方法in Molecular Biology, Vol.248(B.K.Clo, ed, Humana Press, Totowa, NJ, 2003)、pp.245-254を参照されたい。

【0224】

脊椎動物細胞も宿主として使用することができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適合された哺乳動物細胞株が有益であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例はSV40(COS-7);ヒト胚性腎臓株(例えば、Grahamら、JGen Virol.36:59(1977)に記載されるような293または293細胞);ベビーハムスター腎臓細胞(BHK);マウスセルトリ細胞(例えば、Mather、Biol.Reprodに記載されるようなTM4細胞)である。23:243?251(1980);サル腎臓細胞(VERO-76);ヒト子宮頸癌細胞(MDCK);バッファローラット肝臓細胞(BRL 3A);ヒト肺細胞(WI 38);ヒト肝臓細胞(Hep G2);マウス乳癌(MMT 060562);TRIアフリカミドリザル(例えば、Matherら、Annals NYに記載される)。Acad. Sci. 383:44-68(1982);MRC 5細胞;およびFS4細胞。他の有用な哺乳動物宿主細胞株はチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(DHFRCHO細胞を含む(ウルラウブラ、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980)));および骨髓腫細胞株(例えば、Y0、NS0およびSp2/0を含む)。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、YazakiおよびWu, 方法in Molecular Biology, Vol.248(BKCLLo, ed, Humana Press, Totowa, NJ), pp.255-268(2003)を参照のこと。

【0225】

本明細書中に記載される組成物および方法と共に使用するための抗CD134または抗CD278抗体のインビトロ進化のための例示的な方法は、ファージディスプレイである。ファージディスプレイライブラリは抗体のCDRまたは抗体様足場の類似領域(例えば、¹⁰Fn3ドメインのBC、CD、およびDEループ)のためのコーディング配列内で設計された一連の突然変異または変異を作製することによって作製することができる。これらの変異が導入されるテンプレート抗体を符号化する配列は例えば、ナイーブヒト生殖系列配列であり得る。これらの突然変異は、当技術分野で知られている標準的な突然変異誘発技術を使用して実施することができる。従って、各々の変異配列は、1つ以上のアミノ酸変異を除いて、鋳型に対応する抗体をコードする。レトロウイルスおよびファージディスプレイベクターは、当該分野で公知の標準的なベクター構築技術を使用して操作され得る。互換性のあるタンパク質表現ベクトルと共にP3 フェーズ・ディスプレイ・ベクトルを使用することで、抗体分散のためのフェーズ・ディスプレイ・ベクトルを生成することができる。

【0226】

DNAは塩基配列の多様性をもたらし、それぞれの形質転換ファージはDNAがコードする最初の鋳型核酸配列変形例を示し、膨大な数の異なった構造的に関連したアミノ酸配列を示すファージ集団(ライブラリ)を導く。抗体超可変領域の明確な構造のために、ファージディスプレイスクリーンに導入されるアミノ酸変異は、その全分子構造を有意に変化させることなく、結合ペプチドまたはドメインの結合特性を変化させることが予想される。

【0227】

典型的なスクリーンでは、ファージ・ライブラリをCD134またはCD278またはそれらのエピトープと接触させ、結合させることができる。バインダーおよび非バインダーの分離を容易にするために、固体支持体上に標的を固定化することが好都合である。CD134結合部分またはCD278結合部分を有するファージは担体上の標的と錯体を形成することができるが、非結合ファージは溶解状態のままであり、余分なバッファーで洗い流すことができる。次いで、結合したファージは、バッファーを極値pH(pH 2またはpH 10)に変化させること、バッファーのイオン強度を変化させること、変性剤を添加すること、または他の既知手段によって、標的から遊離され得る。

【0228】

次いで、回収されたファージは、細菌細胞の感染によって増幅され得、そしてこのスクリーニングプロセスは非結合抗体が枯渇し、そしてCD134またはCD278に結合する抗体について濃縮された新たなプールを用いて反復され得る。少数の結合ファージの回収でさえ、スクリーニングの次の反復のためにファージを増幅するのに十分である。数ラウンドの選択の後、結合プール中の選択されたファージクローンに由来する抗体またはその抗原結合フラグメントをコードする遺伝子配列は、従来の方法によって決定され、したがって、標的に対するファージの結合親和性を付与するペプチド配列を明らかにする。パニング処理の間、集団の配列多様性は、所望のペプチド結合抗体が残るまで、選択のそれぞれのラウンドで減少する。配列は、少数の関連抗体またはその抗原結合フラグメントに収束し得る。選択のそれぞれのラウンドで回収されたファージの数の増大は、ライブラリの収束がスクリーニングにおいて生じたことを示す。

【0229】

CD134またはCD278に結合する非ヒト抗体は例えば、以下の手順に従ってヒト化され得る。コンセンサスヒト抗体重鎖および軽鎖配列は当該分野で公知である(例えば、「VBASE」ヒト生殖系列配列データベース; Kabatらを参照のこと)。Sequences ofタンパク質of Immunological Interest、Fifth Edition、U.SDepartment of Health and Human Services、NIH Publication No.91-3242,1991; Tomlinsonら、J.Mol. Biol. 227:776-798, 1992;およびCoxら。Eur. J. 免疫。24:827836, 1994、これらの各々の開示は、共通のヒト抗体重鎖および軽鎖配列に関するもので、本明細書中に参考として援用される。確立された手順を使用して、当業者のある者は共通抗体配列の可変ドメイン枠組み残基およびCDRを(例えば、配列アラインメントによって)同定し得る。ヒト化抗体を産生するために、本重鎖の1つ以上のCDRおよび/またはコンセンサスヒト抗体の軽鎖可変ドメインを、CD134またはCD278に結合する非ヒト抗体の1つ以上の対応するCDRで置換することができる。

【0230】

ヒト化抗体を産生するために、1つ以上の可変領域CDRが、CD134またはCD278に結合する非ヒト抗体の1つ以上の可変領域CDR配列で置換されている、上記の共通配列をコードするポリヌクレオチドを組換え的に発現し得る。CD134またはCD278に対する抗体の親和性は主にCDR配列によって決定されるので、得られるヒト化抗体はヒト化抗体が由来する非ヒト抗体の親和性とほぼ同じであるCD134またはCD278に対する親和性を示すと予想される。標的抗原に対する抗体の親和性を決定する方法には、例えば、本明細書に記載され、当技術分野で公知のELISAベースの技術、ならびにとりわけ、サーフェスプラズモン共鳴音、蛍光異方性、および等温滴定カロリメトリーが含まれる。

【0231】

抗体薬物共役(ADC)

細胞毒素

10

20

30

40

50

抗体、その抗原結合フラグメント、および本明細書に記載のリガンド(例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、およびCD134またはCD278を認識および結合する可溶性リガンド)は微小管結合剤(例えば、メイタンシンまたはメイタンシノイド)、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deブーガニン、またはジフテリア毒素(例えば、 α -アマニチン、サポリン、アウリスタチン、抗体、リガンド、イリノテカン、SN-38、抗体、リガンド、メイタンシン二量体、メイタンシノイド、およびシュードモナス外毒素A二量体、またはそれらの変形例)、または本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知の別の細胞傷害性化合物(例えば、宿主反応性アウリスタチン)の枯渇を促進するために、患者への投与時に、細胞毒素(例えば、微小管結合剤)、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deブーガニン、またはジフテリア毒素)に結合(または結合)され得る。いくつかの実施形態に、細胞傷害性分子は抗体、そのフラグメント、または水溶性リガンドの細胞内取り込み後に、細胞毒素がその細胞内標的に接近し、造血細胞死滅を媒介し得るように、内在化抗CD134またはCD278抗体、その抗原結合フラグメント、または水溶性リガンドに結合される。本明細書に装置の組成物および方法と共に使用するのに適した追加の細胞毒素には、とりわけ、DNA挿入剤(例えば、アントラサイクリン)、紡錘体を破壊することができる薬剤(例えば、ピンカ・アルカロイド、メイタンシン、メイタンシノイド、およびその誘導体)、RNAポリメラーゼインヒビター(例えば、 α -アマニチンなどのアマトキシシン、およびその誘導体)、タンパク質生合成を破壊することができる薬剤(例えば、サポリンおよびリシンA鎖などのrRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤)が含まれる。

10

20

【0232】

メイタンシノイド

0240 抗CD134または抗CD278抗体は、微小管結合剤である細胞毒素に結合させることができる。いくつかの実施形態に、細胞毒素は、メイタンシン、メイタンシノイドまたはメイタンシノイドアナログである。メイタンシノイドは、チューブリン重合を阻害する微小管結合剤である。適当なメイタンシノイドとしては、メイタンシノールのエステル、合成メイタニノール、及びメイタンシノールアナログ及び誘導体が挙げられる。メイタンシノイド、メイタンシノール、およびメイタンシノールアナログ、ならびに誘導体のように、微小管形成を阻害し、哺乳動物細胞に対して高度に毒性である任意の薬剤が含まれる。

【0233】

好適なメイタンシノールエステルの例としては、修飾芳香環を有するもの、および他の位置に修飾を有するものが挙げられる。そのような適切なメイタンシノイドは、U.S. パットで開示される。番号。4,137,230; 4,151,042; 4,256,248,608; 4,265,744,267; 4,307,307,268; 4,308,269; 4,309,428; 4,313,946; 4,315,929; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,364,866; 4,424,219 ; 4,450,254; 4,322,348; 4,362,663; 4,371,533; 5,208,020; 5,415,092; 5,585,499; 5,846,545; 6,333,410; 7,276,497; これらの各々は、メイタンシノイドおよびその誘導体に関連するので、本明細書中に参考として援用される。

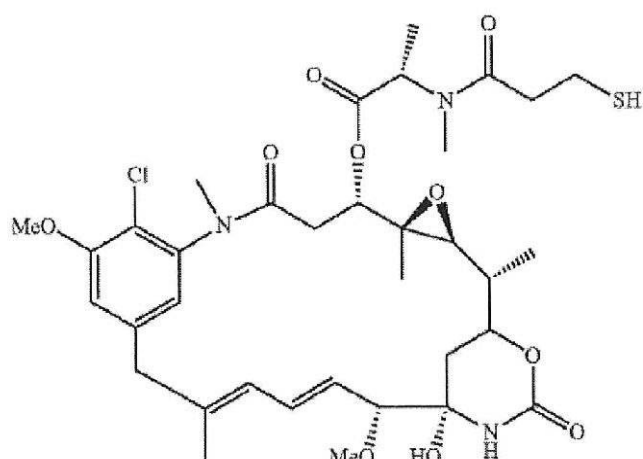
30

【0234】

いくつかの実施形態に、本発明イミュノコンジュゲートは、細胞傷害剤として、N²-デアセチル-N^{2'}-(3-メルカプト-1-オキソプロピル)-メイタンシンと形式的に呼ばれるチオール含有メイタンシノイド(DM1)を利用する。DM1は、以下の構造式で表される：

40

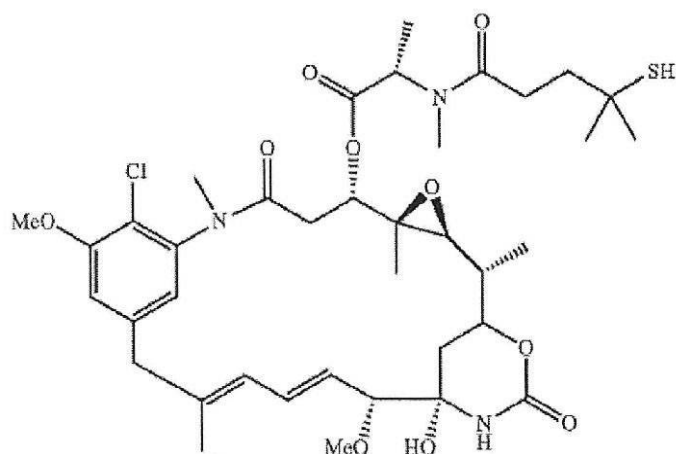
【化 2 6】



10

0243 別の実施形態において、本発明の複合体はチオール含有メイタンシノイドN²¹-デアセチル-N²¹-(4-メチル-4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン(例えば、DM4)を細胞毒性剤として利用する。DM4は、以下の構造式で表される：

【化 2 7】

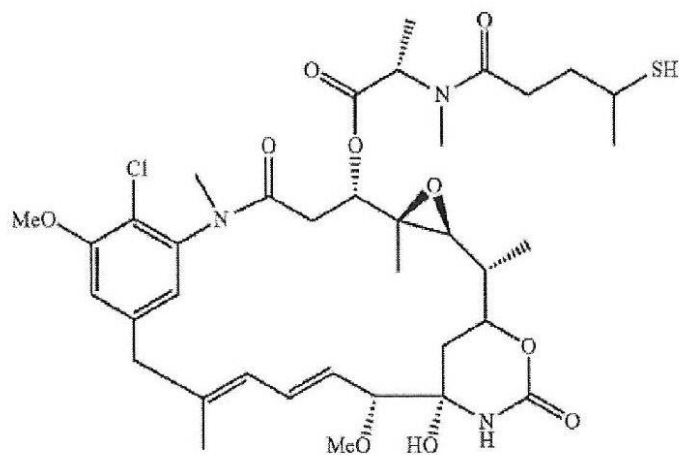


20

30

0244 立体障害チオール結合を含む側鎖を含む別のメイタンシノイドは、以下の構造式で表されるN²¹-デアセチル-N²¹-(4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン(DM3と呼ばれる)である：

【化 2 8】



40

50

【0235】

U.S. パットで学んだメイタンシノイドはそれぞれ、。番号。5,208,020 7,276,497もまた、本発明のコンジュゲートにおいて使用され得る。この点に関して、5,208,020および7,276,697の開示全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0236】

メイタンシノイド上の多くの位置は、連結部分を化学的に連結する位置として働くことができる。例えば、ヒドロキシル基を有するC-3位、ヒドロキシメチルで修飾されたC-14位、ヒドロキシで修飾されたC-15位、およびヒドロキシ基を有するC-20位は全て有用であると予想される。いくつかの実施形態に、C-3位は連結部分を化学的に連結する位置として働き、いくつかの特定の実施形態では、メイタンシノールのC-3位が連結部分を化学的に連結する位置として働く。

10

【0237】

また、種々の異性体、およびメイタンシノイドと共役との混合物も包含する。本発明の特定の化合物およびコンジュゲートは、種々の立体異性体、エナンチオマー、およびジアステレオマー形成で存在し得る。このような抗体メイタンシノイド結合体を生成するためのいくつかの説明は、米国特許に提供される。番号。5,208,020, 5,416,064,6,333,410、6,441,163、6,716,821、および7,368,565(これらの各々は、その全体が本明細書中に援用される)。

0248 1抗体あたりに結合したメイタンシノイド分子の治療的に有効な数量は、252nmおよび280nmにおける吸光度の比率を分光光度法で測定することによって決定することができる。抗体分子あたり3~4個のメイタンシノイド分子が共役すると、抗体の機能または溶解性に悪影響を及ぼすことなくターゲット細胞の細胞毒性を増強することができるが、毒素/抗体の1分子は抗体単独よりも細胞毒性を増強することができる。メイタンシノイド分子/抗体またはその抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドの平均個数は例えば、1~10個または2~5個であり得る。

20

【0238】

いくつかの実施形態に、抗体-薬物結合体の細胞毒はRNAポリメラーゼインヒビターである。いくつかの実施形態に、RNAポリメラーゼインヒビターは、アマトキシシンまたはその誘導体である。いくつかの実施形態に、細胞毒素は、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンなどのアマトキシシンまたはその誘導体である。種々の天然に存在するアマトキシシンの構造は式(III)、(IIIA)、および(IIIB)によって表され、例えば、Zanottiら、Intに開示されている。J. ペプチドタンパク質Res.30、1987、450-459.

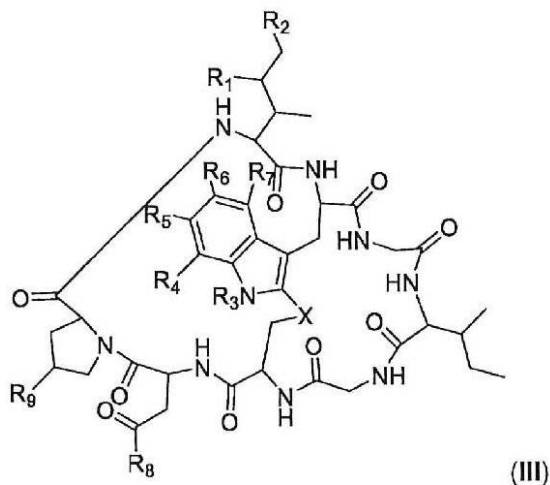
30

【0239】

ある特定の実施形態に、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有効なアマトキシシンには、式(III)、(IIIA)、および(IIIB)による化合物(例えば、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロアマヌリン、またはそ

【0240】

【化 2 9】



10

【 0 2 4 1】

ここで、 R_1 は、H、OH、または OR_A である；

R_2 はH、OH、または OR_B ；

OR_{band} R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

20

R_3 がHまたは R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_8 はOH、 NH_2 、または OR_D ；

R_9 はH、OH、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；であり、

【 0 2 4 2】

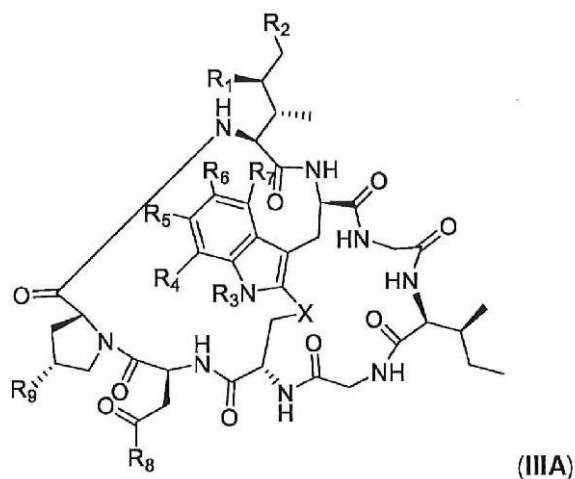
R_D は任意選択的に置換されたアルキ(例えば、C₁-C₆アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、C₁-C₆ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、C₂-C₆アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニール(例えば、C₂-C₆ヘテロアルケニール)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、C₂-C₆アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニール(例えば、C₂-C₆ヘテロアルキニール)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである。

30

【 0 2 4 3】

例えば、ある実施形態に、本明細書に記載の組成物および方法物と組み合わせて有用なアマトキシンは、以下の式(IIIA)による化合物を含む：

【化 3 0】



10

【 0 2 4 4】

ここで、 R_1 は、H、OH、または OR_A である；

R_2 はH、OH、または OR_B ；

OR_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

20

R_3 がHまたは R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_8 はOH、 NH_2 、または OR_D ；

R_9 はH、OH、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；であり、

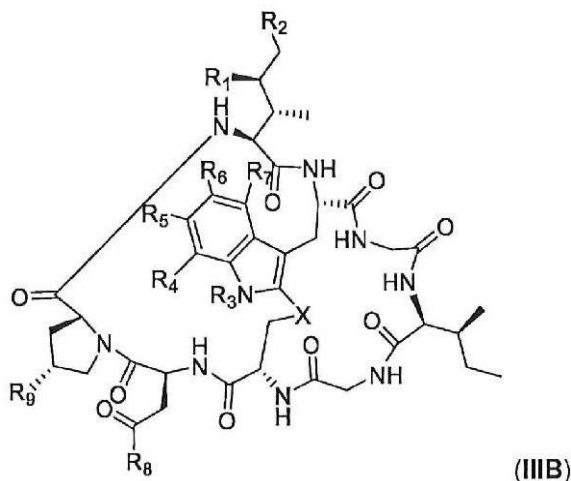
R_D は任意選択的に置換されたアルキ(例えば、C₁-C₆アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、C₁-C₆ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、C₂-C₆アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、C₂-C₆ヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、C₂-C₆アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、C₂-C₆ヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである。

30

【 0 2 4 5】

ある実施形態に、本明細書に記載される組成物および方法物と併せて有用なアマトキシンはまた、以下の式(IIIB)による化合物を含む：

【化 3 1】



10

【 0 2 4 6 】

ここで、 R_1 は、H、OH、または OR_A である；

R_2 はH、OH、または OR_B ；

OR_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

20

【 0 2 4 7 】

R_3 がHまたは R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_D 、または R_D ；

R_8 はOH、 NH_2 、または OR_D ；

R_9 はH、OH、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；であり、

【 0 2 4 8 】

30

R_D は任意選択的に置換されたアルキ(例えば、 C_1 - C_6 アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである。

【 0 2 4 9 】

ある実施形態に、細胞毒素はアマニチンである。

【 0 2 5 0 】

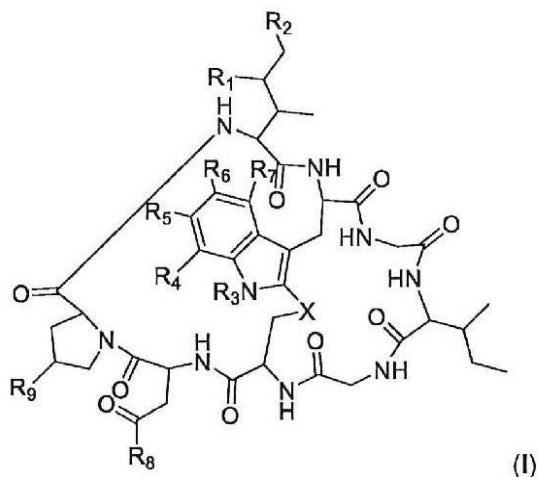
40

本明細書中に記載されるように、アマトキシンは例えば、リンカー部分によって、抗体またはその抗原結合フラグメントに結合体化され得る。このようなプロセスに有効なアマトキシコンジュゲーションおよびリンカーの例示的な方法は、「化学コンジュゲーションのためのリンカー」と題する節、ならびに以下の表1に記載される。本明細書中に記載される組成物および方法に従って、抗CD134もしくは抗CD278抗体、または抗原結合フラグメントへの結合に有効な例示的なリンカー含有アマトキシンは、本明細書中に列举される構造式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)、および(II B)に示される。例えば、本明細書中に記載される抗体または抗原結合フラグメントは式Ab-Z-L-Am(式中、Abは抗体)、またはその抗原結合フラグメント、Lはリンカーであり、Zは化学的な部分構造であり、Amはアマトキシンの)によって表されるコンジュゲートを形成するように、アマトキシンの結合され

50

得る。アマトキシシンまたはその誘導体上の多くの位置は、連結部分L、したがってその抗体または抗原結合断片を共有結合させる位置として働くことができる。いくつかの実施形態に、アマトキシシン-リンカー共役Am-L-Zは、式(I)で表される

【化 3 2】



(I)

10

【 0 2 5 1】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

20

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

R_A and R_B は、それらが結合している酸素原子と一緒に、随意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

30

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

OBis L-Z；

R_D は、任意選択的に置換されたC₁-C₆アルキ、任意選択的に置換されたC₁-C₆ヘテロアルキ、任意選択的に置換されたC₂-C₆アルケニル、任意選択的に置換されたC₂-C₆ヘテロアルケニル、任意選択的に置換されたC₂-C₆アルキニル、任意選択的に置換されたC₂-C₆ヘテロアルキニル、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアリールである；

【 0 2 5 2】

Lはリンカーであり、例えば、オプションで置換されたC₁-C₆アルキレン、オプションで置換されたC₁-C₆ヘテロアルキレン、オプションで置換されたC₂-C₆アルケニレン、オプションで置換されたC₂-C₆ヘテロアルケニレン、オプションで置換されたC₂-C₆アルキニレン、オプションで置換されたC₂-C₆ヘテロアルキニレン、オプションで置換されたシクロアルキレン、オプションで置換されたヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されたアリーレン、オプションで置換されたヘテロアリーレン、-(C=O)-、アルキレン、またはそれらの組合せである

40

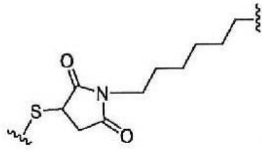
【 0 2 5 3】

Zは、L上に存在する反応性置換基と、抗体、その抗原結合フラグメント、またはCD134もしくはCD278に結合する可溶性リガンド内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応を形成する化学的な部分構造である。いくつかの実施形態に、細胞毒は1つの R_C

50

置換基を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは $-(CH)_2_n$ ユニットを含み、ここでnは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーに $-(CH_2)_n$ が含まれる。nは6である。いくつかの実施形態に、L-Zはである

【化33】



10

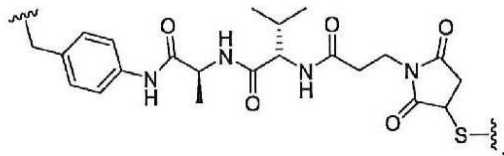
【0254】

ここで、SはCD134またはCD278(例えば、システイン残基の-SH基由来)に結合する、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である。

【0255】

いくつかの実施形態に、L-Zはである

【化34】

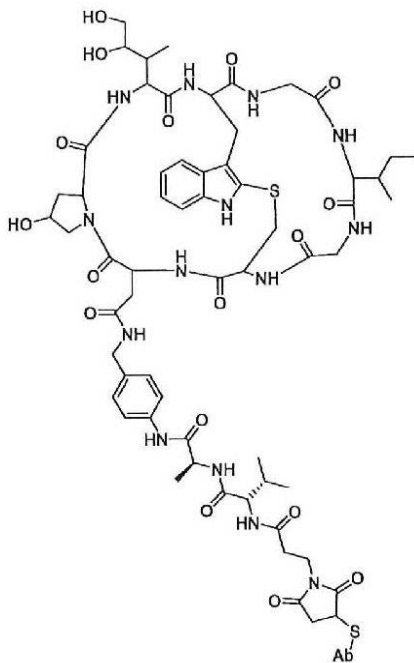


20

【0256】

いくつかの実施形態に、Am-L-Z-Abはである

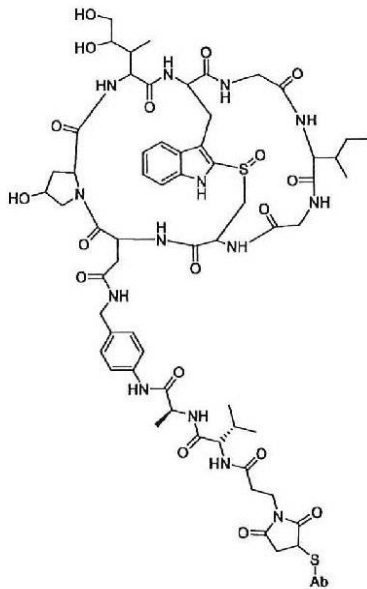
【化35】



30

40

【化 3 6】



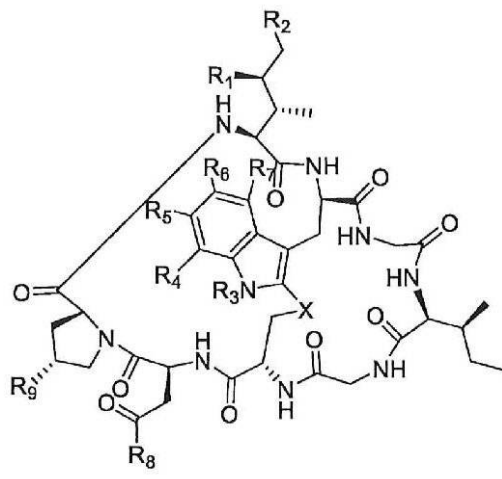
10

いくつかの実施形態に、Am-L-Z-Abはである

20

いくつかの実施形態中、Am-L-Zは、式(IA)で表される

【化 3 7】



30

【0 2 5 7】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

40

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

【0 2 5 8】

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

50

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-;

OBis L-Z;

【0259】

R_Dは、任意選択的に置換されたC₁-C₆アルキ、任意選択的に置換されたC₁-C₆ヘテロアルキ、任意選択的に置換されたC₂-C₆アルケニル、任意選択的に置換されたC₂-C₆ヘテロアルケニル、任意選択的に置換されたC₂-C₆アルキニル、任意選択的に置換されたC₂-C₆ヘテロアルキニル、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリール、または任意選択的に置換されたヘテロアルイルである;

Lは、任意選択的に置換されたC₁-C₆アルキレン、任意選択的に置換されたC₁-C₆ヘテロアルキレン、任意選択的に置換されたC₂-C₆アルケニレン、任意選択的に置換されたC₂-C₆ヘテロアルケニレン、任意選択的に置換されたC₂-C₆アルキニレン、任意選択的に置換されたC₂-C₆ヘテロアルキニレン、任意選択的に置換されたシクロアルキレン、任意選択的に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意選択的に置換されたアリーレン、任意選択的に置換されたヘテロアリーレンである。ジペプチド、-(C=O)-、カスぺプト、またはそれらの組合せ;

【0260】

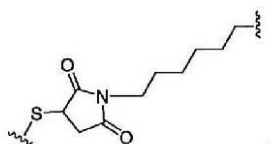
Zは、L上に存在する反応性置換基と、抗体、その抗原結合フラグメント、またはCD134またはCD278に結合する可溶性リガンド内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応を形成する化学的な部分構造である

式中、Amは1個のOB置換基を含有する。

【0261】

いくつかの実施形態では、リンカーに-(CH₂)_nが含まれる。nは6である。いくつかの実施形態に、L-Zはである

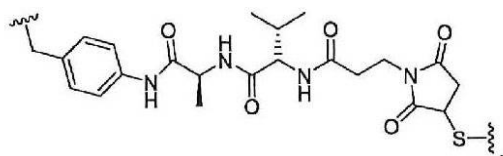
【化38】



【0262】

いくつかの実施形態に、L-Zはである

【化39】



【0263】

いくつかの実施形態に、Am-L-Z-Abはである

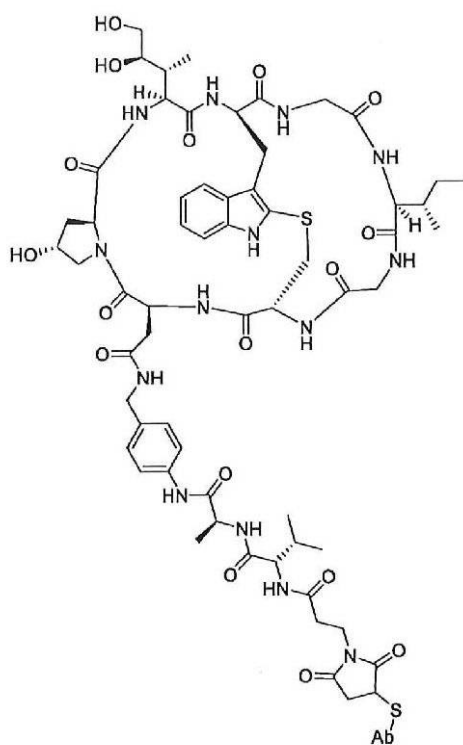
10

20

30

40

【化 4 0】



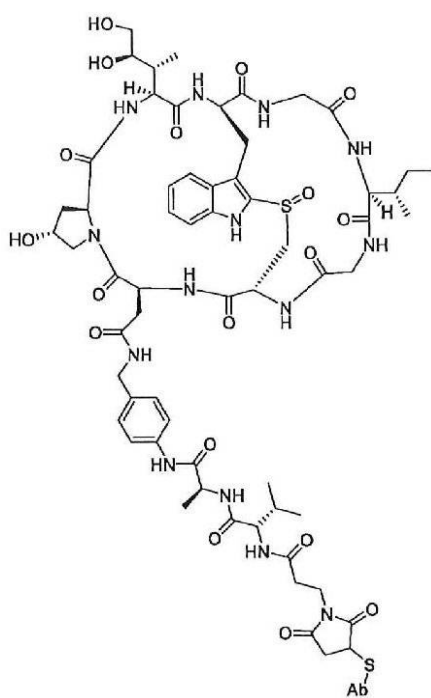
10

20

【 0 2 6 4】

いくつかの実施形態に、Am-L-Z-Abはである

【化 4 1】



30

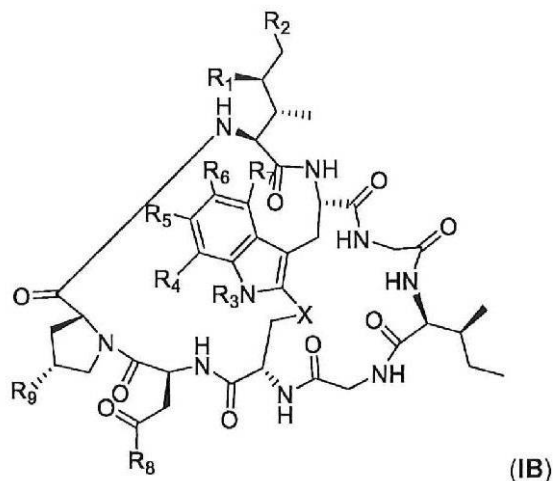
40

【 0 2 6 5】

いくつかの実施形態中、Am-L-Zは、式(1B)で表される

50

【化 4 2】



10

【 0 2 6 6 】

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

【 0 2 6 7 】

20

00band R_B は存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒に結合し、任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成する；

R_3 はH、 R_C 、または R_D ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ である；

R_9 はH、OH、 OR_C 、または OR_D ；

Xは-S-、-S(O)-、または-SO₂-；

30

OBis -L-Z；

【 0 2 6 8 】

R_D は任意選択的に置換されたアルキル(例えば、 C_1 - C_6 アルキル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキル(例えば、 C_1 - C_6 ヘテロアルキル)、任意選択的に置換されたアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 アルケニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルケニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニル)、任意選択的に置換されたアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 アルキニル)、任意選択的に置換されたヘテロアルキニル(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニル)、任意選択的に置換されたシクロアルキ、任意選択的に置換されたアリー、または任意選択的に置換されたヘテロアルキルである；

Lはリンカー、例えば、オプションで置換されるアルキレン(例えば、 C_1 - C_6 アルキレン)、オプションで置換されるヘテロアルキレン(C_1 - C_6 ヘテロアルキレン)、オプションで置換されるアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルケニレン)、オプションで置換されるヘテロアルケニレン(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニレン)、オプションで置換されるアルキニレン(例えば、 C_2 - C_6 アルキニレン)、オプションで置換される(例えば、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン)、オプションで置換されるシクロアルキレン、オプションで置換されるヘテロシクロアルキレン、オプションで置換されるアリーレン、オプションで置換されるヘテロアリーレン；ジペプチド、-(C=O)-、o；

40

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造である

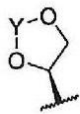
50

式中、Amは正確に1個の R_C 置換基を含む。

【0269】

いくつかの実施形態では、 R_A と R_B がそれらが結合されている原子と共に、結合して形成される：

【化43】



10

ここで、Yは $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-(C=NR_E)-$ 、または $-(CR_E R_{E'})-$ ；

【0270】

R_E と $R_{E'}$ は、それぞれ独立に代替された C_1-C_6 アルキレン- R_C 、任意に代替された C_1-C_6 アルキレン- R_C 、任意に代替された C_2-C_6 アルケニレン- R_C 、任意に代替された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン- R_C 、任意に代替された C_2-C_6 アルキニレン- R_C 、任意に代替された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン- R_C 、任意に代替されたサイクルキレン- R_C 、任意に代替されたヘテロアルキレン- R_C 、任意に代替されたアリーレン- R_C 、又は任意に代替されたヘテロアリーレン- R_C である。

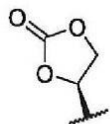
【0271】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは式(I)、(IA)、または(IB)で表され、 R_1 はH、OH、O 20
 R_A 、または OR_C である；

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

R_A と R_B はそれらが結合されている原子と共に、結合して形成される：

【化44】



30

R_3 がHまたは R_C ；

R_4 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_5 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_6 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_7 はH、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D ；

R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C ；

R_9 はHまたはOHである

ここで、 R_C および R_D は、それぞれ上記で定義されたものである。

【0272】

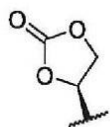
いくつかの実施形態中、Am-L-Zは、式(I)、(IA)又は(IB)で表され、

ここで、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C である； 40

R_2 はH、OH、 OR_B 、または OR_C ；

R_A と R_B はそれらが結合されている原子と共に、結合して形成される：

【化45】



R_3 がHまたは R_C ；

R_4 と R_5 はそれぞれ個別にH、OH、 OR_C 、 R_C 、または OR_D ； 50

R_6 と R_7 はそれぞれH;

R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C ;

R_9 はHまたはOHである

ここで、Xおよび R_C は上記で定義されたとおりである。

【0273】

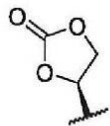
一般いくつかの実施形態において、Am-L-Zは、式(I)、(IA)又は(IB)で表される

ここで、 R_1 は、H、OH、または OR_A である;

R_2 はH、OH、または OR_B ;

R_A と R_B はそれらが結合されている原子と共に、結合して形成される:

【化46】



R_3 、 R_4 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_5 が OR_C ;

R_8 がOHまたは NH_2 ;

R_9 はHまたはOHである

【0274】

ここで、 R_C は上記で定義されたとおりである。このようなアマトキシシ共役は例えば、米国特許出願公開第2016/0002298号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0275】

いくつかの実施形態中、Am-L-Zは、式(I)、(IA)又は(IB)で表され、

ここで、 R_1 と R_2 はそれぞれ独立にHまたはOHである;

R_3 が R_C ;

R_4 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_5 は、H、OH、または OC_1-C_6 のバイトである;

R_8 がOHまたは NH_2 ;

R_9 はHまたはOHである

ここで、 R_C は上記で定義されたとおりである。このようなアマトキシシ共役は例えば、米国特許出願公開第2014/0294865号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0276】

一般いくつかの実施形態において、Am-L-Zは、式(I)、(IA)又は(IB)で表される

ここで、 R_1 と R_2 はそれぞれ独立にHまたはOHである;

R_3 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_4 と R_5 はそれぞれ個別にH、OH、 OR_C 、または R_C ;

R_8 がOHまたは NH_2 ;

R_9 はHまたはOHである

【0277】

ここで、 R_C は上記で定義されたとおりである。このようなアマトキシシ共役は例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

0273 いくつかの実施形態において、Am-L-Zは公式(I)、(IA)または(IB)で表され、ここで、 R_1 および R_2 はそれぞれ独立にHまたはOHである;

R_3 、 R_6 、および R_7 はそれぞれH;

R_4 と R_5 はそれぞれ独立してHまたはOHである;

R_8 はOH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C ;

10

20

30

40

50

R₉はHまたはOHである

【0278】

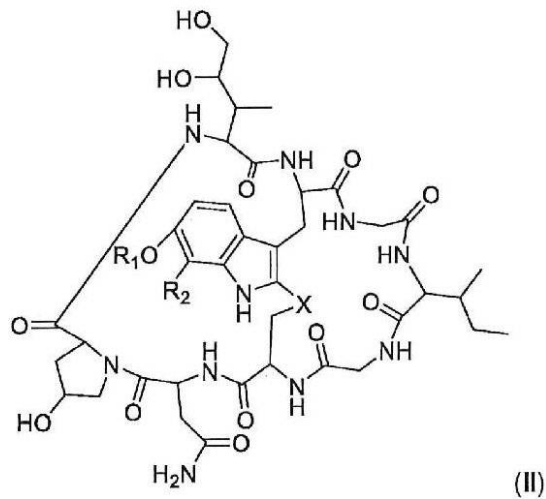
ここで、R_Cは上記で定義されたとおりである。このようなアマトキシシン共役は例えば、米国特許番号に記載されている。9,233,173 および9,399,681は、それぞれの開示を参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本明細書中に記載される組成物および方法に従って、抗体またはその抗原結合フラグメントへの結合のために使用され得るさらなるアマトキシシンは例えば、WO 2016/142049; WO 2016/071856; およびWO 2017/046658に記載され、これらの各々の開示は、その全体が参考として本明細書中に援用される。

【0279】

いくつかの実施形態に、アマトキシシン-リンカー共役Am-L-Zは、式(II)、式(IIA)、または式(IIB)で表される

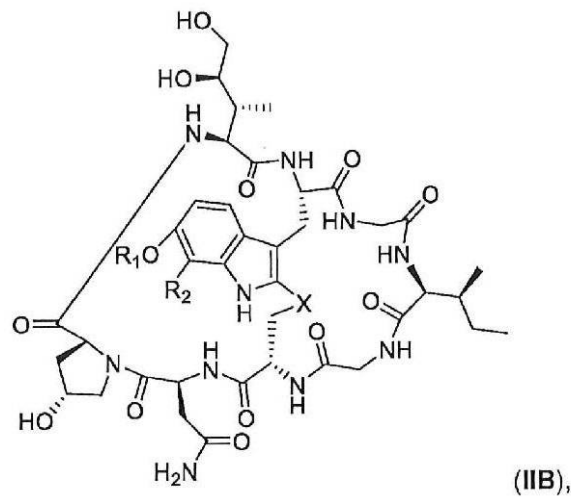
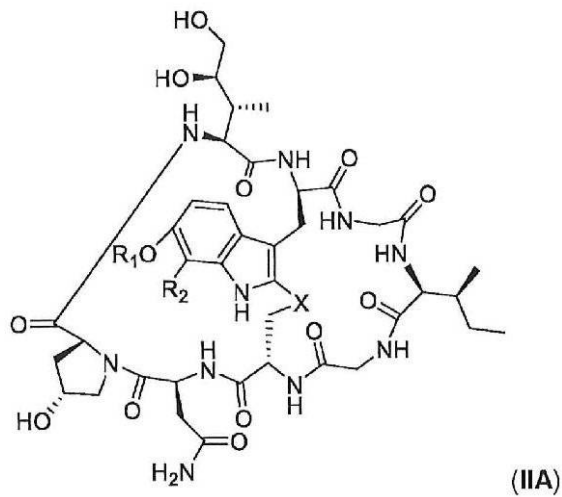
10

【化47】



20

【化 4 8】



30

【0280】

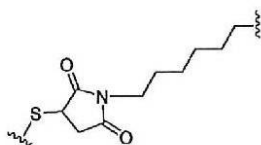
式中、XはS、SO、またはSO₂；R₁であり、リンカー上に存在する反応性置換基と抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される、化学的な部分構造Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合したHまたはリンカーであり；R₂はリンカー上に存在する反応性置換基と抗体内に存在する反応性置換基またはその抗原結合フラグメントとの間のカップリング反応から形成される、化学的な部分構造Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合したHまたはリンカーであり；R₁がHである場合、R₂はリンカーであり、R₂がHである場合、R₁はリンカーである。

40

【0281】

いくつかの実施形態では、リンカーに-(CH₂)_n-unitが含まれる。nは2～6の整数である。いくつかの実施形態に、R₁はリンカーであり、R₂はHであり、リンカーおよび化学的な部分構造は、L-Zとして一緒になって、である

【化 4 9】

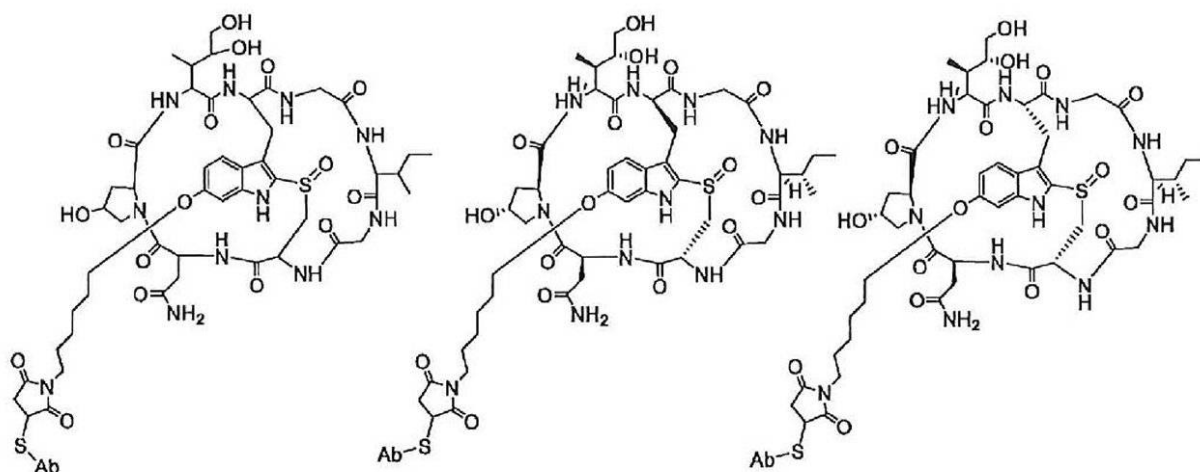


【0 2 8 2】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは:の1つ。

10

【化 5 0】



20

【0 2 8 3】

いくつかの実施形態に、細胞毒素はアマトキシシンである。いくつかの実施形態に、アマトキシシンは、式(III)、(IIIA)または(IIIB)の化合物である。いくつかの実施形態に、式(III)、(IIIA)、または(IIIB)のアマトキシシンはリンカーLを介して抗CD134またはCD278抗体に結合される。リンカーLが式(III)、(IIIA)、または(IIIB)のアマトキシシンに、いくつかの考えられる位置(例えば、 R^1 - R^9 のいずれか)のいずれか1つで結合して、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)、または(IIIB)のアマトキシシン-リンカー共役を提供することができる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^1 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^2 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^3 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^4 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^5 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^6 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^7 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^8 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^9 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、細胞毒素は α -アマニチンである。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。

30

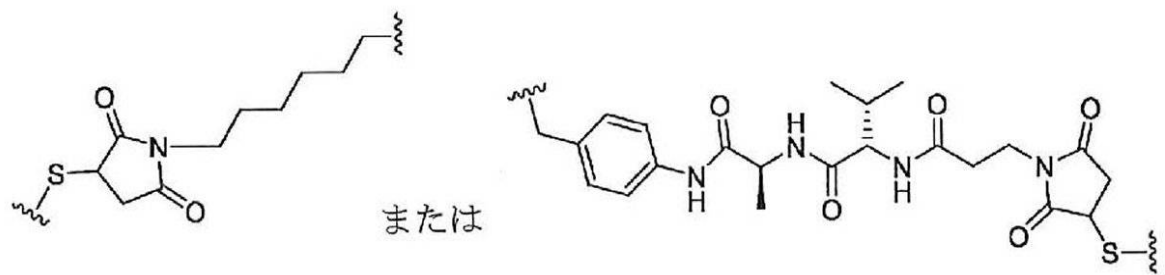
40

【0 2 8 4】

いくつかの実施形態では、リンカーに-(CH₂)_n-unitが含まれる。nは2 ~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態に、リンカーL及び化学的な部分構造Zは、L-Zとして一緒になって、

50

【化 5 1】



【0285】

10

いくつかの実施形態に、細胞毒素は β -アマニチンである。いくつかの実施形態に、 β -アマニチンは式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVの β -アマニチンはリンカー-Lを介して抗CD134抗体に結合している。リンカー-Lがいくつかの考えられる位置のいずれか1つ(例えば、 R^1 - R^9 のいずれか)で式IVの β -アマニチンに結合していてもよい。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^1 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^2 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^3 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^4 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^5 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^6 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^7 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^8 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^9 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

20

【0286】

30

いくつかの実施形態に、細胞毒素は γ -アマニチンである。いくつかの実施形態に、 γ -アマニチンは、式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVの γ -アマニチンはリンカー-Lを介して抗CD134抗体に結合している。リンカー-Lがいくつかの考えられる位置のいずれか1つ(例えば、 R^1 - R^9 のいずれか)で式IVの γ -アマニチンに結合していてもよい。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^1 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^2 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^3 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^4 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^5 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^6 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^7 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^8 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^9 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

40

【0287】

いくつかの実施形態に、細胞毒素は ϵ -アマニチンである。いくつかの実施形態に、 ϵ -アマニチンは、式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVの ϵ -アマニチンはリ

50

ンカー-Lを介して抗CD134抗体に結合している。リンカー-Lがいくつかの考えられる位置のいずれか1つ(例えば、 R^1 - R^9 のいずれか)で式IVの ϵ -アミニチンに結合していてもよい。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^1 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^2 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^3 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^4 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^5 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^6 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^7 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^8 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^9 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

10

20

30

【0288】

いくつかの実施形態に、細胞毒素はアマニンである。いくつかの実施形態的に、アマニンは式IVの合成である。いくつかの実施形態に、式IVのアマニンはリンカー-Lを介して抗CD134抗体に結合している。リンカー-Lがいくつかの考えられる位置のいずれか1つ(例えば、 R^1 - R^9 のいずれか)で式IVのアマニンに結合していてもよい。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^1 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^2 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^3 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^4 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^5 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^6 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^7 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^8 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^9 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

【0289】

いくつかの実施形態に、細胞毒素はアマニニアミドである。いくつかの実施形態に、アマニニアミドは式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVのアマニニアミドはリンカー-Lを介して抗CD134抗体に結合している。リンカー-Lがいくつかの考えられる位置のいずれか1つ(例えば、 R^1 - R^9 のいずれか)で式IVのアマニニアミドに結合していてもよい。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^1 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^2 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^3 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^4 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^5 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^6 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^7 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^8 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置 R^9 に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカー

40

50

は、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

【0290】

いくつかの実施形態に、細胞毒素はアマヌリンである。いくつかの実施形態に、アマヌリンは式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVのアマヌリンは、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合している。リンカーLはアマヌリンに結合していてもよい。

【0291】

数式IVの考えられる位置のいずれか(例えば、R¹-R⁹のいずれか)。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R¹に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R²に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R³に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁴に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁵に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁶に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁷に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁸に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁹に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

【0292】

いくつかの実施形態に、細胞毒素はアマヌリン酸である。いくつかの実施形態に、アマヌリン酸は式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVのアマニル酸は、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合され、リンカーLはいくつかの考えられる位置(例えば、R¹-R⁹のいずれか)のいずれか1つで式IVのアマニル酸に結合され得る。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R¹に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R²に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R³に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁴に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁵に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁶に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁷に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁸に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁹に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

【0293】

いくつかの実施形態に、細胞毒はプロアマヌリンである。いくつかの実施形態に、プロアマヌリンは、式IVの化合物である。いくつかの実施形態に、式IVのプロアマニリンは、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合され、リンカーLはいくつかの考えられる位置(例えば、R¹-R⁹のいずれか)のいずれか1つで式IVのプロアマニリンに結合され得る。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R¹に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R²に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R³に取り付け

10

20

30

40

50

られる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁴に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁵に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁶に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁷に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁸に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは位置R⁹に取り付けられる。いくつかの実施形態に、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

【0294】

本明細書中に記載される組成物および方法物と共に使用するための抗体、抗原結合フラグメント、および配位子は、当技術分野で公知であるかまたは本明細書中に記載されるコンジュゲーション技術を使用して、αアマニチンまたはその変異体などのアマトキシニンにコンジュゲートされ得る。例えば、抗体、抗原結合断片、およびCD134またはCD278を認識し結合するリガンドは、αアマニチンまたはその変形例に連結することができる。これは例えばαアマニチンおよびその変形例物などのアマトキシニン、ならびに共同値結合に用いることができる共同値リンカーに関連するため、本文書では参照して取り上げる。アマトキシニンを作製する合成方法は例えば、米国特許第9,676,702号に記載されているが、これはここで開示されている合成方法に関しては参照して組み込まれている。

【0295】

本明細書中に記載される方法と関連して有効な例示的な抗体-薬物結合体およびリガンド-薬物結合体は、抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンドと、抗体上の反応性残基、その抗原結合フラグメント、またはリガンドとの反応に適した置換基を含むリンカーに結合されるアマトキシニンとの反応によって形成され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンド上の反応性残基との反応に適切な置換基を含むリンカーに結合されるアマトキシニンは以下を含むが、これらに限定されない。

【0296】

7'C-(4-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ピペリジン-1-イル;7'C-(4-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ピペラジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(4-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル;7'C-(4-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル;7'C-(4-(6-(マレイミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシニン 2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル;7'C-(4-(4-(4-(4-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル;7'C-(4-(2-プロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(4-(2-(2-プロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(4-(3-(ピリジン-2-イルジスルファニル)プロパンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル;7'C-(4-(マレイミド)ブタンアミド)(2-(4-(マレイミド)アセチル)ピペラジン-1-イル;7'C-(4-(マレイミド)ピペラジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(4-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル;7'C-(3-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(3-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル;7'C-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)メチル)ピロリジン-1-イル)(-3-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル;7-(2-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)エチル)ピペラジン-1-イル;7'C-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)エチル)ピペラジン-1-イル;7'C-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(4-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ピペリジン-1-イル)-アマトキシニン;7'C-(4-(2-)(6-(4-(マレイミド)ヘキサノイル)メチル)ピペリジン-1-イル;(7-(6-(マレイミド)メチル)ピペラジン-1-イル)メチル;(7-(6-(マレ

イミド)ヘキサノイル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ;7'C-((4-(2-(6-(6-(マ
 レイミド)ヘキサノアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ;7'C-(4-(4-
 (マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマト
 キシシ;7'C-(4-(6-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノ(2-(4-(6-(マレイミド)エチル)ピ
 ペラジン-1-イル)メチル)ピペラジン-1-イル(7-(6-(マレイミド)エチル)ピペラジン-1-イ
 ル)メチル)-アマトキシシ;7'C-(4-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサ
 ミド)エチル)ピペラジン-1-イル)-メチル;7'C-(3-(6-(マレイミド)ヘキサノアミド)-S-メ
 チル)ピロリジン-1-イル)-アマトキシシ;7'C-(3-(6-(6-((3-(マレイミド)ヘキサノアミド
)-R-メチル)ピロリジン-1-メチル)-S-メチル)-ピロリジン-1-メチル;7-(((3-(4-(マレイ
 ミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-アマトキシシ;
 7-((3-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサノアミド)メチル)ピロリジ
 ン-1-イル)-メチル;7'C-(4-(3-カルボキシプロパンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル;7'
 C-(6-(マレイミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)-アマトキシシ;7'C-(4-(6-(4-)-((
 マレイミド)メチル)シクロヘキサノアミド(4-(マレイミド)メチル)ピペラジン-1-イル(7-
 (3-(マレイミド)ピペラジン)メチル)ピペラジン-1-イル)メチル;7'C-((4-(4-(マレイミド
)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル;7'C-((4-(4-(マレイミド)ブタナミド)エチル)ピ
 ペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ;'C-(4-(6-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノ
 カルボキサミド)ヘキサノアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシシ;7'(3-(6-(マ
 レイミド)メチル)アゼチジン-(3-(6-(マレイミド)ヘキサミド)メチル)アゼチジン-1-イル
 ;7-((3-(4-(マレイミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)アゼチジンアマトキシシ;7'C
 -(3-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)エチル)アゼチジン-1
 -イル)メチル)-アマトキシシ;7'C-((2-(6-(マレイミド)-N-メチルヘキサノアミド)エチル
)(メチル)アミノ)-アマトキシシ;7'C-((4-(6-(マレイミド))-N-(2-(6-(マレイミド)メチ
 ル)ブチル-(2-(6-(マレイミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)アジリジン-1-イル;7'
 C-(4-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル;7'C-
 (4-(1-(アミノオキシ)-2-オキソ-6,9,12,15-テトラオキサ-3-アザヘプタデカン-17-オイ
 ル)ピペラジン-1-イル)-アマトキシシ;7'C-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)アセチル
)ピペラジン-1-イル)-アマトキシシ;7'C-(4-)-3-(2-(4-(アミノオキシ)アセトアミド)ピペ
 ラジン-1-イル;7-(2-(4-(2-(アミノオキシ)ピペラジン-1-イル)メチル)ピペラジン-1-イ
 ル)メチル)-アマトキシシ;7'C-(4-(2-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)エチル)ピペリ
 ジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ;'7-(4-(20-(アミノオキシ)-4,19-ジオキソ-6,9,12,1
 5-テトラオキサ-3,18-ジアザイコシル)ピペリジン-1-イル)-メチル)-アマトキシシ;((2-
 (2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチル)エチル)-アミノ(7-(4-(2-(アミノオキシ)ア
 セトアミド)-N-メチル)ブチル;7'C-((3-(4-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカル
 ボキサミド)ヘキサミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-アマトキシシ;7'C-(((3-(6-(4-(マ
 レイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)-メチル
)-アマトキシシ;7'C-((2-(2-プロモアセトアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)-アマトキ
 シシ;7'C-(4-(2-(2-プロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシシ ; 7'
 C-(4-(3-(ピリジン-2-イルジスルファニル)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキ
 シシ;6'0-(5-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノアミド)-アマトキシシ;6'0-(6-(マレイ
 ミド)ヘキシル)-カルバモイル;6'0-((6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキ
 サミド)ヘキシル)-アマトキシシ;6'0-(2-プロモアセトアミド)-ヘキシル;7'C-(4-(アジド
)ヘキサミド)ピペリジン-1-イル;7'C-(4-(hex-5-ynoylamino)ピペリジン -1-yl)(2-(4-(6
 -(マレイミド)エチル)ピペラジン-1-アマトキシシ;7-(6-(6-(6-(6-)マレイミド)ヘキサミ
 ド)エチル)ピペラジン-1-イル;6-(11,12-ジデヒドロ-5,6-ジヒドロジベンズ[b,f]アゾシ
 ン-5-イル)-6-オキソヘキサミド)-ヘキシル;6'0-(6-(5-イノイルアミノ)ヘキシル)-アマ
 トキシシ;6'0-((6-アミノオキシ)ヘキシル)-アマトキシシ;0-(6-(2-ヨードアセトアミド)
 ヘキシル)-アマトキシシ。前記のリンカーは特に、本明細書に記載された組成物および方
 法に関連して有益であり、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されてお
 り、その開示は、その全体が参考として本明細書に援用される。

10

20

30

40

50

【0297】

GVHDまたは自己免疫疾患の治療に使用するための抗体、抗原結合断片、およびそのリガンドに結合することができるさらなる細胞毒としては5-エチニルウラシル、アシルフルベン、アデシペノール、アルデスレシン、アルデスロイキン、アムスチン、アミホスチン、アミノレブリン酸、アムサクリン、アナグレリド、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、アンタレリックス、抗背側化形成タンパク質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、アンチネオプラストン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフジコリングリシン酸、アポトーシス遺伝子調節剤、アプリン酸、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチンが挙げられるが、これらに限定されるものではない アキシナスタチン1、アキシナスタチン3、アザトキシン、バカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット、BCR/ABL拮抗薬、ベンゾクロリン、ベンゾイルスタウロスポリン、 β アレチン、 β クラマイシンB、ベツリン酸、bFGF阻害薬、ビカルタミド、ピサジリジニルスベルミン、ビストラテンA、ビゼレスチン、プレオマイシンA2、プレオマイシンB2、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カンプトテシン 誘導体(例えば、10-ヒドロキシカンプトテシン)、カペシタビン、カルボキシアミドトリアゾール、カルゼレシン、カスタンベルミン、セトロレリン、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シスポルフィリン、クラドリビン、クロミフェン及びその類似体、クロトリマゾール、コリスマイシンB、コムブレタスタチン類似体、コナゲニン、クランベシジン816、クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、クラシンA、シクロペンタキノン、シブラタラビン、シタラビンオクホスファート、サイトスタチン、ダクリキシマブ、デヒドロジデムニンB、2'デオキシコホルマイシン(DCF)、デクスベラパミド、デクスベラパミド、ジドックス、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジヒドロタキソール、ジキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、デコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロナビノール、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エデルホシン、エレメン、エミテフル、エポチロン、エプリステリド、エストラムスチン及びその類似体、エトボシド、エトボシド4'-リン酸(エトボホスともいう)、エキセメスタン、ファゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィナステロン、フルダラビン、フルオロダウノルニシン塩酸塩、ホルメックス、フォルメスチン、ホテムスチン、テキサフィリン、ガリウム硝酸塩、ガロシタビン、ガニレリクス、ゲラチナーゼ阻害薬、ゲムシタビン、グルタチオン阻害薬、ヘプスルファム、ホモハリントニン(HT)、ハイペリシン、イバンドロン酸、イドキシフェン、イロマススタン、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、イオベノグアン、イボメノテカン、イロプラクト、イソベンガゾール、カハライド、Fラメラリン-N-トリアセテート、ラノマイシン、レプトスタチン、レトロスタチン、ロバミド7、ロメトレキソール、ロキサントロン、ロキシリビン、ルテチウムテキサフィリン、リソフロコール、マスピン、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、メノガリン、メテリニナーゼ、メトクロプラミド、MIF阻害剤、イフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、ミトラシン、ミトガゾン、ミトラクトール及びその類似体、ミトナフィド、ミトキサントロン、モグラモスチム、ミカベロキシドB、ミリアボロン、N-アセチルジナリン、ナファレリン ナグレスチブ、パナビン、ナフトグラスチン、ナフトグラスチン、ニルタミン、ニサマイシン、ニトルイン、オクレオチン、オキサシン、オルマブラチン、オキサリプラチン、パクリタキセル及びその類似体、パラウアミン、パミドイルリゾキシシン、パナキシトリオール、パラバクチン、ペグアスパラガーゼ、ペルデシン、ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントスタチン、ペルフルブロン、ペントロゾール、ペルファミド、フェナジノマイシン、ピシバニール、ピラルビシン、ポドフィロマイシン、ポルフィロマイシン、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ラルチトレキセン、ロヒツキン、ルビギノンB1 とりわけルボキシルA、サフィンゴール、サルコフィトール、サルゴフィトピン、ソブゾキサン、スパルホシ酸、スピカマイシンD、スピロムスチン、スルフィノシン、タリムスチン、テガフル、テモゾロミド、サリブラスチン、チオクラザミン、トボテカン、トプセンチン、トリシリビン、ベラミン、ビノレルビン、ボロゾール、ゼニプラチン、およびジラスコルブ。

10

20

30

40

50

【0298】

化学結合リンカー

抗体、抗原結合フラグメント、および本明細書に記載のリガンド(例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、およびCD134またはCD278を認識し結合する可溶性リガンド)を細胞傷害性分子と結合させるために、様々なリンカーを使用することができる。本明細書で使用される「リンカー」という語は、共有結合または抗体またはそのフラグメント(Ab)を薬物部分(D)に共有結合して本発明の抗体-薬物結合体(ADC; Ab-Z-L-D、ここで、Dは細胞毒素)を形成する原子の鎖を含む二価化学的な部分構造を手段とする。好適なリンカーは2つの反応性末端を有し、一方は抗体へのコンジュゲーションのためであり、他方は細胞毒素へのコンジュゲーションのためである。リンカー(反応性部分、Z)の抗体共役反応性末端は典型的には抗体上のシステインチオールまたはリジンアミン基を介して抗体に共役することができる部位であり、したがって、典型的には二重結合(マレイミドにおけるような)のようなチオール反応性基、またはクロロ、ブロモ、ヨード、もしくはR-スルファニル基のような脱離基、またはカルボキシル基のようなアミン反応性基であり; 一方、リンカーの抗体共役反応性末端は典型的には細胞毒素上の基本アミンまたはカルボキシル基とのアミド結合の形成を介して細胞毒素に共役することができる部位であり、したがって、典型的にはカルボキシルまたは基本アミン基である。「リンカー」という語が、共役形態で本リンカーに記載する際に使用される場合、反応性末端の一方または両方はリンカーおよび/または細胞毒間、ならびにリンカーおよび/またはその抗体または抗原結合フラグメント間の結合の形成のために、存在しない(反応性部分Zなど、化学的な部分構造Zに変換されている)か、または不完全である(カルボン酸のカルボニルのみなど)。このような共役反応は、本明細書中以下にさらに記載される。

【0299】

いくつかの実施形態に、リンカーは細胞内条件下で切断可能であり、その結果、リンカーの切断は、細胞内環境において抗体から薬物ユニットを放出する。さらに他の実施形態では、リンカーユニットは切断可能ではなく、薬剤は例えば、抗体分解によって放出される。本発明のADCに状態リンカーは好ましくは細胞外で安定であり、ADC分子の凝集を防止し、ADCを水溶性媒体中および単量体状で自由に溶解し続ける。細胞への移送またはデリバリーの前に、ADCは好ましくは安定であり、無傷のままであり、すなわち、抗体は、薬物部分に連結されたままである。リンカーはターゲット細胞の外部で安定であり、細胞内部である有効な速度で切断され得る。効果的なリンカーは(i)抗体の特異的結合特性を維持し;(ii)共役または薬物部分の細胞内デリバリーを可能にし;(iii)共役がその標的部位に送達または輸送されるまで、安定かつ完全なままであり、すなわち切断されない;および(iv)細胞傷害性、細胞殺傷効果または細胞傷害性部分の細胞増殖抑制効果を維持する。ADCの安定性は、マススペクトロスコーピー、HPLC、および分離/解析技術LC/MSなどの通常の分析技術によって測定することができる。抗体および薬物部分の共有結合は、リンカーが2つの反応性官能基、すなわち反応性の意味での二価を有することを必要とする。ペプチド、核酸、薬剤、毒素、抗体、ハプテン、およびレポーター基などの2つ以上の機能的または生物学的に活性な部分を付着させるのに役立つ二価リンカー試薬が知られており、方法は、それらの得られた共役について記載されている(Hermanson、GT(1996)Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York、p.234-242)。

【0300】

リンカーとしては例えば、酵素的加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核切断、または有機金属切断によって切断され得るものが挙げられる(例えば、Lericheら、Bioorg.Med.Chem、20:571-582、2012を参照のこと、その開示は共有結合に適したリンカーに関連するので、本明細書中に参考として援用される)。

【0301】

酸性条件下で加水分解可能なリンカーとしては、例えば、ヒドラゾン化合物、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、シスアコニトアミド、オルトエステル、アセタール、ケタ

10

20

30

40

50

ール等が挙げられる。(U.SPat.参照。番号。5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Nevilleら、1989, Biol. Chem. 264:14653-14661(これらの各々の記載は、共有結合に適したリンカーに関連するので、その全体が本明細書中に参考として援用される)。このようなリンカーは血中のもののような中性pH条件下では比較的安定であるが、リソソームのおよそのpHであるpH 5.5または5.0未満では不安定である。

【0302】

還元条件下で切断可能なリンカーとしては、例えば、ジスルフィドが挙げられる。例えば、アドバンスドテクノロジーアタッチメント(N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート)、SPDP(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート)、SPDB(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート)およびSMPT(N-スクシンイミジル-オキシカルボニル- α -メチル- α -(2-ピリジルジチオ)トルエン)、SPDBおよびSMPTを使用して形成することができるものを含む、様々なジスルフィドリンカーが当技術分野で知られている(例えば、Thorpeら、1987, Cancer Resを参照されたい)。47:5924-5931; Wawrzynczakら、Inイミュノコンジュゲート:抗体Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer(CWVogel編、Oxford Uプレス、1987)。U.SPatも参照。その各々の記載は、共有結合に適したリンカーに関連するので、その全体が本明細書中に参考として援用される、第4,880, 935号。

【0303】

追加リンカーにはアウリスタチンのような微小管破壊剤の結合に特に有用な非浄化性マレミドカプロイルリンカーが含まれるが、Doronina他、Bioconjugate Chem.17:14-24、2006によって記述されており、この情報は化学結合のリンカーに関するものであるため、本文書では参照して組み込まれている。本明細書に記載される薬物-抗体および薬物-リガンド結合体の合成に適したさらなるリンカーには、p-アミノベンジルアルコール(PABC)、6-マレイミドヘキサ酸、pH感受性炭酸塩、およびジャインら、ファームに記載される他の試薬などの、1,6-脱離過程(「自己免疫」基)によって細胞毒素を放出することができるものが含まれる。Res. 32:3526-3540, 2015、その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0304】

いくつかの実施形態に、リンカーは例えば、Carlら、JMed.に開示されている、前述のPABまたはPABC(パラアミノベンジルオキシカルボニル)のような自己免疫基を含む。Chem. (1981)24:479-480; Chakravartyら(1983)JMed. 化学物質26:638-644; US200306214345; US20030096743; US200400759509; US20040052793; US6218519; US6835807; US6268488; US2004001894; W098/13059; US20040052793; US5621002; US20040121940; W02004/032828。この方法が可能な他のこのような化学的な部分構造(「自壊リンカー」)としては、メチレンカルバメートおよびヘテロアリアル基(例えば、アミノチアゾール、アミノイミダゾール、アミノピリミジンなど)が挙げられる。このような複素環自己固定基を含むリンカーは例えば、米国特許公報に開示されている。20160303254および20150079114、ならびに米国特許第7,754,681号; Hayら(1999)Bioorg. 中央値。Chem.Lett. 9:2237; US 2005/0256030; de Groot et al (2001)JOrg. Chem.66:8815-8830;およびUS 7223837。

【0305】

酵素的加水分解に感受性のリンカーは例えば、細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素(リソソームプロテアーゼまたはエンドソームプロテアーゼを含むが、これらに限定されない)によって切断されるペプチド含有リンカーであり得る。治療薬剤の細胞内タンパク質分解放出を使用することの1つの利点は、結合体高された場合に薬剤が典型的に弱毒高され、結合体の血清安定性が典型的に高まることである。いくつかの実施形態に、ペプチジルリンカーは、少なくとも2アミノ酸長または少なくとも3アミノ酸長である。例示的なアミノ酸リンカーには、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチドまたはペンタペプチドが含まれる。好適なペプチドの例としては、バリン、アラニン、シトルリン(Cit)、フェニルアラニン、リジン、ロイシン、およびグリシンなどのアミノ酸を含むものが

挙げられる。アミノ酸リンカー成分を含むアミノ酸残基には、天然に存在するもの、ならびに少量のアミノ酸および天然に存在しないアミノ酸アナログ(例えば、シトルリン)が含まれる。例示的なジペプチドには、バリン-シトルリン(vcまたはval-cit)およびアラニン-フェニルアラニン(afまたはala-phe)が含まれる。例示的なトリペプチドには、グリシンバリンシトルリン(gly-val-cit)およびグリシングリシングリシン(gly-gly-gly)が含まれる。いくつかの実施形態的に、リンカーには、Val-Cit、Ala-Val、またはPhe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-ArgまたはTrp-Citのようなジペプチドが含まれる。Val-CitまたはPhe-Lysなどのジペプチドを含むリンカーは例えば、米国特許に開示されている。第6,214,345号明細書は、共有結合結合に適したリンカーに関連するので、その全体が本明細書に参考として援用される。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、ジペプチドは自壊リンカーと組合せて使用される。

10

【0306】

本明細書での使用に適したリンカーはさらに、 C_1 - C_6 アルキレン、 C_1 - C_6 ヘテロアルキレン、 C_2 - C_6 アルケニレン、 C_2 - C_6 ヘテロアルケニレン、 C_2 - C_6 アルキニレン、 C_2 - C_6 ヘテロアルキニレン、 C_3 - C_6 シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびそれらの組合せから選択される1つ以上の群を含むことができ、それらの各々は任意に置換されてもよい。このようなグループの非限定的な例は $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_n$ 、および $-(C=O)(CH_2)_n$ -ユニットを含み、ここでnは、各場面对して独立に選択される1から6の整数である。いくつかの実施形態に、リンカーはヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジペプチド、p-アミノベンジル(PAB)基、複素環自己免疫基、任意選択で置換された C_1 - C_6 アルキル、任意選択で置換された C_1 - C_6 ヘテロアルキル、任意選択で置換された C_2 - C_6 アルケニル、任意選択で置換された C_2 - C_6 ヘテロアルケニル、任意選択で置換された C_2 - C_6 アルキニル、任意選択で置換された C_2 - C_6 ヘテロアルキニル、任意選択で置換された C_3 - C_6 シクロアルキル、任意選択で置換されたヘテロシクロアルキル、任意選択で置換されたアリール、任意選択で置換されたヘテロアリール、アシル、 $-(C=O)-$ 、または $-(CH_2CH_2O)_n$ 基のうちの1つまたは複数を含むことができ、nは1~6の整数である。当業者のある者は、列挙された基の1つ以上が二価(ジラジカル)種(例えば、 C_1 - C_6 アルキレンなど)の形態で存在し得ることを認識する。

20

30

【0307】

いくつかの実施形態に、リンカーは、p-アミノベンジル基(PAB)を含む。ある実施形態に、p-アミノベンジル基は、細胞傷害性薬物とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置される。ある実施形態に、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルオキシカルボニルユニットの一部である。ある実施形態に、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルアミド単位の一部である。

【0308】

いくつかの実施形態に、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-を含むPAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PAB。

40

【0309】

いくつかの実施形態に、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n$ -、 $-(CH_2CH_2O)_n$ -、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABの1つ以上の組合せを含む。

【0310】

いくつかの実施形態に、リンカーは $-(C=O)(CH_2)_n$ ユニットを含み、nは1から6までの整数である。

【0311】

いくつかの実施形態に、リンカーは $-(CH_2)_n$ ユニットを含み、nは2から6の整数である

50

。

【0312】

ある特定の実施形態に、ADCのリンカーは、N-βマレイミドプロピル-Val-Ala-パラアミノベンジル(BMP-Val-Ala-PAB)である。

【0313】

抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンドを細胞毒性剤に結合させるために使用することができるリンカーには、リンカーの他端で細胞毒性剤に共有結合し、リンカーの他方の末端で、リンカー上に存在する反応性置換基と、抗体内に存在する反応性置換基、その抗原結合フラグメント、またはCD134またはCD278に結合するリガンドとの間のカップリング反応から形成される化学的な部分構造を含むものが含まれる。CD134またはCD278に結合する抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンド内に存在し得る反応性置換基にはセリン、トレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシル部分;リジン残基のアミノ部分;アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分;ならびにシステイン残基のチオール部分、ならびにプロパルギル、アジド、ハロアリール(例えば、フルオロアリール)、ハロヘテロアリール(例えば、フルオロヘテロアリール)、ハロアルキル、および非天然アミノ酸のハロヘテロアルキル部分が含まれるが、これらに限定されない。薬物-抗体結合体の合成に発明リンカーの例には、とりわけ、抗体または抗原結合フラグメント(例えば、アミンおよびチオール部分)内に存在する求核置換基との反応に適した、求電子剤(例えば、マイケル受容体(例えば、マレイミド))、活性化エステル、電子欠損カルボニル化合物、およびアルデヒドを含むものが挙げられる。例えば、薬物-抗体結合体の合成に適したリンカーには特に、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-L-カルボキシレート(SMCC)、Nスクシンイミジルヨードアセテート(SIA)、スルホ-SMCC、m-酸エステル-N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル(MBS)、スルホ-MBS、およびスクシンイミジルヨードアセテートが含まれるが、これらに限定されるものではなく、例えば、Liuら、18:690-697、1979に記載されており、その内容は化学結合のためのリンカーに関するものとして本明細書に援用される。

【0314】

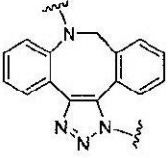
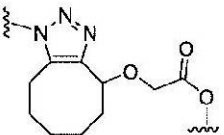
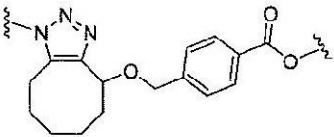
本明細書中に開示される化学基、部分および特徴のいずれか1つ以上は本明細書中に開示されるような抗体および細胞毒素の結合に有用なリンカーを形成するために、多様な方法で組み合わせられ得ることが、当業者のある者によって認識される。本明細書中に記載される組成物および方法と関連して有効なさらなるリンカーは例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示は、その全体が参考として本明細書中に援用される。

【0315】

本明細書中に記載されるリンカー物(抗体薬剤およびリガンド共役と組み合わせて有用な)は以下の表1に示されるような結合反応によって形成される化学的な部分構造を含むが、これらに限定されない。曲線は、それぞれ、抗体、抗原結合フラグメント、またはリガンドおよび細胞傷害性分子への付着点を示す。

【0316】

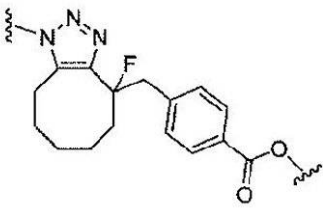
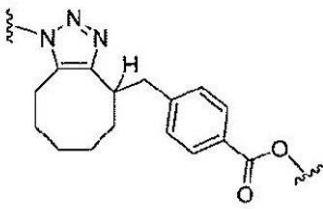
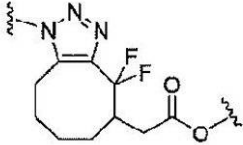
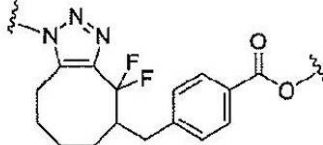
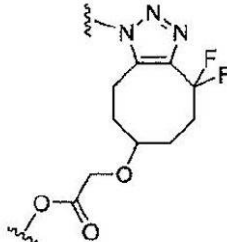
【表 1 - 1】

例示的な カップリング反応	カップリング反応により形成される化学部分 Z
[3+2] 付加環化	
[3+2] 付加環化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

10

20

【表 1 - 2】

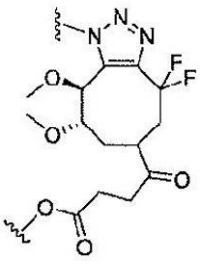
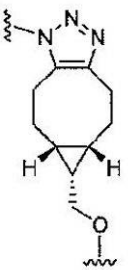
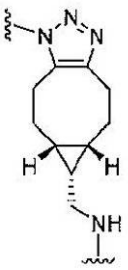
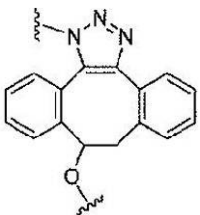
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

10

20

30

【表 1 - 3】

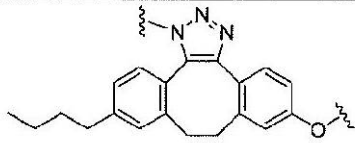
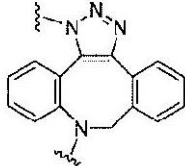
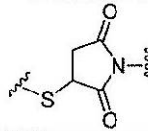
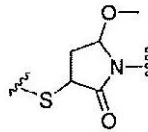
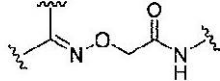
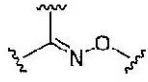
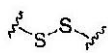
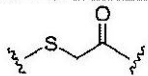
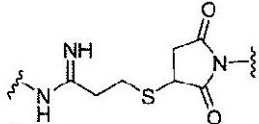
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

10

20

30

【表 1 - 4】

[3+2] 付加環化、 エーテル化	
[3+2] 付加環化	
マイケル付加	
マイケル付加	
イミン縮合、 アミド化	
イミン縮合	
ジスルフィド形成	
チオールアルキル化	
縮合、 マイケル付加	

10

20

30

40

【0317】

当業者のある者はリンカーに結合した反応性置換基Zおよび抗体またはその抗原結合フラグメント反応性置換基が共有カップリング反応に参与して化学的な部分構造Zを生成し、反応性置換基Zを認識することを認識する。したがって、本明細書に記載の方法と併用するのに有用な抗体薬物結合体は、本明細書に記載のリンカーまたは細胞毒素リンカー結合体、抗体上の反応性置換基との反応に適した反応性置換基Zを含むリンカーまたは細胞毒素リンカー結合体、またはその抗原結合断片との反応によって形成され、化学的な部分構造Zを形成する。

【0318】

表1に示されるように、リンカーおよび抗体またはその抗原結合フラグメント上の適切

50

に反応性の置換基の例には、求核剤/求電子剤対(例えば、とりわけ、チオール/ハロアルキル対、アミン/カルボニル化合物対、またはチオール/ α , β -不飽和カルボニル化合物対など)、ジエン/ジエノフィル対(例えば、アジド/アルキン対、またはジエン/ α , β -不飽和カルボニル化合物対など)などが含まれる。化学的な部分構造Zを形成するための反応性置換基間のカップリング反応としてはチオールアルキル化、ヒドロキシルアルキル化、アミンアルキル化、アミンまたはヒドロキシルアミン縮合、ヒドラジン形成、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、環化付加(例えば、とりわけ、[4+2]Diels-Alder環化付加、[3+2]Huisgen環化付加)、芳香族求核置換、アミン、またはヒドロキシルアミン縮合、芳香族求電子置換、および当技術分野で公知であるか、または本明細書に記載される他の反応様式が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、リンカーが抗体上の求核性官能基またはその抗原結合フラグメントとの反応のための求電子性官能基を含む。

10

【0319】

本明細書中に開示されるように、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基は限定されないが、(i)N末端アミン基、(ii)側鎖アミン基(例えば、リジン)、(iii)側鎖チオール基(例えば、システイン)、および(iv)糖水酸基またはアミノ基(ここで、抗体はグリコシル化される)のような求核基を含む。本明細書中に開示されるように、抗体、またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基は非限定的に、セリン、トレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシル部分;リジン残基のアミノ部分;アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分;ならびにシステイン残基のチオール部分、ならびにプロパルギル、アジド、ハロアリール(例えば、フルオロアリール)、ハロヘテロアリール(例えば、フルオロヘテロアリール)、ハロアルキル、および非天然アミノ酸のハロヘテロアルキル部分を含む。いくつかの実施形態に、本明細書中に開示される抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基は、アミンまたはチオール部分を含む。特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン橋梁を有する。抗体は、DTT(ジチオトレイトール)などの還元剤で処理することによって、リンカー試薬との結合のために反応性にされ得る。従って、各システイン橋梁は、理論的には2つの反応性チオール求核試薬を形成する。さらなる求核基を、リジンと2?イミノチオラン(トラウト試薬)との反応によって抗体中に導入して、アミンをチオールに転化させることができる。反応性チオール基は1個、2個、3個、4個、またはそれ以上のシステイン残基を導入することによって(例えば、1個またはそれ以上の非天然システインアミノ酸残基を含む変異体抗体を調製することによって)、抗体(またはそのフラグメント)に導入され得る。米国特許。第7,521,541号は、反応性システインアミノ酸の導入による工学的抗体を教示している。

20

30

【0320】

いくつかの実施形態に、リンカーに結合した反応性部分Zは、抗体上に存在する求電子基と反応性である求核基である。抗体上の有用な求電子基としてはアルデヒドおよびケトンカルボニル基が挙げられるが、これらに限定されない。求核基のヘテロ原子は抗体上の求電子基と反応し、抗体と共有結合を形成することができる。有用な求核基としてはヒドラジド、オキシム、アミノ、水酸基、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジドが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0321】

いくつかの実施形態に、Zは抗体内に存在する反応性求核置換基、またはその抗原結合フラグメント(例えば、アミンおよびチオール部分)と反応性求電子置換基Zとの間の反応の生成物であり、例えば、Zはとりわけ、マイケルアクセプター(例えば、マレイミド)、活性化エステル、電子欠損カルボニル化合物、またはアルデヒドであり得る。

【0322】

いくつかの実施形態に、ADCはリンカーおよび化学的な部分構造Zを介して本明細書に開示される式III、IIIA、またはIIIBのいずれかのアマトキシニンにコンジュゲートした抗CD134または抗CD278抗体を含み、本明細書に開示される式I、IA、IB、II、IIA、またはIIBのいずれかのアマトキシニン-リンカーコンジュゲートを形成する。いくつかの実施形態に、

50

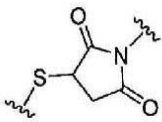
リンカーはジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態に、リンカーはパラミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態に、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは-((C=O)(CH₂)_n)-単位を含み、nは1-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。

【0323】

いくつかの実施形態では、リンカーに-(CH₂)_n-unitが含まれる。nは2~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-)である。いくつかの実施形態では、リンカーは-(CH₂)_n-である。いくつかの実施形態では、リンカーは-(CH₂)_n-で、nは6である。

0316 いくつかの実施形態に、化学的な部分構造Zは、表1から選択される。いくつかの実施形態において、化学的な部分構造Zは

【化52】



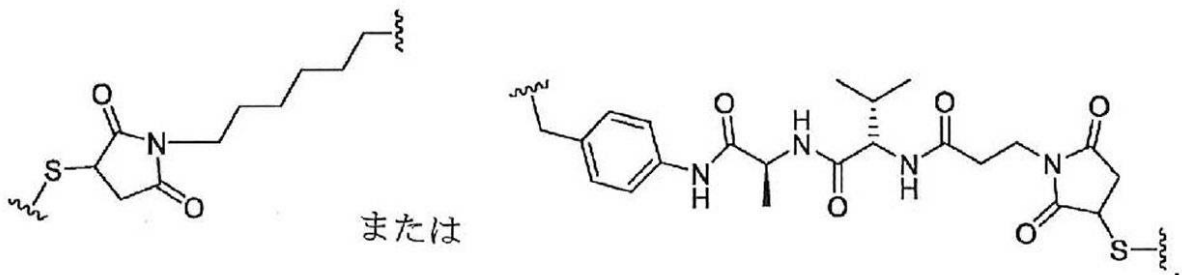
【0324】

ここで、SはCD134またはCD278(例えば、システイン残基の-SH基由来)に結合する、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である。

【0325】

いくつかの実施形態に、リンカーL及び化学的な部分構造Zは、L-Zとして一緒になって

【化53】



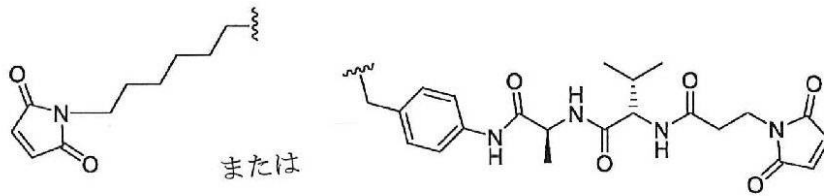
【0326】

当業者のある者は抗体またはその抗原結合フラグメントとのコンジュゲーションの前に、リンケリアクティブ置換基構造を認識し、Z群としてマレイミドを含む。本明細書に記載の組成物および方法と組み合わせてとりわけ有用な、上記のリンカー部分およびアマトキシン-リンカーコンジュゲートは例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号および特許出願公開第W02017/149077号に記載されており、これらの各々の開示は、その全体が参考として本明細書に援用される。

【0327】

いくつかの実施形態的に、リンク反応性置換基構造は、抗体またはその抗原結合フラグメントとの接合に先立って、:

【化 5 4】



【0328】

抗体薬物共役の調製

本明細書中に開示される式I、IA、IB、II、IIAおよびIIBのADCにおいて、抗体またはその抗原結合フラグメントは本明細書中に開示されるリンカーLおよび化学的な部分構造Zを介して、1つ以上の細胞傷害性薬剤部分(D)(例えば、1抗体あたり約1~約20の薬剤部分)に結合体化される。本発明のADCは、以下を含む、当業者に公知の有機化学反応、条件下、および試薬を使用するいくつかの経路によって調製され得る:(1)抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性置換基と、本明細書中上記のようなAb-Z-Lを形成するための二価リンカー試薬との反応;続いて、薬物部分の反応性置換基と、二価リンカー試薬との反応、続いて、D-L-Zを形成するためのD-L-Zを形成するためのD-L-Z-Abのような式D-L-Z-AbのADCを形成するための上記のような抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性置換基との反応。ADCを調製するためのさらなる方法は、本明細書中に記載される。

【0329】

別の態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフヒドリル基を導入するために化学的に改変され得る1つ以上のリシン残基を有する。次いで、ADCは本明細書中上記のように、スルフヒドリル基の硫黄原子を通る共役によって形成される。リジンを修飾するために使用することができる試薬にはN-スクシンイミジルS-アセチルチオアセテート(SATA)および2-イミノチオラン塩酸塩(Traut試薬)が含まれるが、これらに限定されない。別の態様において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフヒドリル基を有するように化学修飾され得る1つ以上の炭水化物基を有し得る。次いで、ADCは本明細書中上記のように、スルフヒドリル基の硫黄原子を通る共役によって形成される。

【0330】

さらに別の局面において、抗体は酸化されてアルデヒド(-CHO)基を提供し得る1つ以上の炭水化物基を有し得る(例えば、Laguzzaら、JMed.Chem.1989,32(3),548-55を参照のこと)。次いで、ADCは本明細書中上記のように、対応するアルデヒドを通るコンジュゲーションによって形成される。細胞毒素の付着または会合のためのタンパク質の修飾のための他のプロトコルはColiganら、タンパク質科学の最新プロトコル、volに記載されている。2, John Wiley & Sons (2002)(参照により本明細書に組み込まれる)。

【0331】

抗体、免疫グロブリンまたはその断片などの細胞標的タンパク質へのリンカー-薬物部分の結合のための方法は例えば、米国特許に見出される。No.5,208,020; U.SPat. No.6,441,163; WO2005037992; WO2005081711; およびWO2006/034488いずれも参照により明示的に組み込まれている。

【0332】

あるいは、抗体および細胞傷害剤を含む融合タンパク質が例えば、組換え技術またはペプチドシンセシスによって作製され得る。DNAの長さは、結合体の2つの部分をコードするそれぞれの領域を、互いに隣接するか、または結合体の所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離されてもよい。

【0333】

抗体薬物動態プロファイル

いくつかの実施形態に、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体は、定義された血清半減期を有する。本方法において有効な抗体、その抗原結合断片、およ

び複合体には、例えば1～24時間の血清半減期を有するものが含まれる。いくつかの実施形態に、移植片は、循環抗体のレベルが治療的に有効なレベルである場合、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体の前、同時または後に投与される。血清レベルの計測による薬物動態解析は、当技術分野で公知のアッセイによって行うことができる。

【0334】

投与経路及び投与方法

本明細書中に記載される抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、およびリガンドは種々の投与形態で患者(例えば、GVHDまたは自己免疫疾病に罹患しているか、またはその危険性があるヒト患者)に投与され得る。例えば、本明細書中に記載される抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、およびリガンドは、1つ以上の薬学的に受容可能な賦形剤を含む水溶液のような水溶液の形態で、GVHDに罹患しているか、またはGVHDの危険性がある患者に投与され得る。本明細書中に記載される組成物および方法物と共に使用するための好適な薬学的に許容される賦形剤物は、粘度変性剤を含む。水溶液は、当技術分野で公知の技術を使用して滅菌することができる。

【0335】

本明細書に記載される抗CD134 ADCまたは抗CD278 ADCを含む医薬製剤は、そのようなADCを、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、1つ以上の任意の薬学的に許容可能な担体(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, AEd.(1980))と混合することによって調製される。薬学的に受容可能なキャリアは一般に、使用される用量および濃度で受領者に対して非毒性であり、これにはリン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸などの緩衝液;アスコルビン酸およびメチオニンを含む酸化防止;塩化オクタデシルベンジルアンモニウム;塩化ベンザルコニウム;フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール;メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン;レゾルシノール;3-ペンタノール;およびm-0-クレゾール;低分子量(約10残基未満)ポリペプチド;血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質;グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどの親水性ポリマー;単糖類、二糖類が挙げられるが、これらに限定されない。グルコース、マンノース、デキストリンなどの他の炭水化物;スクロース、マンニトール、トレハロース、ソルビトールなどの糖;ナトリウムなどの塩形成対イオン;金属錯体(Zn-タンパク質複合体など);および/または非イオン性界面活性剤例えば、ポリエチレングリコール(PEG)。

【0336】

本明細書中に記載される抗体、抗原結合フラグメント、ADC、およびリガンドは、経口、経皮、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内、眼内、または非経口のような種々の経路によって投与され得る。任意の所与の症例における投与のための最も好適な経路は特定の抗体、投与される抗原結合フラグメント、またはADC、患者、医薬製剤方法、投与方法(例えば、投与時刻および投与経路)、患者の年齢、体重、性別、治療される疾患の重症度、患者の食事、および患者の排泄速度に依存する。

【0337】

本明細書中に記載される抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはリガンドの実効量は例えば、単回(例えば、ボラス)照射量、反復照射量、または持続照射量当たり約0.001～約100mg/kg体重、または抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドの最適血清濃度(例えば、0.0001～15000 µg/mLの血清濃度)を達成することができる。用量はGVHDまたは自己免疫疾患に罹患しているか、またはそのリスクがある被験体(例えば、ヒト)に、1日、1週間、または1ヶ月当たり1回以上(例えば、2～10回)投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはリガンドは造血幹細胞移植の前に、宿主反応性T細胞の量を、例えば、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与され得る。

【0338】

治療方法

本明細書中に記載される組成物および方法は移植片耐性を達成するために、移植片不全

、特に同種移植片拒絶、および自己免疫疾患に関連する活性化T細胞を枯渇させるために使用され得る。本明細書中に記載される組成物および方法は、GVHDおよび/または自己免疫疾患を予防および処置するために特に有効である。本明細書中に記載される組成物および方法はまた、宿主対移植片病(HvGD)を予防または処置するために有効である。本明細書中に開示される方法および組成物はまた、同種移植を受けているヒト患者における移植不全の危険性を減少させるのに有効である。好ましい対象はヒトである。投与される抗体、抗体-薬物共役、またはリガンド-薬物共役の量は、GVHDまたは自己免疫疾病を促進する細胞、例えば活性化T細胞を枯渇させるのに充分であるべきである。治療的に有効な用量の判定は当業者の能力の範囲内であるが、例えば、GVHDまたは自己免疫疾病の治療のための抗体の全身投与を利用する本明細書に記載の方法の実施形態において、有効なヒト用量は 10
0.1~1150mg/kg(例えば、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg、150mg/kgなど)であろう。投与経路が推奨用量に影響を及ぼす可能性がある。有効なレベルを維持するために、例えば、GVHDまたは自己免疫疾患を減弱または阻害するために、反復全身性照射量が、採用される投与様式に依存して意図される。

【0339】

抗体、抗体-薬剤共役、またはリガンド-薬剤共役は患者への細胞または固形臓器の移植の前、同時、または後に、必要なヒト患者に投与され得る。ある実施形態に、抗CD134 ADCまたは抗CD278 ADCは細胞または固形臓器の移植前(例えば、約3日前、約2日前、約12時間前)に、それを必要とするヒト患者に投与される。ある実施形態に、抗CD134 ADCまたは抗CD278 ADCは細胞または固形臓器の移植後(例えば、約1日後、約2日後、約3日後、または約4日後)に、それを必要とするヒト患者に投与される。ある特定の実施形態に、本明細書に患者のADCは、移植の前、同時、および/または後に投与される。抗CD134 ADCまたは抗CD278 ADCの単回投与は細胞または臓器の移植の前、同時または後のいずれかで、ヒト患者に投与され得、このような単回投与はGVHDまたは移植片不全を治療または予防するのに十分である。 20

【0340】

抗CD134ADCまたは抗CD278ADCは同種移植を含む移植の受容を促進するために使用される従来の薬剤(例えば、化学療法および/または照射)の代替として使用され得る。従来の薬剤は一般に、移植された細胞または臓器の生着および受領を促進するために、患者の免疫反応を低下させる。本明細書に記載の方法および組成物は活性化T細胞またはCD278を発現するCD134を標的化し、枯渇させながら、患者の免疫系の多くが無傷のままであることを可能にする、より選択的な治療を提供する。従って、本明細書中に開示される抗CD134 ADCまたは抗CD278 ADCが活性化T細胞を選択的に枯渇させることができることは、特に、細胞または固形臓器の成功した移植を達成するために同種活性化免疫細胞が標的化され、枯渇され得ることを考慮すると、移植の状況において、従来の治療よりも有益な治療を提供する。 30

【0341】

本明細書中に開示される方法および組成物は、移植片不全を予防または処置するために使用され得る。同種造血幹細胞移植後の不全を含む、移植片不全または移植片拒絶は一般に、ドナー細胞の最初の移植の欠如、または最初の移植後のドナー細胞の喪失のいずれかとして現れ得る(総説については、Mattssonら(2008)Biol Blood Marrow Transplantを参照のこと)。14(補遺1):165-170)。本明細書に開示される組成物および方法は移植片不全が関心事で例えば、ヒト患者が固形臓器または細胞の移植後に移植片不全を発症する危険性がある、特に移植された細胞または臓器が同種異系で移植片または移植の筋書きにおいて、活性化T細胞を発現するCD134またはCD278を枯渇させるために使用され得る。 40

【0342】

ある実施形態に、抗CD134または抗CD278抗体、抗体-薬剤共役、またはリガンド-薬剤共役を用いて、細胞、移植片、または器官をヒトに移植する前に、細胞、移植片、または固形器官を抗CD134または抗CD278抗体、抗体-薬剤共役、またはリガンド-薬剤共役と接触させることによって、供与体細胞(例えば、CD134またはCD278を発現する活性化T細胞)を発現 50

するCD134またはCD278を枯渇させる。ある実施形態に、細胞、グラフトまたは臓器は同種異系である。

【0343】

GVHDのリスクは、現在の治療法による移植後も依然として高い。本明細書中に開示される方法および組成物は、ヒト患者において移植片対宿主病(GVHD)を阻害するために使用され得る。抗CD134ADCまたは抗CD278ADCは、幹細胞移植のような移植を受けるのであろう患児において活性化T細胞を選択的に標的化するために使用され得る。抗CD134 ADCまたは抗CD278 ADCはまた、本明細書中に記載されるように、HSC移植(これに限定されない)のような移植を受けようとしているかまたはすでに受けているヒト患者において、CD134陽性またはCD278陽性細胞を標的化し、そして枯渇させることによって、GVHDの危険性を減少させるために使用され得る。ある特定の実施形態に、本明細書に開示される組成物および方法は移植療法、例えば、同種HSC後の患者におけるGVHDの症状の出現前にGvHDを治療するためのものである。

10

【0344】

本明細書中に記載される方法はまた、宿主対移植片(HvG)反応を予防するために有効である。防CD134-ADCまたは防CD278-ADCはまた、宿主対移植片(HvG)反応を予防するための免疫抑制剤として使用することができ、それによって同種移植片不全のリスクを予防または減少させる。HvG反応の危険性のある患者に防CD134または防CD278 ADCを使用すると、より高度のHLAミスマッチを伴うドナー細胞の生着が可能になる。その他の用途としては固形臓器移植における寛容誘導が挙げられ、ここでは宿主対移植片反応がCD134-ADCまたはCD278-ADCによって予防または減衰される。これには、造血幹細胞移植を無または伴わない固形臓器移植が含まれる。これには臓器がヒト由来でない、および/または遺伝子組み換えされた異種移植が含まれる。

20

【0345】

ある実施形態に、防CD134-ADCまたは防CD278-ADCは、2人のドナーが使用される同種移植の文脈において、移植片対移植片(GvG)を予防するために使用される。例えば、成人および小児における2つの臍帯血幹細胞供血者の使用が挙げられる。GvGの予防は両方の幹細胞源がうまく生着するのであろうので、移植後のより迅速な造血(例えば、好中球および血小板(platelet))再構築を可能にするのであろう。

【0346】

いくつかの実施形態に、移植は同種異系である。いくつかの実施形態に、移植片は自己由来である。

30

いくつかの実施形態では、移植は骨髓移植、末梢血移植、臍帯血移植である。

【0347】

いくつかの実施形態に、移植は造血細胞(例えば、造血幹細胞)を含む。

【0348】

本明細書に記載される実施形態のいずれにおいても、移植片は、任意の固形臓器または皮膚移植片であり得る。いくつかの実施形態に、移植は、腎移植、心移植、肝移植、膵移植、肺移植、腸移植及び皮膚移植からなる群から選択される。

【0349】

本明細書に記載の方法は、多発性硬化症(MS)を治療するのに有効である。MSは中枢神経系の破壊的な自己免疫性炎症性疾患である。中枢神経系(CNS)における損傷は、ミエリン鞘内の(自己)抗原に対する自己免疫攻撃に起因することはよく受け入れられている。多発性硬化症における組織障害の原因となる機序には、髄鞘内のタンパク質を攻撃する自己反応性T細胞の活性化が関与している。個体が15~50歳の間の最初の徴候を経験することは一般的である。罹患者は炎症性脱髄の発作に遭遇し、増悪寛解という疾患の古典的な経過をたどる。

40

【0350】

本明細書中に記載される方法はまた、ヒト全身性エリテマトーデス(SLE)を処置するために有効である。SLE、すなわちループスは自己抗原に対する自己抗体産生を特徴とする

50

全身性の慢性自己免疫疾患である。自己反応性B細胞は、二本鎖DNAへの抗体、核タンパク質抗原およびリボ核タンパク質への自己抗原によって駆動される。B細胞耐性の消失を促進し、自己抗体産生を促す因子は不明である。全身性エリテマトーデスは、体のほとんどすべての臓器や系に影響を及ぼす。全身性エリテマトーデスには、症状があってもわずかなしか明らかでない期間(「寛解」)と、病気がより活動的になる他の時期(「発赤」)がある。

【0351】

本明細書中に記載される方法はまた、関節リウマチ(RA)を処置するために有効である。RAは全身性の自己免疫疾患で、まず継手間の空洞を線潤滑液を分泌する結合組織膜である滑膜を攻撃する。RAの成因は不明であるが、感染性、遺伝性、ホルモン性の因子が関節リウマチに関与している可能性があり、関節リウマチ患者の関節にはマクロファージや樹状細胞、TやB細胞などの白血球が重度に浸潤しているため、RAは免疫異常と関連している。この疾患はどの年齢でも起こりうるが、発症のピークは25~55歳である。発生率は年齢とともに増加する。この病気の発症は通常徐々に起こり、疲労、1時間以上続く朝のこわばり、拡散筋肉痛、食欲不振、脱力などがみられる。最終的には関節痛が出現し、不活動後に関節の熱感、腫脹、圧痛、硬直を伴う。

【0352】

本明細書中に記載される方法はまた、炎症性腸疾患(IBD)を処置するために有効である。IBDの症状には、潰瘍性大腸炎、クローン病、リンパ球性大腸炎、および膠原線維性大腸炎がある。IBDは消化管の免疫学的に媒介される自然再発性疾患であり、制御されない炎症および粘膜免疫系の持続的な活性化を特徴とする。CD4 T細胞は炎症粘膜への流入により、ヒトIBDの病因に重要な役割をしていると考えられている。

【0353】

本明細書に記載の方法は、乾癬を治療するのに特に有効である。乾癬は慢性炎症性皮膚病で、赤く鱗片状盛り上がった局面を特徴とする。乾癬は、T細胞およびそれに関連するサイトカイン濃度の上昇によって媒介され、細胞分裂および異常な分化の増加につながる。乾癬は様々な程度の重症度を伴う慢性の再発性皮膚状態であり、乾癬性関節炎、鬱病、悪性腫瘍、メタボリックシンドローム、心血管罹病率および死亡率、ならびに炎症性腸疾患(IBD)などの自己免疫疾患を含む重篤な併存疾患とも関連している。

【0354】

本明細書に記載の方法は、I型糖尿病メリツス(I型糖尿病)の治療にも有効である。I型糖尿病は、若年発症者では年齢や高さに比して体重過多ではなく、年齢を問わずI型糖尿病が起こりうるもの、30歳以前に発症することが多い若年発症者を含むヒトの代謝性疾患である。I型糖尿病は自己免疫性病因の病気と考えられている。CD4およびCD8 T細胞は、β細胞(インシュリン産生細胞)の障害の原因物質として関係している。

【0355】

本明細書に記載される方法は急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、アジソン病、汎発性脱毛症、抗リン脂質抗体症候群(APS)、再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性リンパ増殖症候群(ALPS)、自己免疫性卵巣炎、Balo病、水疱性類天疱瘡、心筋症、シャーガス病、慢性疲労免疫不全症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、クローン病、癒痕性類天疱瘡、仙痛疱疹状皮膚炎、寒冷凝集素症候群、デゴス病、自律神経失調症を含むが、これらに限定されない他の自己免疫疾患の治療にも有用である。子宮内膜症、本態性混合性クリオグロブリン血症、グッドパスチャー症候群、ギラン・バレー症候群(GBS)、橋本甲状腺炎、化膿性汗腺炎、特発性および/または急性血小板減少性紫斑病、特発性肺線維症、IgA神経障害、間質性膀胱炎、若年性関節炎、扁平苔癬、ライム病、メニエール病、混合性結合組織病(MCTD)、重症筋無力症、神経筋強直症、オプソクロノスミオクロノス症候群(OMS)、視神経炎、Ord甲状腺炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性軟骨炎、多発性筋炎及び皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発動脈炎、多発性動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、リウマチ性多発筋痛症、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、サルコイドーシス、強皮症、シ

10

20

30

40

50

ェーグレン症候群、硬直者症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎(「巨細胞性動脈炎」としても知られる)、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛(「外陰前庭炎」)、Wegener肉芽腫症。

【0356】

本明細書中に記載される組成物および方法は非悪性ヘモグロビン症(例えば、鎌状赤血球貧血, サラセミア, ファンコニー貧血およびウィスコット-アルドリッチ症候群からなる群より選択されるヘモグロビン症)を含むが、これらに限定されない、種々の障害を処置するために使用され得る。さらに、または代わりに、本明細書に記載の組成物および方法は、先天性免疫不全症などの免疫不全を治療するために使用することができる。さらに、または代わりに、本明細書に記載の組成物および方法は後天性免疫不全症(例えば、HIVおよび助剤からなる群から選択される後天性免疫不全症)を治療するために使用することができる。本明細書中に記載される組成物および方法は代謝障害(例えば、グリコーゲン蓄積症, ムコ多糖症, ゴーシェ病, ハーラー病、スフィンゴ脂質用量、および異染性白質ジストロフィーからなる群より選択される代謝障害)を処置するために使用され得る。さらに、または代わりに、本明細書に記載される組成物および方法は血液癌(例えば、白血病, リンパ腫, 多発性骨髄腫および骨髄異形成症候群)などの悪性腫瘍、ならびに神経芽細胞腫を含む他の癌状態を治療するために使用することができる。

【0357】

ある実施形態に、本明細書に記載のADCは白血病(例えば、急性骨髄性白血病)について処置されるヒト患者においてGVHDを処置または予防するために使用され、それによって、患者は同種移植(例えば、造血幹細胞(HSC)の同種移植)を受けた。ここに記載されたADCはまた、T細胞を枯渇させ、同種移植の受け入れを促進するために、移植前に使用され得る。

【0358】

ある実施形態に、本明細書に記載されるADCは代謝障害、例えば、遺伝性代謝病について治療されているヒト患者において、GVHDを治療または予防するために使用され、それによって、患者は同種移植、例えば、臍帯血細胞の同種移植を受けた。ここに記載されたADCはまた、T細胞を枯渇させ、同種臍帯血細胞移植の受け入れを促進するために、移植前に使用され得る。

【0359】

本明細書に記載される組成物および方法の投与によって治療され得る追加の障害には、アデノシン・デアミナーゼ欠損症および重度複合免疫不全症、高免疫グロブリンM症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、大理石骨病、骨形成不全症、貯蔵疾患、サラセミア・メジャー、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus)、多発性硬化症、ならびに若年性関節リウマチが含まれる。

【0360】

本明細書中に開示される方法によれば、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、造血幹細胞移植治療のための調製においてヒト患者に投与され得る。

【0361】

抗CD134または抗CD278抗体、そのフラグメント、ADC、または可溶性リガンドは、本明細書中に記載されるかまたは当該分野で公知の細胞傷害性分子のような毒素、またはFcドメインに共有結合され得る。例えば、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドは、微小管結合剤、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deブーガニン、ジフテリア毒素などの細胞毒素、例えばαアマニチン、サポリン、アウリスチシン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変形例に共有結合的に結合することができる。

【0362】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知の共有結合形成技術を使用して行うことができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体はその後、患者への外生的造血幹細胞(このような同種造血幹細胞)の移植の前に、例えば、静脈内投与によって患者に投与され得る。

【0363】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は宿主反応性T細胞の量を、造血幹細胞移植治療の前、時間、または後に、例えば、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。ドナーT細胞数の減少は当該分野で公知の従来の技術を使用して(例えば、被験体から採取された血中サンプルにおいて特性造血細胞表層抗原を発現する細胞のFACS解析によって)モニターされ得る。例えば、当業者は様々な時点でサンプルを採血し、ドナーT細胞抗原に結合する抗体を用いてサンプル中のT細胞の濃度を解明するためにFACS解析を行うことにより、ドナーCD134+またはCD278+ T細胞還元の程度を決定することができる。

【0364】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は1つ以上の薬学的に受容可能な賦形剤(例えば、粘度変性剤)を含む水溶液中で、被験体に投与され得る。水溶液は、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の技術を使用して滅菌され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は患者への造血幹細胞グラフトの投与前に、例えば、0.001mg/kg~100mg/kgの投薬量で患者に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時点で、例えば、外生的造血幹細胞移植の投与前に、約1時間~約7日(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日)またはそれ以上前に、患者に投与され得る。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、移植の約3日前に投与され得る。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時点で、例えば、外生的造血幹細胞移植の投与と同時に、患者に投与され得る。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時点で、例えば、外生的造血幹細胞移植の投与後、約1時間~約10日(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、または10日)またはそれ以上後に、患者に投与され得る。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、移植の約3~4日後に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の量は抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の濃度がその最高値に達した時を決定するために、患者の血漿中で、当技術分野で公知の方法によって定量することができる。

【0365】

次いで、該患者は外生的造血幹細胞の注入(例えば、静脈内注入)を、例えば、抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは薬物-抗体結合体を投与した同じ医師から、または別の医師から受け得る。医師は例えば、 1×10^3 ~ 1×10^9 CD34⁺細胞/kgの用量で、自己、同系、または同種造血幹細胞の注入を投与患者。医者は例えば、患者から血液サンプルを抜き取り、移植を投与した後に、赤血球、血小板(thrombocytes)、血小板(platelets)、赤血球、マスト細胞、マイオブラスト、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹枝状細胞、ナチュラル・キラー細胞、T

細胞、およびB幹細胞などの赤血球系の系統の血球幹細胞または細胞の増量を決定することによって、造血性細胞移植の彫刻を監視することができる。この解析は例えば、造血幹細胞移植治療後1時間～6ヶ月以上(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、13週間、14週間、15週間、16週間、17週間、18週間、19週間、20週間、21週間、22週間、23週間。造血系統の造血幹細胞または細胞の濃度が移植治療前の対応する細胞型の濃度と比較して、移植治療後に増加した(例えば、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、500%、またはそれ以上)という発見は、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体での処置が移植された造血幹細胞移植片の移植を首尾よく促進したという1つの指標を提供する。

【0366】

本明細書中に開示される方法によれば、抗CD134または抗CD278抗体またはADCは、GVHDの危険性があるか、またはGVHDに罹患しているヒト患者に投与され得る。抗体、そのフラグメント、ADC、または可溶性リガンドは、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の細胞傷害性分子のような毒素、またはFcドメインに共有結合され得る。例えば、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドは、微小管結合剤、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deブーガニン、ジフテリア毒素などの細胞毒素、例えばαアマニチン、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変形例に共有結合的に結合することができる。

【0367】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されるか、または当該分野で公知の共有結合形成技術を使用して行うことができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は続いて、例えば、GVHDの危険性がある患者に静脈内投与によって投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は続いて、例えば、GVHDに罹患している患者に静脈内投与によって投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、外生的造血幹細胞(同種造血幹細胞など)の移植前、移植時、または移植後に投与することができる。

【0368】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は宿主反応性T細胞の量を、例えば、造血幹細胞移植治療後に10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。ドナーT細胞数の減少は当該分野で公知の従来の技術を使用して(例えば、被験体から採取された血中サンプルにおいて特性造血細胞表層抗原を発現する細胞のFACS解析によって)モニターされ得る。例えば、当業者は様々な時点でサンプルを採血し、ドナーT細胞抗原に結合する抗体を用いてサンプル中のT細胞の濃度を解明するためにFACS解析を行うことにより、ドナーCD134+またはCD278+ T細胞還元の程度を決定することができる。

【0369】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は1つ以上の薬学的に受容可能な賦形剤(例えば、粘度変性剤)を含む水溶液中で、被験体に投与され得る。水溶液は、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の技術を使用して滅菌され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は患者への造血幹細胞グラフトの投与前に、例えば

、0.001mg/kg~100mg/kgの投薬量で患者に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物\抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞移植の投与前に、GVHDの予防および処置を最適に促進する時点で、例えば、1時間~7日(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日)またはそれ以上前に、患者に投与され得る。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、移植の約3日前に投与され得る。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時点で、例えば、外生的造血-幹細胞移植の投与と同時に、患者に投与され得る。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物?抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時間、例えば、外生的造血幹細胞移植の投与後約1時間~約10日(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、または10日)またはそれ以上後に患者に投与され得る。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、移植の約3~4日後に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の濃度がその最高値に達した時を決定するために、患者の血漿中で、当技術分野で公知の方法によって定量することができる。

【0370】

次いで、該患者は外生的造血幹細胞の注入(例えば、静脈内注入)を、例えば、抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは薬物-抗体結合体を投与した同じ医師から、または別の医師から受け得る。医師は例えば、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^9$ CD34⁺細胞/kgの用量で、自己または同種造血幹細胞の注入を投与患者。

【0371】

当業者はヒト患者に、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはCD134もしくはCD278に結合し得る可溶性リガンド(例えば、本明細書中に記載される抗CD134もしくは抗CD278抗体)を投与した後、GVHDの臨床症状を評価し得る。本明細書中に開示される方法によれば、抗CD134またはCD278抗体またはADCは、造血幹細胞移植の結果として自己免疫疾病を発症するヒト患者に投与され得る。本明細書中に開示される方法によれば、当業者はヒト患者に、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはCD134もしくはCD278に結合し得る可溶性リガンド(例えば、本明細書中に記載される抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADC)を投与し得る。抗体、そのフラグメント、または可溶性リガンドは、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の細胞傷害性分子のような毒素、またはFcドメインに共有結合され得る。例えば、抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドは、微小管結合剤、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deブーガニン、ジフテリア毒素などの細胞毒素、例えばαアマニチン、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変形例に共有結合的に結合することができる。

【0372】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知の共有結合形成技術を使用して行うことができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は続いて、例えば、自己免疫疾患(例えば、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、およびI型糖尿病)の危険性がある患者に、静脈内投与によって投与され得る。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、外生的造血幹細胞(自己また

は同種造血幹細胞など)の移植後に発症する自己免疫病に罹患している患者に投与することができる。

【0373】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は造血幹細胞移植治療の前に、ホスト反応性リンパ球の量を、例えば、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与され得る。ドナーリンパ球数の減少は当該分野で公知の従来の技術(例えば、被験体から採取された血中サンプルにおいて特性造血細胞表面抗原を発現する細胞のFACS解析)を使用してモニターされ得る。例えば、当業者は様々な時点でサンプルを採血し、T細胞抗原に結合する抗体を用いてサンプル中のT細胞の相対濃度を解明するためにFACS解析を行うことによってCD134+またはCD278+ T細胞還元の程度を決定することができる。自己免疫病に対する有効性は当該分野で公知のアッセイによって測定され得る(例えば、血清サンプルからの自己抗体応答測定、および自己抗原に応答するT細胞増殖)。

10

【0374】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は1つ以上の薬学的に受容可能な賦形剤(例えば、粘度変性剤)を含む水溶液中で、被験体に投与され得る。水溶液は、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の技術を使用して滅菌され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は患者への造血幹細胞グラフトの投与前に、例えば、0.001mg/kg~100mg/kgの投薬量で患者に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは外生的造血幹細胞移植の投与前に、自己免疫疾病の予防および治療を最適に促進する時点で、例えば、約1時間~約7日(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日)またはそれ以上前に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、移植の約3日前に投与され得る。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時点で、例えば、外生的造血幹細胞移植の投与と同時に、患者に投与され得る。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は外生的造血幹細胞の移植を最適に促進する時点で、例えば、外生的造血幹細胞移植の投与後、約1時間~約10日(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、または10日)またはそれ以上後に、患者に投与され得る。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、移植の約3~4日後に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の量は抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の濃度がその最高値に達した時を決定するために、患者の血漿中で、当該技術分野で公知の方法によって定量することができる。

20

30

40

【0375】

次いで、該患者は外生的造血幹細胞の注入(例えば、静脈内注入)を、例えば、抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは薬物-抗体結合体を投与した同じ医師から、または別の医師から受け得る。医師は例えば、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^9$ CD34⁺細胞/kgの用量で、自己または同種造血幹細胞の注入を投与患者。

【0376】

当業者はヒト患者に、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または本明細書に記載の抗CD134もしくは抗CD278抗体もしくはADCなどの、CD134もしくはCD278に結合することができる可溶性リガンドを投与した後、自己免疫病の臨床症状を評価することができる。

50

【0377】

本明細書に開示される方法によれば、抗CD134または抗CD278抗体またはADCを、危険にさらされているかまたは自己免疫病に罹患しているヒト患者に投与することができる。本明細書中に開示される方法によれば、当業者はヒト患者に、抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはCD134もしくはCD278に結合し得る可溶性リガンド(例えば、本明細書中に記載される抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADC)を投与し得る。抗体、そのフラグメント、または可溶性リガンドは、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の細胞傷害性分子のような毒素、またはFcドメインに共有結合され得る。

【0378】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知の共有結合形成技術を使用して行うことができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は続いて、例えば、自己免疫疾患(例えば、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、およびI型糖尿病)の危険性がある患者に、静脈内投与によって投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は続いて、例えば、自己免疫疾患(例えば、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、およびI型糖尿病)に罹患している患者に、静脈内投与によって投与され得る。

【0379】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は宿主反応性リンパ球の量を、例えば、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。ドナーリンパ球数の減少は当該分野で公知の従来の技術(例えば、被験体から採取された血中サンプルにおいて特性造血細胞表面抗原を発現する細胞のFACS解析)を使用してモニターされ得る。例えば、当業者は様々な時点でサンプルを採血し、T細胞抗原に結合する抗体を用いてサンプル中のT細胞の相対濃度を解明するためにFACS解析を行うことによってCD134+またはCD278+ T細胞還元の程度を決定することができる。自己免疫病に対する有効性は当該分野で公知のアッセイによって測定され得る(例えば、血清サンプルからの自己抗体応答測定、および自己抗原に応答するT細胞増殖)。

【0380】

抗CD134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は1つ以上の薬学的に受容可能な賦形剤(例えば、粘度変性剤)を含む水溶液中で、被験体に投与され得る。水溶液は、本明細書中に記載されるか、または当該分野で公知の技術を使用して滅菌され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は患者への造血幹細胞グラフトの投与前に、例えば、0.001mg/kg~100mg/kgの投薬量で患者に投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体結合体、または薬物-リガンド結合体は、自己免疫疾患の予防および治療を最適に促進する時点で投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の量は抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体共役、または薬物-リガンド共役の濃度がその最高値に達した時を決定するために、患者の血漿中で、当技術分野で公知の方法によって定量することができる。

【0381】

本方法は特に、同種反応性T細胞を特異的に標的化することができる手段を提供する。同種異系移植後のヒトでは、しばしば同種異系T細胞が発生する。本明細書中に記載される治療の1つの長所は免疫系が大部分無傷のままであり、より大きな免疫回復および感染からの防御を可能にするように、方法が、CD134またはCD278細胞のいずれかの特異的標的化を使用することによって、患者の免疫系を残すことである。したがって、従来の免疫抑制薬、例えばメトトレキサート(トレキサール(R))、シクロスポリン、タクロリムス(プログラフ(R))、ミコフェノール酸モフェチル(セルセプト(R))、シロリムス(ラパミューン(R))、コルチコステロイド(メチルプレドニゾロンまたはプレドニゾン)、抗胸腺細胞グロブリン(ATG)、アレムツズマブ(カンパス(R))の非存在下で方法を実施するある特定の実施形

10

20

30

40

50

態またはシクロホスファミド(サイトキサン(R))。

【0382】

本明細書中に記載される方法および組成物はまた、ある特定の実施形態に、状態調節療法と併用して使用され得る。本明細書中で使用される場合、用語「条件」および「条件調節」は幹細胞、特に造血幹細胞を含む移植片の受容のために、被験体が調製されるプロセスをいう。このような調整方法は、造血幹細胞移植の移植を促進する。条件付け療法は移植を受ける前に患者から軸および/または免疫細胞を選択的に排除する薬剤、例えば、HSCを移植レシピエント(患者)に投与することを含む。例えば、患者は造血幹細胞によって発現される抗原(例えば、CD117またはCD45)に結合し得る抗体またはその抗原結合フラグメントの患者への投与によって、造血幹細胞移植治療のために状態調節され得る。抗体は、ADCを形成するように細胞毒素に共有結合されてもよい。抗体、その抗原結合フラグメント、またはステム上の抗原および/または幹細胞移植を必要とする患者に対する免疫細胞を結合し得る薬剤-抗体結合体(同種幹細胞移植を含む)の投与は例えば、内因性造血幹細胞を選択的に枯渇させることによって、幹細胞移植片の移植を促進し得、それによって、外生的造血幹細胞移植によって満たされた空孔を作製する。ある実施形態に、ヒト患者を造血幹細胞(HSC)移植を受けようとして状態調節する方法を含み、それによって、抗CD117または抗CD45モノクローナル抗体および細胞毒素(例えば、アマトキシン)を含むADCの有効量が移植の前に患者に投与され、ここで、患者はCD134またはCD278のいずれかを発現する活性化T細胞を欠失させるために、状態調節工程の前に、それと同時に、および/またはそれに続いて、抗CD134または抗CD278 ADCも投与される。このような併用療法は移植された同種細胞に対する同種移植片拒絶反応の危険性を低下させるか、または治療することにより、同種移植を支持する。本明細書中に開示される方法および組成物と組合せて使用され得る調整方法の例は米国特許第10,111,966号;国際公開第2017/219025号;および米国特許第2016/0324982号に見出され得、これらの各々は本明細書中に参考として援用される。

【0383】

当業者はヒト患者に、抗体、その抗原結合フラグメント、または本明細書に記載の抗CD134もしくは抗CD278抗体もしくはADCのような、CD134もしくはCD278に結合することができる可溶性リガンドを投与した後、自己免疫病の臨床症状を評価することができる。

【0384】

例

以下の実施例は、本明細書中に記載される組成物および方法がどのように使用され、作製され、そして評価され得るかの記載を当業者に提供するために提示され、そして純粋に本発明の例示であることが意図され、そして本発明者らがそれらの発明とみなす範囲を限定することが意図されない。

【実施例1】

【0385】

休止および活性化T細胞上のCD134の発現

活性化および静止T細胞の両方におけるCD134の発現を測定した。図1に示されるように、活性化から24時間後に、T細胞は、染色された0時間対照(図1、左から最初のパネル)と比較して、CD134(図1、左から3番目のパネル)について56.9%正であった。

【0386】

図2として、3人の健康な供血者制御からの新鮮全血を、調節性T細胞(Treg)上のCD134について評価した。簡単に述べると、50 μ lの全血を96ウェルU底板に添加した。細胞を、ヒトCD3、CD4、CD8、CD25、およびCD134に対する抗体で、4°Cで30分間染色した。赤色細胞を、200 μ Lの溶解バッファー(キアゲン)を添加し、室温で10分間、2回インキュベートすることによって溶解した。細胞をPBS中で1回洗浄し、次いでFix Solution(eBiosciences)を用いて暗所で室温で45分間固定した。細胞をPerm Solution(eBiosciences)で2回洗浄した後、Perm Solution50 μ Lに再懸濁し、FoxP3抗体または関連するアイソタイプ対照で染色した。染色したサンプルを4°Cで30分間インキュベートし、PBSで洗浄し、フローサイトメーターで泳動した。Treg細胞をCD3+CD4+CD25+FoxP3+として測定し、CD134量をマッチ

させたアイソタイプ制御に対してゲートした。

【実施例 2】

【0387】

CD134は活性化T細胞上に発現したが、休止T細胞やTreg上には発現しなかった。

T細胞抗体結合試験

抗CD134抗体を試験し、活性化T細胞に結合できるかどうかを調べた。

図3および4に記載のT細胞結合アッセイは、以下のプロトコールに従って行った。原発性ヒトCD3+ T細胞は末梢血単核細胞からネガティブに選択された。細胞を、抗-CD3/抗-CD28ビーズ(インビトロジェン)で、0.5:1のビーズ:細胞比率で、エィムV媒体中で一晩刺激した。翌日、1ウェルあたり2万個の生存細胞をプレートし、4℃で4時間、一次抗体(抗CD134抗体または抗CD278抗体)の滴定で染色した。一定量の二次抗マウスAF488染色を4℃で30分間添加した。洗浄後、プレートをフローサイトメーター上で流し、AF488チャンネルにおける幾何平均蛍光強度に基づいて結合を決定した。図3に示すように、抗CD134クローン(抗体Ber-ACT35(マウスIgG1))は、活性化T細胞への結合を示した。抗体Ber-ACT35は、マウス抗ヒトCD134抗体である(生物学伝説;カタログ番号350002(2019年1月17日付))。抗CD134抗体443318(ラット抗ヒトCD134抗体(ラットIgG2a);ノブス;カタログ番号MAB3388-SP(2019年1月17日付))および抗CD134抗体7D6(マウス抗ヒトCD134抗体(マウスIgG1);サーモフィッシャーサイエンティフィック、カタログ番号MA5-1648(2019年1月17日付))もまた、ネガティブ・制御レベルを超える活性化T細胞への結合を示した。マウスIgG1およびラットIgG2aをネガティブ・コントロールとして使用し、結合を示さなかった。

【0388】

図4Aは、抗CD278抗体の活性化T細胞への結合を記載する。抗体C398.4A(ハムスター抗ヒトCD278抗体(バイオレジェンド;カタログ番号313502(平成31年1月17日))、抗体ISA-3(マウス抗ヒトCD278抗体;サーモフィッシャー;カタログ番号14-9948-82(平成31年1月17日))、抗体669222(マウス抗ヒトCD278抗体;Novus;カタログ番号MAB6975(平成31年1月17日))、抗体669238(マウス抗ヒトCD278抗体;Novus;カタログ番号MAB69752-SP(平成31年1月17日))、抗体669230(マウスanti-human CD278抗体;Novus;Catalog #MAB69751-SP)、抗CD278抗体DX29(マウスanti-human CD278抗体; BD Biosciences; Catalog #557801(2019年1月17日))、抗体3G4(マウスanti-human Novus; Catalog #H00029851-M02(2019年1月17日))および抗体1G1(マウスanti-human; Novus; Catalog #H00029851-M01(2019年1月17日))。結合は、アイソタイプ対照レベルを超える抗体C398.4A、ISA-3、DX29、および669238で観察される。

【0389】

Figure 4A also includes results for an anti-CD137 antibody ("137-BBK2"), which serves as a positive control because activated T cells are characterized by expression of CD137 on the cell surface. 図4Bは図4Aと同じデーターを示すが、ポジティブ・コントロール、すなわち抗CD45抗体の結果と比較している。活性化されたT細胞は細胞表面上でのCD45の高レベルの発現によって特徴付けられ、したがって、図4Bのデーターは図4Aで使用された結合検定を確認した。図4Cは、抗CD134抗体の活性化T細胞への結合を記載する(これらのデーターが図3中のデーターと同一であることを留意されたい)。図4Dは図3および4Aにおける同じデーターを示すが、ポジティブ・コントロール、すなわち抗CD45抗体からの結果と比較している。活性化されたT細胞は細胞表面上でのCD45の高レベルの発現によって特徴付けられ、したがって、図4Dのデーターは図4Cで使用された結合検定を確認した。

【実施例 3】

【0390】

抗CD134ADCおよび抗CD278ADCは一次ヒトT細胞を殺す

一次ヒトT細胞は、CD134またはCD278を標的とするADCおよび関連制御の存在下で活性化された。試験したADCは陰性のアマニチンヒトIgG1アイソタイプ制御(すなわち、M295)を含み、これは、CD134またはCD278のいずれかに結合しない。MC切断可能リンカー(図5およ

び図6Aでは「hIgG1-アマニチン」と呼ばれる)、MC切断可能リンカーを介してアルファアマニチンに結合した防体Ber-ACT35(図5では「CD134-アマニチン」、図6Aでは「CD134-ACT35-mIgG1-アマニチン」と呼ばれる)、MC切断可能リンカーを介してアルファアマニチンに結合した防体669238(図5では「CD278-アマニチン」、図6Aでは「CD278-669238-mIgG1-アマニチン」と呼ばれる)、および防体であるさらなる防CD278 ADC(すなわちM300)に結合しているMC切断可能リンカーを介してアルファアマニチンに結合したDX29(図6Aにおいて「CD278-DX29-mIgG1-アマニチン」と呼ばれる)。したがって、毒素およびリンカーは、図5および図6Aで試験したADCの間で一般的であった。

【0391】

図5および6のT細胞殺傷試験を以下のように行った:凍結保存された負に選択された一次ヒトT細胞を解凍し、0.5:1のビーズ:細胞比率で抗-CD3/抗-CD28ビーズ(インビトロジェン)で刺激した。アッセイの最初に、384ウェルプレートのウェル当たり 2×10^4 T細胞を播種し、抗体を30nm~0.003nmの間の種々の濃度で細胞に添加した後、37℃および5% CO2を含むインキュベーターに入れた。4日間の培養後、細胞をフロー・サイトメトリーによって分析した。細胞を生存率マーカLive/Dead Yellow(Invitrogen)で染色し、容積測定フローサイトメーターで泳動した。生存、活性化細胞および生存、非活性化細胞の数を、FSC対SSCにより測定した。

【0392】

図5の結果は防CD278-669238-アマニチンADC(すなわち、M301)または防CD134-ACT35-アマニチンADC(すなわち、M299)のいずれかに暴露した場合、生存活性化(爆破)T細胞の数がアイソタイプhIgG1-アマニチンADC制御(すなわち、M295)と比較して劇的に減少したことを示す。このように、CD134-アマニチンおよびCD278-アマニチンADCの両方は、活性化T細胞を用いたin T細胞試験で殺傷を示した。上記のように、hIgG1-アマニチンADC(すなわち、M295)をネガティブ・コントロールとして使用し、さらに、CD134-アマニチンADCおよびCD278-アマニチンADCは、mIgG抗体を含有した。ADCはまた、約40%非共役であった。図6Aの結果は図5に記載したのと同じ結果を再現するが、抗CD278-DX29-アマニチンADC(すなわち、M300)についての結果も含む。これらのデータは抗CD278-DX29-アマニチンADC(すなわち、M300)が同様に活性化T細胞を殺すことができることを実証した。

【0393】

図6Bに示される結果は生存活性化(爆破)T細胞の数がアイソタイプhIgG1-MMAF ADC制御(すなわち、M303)と比較して、抗CD134-ACT35-MMAF ADC(すなわち、M307)、抗CD278-DX29-MMAF ADC(すなわち、M308)、および抗CD278-669238-MMAF ADC(すなわち、M309)への露光時に減少したことを示す。図5および6は一緒になって、本明細書で使用される特異的リンカーを有するアマニチンに結合された抗CD134および抗CD278抗体が、本明細書で使用される特異的リンカーを有するMMAFに結合されたものよりも強力であることを実証する。

【実施例4】

【0394】

Fab-サポリンを用いたT細胞死滅アッセイ

Fab-Saporinと組合せて投与された抗CD134および抗CD278抗体を、実施例3に記載されたプロトコールに従って、T細胞殺菌アッセイにおいて試験した。結果を図7Aおよび7Bに示す。

図7Aに記載される結果は様々な正(すなわち、Fab-SAPとの抗体)および様々なネガティブ・コントロール(すなわち、Fab-SAPとの抗体)を含む。

【表 2】

抗体の説明の鍵は、以下の表に提供される：

サンプルID/M#	mAb/L-Tの説明
M295	hIgGアイソタイプ MC切断可能 α アマニチン
M299	精製抗ヒトCD - 134 (OX40) Be - ACT35 (ACT35) - MC開裂性 α - アマニチン
M300	精製マウス抗ヒトCD278 (mgG1 DX-29) - MC切断可能 α アマニチン
M301	抗ICOS (669238) MA69752-SP-MC-切断可能 α アマニチン
M303	hIgGアイソタイプ-MC-MMAF
M307	精製抗ヒトCD - 134 (OX40) Be - ACT35 (ACT35) - MC - MMAF
M308	精製マウス抗ヒトCD278 (mgG1 DX-29) - MC-MMAF
M309	抗ICOS (669238) MA69752-SP-MC-MMAF

10

【 0 3 9 5 】

20

【表 3】

配列番号	説明	配列
配列番号 1	Human CD134 (NCBI 参照配列 : NP_003318.1)	MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGD TYPNDRCCHCCRPNGMVSRCRSQNTVCRP CGPGFYNDVVSSKPCKPCTWONLRSGSERKQLC TATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGH FSPGDNOACKPWTNCTLAGKHTLOPASNSSDAIC EDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTAWPRTS QGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAIL LALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQA DAHSTLAKI
配列番号 2	Human CD278 (NCBI 参照配列 : NP_036224.1)	MKSGLWYFFFLCLRIKVLTEINGSANYEMFIFHN GGVQILCKYPDIVQQFKMQLLKGGQILCDLTKTGK SGNTVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLDSHAN YYFCNLSIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLK FWLPIGCAAFVVVCILGCILCWLTKKKYSSSVHDP NGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL

30

【他の実施形態】

【 0 3 9 6 】

本明細書において言及される全ての刊行物、特許、および特許出願は、あたかも各独立した刊行物または特許出願が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されたかのように、同じ程度まで、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 3 9 7 】

本発明はその特定の実施形態に関連して説明されてきたが、本発明はさらなる修正が可能であり、本出願は一般に、本発明の原理に従い、本発明が関係する技術内の既知のまたは慣例的な実施の範囲内に入り、本明細書で前述され、特許請求の範囲に従う本質的な特徴に適用され得る本発明からのそのような逸脱を含む、本発明の任意の変形、使用、また

40

50

は適応を包含することが意図されることが理解されるのであろう。

【0398】

他の実施形態は、請求項の範囲内である。

【図1】

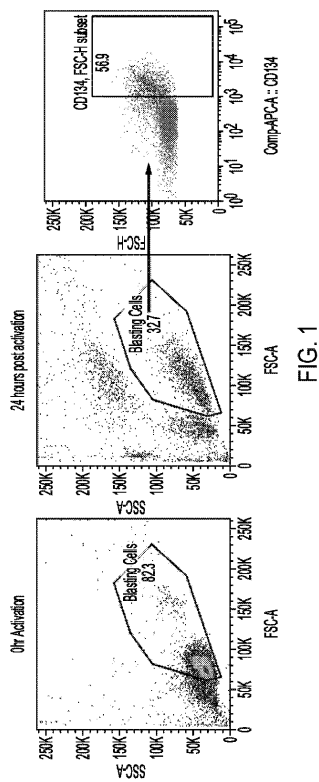


FIG. 1

【図2】

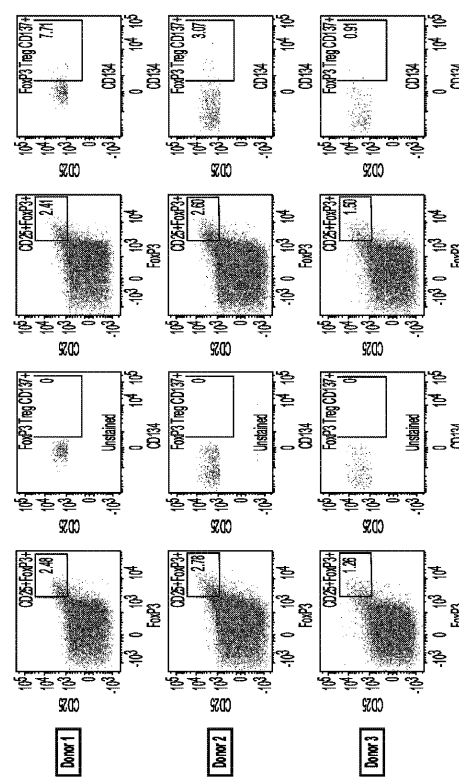
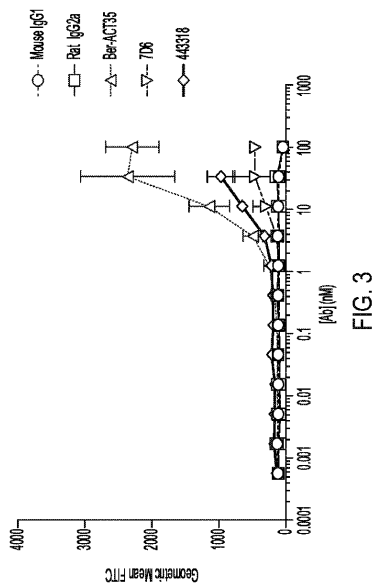
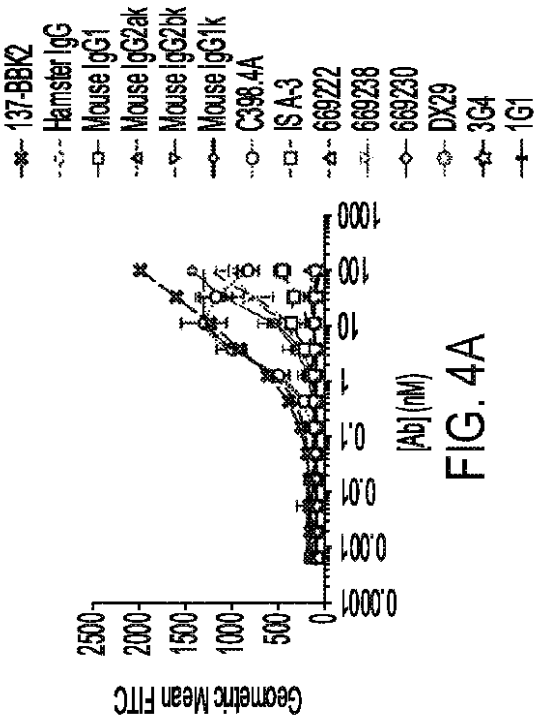


FIG. 2

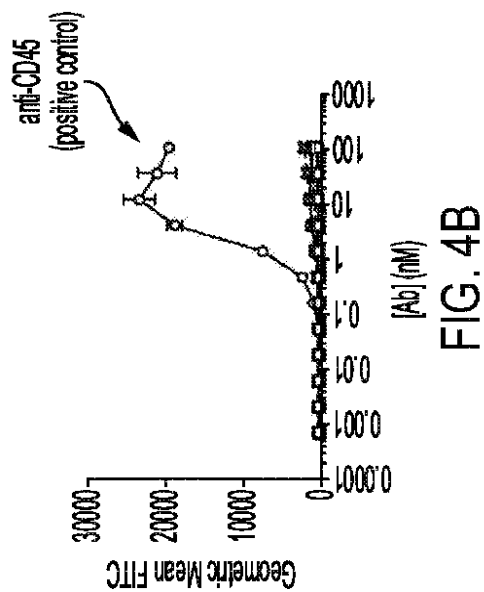
【 図 3 】



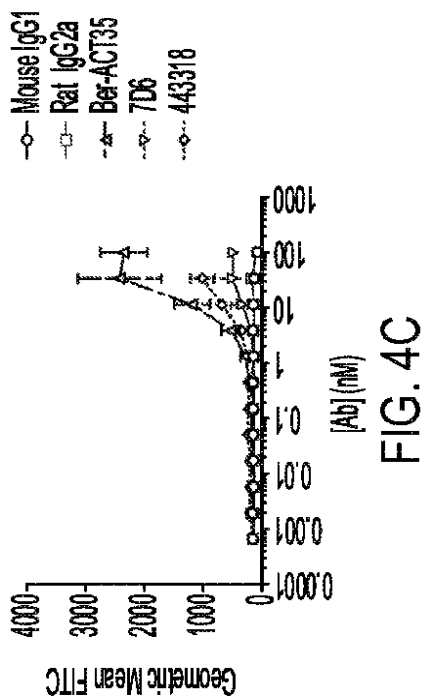
【 図 4 A 】



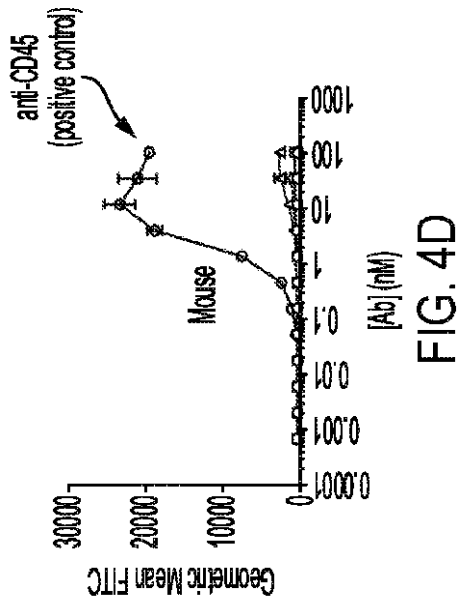
【 図 4 B 】



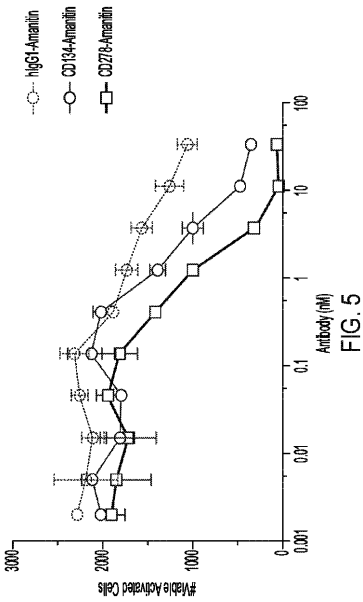
【 図 4 C 】



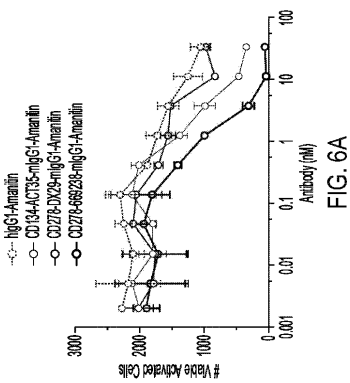
【 図 4 D 】



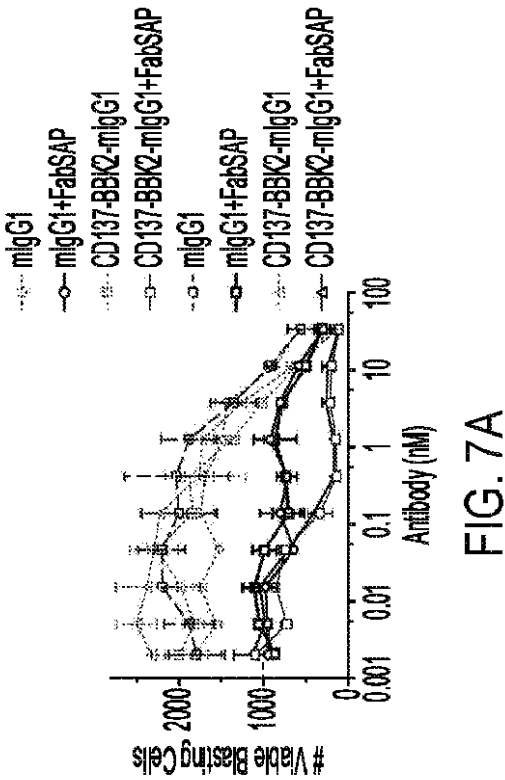
【 図 5 】



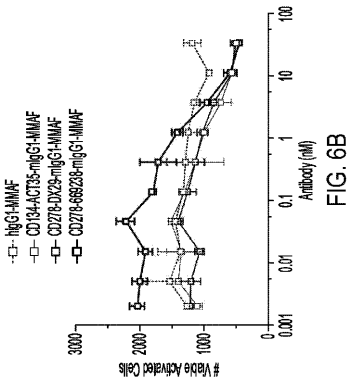
【 図 6 A 】



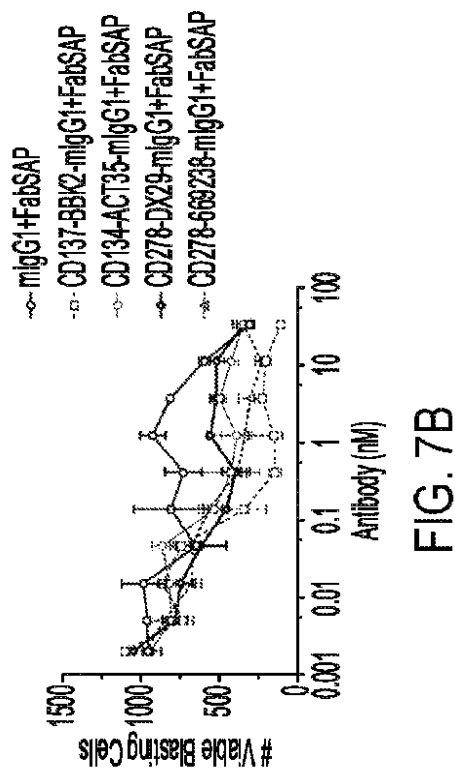
【 図 7 A 】



【 図 6 B 】



【図 7 B】



【誤訳訂正書】

【提出日】 令和2年11月19日 (2020.11.19)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 全文

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本出願は、2018年1月18日に提出された米国仮出願第62/619,106号の優先権を主張する。前述の出願の内容は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【技術分野】

【0002】

本発明は、移植療法の分野に関し、造血細胞によって発現される抗原に結合することができる抗体、抗体-薬物コンジュゲート、およびリガンド-薬物コンジュゲートの投与による自己免疫疾患または移植片対宿主病（GVHD）の処置方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

造血幹細胞は著しい治療可能性を有するが、臨床におけるそれらの使用を妨げている制限は、細胞移植の数日または数週間後の移植片対宿主病（GVHD）の発症である。移植後のGVHDの処置に関してかなりの進歩がなされてきたが、特にGVHDによる死亡率の低下に関して、方法の改善が当技術分野において依然として必要とされている。GVHDの従来の処置には、コルチコステロイドやシクロスポリンなどの強力な薬物による全身免疫抑制療法が必要である。ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン（シロリムス）

、イマチニブ、およびリツキシマブなどの薬剤は、ステロイド不応性GVHD患者に使用される。しかしながら、これらの処置は有効性が制限されており、しばしば深刻な副作用を引き起こす。GVHD患者の50%のみが診断後5年以内に免疫抑制治療を中止することができ、10%は5年を超える継続治療を必要とする。残りの40%は、GVHDが治る前に死亡または再発悪性腫瘍を発症する。ハイリスクGVHD（血小板数<100,000/マイクロリットル、またはGVHDからの進行性発症）の患者の5年生存率は40~50%に過ぎない。このように、GVHDを予防および処置するための革新的戦略の開発は、重要な未充足の臨床的ニーズを表している。

【0004】

GVHDと同様に、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、I型糖尿病などの自己免疫疾患は、正常な自己組織に対する異常な免疫反応を特徴とする。自己免疫疾患は、自己反応性T細胞と宿主組織と反応する抗体（自己抗体）の産生を特徴とする。自己免疫疾患の従来の治療法には、免疫反応を全体的に減弱させる免疫抑制剤がある。このような薬剤の有益性は、日和見感染症に対する感受性、悪性腫瘍の長期リスク、毒性、およびその他の好ましくない副作用によって、しばしば抑制される。したがって、GVHDと自己免疫疾患の両方の細胞性メディエーターをより特異的に標的とする戦略を開発する必要がある。

【発明の概要】

【0005】

本発明は、GVHDおよび自己免疫疾患に関連する罹患率および死亡率を低下させるために、造血幹細胞移植療法を受けているヒト患者などの患者において移植片対宿主病（GVHD）または自己免疫疾患の急性および慢性型を予防および処置するための方法を提供する。さらに、本発明は、とりわけ、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンconi貧血、ウィスコット・アルドリッチ症候群、アデノシンデアミナーゼ欠損症—重症複合免疫不全、異染性白質ジストロフィー、ダイヤモンドブラックファン貧血およびシュワマン—ダイヤモンド症候群、ヒト免疫不全ウイルス感染、ならびに後天性免疫不全症候群などの様々な造血状態を処置するための方法の特徴とする。

【0006】

特定の実施形態において、本明細書に開示される方法および組成物は、同種骨髄移植を受けた（または受けようとする）ヒト患者における同種移植片拒絶を処置または予防するために使用される。

【0007】

本発明は、患者内のT細胞などの造血細胞の集団を枯渇させるために、CD134またはCD278などの造血細胞によって発現されるタンパク質に結合することができる抗体、抗体—薬物コンジュゲート（ADC）、リガンド、およびリガンド—薬物コンジュゲートで患者を処置する方法を特徴とする。このT細胞の選択的枯渇は、GVHDおよび自己免疫疾患を大幅に減少させながら、患者全体的な無再発生存率を向上させる。

【0008】

第1の態様では、本発明は、CD134に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体—薬物コンジュゲート（ADC）の有効量を患者に投与することによって、移植片対宿主病（GVHD）を処置または予防することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を処置または予防する方法を特徴とする。

【0009】

第2の態様では、本発明は、CD134に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体—薬物コンジュゲート（ADC）の有効量を患者に投与することによって、GVHDを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。

【0010】

第3の態様では、本発明は、CD134に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体—薬物コンジュゲート（ADC）の有効量を患者に投与す

ることによって、自己免疫疾患を処置することを必要とするヒト患者において自己免疫疾患を処置する方法を特徴とする。

【0011】

第4の態様では、本発明は、CD134に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。

【0012】

別の態様では、本発明は、CD134に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、同種移植片拒絶を処置または予防することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置または予防する方法を特徴とする。特定の実施形態では、前記同種移植片拒絶は、宿主対移植片病(HvGD)である。

【0013】

別の態様では、本発明は、CD134に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、同種移植片拒絶を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とする。特定の実施形態では、前記同種移植片拒絶は、宿主対移植片病(HvGD)である。

【0014】

別の態様では、本発明は、CD278に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、GVHDを処置または予防することを必要とするヒト患者においてGVHDを処置または予防する方法を特徴とする。

【0015】

別の態様では、本発明は、CD278に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、GVHDを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とする。

【0016】

別の態様では、本発明は、CD278に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、自己免疫疾患を処置することを必要とするヒト患者において自己免疫疾患を処置する方法を特徴とする。

【0017】

別の態様では、本発明は、CD278に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とする。

【0018】

別の態様では、本発明は、CD278に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、同種移植片拒絶を処置または予防することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置または予防する方法を特徴とする。特定の実施形態では、前記同種移植片拒絶は、宿主対移植片病(HvGD)である。

【0019】

別の態様では、本発明は、CD278に結合することができる抗体、またはその抗原結合フラグメント、または抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の有効量を患者に投与することによって、同種移植片拒絶を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法の特徴とする。特定の実施形態では、前記同種

移植片拒絶は、宿主対移植片病（H v G D）である。

【0020】

いくつかの実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメント、または抗体－薬物コンジュゲートはヒトC D 1 3 4に結合し、そのヒトC D 1 3 4のアミノ酸配列は以下に提供される（N C B I 参照配列：N P __ 0 0 3 3 1 8 . 1）：

MCVGARRLGR GPCAALLLLG LGLSTVTGLH CVGDTYPSND RCCHECRPGN
GMVSRCSRSQNTVCRPCGPG FYNDVVSSKP CKPCTWCNLR SGSERKQLCT ATQDTVCRCR
AGTQPLDSYKPGVDCAPCPP GHFSPGDNQA CKPWTNCTLA GKHTLQPASN SSDAICEDRD
PPATQPQETQGPPARPITVQ PTEAWPRTSQ GPSTRPVEVP GGRAVAAILG LGLVLGLLGP
LAILLALYLLRRDQRLPPDA HKPPGGGSFR TPIQEEQADA HSTLAKI: (配列番号 1)

【0021】

いくつかの実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメント、または抗体－薬物コンジュゲートはヒトC D 2 7 8に結合し、そのヒトC D 2 7 8のアミノ酸配列は以下に提供される（N C B I 参照配列：N P __ 0 3 6 2 2 4 . 1）：

MKSGLWYFFLFCLRIKVLGTGEINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPDIVQQFKMQL
LKGGQILCDLTCTKSGSNTVSIKSLKFCHSLSNNSVSFFLYNLDHSHANYFC
NLSIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLPICAAAFVVVCILGCILICWLT
KKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL (配列番号 2)

【0022】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 1 3 4もしくは抗C D 2 7 8抗体、またはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメント、ポリクローナル抗体またはその抗原結合フラグメント、ヒト化抗体またはその抗原結合フラグメント、二重特異性抗体またはその抗原結合フラグメント、二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖F v分子（s c F v）、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキャフォールド、F vフラグメント、F a bフラグメント、F（a b'）₂分子、およびタンデムd i－s c F vからなる群から選択される。別の実施形態では、前記抗C D 1 3 4もしくは抗C D 2 7 8抗体、またはその抗原結合フラグメントはI g Gであり、ヒトI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4アイソタイプF cドメインを含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 1 3 4抗体または抗C D 2 7 8抗体は、I g G、I g A、I g M、I g D、およびI g Eからなる群から選択されるアイソタイプを有する。

【0024】

いくつかの実施形態では、前記F cドメインは、ヒトI g G 1アイソタイプF cドメインである。いくつかの実施形態では、前記F cドメインは、ヒトI g G 2アイソタイプF cドメインである。いくつかの実施形態では、前記F cドメインは、ヒトI g G 3アイソタイプF cドメインである。いくつかの実施形態では、前記F cドメインは、ヒトI g G 4アイソタイプF cドメインである。

【0025】

別の態様では、本発明は、G V H Dを処置することを必要とするヒト患者においてG V H Dを処置する方法であって、抗C D 1 3 4 A D Cの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0026】

別の態様では、本発明は、GVHDを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、抗CD134または可溶性CD134リガンドの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0027】

別の態様では、本発明は、自己免疫疾患を処置することを必要とするヒト患者において自己免疫疾患を処置する方法であって、抗CD134ADCまたは可溶性CD134リガンドの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0028】

別の態様では、本発明は、自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、抗CD134ADCまたは可溶性CD134リガンドの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0029】

別の態様では、本発明は、GVHDを処置することを必要とするヒト患者においてGVHDを処置する方法であって、抗CD278ADCの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0030】

別の態様では、本発明は、GVHDを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、抗CD278ADCの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0031】

別の態様では、本発明は、自己免疫疾患を処置することを必要とするヒト患者において自己免疫疾患を処置する方法であって、抗CD278ADCの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0032】

別の態様では、本発明は、自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法であって、抗CD278ADCの有効量を前記患者に投与することを含む、方法の特徴とする。

【0033】

別の態様では、本発明は、同種移植を受けたヒト患者においてアロ反応性T細胞を枯渇させる方法であって、前記方法は、アロ反応性T細胞が枯渇するように抗CD134ADC（または抗CD278ADC）を前記ヒト患者に投与することを含み、前記ADCは、細胞毒素にコンジュゲートされた抗CD134抗体（または抗CD278抗体）を含む、方法の特徴とする。いくつかの実施形態では、前記移植は、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植である。いくつかの実施形態では、前記移植は造血細胞を含む。いくつかの実施形態では、前記造血幹細胞またはその子孫は、前記造血幹細胞の前記患者への移植から2日以上経過した後、造血幹細胞としての機能的ポテンシャルを維持する。いくつかの実施形態では、前記細胞毒素はRNAポリメラーゼ阻害剤である。他の実施形態では、前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである。

【0034】

いくつかの実施形態では、前記抗体（例えば、抗CD134抗体または抗CD278抗体）またはその抗原結合フラグメントは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤などの細胞毒素にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体またはその抗原結合フラグメント、または可溶性CD134もしくはCD278リガンドは、リンカーを介して微小管結合剤にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体またはその抗原結合フラグメント、または可溶性CD134もしくはCD278リガンドは、リンカーを介してRNAポリメラーゼ阻害剤にコンジュゲートされている。

【0035】

いくつかの実施形態では、前記微小管結合剤は、メイタンシンまたはメイタンシノイドである。

【0036】

いくつかの実施形態では、前記メイタンシノイドは、DM1、DM3、およびDM4、ならびにメイタンシノールからなる群から選択される。

【0037】

いくつかの実施形態では、前記メイタンシノイドはメイタンシノール類似体である。

【0038】

いくつかの実施形態では、前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである。

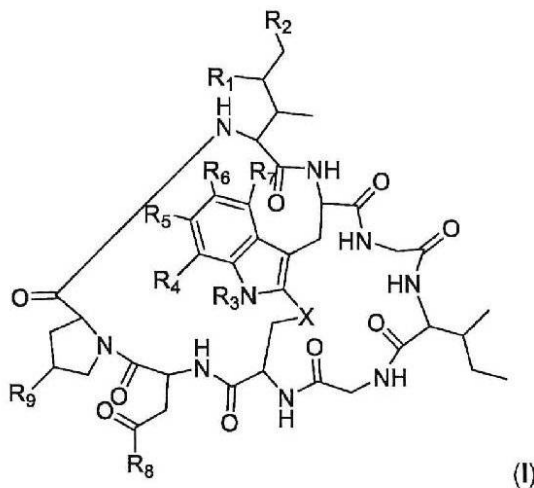
【0039】

上記態様のいずれかのいくつかの実施形態では、前記細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体、例えば、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンである。一実施形態では、前記細胞毒素はアマニチンである。上記態様のいずれかのいくつかの実施形態では、前記細胞毒素はアマトキシンであり、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーおよび化学部分を介して前記アマトキシンのコンジュゲートされて、式Ab-Z-L-Amで表されるADCを形成する（式中、Abは前記抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンである。）。

【0040】

いくつかの実施形態では、前記アマトキシンはリンカーにコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、前記アマトキシン-リンカーコンジュゲートAm-L-Zは、式(I)で表される：

【化1】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である」。

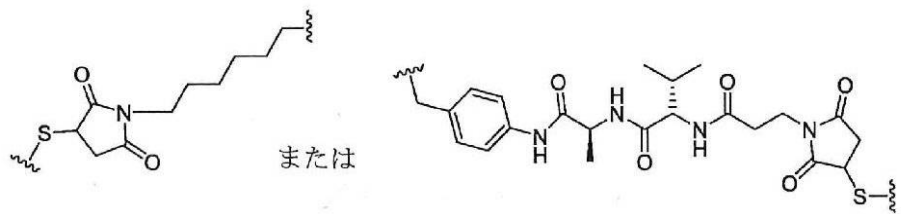
【0041】

いくつかの実施形態では、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む。

【0042】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、 $L-Z$ としてまとめて、

【化2】

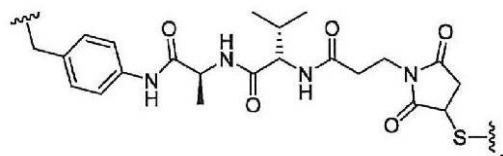


であり、上記式において、Sは、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す（例えば、システイン残基の $-SH$ 基由来の）硫黄原子である。

【0043】

いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化3】

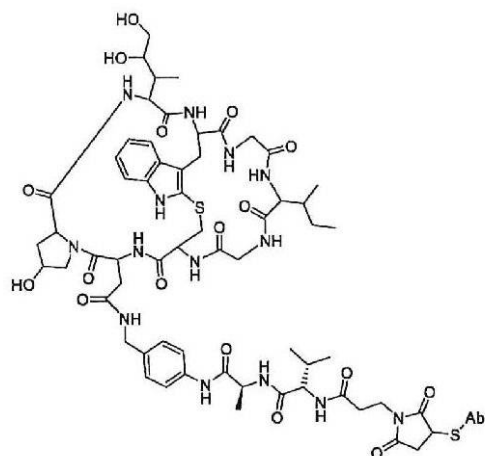


である。

【0044】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z-Ab$ は、

【化 4】

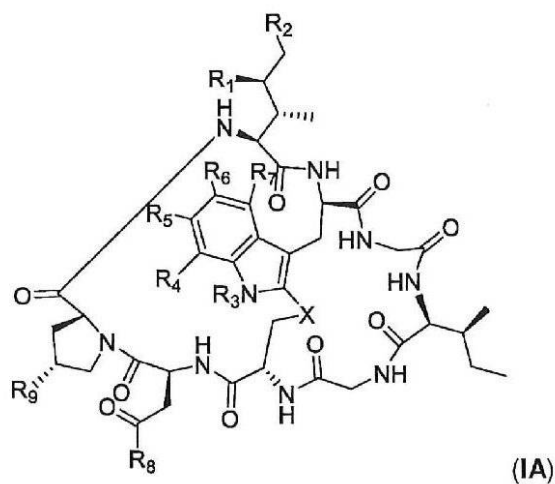


である。

【0045】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）で表される：

【化 5】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2

—C₆ヘテロアルケニル)、任意に置換されたアルキニル(例えば、C₂—C₆アルキニル)、任意に置換されたヘテロアルキニル(例えば、C₂—C₆ヘテロアルキニル)、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり;

Lは、任意に置換されたアルキレン(例えば、C₁—C₆アルキレン)、任意に置換されたヘテロアルキレン(例えば、C₁—C₆ヘテロアルキレン)、任意に置換されたアルケニレン(例えば、C₂—C₆アルケニレン)、任意に置換されたヘテロアルケニレン(例えば、C₂—C₆ヘテロアルケニレン)、任意に置換されたアルキニレン(例えば、C₂—C₆アルキニレン)、任意に置換されたヘテロアルキニレン(例えば、C₂—C₆ヘテロアルキニレン)、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、—(C=O)—、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり;

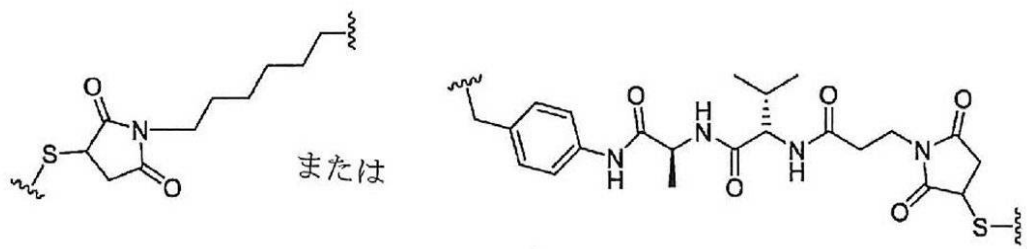
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり; ならびに

式中、Amは、ちょうど1つのR_C置換基を含む]。

【0046】

いくつかの実施形態では、リンカーLと化学部分Zは、L—Zとしてまとめて、

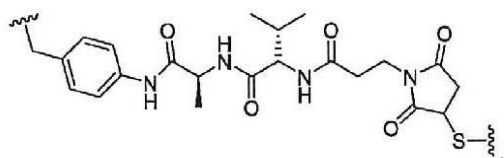
【化6】



である。

いくつかの実施形態では、L—Zは、

【化7】

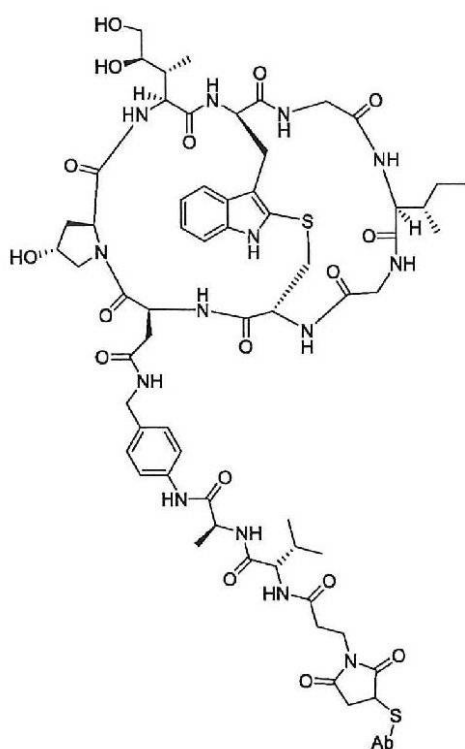


である。

【0047】

いくつかの実施形態では、Am—L—Z—Abは、

【化 8】

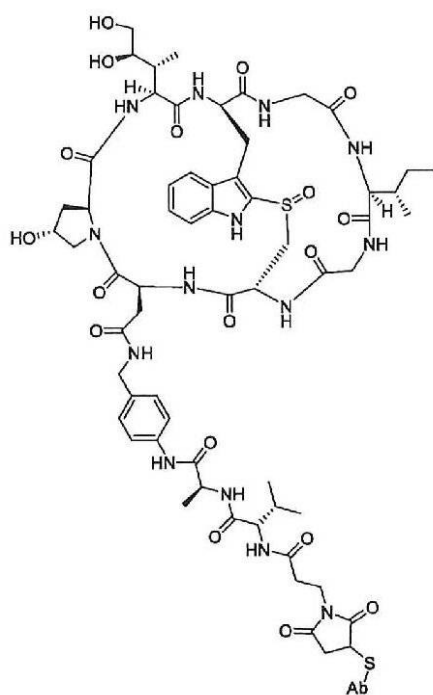


である。

【 0 0 4 8】

いくつかの実施形態では、A m - L - Z - A b は、

【化 9】

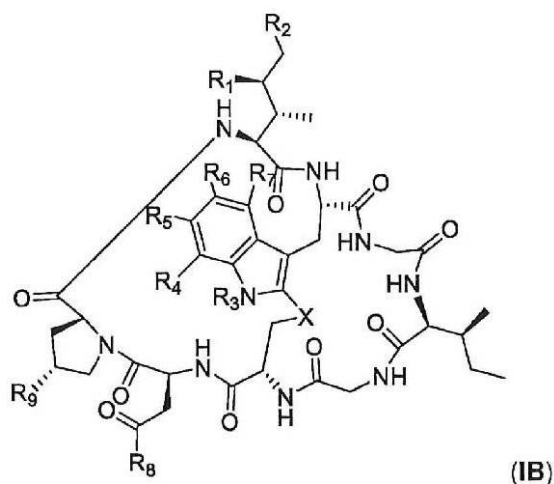


である。

【0049】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IB）で表される：

【化10】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり；ならびに

式中、 A_m は、ちょうど1つの R_C 置換基を含む】。

【0050】

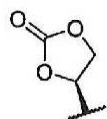
いくつかの実施形態では、 A_m-L-Z は、式(I)、式(IA)、または式(IB)で表され、

式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し：

【化11】



R_3 は、Hまたは R_C であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり；

R_9 は、HまたはOHであり；ならびに

式中、X、 R_C 、および R_D は、それぞれ上記で定義したとおりである。

【0051】

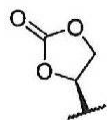
いくつかの実施形態では、 A_m-L-Z は、式(I)、式(IA)、または式(IB)で表され、

式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し：

【化12】



R_3 は、Hまたは R_C であり；

R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 R_C 、または OR_D であり；

R_6 および R_7 は、それぞれHであり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり；

R_9 は、HまたはOHであり；ならびに

式中、Xおよび R_C は、上記で定義したとおりである。

【0052】

いくつかの実施形態では、 A_m-L-Z は、式(I)、式(IA)、または式(IB)で表され、

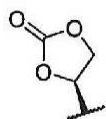
式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり；

R_2 は、H、OH、または OR_B であり；

R_A および R_B は、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形

成し：

【化 1 3】



R_3 、 R_4 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり；

R_5 は OR_C であり；

R_8 は、OH または NH_2 であり；

R_9 は、H または OH であり；ならびに

式中、X および R_C は、上記で定義したとおりである。

【0053】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA)、または式 (IB) で表され、

式中、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、H または OH であり；

R_3 は R_C であり；

R_4 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり；

R_5 は H、OH、または OC_1-C_6 アルキルであり；

R_8 は、OH または NH_2 であり；

R_9 は、H または OH であり；ならびに

式中、X および R_C は、上記で定義したとおりである。

【0054】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA)、または式 (IB) で表され、

式中、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、H または OH であり；

R_3 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり；

R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、または R_C であり；

R_8 は、OH または NH_2 であり；

R_9 は、H または OH であり；ならびに

式中、X および R_C は、上記で定義したとおりである。

【0055】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA)、または式 (IB) で表され、

式中、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、H または OH であり；

R_3 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり；

R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H または OH であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり；

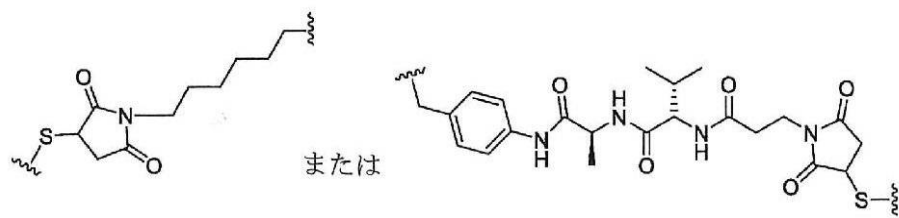
R_9 は、H または OH であり；ならびに

式中、X および R_C は、上記で定義したとおりである。

【0056】

いくつかの実施形態では、リンカー L と化学部分 Z は、 $L-Z$ としてまとめて、

【化 1 4】

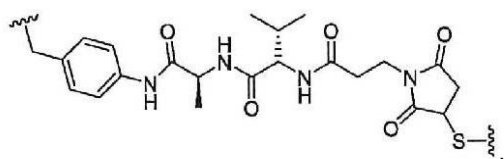


である。

【0057】

いくつかの実施形態では、L-Zは、

【化 1 5】

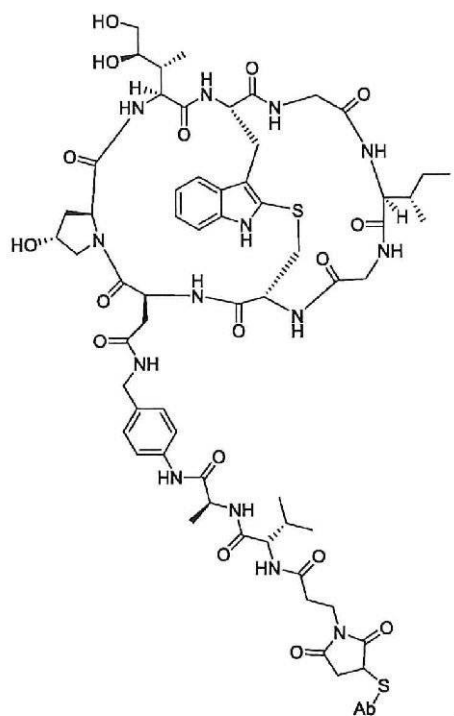


である。

【0058】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、

【化 1 6】

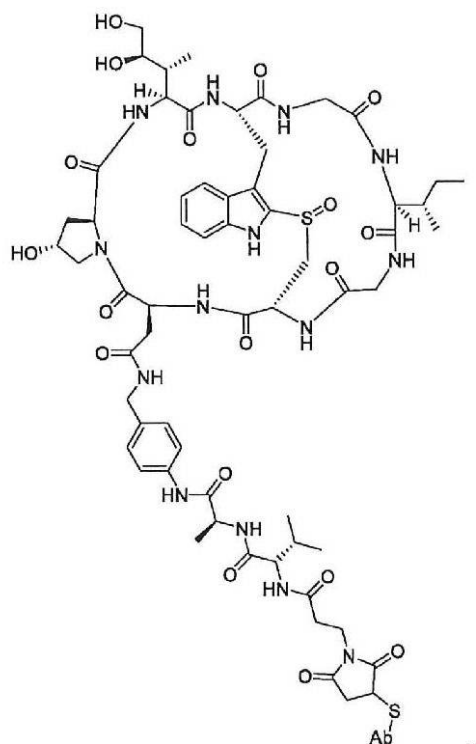


である。

【0059】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、

【化 1 7】

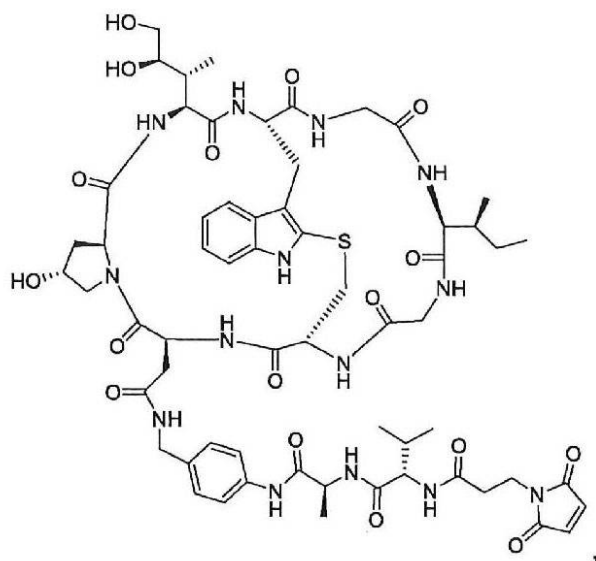


である。

【0060】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Ab前駆体は、

【化 1 8】

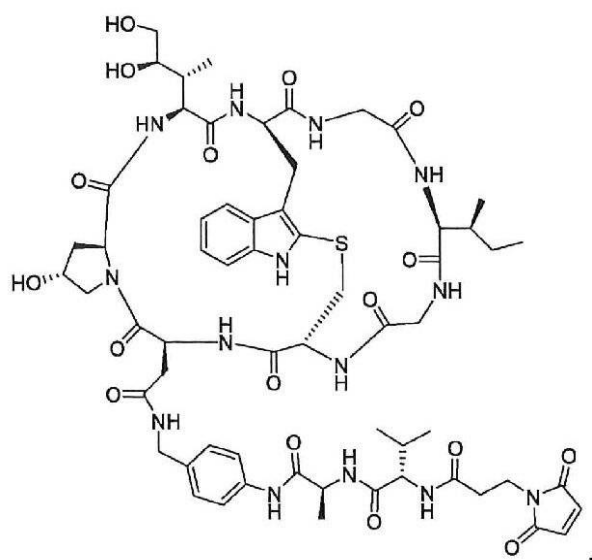


であり、ここで、マレイミドは、抗体中のシステイン上にあるチオール基と反応する。

【0061】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Ab前駆体は、

【化 1 9】

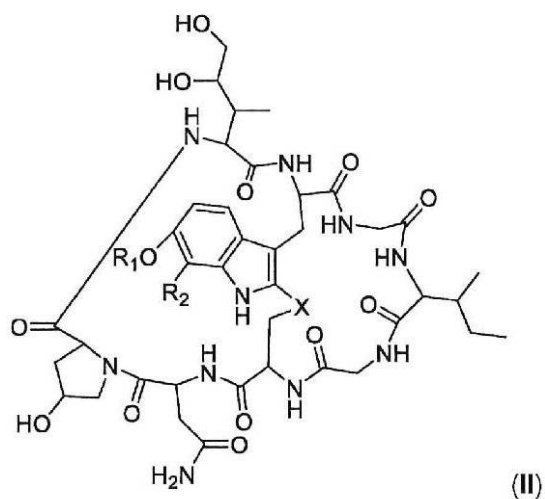


であり、ここで、マレイミドは、抗体中のシステイン上にあるチオール基と反応する。

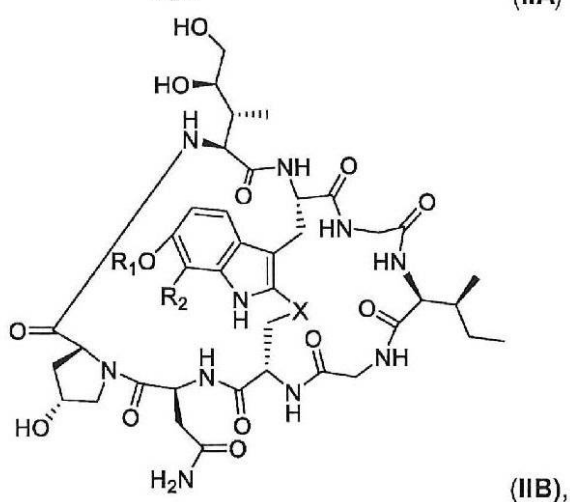
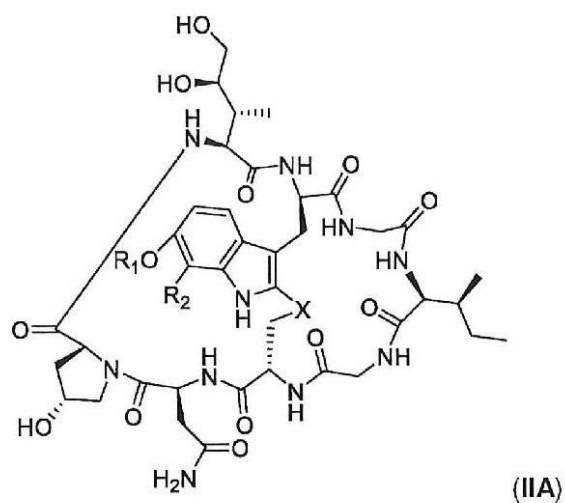
【0062】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（I I）、式（I I A）、または式（I I B）で表される：

【化 2 0】



【化 2 1】



〔式中、Xは、S、SO、またはSO₂であり；

R₁はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；ならびに

R₂はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；

ここで、R₁がHである場合、R₂が前記リンカーであり、R₂がHである場合、R₁が前記リンカーである〕。

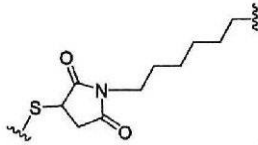
【0063】

いくつかの実施形態では、リンカーは、—(CH)_{2n}—単位を含み、ここでnは2～6の整数である。

【0064】

いくつかの実施形態では、R₁はリンカーであり、R₂はHであり、リンカーおよび化学部分は、L—Zとしてまとめて、

【化 2 2】

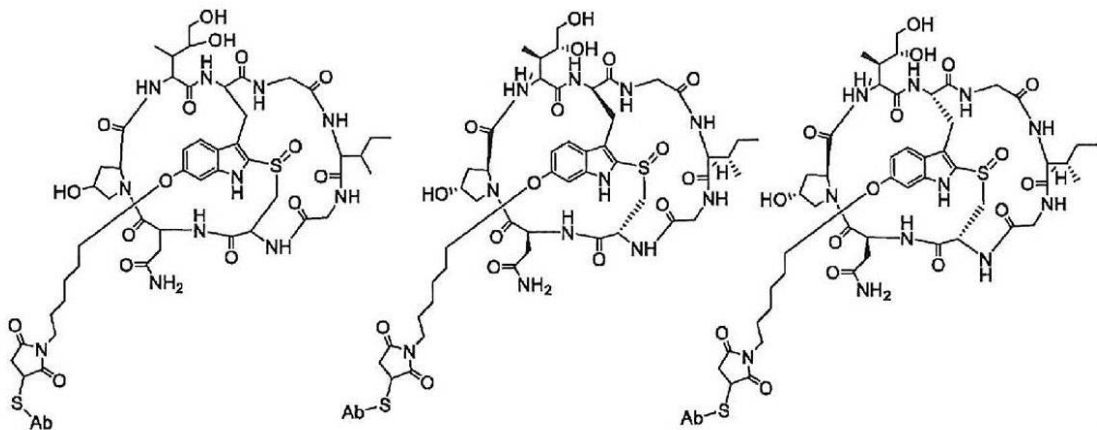


である。

【0065】

いくつかの実施形態では、 $A m - L - Z - A b$ は、以下のうちの1つである。

【化 2 3】



【0066】

いくつかの実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、患者に投与される。

【0067】

いくつかの実施形態では、微小管結合剤などの細胞毒素にコンジュゲートされた前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、造血幹細胞を患者に投与する約3日（例えば、約1時間～約7日（例：約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日））前に、患者に投与される。

【0068】

いくつかの実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、患者に投与される。

【0069】

いくつかの実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、患者に投与される。

【0070】

いくつかの実施形態では、（例えば、微小管結合剤などの細胞毒素にコンジュゲートされた）前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与後、約1時間～10日（例：約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）以上で患者に投与される。例えば、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、抗体－薬物コンジュゲートは、移植後約3～4日で投与され得る。

【0071】

いくつかの実施形態では、前記移植は同種移植である。いくつかの実施形態では、前記移植は自己移植である。

【0072】

いくつかの実施形態では、前記移植は、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植である。

【0073】

いくつかの実施形態では、前記移植は造血細胞（例えば、造血幹細胞）を含む。

【0074】

いくつかの実施形態では、前記造血幹細胞またはその子孫は、前記造血幹細胞の前記患者への移植から2日以上経過した後、造血幹細胞としての機能的ポテンシャルを維持する。

【0075】

いくつかの実施形態では、前記造血幹細胞またはその子孫は、前記造血幹細胞の前記患者への移植から2日以上（例：約2～約5日、約2～約7日、約2～約20日、約2～約30日、例えば、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、またはそれ以上）経過した後、造血幹細胞としての機能的ポテンシャルを維持する。

【0076】

いくつかの実施形態では、前記造血幹細胞またはその子孫は、前記造血幹細胞の前記患者への移植後、骨髓などの造血組織に局在することができ、かつ／または血球新生を再確立することができる。

【0077】

いくつかの実施形態では、前記患者への移植時に、前記造血幹細胞は、巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、T細胞、およびB細胞からなる群から選択される細胞集団の回復を引き起こす。

【0078】

いくつかの実施形態では、前記移植は白血球を含む。

【0079】

いくつかの実施形態では、前記患者への移植時に、前記造血細胞は、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。

【0080】

いくつかの実施形態では、前記患者への移植時に、前記白血球は、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。

【0081】

いくつかの実施形態では、前記CD134+細胞は、活性化T細胞、B細胞、樹状細胞、NK細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、前記細胞は患者の抗原に対する反応性を示す。いくつかの実施形態では、前記CD278+細胞は、活性化T細胞、B細胞、樹状細胞、NK細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、接触するとT細胞により内在化される。他の実施形態では、前記抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、T細胞の死を促進するか、またはT細胞の増殖を抑制する。

【0082】

いくつかの実施形態では、本発明は、CD134に結合することができ、かつ微小管結合剤などの細胞毒素にコンジュゲートされた抗体もしくは抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドの有効量を患者に投与することによって、GVHDを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記CD134+細胞を含む造血細胞は、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される、方法を提供する。

【0083】

いくつかの実施形態では、本発明は、CD278に結合することができ、かつ微小管結合剤などの細胞毒素にコンジュゲートされた抗体もしくは抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD278リガンドの有効量を患者に投与することによって、GVHDを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記CD278+細胞を含む造血細胞は、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択される、方法を提供する。

【0084】

いくつかの実施形態では、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択されるCD134+細胞は、患者の抗原に対する反応性を示す。

【0085】

いくつかの実施形態では、T細胞、B細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、癌細胞、好中球、好塩基球、および好酸球からなる群から選択されるCD278+細胞は、患者の抗原に対する反応性を示す。

【0086】

いくつかの実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、前記患者への投与後にCD134+細胞により内在化される。例えば、前記抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD134リガンドは、受容体媒介エンドサイトーシスによって（例えば、細胞表面CD134に結合すると）、CD134+T細胞により内在化され得る。いくつかの実施形態では、前記抗CD134抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCに共有結合した細胞毒素は、化学的切断（例えば、本明細書に記載のリンカーの酵素的または非特異的切断）によって細胞内に放出され得る。次いで、前記細胞毒素は、CD134+T細胞の死を促進するために、その細胞内標的（とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核DNA、リボソームRNA、またはトポイソメラーゼなど）にアクセスすることができる。

【0087】

いくつかの実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD278リガンドは、前記患者への投与後にCD278+細胞により内在化される。例えば、前記抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性CD278リガンドは、受容体媒介エンドサイトーシスによって（例えば、細胞表面CD278に結合する

と)、C D 2 7 8 + T細胞により内在化され得る。いくつかの実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、またはA D Cに共有結合した細胞毒素は、化学的切断(例えば、本明細書に記載のリンカーの酵素的または非特異的切断)によって細胞内に放出され得る。次いで、前記細胞毒素は、C D 2 7 8 + T細胞の死を促進するために、その細胞内標的(とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核D N A、リボソームR N A、またはトポイソメラーゼなど)にアクセスすることができる。

【0088】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 1 3 4抗体、その抗原結合フラグメント、またはA D C、または可溶性C D 1 3 4リガンドは、(例えば、微小管の動的不安定性を抑制することによって)C D 1 3 4 + T細胞の有糸分裂停止を促進し、その増殖を抑制することができる。他の実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、またはA D C、または可溶性C D 2 7 8リガンドは、(例えば、微小管の動的不安定性を抑制することによって)C D 2 7 8 + T細胞の有糸分裂停止を促進し、その増殖を抑制することができる。

【0089】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 1 3 4抗体、その抗原結合フラグメント、A D C、または可溶性C D 1 3 4リガンドは、患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球をリクルートすることによって、細胞死を促進することができる。いくつかの実施形態では、前記リクルートはT細胞へのものである。いくつかの実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、A D C、または可溶性C D 2 7 8リガンドは、患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球をリクルートすることによって、細胞死を促進することができる。いくつかの実施形態では、前記リクルートはT細胞へのものである。

【0090】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 1 3 4抗体、その抗原結合フラグメント、A D C、または可溶性C D 1 3 4リガンドは、患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球をリクルートすることによって、C D 1 3 4 + T細胞の死を促進することができる。いくつかの実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、A D C、または可溶性C D 2 7 8リガンドは、患者への投与時に、1つ以上の補体タンパク質、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、および/または好酸球をリクルートすることによって、C D 2 7 8 + T細胞の死を促進することができる。

【0091】

いくつかの実施形態では、前記抗体またはその抗原結合フラグメント、抗体-薬物コンジュゲート、または可溶性C D 1 3 4リガンドは、T細胞またはB細胞駆動型の自己免疫疾患を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、前記自己免疫疾患は、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、またはI型糖尿病である。

【0092】

いくつかの実施形態では、本発明は、微小管結合剤などの細胞毒素にコンジュゲートされた抗体または抗原結合フラグメントの有効量を患者に投与することによって、G V H Dを患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてC D 2 7 8 + 細胞の集団を枯渇させる方法を提供する。特定の実施形態では、前記造血細胞はT細胞を含む。

【0093】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、またはA D Cは、前記患者への投与後にC D 2 7 8 + 細胞により内在化される。例えば、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、A D Cは、受容体媒介エンドサイトーシスによって(例えば、細胞表面C D 2 7 8に結合すると)、C D 2 7 8 + T細胞により内在化され得る。いくつかの実施形態では、前記抗体、その抗原結合フラグメント、またはA D Cに共有結合した細胞毒素は、化学的切断(例えば、本明細書に記載のリンカーの酵素

的または非特異的切断)によって細胞内に放出され得る。次いで、前記細胞毒素は、C D 2 7 8 + T細胞の死を促進するために、その細胞内標的(とりわけ、有糸分裂紡錘体装置、核DNA、リボソームRNA、またはトポイソメラーゼなど)にアクセスすることができる。

【0094】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCは、(例えば、微小管の動的不安定性を抑制することによって)C D 2 7 8 + T細胞の有糸分裂停止を促進し、その増殖を抑制することができる。

【0095】

いくつかの実施形態では、前記抗C D 2 7 8抗体またはその抗原結合フラグメント、抗体-薬物コンジュゲート、またはそのADCは、T細胞またはB細胞駆動型の自己免疫疾患を処置するために使用される。

【0096】

いくつかの実施形態では、前記方法は、造血幹細胞を含む移植を受けた患者などの患者において1つ以上の障害または癌を処置するために使用される。例えば、前記患者は幹細胞障害を患っているものであり得る。いくつかの実施形態では、前記患者は、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンconi貧血、およびウィスコット・アルドリッチ症候群などのヘモグロビン症障害を患っている。前記患者は、先天性免疫不全障害または後天性免疫不全障害(例えば、ヒト免疫不全ウイルス性または後天性免疫不全症候群)などの免疫不全障害を患っている可能性がある。いくつかの実施形態では、前記患者は、糖原蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴリビドーシス、および異染性白質ジストロフィーなどの代謝障害を患っている。いくつかの実施形態では、前記患者は、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫および骨髄異形成症候群、ならびに神経芽細胞腫などの癌を患っている。いくつかの実施形態では、前記患者は、アデノシンデアミナーゼ欠損症および重症複合免疫不全、高免疫グロブリンM症候群、チェディアック・東病、遺伝性リンパ組織球増殖症、大理石骨病、骨形成不全症、貯蔵病、サラセミアメジャー、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、および若年性関節リウマチからなる群から選択される障害を患っている。いくつかの実施形態では、前記患者は造血幹細胞の集団を含む移植を受けた。他の実施形態では、前記方法は癌の障害を処置する。

【0097】

さらなる態様では、本発明は、移植片対宿主病(GVHD)を処置、予防または軽減することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病(GVHD)を処置、予防または軽減する方法であって、前記方法は、GVHDが予防されるように抗C D 1 3 4抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を前記ヒト患者に投与することを含み、前記ADCは、細胞毒素に結合した抗C D 1 3 4抗体を含む、方法の特徴とする。一実施形態では、前記細胞毒素は、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらに別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間~約10日(例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日)後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3~4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。他の実施形態では、前記移植は同種移植

である。

【0098】

さらに別の実施形態では、本発明は、GVHDを有するかまたはGVHDを発症するリスクがあるヒト対象においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記CD134細胞の集団が枯渇するように抗CD134ADCを前記ヒト患者に投与することを含み、前記ADCは、細胞毒素に結合した抗CD134抗体を含む、方法の特徴とする。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらに別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。他の実施形態では、前記移植は同種移植である。

【0099】

さらなる態様では、本発明は、移植片対宿主病（GVHD）を処置、予防または軽減することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を処置、予防または軽減する方法であって、前記方法は、GVHDが予防されるように抗CD278抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を前記ヒト患者に投与することを含み、前記ADCは、細胞毒素に結合した抗CD278抗体を含む、方法の特徴とする。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらに別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。他の実施形態では、前記移植は同種移植である。

【0100】

さらに別の実施形態では、本発明は、GVHDを有するかまたはGVHDを発症するリスクがあるヒト対象においてCD278+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記CD278細胞の集団が枯渇するように抗CD278ADCを前記ヒト患者に投与することを含み、前記ADCは、細胞毒素に結合した抗CD278抗体を含む、方法の特徴とする。一実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与するこ

とを含む。別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらに別の実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日（例えば、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約10時間、約11時間、約12時間、約13時間、約14時間、約15時間、約16時間、約17時間、約18時間、約19時間、約20時間、約21時間、約22時間、約23時間、約24時間、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、または約10日）後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。さらなる実施形態では、前記方法は、前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む。他の実施形態では、前記移植は同種移植である。

【0101】

さらに別の態様では、本発明は、GVHDが処置されるように抗CD134抗体－薬物コンジュゲート（ADC）をヒト患者に投与することによって、同種移植片拒絶を処置することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置する方法であって、前記ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗CD134抗体を含む、方法の特徴とする。

【0102】

さらに別の態様では、本発明は、GVHDが処置されるように抗CD278抗体－薬物コンジュゲート（ADC）をヒト患者に投与することによって、同種移植片拒絶を処置することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置する方法であって、前記ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗CD278抗体を含む、方法の特徴とする。

【0103】

さらに別の態様では、本発明は、CD134細胞の集団が枯渇するように抗CD134ADCをヒト患者に投与することによって、同種移植片拒絶を有するかまたは同種移植片拒絶を発症するリスクがあるヒト対象においてCD134＋細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗CD134抗体を含む、方法の特徴とする。

【0104】

さらに別の態様では、本発明は、CD278細胞の集団が枯渇するように抗CD278ADCをヒト患者に投与することによって、同種移植片拒絶を有するかまたは同種移植片拒絶を発症するリスクがあるヒト対象においてCD134＋細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗CD278抗体を含む、方法の特徴とする。

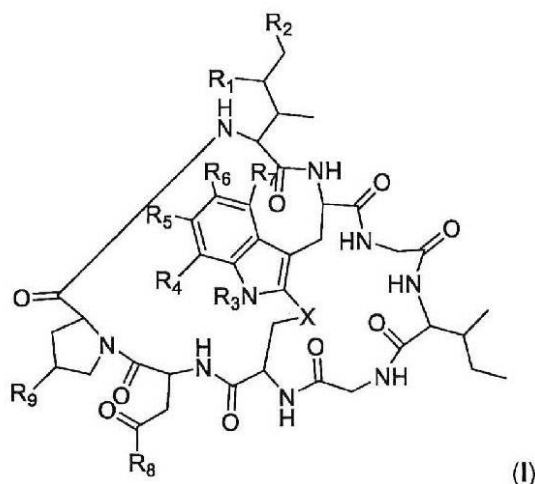
【0105】

さらに別の態様では、本発明は、ペプチドリinkerを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗CD134抗体（または抗CD278抗体）を含む抗体－薬物コンジュゲート（ADC）であって、前記細胞毒素は微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である、抗体－薬物コンジュゲート（ADC）を特徴とする。いくつかの実施形態では、前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシシンである。他の実施形態では、前記アマトキシシンはアマニチンである。さらに他の実施形態では、前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される。

【0106】

特定の実施形態では、本発明のADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、Abは抗CD278抗体（または抗CD134抗体）であり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシシンであり、Am-L-Zは式（I）で表される：

【化 2 4】



(I)

[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

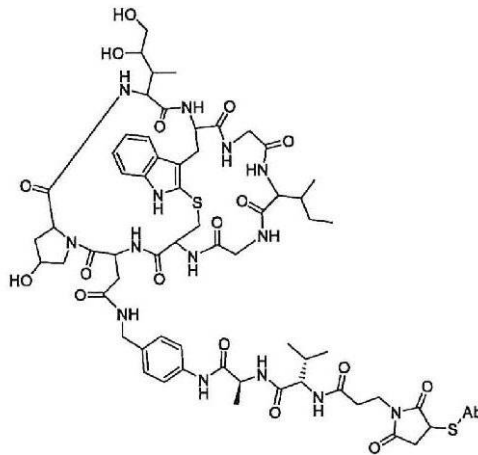
R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；ならびに

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

Zは、L上に存在する反応性置換基と、前記CD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である。他の実施形態では、ADCは式 $Ab-Z-L-Am$ のADCであり、式中、Abは抗CD278抗体（または抗CD278抗体）であり、Lはリンカーであり、

Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、Am-L-Z-Abは、
【化25】



で表される。

【0107】

特定の実施形態では、前記抗CD134抗体は、本明細書に記載される抗体BER-AC T35、抗体443318、または抗体7D6である。特定の実施形態では、前記抗CD278抗体は、本明細書に記載される抗体DX29または抗体669238である。

【0108】

さらに別の態様では、本発明は、ペプチドリinkerを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗CD134抗体（または抗CD278抗体）を含む抗体-薬物コンジュゲート（ADC）と、薬学的に活性な担体とを含む医薬組成物を特徴とする。

【0109】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載のADCの有効量をヒト患者に投与することによって、移植片不全またはGVHDを処置することを必要とするヒト患者において移植片不全またはGVHDを処置する方法であって、前記ヒト患者は以前に移植を受けたことがある、方法を特徴とする。いくつかの実施形態では、前記ヒト患者は、前記ADCの投与前4日以内に前記移植を受けた。

【0110】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載のADCの有効量を移植片不全またはGVHDを有するリスクがあるヒト患者に投与し、その後前記ヒト対象に移植片を投与することによって、移植片不全またはGVHDを有するリスクがあるヒト患者を処置する方法を特徴とする。いくつかの実施形態では、前記ADCは、単回用量として前記ヒト患者に投与される。

【図面の簡単な説明】

【0111】

【図1】活性化および休止制御性T細胞（Treg）の両方におけるCD134の発現を測定するフローサイトメトリーアッセイの結果を示すグラフである。結果は、活性化後24時間で、コントロール（0時間活性化）と比較してT細胞がCD134について56.9%陽性であったことを示している。

【図2】3人の健康なドナーコントロールからの新鮮な全血のTregフロー分析の結果を示すグラフであり、CD134が活性化T細胞に発現しているが、休止T細胞には有意に発現していないことを示している。

【図3】活性化T細胞への抗CD134抗体の結合を示すin vitro細胞結合アッセイの結果のグラフである。

【図4】活性化T細胞への抗CD278抗体（図4A）および抗CD134抗体（図4C

）の結合を示す *in vitro* 細胞結合アッセイの結果のグラフである。図 4 B および図 4 D は、抗 CD 45 + コントロールと比較して、それぞれ同じ結果を示す。

【図 5】ネガティブコントロール（即ち、「h I g G - アマニチン」）と比較した、抗 CD 1 3 4 - アマニチン A D C（即ち、「CD 1 3 4 - アマニチン」）および抗 CD 2 7 8 - アマニチン A D C（即ち、「CD 2 7 8 - アマニチン」）を含む *in vitro* T 細胞殺傷アッセイの結果を示すグラフである。結果は、抗体濃度（x 軸）の関数として生存可能な活性化 T 細胞の数（y 軸）を示す。

【図 6】（図 6 A）ネガティブコントロール（即ち、「h I g G - アマニチン」）と比較した、抗 CD 1 3 4 - アマニチン A D C（即ち、「CD 1 3 4 - A C T 3 5 - m I g G 1 - アマニチン」）および抗 CD 2 7 8 - アマニチン A D C（即ち、「CD 2 7 8 - D X 2 9 - m I g G 1 - アマニチン」および「CD 2 7 8 - 6 6 9 2 3 8 - m I g G 1 - アマニチン」）を含む *in vitro* T 細胞殺傷アッセイの結果を示すグラフである（図 6 A）。結果は、抗体濃度（x 軸）の関数として生存可能な活性化 T 細胞の数（y 軸）を示す。（図 6 B）ネガティブコントロール（即ち、「h I g G - M M A F」）と比較した、抗 CD 1 3 4 - M M A F A D C（即ち、「CD 1 3 4 - A C T 3 5 - m I g G 1 - M M A F」）および抗 CD 2 7 8 - M M A F A D C（即ち、「CD 2 7 8 - D X 2 9 - m I g G 1 - M M A F」および「CD 2 7 8 - 6 6 9 2 3 8 - m I g G 1 - M M A F」）を含む *in vitro* T 細胞殺傷アッセイの結果を示すグラフである（図 6 B）。結果は、抗体濃度（x 軸）の関数として生存可能な活性 T 細胞の数（y 軸）を示す。

【図 7】特定のポジティブおよびネガティブコントロール抗体（図 7 A）と、F a b - S A P（サポリン）と組み合わせた抗 CD 1 3 4 A D C および特定の抗 CD 2 7 8 A D C（図 7 B）を含む *in vitro* T 細胞殺傷アッセイの結果を示すグラフである。結果は、抗体濃度（x 軸）の関数として生存可能な活性化（プラスティング）T 細胞の数（y 軸）を示す。

【0112】

（定義）

本明細書で使用される場合、用語「約」は、記載されている値の上下 10 % 以内の値を指す。例えば、用語「約 5 n M」は、4. 5 n M ~ 5. 5 n M の範囲を示す。

【0113】

本明細書で使用される場合、「同種」という用語は、同じ種に属するが遺伝的に異なり、したがって免疫学的に不適合である個体由来の細胞または組織を指す。したがって、「同種細胞」という用語は、遺伝的に異なるが同じ種に属する細胞型を指す。通常、「同種」という用語は、ドナーから同じ種のレシピエントに移植される幹細胞などの細胞を定義するために使用される。

【0114】

本明細書で使用される場合、用語「アマトキシシン」は、タマゴテングタケによって産生されるペプチドのアマトキシシンファミリーのメンバーまたはそれらのバリエーションもしくは誘導体、例えば R N A ポリメラーゼ I I 活性を阻害することができるそれらのバリエーションもしくは誘導体を指す。また、合成アマトキシシンも含まれる（例えば、参照により本明細書に援用される米国特許第 9 6 7 6 7 0 2 号を参照）。本明細書に記載の組成物および方法と組み合わせて有用なアマトキシシンには、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリン、ならびに本明細書に記載の式（I I I）、（I I I A）、または（I I I B）によって記載されるようなそれらの誘導体が含まれる。本明細書に記載されるように、アマトキシシンは、例えば、リンカー部分（L）を介して、CD 1 3 4 または CD 2 7 8 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされ得る（したがって、コンジュゲート（抗体薬物コンジュゲート（A D C）とも呼ばれる）を形成する）。そのような A D C は、式 A b - Z - L - A m で表され、式中、A b は抗体またはその抗原結合フラグメントであり、L はリンカーであり、Z は化学部分であり、A m はアマトキシシンである。いくつかの実施形態では、アマトキシシンはリンカーにコンジュゲートされる

。いくつかの実施形態では、アマトキシナーリンカーコンジュゲート A_m-L-Z は、式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)、または (IIB) で表される。アマトキシンのコンジュゲーションの例示的な方法およびそのようなプロセスに有用なリンカーを以下に記載する。本明細書に記載の組成物および方法による抗体または抗原結合フラグメントへのコンジュゲーションに有用な例示的なリンカー含有アマトキシンの、本明細書に記載されている。

【0115】

本明細書で使用される「アンタゴニスト」という用語は、標的分子、例えば、CD134 または CD278 の生物学的活性を阻害または低減する任意の分子を表す。

【0116】

本明細書で使用される場合、用語「抗体」は、特定の抗原に特異的に結合するか、またはそれと免疫学的に反応性である免疫グロブリン分子を指し、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、遺伝子操作された抗体、およびその他の修飾形態の抗体が含まれ、限定されないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヘテロコンジュゲート抗体（例えば、二重、三重および四重特異性抗体、ダイアボディ、トリアボディ、およびテトラボディ）、ならびに、例えば、Fab'、 $F(ab')_2$ 、Fab、Fv、rIgG、および scFv フラグメントを含む抗体の抗原結合フラグメントが含まれる。特に明記しない限り、「モノクローナル抗体」(mAb) という用語は、インタクト分子と、標的タンパク質に特異的に結合することができるその抗体フラグメント（例えば、Fab および $F(ab')_2$ フラグメントを含む）の両方を含むことを意味する。本明細書で使用される場合、Fab および $F(ab')_2$ フラグメントは、インタクト抗体の Fc フラグメントを欠く抗体フラグメントを指す。これらの抗体フラグメントの例は、本明細書に記載されている。

【0117】

抗体の重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、抗体を異なるクラスに割り当てることができる。免疫グロブリンには、IgA、IgD、IgE、IgG および IgM という5つの主要なクラスがあり、これらのいくつかはさらにサブクラス（アイソタイプ）、例えば IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、および IgA2 に分類され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ と呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造および三次元配置はよく知られており、例えば、Abbas et al., Cellular and Mol. Immunology, 第4版(2000年)に一般的に記載されている。抗体は、抗体と1つ以上の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合または非共有結合によって形成される、より大きな融合分子の一部であってよい。

【0118】

本明細書で使用される「抗原結合フラグメント」という用語は、標的抗原に特異的に結合する能力を保持する、抗体の1つ以上のフラグメントを指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体のフラグメントによって実行され得る。抗体フラグメントは、例えば、Fab、 $F(ab')_2$ 、scFv、ダイアボディ、トリアボディ、アフィボディ、ナノボディ、アプタマー、またはドメイン抗体であり得る。抗体の「抗原結合フラグメント」という用語に包含される結合フラグメントの例には、以下が含まれるが、これらに限定されない：(i) V_L 、 V_H 、 C_L 、および C_H1 ドメインからなる一価フラグメントである Fab フラグメント；(ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つの Fab フラグメントを含む二価フラグメントである $F(ab')_2$ フラグメント；(iii) V_H および C_H1 ドメインからなる Fd フラグメント；(iv) 抗体の単一アームの V_L および V_H ドメインからなる Fv フラグメント；(v) V_H および V_L ドメインを含む dAb；(vi) V_H ドメインからなる dAb フラグメント（例えば、Ward et al., Nature 341:544-546頁、1989年を参照）；(vii) V_H または V_L ドメインからなる dAb；(viii) 単離された相補性決定領域 (CDR)；および (ix) 任意に合成リンカーによって連結されていてもよい2つ以上（例えば、2、3、4、5、または6つ）の単離された CDR の組み合わせ。さらに、Fv フラグメ

ントの2つのドメイン、 V_L および V_H は、別々の遺伝子によってコードされているが、それらは、組み換え法を用いて、 V_L および V_H 領域がペアになって一価分子を形成する単一のタンパク質鎖としてそれらが作製されることを可能にするリンカーによって連結され得る（一本鎖Fc（scFc）として知られる）。これらの抗体フラグメントは、当業者に知られている従来技術を用いて得ることができ、該フラグメントは、インタクト抗体と同じ方法で、有用性についてスクリーニングすることができる。抗原結合フラグメントは、組み換えDNA技術、インタクト免疫グロブリンの酵素的または化学的切断によって、または、特定の場合には、当該技術分野で知られている化学的ペプチド合成手順によって産生することができる。

【0119】

本明細書で使用される場合、用語「抗CD134抗体」または「抗CD134ADC」は、CD134（OX40、OX40L受容体、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4（TNFRSF4）、ACT-4、ACT35、またはTXGP1Lとも呼ばれる）に特異的に結合する抗体、抗体フラグメント、またはADCを指す。一実施形態では、当該抗体は、ヒトCD134（hCD134）に特異的に結合する。CD134はT細胞上に発現している。抗CD134抗体（または抗CD134コンジュゲート）が結合するヒトCD134のアミノ酸配列は、以下の配列番号1に記載されている。

【0120】

本明細書で使用される場合、用語「抗CD278抗体」または「抗CD278ADC」は、CD278（ICOSとも呼ばれる）に特異的に結合する抗体、抗体フラグメント、またはADCを指す。一実施形態では、当該抗体は、ヒトCD278（hCD278）に特異的に結合する。CD278はT細胞上に見出される。抗CD278抗体（または抗CD278コンジュゲート）が結合するヒトCD278のアミノ酸配列は、以下の配列番号2に記載されている。

【0121】

本明細書で使用される場合、用語「二重特異性抗体」は、例えば、2つの異なる抗原に結合することができるモノクローナル抗体、しばしばヒトまたはヒト化抗体を指す。例えば、結合特異性の一方は、CD134またはCD278などのT細胞表面抗原に向けることができ、他方は、とりわけ、細胞増殖を阻害または制限するシグナル伝達経路に参与する受容体または受容体サブユニットなどの、異なるT細胞表面抗原または別の細胞表面タンパク質に対するものであり得る。

【0122】

本明細書で使用される場合、「キメラ」抗体という用語は、それらが所望の生物学的活性を示す限り、重鎖および／または軽鎖の一部が、特定の種に由来するまたは特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一または相同であり、鎖の残りの部分が、別の種に由来するまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一または相同である抗体、ならびにそのような抗体のフラグメントを指す（例えば、米国特許第4,816,567号およびMorrisson et al., 1984年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855頁を参照）。一実施形態では、キメラ抗体は、マウス重鎖および軽鎖可変領域ならびにヒト軽鎖および重鎖定常領域を含む。

【0123】

本明細書で使用される場合、用語「相補性決定領域」および「CDR」は、抗体の軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインの両方に見られる超可変領域を指す。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。抗体の超可変領域を線引きするアミノ酸位置は、文脈および当該技術分野で知られている様々な定義に応じて変わり得る。可変ドメイン内のいくつかの位置は、これらの位置がある基準の下では超可変領域内にあると見なすことができるが、異なる基準の下では超可変領域外にあると見なすことができるという点で、ハイブリッド超可変位置と見なされ得る。これらの位置のうちの1つ以上を、拡張超可変領域にも見ることができる。本明細書に記載の抗体は

、これらのハイブリッド超可変位置に修飾を含み得る。天然の重鎖および軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、主にβシート構造をとる4つのフレームワーク領域を含み、3つのCDRによって接続され、それらはβシート構造をつなぐループを形成し、場合によってはβシート構造の一部を形成する。各鎖中のCDRは、FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4の順序で、フレームワーク領域によって互いに近接して一緒に保持され、他の抗体鎖からのCDRと共に、抗体の標的結合部位の形成に寄与する（例えば、Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、国立衛生研究所、ベセスダ、メリーランド州、1987年または<http://www.imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/DomainGapAlign.cgi>を参照）。免疫グロブリンアミノ酸残基のナンバリングは、Kabatらの免疫グロブリンアミノ酸残基のナンバリングシステムに従って行うことができる。

【0124】

本明細書で使用される場合、用語「コンジュゲート」は、抗体またはその抗原結合フラグメントなどの1つの分子の反応性官能基と、本明細書に記載の細胞毒素などの別の分子の適切な反応性官能基との化学結合によって形成される化合物を指す。コンジュゲートは、互いに（例えば、抗体と細胞毒素の間）結合した2つの分子（例えば、抗CD134抗体と細胞毒素、または抗CD278抗体と細胞毒素）の間にリンカーを含み得る。コンジュゲートの形成に使用できるリンカーの例には、天然に存在するアミノ酸またはD-アミノ酸などの天然に存在しないアミノ酸を含有するものなどのペプチド含有リンカーが挙げられる。リンカーは、本明細書に記載され、当該技術分野で知られている種々の戦略を使用して調製することができる。その中の反応性成分に応じて、リンカーは、例えば、酵素加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核開裂、または有機金属開裂によって切断され得る（例えば、Leriche et al., Bioorg. Med. Chem., 20:571-582頁、2012年を参照）。特に、「コンジュゲート」（化合物を指す場合）という用語は、本明細書では互換的に「薬物抗体コンジュゲート」または「抗体薬物コンジュゲート」（ADC）とも呼ばれる。

【0125】

本明細書で使用される場合、用語「カップリング反応」は、互いに反応するのに適した2つ以上の置換基が反応して、各置換基に結合した分子フラグメントを（例えば、共有結合的に）連結する化学的部位を形成する化学反応を指す。カップリング反応には、当該技術分野で知られているかまたは本明細書に記載の細胞毒素などの細胞毒素であるフラグメントに結合した反応性置換基が、当該技術分野で知られているかまたは本明細書に記載のCD134またはCD278についてのフラグメントに結合した、適切に反応性の置換基と反応するものが挙げられる。適切に反応性の置換基の例には、求核剤/求電子剤対（例えば、とりわけチオール/ハロアルキル対、アミン/カルボニル対、またはチオール/α、β-不飽和カルボニル対）、ジエン/ジエノフィル対（例えば、とりわけアジド/アルキン対）などが挙げられる。カップリング反応には、特に限定されないが、チオールアルキル化、ヒドロキシアルキル化、アミンアルキル化、アミン縮合、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、付加環化（例えば、とりわけ、[4+2]ディールス-アルダー付加環化、[3+2]ヒュスゲン付加環化）、求核芳香族置換、求電子芳香族置換、および当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載の他の反応様式が含まれる。

【0126】

本明細書で使用される場合、用語「ドナー」は、1つ以上の細胞が、その細胞またはその子孫のレシピエントへの投与の前に単離されるヒトまたは動物を指す。1つ以上の細胞は、例えば、造血幹細胞の集団であり得る。

【0127】

本明細書で使用される場合、用語「ダイアボディ」は、2本のポリペプチド鎖を含有する二価抗体を指し、各ポリペプチド鎖は、同じペプチド鎖上のV_HおよびV_Lドメインの

分子内会合を可能にするには短すぎるリンカー（例えば、5個のアミノ酸からなるリンカー）によって連結されたV_HおよびV_Lドメインを含む。この立体配置は、ホモ二量体構造を形成するように、各ドメインを別のポリペプチド鎖上の相補的ドメインと対合させる。したがって、用語「トリアポディ」は、3つのペプチド鎖を含む三価抗体を指し、その各々は、同じペプチド鎖内のV_HドメインとV_Lドメインの分子内会合を可能にするには非常に短いリンカー（例えば、1～2個のアミノ酸からなるリンカー）によって連結された1つのV_Hドメインと1つのV_Lドメインとを含む。それらの天然構造に折り畳むために、このように構成されたペプチドは、典型的には、隣接するペプチド鎖のV_HおよびV_Lドメインを互いに空間的に近位に配置するように三量体化する（例えば、Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48頁、1993年を参照）。

【0128】

「薬物抗体比」または「DAR」という用語は、ADCの抗体に付着した薬物、例えばアマトキシンの数を指す。ADCのDARの範囲は1～8であり得るが、抗体上の結合部位の数によっては、より高いロード、例えば10も可能である。DARという用語は、個々の抗体にロードされた薬物の数に関して使用してもよく、あるいは、ADCのグループの平均または平均DAR（即ち、「平均DAR」）に関して使用してもよい。

【0129】

本明細書で使用される場合、「二重可変ドメイン免疫グロブリン」（「DVD-Ig」）は、リンカーを介して2つのモノクローナル抗体の標的結合可変ドメインを組み合わせて、四価の二重標的単一剤を作製する抗体を指す（例えば、Guet al., Meth. Enzymol., 502:25-41頁、2012年を参照）。

【0130】

本明細書で使用される場合、用語「内因性」は、ヒト患者などの特定の生物において天然に見られる分子、細胞、組織、または臓器などの物質（例えば、造血幹細胞または造血系列の細胞、例えば巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、筋芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T細胞、またはB細胞）を表す。

【0131】

本明細書で使用される場合、用語「外因性」は、ヒト患者などの特定の生物において天然には見られない分子、細胞、組織、または臓器などの物質（例えば、造血幹細胞または造血系列の細胞、例えば巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、筋芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T細胞、またはB細胞など）を表す。外因性物質には、外部供給源から生物に、またはそれらから抽出された培養物に提供されるものが挙げられる。

【0132】

本明細書で使用される場合、用語「フレームワーク領域」、「FR」、または「FW領域」は、抗体またはその抗原結合フラグメントの可変領域内のCDRに隣接しているアミノ酸残基を含む。FW領域残基は、例えば、とりわけ、ヒト抗体、ヒト化抗体、モノクローナル抗体、抗体フラグメント、Fabフラグメント、一本鎖抗体フラグメント、scFvフラグメント、抗体ドメイン、および二重特異性抗体に存在し得る。

【0133】

本明細書で使用される場合、「半減期」という用語は、体内の抗体薬物の血漿濃度が半分または50%減少するのにかかる時間を指す。この血清濃度の50%の減少は、循環しており、抗体クリアランスの自然な方法では除去されない薬物の量を反映している。

【0134】

本明細書で使用される場合、用語「造血幹細胞」（「HSC」）は、自己複製し、以下を含むが、これらに限定されない多様な系列を含む成熟血球に分化する能力を有する未成

熟血球を指す：顆粒球（例えば前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、栓球（*thrombocytes*）（例えば、巨核球、血小板産生巨核球、血小板（*platelets*））、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、NK細胞、B細胞およびT細胞）。そのような細胞には、CD34+細胞が挙げられ得る。CD34+細胞は、CD34細胞表面マーカーを発現する未熟細胞である。ヒトでは、CD34+細胞は上記定義の幹細胞特性を有する細胞の亜集団を含むと考えられているが、マウスでは、HSCはCD34-である。さらに、HSCは、長期再構築HSC（LT-HSC）および短期再構築HSC（ST-HSC）も指す。LT-HSCおよびST-HSCは、機能的ポテンシャルおよび細胞表面マーカー発現に基づいて区別される。例えば、ヒトHSCは、CD34+、CD38-、CD45RA-、CD90+、CD49F+、およびlin-（CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56、CD235Aを含む成熟系列マーカーについて陰性）である。マウスでは、骨髄LT-HSCは、CD34-、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+、CD48-、およびlin-（Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系列マーカーについて陰性）であり、一方、ST-HSCは、CD34+、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+、およびlin-（Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raを含む成熟系列マーカーについて陰性）である。さらに、ST-HSCは、恒常性条件下で、LT-HSCよりも不活発ではなく、増殖性が高い。しかしながら、LT-HSCは、より大きな自己複製能力を有し（すなわち、それらは成熟期を通じて生存し、一連のレシピエントを通して連続的に移植され得る）、一方でST-HSCは、限られた自己複製を有する（すなわち、それらは限られた期間のみ生存し、連続移植能力を持たない）。これらのHSCのいずれも、本明細書に記載の方法で使用することができる。ST-HSCは、高度に増殖性であり、したがってより迅速に分化した子孫を生じさせることができるため、特に有用である。

【0135】

本明細書で使用される場合、用語「造血幹細胞としての機能的ポテンシャル」は、以下を含む造血幹細胞の機能的特性を指す：1）多能性（顆粒球（例えば前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、栓球（*thrombocytes*）（例えば、巨核球、血小板産生巨核球、血小板（*platelets*））、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、NK細胞、T細胞およびB細胞を含むが、これらに限定されない複数の異なる血系列に分化する能力を指す）、2）自己複製（造血幹細胞が、母細胞と同等の能力を有する娘細胞を生じさせる能力を指し、さらにこの能力は、枯渇することなく個体の生涯を通じて繰り返し出現することができる）、ならびに3）造血幹細胞またはその子孫が移植レシピエントに再導入され、そこでそれらが造血幹細胞ニッチにホーミングし、生産的かつ持続的な造血を回復させる能力。

【0136】

本明細書で使用される場合、用語「ヒト抗体」は、タンパク質の実質的に全ての部分（例えば、全てのCDR、フレームワーク領域、C_L、C_Hドメイン（例えば、C_H1、C_H2、C_H3）、ヒンジ、ならびにV_LおよびV_Hドメイン）が、ヒトにおいて実質的に非免疫原性であり、ほんのわずかな配列の変化または変異のみの抗体を指す。ヒト抗体は、*in vitro*で、ヒト細胞において（例えば、組み換え発現によって）、または機能的に再配列されたヒト免疫グロブリン（重鎖および／もしくは軽鎖などの）遺伝子を発現することができる非ヒト動物もしくは原核生物細胞もしくは真核生物細胞によって、産生され得る。ヒト抗体が一本鎖抗体である場合、それは天然のヒト抗体には見られないリンカーペプチドを含み得る。例えば、Fvは、重鎖の可変領域と軽鎖の可変領域とを連結する、2～約8個のグリシンまたは他のアミノ酸残基などのリンカーペプチドを含み得る。そのようなリンカーペプチドはヒト起源のものとみなされる。ヒト抗体は、ヒト免疫グ

ロブリン配列に由来する抗体ライブラリーを用いたファージディスプレイ法を含む、当該技術分野で知られている様々な方法によって作製することができる。ヒト抗体は、機能的内因性免疫グロブリンを発現することはできないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して産生することもできる（例えば、PCT公開番号WO1998/24893；WO1992/01047；WO1996/34096；WO1996/33735；米国特許第5,413,923；5,625,126；5,633,425；5,569,825；5,661,016；5,545,806；5,814,318；5,885,793；5,916,771；および5,939,598号明細書を参照）。一実施形態では、ヒト抗体は、それが自然に存在する場合、該抗体のグリコシル化パターンが同じ配列を有する抗体とは異なるように組換え法を使用して作製される。

【0137】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小限の配列を含むキメラ抗体である。一実施形態では、ヒト化抗体は、レシピエントのCDRからの残基が、所望の特異性、親和性、および／またはキャパシティーを有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のCDR由来の残基によって置き換えられているヒト抗体（レシピエント抗体）である。いくつかの例では、ヒト抗体のフレームワーク領域（FR）残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体には見られない残基を含み得る。抗体の性能をさらに改善するために、これらの改変を行うことができる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、ここで、超可変ループのすべてまたは実質的にすべてが非ヒト抗体のものに対応し、FRのすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体はまた、任意に、抗体定常領域（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含む。さらなる詳細については、Jones et al., Nature 321:522-525頁（1986年）、Riechmann et al., Nature 332:323-329頁（1988年）、およびPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596頁（1992年）を参照されたい。また、以下の総説とそこに引用されている参考文献も参照されたい：Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115頁（1998年）；Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038頁（1995年）；Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433頁（1994年）。

【0138】

「全長抗体」および「インタクト抗体」という用語は、本明細書で互換的に使用され、その実質的にインタクト形態の抗体を指し、本明細書で定義される抗体フラグメントではない。したがって、IgG抗体の場合、インタクト抗体は、それぞれが可変領域、定常領域およびFc領域を含む2つの重鎖と、それぞれが可変領域および定常領域を含む2つの軽鎖とを含む。より具体的には、インタクトIgGは、それぞれ軽鎖可変領域（VL）および軽鎖定常領域（CL）を含む2つの軽鎖を含み、かつそれぞれ重鎖可変領域（VH）および3つの重鎖定常領域（CH1、CH2、およびCH3）を含む2つの重鎖を含む。CH2とCH3は重鎖のFc領域を表す。

【0139】

「単離された」とは、本明細書で使用される場合、それを発現する細胞または細胞培養物から同定および分離および／または回収されたポリペプチド、例えば抗体を指す。通常、単離された抗体は、少なくとも1つの精製工程により調製される。したがって、「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す。

【0140】

本明細書で使用される場合、「微小管結合剤」という用語は、有糸分裂および間期細胞

機能に不可欠である微小管ネットワークを破壊することによって作用する化合物を指す。微小管結合剤の例には、メイタシン、メイタンシノイド、およびそれらの誘導体（例えば、本明細書に記載されているまたは当技術分野で知られているものなど）、ビンブラスチン、硫酸ビンブラスチン、ピンクリスチン、硫酸ピンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビンなどのピンカアルカロイド、ドセタキセルおよびパクリタキセルなどのタキサン、ディスコデルモライド、コルヒチン、およびエポチロンなどのマクロライド、ならびにその誘導体（エポチロンBまたはその誘導体など）が含まれるが、これらに限定されない。パクリタキセルはTAXOL（登録商標）として、ドセタキセルはTAXOTERE（登録商標）として、硫酸ビンブラスチンはVINBLASTIN R. P（登録商標）として、硫酸ピンクリスチンはFARMISTIN（登録商標）として販売されている。パクリタキセルのジェネリック形態およびパクリタキセルの様々な剤形も含まれる。パクリタキセルのジェネリック形態には、塩酸ベタキソロールが含まれるが、これに限定されない。パクリタキセルの様々な剤形には、これらに限定されないが、ABRAXANE（登録商標）として販売されているアルブミンナノ粒子パクリタキセル、ONXOL（登録商標）、CYTOTAX（登録商標）が含まれる。ディスコデルモライドは、例えば、米国特許第5,010,099号に開示されているように得ることができる。また、米国特許第6,194,181号、WO9810121、WO9825929、WO9808849、WO9943653、WO9822461およびWO0031247に開示されているエポトリン誘導体も含まれ、これらの各々の開示は、参照により本明細書に援用される。

【0141】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、真核生物、原核生物、またはファージのクローンを含む単一のクローンに由来する抗体を指し、それを作製する方法ではない。

【0142】

本明細書で使用される場合、「GVHDのリスクがある患者」という用語は、GVHDを発症する1つ以上の危険因子を有する患者を指す。危険因子には、ミスマッチヒト白血球抗原（HLA）ドナーおよび性ミスマッチドナーを含む同種ドナー移植（例えば、骨髄移植からの造血幹細胞の移植）、T細胞が豊富な幹細胞移植、ドナーおよびレシピエントの年齢、移植ドナーまたは宿主におけるサイトメガロウイルス（CMV）またはCMV抗体の存在、全身照射（TBI）の線量の増加、コンディショニングレジメンの強度、急性GVHD予防、保護環境の欠如、脾臓摘出、免疫グロブリンの使用、基礎疾患、ABO適合性、ヘルペスウイルスへの以前の曝露、ドナーの輸血、パフォーマンススコア、抗生物質の腸管の除染、および同種移植後の輸血が含まれるが、これらに限定されない。

【0143】

本明細書で使用される場合、「自己免疫疾患のリスクがある患者」という用語は、自己免疫疾患を発症する1つ以上の危険因子を有する患者を指す。危険因子には、年齢（若者から中年）、性別（女性）、民族（アフリカ系アメリカ人、アメリカンインディアン、またはラテン系）、自己免疫疾患の家族歴、環境因子への曝露、以前の感染症、慢性炎症、およびドナー移植（例えば、骨髄移植からの造血幹細胞の移植）が含まれるが、これらに限定されない。

【0144】

本明細書で使用される場合、用語「レシピエント」は、造血幹細胞の集団を含む移植片などの移植片を受ける患者を指す。レシピエントに投与される移植細胞は、例えば、自己細胞、同系細胞、または同種細胞であり得る。

【0145】

本明細書で使用される場合、用語「サンプル」は、被験体から採取した検体（例えば、血液、血液成分（例えば、血清または血漿）、尿、唾液、羊水、脳脊髄液、組織（例えば、胎盤または真皮）、腭液、絨毛膜絨毛サンプル、および細胞）を指す。

【0146】

本明細書で使用される場合、用語「scFv」は、抗体由来の重鎖および軽鎖の可変ド

メインが連結されて1本の鎖を形成している一本鎖Fv抗体を指す。scFvフラグメントは、リンカーによって分離された、抗体軽鎖の可変領域(V_L) (例えば、CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3)と抗体重鎖の可変領域(V_H) (例えば、CDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3)とを含む単一ポリペプチド鎖を含有する。scFvフラグメントの V_L および V_H 領域を連結するリンカーは、タンパク質新生アミノ酸からなるペプチドリンカーであり得る。代替リンカーを、scFvフラグメントのタンパク質分解に対する耐性を増加させるように(例えば、D-アミノ酸を含有するリンカー)、scFvフラグメントの溶解性を高めるために(例えば、ポリエチレングリコール含有リンカーもしくは反復グリシンおよびセリン残基を含有するポリペプチドなどの親水性リンカー)、分子の生物物理学的安定性を改善するために(例えば、分子内もしくは分子間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含有するリンカー)、またはscFvフラグメントの免疫原性を弱めるために(例えば、グリコシル化部位を含むリンカー)、使用することができる。本明細書に記載のscFv分子の可変領域は、それらが由来する抗体分子とはアミノ酸配列が異なるように修飾することができることも、当業者には理解されよう。例えば、保存的置換もしくはアミノ酸残基の変化をもたらすスクレオチドまたはアミノ酸置換を(例えば、CDRおよび/またはフレームワーク残基において)、対応する抗体によって認識される抗原に結合するscFvの能力を保持または増強するように、実施することができる。

【0147】

本明細書で使用される「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、タンパク質一般にではなく、特定のタンパク質構造(エピトープ)を認識および結合する抗体(またはADC)の能力を指す。抗体またはADCがエピトープ「A」に特異的である場合、標識「A」と抗体を含む反応において、エピトープAを含む分子(また遊離の非標識A)が存在すると、抗体またはADCに結合した標識Aの量が減少する。例として、抗体は、標識されたときに、対応する非標識抗体によって標的からコンピートアウェイ(competed away)され得る場合、その標的に「特異的に結合する」。一実施形態では、抗体の標的に対する K_D が、少なくとも約 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、またはそれ未満である場合(それ未満は 10^{-12} 未満の数値、例えば 10^{-13} を意味する)、その抗体は標的、例えばCD134またはCD278に特異的に結合する。一実施形態では、本明細書で使用される「CD134への特異的結合」または「CD134に特異的に結合する」という用語は、CD134に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定される解離定数(K_D)が 1.0×10^{-7} M以下である抗体またはADCを指す。別の実施形態では、本明細書で使用される「CD278への特異的結合」または「CD278に特異的に結合する」という用語は、CD278に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定される解離定数(K_D)が 1.0×10^{-7} M以下である抗体またはADCを指す。一実施形態では、 K_D は、標準的な生体層干渉計(BLI)によって決定される。ただし、抗体またはADCは、配列が関連する2つ以上の抗原に特異的に結合できる可能性があることを理解されたい。例えば、一実施形態では、抗体は、CD134のヒトおよび非ヒト(例えば、マウスまたは非ヒト霊長類)オルソログの両方に特異的に結合することができる。別の例として、一実施形態では、抗体は、CD278のヒトおよび非ヒト(例えば、マウスまたは非ヒト霊長類)オルソログの両方に特異的に結合することができる。

【0148】

本明細書で使用される場合、用語「対象」および「患者」は、本明細書に記載されるような特定の疾患または状態についての処置を受ける、ヒトなどの生物を指す。例えば、ヒト患者などの患者は、CD134またはCD278に結合できる本明細書に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはリガンドの投与によりGVHDを処置または予防するために、造血幹細胞移植療法の前に処置を受け得る。

【0149】

本明細書で使用される場合、語句「血液から実質的に除去される」は、治療薬(抗CD

134または抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドなど)の患者への投与後のある時点であって、患者から単離された血液サンプル中の治療薬の濃度が、従来の手段によって治療薬を検出することができないようなときであるとき(例えば、治療薬が、治療薬の検出に使用される装置またはアッセイのノイズ閾値を超えて検出されないとき)を指す。当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載されるELISAベースの検出アッセイなどの、当該技術分野で知られている様々な技術が、抗体、抗体フラグメントおよびタンパク質リガンドを検出するために使用され得る。抗体、抗体フラグメント、およびタンパク質リガンドを検出するために使用され得る追加的アッセイには、当該技術分野で知られているものの中でも、とりわけ免疫沈降技術および免疫ブロットアッセイが含まれる。

【0150】

本明細書で使用される場合、語句「幹細胞障害」は、対象の標的組織をコンディショニングすることによって、および／または標的組織中の内因性幹細胞集団を切除する(例えば、対象の骨髓組織から内因性造血幹細胞または前駆細胞集団を切除する)ことによって、および／または対象の標的組織に幹細胞を生着させるもしくは移植することによって処置もしくは治療され得る任意の疾患、障害、または状態を広く指す。例えば、I型糖尿病の患者は、造血幹細胞移植によって治療されることが示されており、本明細書に記載の組成物および方法に従ってコンディショニングすることから利益を得る可能性がある。本明細書に記載の組成物および方法を用いて処置され得るさらなる障害は、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンconi貧血、ウィスコット・アルドリッチ症候群、ADA SCID、HIV/AIDS、異染色性白質ジストロフィー、ダイヤモンドブラックファン貧血、およびシュワマンーダイヤモンド症候群が挙げられるが、これらに限定されない。対象は、遺伝性血液障害(例えば、鎌状赤血球貧血)または自己免疫障害を有するか、そうでなければそれらの影響を受けている可能性がある。上記に加えて、あるいは上記に代えて、対象は、血液癌(例えば、白血病、リンパ腫、多発性骨髓腫、または骨髓異形成症候群)および神経芽細胞腫からなる群から選択される悪性腫瘍などの悪性腫瘍を有するか、またはそれらの影響をうけている可能性がある。いくつかの実施形態では、対象は、代謝障害を有するか、そうでなければそれらの影響を受ける。例えば、対象は、以下を患っているか、そうでなければそれらの影響を受ける可能性がある:糖原蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴリピドーシス、異染色性白質ジストロフィーからなる群より選択される代謝障害、または、限定されないが以下が挙げられる、開示された処置および療法から利益を得る可能性がある別の疾患もしくは障害:重症複合免疫不全、ウィスコット・アルドリッチ症候群、高免疫グロブリンM(IgM)症候群、チェディアック・東病、遺伝性リンパ組織球増殖症、大理石骨病、骨形成不全症、貯蔵病、サラセミアメジャー、鎌状赤血球症、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、および“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,” ASH Education Book, 1:319-338頁(2000年)に記載されている疾患または障害であって、その開示は、造血幹細胞移植療法の実施によって処置され得る病状に関連するため、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0151】

本明細書で使用される場合、「疾患を患っている」という用語は、GVHDまたは自己免疫疾患を経験している対象(例えば、ヒト)を指す。本発明が特定の兆候または症状、または疾患に限定されることは意図されていない。したがって、本発明は、無症状から本格的な疾患まで、あらゆる範囲の疾患を経験している対象を包含し、当該対象は、GVHDまたは自己免疫疾患に関連する兆候(例えば、兆候および症状)の少なくとも一部を示すことが意図されている。

【0152】

本明細書で使用される場合、「トランスフェクション(transfection)」という用語は、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム沈殿、D

E A Eーデキストラントランスフェクションなど、外因性DNAを原核生物または真核生物の宿主細胞内に導入するために一般的に使用される多種多様な技術のいずれかを指す。

【0153】

本明細書で使用される場合、「移植（片）」という用語は、その起源の部位からレシピエント部位に移された任意の臓器、体組織、または細胞、またはそうする行為を指す。

【0154】

本明細書で使用される場合、「予防する」または「予防」という用語は、GVHDまたは自己免疫疾患などの障害に関連する症状の重症度を停止、遅延、および／または軽減することを指す。

【0155】

本明細書で使用される場合、用語「処置する」または「処置」は、その目的が、望ましくない生理学的変化または障害を予防または減速（軽減）させることであるか、あるいは障害について処置されている患者において有益な表現型を促進することである治療的処置を指す。有益なまたは望ましい臨床結果には、CD134またはCD278+細胞の細胞数または相対濃度の低下、GVHDまたは自己免疫疾患の細胞および臨床症状の減少、および／または本明細書に記載されているような患者における外因性造血細胞の生着およびその後の造血幹細胞移植療法の促進が含まれるが、これらに限定されない。追加の有益な結果には、GVHDを患っているか、GVHDのリスクがある造血幹細胞の細胞数または相対濃度の増加が含まれる。本明細書に記載の治療の有益な結果には、造血幹細胞移植療法後の、巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T細胞、またはB細胞などの造血系列の1つ以上の細胞の細胞数または相対濃度の増加も含まれ得る。

【0156】

本明細書で使用される場合、「有効量」または「治療有効量」という用語は、所望の結果を達成するために、またはGVHDもしくは自己免疫疾患に影響を与えるために十分な量を指す。特定の患者に対する特定の治療有効用量レベルは、処置される障害および障害の重症度；使用される特定の組成物；患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別および食事；投与時間；投与経路；使用した特定の化合物の排泄速度；処置期間；使用される特定の化合物および当技術分野でよく知られている同様の因子と組み合わせてまたは同時に使用される薬物を含む様々な因子に依存する。投与量は変動する可能性があり、1日または数日間、毎日1回以上の投与で投与することができる。

【0157】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを指す。重鎖の可変ドメインは、「VH」と呼ばれる場合がある。軽鎖の可変ドメインは、「VL」と呼ばれる場合がある。これらのドメインは通常、抗体の最も可変性の高い部分であり、抗原結合部位（CDR）を含む。

【0158】

本明細書で使用される場合、用語「ベクター」は、プラスミド、DNAベクター、プラスミド、RNAベクター、ウイルス、または他の適切なレプリコンなどの核酸ベクターを含む。本明細書に記載の発現ベクターは、ポリヌクレオチド配列、ならびに、例えば、タンパク質の発現および／またはこれらのポリヌクレオチド配列の哺乳動物細胞のゲノムへの組み込みに使用される追加的配列要素を含み得る。本発明の抗体および抗体フラグメントの発現に用いることができる特定のベクターは、遺伝子転写を指示するプロモーターおよびエンハンサー領域などの調節配列を含有するプラスミドを含む。抗体および抗体フラグメントの発現のための他の有用なベクターは、これらの遺伝子の翻訳速度を増強するか、または遺伝子転写から生じるmRNAの安定性もしくは核外輸送を改善するポリヌクレオチド配列を含有する。これらの配列要素は、例えば、発現ベクターで運ばれる遺伝子の効率的な転写を指示するための、5'および3'非翻訳領域とポリアデニル化シグナル部

位とを含み得る。本明細書に記載の発現ベクターは、そのようなベクターを含む細胞を選択するためのマーカーをコードするポリヌクレオチドを含有し得る。適切なマーカーの例には、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、およびノウルセオトリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。

【0159】

本明細書で使用される場合、用語「アルキル」は、例えば、鎖中に1～20個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキル基を指す。アルキル基の例には、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、イソペンチル、*tert*-ペンチル、ヘキシル、イソヘキシルなどが挙げられる。

【0160】

本明細書で使用される場合、用語「アルキレン」は、直鎖または分岐鎖の二価アルキル基を指す。二価の位置は、アルキル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。アルキレンの例には、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレンなどが挙げられる。

【0161】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキル」は、例えば、鎖中に1～20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子（例えば、とりわけ酸素、窒素、または硫黄）を含有する直鎖または分岐鎖アルキル基を指す。

【0162】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルキル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルキル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0163】

本明細書で使用される場合、用語「アルケニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルケニル基を指す。アルケニル基の例には、ビニル、プロベニル、イソプロベニル、ブテニル、*tert*-ブチレニル、ヘキセニルなどが挙げられる。

【0164】

本明細書で使用される場合、用語「アルケニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価アルケニル基を指す。二価の位置は、アルケニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。アルケニレンの例には、エテニレン、プロベニレン、イソプロベニレン、ブテニレンなどが挙げられる。

【0165】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルケニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子（例えば、とりわけ酸素、窒素、または硫黄）を含有する直鎖または分岐鎖アルケニル基を指す。

【0166】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルケニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルケニル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルケニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0167】

本明細書で使用される場合、用語「アルキニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖アルキニル基を指す。アルキニル基の例には、プロパルギル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニルなどが挙げられる。

【0168】

本明細書で使用される場合、用語「アルキニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価アルキニル基を指す。二価の位置は、アルキニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0169】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキニル」は、例えば、鎖中に2～20個の炭素原子を有し、さらに鎖中に1個以上のヘテロ原子（例えば、とりわけ酸素、窒素、

または硫黄)を含有する直鎖または分岐鎖アルキニル基を指す。

【0170】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアルキニレン」は、直鎖または分岐鎖の二価ヘテロアルキニル基を指す。二価の位置は、ヘテロアルキニル鎖内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0171】

本明細書で使用される場合、用語「シクロアルキル」は、飽和であり、例えば、3～12個の炭素環原子を有する、単環式、または縮合、架橋、もしくはスピロ多環式環構造を指す。シクロアルキル基の例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスシクロ[3.1.0]ヘキサンなどが挙げられる。

【0172】

本明細書で使用される場合、用語「シクロアルキレン」は、二価のシクロアルキル基を指す。二価の位置は、環構造内の同じまたは異なる原子上にあり得る。シクロアルキレンの例には、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレンなどが挙げられる。

【0173】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキル」は、飽和であり、例えば、炭素原子と、例えば、とりわけ窒素、酸素、および硫黄から選択されるヘテロ原子とから選択される3～12個の環原子を環構造当たり有する、単環式、または縮合、架橋、もしくはスピロ多環式環構造を指す。環構造は、例えば、炭素、窒素、または硫黄の環員上に1つ以上のオキシ基を含有し得る。ヘテロシクロアルキルの例には、限定としてではなく例として、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル(ピペリジル)、テトラヒドロチオフエニル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビステトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、ペラジニル、キヌクリジニル、およびモルホリニルが含まれる。

【0174】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキレン」は、二価のヘテロシクロアルキル基を指す。二価の位置は、環構造内の同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0175】

本明細書で使用される場合、用語「アリール」は、例えば、6～19個の炭素原子を含有する単環式または多環式芳香環系を指す。アリール基には、フェニル、フルオレニル、ナフチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0176】

本明細書で使用される場合、用語「アリーレン」は、二価のアリール基を指す。二価の位置は、同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0177】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアリール」は、1つ以上の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素または硫黄である、単環式ヘテロ芳香族、または二環式もしくは三環式の縮合環ヘテロ芳香族基を指す。ヘテロアリール基には、以下が挙げられる：ピリジル、ピロリル、フリル、チエニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、ピラゾリル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、1,2,3-オキサジアゾリル、1,2,4-オキサジアゾリル、1,2,5-オキサジアゾリル、1,3,4-オキサジアゾリル、1,3,4-トリアジニル、1,2,3-トリアジニル、ベンゾフリル、[2,3-ジヒドロ]ベンゾフリル、イソベンゾフリル、ベンゾチエニル、ベンゾトリアゾリル、イソベンゾチエニル、インドリル、イソインドリル、3H-インドリル、ベンゾイミダゾリル、イミダゾ[1,2-a]ピリジル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、キノリジニル、キナゾリニル、フタラジニル、キノキサリニル、シンノリニル、ナフチリジニル、ピリド[3,4-b]ピリジル

、ピリド〔3, 2-b〕ピリジル、ピリド〔4, 3-b〕ピリジル、キノリル、イソキノリル、テトラゾリル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロキノリル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロイソキノリル、プリニル、プテリジニル、カルバゾリル、キサントニル、ベンゾキノリルなど。

【0178】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロアリーレン」は、二価ヘテロアリール基を指す。二価の位置は、同じまたは異なる原子上にあり得る。

【0179】

個々の置換基の定義によって特に制限されない限り、前述の化学的部位、例えば「アルキル」、「アルキレン」、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルキレン」、「アルケニル」、「アルケニレン」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルケニレン」、「アルキニル」、「アルキニレン」、「ヘテロアルキニル」、「ヘテロアルキニレン」、「シクロアルキル」、「シクロアルキレン」、「ヘテロシクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキレン」、「アリール」、「アリーレン」、「ヘテロアリール」、および「ヘテロアリーレン」基は、例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アルキルアリール、アルキルヘテロアリール、アルキルシクロアルキル、アルキルヘテロシクロアルキル、アミノ、アンモニウム、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノカルボニル、アルコキシカルボニル、ウレイド、カルバメート、アリール、ヘテロアリール、スルフィニル、スルホニル、アルコキシ、スルファニル、ハロゲン、カルボキシ、トリハロメチル、シアノ、ヒドロキシ、メルカプト、ニトロなどからなる群より選択される1～5個の置換基で任意に置換されていてもよい。典型的な置換基には、限定されることなく、 $-X$ 、 $-R$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-N^+(R)_3$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NCO$ 、 $-NCS$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NC(=O)H$ 、 $-NC(=O)R$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)N(R)_2$ 、 $-SO_3-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R$ 、 $-OS(=O)_2OR$ 、 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2N(R)_2$ 、 $-S(=O)R$ 、 $-OP(=O)(OH)_2$ 、 $-OP(=O)(OR)_2$ 、 $-P(=O)(OR)_2$ 、 $-PO_3$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-C(=S)R$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(=S)OR$ 、 $-C(=O)SR$ 、 $-C(=S)SR$ 、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)N(R)_2$ 、 $-C(=S)NH_2$ 、 $-C(=S)N(R)_2$ 、 $-C(=NH)NH_2$ 、および $-C(=NR)N(R)_2$ が含まれ、各Xは、それぞれの場合に独立して、F、Cl、Br、およびIからそれぞれ独立して選択され、各Rは、それぞれの場合に独立して、アルキル、アリール、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール、保護基およびプロドラッグ部分からそれぞれ独立して選択される。基が「任意に置換され」と記載されている場合はいつでも、その基は、それぞれの場合に独立して、上記の置換基の1つ以上で置換され得る。置換は、隣接官能置換基の閉環など、隣接置換基が閉環を受けて、例えば、閉環により形成されるラクタム、ラクトン、環状無水物、アセタール、ヘミアセタール、チオアセタール、アミナール、およびヘミアミナールを形成し、例えば、保護基を供給する状況を含み得る。

【0180】

特定のラジカル命名規則には、文脈に応じてモノラジカルまたはジラジカルのいずれかを含み得ることを理解されたい。例えば、置換基が分子の残りの部分への2つの結合点を必要とする場合、該置換基はジラジカルであると理解される。例えば、2つの結合点を必要とするアルキルとして識別される置換基には、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ などのジラジカルが含まれる。他のラジカル命名規則は、ラジカルが「アルキレン」、「アルケニレン」、「アリーレン」、「ヘテロシクロアルキレン」などのようなジラジカルであることを明確に示している。

【0181】

置換基がジラジカルとして示されている場合（即ち、分子の残りの部分への2つの結合点を有する場合）、別段の指定がない限り、該置換基は任意の方向性配置で結合され得る。

ことが理解されるべきである。

【発明を実施するための形態】

【0182】

本発明は、造血細胞によって発現される抗原に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドの投与により、移植片対宿主病（GVHD）および自己免疫疾患を予防および／または処置する方法を提供する。特定の実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、宿主対移植片病（HVGD）を含む同種移植片拒絶を予防または処置するために使用され得る。抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADCの投与は、同種骨髄移植などの同種移植後に宿主に対して反応性である外因性T細胞の集団の選択的枯渇をもたらすことができる。本発明は、GVHDおよび造血幹細胞移植療法から生じるものなどの自己免疫疾患を予防および処置するために、CD134またはCD278に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドを患者に投与することができるという発見に一部基づいており、抗CD134または抗CD278剤は、免疫細胞、特にアロ反応性T細胞を標的として破壊し、移植片が患者に受け入れられるようにする。本明細書に記載の方法および組成物は、一般的な免疫抑制薬を必要とせず、その結果、拒絶に少なくとも部分的に関与する細胞を特異的に標的としながら患者の免疫系が概してインタクトのままであるという点で有益である。

【0183】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンドの投与によるGVHDの予防と処置は、様々な臨床症状において現れる（例えば、McDonald, Blood. 127:1544-1440, 2016年、およびFlowers et al., Blood. 125:606-615頁を参照。それらの開示は、限定されないがそれぞれ急性および慢性GVHDの測定可能な臨床的特徴に関連するので、参照により本明細書に援用される。）。抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、またはADCの投与によるGVHDおよび自己免疫疾患の予防と処置は、様々な経験的測定に現れる。例えば、移植後の期間中における末梢血中のCD134+またはCD278+白血球の数をそれぞれ測定する、当技術分野で公知の蛍光活性化細胞選別（FACS）分析法によって、および／または骨髄穿刺液サンプル中のドナー細胞による骨髄細胞の回復を測定することによって、CD134+またはCD278+細胞の枯渇を決定することができる。レシピエントの末梢血中のインターフェロン- γ （IFN- γ ）産生T細胞の計数により、GVHDおよび自己免疫疾患に対する抗CD134または抗CD278の有効性を評価することができる。FACSで決定された免疫細胞集団の変化は、GVHDまたは自己免疫疾患を示すことができる。最後に、患者から採取した遺伝的およびプロテオミクスバイオマーカーも、GVHDまたは自己免疫疾患を示すことができる。

【0184】

以下のセクションでは、GVHDまたは自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがある患者に投与され得る抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンド、ならびにそのような治療薬を患者に投与する方法について説明する。

【0185】

（抗CD134抗体およびリガンド）

本発明は、CD134（OX40、OX40R、または腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4（TNFRSF4）とも呼ばれる）に結合できる抗体、その抗原結合フラグメント、抗体-薬物コンジュゲート（ADC）、または可溶性リガンドが、GVHDまたは自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがある患者において造血幹細胞からのGVHDを予防および処置するための治療薬として使用することができるという発見に一部基づいている。さらに、ヒトCD134LなどのCD134に結合するリガンドを治療薬として使用して、GVHDを患っているかまたはそのリスクがある患者を予防または処置できることが発見された。可溶性ヒトCD134などのこれらのリガンドは、例え

ば、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ADCC）を促進するために、Fcドメインなどのエフェクタードメインに共有結合させることができる。

【0186】

T細胞はCD134を発現することが示されており、この抗原は共刺激分子の膜貫通型TNF受容体スーパーファミリーであり、様々な造血細胞に発現し、T細胞の活性化を促進し、T細胞の増殖および生存を制御する（例えば、Cannons et al., J. Immunol. 167:1313-1324頁、2001年を参照。その開示は、T細胞によるCD134の発現に関連するため、参照により本明細書に援用される。）。抗体、その抗原結合フラグメント、およびリガンドは、当技術分野で公知であり本明細書に記載されている技術、例えば、免疫化、計算モデリング技術、ならびに以下に記載するファージディスプレイおよび細胞ベースのディスプレイプラットフォームなどのin vitro選択法を用いて同定することができる。

【0187】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD134抗体は、マウスモノクローナル抗CD134抗体Ber-Act35、またはBer-Act35抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD134抗体である。Ber-Act35（Biolegend、カタログ番号350004によって販売。Santa Cruz Biotechnology, Inc.、カタログ番号sc-20073（2019年1月18日付）も参照）。Ox40（Ber-Act35）は、HuT 102 T細胞に対して産生されたマウスモノクローナル抗体である。

【0188】

一実施形態では、抗CD134抗体は、抗CD134抗体Act35のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD134抗体Ber-Act35のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD134抗体は、ヒト化Ber-Act35抗体である。

【0189】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD134抗体は、マウスモノクローナル抗CD134抗体7D6、または7D6抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD134抗体である。7D6（Thermo Fisher Scientific、カタログ番号MA5-16548（2019年1月17日付）によって販売。BioRad, Inc. カタログ番号MCA2568GA（2019年1月18日付）も参照）。7D6は、CHO由来のネコCD134-Fc融合タンパク質に対して産生されたマウスモノクローナル抗体である。

【0190】

一実施形態では、抗CD134抗体は、抗CD134抗体7D6のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD134抗体7D6のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD134抗体は、ヒト化7D6抗体である。

【0191】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）で使用され得る抗CD134抗体は、ラットモノクローナル抗CD134抗体443318、または443318抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD134抗体である。443318（Novus、カタログ番号MAB3388-SP（2019年1月17日付）によって販売。ThermoFisher Scientific、カタログ番号MA5-23676（2019年1月18日付）も参照）。443318は、マウス骨髓腫細胞株NS0由来の組換えヒトOX40/TNFRSF4のLeu29-Ala216（受託番号P43489）に対して産生されたラットモノクローナル抗体（IgG2A）である。

【0192】

一実施形態では、抗CD134抗体は、抗CD134抗体443318のCDR1、C

DR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD134抗体443318のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用する抗CD134抗体は、ヒト化443318抗体である。

【0193】

他の実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（ADCを含む）と併せて使用され得る追加の抗CD134抗体およびその抗原結合フラグメントには、以下が含まれる：MEDI6469（AgonOx、Medimmune）、PF-04518600（ファイザー）、vonlilizumab（別名pogalizumab、MOXR0916、RG7888；ジェネンテック）、KHK4083（協和発酵キリン株式会社、キリンファーマ）、BMS 986178（ブリストル・マイヤーズスクイブ、ファイザー）、tavolimab（別名MEDI0562、MEDI-0562、tavolixizumab；Medimmune）、INCAGN1949（別名INCAGN01949；Agenus社、Incyte）、GBR 830（別名VH6/VL9；Glenmark）、ATOR-1015（別名ADC-1015；Alligator Bioscience）、GSK3174998（グラクソ・スミスクライン／MDアンダーソン癌センター）、MEDI6383（Medimmune）、MEDI1109（Medimmune）、IBI101（Innovent Biologics）、UCB社の特許anti-OX40（UCB S. A.）、テキサス大学の特許anti-OX40（別名Hu222；テキサス大学）、Cruce11社の特許抗OX40（Cruce11）、Janssen社の特許anti-OX40（Bioceros B. V.、Janssen Biotech Inc）、グラクソ社の特許anti-OX40（グラクソ・スミスクライン、メルク・アンド・カンパニー）、Spring Bioscience社の特許anti-OX40（ロシュ（エフ・ホフマン・ラ・ロシュ）、Spring Bioscience社）、ロシュの特許anti-OX40/FAP（ロシュ（エフ・ホフマン・ラ・ロシュ））、DingFu Biotarget社の特許anti-OX40（DingFu Biotarget Co. Ltd.）、Cancer Research Tech社の特許anti-OX40（Cancer Research Technology）、Agenus社の特許anti-GITR/OX40（Agenus社、ルードヴィヒがん研究所、スローン・ケタリング癌センター）、Inh1brx社の特許anti-PD-L1/OX40（Inh1brx LLC）、Alligator社の特許anti-OX40/X（Alligator Bioscience）、IGM Bio社の特許anti-OX40（IGM Biosciences）、Sorrento社の特許anti-OX40（Sorrento Therapeutics）、AbbVie社の特許anti-OX40（AbbVie, Inc.）、ロシュの特許anti-OX40/Tenascin C（ロシュ（エフ・ホフマン・ラ・ロシュ））、ロシュの特許anti-OX40/EpCAM（ロシュ（エフ・ホフマン・ラ・ロシュ））、およびAlligator社の特許anti-OX40/CTLA-4（Alligator Bioscience）。

【0194】

本明細書に開示される方法および組成物で使用する抗CD134抗体（本明細書に記載される細胞毒素との併用を含む）は、当該分野で公知の技術（例えば、ハイブリドーマ産生またはファージディスプレイ）を使用して同定され得る。ハイブリドーマは、マウスのシステムを使用して調製することができる。免疫化およびその後の融合のための脾細胞の単離のためのプロトコルは、当技術分野で知られている。融合パートナーとハイブリドーマ生成手順も知られている。ヒト抗CD134抗体は、HuMAb-Mouse（登録商標）またはXenomouse（商標）においても作製することができる。抗CD134抗体を作製する場合、CD134抗原は単離および／または精製される。CD134抗原は、CD134の細胞外ドメインに由来するCD134のフラグメントであり得る。動物の免疫化は、当技術分野で知られている任意の方法によって行うことができる。例え

ば、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual、ニューヨーク: Cold Spring Harbor Press、1990年を参照。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシおよびウマなどの動物を免疫化する方法は、当技術分野でよく知られている。例えば、上記のHarlow and Laneおよび米国特許第5,994,619号を参照。CD134抗原は、免疫応答を刺激するためにアジュバントと共に投与され得る。当技術分野で公知のアジュバントには、完全または不完全フロイントアジュバント、RIBI（ムラミルジペプチド）、またはISCOM（免疫刺激複合体）が含まれる。動物をCD134抗原で免疫化した後、免疫化した動物から単離された細胞から抗体産生不死化細胞株を調製する。免疫化後、動物を犠牲にし、リンパ節および／または脾臓B細胞を当技術分野で公知の方法（例えば、癌遺伝子導入、発癌性ウイルスの形質導入、発癌性または変異化合物への曝露、不死化細胞（骨髓腫細胞など）との融合、および腫瘍抑制遺伝子の不活性化）により不死化する。例えば、上記のHarlow and Laneを参照。ハイブリドーマを選択し、クローン化し、高増殖、高い抗体産生、および所望の抗体特性を含む所望の特性についてさらにスクリーニングすることができる。

【0195】

抗CD134抗体は、本開示によって提供されるCD134結合分子のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子から生成され得る。ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列は抗体の任意の部分、例えば、CDR、1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含む配列、重鎖の可変領域、軽鎖の可変領域であってもよく、または全長の重鎖もしくは全長の軽鎖であってもよい。本開示の核酸は、例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。典型的には、核酸はcDNA分子である。

【0196】

抗体および抗原結合フラグメントに加えて、ヒトCD134リガンドなどの可溶性CD134リガンドを、造血幹細胞移植療法の前に患者をコンディショニングするために、本明細書に記載の方法に従って患者に投与することができる。例えば、ヒトCD134リガンドなどのCD134リガンドを、（例えば、以下に記載するか、または当技術分野で公知の方法に従って）細胞毒素にまたはFcドメインなどの別のエフェクター分子にコンジュゲートすることができる。本明細書に記載の方法で使用するためのメイタンシン細胞毒素には、例えば、ヒトCD134リガンドーIgG1 Fcコンジュゲート、ヒトCD134リガンドーIgG2 Fcコンジュゲート、ヒトCD134リガンドーIgG3 Fcコンジュゲート、ヒトCD134リガンドーIgG4 Fcコンジュゲート、ヒトCD134リガンドーIgA Fcコンジュゲート、ヒトCD134リガンドーIgE Fcコンジュゲート、ヒトCD134リガンドーIgM Fcコンジュゲート、およびヒトCD134リガンドーIgD Fcコンジュゲートが含まれる。

【0197】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて使用するための抗体およびリガンドには、Fcドメインを含むかまたは欠く抗体フラグメントなどの上記の抗体のバリエーション、ならびに本明細書に記載の抗体、抗体フラグメントまたは可溶性リガンドのCDRまたはその等価領域の1つ以上または全てを含む、本明細書に記載の非ヒト抗体のヒト化バリエーションおよび抗体様タンパク質スキュフォールド（例えば、¹⁰Fn3ドメイン）が挙げられる。前述の抗体の例示的な抗原結合フラグメントには、とりわけ、二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖Fv分子（scFv）、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキュフォールド、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムdi-scFvが挙げられる。

【0198】

本発明の抗体は、例えば（Dall'Aquila et al.（2006年）J Biol Chem 281:23514-24頁）、（Zallevsky et al.（2010年）Nat Biotechnol 28:157-9頁）、（Hinton

et al. (2004年) J Biol Chem 279:6213-6頁)、(Hinton et al. (2006年) J Immunol 176:346-56頁)、(Shields et al. (2001年) J Biol Chem 276:6591-604頁)、(Petkova et al. (2006年) Int Immunol 18:1759-69頁)、(Datta-Mannan et al. (2007年) Drug Metab Dispos 35:86-94頁)、(Vacaro et al. (2005年) Nat Biotechnol 23:1283-8頁)、(Yeung et al. (2010年) Cancer Res 70:3269-77頁)、および(Kim et al. (1999年) Eur J Immunol 29:2819-25頁)に記載されているものなどの追加のFc変異を導入することにより、抗体半減期をさらに調節するように操作され得、250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434および435位を含む。単独でまたは組み合わせて行うことができる例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257L、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A、およびH435R変異である。

【0199】

前述の抗CD134抗体またはその抗原結合フラグメントは、例えば、ヒト対象におけるCD134+細胞の枯渇のための方法を含む、本明細書に記載される本発明の様々な態様において使用され得る。前述の抗CD134抗体またはその抗原結合フラグメントはまた、本明細書に記載されるように、薬剤、例えば細胞毒素（例えば、アマトキシン）にコンジュゲートされ得る。

【0200】

(抗CD278抗体)

本発明はさらに、CD278 (ICOS、AILIM、活性化誘導性リンパ球免疫調節分子とも呼ばれる) に結合できる抗体、その抗原結合フラグメント、抗体-薬物コンジュゲート (ADC)、または可溶性リガンドが、GVHDまたは自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがある患者において造血幹細胞からのGVHDを予防および処置するための治療薬として使用することができるという発見に一部基づいている。

【0201】

CD278またはICOS (誘導性T細胞共刺激因子 (Inducible T-cell COStimulator)) は、活性化T細胞で発現するCD28スーパーファミリー共刺激分子である。CD278は、CD28およびCTLA-4細胞表面受容体ファミリーに属し、細胞間シグナル伝達、免疫応答、および細胞増殖の制御において重要な役割を果たしている。

【0202】

一実施形態では、抗CD278抗体は、抗CD278抗体DX29のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する重鎖、ならびに抗CD134抗体DX29のCDR1、CDR2およびCDR3を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用される抗CD278抗体は、ヒト化DX29抗体である。

【0203】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物 (ADCを含む) で使用され得る抗CD278抗体は、マウスモノクローナル抗CD278抗体DX29、またはDX29抗体に対応する抗原結合領域を含む抗CD278抗体である。DX29 (BD Biosciences、カタログ番号557801 (2019年1月17日付) によって販売) ; Fisher Scientific、カタログ番号BDB557802 (2019年1月18日付) も参照。DX29は、活性化ヒトT細胞に対して産生されたマウスモノクローナル抗体である。

【0204】

一実施形態では、抗CD278抗体は、抗CD278抗体669238のCDR1、C

D R 2 および C D R 3 を含有する重鎖、ならびに抗 C D 1 3 4 抗体 6 6 9 2 3 8 の C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法で使用する抗 C D 2 7 8 抗体は、ヒト化 6 6 9 2 3 8 抗体である。

【0205】

一実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（A D C を含む）で使用され得る抗 C D 2 7 8 抗体は、マウスモノクローナル抗 C D 2 7 8 抗体 D X 2 9、または 6 6 9 2 3 8 抗体に対応する抗原結合領域を含む抗 C D 2 7 8 抗体である。6 6 9 2 3 8（Novus、カタログ番号 M A B 6 9 7 5 1 - S P によって販売。F i s h e r S c i e n t i f i c、カタログ番号 M A B 6 9 7 5 2（2019年1月18日付）も参照）。6 6 9 2 3 8 は、部分組換えヒト I C O S タンパク質（アミノ酸 2 1 ~ 1 4 1）[U n i P r o t Q 9 Y 6 W 8] に対して産生されたマウスモノクローナル抗体である。

【0206】

他の実施形態では、本明細書に記載の方法および組成物（A D C を含む）と併せて使用され得る追加の抗 C D 2 7 8 抗体およびその抗原結合フラグメントには、以下が含まれる：M E D I - 5 7 0（別名 J M a b - 1 3 6；M e d i m m u n e）、G S K 3 3 5 9 6 0 9（別名 8 8 - 2、5 3 - 3、9 2 - 1 7、I g G 4 P E；グラクソ・スミスクライン、I N S E R M）、v o p r a t e l i m a b（別名 J T X - 2 0 1 1；J o u n c e T h e r a p e u t i c s）、X m A b 2 3 1 0 4（X e n c o r 社）、K Y 1 0 4 4（K y m a b 社）、日本たばこの特許 a n t i - I C O S（日本たばこ産業株式会社）、K y m a b 社の特許 a n t i - I C O S（K y m a b 社）、およびブリストル・マイヤーズスクイブの特許 a n t i - I C O S（ブリストル・マイヤーズスクイブ）。

【0207】

本明細書に記載の細胞毒素と組み合わせて使用され得る抗 C D 2 7 8 抗体は、当該分野で公知の技術（例えば、ハイブリドーマ産生）を使用して同定することができる。ハイブリドーマは、マウスのシステムを使用して調製することができる。免疫化およびその後の融合用の脾細胞の単離のためのプロトコルは、当技術分野で知られている。融合パートナーとハイブリドーマ生成手順も知られている。ヒト抗 C D 2 7 8 抗体は、H u M A b - M o u s e（登録商標）または X e n o M o u s e（商標）においても作製することができる。抗 C D 2 7 8 抗体を作製する際、C D 2 7 8 抗原は単離および／または精製される。C D 2 7 8 抗原は、C D 2 7 8 の細胞外ドメインに由来する C D 2 7 8 のフラグメントであり得る。動物の免疫化は、当技術分野で知られている任意の方法によって行うことができる。例えば、H a r l o w a n d L a n e, A n t i b o d i e s : A L a b o r a t o r y M a n u a l、ニューヨーク：C o l d S p r i n g H a r b o r P r e s s、1 9 9 0 年を参照。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシおよびウマなどの動物を免疫化する方法は、当技術分野でよく知られている。例えば、上記の H a r l o w a n d L a n e および米国特許第 5, 9 9 4, 6 1 9 号を参照。C D 2 7 8 抗原は、免疫応答を刺激するためにアジュバントと共に投与され得る。当技術分野で公知のアジュバントには、完全または不完全フロイントアジュバント、R I B I（ムラミルジペプチド）、または I S C O M（免疫刺激複合体）が含まれる。動物を C D 2 7 8 抗原で免疫化した後、免疫化した動物から単離された細胞から抗体産生不死化細胞株を調製する。免疫化後、動物を犠牲にし、リンパ節および／または脾臓 B 細胞を当技術分野で公知の方法（例えば、癌遺伝子導入、発癌性ウイルスの形質導入、発癌性または変異化合物への曝露、不死化細胞（骨髄腫細胞など）との融合、および腫瘍抑制遺伝子の不活性化）により不死化する。例えば、上記の H a r l o w a n d L a n e を参照。ハイブリドーマを選択し、クローン化し、高増殖、高い抗体産生、および所望の抗体特性を含む所望の特性についてさらにスクリーニングすることができる。

【0208】

抗 C D 2 7 8 抗体は、本開示によって提供される C D 2 7 8 結合分子のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子から生成され得る。ヌクレオチド

配列によってコードされるアミノ酸配列は抗体の任意の部分、例えば、CDR、1つ、2つ、もしくは3つのCDRを含む配列、重鎖の可変領域、軽鎖の可変領域であってよく、または全長の重鎖もしくは全長の軽鎖であってもよい。本開示の核酸は、例えば、DNAまたはRNAであり得、イントロン配列を含んでも含まなくてもよい。典型的には、核酸はcDNA分子である。

【0209】

抗体および抗原結合フラグメントに加えて、ヒトCD278リガンドなどの可溶性CD278リガンドを、例えば造血幹細胞移植療法後の同種移植片拒絶を予防するために、本明細書に記載の方法に従って患者に投与することができる。例えば、ヒトCD278リガンドなどのCD278リガンドを、（例えば、以下に記載するか、または当技術分野で公知の方法に従って）細胞毒素にまたはFcドメインなどの別のエフェクター分子にコンジュゲートすることができる。本明細書に記載の方法で使用するためのメイタンシン細胞毒素には、例えば、ヒトCD278リガンド-IgG1-Fcコンジュゲート、ヒトCD278リガンド-IgG2-Fcコンジュゲート、ヒトCD278リガンド-IgG3-Fcコンジュゲート、ヒトCD278リガンド-IgG4-Fcコンジュゲート、ヒトCD278リガンド-IgA-Fcコンジュゲート、ヒトCD278リガンド-IgE-Fcコンジュゲート、ヒトCD278リガンド-IgM-Fcコンジュゲート、およびヒトCD278リガンド-IgD-Fcコンジュゲートが含まれる。

【0210】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて使用するための抗体およびリガンドには、Fcドメインを含むかまたは欠く抗体フラグメントなどの上記の抗体のバリエーション、ならびに本明細書に記載の抗体、抗体フラグメントまたは可溶性リガンドのCDRまたはその等価領域の1つ以上または全てを含む、本明細書に記載の非ヒト抗体のヒト化バリエーションおよび抗体様タンパク質スキフォールド（例えば、¹⁰Fn3ドメイン）が挙げられる。前述の抗体の例示的な抗原結合フラグメントには、とりわけ、二重可変免疫グロブリンドメイン、一本鎖Fv分子（scFv）、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スキフォールド、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂分子、およびタンデムdi-scFvが挙げられる。

【0211】

本発明の抗体は、例えば（Dall'Acqua et al. (2006年) J Biol Chem 281:23514-24頁）、（Zalevsky et al. (2010年) Nat Biotechnol 28:157-9頁）、（Hinton et al. (2004年) J Biol Chem 279:6213-6頁）、（Hinton et al. (2006年) J Immunol 176:346-56頁）、（Shields et al. (2001年) J Biol Chem 276:6591-604頁）、（Petkova et al. (2006年) Int Immunol 18:1759-69頁）、（Datta-Mannan et al. (2007年) Drug Metab Dispos 35:86-94頁）、（Vaccaro et al. (2005年) Nat Biotechnol 23:1283-8頁）、（Yeung et al. (2010年) Cancer Res 70:3269-77頁）、および（Kim et al. (1999年) Eur J Immunol 29:2819-25頁）に記載されているものなどの追加のFc変異を導入することにより、抗体半減期をさらに調節するように操作され得、250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434および435位を含む。単独でまたは組み合わせて行うことができる例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257L、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A、およびH435R変異である。

【0212】

前述の抗CD278抗体またはその抗原結合フラグメントは、例えば、ヒト対象におけ

るCD278+細胞の枯渇のための方法を含む、本明細書に記載される本発明の様々な態様において使用され得る。前述の抗CD278抗体またはその抗原結合フラグメントはまた、本明細書に記載されるように、薬剤、例えば細胞毒素（例えば、アマトキシシン）にコンジュゲートされ得る。

【0213】

抗CD134もしくは抗CD278抗体または本明細書に記載の結合フラグメントはまた、当該分野で公知であるように、半減期を増加させるもの、ADCCを増加または減少させるものなど、抗体および／またはフラグメントの特性を変化させる改変および／または変異を含み得る。

【0214】

一実施形態では、抗CD134もしくは抗CD278抗体またはその結合フラグメントはバリエーションFc領域を含み、前記バリエーションFc領域は、野生型Fc領域と比較して少なくとも1つのアミノ酸改変を含み、その結果、前記分子は、FcγR（FcγR）に対する親和性が変化している。Fc領域内の特定のアミノ酸位置は、結晶学研究によりFcγRと直接接触することが知られている。具体的には、アミノ酸234-239（ヒンジ領域）、アミノ酸265-269（B/Cループ）、アミノ酸297-299（C'/Eループ）、およびアミノ酸327-332（F/G）ループ（Sondermann et al., 2000年 Nature, 406:267-273頁を参照）。したがって、本明細書に記載の抗CD134抗体または抗CD278抗体はバリエーションFc領域を含み得、当該バリエーションFc領域は構造的および結晶学的分析に基づいてFcγRと直接接触する少なくとも1つの残基の改変を含む。一実施形態では、抗CD134抗体または抗CD278抗体（またはそれらのフラグメント）のFc領域は、参照により本明細書に明示的に援用されるKabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版 Public Health Service, NH1、メリーランド州（1991年）のEUインデックスに従って、アミノ酸265にアミノ酸置換を含む。「KabataのEUインデックス」は、ヒトIgG1 EU抗体のナンバリングを指す。EUインデックスまたはKabataのEUインデックスまたはEUNanberringsスキームは、EU抗体のナンバリングを指す（参照によりその全体が本明細書に援用されるEdelman et al., 1969年, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85頁）。一実施形態では、Fc領域はD265A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含む。いくつかの実施形態では、抗CD134抗体または抗CD278抗体（またはそれらのフラグメント）のFc領域は、KabataのEUインデックスに従って、アミノ酸234にアミノ酸置換を含む。一実施形態では、Fc領域は、L234A変異を含む。いくつかの実施形態では、抗CD134抗体または抗CD278抗体（またはそれらのフラグメント）のFc領域は、KabataのEUインデックスに従って、アミノ酸235にアミノ酸置換を含む。一実施形態では、Fc領域はL235A変異を含む。さらに別の実施形態では、Fc領域は、L234AおよびL235A変異を含む。さらなる実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235A変異を含む。

【0215】

特定の態様では、バリエーションIgG Fcドメインは、1つ以上のアミノ酸置換を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcγRおよび／またはClqに対する結合親和性の低下または消失をもたらす1つ以上のアミノ酸置換を含む。Fc結合相互作用は、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ADCC）および補体依存性細胞傷害（CDC）を含むがこれらに限定されない、様々なエフェクター機能および下流のシグナル伝達イベントに不可欠である。したがって、特定の態様では、改変されたFc領域を含む（例えば、L234A、L235A、およびD265C変異を含む）抗体は、実質的に低減または無効化されたエフェクター機能を有する。

【0216】

Fc領域に対する親和性は、当技術分野で公知の様々な技術、例えば、限定されないが、平衡法（例えば、酵素免疫測定法（ELISA）；KinExA、Rathanaswami et al. Analytical Biochemistry、373巻：52-60頁、2008年；またはラジオイムノアッセイ（RIA））、または表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のメカニズムの速度論に基づくアッセイ（BIACORE（商標）分析またはOctet（商標）分析（forteBIO））、および間接結合アッセイ、競合結合アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲルろ過）などの他の方法を使用して決定することができる。これらおよび他の方法は、検査されている成分の1つ以上に対する標識を利用し、かつ／または発色、蛍光、発光、または同位体標識を含むがこれらに限定されない様々な検出方法を使用し得る。結合親和性および反応速度論の詳細な説明は、抗体-免疫原の相互作用に焦点を当てているPaul, W. E., ed., Fundamental Immunology、第4版、Lippincott-Raven、フィラデルフィア（1999年）に見出すことができる。競合結合アッセイの一例は、増加する量の非標識抗原の存在下における標識された抗原と目的の抗体とのインキュベーションと、標識された抗原に結合した抗体の検出とを含むラジオイムノアッセイである。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフ速度（binding off-rate）は、スキッチャードプロット分析によってデータから決定することができる。二次抗体との競合は、ラジオイムノアッセイを使用して決定することもできる。この場合、抗原は、増加する量の非標識二次抗体の存在下で、標識された化合物にコンジュゲートされた目的の抗体とインキュベートされる。

【0217】

本明細書に記載の抗体は、追加のFc変異を導入することによって抗体半減期をさらに調節するようにさらに操作され得、当該追加のFc変異は、例えば（Dall'Acqua et al.（2006年）J Biol Chem 281:23514-24頁）、（Zallevsky et al.（2010年）Nat Biotechnol 28:157-9頁）、（Hinton et al.（2004年）J Biol Chem 279:6213-6頁）、（Hinton et al.（2006年）J Immunol 176:346-56頁）、（Shields et al.（2001年）J Biol Chem 276:6591-604頁）、（Petkova et al.（2006年）Int Immunol 18:1759-69頁）、（Datta-Mannan et al.（2007年）Drug Metab Dispos 35:86-94頁）、（Vaccaro et al.（2005年）Nat Biotechnol 23:1283-8頁）、（Yeung et al.（2010年）Cancer Res 70:3269-77頁）および（Kim et al.（1999年）Eur J Immunol 29:2819-25頁）に記載されており、250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434および435位を含む。単独でまたは組み合わせて作製され得る例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257L、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A、およびH435R変異である。

【0218】

したがって、一実施形態では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす変異を含む。半減期が短い抗体は、抗体が短命の治療薬として機能すると予想される特定の場合に有利であり得る。一実施形態では、Fc領域は435位（KabattによるEUインデックス）に変異を含む。一実施形態では、変異はH435A変異である。

【0219】

一実施形態では、本明細書に記載される抗CD134抗体または抗CD278抗体は、24時間以下の半減期、22時間以下の半減期、20時間以下の半減期、18時間以下の半減期、16時間以下の半減期、14時間以下の半減期、13時間以下の半減期、12時

間以下の半減期、または11時間以下の半減期を有する。一実施形態では、抗体の半減期は11時間～24時間、12時間～22時間、10時間～20時間、8時間～18時間、または14時間～24時間である。

【0220】

いくつかの態様では、Fc領域は、半減期の減少をもたらし、抗体のエフェクター機能を大幅に減少させるかまたは完全になくす2つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす変異、および（例えば、構造的および結晶学的分析に基づいて）FcγRと直接接触することができる少なくとも1つの残基の変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、H435A変異、L234A変異、およびL235A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、H435A変異およびD265C変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、H435A変異、L234A変異、L235A変異、およびD265C変異を含む。

【0221】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、抗体またはその抗原結合フラグメントのFcドメインにおけるシステイン残基によって細胞毒素（例えば、アマトキシン）にコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、システイン残基は、抗体またはその抗原結合フラグメントのFcドメインにおける変異によって導入される。例えば、システイン残基は、Cys118、Cys239、およびCys265からなる群から選択され得る。一実施形態では、抗CD134抗体または抗CD278抗体（またはそれらのフラグメント）のFc領域は、KababのEUインデックスに従って、アミノ酸265にアミノ酸置換を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265CおよびH435A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235A変異を含む。一実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435A変異を含む。

【0222】

これらの態様のいくつかの実施形態では、システイン残基は、抗体またはその抗原結合フラグメントのFcドメインに天然に存在する。例えば、Fcドメインは、ヒトIgG1 FcドメインなどのIgG Fcドメインであり得、システイン残基は、Cys261、Cys321、Cys367、およびCys425からなる群から選択され得る。

【0223】

本明細書に記載のバリエーションFcドメインは、それらを構成するアミノ酸改変に従って定義される。Fc領域に関して本明細書で説明するすべてのアミノ酸置換について、ナンバリングは常にEUインデックスに従う。したがって、例えば、D265Cは、親Fcドメインに対して、EU位置265のアスパラギン酸（D）がシステイン（C）で置換されたFcバリエーションである。同様に、例えば、D265C/L234A/L235Aは、親Fcドメインに対して、EU位置265（DからC）、234（LからA）、および235（LからA）に置換を有するFcバリエーションを定義する。バリエーションはまた、変異EUアミノ酸位置におけるその最終的なアミノ酸組成に従って指定することができる。例えば、L234A/L235A変異体はLALAと呼ばれる。置換が提供される順序は任意であることに留意されたい。

【0224】

（抗体の同定方法）

CD134またはCD278に結合することができる抗体、抗体フラグメントおよび分子のリガンドのライブラリーのハイスループットスクリーニングのための方法は、例えばGVHDまたは自己免疫疾患を予防および処置するのに有用な薬剤を同定し、その親和性を成熟化させるために使用され得る。そのような方法には、とりわけファージディスプレイ、細菌ディスプレイ、酵母ディスプレイ、哺乳動物細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、mRNAディスプレイ、およびcDNAディスプレイなどの当該技術分野で知られているin vitroディスプレイ技術が挙げられる。生物学的に関連のある分子に結合する抗体、抗原結合フラグメントまたはリガンドを単離するためのファージディス

プレイの使用は、例えば、F e l i c i e t a l . , B i o t e c h n o l . A n n u a l R e v . 1 : 1 4 9 - 1 8 3 頁、1 9 9 5 年 ; K a t z , A n n u a l R e v . B i o p h y s . B i o m o l . S t r u c t . 2 6 : 2 7 - 4 5 頁、1 9 9 7 年 ; および H o o g e n b o o m e t a l . , I m m u n o t e c h n o l o g y 4 : 1 - 2 0 頁、1 9 9 8 年にレビューされており、これらの各々の開示は、*in vitro*ディスプレイ技術に関連するため、参照により本明細書に援用される。K a y , P e r s p e c t . D r u g D i s c o v e r y D e s . 2 : 2 5 1 - 2 6 8 頁、1 9 9 5 年および K a y e t a l . , M o l . D i v e r s . 1 : 1 3 9 - 1 4 0 頁、1 9 9 6 年に記載されているように、細胞表面抗原に結合するポリペプチドを選択するために、ランダム化コンビナトリアルペプチドライブラリーが構築されており、これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見に関連するため、参照により本明細書に援用される。多量体タンパク質などのタンパク質は、機能的分子として首尾よくファージディスプレイされている（例えば、E P 0 3 4 9 5 7 8 ; E P 4 5 2 7 8 3 9 ; および E P 0 5 8 9 8 7 7、ならびに C h i s w e l l a n d M c C a f f e r t y , T r e n d s B i o t e c h n o l . 1 0 : 8 0 - 8 4 頁、1 9 9 2 年を参照し、それらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のための *in vitro*ディスプレイ技術の使用に関連するため、参照により本明細書に援用される）。さらに、F a b フラグメントおよび s c F V フラグメントなどの機能的抗体フラグメントは、*in vitro*ディスプレイフォーマットで発現されている（例えば、M c C a f f e r t y e t a l . , N a t u r e 3 4 8 : 5 5 2 - 5 5 4 頁、1 9 9 0 年 ; B a r b a s e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 8 : 7 9 7 8 - 7 9 8 2 頁、1 9 9 1 年 ; および C l a c k s o n e t a l . , N a t u r e 3 5 2 : 6 2 4 - 6 2 8 頁、1 9 9 1 年を参照し、これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のための *in vitro*ディスプレイ技術の使用に関連するため、参照により本明細書に援用される）。ヒト抗 C D 1 3 4 抗体またはヒト抗 C D 2 7 8 抗体はまた、例えば H u M A b - M o u s e（登録商標）または X e n o M o u s（商標）において生成することができる。これらの技術は、とりわけ、C D 1 3 4 または C D 2 7 8 に結合する抗体、抗体フラグメントおよびリガンドの親和性を同定および改善するために使用され得、当該抗体、抗体フラグメントおよびリガンドは次いで、患者において造血幹細胞を枯渇させるために使用され得る。

【0225】

*In vitro*ディスプレイ技術に加えて、例えば、U S 2 0 1 3 / 0 2 8 8 3 7 3 に記載されている手順を使用して、*in silico*で抗 C D 1 3 4 または抗 C D 2 7 8 抗体、抗体フラグメント、およびリガンドを設計および識別するために、計算モデリング技法を使用することができ、その開示は、抗 C D 1 3 4 または抗 C D 2 7 8 抗体を同定するための分子モデリング法に関連するため、本明細書に援用される。例えば、計算モデリング技法を使用して、当業者は、それぞれ C D 1 3 4 または C D 2 7 8 の細胞外エピトープなどの C D 1 3 4 または C D 2 7 8 上の特定のエピトープに結合できる分子について、抗体、抗体フラグメント、およびリガンドのライブラリーを *in silico*でスクリーニングすることができる。

【0226】

細胞（例えば、T 細胞）の表面上の C D 1 3 4 または C D 2 7 8 に結合し、例えば、受容体媒介エンドサイトーシスによって該細胞によって内在化される抗体、その抗原結合フラグメントおよびリガンドを同定するために、さらなる技術を使用することができる。例えば、造血幹細胞の表面上の C D 1 3 4 または C D 2 7 8 に結合し、その後内在化される抗体、その抗原結合フラグメントおよびリガンドについてスクリーニングするために、上記の *in vitro*ディスプレイ技術を適合させることができる。ファージディスプレイは、このスクリーニングパラダイムと併せて使用することができるそのような技術の 1 つを表す。C D 1 3 4 または C D 2 7 8 に結合し、続いて造血幹細胞によって内在化される抗 C D 1 3 4 抗体または抗 C D 2 7 8 抗体、そのフラグメント、およびリガンドを同定

するために、当業者は、Williams et al., Leukemia 19: 1432-1438頁、2005年に記載のファージディスプレイ技術を使用することができ、当該文献の開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。例えば、当該技術分野で知られている突然変異誘発法を用いて、とりわけ抗体、抗体フラグメント、例えばscFvフラグメント、Fabフラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、および¹⁰Fn3ドメインなど、またはランダム化アミノ酸カセット（例えば、CDRもしくはその等価領域のうちの1つ以上、もしくは全部、または抗体もしくは抗体フラグメント）を含有するリガンドをコードする組み換えファージライブラリーを作製することができる。フレームワーク領域、ヒンジ、Fcドメイン、および抗体または抗体フラグメントの他の領域は、例えば、ヒト生殖細胞系列抗体配列またはヒト生殖細胞系列抗体に対してわずかな変異のみを示す配列を有することによって、ヒトにおいて非免疫原性であるように設計され得る。

【0227】

本明細書に記載のまたは当該技術分野で知られているファージディスプレイ技術を用いて、ファージ粒子に共有結合したランダム化された抗体、抗体フラグメントまたはリガンドを含むファージライブラリーを、CD134抗原またはCD278抗原とインキュベートすることができ、それは、例えば、最初に、ファージライブラリーをブロッキング剤（例えば、乳タンパク質、ウシ血清アルブミン、および／またはIgGなど）とインキュベートし、非特異的タンパク質結合を示す抗体、そのフラグメントまたはリガンドをコードするファージと、Fcドメインに結合する抗体またはそのフラグメントをコードするファージを除去し、次いでファージライブラリーをCD134+またはCD278+である造血幹細胞の集団とインキュベートすることによる。CD134特異的抗体、その抗原結合フラグメントまたはリガンドが細胞表面CD134またはCD278に結合し、その後、造血幹細胞によって内在化されるのを可能するのに十分な時間、ファージライブラリーを造血幹細胞とインキュベートすることができる（例：4℃で30分～6時間、例えば4℃で1時間）。造血幹細胞への結合および造血幹細胞による内在化を可能にするのに十分なCD134またはCD278に対する親和性を示さない抗体、そのフラグメントまたはリガンドを含有するファージは、その後、例えばpH2.8の冷（4℃）0.1Mグリシン緩衝液で細胞を洗浄することによって除去され得る。造血幹細胞によって内在化された抗体、そのフラグメントまたはリガンドに結合したファージは、例えば、細胞を溶解し、内在化されたファージを細胞培養培地から回収することによって同定することができる。次いで、ファージは、例えば、当該技術分野で知られている方法を用いて、2×YT培地中で細菌細胞を回収されたファージとインキュベートすることによって、細菌細胞中で増幅させることができる。次いで、この培地から回収されたファージは、例えば、ファージゲノム内に挿入された抗体、そのフラグメントまたはリガンドをコードする遺伝子（単数または複数）の核酸配列を決定することによって、特性評価することができる。コードされた抗体、そのフラグメントまたはリガンドは、その後、（例えば、scFvフラグメントなどの抗体フラグメントまたはCD134もしくはCD278リガンドの）化学合成によって、または（例えば、全長抗体の）組み換え発現によってde novoで調製され得る。

【0228】

調製された抗体、そのフラグメント、またはリガンドの内在化能力は、例えば当該技術分野で知られている放射性核種内在化アッセイを用いて評価することができる。例えば、本明細書に記載されているかまたは当該技術分野で知られているin vitroディスプレイ技術を使用して同定された抗CD134抗体もしくは抗CD278抗体、それらのフラグメント、またはリガンドは、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At、⁶⁷Ga、¹¹¹In、⁹⁹Tc、¹⁶⁹Yb、¹⁸⁶Re、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、¹⁷⁷Lu、⁷⁷As、⁷²As、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、²¹²Bi、²¹³Bi、または²²⁵Acなどの放射性同位元素の組み込みによって機能化され得る。例えば、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、

^{125}I 、 ^{125}I 、 ^{125}I 、 ^{125}I 、 ^{125}I 、 ^{125}I 、 ^{125}I 、 ^{125}I などの放射性ハロゲンを、求電子性ハロゲン試薬を含有するポリスチレンビーズなどのビーズ（例えば、ヨウ素化ビーズ、サーモフィッシャーサイエンティフィック社、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を用いて、抗体、そのフラグメント、またはリガンドに組み込むことができる。放射標識された抗体、そのフラグメント、ADC、またはリガンドを、内在化を可能にするのに十分な時間（例：4℃で30分～6時間、例えば4℃で1時間）、造血幹細胞とインキュベートすることができる。次いで、細胞を洗浄して、内在化されなかった抗体またはそのフラグメントを除去することができる（例えば、pH 2.8の冷（4℃）0.1 M グリシン緩衝液を使用して）。内在化された抗体、そのフラグメント、またはリガンドは、回収された洗浄緩衝液から放出される放射線（例えば、 γ 線）と比較して、得られた造血幹細胞から放出される放射線（例えば、 γ 線）を検出することによって同定され得る。前述の内在化アッセイは、ADCの特性評価にも使用することができる。

【0229】

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているように、組換え法および組換え組成物を使用して産生することができる。一実施形態では、本明細書に記載される抗CD134抗体または抗CD278抗体をコードする単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列および／またはVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態では、宿主細胞は以下を含む（例えば、以下で形質転換されている）：（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列および抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクターと、抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクター。一実施形態では、宿主細胞は真核生物、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（Y0、NS0、Sp20細胞など）である。一実施形態では、抗CLL-1抗体を作製する方法が提供され、この方法は、上記のように、抗体の発現に適した条件下で抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することと、任意に宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から抗体を回収することを含む。

【0230】

抗CD134抗体または抗CD278抗体の組換え産生のために、例えば上記のように、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞におけるさらなるクローニングおよび／または発現のために1つ以上のベクターに挿入される。そのような核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離および配列決定することができる。

【0231】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化とFcエフェクター機能が不要な場合に、細菌内で産生され得る。細菌における抗体フラグメントおよびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、第5,789,199号、および第5,840,523号を参照されたい（大腸菌における抗体フラグメントの発現について説明のあるCharlton, Methods in Molecular Biology, 248巻（B. K. C. Lo, ed., Humana Press, トトワ、ニュージャージー州、2003年）、245-254頁も参照）。発現後、抗体は細菌細胞ペーストから可溶性画分に単離され得、さらに精製することができる。

【0232】

脊椎動物細胞も宿主として使用され得る。例えば、懸濁液（suspension）中で増殖するように適合された哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞

株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7)；ヒト胎児腎臓株(例えば、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59(1977年)に記載されている293または293細胞)；ベビーハムスター腎細胞(BHK)；マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251頁(1980年)に記載されているTM4細胞)；サル腎細胞(CV1)；アフリカミドリザル腎細胞(VERO-76)；ヒト子宮頸がん細胞(HELA)；イヌ腎細胞(MDCK)；バッファローラット肝細胞(BRL 3A)；ヒト肺細胞(W138)；ヒト肝細胞(Hep G2)；マウス乳腺腫瘍(MMT 060562)；例えばMather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68頁(1982年)に記載されているTRI細胞；MRC 5細胞；およびFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980年))；およびY0、NS0、Sp2/0などの骨髓腫細胞株が含まれる。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, 248巻(B. K. C. Lo, ed., Humana Press、トトワ、ニュージャージー州)、255-268頁(2003年)を参照されたい。

【0233】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて使用する抗CD134抗体または抗CD278抗体のin vitro進化のための例示的な方法は、ファージディスプレイである。ファージディスプレイライブラリーは、抗体のCDRまたは抗体様スキャフォールドの類似領域(例えば、¹⁰Fn3ドメインのBC、CD、およびDEループ)のコード配列内に設計された一連の突然変異または変異をすることによって、作製することができる。これらの変異が導入される鑄型抗体をコードする配列は、例えば、ナイーブヒト生殖細胞系配列であり得る。これらの突然変異は、当該技術分野で知られている標準的な変異誘発技術を用いて行われ得る。したがって、各突然変異配列は、1つ以上のアミノ酸変異を除いて鑄型に対応する抗体をコードする。レトロウイルスおよびファージディスプレイベクターは、当該技術分野で知られている標準的なベクター構築技術を用いて操作され得る。適合性タンパク質発現ベクターと共にP3ファージディスプレイベクターを用いて、抗体多様化のためのファージディスプレイベクターを生成することができる。

【0234】

変異DNAは配列多様性を提供し、各形質転換体ファージは、そのDNAによってコードされた最初の鑄型アミノ酸配列の1つの変異を表示し、異なるが構造的に関連した膨大な数のアミノ酸配列を表示するファージ集団(ライブラリー)をもたらす。抗体超可変領域の明確な構造のために、ファージディスプレイスクリーンに導入されたアミノ酸変異は、その全体的な分子構造を著しく変えることなく結合ペプチドまたはドメインの結合特性を変えると予想される。

【0235】

典型的なスクリーニングでは、ファージライブラリーをCD134またはCD278またはそれらのエピトープと接触させて結合させることができる。結合したものおよび結合しなかったものの分離を容易にするために、標的を固体支持体上に固定化するのが便利である。CD134結合部分またはCD278結合部分を有するファージは、固体支持体上の標的と複合体を形成することができるが、非結合ファージは溶液中に残り、過剰の緩衝液で洗い流すことができる。次いで、緩衝液を極端なpH(pH2またはpH10)に変化させること、緩衝液のイオン強度を変化させること、変性剤を添加すること、または他の既知の手段によって、結合ファージを標的から遊離させることができる。

【0236】

次いで回収されたファージを細菌細胞の感染を通して増幅することができ、非結合抗体が枯渇し、CD134またはCD278に結合する抗体が富化されている新しいプールを

用いてスクリーニングプロセスを繰り返すことができる。数個の結合ファージの回収であっても、その後のスクリーニング反復用にファージを増幅するのに十分である。数回のセレクションの後、結合プール中の選択されたファージクローンに由来する抗体またはその抗原結合フラグメントをコードする遺伝子配列が従来の方法により決定され、そうして標的に対するファージの結合親和性を付与するペプチド配列が明らかになる。パニングプロセスの間、集団の配列多様性は、望ましいペプチド結合抗体が残るまで、セレクションの各ラウンドで減少する。配列は、少数の関連抗体またはその抗原結合フラグメントに収束し得る。セレクションの各ラウンドで回収されたファージの数の増加は、ライブラリーの収束がスクリーニング内で起こったことの指標である。

【0237】

CD134またはCD278に結合する非ヒト抗体は、例えば、以下の手順に従ってヒト化することができる。コンセンサスヒト抗体重鎖および軽鎖配列は、当該技術分野で知られている（例えば、「VBASE」ヒト生殖細胞系配列データベース；Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版、U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242、1991年；Tomlinson et al., J. Mol. Biol. 227:776-798頁、1992年；およびCox et al. Eur. J. Immunol. 24:827-836頁、1994年を参照し、それらの各々の開示は、コンセンサスヒト抗体重鎖および軽鎖配列に関連するため、参照により本明細書に援用される）。確立された手順を使用して、当業者は、コンセンサス抗体配列の変ドメインフレームワーク残基およびCDRを（例えば、配列アライメントにより）同定することができる。ヒト化抗体を産生するために、コンセンサスヒト抗体の重鎖および／または軽鎖可変ドメインの1つ以上のCDRを、CD134またはCD278に結合する非ヒト抗体の1つ以上の対応するCDRで置換することができる。

【0238】

ヒト化抗体を作製するために、1つ以上の可変領域CDRが、CD134またはCD278に結合する非ヒト抗体の1つ以上の可変領域CDR配列で置換された上記のコンセンサス配列をコードするポリヌクレオチドを組換え発現させることができる。CD134またはCD278に対する抗体の親和性は主にCDR配列により決定されるので、得られるヒト化抗体は、ヒト化抗体の由来となった非ヒト抗体とほぼ同じCD134またはCD278親和性を示すと予想される。標的抗原に対する抗体の親和性を決定する方法としては、例えば、本明細書に記載され、当技術分野で知られているELISAベースの技術、ならびに表面プラズモン共鳴、蛍光異方性、および等温滴定熱量測定がとりわけ挙げられる。

【0239】

（抗体-薬物コンジュゲート（ADC））

<細胞毒素>

本明細書に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、およびリガンド（例えば、CD134またはCD278を認識して結合する抗体、その抗原結合フラグメント、および可溶性リガンド）は、患者への投与時に宿主反応性T細胞などの造血細胞の枯渇を促進するために、微小管結合剤（例えば、メイタンシンまたはメイタンシノイド）、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deBougainin、またはジフテリア毒素などの細胞毒素、例えば、 α -アマニチン、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらのバリエーションなどの細胞毒素、あるいは本明細書に記載のまたは当該技術分野で知られている別の細胞毒性化合物にコンジュゲート（または連結）され得る。いくつかの実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドの細胞取り込み後に、細胞毒素がその細胞内標的にアクセスし、造血細胞死を媒

介し得るように、細胞毒性分子は、内在化する抗CD134もしくは抗CD278抗体、それらの抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドにコンジュゲートされる。本明細書に記載の組成物および方法での使用に適した追加の細胞毒素には、当該技術分野で知られているものの中でもとりわけ、DNA挿入剤（例えば、アントラサイクリン）、有糸分裂紡錘体装置を破壊することができる薬剤（例えば、ビンカルカロイド、メイタンシン、メイタンシノイド、およびそれらの誘導体）、RNAポリメラーゼ阻害剤（例えば、 α -アマニチンなどのアマトキシシンおよびそれらの誘導体）、タンパク質生合成を妨害することができる薬剤（例えば、サポリンおよびリシンA鎖などのrRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤）が挙げられる。

【0240】

<メイタンシノイド>

抗CD134抗体または抗CD278抗体は、微小管結合剤である細胞毒素にコンジュゲートさせることができる。いくつかの実施形態では、細胞毒素は、メイタンシン、メイタンシノイドまたはメイタンシノイド類似体である。メイタンシノイドは、チューブリンの重合を妨げる微小管結合剤である。適切なメイタンシノイドの例には、メイタンシノールのエステル、合成メイタンシノール、ならびにメイタンシノール類似体および誘導体が含まれる。メイタンシノイド、メイタンシノール、メイタンシノール類似体、および誘導体と同様に、微小管形成を阻害し、哺乳動物細胞に対して非常に毒性のある薬物が含まれる。

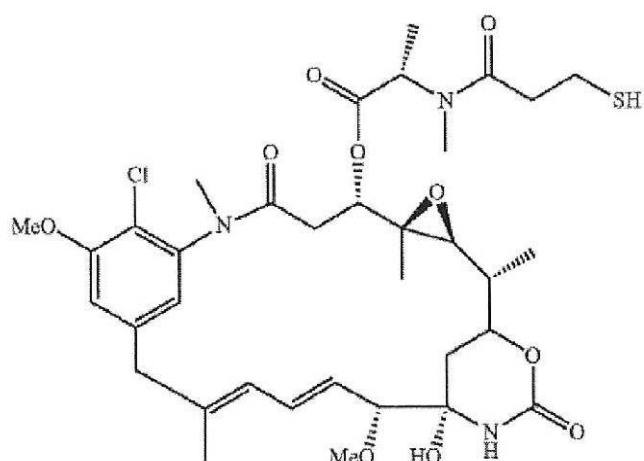
【0241】

適切なメイタンシノールエステルの例には、修飾された芳香環を有するものおよび他の位置に修飾を有するものが含まれる。そのような適切なメイタンシノイドは、米国特許第4,137,230号；米国特許第4,151,042号；米国特許第4,248,870号；米国特許第4,256,746号；米国特許第4,260,608号；米国特許第4,265,814号；米国特許第4,294,757号；米国特許第4,307,016号；米国特許第4,308,268号；米国特許第4,308,269号；米国特許第4,309,428号；米国特許第4,313,946号；米国特許第4,315,929号；米国特許第4,317,821号；米国特許第4,322,348号；米国特許第4,331,598号；米国特許第4,361,650号；米国特許第4,362,663号；米国特許第4,364,866号；米国特許第4,424,219号；米国特許第4,450,254号；米国特許第4,322,348号；米国特許第4,362,663号；米国特許第4,371,533号；米国特許第5,208,020号；米国特許第5,416,064号；米国特許第5,475,092号；米国特許第5,585,499号；米国特許第5,846,545号；米国特許第6,333,410号；米国特許第7,276,497号；および米国特許第7,473,796号に開示されており、これらの各々の開示は、メイタンシノイドおよびその誘導体に関連するため、参照により本明細書に援用される。

【0242】

いくつかの実施形態では、本発明の免疫コンジュゲートは、細胞毒性剤として、正式には N^2 -デアセチル- N^2 -(3-メルカプト-1-オキソプロピル)-メイタンシンと呼ばれるチオール含有メイタンシノイド(DM1)を利用する。DM1は以下の構造式で表される：

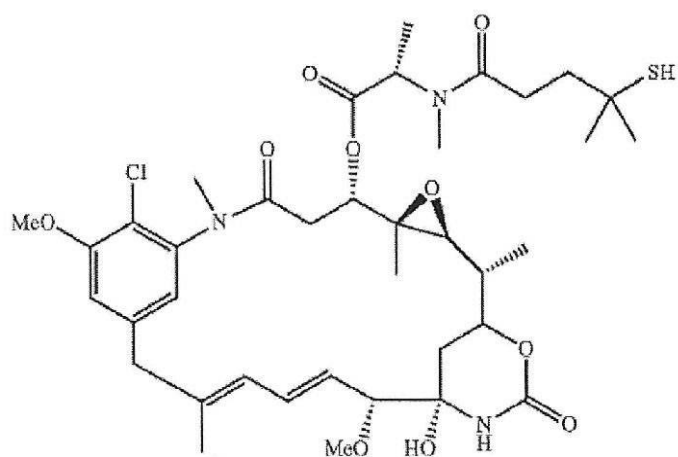
【化 2 6】



【0 2 4 3】

別の実施形態では、本発明のコンジュゲートは、細胞毒性剤として、チオール含有メイタンシノイド $N^{2'}$ -デアセチル- $N^{2'}$ -(4-メチル-4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン（例えば、DM4）を利用する。DM4は以下の構造式で表される：

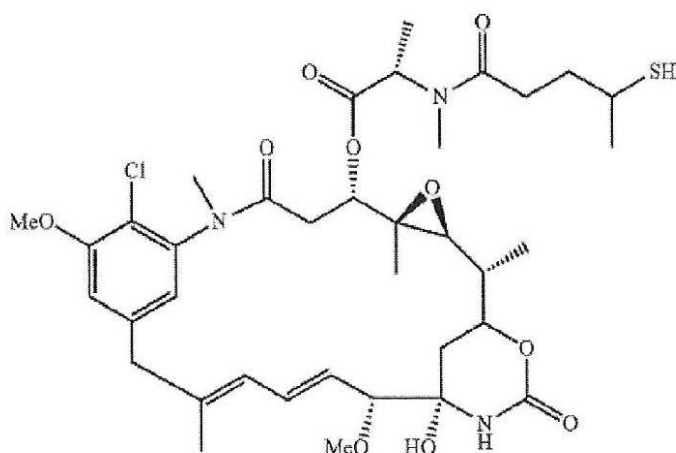
【化 2 7】



【0 2 4 4】

立体障害チオール結合を含有する側鎖を含む別のメイタンシノイドは、 $N^{2'}$ -デアセチル- $N^{2'}$ -(4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン（DM3と呼ばれる）であり、以下の構造式で表される：

【化 28】



【0245】

米国特許第5,208,020号および第7,276,497号に教示されているメイタンシノイドのそれぞれも、本発明のコンジュゲートにおいて使用され得る。これに関して、第5,208,020号および第7,276,697号の開示全体が参照により本明細書に援用される。

【0246】

メイタンシノイドの多くの位置は、連結部分を化学的に連結する位置として機能することができる。例えば、ヒドロキシル基を有するC-3位、ヒドロキシメチルで修飾されたC-14位、ヒドロキシで修飾されたC-15位、およびヒドロキシ基を有するC-20位はすべて有用であると予想される。いくつかの実施形態では、C-3位は、連結部分を化学的に連結する位置として役立ち、いくつかの特定の実施形態では、メイタンシノールのC-3位は、連結部分を化学的に連結する位置として役立つ。

【0247】

本発明は、メイタンシノイドおよびコンジュゲートの様々な異性体および混合物も含む。本発明の特定の化合物およびコンジュゲートは、様々な立体異性体、鏡像異性体、およびジアステレオマーの形態で存在し得る。そのような抗体-メイタンシノイドコンジュゲートを生成するためのいくつかの説明は、米国特許第5,208,020号、第5,416,064号、第6,333,410号、第6,441,163号、第6,716,821号、および第7,368,565号に与えられており、これらの各々はその全体が本明細書に援用される。

【0248】

抗体分子あたり結合したメイタンシノイド分子の治療上有効な数は、分光光度計で252nmと280nmの吸光度の比を測定することによって決定することができる。1分子の毒素/抗体は抗体単独よりも細胞毒性を高めることができるが、抗体分子あたりコンジュゲートした平均3~4のメイタンシノイド分子は、抗体の機能または溶解度に悪影響を与えることなく標的細胞の細胞毒性を高めることができる。メイタンシノイド分子/抗体もしくはその抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドの平均数は、例えば、1~10または2~5であり得る。

【0249】

<アマトキシシン>

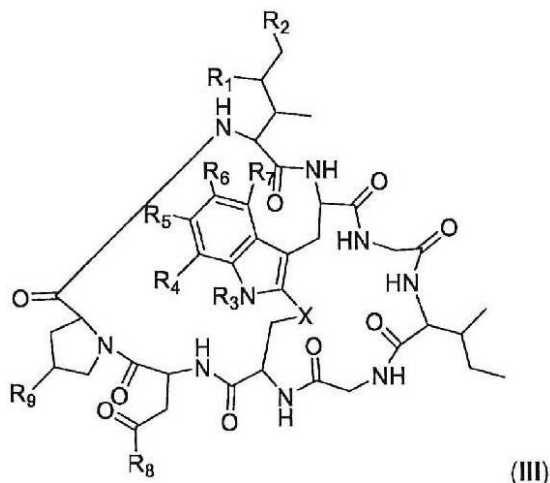
いくつかの実施形態では、抗体-薬物コンジュゲートの細胞毒素は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシシンまたはその誘導体である。いくつかの実施形態では、細胞毒素は、アマトキシシンまたはその誘導体、例えば、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンである。

。天然に存在する様々なアマトキシンの構造は、式 (I I I)、(I I I A) および (I I I B) によって表され、例えば、Zanotti et al., Int. J. Peptide Protein Res. 30, 1987年、450-459頁に開示されている。

【0250】

特定の実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシンには、以下の式 (I I I)、式 (I I I A) および式 (I I I B) の化合物 (例えば、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロアマヌリン、またはそれらの誘導体) が挙げられる。式 (I I I) は、以下の通りである：

【化29】



[式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、

R_2 は、H、OH、または OR_B であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3 は、Hまたは R_D であり、

R_4 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_5 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_6 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_7 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、または OR_D であり、

R_9 は、H、OH、または OR_D であり、

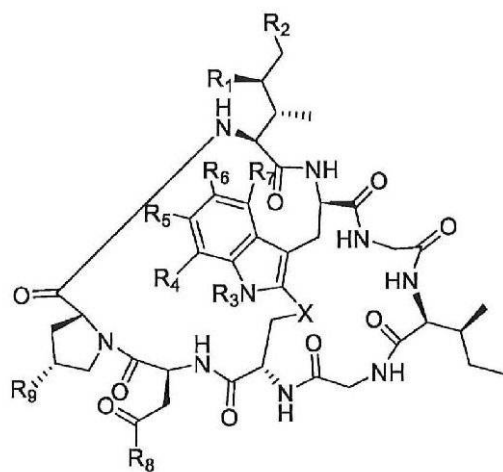
Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、ならびに

R_D は、任意に置換されたアルキル (例えば、 C_1-C_6 アルキル)、任意に置換されたヘテロアルキル (例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル)、任意に置換されたアルケニル (例えば、 C_2-C_6 アルケニル)、任意に置換されたヘテロアルケニル (例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル)、任意に置換されたアルキニル (例えば、 C_2-C_6 アルキニル)、任意に置換されたヘテロアルキニル (例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル)、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである]。

【0251】

例えば、一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシンには、以下の式 (I I I A) の化合物が挙げられる：

【化 3 0】



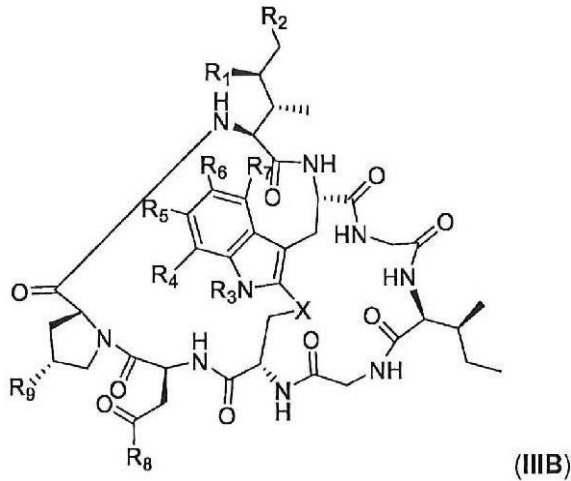
(III A)

[式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、
 R_2 は、H、OH、または OR_B であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、
 R_3 は、Hまたは R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、または OR_D であり、
 R_9 は、H、OH、または OR_D であり、
 X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、ならびに
 R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである]。

【0252】

一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシシンには、以下の式 (III B) の化合物も挙げられる：

【化 3 1】



[式中、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、
 R_2 は、H、OH、または OR_B であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された 5 員ヘテロシクロアルキル基を形成し、
 R_3 は、H または R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_7 は、H、OH、 OR_D 、または R_D であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、または OR_D であり、
 R_9 は、H、OH、または OR_D であり、
 X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、ならびに
 R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである]。

【0253】

一実施形態では、細胞毒素はアマニチンである。

【0254】

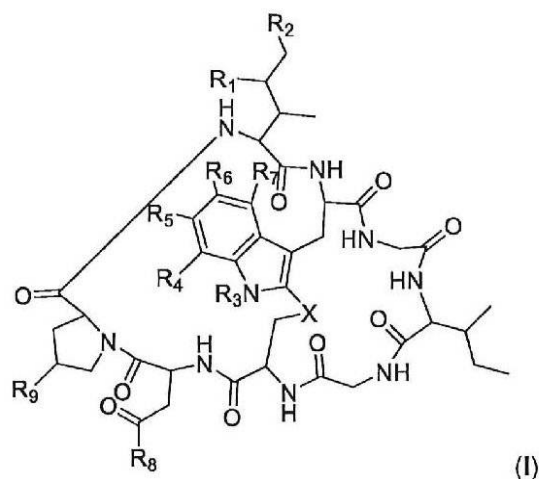
本明細書に記載されるように、アマトキシンは、例えばリンカー部分を介して、抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされ得る。アマトキシコンジュゲーションの例示的な方法およびそのようなプロセスに有用なリンカーは、「化学的コンジュゲーション用リンカー」というタイトルのセクション、ならびに以下の表 1 に記載されている。本明細書に記載の組成物および方法による、抗 CD134 もしくは抗 CD278 抗体、または抗原結合フラグメントへのコンジュゲーションに有用な例示的なリンカー含有アマトキシンは、本明細書に記載の構造式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)、および (IIB) に示されている。

【0255】

例えば、本明細書に記載の抗体または抗原結合フラグメントは、式 $Ab-Z-L-Am$ によって表されるコンジュゲートを形成するように、アマトキシに結合され得、ここで Ab は抗体またはその抗原結合フラグメントであり、 L はリンカーであり、 Z は化学部分

であり、Amはアマトキシシンである。アマトキシシンまたはその誘導体の多くの位置は、連結部分L、したがって抗体またはその抗原結合フラグメントを共有結合する位置として機能することができる。いくつかの実施形態では、アマトキシシンーリンカーコンジュゲートAm-L-Zは、式(I)で表される：

【化32】



[式中、R₁は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、

R₂は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、

R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒に、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、

R₃は、H、R_C、またはR_Dであり、

R₄は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₅は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₆は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₇は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₈は、OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、

R₉は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、

Xは、-S-、-S(O)-、または-SO₂-であり、

R_Cは、-L-Zであり、

R_Dは、任意に置換されたC₁-C₆アルキル、任意に置換されたC₁-C₆ヘテロアルキル、任意に置換されたC₂-C₆アルケニル、任意に置換されたC₂-C₆ヘテロアルケニル、任意に置換されたC₂-C₆アルキニル、任意に置換されたC₂-C₆ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、

Lは、任意に置換されたC₁-C₆アルキレン、任意に置換されたC₁-C₆ヘテロアルキレン、任意に置換されたC₂-C₆アルケニレン、任意に置換されたC₂-C₆ヘテロアルケニレン、任意に置換されたC₂-C₆アルキニレン、任意に置換されたC₂-C₆ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、-(C=O)-、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり、ならびに

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンド内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応を形成する化学部分である]。

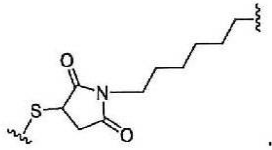
【0256】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、1つのR_C置換基を含む。

【0257】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは $-(CH_2)_n$ を含み、ここで n は6である。いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化33】

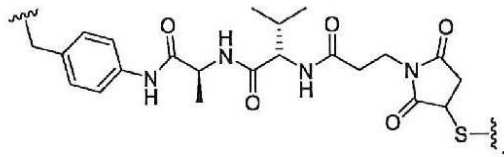


であり、上記式において、 S は、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す（例えば、システイン残基の $-SH$ 基由来の）硫黄原子である。

【0258】

いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化34】

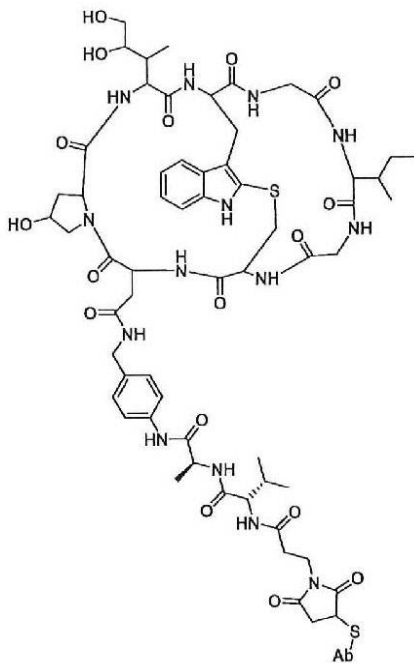


である。

【0259】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z-Ab$ は、

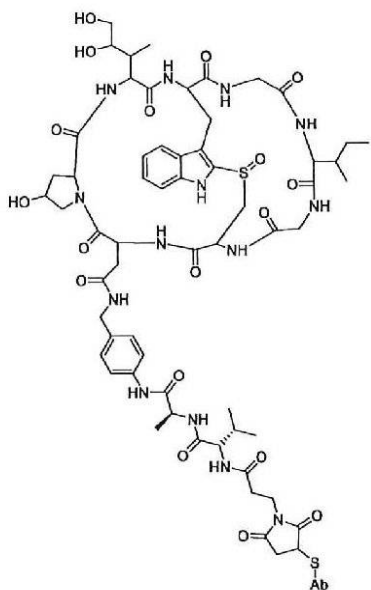
【化35】



である。

【0260】

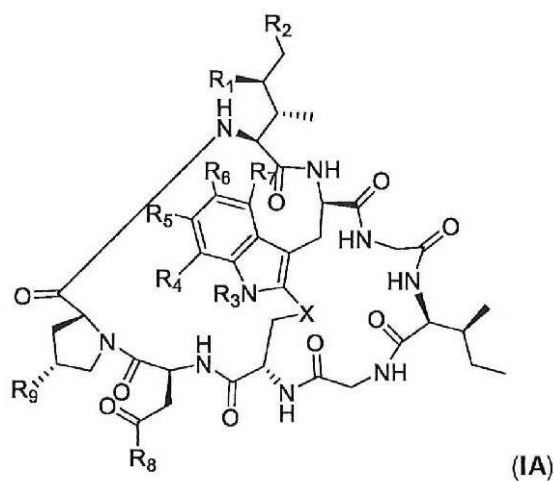
いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、
【化36】



である。

【0261】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式(IA)で表される：
【化37】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、
 R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、
 R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、
 R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり、
 R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、
 R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり、

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり、

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、

R_C は、 $-L-Z$ であり、

R_D は、任意に置換された C_1-C_6 アルキル、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキル、任意に置換された C_2-C_6 アルケニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニル、任意に置換された C_2-C_6 アルキニル、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、

L は、任意に置換された C_1-C_6 アルキレン、任意に置換された C_1-C_6 ヘテロアルキレン、任意に置換された C_2-C_6 アルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、任意に置換された C_2-C_6 アルキニレン、任意に置換された C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせであり、

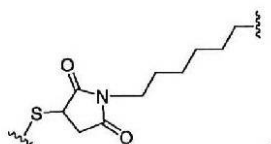
Z は、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンド内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応を形成する化学部分であり、ならびに

Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む」。

【0262】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n$ を含み、nは6である。いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化38】

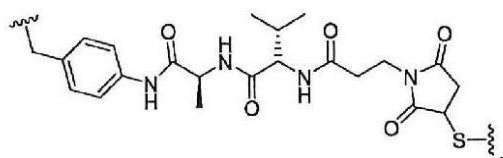


である。

【0263】

いくつかの実施形態では、 $L-Z$ は、

【化39】

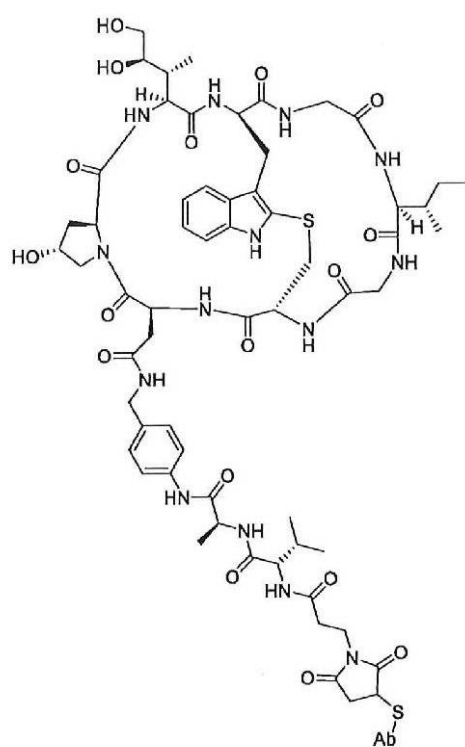


である。

【0264】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z-Ab$ は、

【化 4 0】

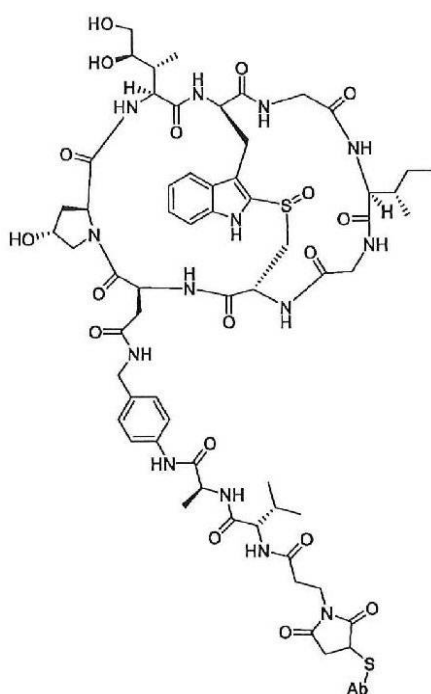


である。

【 0 2 6 5】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、

【化 4 1】

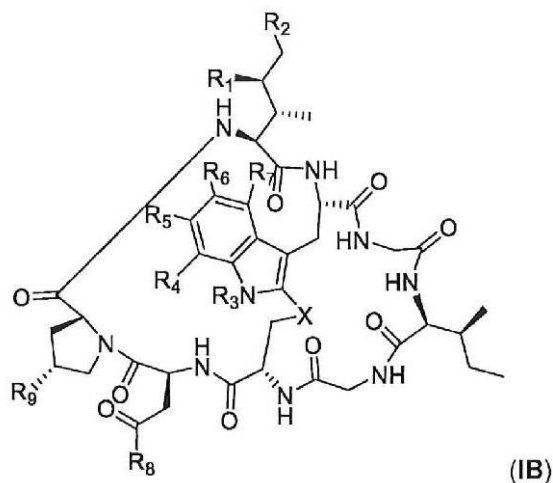


である。

【0266】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式(1B)で表される：

【化42】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり、

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり、

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり、

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり、

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり、

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり、

R_C は、 $-L-Z$ であり、

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり、

Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体ま

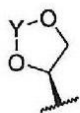
たはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり、ならびに

A_mは、ちょうど1つのR_C置換基を含む」。

【0267】

いくつかの実施形態では、R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成する：

【化43】



上記式において、Yは、 $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-(C=NR_E)-$ 、または $-(CR_E R_{E'})-$ であり、R_EおよびR_{E'}は、それぞれ独立して、任意に置換されたC₁–C₆アルキレン–R_C、任意に置換されたC₁–C₆ヘテロアルキレン–R_C、任意に置換されたC₂–C₆アルケニレン–R_C、任意に置換されたC₂–C₆ヘテロアルケニレン–R_C、任意に置換されたC₂–C₆アルキニレン–R_C、任意に置換されたC₂–C₆ヘテロアルキニレン–R_C、任意に置換されたシクロアルキレン–R_C、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン–R_C、任意に置換されたアリーレン–R_C、または任意に置換されたヘテロアリーレン–R_Cである。

【0268】

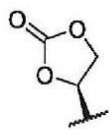
いくつかの実施形態では、A_m–L–Zは、式(I)、式(IA)または式(IB)で表され、

上記式において、R₁は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、

R₂は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、

R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

【化44】



R₃は、HまたはR_Cであり、

R₄は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₅は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₆は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₇は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R₈は、OH、NH₂、OR_C、またはNHR_Cであり、

R₉は、HまたはOHであり、ならびに

R_CおよびR_Dは、それぞれ上記で定義した通りである。

【0269】

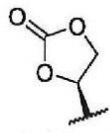
いくつかの実施形態では、A_m–L–Zは、式(I)、式(IA)または式(IB)で表され、

上記式において、R₁は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、

R₂は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、

R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

【化 4 5】



R_3 は、H または R_C であり、

R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、 R_C 、または OR_D であり、

、

R_6 および R_7 は、それぞれ H であり、

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

X および R_C は、上記で定義した通りである。

【0270】

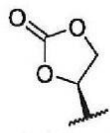
いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA) または式 (IB) で表され、

上記式において、 R_1 は、H、OH、または OR_A であり、

R_2 は、H、OH、または OR_B であり、

R_A および R_B は、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して以下を形成し、

【化 4 6】



R_3 、 R_4 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり、

R_5 は OR_C であり、

R_8 は、OH または NH_2 であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

R_C は、上記で定義した通りである。そのようなアマトキシコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第 2016/0002298 号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0271】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA) または式 (IB) で表され、

上記式において、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、H または OH であり、

R_3 は R_C であり、

R_4 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり、

R_5 は、H、OH、または OC_1-C_6 アルキルであり、

R_8 は、OH または NH_2 であり、

R_9 は、H または OH であり、ならびに

R_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第 2014/0294865 号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0272】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA) または式 (IB) で表され、

上記式において、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R_3 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり、
 R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H、OH、 OR_C 、または R_C であり、
 R_8 は、OH または NH_2 であり、
 R_9 は、H または OH であり、ならびに

R_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシシンコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第 2015/0218220 号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0273】

いくつかの実施形態では、 $Am-L-Z$ は、式 (I)、式 (IA) または式 (IB) で表され、

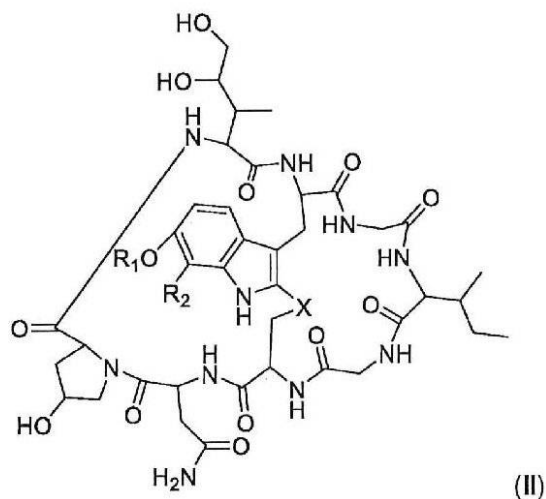
上記式において、 R_1 および R_2 は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R_3 、 R_6 、および R_7 は、それぞれ H であり、
 R_4 および R_5 は、それぞれ独立して、H または OH であり、
 R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、または NHR_C であり、
 R_9 は、H または OH であり、ならびに

R_C は上記で定義した通りである。そのようなアマトキシシンコンジュゲートは、例えば、米国特許第 9,233,173 号および第 9,399,681 号に記載されており、これらの各々の開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。本明細書に記載の組成物および方法に従って抗体またはその抗原結合フラグメントへのコンジュゲーションに使用され得るさらなるアマトキシシンは、例えば、WO2016/142049; WO2016/071856; および WO2017/046658 に記載されており、これらの各々の開示は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

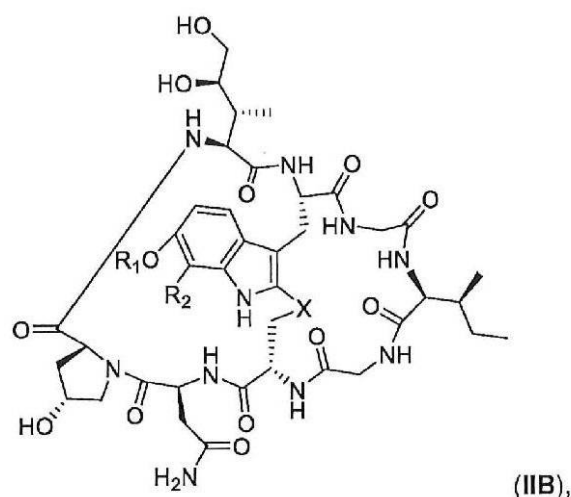
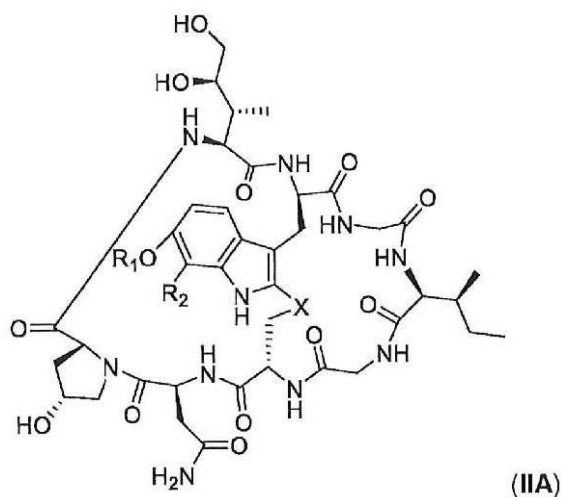
【0274】

いくつかの実施形態では、アマトキシシンーリンカーコンジュゲート $Am-L-Z$ は、以下の式 (II)、式 (IIA)、または式 (IIB) で表され、

【化 47】



【化 4 8】

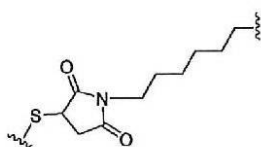


式中、Xは、S、SO、またはSO₂であり；R₁はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；R₂はHであるか、化学部分Zを介して抗体またはその抗原結合フラグメントに共有結合しているリンカーであり、当該化学部分Zは、前記リンカー上に存在する反応性置換基と前記抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成され；R₁がHである場合、R₂が前記リンカーであり、R₂がHである場合、R₁が前記リンカーである。

【0275】

いくつかの実施形態では、リンカーは-(CH₂)_n-単位を含み、ここでnは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、R₁はリンカーで、R₂はHであり、リンカーおよび化学部分は、L-Zとしてまとめて、

【化 4 9】

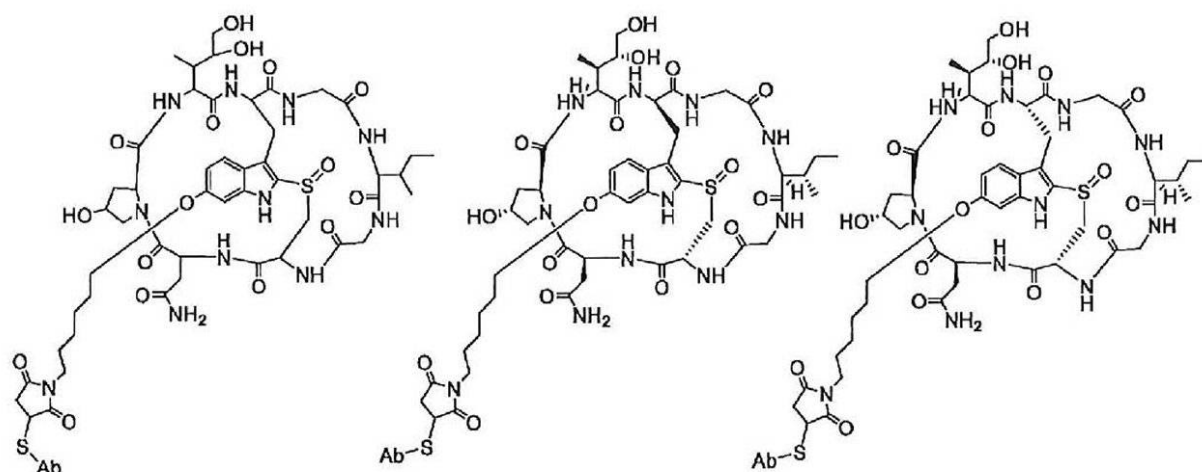


である。

【0276】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは、以下のうちの1つである：

【化 50】



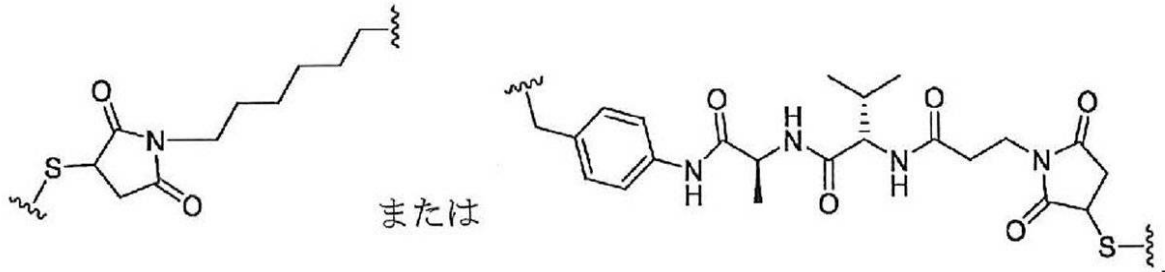
【0277】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマトキシシンである。いくつかの実施形態では、アマトキシシンは式 (I I I)、式 (I I I A) または式 (I I I B) の化合物である。いくつかの実施形態では、式 (I I I)、式 (I I I A) または式 (I I I B) のアマトキシシンは、リンカーLを介して抗CD134抗体または抗CD278抗体に結合される。リンカーLは、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式 (I I I)、式 (I I I A) または式 (I I I B) のアマトキシシンに結合され、式 (I)、式 (I A)、式 (I B)、式 (I I)、式 (I I A)、または式 (I I B) のアマトキシシン-リンカーコンジュゲートを提供することができる。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、細胞毒素は α -アマニチンである。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1～6の整数である。

【0278】

いくつかの実施形態では、リンカーは $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-)$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-)$ である。いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、 $L-Z$ としてまとめて、

【化51】



である。

【0279】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は β -アマニチンである。いくつかの実施形態では、 β -アマニチンは式IVの化合物である。いくつかの実施形態では、式IVの β -アマニチンは、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合される。リンカーLは、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式IVの β -アマニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $Val-Ala$ および $Val-Cit$ から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Cit-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 $PAB-Ala-Val$ を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は1～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n-)$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n-)$ である。

【0280】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は γ -アマニチンである。いくつかの実施形態では、 γ -アマニチンは式IVの化合物である。いくつかの実施形態では、式IVの γ -アマニチンは、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合される。リンカーLは、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか1つで式IVの γ -アマニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒ

ドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0281】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はε-アマニチンである。いくつかの実施形態では、ε-アマニチンは式IVの化合物である。いくつかの実施形態では、式IVのε-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合される。リンカーLは、いくつかの可能な位置(例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか)のいずれか1つで式IVのε-アマニチンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0282】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマニンである。いくつかの実施形態では、アマニンは式IVの化合物である。いくつかの実施形態では、式IVのアマニンは、リンカーLを介して抗CD134抗体に結合される。リンカーLは、いくつかの可能な位置(例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか)のいずれか1つで式IVのアマニンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

ーである。

【0283】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマニンアミドである。いくつかの実施形態では、アマニンアミドは式 I V の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I V のアマニンアミドは、リンカー L を介して抗 C D 1 3 4 抗体に結合される。リンカー L は、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか 1 つで式 I V のアマニンアミドに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Ala および Val-Cit から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Cit-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Ala-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1 ~ 6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0284】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマヌリンである。いくつかの実施形態では、アマヌリンは式 I V の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I V のアマヌリンは、リンカー L を介して抗 C D 1 3 4 抗体に結合される。リンカー L は、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか 1 つで式 I V のアマヌリンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Ala および Val-Cit から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Cit-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Ala-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1 ~ 6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0285】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はアマヌリン酸である。いくつかの実施形態では、アマヌリン酸は式 I V の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I V のアマヌリン酸は、リンカー L を介して抗 C D 1 3 4 抗体に結合される。リンカー L は、いくつかの可能な位置（例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか）のいずれか 1 つで式 I V のアマヌリン酸に結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R

₃ 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Ala および Val-Cit から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Cit-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Ala-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0286】

いくつかの実施形態では、細胞毒素はプロアマヌリンである。いくつかの実施形態では、プロアマヌリンは式 I V の化合物である。いくつかの実施形態では、式 I V のプロアマヌリンは、リンカー L を介して抗 CD134 抗体に結合される。リンカー L は、いくつかの可能な位置 (例えば、 $R_1 \sim R_9$ のいずれか) のいずれか 1 つで式 I V のプロアマヌリンに結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_1 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_2 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_3 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_4 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_5 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_6 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_7 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_8 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、 R_9 位で結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Ala および Val-Cit から選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラミノベンジル基 (PAB) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Cit-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分 PAB-Ala-Val を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここで n は 1~6 の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

【0287】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて使用するための抗体、抗原結合フラグメントおよびリガンドは、当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載のコンジュゲート技術を使用して、 α -アマニチンなどのアマトキシンまたはそのバリエーションにコンジュゲートされ得る。例えば、米国特許出願公開第 2015/0218220 号に記載されているように、CD134 または CD278 を認識して結合する抗体、その抗原結合フラグメント、およびリガンドは、 α -アマニチンまたはそのバリエーションにコンジュゲートされ得、その開示は、例えば、 α -アマニチンなどのアマトキシンおよびそのバリエーション、ならびに共有結合コンジュゲーションに使用することができる共有結合リンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。アマトキシンの作製する合成方法は、例えば、米国特許第 9,676,702 号に記載されており、米国特許第 9,676,702 号は、その中で開示されている合成方法に関して参照により本明細書に援用される。

【0288】

本明細書に記載の方法と併せて有用な例示的な抗体-薬物コンジュゲートおよびリガンド-薬物コンジュゲートは、抗体、その抗原結合フラグメントまたはリガンドと、当該抗

体、その抗原結合フラグメントまたはリガンド上の反応性残基との反応に適した置換基を含有するリンカーにコンジュゲートされたアマトキシンの反応によって形成され得る。抗体、その抗原結合フラグメントまたはリガンド上の反応性残基との反応に適した置換基を含有するリンカーにコンジュゲートされるアマトキシンとしては以下が挙げられるが、これらに限定されない：7' C- (4- (6- (マレイミド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (6- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (6- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) ヘキサナムイド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (3-カルボキシプロパンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (2-プロモアセトアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (3- (ピリジン-2-イル) ジスルファニル) プロパンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (4- (マレイミド) ブタンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (マレイミド) アセチル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (3- (マレイミド) プロパノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (4- (マレイミド) ブタノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (3- ((6- (マレイミド) ヘキサナムイド) メチル) ピロリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (3- ((6- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) ヘキサナムイド) メチル) ピロリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (3- ((4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (3- ((6- ((4- (マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (6- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ヘキサナムイド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (2- (4- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ブタンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (4- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ブタノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- (4- (6- (2- (アミノオキシ) アセトアミド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) -アマトキシン；7' C- ((4- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；7' C- ((4- (2- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；7' C- ((4- (6- (マレイミド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；(R) -7' C- ((3- ((6- (マレイミド) ヘキサナムイド) メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；(S) -7' C- ((3- ((6- (マレイミド) ヘキサナムイド) メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；7' C- ((4- (2- (6- (6- (マレイミド) ヘキサナムイド) ヘキサナムイド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；7' C- ((4- (2- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサノイル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシン；7' C- ((4- (2- (6- (4- ((マレイミド) メチル) シクロヘキサ

ンカルボキサミド) ヘキサンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) エチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(6-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) ヘキサンアミド) エチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) エチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(6-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) ヘキサンアミド) エチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(6-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) ヘキサンアミド) -S-メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(6-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) ヘキサンアミド) -R-メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) -S-メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) -R-メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(6-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) ヘキサンアミド) メチル) ピロリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(3-カルボキシプロパンアミド) エチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(6-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(6-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(マレイミド) アセチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(3-(マレイミド) プロパノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(4-(マレイミド) ブタノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(2-(マレイミド) アセトアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(4-(マレイミド) ブタンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(6-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) ヘキサンアミド) エチル) ピペリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) メチル) アゼチジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(2-(6-(マレイミド) ヘキサンアミド) エチル) アゼチジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) メチル) アゼチジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(2-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) エチル) アゼチジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((3-(2-(6-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) ヘキサンアミド) エチル) アゼチジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((2-(6-(マレイミド) -N-メチルヘキサナミド) エチル) (メチル) アミノ) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(6-(マレイミド) N-メチルヘキサナミド) ブチル(メチル) アミノ) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((2-(2-(6-(マレイミド) ヘキサナミド) エチル) アジリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((2-(2-(6-(4-(マレイミド) メチル) シクロヘキサカルボキサミド) ヘキサナミド) エチル) アジリジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(6-(6-(2-(アミノオキシ) アセトアミド) ヘキサナミド) ヘキサノイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(1-(アミノオキシ) -2-オキソ-6, 9, 12, 15-テトラオキサ-3-アザヘプタデカン-17-オイル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(2-(2-(アミノオキシ) アセトアミド) アセチル) ピペラジン-1-イル) メチル) -アマトキシシン; 7' C-((4-(3-(2-(アミノオキシ) アセトアミド) プロパノイル) ピペラ

ジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサナムド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(2-(2-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)アセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(2-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ブタンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(20-(アミノオキシ)-4, 19-ジオキソ-6, 9, 12, 15-テトラオキサ-3, 18-ジアザイコシル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチルヘキサナムド)エチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチルヘキサナムド)ブチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((3-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)ヘキサナムド)メチル)ピロリジン-1-イル)-S-メチル)-アマトキシシ; 7' C-((3-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)ヘキサナムド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(2-(2-プロモアセトアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(2-(2-プロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 7' C-((4-(2-(3-(ピリジン-2-イルジスルファニル)プロパンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(6-(マレイミド)ヘキサナムド)ヘキシル)-アマトキシシ; 6' O-(5-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)ペンチル)-アマトキシシ; 6' O-(2-(6-(マレイミド)ヘキシル)オキシ)-2-オキソエチル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(マレイミド)ヘキシル)カルバモイル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサノカルボキサミド)ヘキシル)カルバモイル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(2-プロモアセトアミド)ヘキシル)-アマトキシシ; 7' C-(4-(6-(アジド)ヘキサナムド)ピペリジン-1-イル)-アマトキシシ; 7' C-(4-(ヘキサ-5-イノイルアミノ)ピペリジン-1-イル)-アマトキシシ; 7' C-(4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサナムド)エチル)ピペラジン-1-イル)-アマトキシシ; 7' C-(4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサナムド)ヘキサナムド)エチル)ピペラジン-1-イル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(6-(11, 12-ジデヒドロ-5, 6-ジヒドロ-ジベンゾ[b, f]アゾシン-5-イル)-6-オキソヘキサナムド)ヘキシル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(ヘキサ-5-イノイルアミノ)ヘキシル)-アマトキシシ; 6' O-(6-(2-(アミノオキシ)アセチルアミド)ヘキシル)-アマトキシシ; 6' O-(6-アミノオキシ)ヘキシル)-アマトキシシ; および 6' O-(6-(2-ヨードアセトアミド)ヘキシル)-アマトキシシ。前述のリンカーは、とりわけ本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用であり、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0289】

G V H D または自己免疫疾患の処置に使用するための、C D 1 3 4 または C D 2 7 8 を認識して結合する抗体、その抗原結合フラグメント、およびリガンドにコンジュゲートされ得るさらなる細胞毒素には、とりわけ以下が挙げられるが、これらに限定されない：5-エチニルウラシル、アビラテロン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミホスチン、アミノレブリン酸、アムルピシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、アンタレリックス、抗背側化形態形成性タンパク質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌク

レオチド、アフィジコリングリシネート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレーター、アプリン酸、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、バックチン I I I 誘導体、バラノール、バチマスタット、BCR/A B L アンタゴニスト、ベンゾクロリン、ベンゾイルスタウロスボリン、ベータラクタム誘導体、ベーターアレチン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、b F G F 阻害剤、ビカルタミド、ビスアントレン、ビスアジリジニルスペルミン、ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレフレート、ブレオマイシンA 2、ブレオマイシンB 2、プロピリミン、ブドチタン、プチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カルホスチンC、カンプトテシン誘導体（例えば、10-ヒドロキシカンプトテシン）、カペシタビン、カルボキサミド-アミノトリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、カルゼレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カスタノスペルミン、セクロピンB、セトロレリックス、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シス-ポルフィリン、クラドリビン、クロミフェンおよびその類似体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンプレタスタチンA 4、コンプレタスタチン類似体、コナゲニン、クラムベシジン816、クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタアントラキノン、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビンオクホスフェート、細胞溶解因子、サイトスタチン、ダクリキシマブ、デシタビン、デヒドロジデムニンB、2'-デオキシコホルマイシン(DCF)、デスロレリン、デキシフォスファミド、デクスラゾキサソ、デクスベラパミル、ジアジコン、ジデムニンB、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジヒドロタキソール、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ディスコデルモリド、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エデルフォシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、エレメン、エミテフル、エポチロン、エピチロン、エプリステリド、エストラムスチンおよびその類似体、エトボシド、エトボシド4'-リン酸（エトボフォスとも呼ばれる）、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、塩酸フルオロダウノルニシン、ホルフェニメックス、フォルメスタン、フォストリエシン、フォテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリックス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、ヘブスルファム、ホモハリングトニン(HHT)、ヒペリシン、イバンドロン酸、イドキシフェン、イドラマントン、イルモホシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、ヨーベングアン、ヨードドキソルビシン、イボメアノール、イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベングアゾール、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-Nトリアセテート、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸、レプトルスタチン、レトロゾール、親油性白金化合物リソクリンアミド7、ロバプラチン、ロメトレキソール、ロニダミン、ロキソキサントロン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リゾフィリン、マソプロコール、マスピン、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メノガリル、ルネルバロン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトクロプラミド、MIF阻害剤、イフェプリストン、ミルテフォシン、ミリモスチム、ミトラシン、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシンおよびその類似体、ミトナフィド、ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスチン、マイカペルオキシドB、ミリアポロン、N-アセチルジナリン、N-置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスチップ、ナバビン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロロン酸、ニルタミド、ニサマイシン、ニトルリン、オクトレオチド、オキセノン、オナプリストン、オندانセトロン、オラシン、オルマプラチン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、パクリタキセルおよびその類似体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシシン、パミドロロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペントサンボリ硫酸ナトリウム、ペントスタチ

ン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペルホスファミド、フェナジノマイシン、ピシバニール、ピラルビシン、ピリトレキシム、ポドフィロトキシシン、ポルフィロマイシン、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ラルチトレキセド、リゾキシシン、ログレチミド、ロヒツキン、ルビギノンB 1、ルボキシシル、サフィンゴール、セイントピン、サルコフィトールA、サルグラモスチム、ソブゾキサシ、ソネルミン、スパルホシン酸、スピカマイシンD、スピロムスチン、スチピアミド、スルフィノシン、タリムスチン、テガフル、テモゾロミド、テニボシド、タリブラスチン、チオコラリン、チラバザミン、トポテカン、トプセンチン、トリシリピン、トリメトレキサート、ベラミン、ビノレルビン、ビンキサルチン、ボロゾール、ゼニプラチン、ならびにジラスコルブ。

【0290】

<化学的コンジュゲーション用リンカー>

本明細書に記載の抗体、抗原結合フラグメント、およびリガンド（例えば、CD134またはCD278を認識して結合する抗体、その抗原結合フラグメント、および可溶性リガンド）を細胞毒性分子にコンジュゲートするために、様々なリンカーを使用することができる。本明細書で使用される用語「リンカー」は、抗体またはそのフラグメント（Ab）を薬物部分（D）に共有結合させて、本開示の抗体-薬物コンジュゲート（ADC；Ab-Z-L-D、Dは細胞毒素）を形成する共有結合または原子鎖を含む二価化学部分を意味する。適切なリンカーは、2つの反応性末端を有し、一方は抗体へのコンジュゲーション用であり、他方は細胞毒素へのコンジュゲーション用である。リンカーの抗体コンジュゲーション用反応性末端（反応性部分、Z）は、通常、抗体上のシステインチオールまたはリジンアミン基を介して抗体にコンジュゲーション可能な部位であり、通常、二重結合（マレイミドなど）または脱離基（クロロ、ブロモ、ヨード、R-スルファニル基など）などのチオール反応性基（マレイミドなど）、またはカルボキシ基などのアミン反応性基である。一方、リンカーの抗体コンジュゲーション用反応性末端は、通常、細胞毒素上の塩基性アミンまたはカルボキシ基とのアミド結合の形成を介して細胞毒素にコンジュゲーション可能な部位であり、通常、カルボキシ基または塩基性アミン基である。「リンカー」という用語がコンジュゲートされた形態のリンカーを説明する際に使用される場合、リンカーおよび／または細胞毒素の間、ならびにリンカーおよび／または抗体もしくはその抗原結合フラグメントの間の結合の形成のため、反応性末端の一方または両方が存在しない（化学部分Zに変換された反応部分Zなど）か不完全（カルボン酸のカルボニルのみなど）である。このようなコンジュゲーション反応は、本明細書において以下にさらに記載される。

【0291】

いくつかの実施形態では、リンカーの切断により細胞内環境で抗体から薬物ユニットが放出されるように、リンカーは細胞内条件下で切断可能である。さらに他の実施形態では、リンカー単位は切断可能ではなく、薬物は、例えば抗体分解によって放出される。本ADCに有用なリンカーは、好ましくは、細胞外で安定であり、ADC分子の凝集を防止し、ADCを水性媒体および単量体状態で自由に可溶性に保つ。細胞への輸送または送達の前に、ADCは好ましくは安定であり、インタクトのままである；即ち、抗体は薬物部分に連結されたままである。リンカーは標的細胞外で安定であり、該細胞内で有効な速度で切断され得る。効果的なリンカーは、(i) 抗体の特異的結合特性を維持し、(ii) コンジュゲートまたは薬物部分の細胞内送達を可能にし、(iii) コンジュゲートがその標的部位に送達または輸送されるまで、安定かつインタクトのままであり（即ち、切断されず）、(iv) 細胞毒性部分の細胞毒性効果、殺細胞効果または細胞増殖抑制効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLCなどの標準的な分析技術、および分離／分析技術LC/MSによって測定され得る。抗体と薬物部分の共有結合は、リンカーが2つの反応性官能基を有すること、即ち反応性の意味で二価性を有することを必要とする。ペプチド、核酸、薬物、毒素、抗体、ハプテン、レポーターグループなどの2つ以上の機能的または生物学的に活性な部分を結合するのに有用な二価リンカー試薬が知られており、方法がその結果生じるコンジュゲートについて記載されている（Hermanson,

G. T. (1996年) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: ニューヨーク、234-242頁)。

【0292】

リンカーには、例えば、酵素加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核開裂、または有機金属開裂によって切断され得るものが挙げられる(例えば、Leriche et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 20:571-582頁、2012年を参照し、その開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される)。

【0293】

酸性条件下で加水分解可能なリンカーには、例えば、ヒドラゾン、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、cis-アコニットアミド、オルトエステル、アセタール、ケタールなどが含まれる。例えば、米国特許第5,122,368号;米国特許第5,824,805号;米国特許第5,622,929号;Dubowchik and Walker, 1999年、*Pharm. Therapeutics* 83:67-123頁;Neville et al., 1989年、*Biol. Chem.* 264:14653-14661頁を参照。これらの各々の開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するため、参照によりその全体が本明細書に援用される。そのようなリンカーは、血中のような中性pH条件下では比較的安定であるが、リソソームのおおよそのpHであるpH5.5または5.0未満では不安定である。

【0294】

還元条件下で切断可能なリンカーには、例えば、ジスルフィドが含まれる。例えば、SATA(N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート)、SPDP(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート)、SPDB(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート)およびSMPT(N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ピリジル-ジチオ)トルエン)、SPDBおよびSMPTを使用して形成され得るものを含む、様々なジスルフィドリンカーが当技術分野で知られている。例えば、Thorpe et al., 1987年、*Cancer Res.* 47:5924-5931頁;Wawrzynczak et al., *In Immunconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer* (C.W. Vogel編集, Oxford U. Press, 1987年を参照。また、米国特許第4,880,935号も参照。これらの各々の開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するため、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0295】

追加のリンカーには、アウリスタチンなどの微小管破壊剤のコンジュゲーションに特に有用である非開裂性マレイミドカプロイルリンカーが挙げられ、Doronina et al., *Bioconjugate Chem.* 17:14-24頁、2006年に記載されており、その開示は、化学的コンジュゲーション用のリンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。本明細書に記載の薬物-抗体コンジュゲートおよび薬物-リガンドコンジュゲートの合成に適した追加のリンカーには、1,6-脱離プロセスによって細胞毒素を放出することができるもの(「自壊性」基)、例えば、p-アミノベンジルアルコール(PABC)、6-マレイミドヘキサ酸、pH感受性炭酸塩、およびJain et al., *Pharm. Res.* 32:3526-3540頁、2015年に記載の他の試薬が挙げられ、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0296】

いくつかの実施形態では、リンカーは、前述のPABまたはPABC(パラアミノベンジルオキシカルボニル)などの自壊性基を含み、これらは、例えば、Carl et a

l., J. Med. Chem. (1981年) 24:479-480頁; Chakravarty et al (1983年) J. Med. Chem. 26:638-644頁; US 6 214 345; US 2 003 013 018 9; US 2 003 009 674 3; US 6 759 509; US 2 004 005 279 3; US 6 218 519; US 6 835 807; US 6 268 488; US 2 004 001 819 4; WO 98/13059; US 2 004 005 279 3; US 6 677 435; US 5 621 002; US 2 004 012 194 0; WO 2 004/032828に開示されている。このプロセスが可能な他のそのような化学部分(「自壊性リンカー」)には、メチレンカルバメートとアミノチアゾール、アミノイミダゾール、アミノピリミジンなどのヘテロアリアル基とが含まれる。そのような複素環式自壊性基を含むリンカーは、例えば、米国特許公開第20160303254号および第20150079114号、ならびに米国特許第7,754,681号; Hay et al. (1999年) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237頁; US 2 005/0256030; de Groot et al (2001年) J. Org. Chem. 66:8815-8830頁; および US 7 223 837に開示されている。

【0297】

酵素加水分解を受けやすいリンカーは、例えば、リソソームまたはエンドソームプロテアーゼを含むがこれらに限定されない細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチド含有リンカーであり得る。治療薬の細胞内タンパク質分解放出を使用することの1つの利点は、薬剤がコンジュゲートされると一般に減弱され、かつコンジュゲートの血清安定性が一般に高いことである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも2アミノ酸長または少なくとも3アミノ酸長である。例示的なアミノ酸リンカーは、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチドまたはペンタペプチドを含む。適切なペプチドの例には、バリン、アラニン、シトルリン(Cit)、フェニルアラニン、リジン、ロイシン、およびグリシンなどのアミノ酸を含むものが含まれる。アミノ酸リンカー成分を含むアミノ酸残基には、天然に存在するもの、ならびにマイナーアミノ酸およびシトルリンなどの非天然アミノ酸類似体が含まれる。例示的なジペプチドには、バリン-シトルリン(valまたはval-cit)およびアラニン-フェニルアラニン(afまたはala-phe)が含まれる。例示的なトリペプチドには、グリシン-バリン-シトルリン(gly-val-cit)およびグリシン-グリシン-グリシン(gly-gly-gly)が含まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Cit、Ala-Val、Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg、またはTrp-Citなどのジペプチドを含む。Val-CitまたはPhe-Lysなどのジペプチドを含有するリンカーは、例えば、米国特許第6,214,345号に開示されており、その開示は、共有結合コンジュゲーションに適したリンカーに関連するので、その全体が参照により本明細書に援用される。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ジペプチドは、自壊性リンカーと組み合わせて使用される。

【0298】

本明細書における使用に適したリンカーは、 C_1-C_6 アルキレン、 C_1-C_6 ヘテロアルキレン、 C_2-C_6 アルケニレン、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン、 C_2-C_6 アルキニレン、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、 C_3-C_6 シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびそれらの組み合わせから選択される1つ以上の基をさらに含み得、これらの各々は、任意に置換され得る。このような基の非限定的な例には、 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_n$ 、および $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位が含まれ、ここでnは1~6の整数であり、それぞれの場合について独立して選択される。

【0299】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジ

ペプチド、p-アミノベンジル (PAB) 基、複素環自壊性基、任意に置換された $C_1 - C_6$ アルキル、任意に置換された $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル、任意に置換された $C_2 - C_6$ アルケニル、任意に置換された $C_2 - C_6$ ヘテロアルケニル、任意に置換された $C_2 - C_6$ アルキニル、任意に置換された $C_2 - C_6$ ヘテロアルキニル、任意に置換された $C_3 - C_6$ シクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、アシル、 $-(C=O)-$ 、または $-(CH_2CH_2O)_n-$ 基の1つ以上を含み得、ここでnは1～6の整数である。当業者は、列挙された1つ以上の基が、二価 (ジラジカル) 種、例えば、 $C_1 - C_6$ アルキレンなどの形態で存在し得ることを認識するであろう。

【0300】

いくつかの実施形態では、リンカーは、p-アミノベンジル基 (PAB) を含む。一実施形態では、p-アミノベンジル基は、細胞毒性薬物とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置される。一実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジロキシカルボニル単位の一部である。一実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルアミド単位の一部である。

【0301】

いくつかの実施形態では、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABを含む。

【0302】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABの1つ以上の組み合わせを含む。

【0303】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1～6の整数である。

【0304】

いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは2～6の整数である。

【0305】

特定の実施形態では、ADCのリンカーは、N-β-マレイミドプロピル-Val-Ala-パラアミノベンジル (BMP-Val-Ala-PAB) である。

【0306】

抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンドを細胞毒性剤にコンジュゲートするために使用され得るリンカーには、リンカーの一端で細胞毒性剤に共有結合しており、リンカーの他端で、リンカー上に存在する反応性置換基と、CD134またはCD278に結合する抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンド内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部位を含有するものが挙げられる。CD134またはCD278に結合する抗体、その抗原結合フラグメント、またはリガンド内に存在し得る反応性置換基には以下が挙げられるが、これらに限定されない：セリン、スレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシル部分；リジン残基のアミノ部分；アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分；およびシステイン残基のチオール部分、ならびにプロパルギル、アジド、ハロアリール (例えば、フルオロアリール)、ハロヘテロアリール (例えば、フルオロヘテロアリール)、ハロアルキル、および天然に存在しないアミノ酸のハロヘテロアルキル部分。薬物-抗体コンジュゲートの合成に有用なリンカーの例には、とりわけ、マイケル受容体 (例えば、マレイミド)、活性化エステル、電子不足カルボニル化合物、およびアルデヒドなどの、抗体または抗原結合フラグメント内に

存在する、アミンまたはチオール部分などの求核置換基との反応に適している求電子剤を含むものが含まれる。例えば、薬物-抗体コンジュゲートの合成に適したリンカーとしては、限定されないが、とりわけ、4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサノールカルボン酸スクシンイミジル (SMCC)、N-スクシンイミジルヨードアセタート (SIA)、スルホ-SMCC、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル (MBS)、スルホ-MBS、およびスクシンイミジルヨードアセタートが挙げられ、例えば、Liu et al., 18:690-697頁、1979年に記載されており、その開示は、化学的コンジュゲーション用リンカーに関連するため、参照により本明細書に援用される。

【0307】

本明細書に開示される化学基、部分および特徴のいずれか1つ以上が複数の方法で組み合わせられて、本明細書に開示される抗体および細胞毒素のコンジュゲーションに有用なリンカーを形成し得ることが当業者に認識されるであろう。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なさらなるリンカーは、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

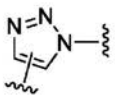
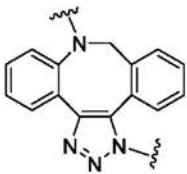
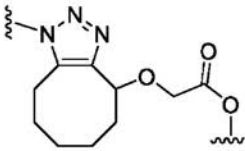
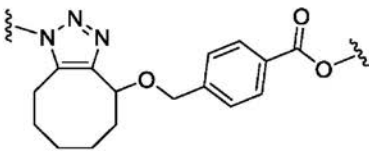
【0308】

本明細書に記載の抗体-薬物およびリガンド-コンジュゲートと組み合わせて有用なリンカーには、以下の表1に示すようなカップリング反応によって形成された化学的部位を含むリンカーが含まれるが、これらに限定されない。曲線は、それぞれ、抗体、抗原結合フラグメントまたはリガンドへの結合点、および細胞毒性分子への結合点を示す。

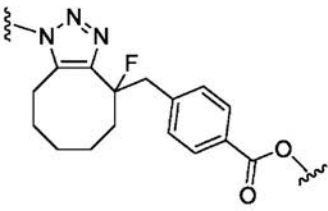
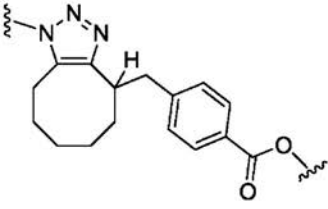
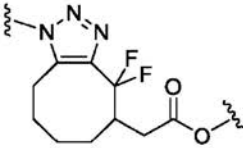
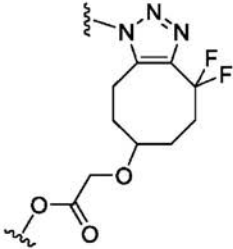
【0309】

表1. 抗体-薬物コンジュゲートの形成におけるカップリング反応によって形成される例示的な化学部分

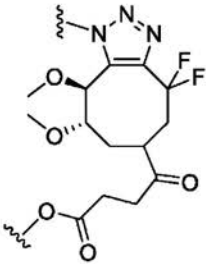
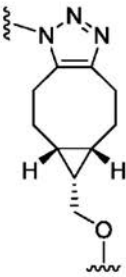
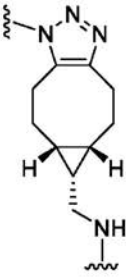
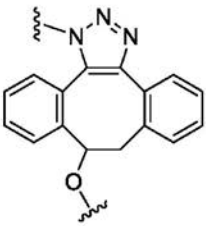
【表 1 - 1】

例示的な カップリング反応	カップリング反応により形成される化学部分 Z
[3+2] 付加環化	
[3+2] 付加環化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

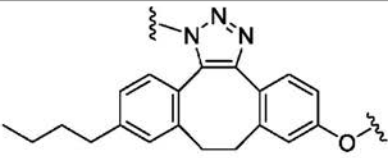
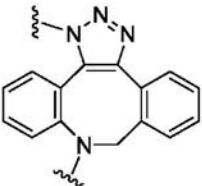
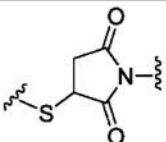
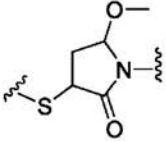
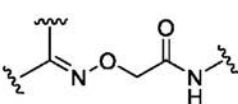
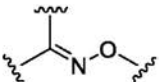
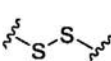
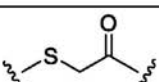
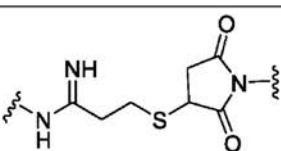
【表 1 - 2】

[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

【表 1 - 3】

[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	
[3+2] 付加環化、 エステル化	

【表 1 - 4】

[3+2] 付加環化、 エーテル化	
[3+2] 付加環化	
マイケル付加	
マイケル付加	
イミン縮合、 アミド化	
イミン縮合	
ジスルフィド形成	
チオールアルキル化	
縮合、 マイケル付加	

【0310】

当業者は、リンカーに結合した反応性置換基 Z と抗体またはその抗原結合フラグメント上の反応性置換基とが、共有結合カップリング反応に参与して化学部分 Z を生成することを認識し、かつ反応性置換基 Z を認識するであろう。したがって、本明細書に記載の方法と併せて有用な抗体-薬物コンジュゲートは、本明細書に記載のように、抗体またはその

抗原結合フラグメントとリンカーまたは細胞毒素ーリンカーコンジュゲートとの反応によって形成され得、前記リンカーまたは細胞毒素ーリンカーコンジュゲートは、化学部分Zを形成するために、抗体またはその抗原結合フラグメント上の反応性置換基との反応に適した反応性置換基Zを含む。

【0311】

表1に示すように、リンカーおよび抗体またはその抗原結合フラグメント上の適切な反応性置換基の例には、求核剤／求電子剤対（例えば、チオール／ハロアルキル対、アミン／カルボニル対、またはチオール／ α 、 β -不飽和カルボニル対など）、ジエン／ジエノフィル対（例えば、とりわけ、アジド／アルキン対、またはジエン／ α 、 β -不飽和カルボニル対）などが挙げられる。化学部分Zを形成するための反応性置換基間のカップリング反応には、特に限定されないが、チオールアルキル化、ヒドロキシルアルキル化、アミンアルキル化、アミンまたはヒドロキシルアミンの縮合、ヒドラジン形成、アミド化、エステル化、ジスルフィド形成、付加環化（例えば、とりわけ、[4+2]ディールスアルダー付加環化、[3+2]ヒュスゲン付加環化）、求核芳香族置換、求電子芳香族置換、および当該技術分野で知られているまたは本明細書に記載の他の反応様式が含まれる。好ましくは、リンカーは、抗体またはその抗原結合フラグメント上の求核官能基との反応のための求電子官能基を含む。

【0312】

本明細書に開示される、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基には、限定されないが、(i) N末端アミン基、(ii) 側鎖アミン基（例えば、リジン）、(iii) 側鎖チオール基（例えば、システイン）、および(iv) 抗体がグリコシル化されている場合の糖のヒドロキシル基またはアミノ基などの求核基が含まれる。本明細書に開示される、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在し得る反応性置換基には、限定されないが、セリン、スレオニン、およびチロシン残基のヒドロキシル部分；リジン残基のアミノ部分；アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル部分；およびシステイン残基のチオール部分、ならびに非天然アミノ酸のプロパルギル、アジド、ハロアリール（例えば、フルオロアリール）、ハロヘテロアリール（例えば、フルオロヘテロアリール）、ハロアルキル、およびハロヘテロアルキル部分が含まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基は、アミンまたはチオール部分である。特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、即ち、システインブリッジを有する。抗体は、DTT（ジチオスレイトール）などの還元剤で処理することにより、リンカー試薬とのコンジュゲーションに対して反応性にすることができる。したがって、各システインブリッジは、理論的には2つの反応性チオール求核剤を形成する。リジンと2-イミノチオラン（トラウト試薬）との反応により、追加の求核基を抗体に導入することができ、アミンのチオールへの変換がもたらされる。反応性チオール基は、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上のシステイン残基を導入することで（例えば、1つ以上の非天然システインアミノ酸残基を含む変異抗体を調製することで）、抗体（またはそのフラグメント）に導入され得る。米国特許第7,521,541号は、反応性システインアミノ酸の導入による抗体の操作を教示している。

【0313】

いくつかの実施形態では、リンカーに結合した反応性部分Zは、抗体上に存在する求電子基と反応する求核基である。抗体上の有用な求電子基には、アルデヒドおよびケトンカルボニル基が含まれるが、これらに限定されない。求核基のヘテロ原子は、抗体上の求電子基と反応し、抗体への共有結合を形成することができる。有用な求核基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、カルボン酸ヒドラジン、およびアリールヒドラジドが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、Zは、抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在するアミンおよびチオール部分などの反応性求核置換基と、反応性求電子置換基Zとの間の反応の生成物である。例えば、Zは、とりわけ、マイケル受容体（例えば、マレイミド）、活性化エステル

、電子不足カルボニル化合物、またはアルデヒドであり得る。

【0314】

いくつかの実施形態では、ADCは、本明細書に開示される式III、IIIA、またはIIIBのいずれかのアマトキシニンにリンカーおよび化学部分Zを介してコンジュゲートされた抗CD134または抗CD278抗体を含み、本明細書に開示される式I、IA、IB、II、IIA、またはIIBのいずれかのアマトキシニン-リンカーコンジュゲートを形成する。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基(PAB)を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分PAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは1~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。

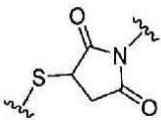
【0315】

いくつかの実施形態では、リンカーは $-(CH_2)_n-$ 単位を含み、ここでnは2~6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ である。いくつかの実施形態では、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ であり、ここでnは6である。

【0316】

いくつかの実施形態では、化学部分Zは表1から選択される。いくつかの実施形態では、化学部分Zは、

【化52】

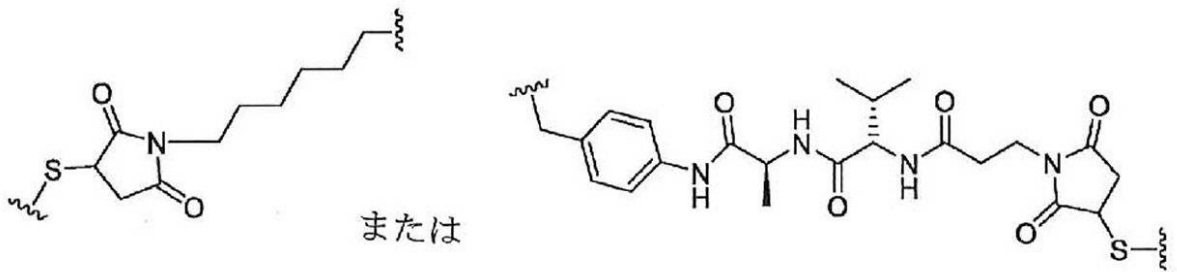


であり、上記式において、Sは、CD134またはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基を表す（例えば、システイン残基の-SH基由来の）硫黄原子である。

【0317】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学部分Zは、L-Zとしてまとめて、

【化53】



である。

【0318】

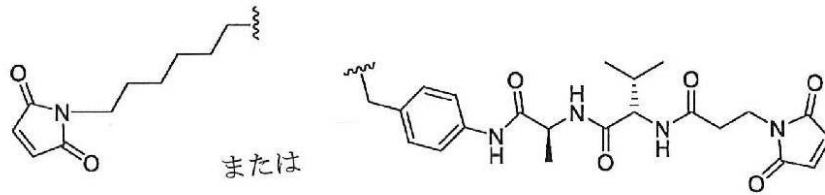
当業者は、抗体またはその抗原結合フラグメントとのコンジュゲーションの前のリンカー-反応性置換基の構造が、Z基としてマレイミドを含むことを認識するであろう。とりわけ本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカー部分およびアマトキシニン-リンカーコンジュゲートは、例えば、米国特許出願公開第2015/021822

0号および国際公開第2017/149077号に記載されており、これらの各々の開示は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0319】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントとのコンジュゲーション前のリンカー反応性置換基の構造は、以下の通りである：

【化54】



【0320】

＜抗体－薬物コンジュゲートの調製＞

本明細書に開示される式 I、式 I A、式 I B、式 I I、式 I I A および式 I I B の A D C において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、本明細書に開示されるリンカー L および化学部分 Z を介して、1つ以上の細胞毒性薬物部分 (D) (例えば、抗体あたり約 1～約 20 の薬物部分) にコンジュゲートされる。本開示の A D C は、以下を含む、当業者に公知の有機化学反応、条件、および試薬を使用して、いくつかの経路によって調製され得る：(1) 抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性置換基と二価リンカー試薬との反応により、上述した A b－Z－L を形成してから、薬物部分 D と反応させる；または (2) 薬物部分の反応性置換基と二価リンカー試薬との反応により D－L－Z を形成してから、上述した抗体またはその抗原結合フラグメントの反応性置換基との反応により、A m－Z－L－A b などの式 D－L－Z－A b の A D C を形成する。A D C を調製するためのさらなる方法は、本明細書に記載されている。

【0321】

別の態様では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフヒドリル基を導入するように化学的に修飾され得る 1つ以上のリジン残基を有する。次に、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介したコンジュゲーションによって A D C が形成される。リジンの修飾に使用され得る試薬には、N－スクシンイミジル S－アセチルチオアセテート (S A T A) と 2－イミノチオラン塩酸塩 (トラウト試薬) が含まれるが、これらに限定されない。別の態様では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、1つ以上のスルフヒドリル基を有するように化学的に修飾され得る 1つ以上の炭水化物基を有することができる。次に、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介したコンジュゲーションによって A D C が形成される。

【0322】

さらに別の態様では、抗体は、酸化されてアルデヒド (－C H O) 基を提供し得る 1つ以上の炭水化物基を有することができる (例えば、L a g u z z a, et al., J. Med. Chem. 1989 年、32 (3), 548－55 頁を参照)。次に、本明細書で上述したように、対応するアルデヒドを介したコンジュゲーションによって A D C が形成される。細胞毒素の結合または会合のためのタンパク質の修飾の他のプロトコルは、参照により本明細書に援用される C o l i g a n et al., Current Protocols in Protein Science, 第 2 巻、J o h n W i l e y & S o n s (2002 年) に記載されている。

【0323】

リンカー薬物部分を、抗体、免疫グロブリン、またはそれらのフラグメントなどの細胞標的タンパク質に結合させる方法は、例えば、米国特許第 5, 208, 020 号、米国特許第 6, 441, 163 号、W O 2005037992、W O 2005081711、および W O 2006/034488 に見出され、これらのすべては、参照によりその全体が本明細書に明示的に援用される。

【0324】

あるいは、抗体および細胞毒性剤を含む融合タンパク質は、例えば、組換え技術またはペプチド合成によって作製され得る。DNAの長さは、コンジュゲートの2つの部分をコードするそれぞれの領域を含み得、当該2つの部分は互いに隣接しているか、またはコンジュゲートの所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離されている。

【0325】

(抗体の薬物動態プロファイル)

いくつかの実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲートは、所定の血清半減期を有する。本明細書の方法において有用な抗体、その抗原結合フラグメント、およびコンジュゲートには、例えば、1～24時間の血清半減期を有するものが含まれる。いくつかの実施形態では、循環している抗体のレベルが治療上有効なレベルである場合、移植片は、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲートの前に、それと同時にまたはその後投与される。血清レベルの測定による薬物動態分析は、当技術分野で既知のアッセイにより行うことができる。

【0326】

(投与経路と投薬)

本明細書に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、ADCおよびリガンドを、患者(例えば、GVHDまたは自己免疫疾患を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者)に様々な剤形で投与することができる。例えば、本明細書に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、ADCおよびリガンドを、GVHDを患っているかそのリスクがある患者に、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含有する水溶液などの水溶液の形態で投与することができる。本明細書に記載の組成物および方法で使用するのに適した薬学的に許容される賦形剤としては、粘度調整剤が挙げられる。水溶液は、当該技術分野で知られている技術を用いて滅菌することができる。

【0327】

本明細書に記載の抗CD134ADCまたは抗CD278ADCを含む医薬製剤は、そのようなADCを凍結乾燥製剤または水溶液の形態で1つ以上の任意の薬学的に許容される担体(Remington's Pharmaceutical Sciences、第16版、Osol, A. Ed. (1980年))と混合することによって調製される。薬学的に許容される担体は、一般に、使用される用量および濃度でレシピエントに対して無毒であり、以下が含まれるが、これらに限定されない:リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝液;アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤;防腐剤(オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール;メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン;カテコール;レゾルシノール;シクロヘキサノール;3-ペンタノール;およびm-クレゾールなど);低分子量(約10残基未満)のポリペプチド;血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質;ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー;グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸;グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む単糖、二糖、および他の炭水化物;EDTAなどのキレート剤;スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖;ナトリウムなどの塩を形成する対イオン;金属錯体(例えば、Zn-タンパク質錯体);および/またはポリエチレングリコール(PEG)などの非イオン性界面活性剤。

【0328】

本明細書に記載の抗体、抗原結合フラグメント、ADCおよびリガンドは、経口的、経皮的、皮下的、鼻腔内、静脈内、筋肉内、眼内、または非経口的などの様々な経路で投与され得る。任意の所与の場合における投与に最も適した経路は、投与される特定の抗体、抗原結合フラグメントまたはADC、患者、医薬製剤方法、投与方法(例えば、投与時間および投与経路)、患者の年齢、体重、性別、処置されている疾患の重症度、患者の食事

、ならびに患者の排泄率に依存する。

【0329】

本明細書に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、ADCまたはリガンドの有効量は、例えば、単回（例えば、ボラス）投与、複数回投与、または連続投与あたり、約0.001～約100mg/kg体重の範囲であり得るか、または、抗体、その抗原結合フラグメント、ADCまたはリガンドの最適血清濃度（例えば、約0.0001～約5000μg/mLの血清濃度）を達成する範囲であり得る。用量は、GVHDまたは自己免疫疾患を患っているかそのリスクがある対象（例えば、ヒト）に、1日、1週、または1月あたり1回以上（例えば、約2～10回）投与され得る。抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、またはリガンドは、造血幹細胞移植の前に、宿主反応性T細胞の量を、例えば10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。

【0330】

（処置法）

本明細書に記載の組成物および方法を使用して、移植寛容を達成するために、移植片不全、特に同種移植片拒絶、および自己免疫疾患に関連する活性化T細胞を枯渇させることができる。本明細書に記載の組成物および方法は、GVHDおよび/または自己免疫疾患の予防および処置に特に有用である。本明細書に記載の組成物および方法はまた、宿主対移植片病（HVGD）の予防または処置にも有用である。本明細書に開示される方法および組成物はまた、同種移植を受けているヒト患者における移植失敗のリスクを低減するのにも有用である。好ましい対象はヒトである。投与される抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはリガンド-薬物コンジュゲートの量は、GVHDまたは自己免疫疾患を促進する細胞、例えば活性化T細胞を枯渇させるのに十分であるべきである。治療上有効な用量の決定は、当技術分野の医師の能力の範囲内であるが、一例として、GVHDまたは自己免疫疾患の処置のために抗体の全身投与を利用する本明細書に記載された方法の実施形態では、有効なヒト用量は0.1～150mg/kg（例えば、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg、150mg/kgなど）の範囲であろう。投与経路が推奨用量に影響を与える可能性がある。繰り返される全身投与は、採用される投与方法に応じて、有効レベルを維持するため、例えば、GVHDまたは自己免疫疾患を減弱または阻害するために企図される。

【0331】

抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはリガンド-薬物コンジュゲートは、細胞または固形臓器の患者への移植の前に、それと同時に、またはその後に、必要とするヒト患者に投与され得る。一実施形態では、抗CD134ADCまたは抗CD278ADCは、細胞または固形臓器の移植前（例えば、約3日前、約2日前、約12時間前）に、それを必要とするヒト患者に投与される。一実施形態では、抗CD134ADCまたは抗CD278ADCは、細胞または固形臓器の移植後（例えば、約1日後、約2日後、約3日後、または約4日後）に、それを必要とするヒト患者に投与される。特定の実施形態では、本明細書に記載のADCは、移植の前に、それと同時に、および/またはその後に、患者に投与される。抗CD134ADCまたは抗CD278ADCの単回用量は、細胞または臓器の移植の前に、それと同時に、またはその後にヒト患者に投与され得、そのような単回用量は、GVHDまたは移植片不全を処置または予防するのに十分である。

【0332】

抗CD134ADCまたは抗CD278ADCは、同種移植を含む移植の受け入れを促進するために使用される従来の薬剤（例えば、化学療法および/または放射線）の代替として使用され得る。従来の薬剤は一般に、移植された細胞または臓器の生着および受容を促進するために、患者の免疫応答を低下させる。本明細書に記載の方法および組成物は、CD134発現活性化T細胞またはCD278発現活性化T細胞を標的とし、枯渇させながら、患者の免疫系のほとんどをそのままにできる、より選択的な治療を提供する。したがって、細胞または固形臓器の移植を成功させるために、特にアロ活性化免疫細胞を標的

とし、枯渇させることができることを考えると、本明細書に開示される抗CD134ADCまたは抗CD278ADCが活性化T細胞を選択的に枯渇させる能力は、移植の文脈において従来の療法よりも有利な療法を提供する。

【0333】

本明細書に開示される方法および組成物は、移植片不全を予防または処置するために使用され得る。同種造血幹細胞移植後の不全を含む、移植片不全または移植片拒絶は、一般的にドナー細胞の初期生着の欠如、または初期生着後のドナー細胞の喪失として現れる（総説については、Mattsson et al., (2008年) Biol Blood Marrow Transplant, 14 (Suppl 1): 165-170頁を参照）。本明細書に開示される組成物および方法は、移植片不全が懸念される移植片または移植シナリオにおいて、例えばヒト患者が固形臓器または細胞の移植後に移植片不全を発症するリスクがある場合、特に移植された細胞または臓器が同種である場合に、CD134またはCD278発現活性化T細胞を枯渇させるために使用され得る。

【0334】

一実施形態では、抗CD134もしくは抗CD278抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはリガンド-薬物コンジュゲートは、細胞、移植片または臓器をヒト患者に移植する前に、細胞、移植片または固形臓器を抗CD134もしくは抗CD278抗体、抗体-薬物コンジュゲート、またはリガンド-薬物コンジュゲートと接触させることによって、CD134またはCD278発現ドナー細胞（例えば、CD134またはCD278発現活性化T細胞）を枯渇させるために使用される。一実施形態では、細胞、移植片または臓器は同種である。

【0335】

GVHDのリスクは、現在の治療法による移植後も高いままである。本明細書に開示される方法および組成物は、ヒト患者における移植片対宿主病（GVHD）を阻害するために使用され得る。抗CD134ADCまたは抗CD278ADCを使用して、幹細胞移植などの移植を受ける患者の活性化T細胞を選択的に標的とすることができる。本明細書に記載の抗CD134ADCまたは抗CD278ADCは、限定されないがHSC移植などの移植を受ける予定の、またはすでに移植を受けたヒト患者において、CD134+またはCD278+細胞を標的として枯渇させることによって、GVHDのリスクを軽減するためにも使用され得る。特定の実施形態において、本明細書に開示される組成物および方法は、移植療法、例えば、同種HSC後の患者においてGVHDの症状が現れる前にGVHDを処置するためのものである。

【0336】

本明細書に記載の方法はまた、宿主対移植片（HvG）反応を防止するためにも有用である。抗CD134-ADCまたは抗CD278-ADCはまた、宿主対移植片（HvG）反応を防止するために免疫抑制剤として使用され得、それによって同種移植片不全のリスクを防止または軽減することもできる。HvG反応のリスクがある患者における抗CD134または抗CD278ADCの使用は、HLA不適合の度合いがより高いドナー細胞の生着を可能にする。追加の使用には、固形臓器移植における寛容誘導が含まれ、宿主対移植片反応がCD134-ADCまたはCD278-ADCによって予防または抑制される。これらには、臓器が非ヒト由来であり、かつ／または遺伝子改変されている異種移植を含む、造血幹細胞移植の有無にかかわらず行われる固形臓器移植が含まれる。

【0337】

一実施形態では、抗CD134-ADCまたは抗CD278-ADCは、2人のドナーが使用される同種移植の状況で、移植片対移植片（GvG）を予防するために使用される。例としては、成人および小児患者における2人の臍帯血幹細胞ドナーの使用が含まれる。両方の幹細胞ソースが正常に生着するため、GvGの防止は、移植後のより迅速な造血（例えば、好中球および血小板）再構成を可能にする。

【0338】

いくつかの実施形態では、移植は同種移植である。いくつかの実施形態では、移植は自

己移植である。

【0339】

いくつかの実施形態では、移植は、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植である。

【0340】

いくつかの実施形態では、移植片は造血細胞（例えば、造血幹細胞）を含む。

【0341】

本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、移植は、任意の固形臓器または皮膚移植であり得る。いくつかの実施形態では、移植は、腎臓移植、心臓移植、肝臓移植、膵臓移植、肺移植、腸移植および皮膚移植からなる群から選択される。

【0342】

本明細書に記載される方法は、多発性硬化症（MS）を処置するために有用である。MSは中枢神経系の壊滅的な自己免疫炎症性疾患である。中枢神経系（CNS）の損傷は、ミエリン鞘内の（自己）抗原に対する自己免疫攻撃に起因することが広く認められている。MSにおける組織損傷の原因となるメカニズムには、ミエリン鞘内のタンパク質を攻撃する自己反応性T細胞の活性化が含まれる。個人が15歳～50歳の間に最初の兆候を経験することが一般的である。冒された個人は、悪化－緩解という病気の典型的な経過を生み出す炎症性脱髄の発作に遭遇する。

【0343】

本明細書に記載される方法はまた、ヒト全身性ループス（SLE）を処置するためにも有用である。SLE、またはループスは、自己抗原に対する自己抗体の産生を特徴とする全身性慢性自己免疫疾患である。自己反応性B細胞は、二本鎖DNAに対する抗体、核タンパク質抗原に対する抗体、およびリボ核タンパク質に対する抗体を含む自己抗原によって駆動される。B細胞寛容の損失を促進し、自己抗体の産生を駆動する因子は不明である。全身性ループスは、体のほとんどすべての臓器または系に影響を及ぼす。全身性ループスには、症状が明らかであるとしてもごくわずかな時期（「緩解」）と、疾患がより活発になる時期（「フレア」）とが含まれ得る。

【0344】

本明細書に記載される方法はまた、関節リウマチ（RA）を処置するためにも有用である。RAは全身性の自己免疫疾患で、最初は滑膜、つまり関節の間の空洞を覆い、潤滑液を分泌する結合組織膜を攻撃する。RAの原因は不明であるが、感染性、遺伝的、およびホルモン性の因子がRAに関与している可能性がある。RAを患っている患者の関節には、マクロファージおよび樹状細胞、ならびにT細胞およびB細胞などの白血球が重度に浸潤しているため、RAは異常免疫と関連している。この疾患はどの年齢でも発症し得るが、発症のピーク発生率は25歳～55歳である。発生率は年齢とともに増加する。疾患の発症は通常、徐々に起こり、疲労、1時間以上続く朝のこわばり、びまん性の筋肉痛、食欲不振、および脱力感を伴う。最終的に、非活動後の関節の温感、腫れ、圧痛、およびこわばりを伴う関節痛が現れる。

【0345】

本明細書に記載される方法はまた、炎症性腸疾患（IBD）を処置するためにも有用である。IBDの症状には、潰瘍性大腸炎、クローン病、リンパ球性大腸炎、および膠原性大腸炎が含まれる。IBDは、胃腸管の自然再発性の免疫介在性障害であり、制御されていない炎症と粘膜免疫系の持続的な活性化を特徴とする。CD4⁺ T細胞は、炎症を起こした粘膜への流入により、ヒトIBDの病因において重要な役割を果たすと考えられている。

【0346】

本明細書に記載される方法は、乾癬を処置するために特に有用である。乾癬は、赤い鱗状の隆起した斑を特徴とする慢性炎症性皮膚疾患である。乾癬は、T細胞とサイトカインレベルの関連する上昇によって媒介され、細胞分裂の増加と異常な分化を引き起こす。乾癬は、重症度の程度が異なる慢性の再発性皮膚疾患であり、重篤な併存症、例えば、乾癬性関節炎、うつ病、悪性腫瘍、メタボリックシンドローム、心血管疾患の罹患率および死

亡率、ならびに炎症性腸疾患（IBD）などの自己免疫疾患とも関連している。

【0347】

本明細書に記載の方法はまた、I型真性糖尿病（I型糖尿病）を処置するためにも有用である。I型糖尿病は、年齢および身長に比べて過体重ではない若年発症患者を含むヒトの代謝障害であり、I型糖尿病は任意の年齢で発症し得るが、早い年齢、多くの場合30歳未満で急速に発症する。I型糖尿病は自己免疫病因の疾患であると考えられている。CD4およびCD8 T細胞は、β細胞（インスリン産生細胞）への損傷の原因物質として関与している。

【0348】

本明細書に記載の方法は、以下を含むがこれらに限定されない他の自己免疫疾患の処置にも有用である：急性散在性脳脊髄炎（ADEM）、アジソン病、汎発性脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群（APS）、再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患（AIED）、自己免疫性リンパ増殖症候群（ALPS）、自己免疫性卵巣炎、バロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、シャーガス病、慢性疲労免疫機能障害症候群（CFIDS）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、クローン病、癬痕性類天疱瘡、セリアックスブルー・疱疹状皮膚炎、寒冷凝集素症、クレスト症候群、デゴス病、円板状エリテマトーデス、自律神経失調症、子宮内膜症、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛症・線維筋炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギランバレー症候群（GBS）、橋本甲状腺炎、化膿性汗腺炎、特発性および／または急性型血小板減少性紫斑病、特発性肺線維症、IgAニューロパチー、間質性膀胱炎、若年性関節炎、川崎病、扁平苔癬、ライム病、メニエール病、混合性結合組織病（MCTD）、重症筋無力症、神経性筋強直症、オプソクロノス・ミオクロノス運動失調（OMS）、視神経炎、オード甲状腺炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性軟骨炎、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発性動脈炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、原発性無ガンマグロブリン血症、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、全身硬直症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎（「巨細胞性動脈炎」としても知られている）、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛（「外陰部前庭炎」）、ならびにウェゲナー肉芽腫症。

【0349】

一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法は、限定されることなく非悪性ヘモグロビン症（例えば、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンconi貧血、およびウィスコット・アルドリッチ症候群からなる群から選択されるヘモグロビン症）を含む様々な障害を処置するために使用され得る。追加的または代替的に、本明細書に記載の組成物および方法は、先天性免疫不全症などの免疫不全症を処置するために使用され得る。追加的または代替的に、本明細書に記載の組成物および方法は、後天性免疫不全症（例えば、HIVおよびAIDSからなる群から選択される後天性免疫不全症）を処置するために使用され得る。本明細書に記載の組成物および方法は、代謝障害（例えば、糖原蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴリピドーシス、および異染性白質ジストロフィーからなる群から選択される代謝障害）を処置するために使用され得る。追加的または代替的に、本明細書に記載の組成物および方法は、血液癌（例えば、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫および骨髄異形成症候群）などの悪性腫瘍、ならびに神経芽細胞腫を含む他の癌性状態を処置するために使用され得る。

【0350】

一実施形態では、本明細書に記載のADCは、白血病、例えば急性骨髄性白血病の処置を受けているヒト患者におけるGVHDを処置または予防するために使用され、それにより患者は同種移植、例えば造血幹細胞（HSC）の同種移植を受けた。本明細書に記載のADCは、T細胞を枯渇させ、同種移植の受け入れを促進するために、移植前に使用することもできる。

【0351】

一実施形態では、本明細書に記載のADCは、代謝性疾患、例えば遺伝性代謝疾患の処

置を受けているヒト患者における G V H D を処置または予防するために使用され、それにより患者は同種移植、例えば臍帯血細胞の同種移植を受けた。ここで説明する A D C は、T 細胞を枯渇させ、同種臍帯血細胞移植の受け入れを促進するために、移植前に使用することもできる。

【0352】

本明細書に記載の組成物および方法の投与により処置され得るさらなる障害には、アデノシンデアミナーゼ欠損症および重症複合免疫不全、高免疫グロブリン M 症候群、チェディック・東病、遺伝性リンパ組織球増殖症、大理石骨病、骨形成不全症、貯蔵病、サラセミアメジャー、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、および若年性関節リウマチが含まれる。

【0353】

本明細書に開示される方法によれば、抗 C D 1 3 4 もしくは抗 C D 2 7 8 抗体、その抗原結合フラグメント、または A D C は、造血幹細胞移植療法の準備としてヒト患者に投与され得る。

【0354】

抗 C D 1 3 4 もしくは抗 C D 2 7 8 抗体、そのフラグメント、A D C、または可溶性リガンドは、本明細書に記載されるかまたは当該分野で公知の細胞毒性分子などの毒素、または F c ドメインに共有結合され得る。例えば、抗 C D 1 3 4 もしくは抗 C D 2 7 8 抗体、その抗原結合フラグメント、A D C、または可溶性リガンドは、微小管結合剤、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシシン、シュードモナス外毒素 A、d e B o u g a n i n、ジフテリア毒素などの細胞毒素、例えば、 α -アamaniチン、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、S N - 3 8、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらのバリエーションに共有結合させることができる。

【0355】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されているか、または当該技術分野で知られている共有結合形成技術を使用して実行することができる。その後、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、患者への外因性造血幹細胞（同種造血幹細胞など）の移植の前に、例えば静脈内投与によって患者に投与することができる。

【0356】

抗 C D 1 3 4 もしくは抗 C D 2 7 8 抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植療法の前に、その時に、またはその後に宿主反応性 T 細胞の量を、例えば 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与され得る。ドナー T 細胞数の減少は、患者から採取した血液サンプル中の特徴的な造血細胞表面抗原を発現する細胞の F A C S 分析など、当該技術分野で既知の従来の技術を使用してモニターすることができる。例えば、当業者の医師は、様々な時点で患者から血液サンプルを採取し、ドナー T 細胞抗原に結合する抗体を使用してサンプル中の T 細胞の相対濃度を解明するために F A C S 分析を行うことによって、ドナー C D 1 3 4 + または C D 2 7 8 + T 細胞の減少の程度を決定することができる。

【0357】

抗 C D 1 3 4 もしくは抗 C D 2 7 8 抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、粘度調整剤などの 1 つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。水溶液は、本明細書に記載されているか、または当該技術分野で知られている技法を使用して滅菌することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植片を患者に投与する前に、例えば、0.001 mg/kg ~ 100 mg/kg の用量で患者に投与することができる。抗体、その抗原結合

フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間～約7日（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）以上前に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートを、移植の約3日前に投与することができる。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与と同時に患者に投与することができる。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間～約10日（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、または10日）以上後に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートを、移植の約3～4日後に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートの量は、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物－抗体コンジュゲート、または薬物－リガンドコンジュゲートの濃度がいつ最大に達したかを決定するために、当技術分野で既知の方法により、患者の血漿中において定量化され得る。

【0358】

次に、患者は、外因性造血幹細胞の注入（例えば、静脈内注入）を、例えば、抗体またはその抗原結合フラグメントまたは薬物－抗体コンジュゲートを投与した同じ医師から、またはそれと異なる医師から受けてよい。医師は、自己、同系、または同種造血幹細胞の注入を、例えば、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^9$ CD34+細胞/kgの用量で患者に投与することができる。医師は、例えば、患者から血液サンプルを採取し、移植片の投与後の造血幹細胞または造血系列の細胞（巨核球、栓球（thrombocytes）、血小板（platelets）、赤血球、マスト細胞、骨髓芽球、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T細胞、およびB細胞など）の濃度の増加を決定することによって、造血幹細胞移植片の生着をモニターすることができる。この分析は、造血幹細胞移植療法後に、例えば、1時間～6ヶ月以上（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、13週間、14週間、15週間、16週間、17週間、18週間、19週間、20週間、21週間、22週間、23週間、24週間、またはそれ以上）にわたって実施することができる。造血幹細胞または造血系列の細胞の濃度が、移植療法前の対応する細胞型の濃度と比較して、移植療法後に（例えば、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、500%、またはそれ以上）増加したという所見は、抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、抗体－薬物コンジュゲート、または抗体－リガンドコンジュゲートによる処置が、移植された造血幹細胞移植片の生着を首尾よく促進したことを示す1つの指標を与える。

【0359】

本明細書に開示される方法によれば、抗CD134もしくは抗CD278抗体またはA

DCを、GVHDのリスクがあるかまたはGVHDを患っているヒト患者に投与することができる。抗体、そのフラグメント、ADC、または可溶性リガンドを、本明細書に記載されているかまたは当技術分野で公知の細胞毒性分子などの毒素、またはFcドメインに共有結合させることができる。例えば、抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドは、微小管結合剤、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deBougain、ジフテリア毒素などの細胞毒素、例えば、 α -アマニチン、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらのバリエーションに共有結合させることができる。

【0360】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている共有結合形成技術を使用して実行することができる。その後、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、静脈内投与により、例えば、GVHDのリスクがある患者に投与することができる。その後、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、静脈内投与により、例えば、GVHDを患っている患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、外因性造血幹細胞（同種造血幹細胞など）の移植の前に、それと同時に、またはその後に患者に投与することができる。

【0361】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植療法後に宿主反応性T細胞の量を、例えば10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。ドナーT細胞数の減少は、患者から採取した血液サンプル中の特徴的な造血細胞表面抗原を発現する細胞のFACS分析など、当技術分野で既知の従来の技術を使用してモニターすることができる。例えば、当業者の医師は、様々な時点で患者から血液サンプルを採取し、ドナーT細胞抗原に結合する抗体を使用してサンプル中のT細胞の相対濃度を解明するためにFACS分析を行うことによって、ドナーCD134+またはCD278+T細胞の減少の程度を決定することができる。

【0362】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、粘度調整剤などの1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。水溶液は、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている技法を使用して滅菌することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植片を患者に投与する前に、例えば、0.001mg/kg~100mg/kgの用量で患者に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、GVHDの予防および処置を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の1時間~7日（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）以上前に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、移植の約3日前に投与することができる。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコン

ジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与と同時に患者に投与することができる。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間～約10日（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、または10日）以上後に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、移植の約3～4日後に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートの量は、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートの濃度がいつ最大に達したかを決定するために、当技術分野で既知の方法により、患者の血漿中において定量化され得る。

【0363】

次に、患者は、外因性造血幹細胞の注入（例えば、静脈内注入）を、例えば、抗体またはその抗原結合フラグメントまたは薬物-抗体コンジュゲートを投与した同じ医師から、またはそれと異なる医師から受けてよい。医師は、自己または同種造血幹細胞の注入を、例えば、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^9$ CD34+細胞/kgの用量で患者に投与することができる。

【0364】

当業者の医師は、CD134またはCD278に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADCまたは可溶性リガンド、例えば本明細書に記載の抗CD134抗体または抗CD278抗体をヒト患者に投与した後、GVHDの臨床症状を評価することができる。

【0365】

本明細書に開示される方法によれば、抗CD134もしくはCD278抗体またはADCは、造血幹細胞移植の結果として自己免疫疾患を発症するヒト患者に投与され得る。本明細書に開示される方法によれば、当業者は、CD134またはCD278に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADCまたは可溶性リガンド、例えば、本明細書に記載の抗CD134抗体または抗CD278抗体をヒト患者に投与することができる。抗体、そのフラグメント、または可溶性リガンドは、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている細胞毒性分子などの毒素、またはFcドメインに共有結合させることができる。例えば、抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンドは、微小管結合剤、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシシン、シュードモナス外毒素A、deBouganin、ジフテリア毒素などの細胞毒素、例えば、 α -アマニチン、サポリン、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、およびインドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらのバリエーションに共有結合させることができる。

【0366】

この結合は、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている共有結合形成技術を使用して実行することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、例えば自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、I型糖尿病）のリスクがある患者に、静脈内投与によってその後投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、（自己または同種造血幹細胞などの）外因性造血幹細胞の移植後に発症する自己免疫疾患を患っている患者に投与することができる。

【0367】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植療法の前に、宿主反応性リンパ球の量を、例えば10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与され得る。ドナーリンパ球数の減少は、患者から採取された血液サンプル中の特徴的な造血細胞表面抗原を発現する細胞のFACS分析などの、当技術分野で既知の従来の技術を使用してモニターすることができる。例えば、当業者の医師は、様々な時点で患者から血液サンプルを採取し、サンプル中のT細胞の相対濃度を解明するためにT細胞抗原に結合する抗体を使用してFACS分析を実施することによって、CD134+またはCD278+T細胞の減少の程度を決定することができる。自己免疫疾患に対する有効性は、当技術分野で公知のアッセイ（例えば、血清サンプルからの自己抗体反応の測定、および自己抗原に反応するT細胞増殖）によって測定することができる。

【0368】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、粘度調整剤などの1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。水溶液は、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている技法を使用して滅菌することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植片を患者に投与する前に、例えば、0.001mg/kg~100mg/kgの用量で患者に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、自己免疫疾患の予防および処置を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間~約7日（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）以上前に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、移植の約3日前に投与することができる。あるいは、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与と同時に患者に投与することができる。さらに、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進するときに、例えば、外因性造血幹細胞移植片の投与の約1時間~約10日（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、または10日）以上後に患者に投与することができる。例えば、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、移植の約3~4日後に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートの量は、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートの濃度がいつ最大に達したかを決定するために、当技術分野で既知の方法により、患者の血漿中において定量化され得る。

【0369】

次に、患者は、外因性造血幹細胞の注入（例えば、静脈内注入）を、例えば、抗体またはその抗原結合フラグメントまたは薬物-抗体コンジュゲートを投与した同じ医師から、または異なる医師から受けてもよい。医師は、自己または同種造血幹細胞の注入を、例えば、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^9$ CD34+細胞/kgの用量で患者に投与することができ

る。

【0370】

当業者の医師は、CD134またはCD278に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンド、例えば、本明細書に記載の抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADCをヒト患者に投与した後、自己免疫疾患の臨床症状を評価することができる。

【0371】

本明細書に開示される方法によれば、抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADCは、自己免疫疾患のリスクがあるか、またはそれを患っているヒト患者に投与され得る。本明細書に開示される方法によれば、当業者は、CD134またはCD278に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、ADC、または可溶性リガンド、例えば、本明細書に記載の抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADCをヒト患者に投与することができる。抗体、そのフラグメント、または可溶性リガンドは、本明細書に記載されるかまたは当該技術分野で既知の細胞毒性分子などの毒素、またはFcドメインに共有結合され得る。

【0372】

このコンジュゲーションは、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている共有結合形成技術を使用して実行することができる。その後、抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートを、例えば、自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、関節リウマチ、腸疾患、乾癬、ループス、およびI型糖尿病）のリスクがある患者に静脈内投与によって投与することができる。

【0373】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、宿主反応性リンパ球の量を、例えば10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与され得る。ドナーリンパ球数の減少は、患者から採取された血液サンプル中の特徴的な造血細胞表面抗原を発現する細胞のFACS分析などの、当技術分野で既知の従来の技術を使用してモニターすることができる。例えば、当業者の医師は、様々な時点で患者から血液サンプルを採取し、サンプル中のT細胞の相対濃度を解明するためにT細胞抗原に結合する抗体を使用してFACS分析を実施することによって、CD134+またはCD278+T細胞の減少の程度を決定することができる。自己免疫疾患に対する有効性は、当技術分野で公知のアッセイ（例えば、血清サンプルからの自己抗体反応の測定、および自己抗原に反応するT細胞増殖）によって測定することができる。

【0374】

抗CD134もしくは抗CD278抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、粘度調整剤などの1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。水溶液は、本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られている技法を使用して滅菌することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートは、造血幹細胞移植片を患者に投与する前に、例えば、0.001mg/kg~100mg/kgの用量で患者に投与することができる。抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートの量は、抗体、その抗原結合フラグメント、薬物-抗体コンジュゲート、または薬物-リガンドコンジュゲートの濃度がいつ最大に達したかを決定するために、当技術分野で既知の方法により、患者の血漿中において定量化され得る。

【0375】

本明細書の方法は、特にアロ反応性T細胞を特異的に標的とすることができる手段を提供する。アロ反応性T細胞は、同種移植後のヒト患者において頻繁に発生する。本明細書に記載されている治療法の利点の1つは、CD134またはCD278細胞の特異的ターゲティングを使用することで患者の免疫系を保護し、免疫系をほとんどそのままにして、免疫の回復と感染からの保護を強化できることである。したがって、特の実施形態において、本方法は、従来の免疫抑制薬、例えば、メトトレキサート（Trexall（登録商標））、シクロスポリン、タクロリムス（Prograf（登録商標））、ミコフェノール酸モフェチル（CellCept（登録商標））、シロリムス（Rapamune（登録商標））、コルチコステロイド（メチルプレドニゾンまたはプレドニゾン）、抗胸腺細胞グロブリン（ATG）、アレムツズマブ（Campath（登録商標））またはシクロホスファミド（Cytosan（登録商標））の非存在下で行われる。

【0376】

本明細書に記載の方法および組成物は、特定の実施形態では、コンディショニング療法と組み合わせて使用することもできる。本明細書で使用される場合、「コンディショニング」および「コンディショニング」という用語は、幹細胞、特に造血幹細胞を含む移植片の受容のために患者が準備されるプロセスを指す。このようなコンディショニング方法は、造血幹細胞移植片の生着を促進する。コンディショニング療法は、移植片、例えば、HSCを受ける前に患者から幹細胞および／または免疫細胞を選択的に排除するADCなどの薬剤を移植レシピエント（患者）に投与することを含む。例えば、患者は、CD117またはCD45などの造血幹細胞によって発現される抗原に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントを患者に投与することによって、造血幹細胞移植療法のためにコンディショニングされ得る。抗体は、ADCを形成するために、細胞毒素に共有結合され得る。同種幹細胞移植を含む幹細胞移植を必要とする患者に、幹細胞および／または免疫細胞上の抗原に結合することができる抗体、その抗原結合フラグメント、または薬物-抗体コンジュゲートを投与することは、例えば、内因性造血幹細胞を選択的に枯渇させ、それにより外因性造血幹細胞移植片によって満たされた空孔を作り出すことによって、幹細胞移植片の生着を促進することができる。一実施形態では、本発明は、造血幹細胞（HSC）移植を受けるためにヒト患者をコンディショニングする方法を含み、それにより、抗CD117または抗CD45モノクローナル抗体と細胞毒素（例えば、アマトキシシン）を含むADCの有効量が、移植前に前記患者に投与され、前記患者は、CD134またはCD278のいずれかを発現する活性化T細胞を除去するために、コンディショニングステップの前に、それと同時に、および／またはその後抗CD134または抗CD278ADCも投与される。このような併用療法は、移植された同種細胞に対する同種移植片拒絶のリスクを軽減するか、または移植された同種細胞に対する同種移植片拒絶を処置することによって、同種移植をサポートする。本明細書に開示される方法および組成物と組み合わせて使用され得るコンディショニング方法の例は、米国特許第10,111,966号、WO2017/219025、およびUS2016/0324982に見出すことができ、これらの各々は参照により本明細書に援用される。

【0377】

当業者は、CD134またはCD278に結合できる抗体、その抗原結合フラグメント、または可溶性リガンド、例えば、本明細書に記載の抗CD134もしくは抗CD278抗体またはADCをヒト患者に投与した後、自己免疫疾患の臨床症状を評価することができる。

【実施例】

【0378】

以下の実施例は、本明細書に記載の組成物および方法がどのように使用され、製造され、および評価され得るかの説明を当業者に提供するために示され、本発明の純粋な例示となることを意図しており、発明者らが彼らの発明と見なすものの範囲を限定することを意図していない。

【0379】

(実施例 1：休止および活性化 T 細胞における CD 134 の発現)

活性化および休止 T 細胞の両方での CD 134 の発現を決定した。図 1 に示すように、活性化の 24 時間後、染色された 0 時間コントロール (図 1、左から 1 番目のパネル) と比較して、T 細胞は CD 134 について 56.9% 陽性であった (図 1、左から 3 番目のパネル)。

【0380】

図 2 では、3 人の健康なドナーコントロールからの新鮮な全血を、制御性 T 細胞 (Treg) での CD 134 発現について評価した。簡潔に説明すると、50 μ l の全血を 96 ウェル U 底プレートに添加した。細胞をヒト CD 3、CD 4、CD 8、CD 25、および CD 134 に対する抗体で 4 $^{\circ}$ C にて 30 分間染色した。200 μ l の溶解バッファー (Qiagen) を加え、室温で 10 分間インキュベートを 2 回することにより、赤血球を溶解した。細胞を PBS で 1 回洗浄した後、Fix Solution (eBiosciences) を使用して、暗所で室温にて 45 分間固定した。細胞を Perm Solution (eBiosciences) で 2 回洗浄した後、50 μ l の Perm Solution に再懸濁し、FoxP3 抗体または関連するアイソタイプコントロールで染色した。染色したサンプルを 4 $^{\circ}$ C で 30 分間インキュベートし、PBS で洗浄して、フローサイトメーターにかけた。Treg 細胞は CD 3 + CD 4 + CD 25 + FoxP3 + として決定された。CD 134 レベルは、対応するアイソタイプコントロールに対してゲートされた (gated)。

【0381】

これらのデータは、CD 134 が活性化 T 細胞で発現しているが、休止 T 細胞または Treg では有意に発現していないことを示している。

【0382】

(実施例 2：T 細胞抗体結合アッセイ)

抗 CD 134 抗体が活性化 T 細胞に結合できるかどうか決定するために、抗 CD 134 抗体を試験した。

【0383】

図 3 および 4 に記載されている T 細胞結合アッセイは、次のプロトコルに従って行われた。初代ヒト CD 3 + T 細胞は末梢血単核細胞からネガティブに選択された。AIM-V 培地中、ビーズ：細胞比 = 0.5 : 1 で、細胞を抗 CD 3 / 抗 CD 28 ビーズ (Invitrogen) で一晩刺激した。翌日、ウェルあたり 20,000 個の生存細胞をプレーティングし、4 $^{\circ}$ C で 4 時間、一次抗体 (抗 CD 134 抗体または抗 CD 278 抗体) の滴定で染色した。一定量の二次抗マウス AF488 染色液を 4 $^{\circ}$ C で 30 分間添加した。洗浄後、プレートをフローサイトメーターにかけ、AF488 チャネルの幾何平均蛍光強度に基づいて結合を決定した。

【0384】

図 3 に示すように、抗 CD 134 クローン (抗体 Ber-AC135 (マウス IgG1)) は、活性化 T 細胞への結合を示した。抗体 Ber-AC135 は、マウス抗ヒト CD 134 抗体である (BioLegend; カタログ番号 350002 (2019 年 1 月 17 日付))。抗 CD 134 抗体 443318 (ラット抗ヒト CD 134 抗体 (ラット IgG2a); Novus; カタログ番号 MAB3388-SP (2019 年 1 月 17 日付)) と、抗 CD 134 抗体 7D6 (マウス抗ヒト CD 134 抗体 (マウス IgG1); Thermo Fisher Scientific、カタログ番号 MA5-1648 (2019 年 1 月 17 日付)) も、ネガティブコントロールレベルを超える活性化 T 細胞への結合を示した。マウス IgG1 とラット IgG2a をネガティブコントロールとして使用したが、結合を示さなかった。

【0385】

図 4 A は、活性化 T 細胞への抗 CD 278 抗体の結合を示している。抗体 C398.4A (ハムスター抗ヒト CD 278 抗体 (BioLegend; カタログ番号 313502 (2019 年 1 月 17 日付))、抗体 ISA-3 (マウス抗ヒト CD 278 抗体; The

rm o Fisher ; カタログ番号 14-9948-82 (2019 年 1 月 17 日付))、抗体 669222 (マウス抗ヒト CD278 抗体 ; Novus ; カタログ番号 MAB6975 (2019 年 1 月 17 日付))、抗体 669238 (マウス抗ヒト CD278 抗体 ; Novus ; カタログ番号 MAB69752-SP (2019 年 1 月 17 日付))、抗体 669230 (マウス抗ヒト CD278 抗体 ; Novus ; カタログ番号 MAB69751-SP) 、抗 CD278 抗体 DX29 (マウス抗ヒト CD278 抗体 ; BD Biosciences ; カタログ番号 557801 (2019 年 1 月 17 日付))、抗体 3G4 (マウス抗ヒト ; Novus ; カタログ番号 H00029851-M02 (2019 年 1 月 17 日付))、および抗体 1G1 (マウス抗ヒト ; Novus ; カタログ番号 H00029851-M01 (2019 年 1 月 17 日付))。抗体 C398.4A、ISA-3、DX29、および 669238 で、アイソタイプコントロールレベルを超える結合が観察される。

【0386】

図 4A には、抗 CD137 抗体 (「137-BBK2」) の結果も含まれており、活性化 T 細胞は細胞表面上の CD137 の発現を特徴とするため、これはポジティブコントロールとして機能する。図 4B は、図 4A と同じデータを示しているが、ポジティブコントロール、すなわち抗 CD45 抗体の結果と比較している。活性化 T 細胞は、細胞表面上の CD45 の高レベル発現を特徴とし、したがって、図 4B のデータは、図 4A で使用された結合アッセイの有効性を確認した。

【0387】

図 4C は、活性化 T 細胞への抗 CD134 抗体の結合を示している (これらのデータは図 3 のデータと同一であることに留意されたい)。図 4D は、図 3 および図 4A と同じデータを示しているが、ポジティブコントロール、すなわち抗 CD45 抗体からの結果と比較している。活性化 T 細胞は、細胞表面上の CD45 の高レベル発現を特徴とし、したがって、図 4D のデータは、図 4C で使用された結合アッセイの有効性を確認した。

【0388】

(実施例 3 : 抗 CD134 ADC および抗 CD278 ADC は初代ヒト T 細胞を殺傷する)

初代ヒト T 細胞は、CD134 または CD278 を標的とする ADC、および関連するコントロールの存在下で活性化された。試験した ADC には、CD134 または CD278 のいずれにも非結合の抗体であり、MC 切断可能リンカーを介して α -アamaniチンにコンジュゲートされたネガティブアamaniチンヒト IgG1 アイソタイプコントロール (すなわち、M295) (図 5 および図 6A では「hIgG1-アamaniチン」と呼ばれる)、MC 切断可能リンカーを介して α -アamaniチンにコンジュゲートされた抗体 Ber-AC T35 (AC T35) である抗 CD134-アamaniチン ADC (すなわち、M299) (図 5 では「CD134-アamaniチン」と呼ばれ、図 6A では「CD134-AC T35-mIgG1-アamaniチン」と呼ばれる)、MC 切断可能リンカーを介して α -アamaniチンにコンジュゲートされた抗体 669238 である抗 CD278 ADC (すなわち、M301) (図 5 では「CD278-アamaniチン」と呼ばれ、図 6A では「CD278-669238-mIgG1-アamaniチン」と呼ばれる)、および MC 切断可能なリンカーを介して α -アamaniチンにコンジュゲートされた抗体 DX29 である更なる抗 CD278 ADC (すなわち、M300) (図 6A では「CD278-DX29-mIgG1-アamaniチン」と呼ばれる) が含まれる。したがって、毒素とリンカーは、図 5 および図 6A で試験した ADC の間で共通であった。

【0389】

図 5 および図 6 の T 細胞殺傷アッセイは、次のように行われた。凍結保存されたネガティブ選択された初代ヒト T 細胞を解凍し、ビーズ : 細胞比 = 0.5 : 1 にて抗 CD3 / 抗 CD28 ビーズ (Invitrogen) で刺激した。アッセイの開始時に、384 ウェルプレートのウェルごとに 2×10^4 個の T 細胞を播種し、37℃、5% CO₂ のインキュベーターに入れる前に、抗体を 30nm ~ 0.003nm の様々な濃度で細胞に添加し

た。培養4日後、細胞をフローサイトメトリーで分析した。細胞を生存率マーカーL i v e / D e a d Y e l l o w (I n v i t r o g e n) で染色し、体積フローサイトメーターにかけた。生存可能な活性化細胞および生存可能な非活性化細胞の数を、F S C 対 S S C によって決定した。

【0390】

図5の結果は、アイソタイプh I g G 1 - アマニチンA D C コントロール（すなわち、M 2 9 5）と比較して、抗C D 2 7 8 - 6 6 9 2 3 8 - アマニチンA D C（すなわち、M 3 0 1）または抗C D 1 3 4 - A C T 3 5 - アマニチンA D C（すなわち、M 2 9 9）のいずれかへの曝露時に、生存可能な活性化（プラスティング）T細胞の数が劇的に減少したことを示している。したがって、C D 1 3 4 - アマニチンおよびC D 2 7 8 - アマニチンA D Cの両方が、活性化T細胞を用いたT細胞アッセイで殺傷を示した。上記のように、h I g G 1 - アマニチンA D C（すなわち、M 2 9 5）がネガティブコントロールとして使用され、さらにC D 1 3 4 - アマニチンA D CおよびC D 2 7 8 - アマニチンA D Cはm I g G抗体を含んでいた。A D Cはまた約40%コンジュゲートされていなかった（u n c o j u g a t e d）。図6Aの結果は、図5で説明したものと同一結果を再現しているが、抗C D 2 7 8 - D X 2 9 - アマニチンA D C（すなわち、M 3 0 0）の結果も含む。これらのデータは、抗C D 2 7 8 - D X 2 9 - アマニチンA D C（すなわち、M 3 0 0）が同様に活性化T細胞を殺傷できることを実証していた。

【0391】

図6Bに示す結果は、アイソタイプh I g G 1 - M M A F A D C コントロール（すなわち、M 3 0 3）と比較して、抗C D 1 3 4 - A C T 3 5 - M M A F A D C（すなわち、M 3 0 7）、抗C D 2 7 8 - D X 2 9 - M M A F A D C（すなわち、M 3 0 8）、および抗C D 2 7 8 - 6 6 9 2 3 8 - M M A F A D C（すなわち、M 3 0 9）への曝露時に、生存可能な活性化（プラスティング）T細胞の数が減少したことを示している。図5と図6は、ここで使用されている特定のリンカーでアマニチンにコンジュゲートされた抗C D 1 3 4および抗C D 2 7 8抗体が、ここで使用されている特定のリンカーでM M A Fにコンジュゲートされたものよりも強力であることを示している。

【0392】

（実施例4：F a b - サポリンを用いたT細胞殺傷アッセイ）

F a b - サポリンと組み合わせて投与された抗C D 1 3 4および抗C D 2 7 8抗体は、実施例3に記載されたプロトコルに従って、T細胞殺傷アッセイにおいて試験された。結果を図7Aおよび図7Bに示す。

【0393】

図7Aに記載されている結果には、様々なポジティブコントロール（すなわち、F a b - S A Pを有する抗体）と、様々なネガティブコントロール（すなわち、F a b - S A Pを有する抗体）が含まれている。これらの結果は、F a b - サポリンの存在下で投与されたとき、抗C D 1 3 7抗体B B K 2（T h e r m o F i s h e r；カタログ番号M A 5 - 1 3 7 3 9）およびm I g G 1アイソタイプコントロールが、T細胞を効果的に殺傷できたことを示している。結果は、抗体に関係なく、細胞数がF a b - サポリン群では少ないことを示しており、これは、これらのF a b - サポリンが細胞に対してベースライン毒性を有するためである（すなわち、アイソタイプコントロールと抗C D 1 3 7抗体B B K 2は、最低希釈で同様のレベルの細胞消失を示す。）。これらの結果はまた、おそらく細胞表面上にC D 1 3 7を発現する活性化T細胞への抗C D 1 3 7抗体の結合がより強いいため、抗C D 1 3 7抗体B B K 2とF a b - サポリンの組み合わせは、アイソタイプm I g G 1とF a b - サポリンの組み合わせよりもT細胞の殺傷に効果的であることを示している。図7Bの結果は、F a b - サポリンと組み合わせて投与されたとき、抗C D 1 3 4抗体（A C T 3 5）および抗C D 2 7 8抗体（D X 2 9および6 6 9 2 3 8）の両方が、F a b - サポリンを有する抗C D 1 3 7抗体B B K 2と同様のレベルで活性化T細胞を殺傷するのに効果的であることを示している。

【0394】

抗体の説明の要点を以下の表に示す。

【 0 3 9 5 】

【表 2】

サンプル ID/M#	mAb/L-Tの説明
M295	hIgGアイソタイプ-MC切断可能- α -アマニチン
M299	精製された抗ヒトCD-134 (OX40) Be-ACT35 (ACT35)-MC切断可能- α -アマニチン
M300	精製されたマウス抗ヒトCD278 (mIgG1 DX-29)-MC切断可能- α -アマニチン
M301	抗ICOS (669238) MA69752-SP-MC切断可能- α -アマニチン
M303	hIgGアイソタイプ-MC-MMAF
M307	精製された抗ヒトCD-134 (OX40) Be-ACT35 (ACT35)-MC-MMAF
M308	精製されたマウス抗ヒトCD278 (mIgG1 DX-29)-MC-MMAF
M309	抗ICOS (669238) MA69752-SP-MC-MMAF

【 0 3 9 6 】

【表 3】

配列番号	説明	配列
配列番号 1	ヒト CD134 (NCBI 参照配列 : NP_003318.1)	MCVGARRLGRRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGD TYPNSDRCCHECRPGNGMVSRCSRSQNTVCRP CGPGFYNDVVSSKPKPCTWCNLRSGSERKQLC TATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGH FSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLOPASNSSDAIC EDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTAWPRTS QGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGLPLAIL LALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQA DAHSTLAKI
配列番号 2	ヒト CD278 (NCBI 参照配列 : NP_036224.1)	MKSGWLWYFFLFCLRIKVLTEINGSANYEMFIFHN GGVQILCKYPDIVQQFKMQLLKGGQILCDLTCTKG SGNTVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLDSHAN YYFCNLSIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLK FWLPIGCAAFVVVCILGCILICWLTKKKYSSSVHDP NGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL

【 0 3 9 7 】

(他の実施形態)

本明細書で言及される全ての刊行物、特許、および特許出願は、あたかもそれぞれの独立した刊行物または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み込まれることが示されるのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 3 9 8 】

本発明をその特定の実施形態に関連して説明してきたが、それはさらなる修正が可能であることが理解され、本出願は、概して本発明の原理に従い、当該技術分野における既知のまたは慣習的な慣行の範囲内にある本発明からのそのような逸脱を含む本発明のあらゆる

る変形、使用、または適合を、本発明が前述した本質的な特徴に関連してそれらに適用することができ、特許請求の範囲に従う程度に網羅することを意図している。

【0399】

他の実施形態は、特許請求の範囲内にある。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

移植片対宿主病（GVHD）を処置または予防することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を処置または予防する方法であって、前記方法は、CD134に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項2】

移植片対宿主病（GVHD）を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、CD134に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項3】

同種移植片拒絶を処置または予防することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置または予防する方法であって、前記方法は、CD134に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項4】

前記同種移植片拒絶は、宿主対移植片病（HVGD）である、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

同種移植片拒絶を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者においてCD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、CD134に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項6】

前記同種移植片拒絶はHVGDである、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体である、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記抗体は、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記抗体はIgGであり、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプFcドメインを含む、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記細胞毒素は、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である、請求項1～6に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記微小管結合剤は、メイタンシンまたはメイタンシノイドである、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記メイタンシノイドは、DM 1、DM 3、および DM 4、ならびにメイタンシノールからなる群から選択される、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記ヒト患者に前記抗体またはその抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約 3 日前に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約 1 時間～10 日後に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約 3～4 日後に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記移植は、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植である、請求項 1 4～19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記ヒト患者は、造血幹細胞を含む同種移植を受けた、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記 CD 1 3 4 + 細胞は活性化 T 細胞である、請求項 2 または 5 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記抗体、その抗原結合フラグメントは、接触すると T 細胞により内在化される、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記抗体、その抗原結合フラグメントは、T 細胞の死を促進するか、または T 細胞の増殖を抑制する、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記患者は幹細胞障害を患っている、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記患者は、ヘモグロビン症障害、免疫不全障害、代謝障害、または癌を患っている、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記ヘモグロビン症障害は、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンconi 貧血、およびウイスコット・アルドリッチ症候群からなる群から選択される、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記免疫不全障害は、先天性免疫不全または後天性免疫不全である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 29】

前記後天性免疫不全は、ヒト免疫不全ウイルス性または後天性免疫不全症候群である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記代謝障害は、糖原蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴリピドーシス、および異染性白質ジストロフィーからなる群から選択される、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 31】

前記癌は、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫および骨髄異形成症候群、ならびに神経芽細胞腫からなる群から選択される、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 32】

移植片対宿主病（GVHD）を処置することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（GVHD）を処置する方法であって、前記方法は、GVHD が処置されるように抗 CD134 抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 ADC は、微小管結合剤または RNA ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 CD134 抗体を含む、方法。

【請求項 33】

GVHD を有するかまたは GVHD を発症するリスクがあるヒト対象において CD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記 CD134 細胞の集団が枯渇するように抗 CD134 ADC を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 ADC は、微小管結合剤または RNA ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 CD134 抗体を含む、方法。

【請求項 34】

同種移植片拒絶を処置することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置する方法であって、前記方法は、GVHD が処置されるように抗 CD134 抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 ADC は、微小管結合剤または RNA ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 CD134 抗体を含む、方法。

【請求項 35】

同種移植片拒絶を有するかまたは同種移植片拒絶を発症するリスクがあるヒト対象において CD134+細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記 CD134 細胞の集団が枯渇するように抗 CD134 ADC を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 ADC は、微小管結合剤または RNA ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 CD134 抗体を含む、方法。

【請求項 36】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記 ADC を投与することを含む、請求項 32～35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約 3 日前に、前記患者に前記 ADC を投与することを含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記 ADC を投与することを含む、請求項 32～35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記 ADC を投与することを含む、請求項 32～35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約 1 時間～10 日後に、前記患者に前記 ADC

Cを投与することを含む、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記微小管結合剤はメイタンシノイドである、請求項32～35のいずれか一項に記載の方法。

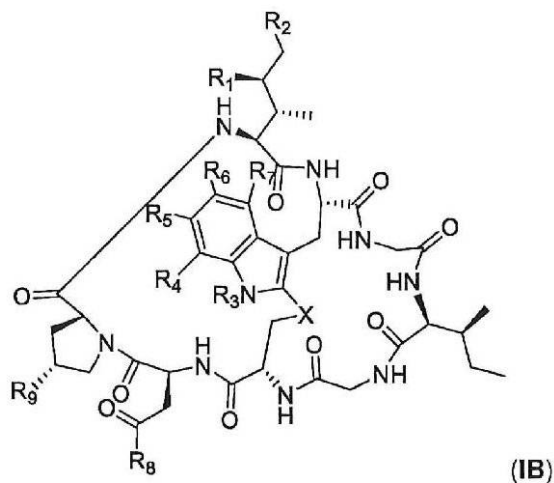
【請求項43】

前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである、請求項32～35のいずれか一項に記載の方法。

【請求項44】

前記ADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、AbはCD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、Am-L-Zは式(1B)で表される、請求項43に記載の方法：

【化1】



[式中、R₁は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり；

R₂は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり；

R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R₃は、H、R_C、またはR_Dであり；

R₄は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり；

R₅は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり；

R₆は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり；

R₇は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり；

R₈は、OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり；

R₉は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり；

Xは、-S-、-S(O)-、または-SO₂-であり；

R_Cは、-L-Zであり；

R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C₁-C₆アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C₁-C₆ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C₂-C₆アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C₂-C₆ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C₂-C₆アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C₂-C₆ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換さ

れたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 $C_1 - C_6$ アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ $C_1 - C_6$ ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；

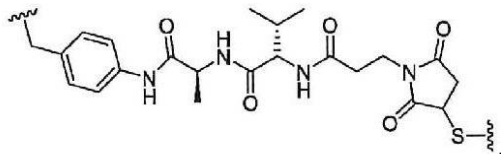
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり；ならびに

式中、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む]。

【請求項45】

L-Zは、

【化2】

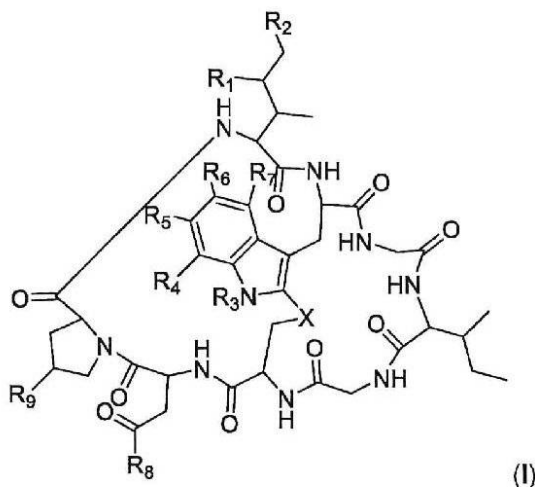


である、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

前記ADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、AbはCD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシシンであり、Am-L-Zは式(I)で表される、請求項43に記載の方法：

【化3】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；
 R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；
 R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；
 R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；
 R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；
 X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；
 R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

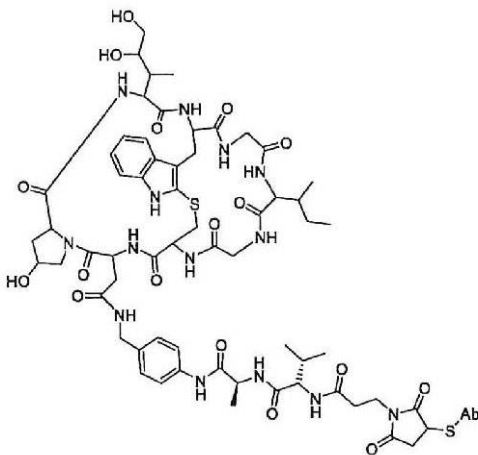
L は、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、前記 C D 1 3 4 に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である。

【請求項 47】

$Am-L-Z-Ab$ は、

【化 4】



で表される、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 48】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマニチンである、請求項 32～35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

同種移植を受けたヒト患者においてアロ反応性T細胞を枯渇させる方法であって、前記方法は、アロ反応性T細胞が枯渇するように抗CD134ADCを前記ヒト患者に投与することを含み、前記ADCは、細胞毒素にコンジュゲートされた抗CD134抗体を含む、方法。

【請求項51】

前記移植は、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植である、請求項50に記載の方法。

【請求項52】

前記移植は造血細胞を含む、請求項50に記載の方法。

【請求項53】

前記造血幹細胞またはその子孫は、前記造血幹細胞の前記患者への移植から2日以上経過した後、造血幹細胞としての機能的ポテンシャルを維持する、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

前記細胞毒素はRNAポリメラーゼ阻害剤である、請求項50～53のいずれか一項に記載の方法。

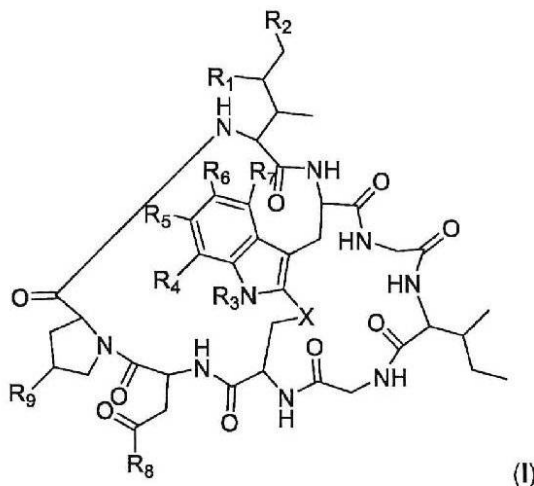
【請求項55】

前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

前記ADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、Abは前記抗CD134抗体であり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、Am-L-Zは式(I)で表される、請求項55に記載の方法：

【化5】



〔式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 $C_1 - C_6$ アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 $C_2 - C_6$ アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 $C_2 - C_6$ ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 $C_2 - C_6$ アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 $C_2 - C_6$ ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

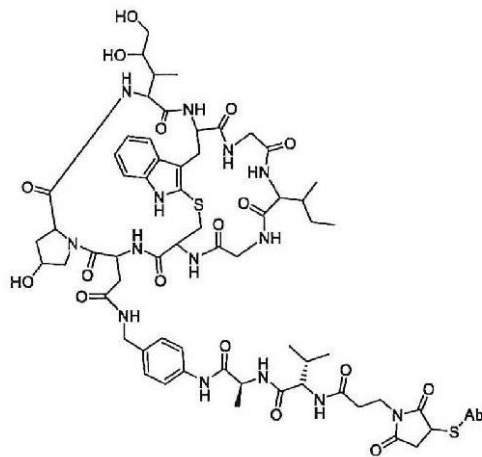
L は、任意に置換されたアルキレン（例えば、 $C_1 - C_6$ アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ $C_1 - C_6$ ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 $C_2 - C_6$ ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

Z は、 L 上に存在する反応性置換基と、前記 $CD134$ に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である】。

【請求項 57】

前記 ADC は式 $Ab - Z - L - Am$ の ADC であり、式中、 Ab は前記抗 $CD134$ 抗体であり、 L はリンカーであり、 Z は化学部分であり、 Am は前記アマトキシンであり、式中、 $Am - L - Z - Ab$ は、

【化 6】



で表される、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 58】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマニチンである、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 59】

前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

ペプチドリリンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗 $CD134$ 抗体を含む抗体-薬物コンジュゲート (ADC) であって、前記細胞毒素は微小管結合剤または RNA ポリメラーゼ阻害剤である、抗体-薬物コンジュゲート (ADC)。

【請求項 61】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである、請求項 60 に記載の ADC 。

【請求項 62】

前記アマトキシンはアマニチンである、請求項 6 1 に記載の抗 C D 1 3 4 A D C。

【請求項 6 3】

前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ε -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 6 2 に記載の抗 C D 1 3 4 A D C。

【請求項 6 4】

請求項 6 0 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の A D C と、薬学的に活性な担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 6 5】

移植片不全または G V H D を処置することを必要とするヒト患者において移植片不全または G V H D を処置する方法であって、前記方法は、請求項 6 0 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の A D C の有効量を前記ヒト患者に投与することを含み、前記ヒト患者は以前に移植を受けたことがある、方法。

【請求項 6 6】

前記ヒト患者は、前記 A D C の投与前 4 日以内に前記移植を受けた、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

移植片不全または G V H D を有するリスクがあるヒト患者を処置する方法であって、請求項 6 0 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の A D C の有効量を前記移植片不全または G V H D を有するリスクがあるヒト患者に投与することと、その後前記ヒト対象に移植片を投与することを含む、方法。

【請求項 6 8】

前記 A D C は、単回用量として前記ヒト患者に投与される、請求項 6 0 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

移植片対宿主病（G V H D）を処置または予防することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病（G V H D）を処置または予防する方法であって、前記方法は、C D 2 7 8 に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項 7 0】

移植片対宿主病（G V H D）を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者において C D 2 7 8 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、C D 2 7 8 に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項 7 1】

同種移植片拒絶を処置または予防することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置または予防する方法であって、前記方法は、C D 2 7 8 に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされている、方法。

【請求項 7 2】

前記同種移植片拒絶は、宿主対移植片病（H v G D）である、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 3】

同種移植片拒絶を患っているかまたはそのリスクがあるヒト患者において C D 2 7 8 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、C D 2 7 8 に結合することができる抗体またはその抗原結合フラグメントの有効量を前記患者に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、リンカーを介して細胞毒素にコンジュゲートされ

ている、方法。

【請求項 7 4】

前記同種移植片拒絶は H v G D である、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、モノクローナル抗体である、請求項 6 9 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記抗体は、I g G、I g A、I g M、I g D、および I g E からなる群から選択されるアイソタイプを有する、請求項 6 9 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記抗体は I g G であり、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 アイソタイプ F c ドメインを含む、請求項 7 6 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記細胞毒素は、微小管結合剤または R N A ポリメラーゼ阻害剤である、請求項 6 9 ～ 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記微小管結合剤は、メイタンシンまたはメイタンシノイドである、請求項 7 8 に記載の方法。

【請求項 8 0】

前記メイタンシノイドは、D M 1、D M 3、および D M 4、ならびにメイタンシノールからなる群から選択される、請求項 7 9 に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記 R N A ポリメラーゼ阻害剤はアマトキシシンである、請求項 7 8 に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記ヒト患者に前記抗体またはその抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 6 9 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約 3 日前に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 6 9 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 6 9 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約 1 時間～10 日後に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 8 5 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約 3～4 日後に、前記ヒト患者に前記抗体、その抗原結合フラグメントを投与することを含む、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記移植は、骨髓移植、末梢血移植、または臍帯血移植である、請求項 7 1 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記ヒト患者は、造血幹細胞を含む同種移植を受けた、請求項 6 9 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記 C D 2 7 8 + 細胞は活性化 T 細胞である、請求項 7 0 または 7 3 に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記抗体、その抗原結合フラグメントは、接触すると T 細胞により内在化される、請求項 6 9 ~ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記抗体、その抗原結合フラグメントは、T 細胞の死を促進するか、または T 細胞の増殖を抑制する、請求項 6 9 ~ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記患者は幹細胞障害を患っている、請求項 6 9 ~ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記患者は、ヘモグロビン症障害、免疫不全障害、代謝障害、または癌を患っている、請求項 6 9 ~ 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記ヘモグロビン症障害は、鎌状赤血球貧血、サラセミア、ファンconi 貧血、およびウイスコット・アルドリッチ症候群からなる群から選択される、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記免疫不全障害は、先天性免疫不全または後天性免疫不全である、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記後天性免疫不全は、ヒト免疫不全ウイルス性または後天性免疫不全症候群である、請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記代謝障害は、糖原蓄積症、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴリピドーシス、および異染性白質ジストロフィーからなる群から選択される、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記癌は、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫および骨髄異形成症候群、ならびに神経芽細胞腫からなる群から選択される、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

移植片対宿主病 (G V H D) を処置することを必要とするヒト患者において移植片対宿主病 (G V H D) を処置する方法であって、前記方法は、G V H D が処置されるように抗 C D 2 7 8 抗体-薬物コンジュゲート (A D C) を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 A D C は、微小管結合剤または R N A ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 C D 2 7 8 抗体を含む、方法。

【請求項 1 0 1】

G V H D を有するかまたは G V H D を発症するリスクがあるヒト対象において C D 2 7 8 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記 C D 2 7 8 細胞の集団が枯渇するように抗 C D 2 7 8 A D C を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 A D C は、微小管結合剤または R N A ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 C D 2 7 8 抗体を含む、方法。

【請求項 1 0 2】

同種移植片拒絶を処置することを必要とするヒト患者において同種移植片拒絶を処置する方法であって、前記方法は、G V H D が処置されるように抗 C D 2 7 8 抗体-薬物コンジュゲート (A D C) を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 A D C は、微小管結合剤または R N A ポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗 C D 2 7 8 抗体を含む、方法。

【請求項 1 0 3】

同種移植片拒絶を有するかまたは同種移植片拒絶を発症するリスクがあるヒト対象において C D 2 7 8 + 細胞の集団を枯渇させる方法であって、前記方法は、前記 C D 2 7 8 細胞の集団が枯渇するように抗 C D 2 7 8 A D C を前記ヒト患者に投与することを含み、前

記ADCは、微小管結合剤またはRNAポリメラーゼ阻害剤である細胞毒素に結合した抗CD278抗体を含む、方法。

【請求項104】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項100～103のいずれか一項に記載の方法。

【請求項105】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受ける約3日前に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項104に記載の方法。

【請求項106】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けるのと同時に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項100～103のいずれか一項に記載の方法。

【請求項107】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項100～103のいずれか一項に記載の方法。

【請求項108】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約1時間～10日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項107に記載の方法。

【請求項109】

前記患者が造血幹細胞を含む移植を受けた約3～4日後に、前記患者に前記ADCを投与することを含む、請求項107に記載の方法。

【請求項110】

前記微小管結合剤はメイトンシノイドである、請求項100～103のいずれか一項に記載の方法。

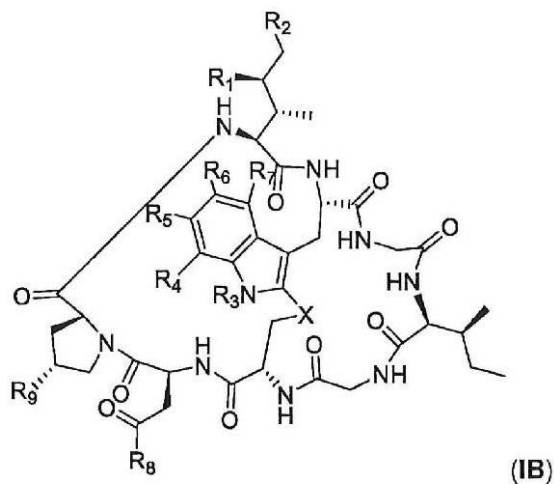
【請求項111】

前記RNAポリメラーゼ阻害剤はアマトキシンである、請求項100～103のいずれか一項に記載の方法。

【請求項112】

前記ADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、AbはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、前記ADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、AbはCD134に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、Am-L-Zは式(1B)で表される、請求項111に記載の方法：

【化7】



[式中、R₁は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；

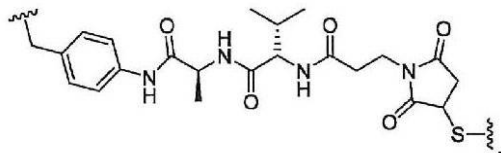
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分であり；ならびに

式中、Amは、ちょうど1つの R_C 置換基を含む】。

【請求項113】

L-Zは、

【化8】

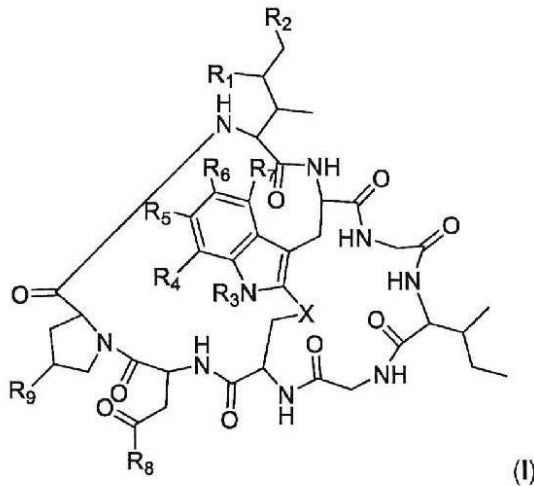


である、請求項112に記載の方法。

【請求項114】

前記ADCは式Ab-Z-L-AmのADCであり、式中、AbはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、Am-L-Zは式(I)で表される、請求項111に記載の方法：

【化 9】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

X は、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；ならびに

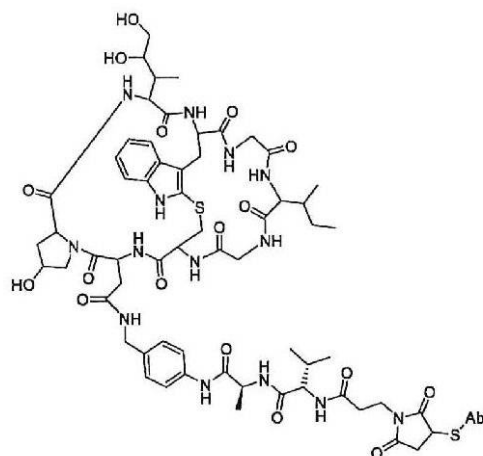
L は、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

Z は、L上に存在する反応性置換基と、前記CD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である]。

【請求項115】

前記ADCは式 $Ab-Z-L-Am$ のADCであり、式中、AbはCD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントであり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、 $Am-L-Z-Ab$ は、

【化 10】



で表される、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 116】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマニチンである、請求項 100～103 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 117】

前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 116 に記載の方法。

【請求項 118】

同種移植を受けたヒト患者においてアロ反応性 T 細胞を枯渇させる方法であって、前記方法は、アロ反応性 T 細胞が枯渇するように抗 CD278 ADC を前記ヒト患者に投与することを含み、前記 ADC は、細胞毒素にコンジュゲートされた抗 CD278 抗体を含む、方法。

【請求項 119】

前記移植は、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植である、請求項 118 に記載の方法。

【請求項 120】

前記移植は造血細胞を含む、請求項 118 に記載の方法。

【請求項 121】

前記造血幹細胞またはその子孫は、前記造血幹細胞の前記患者への移植から 2 日以上経過した後、造血幹細胞としての機能的ポテンシャルを維持する、請求項 120 に記載の方法。

【請求項 122】

前記細胞毒素は RNA ポリメラーゼ阻害剤である、請求項 118～121 のいずれか一項に記載の方法。

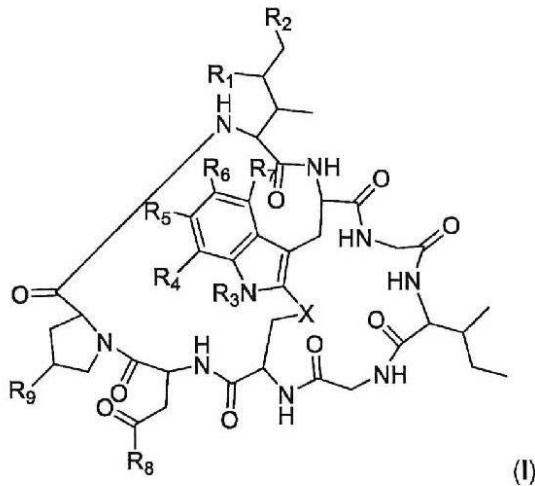
【請求項 123】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマトキシシンである、請求項 122 に記載の方法。

【請求項 124】

前記 ADC は式 $Ab-Z-L-Am$ の ADC であり、式中、 Ab は前記抗 CD278 抗体であり、 L はリンカーであり、 Z は化学部分であり、 Am は前記アマトキシシンであり、 $Am-L-Z$ は式 (I) で表される、請求項 118 に記載の方法：

【化 1 1】



[式中、 R_1 は、H、OH、 OR_A 、または OR_C であり；

R_2 は、H、OH、 OR_B 、または OR_C であり；

R_A および R_B は、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒にあって、結合して任意に置換された5員ヘテロシクロアルキル基を形成し；

R_3 は、H、 R_C 、または R_D であり；

R_4 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_5 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_6 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_7 は、H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 、または R_D であり；

R_8 は、OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 、または $NR_C R_D$ であり；

R_9 は、H、OH、 OR_C 、または OR_D であり；

Xは、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ であり；

R_C は、 $-L-Z$ であり；

R_D は、任意に置換されたアルキル（例えば、 C_1-C_6 アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、 C_1-C_6 ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、 C_2-C_6 アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、 C_2-C_6 アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；ならびに

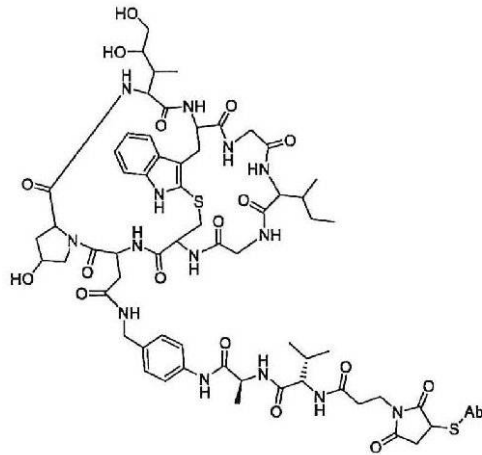
Lは、任意に置換されたアルキレン（例えば、 C_1-C_6 アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（ C_1-C_6 ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、 C_2-C_6 ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ジペプチド、 $-(C=O)-$ 、ペプチド、またはそれらの組み合わせなどのリンカーであり；ならびに

Zは、L上に存在する反応性置換基と、前記CD278に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学部分である]。

【請求項 125】

前記ADCは式 $Ab-Z-L-Am$ のADCであり、式中、Abは前記抗CD278抗体であり、Lはリンカーであり、Zは化学部分であり、Amは前記アマトキシンであり、 $Am-L-Z-Ab$ は、

【化 1 2】



で表される、請求項 1 1 8 に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマニチンである、請求項 1 2 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 1 2 6 に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

ペプチドリinkerを介して細胞毒素にコンジュゲートされた抗 CD 2 7 8 抗体を含む抗体-薬物コンジュゲート (ADC) であって、前記細胞毒素は微小管結合剤または RNA ポリメラーゼ阻害剤である、抗体-薬物コンジュゲート (ADC)。

【請求項 1 2 9】

前記 RNA ポリメラーゼ阻害剤はアマトキシシンである、請求項 1 2 8 に記載の ADC。

【請求項 1 3 0】

前記アマトキシシンはアマニチンである、請求項 1 2 9 に記載の抗 CD 2 7 8 ADC。

【請求項 1 3 1】

前記アマニチンは、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、 ϵ -アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンからなる群から選択される、請求項 1 3 0 に記載の抗 CD 2 7 8 ADC。

【請求項 1 3 2】

請求項 1 2 8 ~ 1 3 1 のいずれか一項に記載の ADC と、薬学的に活性な担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 1 3 3】

移植片不全または GVHD を処置することを必要とするヒト患者において移植片不全または GVHD を処置する方法であって、前記方法は、請求項 1 2 8 ~ 1 3 1 のいずれか一項に記載の ADC の有効量を前記ヒト患者に投与することを含み、前記ヒト患者は以前に移植を受けたことがある、方法。

【請求項 1 3 4】

前記ヒト患者は、前記 ADC の投与前 4 日以内に前記移植を受けた、請求項 1 3 3 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

移植片不全または GVHD を有するリスクがあるヒト患者を処置する方法であって、請求項 1 2 8 ~ 1 3 1 のいずれか一項に記載の ADC の有効量を前記移植片不全または GVHD を有するリスクがあるヒト患者に投与することと、その後前記ヒト対象に移植片を投与することを含む、方法。

【請求項 1 3 6】

前記ADCは、単回用量として前記ヒト患者に投与される、請求項133～135のいずれか一項に記載の方法。

【誤訳訂正3】

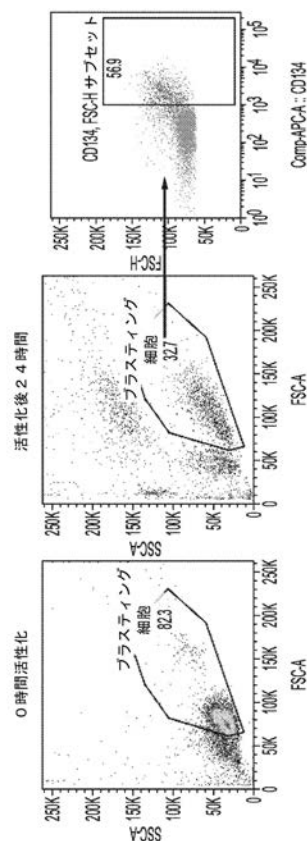
【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】全図

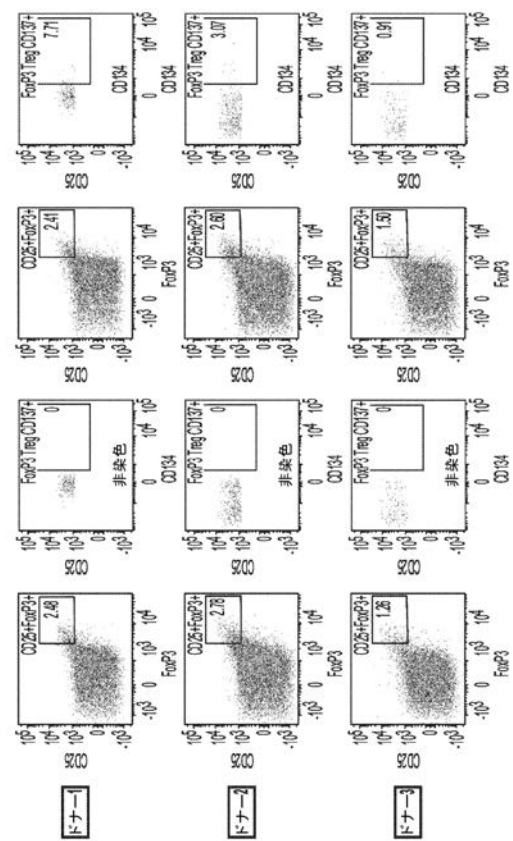
【訂正方法】変更

【訂正の内容】

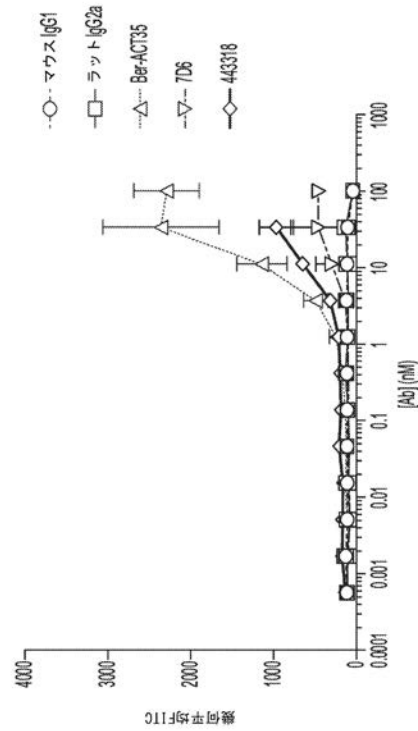
【図1】



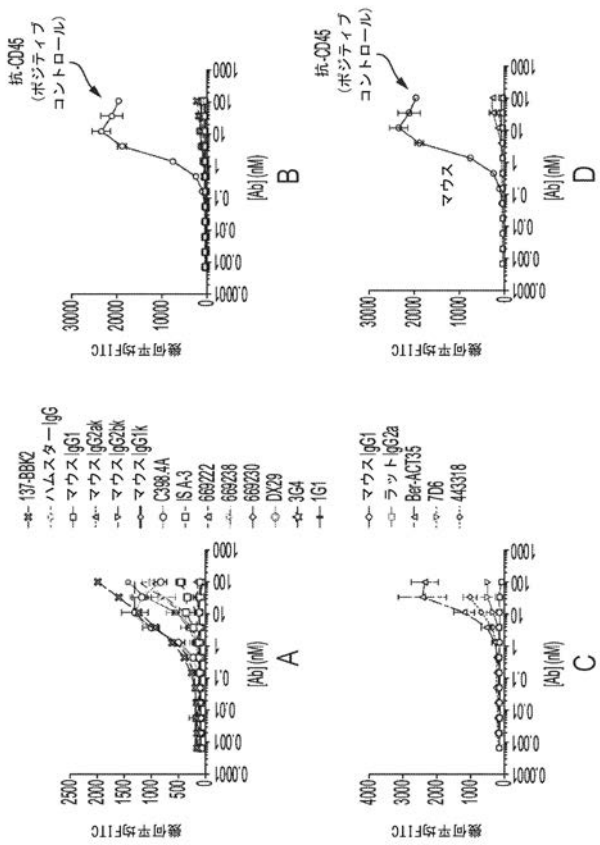
【図2】



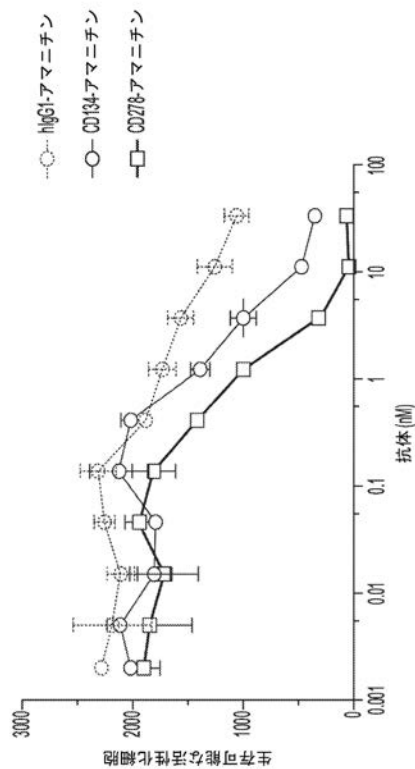
【図 3】



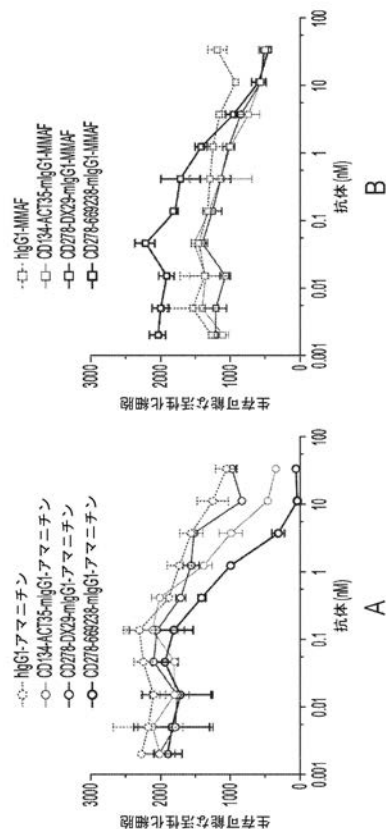
【図 4】



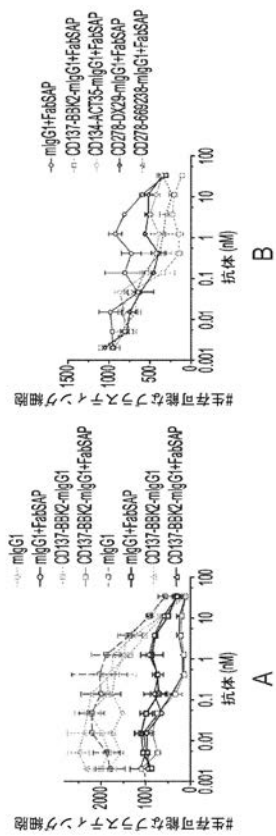
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB19/50446

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 39/00, 39/395, 45/06; C07K 16/28; G01N 33/483 (2019.01)

CPC - A61K 39/00, 39/395, 39/3955, 45/06; C07K 16/28, 16/2875; G01N 33/483, 33/4833

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)

See Search History document

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

See Search History document

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y --- A	US 9,434,785 B1 (KYMAB LIMITED) 06 September 2016; column 4, lines 64-66; column 5, lines 56-58; column 40, lines 1-10; column 48, lines 24-27; column 56, lines 49-55, 64 to column 57, line 3; column 61, lines 26-28; column 77, lines 27-31; column 79, lines 25-34; column 143 line, 165 to column 144, line 1; column 145, lines 53-56; claim 1	1-6, 7/1-6, 8/1-6, 9/6/1-6, 14/1-6, 15/14/1-6, 16/1-6, 17/1-6, 18/17/1-6, 19/18/17/1-6, 21/1-6, 22/2, 22/5, 24/1-6, 50-53 --- 10/1-6, 11/10/1-6, 12/11/10/1-6, 13/10/1-6, 23/1-6, 32-35, 36/32-35, 37/36/32-35, 38/32-35, 39/32-35, 40/39/32-35, 41/40/39/32-35, 42/32-35, 43/32-35, 48/32-35, 49/48/32-35, 54/50-53, 55/54/50-53, 58/54/50-53, 59/58/54/50-53, 60-63, 64/60-63, 65/60-63, 66/65/60-63, 67/60-63 --- 44/43/32-35, 45/44/43/32-35, 46/43/32-35,

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

"D" document cited by the applicant in the international application

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 September 2019 (25.09.2019)

Date of mailing of the international search report

17 OCT 2019

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Shane Thomas

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB19/50446

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB19/50446

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 20, 25-31, 68, 88, 136
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-Please See Supplemental Page-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
-Please See Supplemental Page-

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB19/50446

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
		47/44/43/32-35, 56/55/54/50-53, 57/55/54/50-53
Y	US 2010/0028346 A1 (LUTZ et al.) 04 February 2010; paragraphs [0034], [0035], [0100]	10/1-6, 11/10/1-6, 12/11/10/1-6, 32-35, 36/32-35, 37/36/32-35, 38/32-35, 39/32-35, 40/39/32-35, 41/40/39/32-35, 42/32-35
Y — A	US 2014/0294865 A1 (SIMON et al.) 02 October 2014; abstract; paragraph [0052]	10/1-6, 13/10/1-6, 32, 43/32-35, 48/32-35, 49/48/32-35, 54/50-53, 55/54/50-53, 54/50-53, 55/54/50-53 — 44/43/32-35, 45/44/43/32-35, 46/43/32-35, 47/44/43/32-35, 56/55/54/50-53, 57/55/54/50-53, 58/54/50-53, 59/58/54/50-53, 60-63, 64/60-63, 65/60-63, 66/65/60-63, 67/60-63
Y	US 2016/0311916 A1 (ALLIGATOR BIOSCIENCE AB) 27 October 2016; abstract; paragraphs [0119], [0124], [0280]	23/1-6
Y	GOWING et al. 'Influence Of Ultraviolet-B Irradiation On Engraftment, Graft-Versus-Host Disease And Graft-Versus-Leukemia Effect In A Rat Model For Allogeneic Bone Marrow Transplantation' Bone Marrow Transplantation, (1998) 21, 801-807; page 801, column 2, second paragraph	4, 6
A	US 2016/0130358 A1 (GENENTECH, INC.) 12 May 2016; paragraph [0520]	44/43/32-35, 45/44/43/32-35, 46/43/32-35, 47/44/43/32-35, 56/55/54/50-53, 57/55/54/50-53

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/IB19/50446

---Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking: ---

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, Claims 1-19, 21-24, 32-67 are directed toward antibody drug conjugates comprising an antibody to CD134, compositions thereof and methods associated therewith.

Group II, Claims 69-87, 89-135 are directed toward antibody drug conjugates comprising an antibody to CD278, compositions thereof and methods associated therewith.

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include an antibody that binds to CD134, not present in Group II; the special technical features of Group II include an antibody that binds to CD278, not present in Group I.

Groups I and II share the following technical features, based upon the indicated independent claims for each group:

Claims 1 (Group I) and 69 (Group II) share the technical features including: a method of treating or preventing graft-versus-host disease (GVHD) in a human patient in need thereof, the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody, or antigen-binding fragment thereof, capable of binding a target, wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker.

Claims 2 (Group I) and 70 (Group II) share the technical features including: a method of depleting a population of cells in a human patient suffering from or at risk for graft-versus-host disease (GVHD), the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody or antigen-binding fragment thereof capable of binding a target, wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker.

Claims 3 (Group I) and 71 (Group II) share the technical features including: a method of treating or preventing allograft rejection in a human patient in need thereof, the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody, or antigen-binding fragment thereof, is capable of binding a target, wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker.

Claims 5 (Group I) and 73 (Group II) share the technical features including: a method of depleting a population of cells in a human patient suffering from or at risk for an allograft rejection, the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody or antigen-binding fragment thereof capable of binding a target, wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker.

Claims 32 (Group I) and 100 (Group II) share the technical features including: a method of treating graft versus host disease (GVHD) in a human patient in need thereof, the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that GVHD is treated, wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin which is a microtubule-binding agent or an RNA polymerase inhibitor.

Claims 33 (Group I) and 101 (Group II) share the technical features including: a method of depleting a population of CD278 positive cells in a human subject having GVHD or at risk of developing GVHD, the method comprising administering an ADC to the human patient such that the population of cells is depleted, wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin which is a microtubule-binding agent or an RNA polymerase inhibitor.

Claims 34 (Group I) and 102 (Group II) share the technical features including: a method of treating allograft rejection in a human patient in need thereof, the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that GVHD is treated, wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin which is a microtubule-binding agent or an RNA polymerase inhibitor.

Claims 35 (Group I) and 103 (Group II) share the technical features including: a method of depleting a population of cells in a human subject having allograft rejection or at risk of developing allograft rejection, the method comprising administering an ADC to the human patient such that the population of cells is depleted, wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin which is a microtubule-binding agent or an RNA polymerase inhibitor.

Claims 50 (Group I) and 118 (Group II) share the technical features including: a method of depleting alloreactive T cells in a human patient who received an allogeneic transplant, the method comprising administering an ADC to the human patient such that alloreactive T cells are depleted, wherein the ADC comprises an antibody conjugated to a cytotoxin.

Claims 60 (Group I) and 128 (Group II) share the technical features including: an antibody drug conjugate (ADC) comprising an antibody conjugated to a cytotoxin via a peptide linker, wherein the cytotoxin is a microtubule-binding agent or an RNA polymerase inhibitor.

---Continued Within the Next Supplemental Box---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB19/50446

-***-Continued from Previous Supplemental Box -***-

Claims 64 (Group I) and 132 (Group II) share the technical features including: a pharmaceutical composition comprising the ADC, and a pharmaceutically active carrier.

Claims 65 (Group I) and 133 (Group II) share the technical features including: a method of treating graft failure or GVHD in a human patient in need thereof, said method comprising administering an effective amount of the ADC to the human patient, wherein the human patient previously received a transplant.

Claims 67 (Group I) and 135 (Group II) share the technical features including: a method of treating human patient at risk of having graft failure or GVHD, said method comprising administering an effective amount of the ADC to the human patient at risk of having graft failure or GVHD, and subsequently administering a transplant to the human subject.

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2011/0150908 A1 to Law et al. (hereinafter 'Law').

As per the shared feature of Claims 1 (Group I) and 69 (Group II): Law discloses a method of treating or preventing graft-versus-host disease (GVHD) (a method of treating or preventing graft-versus-host disease (GVHD); paragraphs [0011], [0265], [0267], [0268]) in a human patient in need thereof (in a human patient in need thereof; in a human patient in need thereof; paragraph [0027]), the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody (the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody; paragraphs [0011], [0028], [0268]), is capable of binding a target (capable of binding to CD70 (a target); paragraph [0017]), wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker (wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a peptide linker; paragraphs [0017], [0026], [0028]).

As per the shared feature of Claims 2 (Group I) and 70 (Group II): Law discloses a method of depleting a population of cells (a method of depleting a population of cells; paragraphs [0028], [0076], [0091], [0269]) in a human patient suffering from or at risk for graft-versus-host disease (GVHD) (in a human patient suffering from or at risk for graft-versus-host disease (GVHD); paragraphs [0011], [0027], [0268]), the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody (the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody; paragraphs [0011], [0028], [0268]), is capable of binding a target (capable of binding to CD70 (a target); paragraph [0017]), wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker (wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a peptide linker; paragraphs [0017], [0026], [0028]).

As per the shared feature of Claims 3 (Group I) and 71 (Group II): Law discloses a method of treating or preventing allograft rejection (a method of preventing allograft rejection; paragraphs [0011], [0265], [0267], [0268]) in a human patient in need thereof (in a human patient in need thereof; in a human patient in need thereof; paragraph [0027]), the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody (the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody; paragraphs [0011], [0028], [0268]), is capable of binding a target (capable of binding to CD70 (a target); paragraph [0017]), wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker (wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a peptide linker; paragraphs [0017], [0026], [0028]).

As per the shared feature of Claims 5 (Group I) and 73 (Group II): Law discloses a method of depleting a population of cells (a method of depleting a population of cells; paragraphs [0028], [0076], [0091], [0269]) in a human patient suffering from or at risk for an allograft rejection (in a human patient suffering from or at risk for an allograft rejection; paragraphs [0011], [0028], [0268]), the method comprising administering to the patient an effective amount of an (the method comprising administering to the patient an effective amount of an antibody; paragraphs [0011], [0028], [0268]), is capable of binding a target (capable of binding to CD70 (a target); paragraph [0017]), wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a linker (wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxin via a peptide linker; paragraphs [0017], [0026], [0028]).

As per the shared feature of Claims 32 (Group I) and 100 (Group II): Law discloses a method of treating graft versus host disease (GVHD) (a method of treating or preventing graft-versus-host disease (GVHD); paragraphs [0011], [0265], [0267], [0268]) in a human patient in need thereof (in a human patient in need thereof; in a human patient in need thereof; paragraph [0027]), the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that GVHD is treated (the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that GVHD is treated; paragraphs [0011], [0028], [0267]), wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin (wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin; paragraphs [0017], [0025]) which is a microtubule-binding agent (which is a maytansinoid (a microtubule-binding agent); paragraph [0025], Claim 81).

As per the shared feature of Claims 33 (Group I) and 101 (Group II): Law discloses a method of depleting a population of cells (a method of depleting a population of cells; paragraphs [0028], [0076], [0091], [0269]) in a human subject having GVHD or at risk of developing GVHD (in a human patient suffering from, or at risk for graft-versus-host disease (GVHD); paragraphs [0011], [0027], [0268]), the method comprising administering an ADC to the human patient such that the population of cells is depleted (the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that the population is depleted; paragraphs [0028], [0099], [0267]), wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin (wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin; paragraphs [0017], [0025]) which is a microtubule-binding agent (which is a maytansinoid (a microtubule-binding agent); paragraph [0025], Claim 81).

As per the shared feature of Claims 34 (Group I) and 102 (Group II): Law discloses a method of treating allograft rejection in a human patient in need thereof, the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that GVHD is treated, wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin (wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin; paragraphs [0017], [0025]) which is a microtubule-binding agent (which is a maytansinoid (a microtubule-binding agent); paragraph [0025], Claim 81).

-***-Continued Within the Next Supplemental Box -***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB19/50446

-***-Continued from Previous Supplemental Box -***-

As per the shared feature of Claims 35 (Group I) and 103 (Group II) Law discloses a method of depleting a population of cells (a method of depleting a population of cells; paragraphs [0028], [0076], [0091], [0269]) in a human patient suffering from or at risk for an allograft rejection (in a human patient suffering from or at risk for an allograft rejection; paragraphs [0011], [0028], [0268]), the method comprising administering an ADC to the human patient such that the population of cells is depleted (the method comprising administering an antibody drug conjugate (ADC) to the human patient such that the population is depleted; paragraphs [0028], [0099], [0267]), wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin (wherein the ADC comprises an antibody linked to a cytotoxin; paragraphs [0017], [0025]) which is a microtubule-binding agent (which is a maytansinoid (a microtubule-binding agent); paragraph [0025], Claim 81).

As per the shared feature of Claims 60 (Group I) and 128 (Group II) Law discloses an antibody drug conjugate (ADC) (an antibody drug conjugate (ADC); paragraph [0017]) comprising an antibody conjugated to a cytotoxin via a peptide linker (comprising an antibody conjugated to a cytotoxin via a peptide linker; paragraphs [0017], [0025], [0026]), wherein the cytotoxin is a microtubule-binding agent (wherein the cytotoxin is a maytansinoid (microtubule-binding agent); paragraph [0015], Claim 81).

As per the shared feature of Claims 64 (Group I) and 132 (Group II) Law discloses a pharmaceutical composition comprising the ADC, and a pharmaceutically active carrier (a pharmaceutical composition comprising the ADC, and a pharmaceutically active carrier; paragraph [0277]).

As per the shared feature of Claims 50 (Group I) and 118 (Group II) law discloses: a method of depleting alloreactive T cells (a method of depleting a population of active (alloreactive) T cells; paragraphs [0011], [0028], [0099], [0269]) in a human patient (in a human patient; paragraph [0027]), in order to prevent, block or inhibit the severity of onset of transplant rejection (in order to prevent, block or inhibit the severity of onset of transplant rejection; paragraphs [0011], [0268], [0099]) by administration of an ADC (by administration of an ADC; paragraphs [0028], [0099]). Law does not disclose a method of depleting alloreactive T cells in a human patient who received an allogeneic transplant, the method comprising administering an ADC to the human patient such that alloreactive T cells are depleted, wherein the ADC comprises an antibody conjugated to a cytotoxin. However, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have to have modified the disclosure of Law to have specified wherein the ADC was to have been administered to a patient who received an allogeneic transplant, in order to enable said prevention, blocking or inhibition of the severity of onset of rejection of the allogeneic transplant.

As per the shared feature of Claims 65 (Group I) and 133 (Group II) Law discloses a method of treating graft failure or GVHD in a human patient in need thereof (a method of treating graft failure or GVHD in a human patient in need thereof; paragraphs [0011], [0028], [0267], [0268]), said method comprising administering an effective amount of the ADC to the human patient (said method comprising administering an effective amount of the ADC to the human patient; paragraphs [0027], [0028]). Law further discloses preventing, blocking or inhibiting the severity of onset of transplant rejection (preventing, blocking or inhibiting the severity of onset of transplant rejection; paragraphs [0011], [0099], [0268]) by administration of an ADC (by administration of an ADC; paragraphs [0028], [0099]). Law does not disclose wherein the human patient previously received a transplant. However, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have to have modified the disclosure of Law to have specified wherein the ADC was to have been administered to a patient who previously received a transplant, in order to enable said prevention, blocking or inhibition of the severity of onset of rejection of the transplant.

As per the shared feature of Claims 67 (Group I) and 135 (Group II), Law discloses a method of treating human patient at risk of having graft failure or GVHD (a method of treating human patient at risk of having graft failure or GVHD; paragraphs [0011], [0028], [0267], [0268]), said method comprising administering an effective amount of the ADC to the human patient at risk of having graft failure or GVHD (said method comprising administering an effective amount of the ADC to the human patient at risk of having graft failure or GVHD; paragraphs [0011], [0028], [0267], [0268]). Law further discloses preventing, blocking or inhibiting the severity of onset of transplant rejection (preventing, blocking or inhibiting the severity of onset of transplant rejection; paragraphs [0011], [0099], [0268]) by administration of an ADC (by administration of an ADC; paragraphs [0028], [0099]). Law does not disclose subsequently administering a transplant to the human subject. However, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have to have modified the disclosure of Law to have specified wherein the ADC was to have been administered to a patient prior to the administration of or performance of a transplant to the human subject, in order to better enable the prevention of the graft failure or GVHD, by providing the preventative measure in advance of the transplantation.

Since none of the special technical features of the Groups I and II inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Law reference, unity of invention is lacking.

-***-Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking: -***-

No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-6, 7/1-6, 8/1-6, 9/8/1-6, 10/1-6, 11/10/1-6, 12/11/10/1-6, 13/10/1-6, 14/1-6, 15/14/1-6, 16/1-6, 17/1-6, 18/17/1-6, 19/18/17/1-6, 21/1-6, 22/2, 22/5, 23/1-6, 24/1-6, 32-35, 36/32-35, 37/36/32-35, 38/32-35, 39/32-35, 40/39/32-35, 41/40/39/32-35, 42/32-35, 43/32-35, 44/43/32-35, 45/44/43/32-35, 46/43/32-35, 47/44/43/32-35, 48/32-35, 49/48/32-35, 50-53, 54/50-53, 55/54/50-53, 56/55/54/50-53, 57/55/54/50-53, 58/54/50-53, 59/58/54/50-53, 60-63, 64/60-63, 65/60-63, 66/65/60-63, 67/60-63

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/537 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 H 0 4 5
A 6 1 K 38/12 (2006.01)	A 6 1 K 31/537	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 K 38/12	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
	C 0 7 K 16/28	
	C 1 2 P 21/08	

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,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,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 メーガン ディー ホーバン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 5 5 メドフォード ハイ ストリート 3 9 9
ユニット 1

(72)発明者 アンソニー ボイタノ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 6 8 ニュートン イブリン ロード 2 7

(72)発明者 マイケル クック
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 4 5 ブルックライン ユニバーシティ ロード
1 3 5 ナンバー 1

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4C076 AA95 CC07 CC26 CC41 EE41 EE59 FF68
4C084 AA17 BA01 BA17 BA25 BA32 BA41 BA44 CA05 DC32 NA13
ZB081 ZB082 ZB211 ZB212 ZC202
4C085 AA14 AA27 BB11 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB42 CC03
CC23 EE01
4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA13 ZB08
4H045 AA11 AA30 BA10 BA50 CA40 DA76 EA20