



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119744176 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 01

(21) 申请号 202380060997.7

(22) 申请日 2023.08.23

(30) 优先权数据

2022-133051 2022.08.24 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2025.02.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/030241 2023.08.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02024/043258 JA 2024.02.29

(71) 申请人 东丽株式会社

地址 日本

(72) 发明人 和才宇慧 冈野文义 斋藤孝则

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 曾祯 段承恩

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 45/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

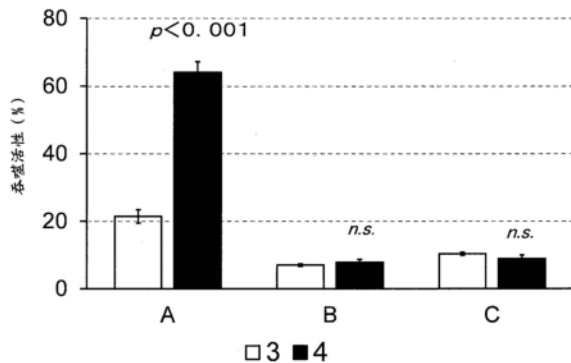
权利要求书5页 说明书26页
序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

用于癌的治疗和/或预防的药品

(57) 摘要

一起包含或各自分开地组合包含与CAPRN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段、和PDGFR抑制剂的药品,对于癌的治疗和/或预防有用。



1. 用于癌的治疗和/或预防的药品,一起包含或各自分开地组合包含:与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段、和PDGFR抑制剂。

2. 根据权利要求1所述的药品,所述PDGFR抑制剂是索拉非尼(Sorafenib)。

3. 根据权利要求1或2所述的药品,所述抗体或其片段与具有序列号2~30中的偶数序列号的任一项所示的氨基酸序列、或与该氨基酸序列有80%以上的序列同一性的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性。

4. 根据权利要求1~3的任一项所述的药品,所述抗体或其片段与存在于癌细胞表面上的CAPRIN-1蛋白质的细胞外区域具有免疫反应性。

5. 根据权利要求1~4的任一项所述的药品,所述抗体或其片段与具有序列号31~35、296~299、308、309的任一项所示的氨基酸序列、或与该氨基酸序列有80%以上的序列同一性的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性。

6. 根据权利要求1~5的任一项所述的药品,所述抗体是单克隆抗体或多克隆抗体。

7. 根据权利要求1~6的任一项所述的药品,所述抗体或其片段是以下(A)~(M)的任一者,

(A) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号36所示的互补决定区CDR1、序列号37所示的互补决定区CDR2、和序列号38所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号40所示的互补决定区CDR1、序列号41所示的互补决定区CDR2、和序列号42所示的互补决定区CDR3;

(B) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号44所示的互补决定区CDR1、序列号45所示的互补决定区CDR2、和序列号46所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号48所示的互补决定区CDR1、序列号49所示的互补决定区CDR2、和序列号50所示的互补决定区CDR3;

(C) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号52所示的互补决定区CDR1、序列号53所示的互补决定区CDR2、和序列号54所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号56所示的互补决定区CDR1、序列号57所示的互补决定区CDR2、和序列号58所示的互补决定区CDR3;

(D) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号60所示的互补决定区CDR1、序列号61所示的互补决定区CDR2、和序列号62所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号64所示的互补决定区CDR1、序列号65所示的互补决定区CDR2、和序列号66所示的互补决定区CDR3;

(E) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号170所示的互补决定区CDR1、序列号171所示的互补决定区CDR2、和序列号172所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号173所示的互补决定区CDR1、序列号174所示的互补决定区CDR2、和序列号175所示的互补决定区CDR3;

(F) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号176所示的互补决定区CDR1、序列号177所示的互补决定区CDR2、和序列号178所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号179所示的互补决定区CDR1、序列号180所示的互补决定区CDR2、和序列号181所示的互补决定区CDR3;

(G) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其

片段,所述重链可变区包含序列号182所示的互补决定区CDR1、序列号183所示的互补决定区CDR2、和序列号184所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号185所示的互补决定区CDR1、序列号186所示的互补决定区CDR2、和序列号187所示的互补决定区CDR3;

(H) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号188所示的互补决定区CDR1、序列号189所示的互补决定区CDR2、和序列号190所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号191所示的互补决定区CDR1、序列号192所示的互补决定区CDR2、和序列号193所示的互补决定区CDR3;

(I) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号146所示的互补决定区CDR1、序列号147所示的互补决定区CDR2、和序列号148所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号149所示的互补决定区CDR1、序列号150所示的互补决定区CDR2、和序列号151所示的互补决定区CDR3;

(J) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号272所示的互补决定区CDR1、序列号273所示的互补决定区CDR2、和序列号274所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号275所示的互补决定区CDR1、序列号276所示的互补决定区CDR2、和序列号277所示的互补决定区CDR3;

(K) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号290所示的互补决定区CDR1、序列号291所示的互补决定区CDR2、和序列号292所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号293所示的互补决定区CDR1、序列号294所示的互补决定区CDR2、和序列号295所示的互补决定区CDR3;

(L) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号301所示的互补决定区CDR1、序列号302所示的互补决定区CDR2、和序列号303所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号305所示的互补决定区CDR1、序列号306所示的互补决定区CDR2、和序列号307所示的互补决定区CDR3;

(M) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号134所示的互补决定区CDR1、序列号135所示的互补决定区CDR2、和序列号136所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号137所示的互补决定区CDR1、序列号138所示的互补决定区CDR2、和序列号139所示的互补决定区CDR3。

8. 根据权利要求1~7的任一项所述的药品,所述抗体或其片段是以下(a)~(a1)的任一者,

(a) 重链可变区包含序列号39的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号43的氨基酸序列的抗体或其片段;

(b) 重链可变区包含序列号47的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号51的氨基酸序列的抗体或其片段;

(c) 重链可变区包含序列号55的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号59的氨基酸序列的抗体或其片段;

(d) 重链可变区包含序列号63的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号67的氨基酸序列的抗体或其片段;

(e) 重链可变区包含序列号68的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号69的氨基酸序列的抗体或其片段;

(f) 重链可变区包含序列号70的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号71的氨基酸序列的抗体或其片段；

(g) 重链可变区包含序列号72的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号73的氨基酸序列的抗体或其片段；

(h) 重链可变区包含序列号74的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号75的氨基酸序列的抗体或其片段；

(i) 重链可变区包含序列号76的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号77的氨基酸序列的抗体或其片段；

(j) 重链可变区包含序列号78的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号79的氨基酸序列的抗体或其片段；

(k) 重链可变区包含序列号80的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号81的氨基酸序列的抗体或其片段；

(l) 重链可变区包含序列号82的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号83的氨基酸序列的抗体或其片段；

(m) 重链可变区包含序列号84的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号85的氨基酸序列的抗体或其片段；

(n) 重链可变区包含序列号86的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号87的氨基酸序列的抗体或其片段；

(o) 重链可变区包含序列号88的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号89的氨基酸序列的抗体或其片段；

(p) 重链可变区包含序列号90的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号91的氨基酸序列的抗体或其片段；

(q) 重链可变区包含序列号92的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号93的氨基酸序列的抗体或其片段；

(r) 重链可变区包含序列号94的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号95的氨基酸序列的抗体或其片段；

(s) 重链可变区包含序列号96的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号97的氨基酸序列的抗体或其片段；

(t) 重链可变区包含序列号98的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号99的氨基酸序列的抗体或其片段；

(u) 重链可变区包含序列号100的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号101的氨基酸序列的抗体或其片段；

(v) 重链可变区包含序列号102的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号103的氨基酸序列的抗体或其片段；

(w) 重链可变区包含序列号104的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号105的氨基酸序列的抗体或其片段；

(x) 重链可变区包含序列号106的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号107的氨基酸序列的抗体或其片段；

(y) 重链可变区包含序列号108的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号109的氨基酸

序列的抗体或其片段；

(z) 重链可变区包含序列号110的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号111的氨基酸序列的抗体或其片段；

(aa) 重链可变区包含序列号112的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号113的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ab) 重链可变区包含序列号114的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号115的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ac) 重链可变区包含序列号116的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号117的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ad) 重链可变区包含序列号118的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号119的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ae) 重链可变区包含序列号120的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号121的氨基酸序列的抗体或其片段；

(af) 重链可变区包含序列号122的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号123的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ag) 重链可变区包含序列号124的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号125的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ah) 重链可变区包含序列号126的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号127的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ai) 重链可变区包含序列号128的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号129的氨基酸序列的抗体或其片段；

(aj) 重链可变区包含序列号130的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号131的氨基酸序列的抗体或其片段；

(ak) 重链可变区包含序列号132的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号133的氨基酸序列的抗体或其片段；

(al) 重链可变区包含序列号300的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号304的氨基酸序列的抗体或其片段。

9. 根据权利要求1~8的任一项所述的药品,所述抗体是人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或单链抗体。

10. 根据权利要求1~9的任一项所述的药品,所述癌是在细胞膜表面表达CAPRIN-1蛋白质的癌。

11. 根据权利要求1~10的任一项所述的药品,所述癌是大肠癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、肾癌、乳癌、胃癌、胆管癌、甲状腺癌、黑素瘤、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、头颈癌、间皮瘤、结肠/直肠癌、食道癌、食管胃结合部癌、肝细胞癌、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、膀胱癌、子宫癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性睾丸淋巴瘤、胆道癌、脑肿瘤、白血病、肝癌、肉瘤、纤维肉瘤、肥大细胞瘤、肾上腺皮质癌、尤因肉瘤、睾丸癌、基底细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、佩吉特病或皮肤癌。

12. 癌的治疗和/或预防用药物组合物的药效增强剂,所述癌的治疗和/或预防用药物组合物以与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段作为有效成分,所述药效增强

剂以PDGFR抑制剂作为有效成分。

13. 癌的治疗和/或预防用药物组合物的药效增强剂,所述癌的治疗和/或预防用药物组合物以PDGFR抑制剂作为有效成分,所述药效增强剂以与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段作为有效成分。

14. 用于癌的治疗和/或预防的方法,其特征在于,将与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段、和PDGFR抑制剂一起或各自分开地施与受试者。

用于癌的治疗和/或预防的药品

技术领域

[0001] 本发明涉及使用了针对CAPRIN-1蛋白质的抗体或其片段和PDGFR抑制剂的、用于癌的治疗和/或预防的药品。

背景技术

[0002] 以癌细胞上的特异抗原蛋白质为靶标的各种抗体药物由于其癌特异性,而作为副作用少的癌治疗药被应用于癌治疗。例如,多种实体癌的细胞膜表面表达细胞质增殖相关蛋白1(Cytoplasmic-activation and proliferation-associated protein 1,CAPRIN-1),已知针对该CAPRIN-1蛋白质的抗体有望作为癌的治疗和/或预防用药物用途(专利文献1)。

[0003] 近年来,临床上为了提高癌治疗药的有效性,已经使用将多种癌治疗药联用的治疗法作为标准的治疗法。例如,针对乳癌组合阿霉素和环磷酰胺的治疗法、或组合紫杉醇、曲妥珠单抗和帕妥珠单抗等多种抗癌剂进行治疗已经成为一般方法。对于以抗CAPRIN-1抗体作为有效成分的癌治疗药,已经通过与化疗剂联用而确认了优异的癌治疗效果(专利文献2)。但是,利用化疗剂的组合的癌的治疗并不对所应用的全部癌有效,另外,虽然有时累加地提高治疗效果,但协同地大幅提高治疗效果的为数较少。

[0004] 另外,近年作为癌治疗药,分子靶标治疗药的开发蓬勃进行,作为该靶标之一受到关注的是具有抑制PDGFR(血小板衍生生长因子受体;Platelet-Derived Growth Factor Receptor)的活性的作用的药剂。PDGFR是受体型酪氨酸激酶的一种,存在结构上类似的2种亚型:PDGFR α 和 β 。作为结构的特征,任意亚型均在细胞外具有5个免疫球蛋白样结构域,进而在一次细胞跨膜结构域和细胞内具有被效应分子、衔接分子的结合所需的激酶插入序列区域分为两段的TK结构域(ATP结合口袋和活性环)。通常这些受体蛋白质在细胞膜上以单体存在,但通过配体的结合而形成二聚体,PDGFR的酪氨酸残基受到自身磷酸化,变成与具有SH2结构域的信号转导分子(PLC- γ 、Grb2、PI3K等)的结合部位而将作为下游的信号转导途径的Ras-MAPK、PI3K-AKT、PL γ -PKC等途径激活,促进癌的增殖、迁移等(非专利文献1)。报告了PDGFR在前列腺癌的间质中高表达,与癌的进行和预后有关。然而,PDGFR抑制剂虽然在临床前期得到了显著的结果,但在临床试验中没有获得可期待的效果(非专利文献2)。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:W02010/016526号

[0008] 专利文献2:W02011/096535号

[0009] 非专利文献

[0010] 非专利文献1:Genes Dev.2008,22(10):1276-312.

[0011] 非专利文献2:Mol Aspects Med.2018,62:75-88.

发明内容

[0012] 发明要解决的课题

[0013] 本发明的目的是提供用于治疗 and/或预防在细胞表面特异性地表达CAPRIN-1蛋白质的癌的药品。

[0014] 用于解决课题的手段

[0015] 本发明人进行深入研究的结果发现,与癌细胞具有免疫反应性的针对CAPRIN-1蛋白质的抗体或其片段与PDGFR抑制剂的联用(combination)发挥极强的抗肿瘤效果,从而完成了本发明。

[0016] 具体地,本发明涉及以下的(1)~(14)的实施方式。

[0017] (1) 用于癌的治疗和/或预防的药品,一起包含或各自分开地组合包含:与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段、和PDGFR(血小板衍生生长因子受体)抑制剂。

[0018] (2) 根据(1)所述的药品,所述PDGFR抑制剂是索拉非尼(Sorafenib)。

[0019] (3) 根据(1)或(2)所述的药品,所述抗体或其片段与具有序列号2~30中的偶数序列号的任一项所示的氨基酸序列、或与该氨基酸序列有80%以上的序列同一性的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性。

[0020] (4) 根据(1)~(3)的任一项所述的药品,所述抗体或其片段与存在于癌细胞表面上的CAPRIN-1蛋白质的细胞外区域具有免疫反应性。

[0021] (5) 根据(1)~(4)的任一项所述的药品,所述抗体或其片段与具有序列号31~35、296~299、308、309的任一项所示的氨基酸序列、或与该氨基酸序列有80%以上的序列同一性的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性。

[0022] (6) 根据(1)~(5)的任一项所述的药品,所述抗体是单克隆抗体或多克隆抗体。

[0023] (7) 根据(1)~(6)的任一项所述的药品,所述抗体或其片段是以下(A)~(M)的任一者,

[0024] (A) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号36所示的互补决定区CDR1、序列号37所示的互补决定区CDR2、和序列号38所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号40所示的互补决定区CDR1、序列号41所示的互补决定区CDR2、和序列号42所示的互补决定区CDR3;

[0025] (B) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号44所示的互补决定区CDR1、序列号45所示的互补决定区CDR2、和序列号46所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号48所示的互补决定区CDR1、序列号49所示的互补决定区CDR2、和序列号50所示的互补决定区CDR3;

[0026] (C) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号52所示的互补决定区CDR1、序列号53所示的互补决定区CDR2、和序列号54所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号56所示的互补决定区CDR1、序列号57所示的互补决定区CDR2、和序列号58所示的互补决定区CDR3;

[0027] (D) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号60所示的互补决定区CDR1、序列号61所示的互补决定区CDR2、和序列号62所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号64所示的互补决定区CDR1、序列号65所示的互补决定区CDR2、和序列号66所示的互补决定区CDR3;

[0028] (E) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号170所示的互补决定区CDR1、序列号171所示的互补决定区CDR2、和序列号172所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号173所示的互补决定区CDR1、序列号174所示的互补决定区CDR2、和序列号175所示的互补决定区CDR3;

[0029] (F) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号176所示的互补决定区CDR1、序列号177所示的互补决定区CDR2、和序列号178所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号179所示的互补决定区CDR1、序列号180所示的互补决定区CDR2、和序列号181所示的互补决定区CDR3;

[0030] (G) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号182所示的互补决定区CDR1、序列号183所示的互补决定区CDR2、和序列号184所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号185所示的互补决定区CDR1、序列号186所示的互补决定区CDR2、和序列号187所示的互补决定区CDR3;

[0031] (H) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号188所示的互补决定区CDR1、序列号189所示的互补决定区CDR2、和序列号190所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号191所示的互补决定区CDR1、序列号192所示的互补决定区CDR2、和序列号193所示的互补决定区CDR3;

[0032] (I) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号146所示的互补决定区CDR1、序列号147所示的互补决定区CDR2、和序列号148所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号149所示的互补决定区CDR1、序列号150所示的互补决定区CDR2、和序列号151所示的互补决定区CDR3;

[0033] (J) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号272所示的互补决定区CDR1、序列号273所示的互补决定区CDR2、和序列号274所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号275所示的互补决定区CDR1、序列号276所示的互补决定区CDR2、和序列号277所示的互补决定区CDR3;

[0034] (K) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号290所示的互补决定区CDR1、序列号291所示的互补决定区CDR2、和序列号292所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号293所示的互补决定区CDR1、序列号294所示的互补决定区CDR2、和序列号295所示的互补决定区CDR3;

[0035] (L) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号301所示的互补决定区CDR1、序列号302所示的互补决定区CDR2、和序列号303所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号305所示的互补决定区CDR1、序列号306所示的互补决定区CDR2、和序列号307所示的互补决定区CDR3;

[0036] (M) 包含重链可变区和轻链可变区、且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段,所述重链可变区包含序列号134所示的互补决定区CDR1、序列号135所示的互补决定区CDR2、和序列号136所示的互补决定区CDR3,所述轻链可变区包含序列号137所示的互补决定区CDR1、序列号138所示的互补决定区CDR2、和序列号139所示的互补决定区CDR3。

[0037] (8) 根据(1)~(7)的任一项所述的药品,所述抗体或其片段是以下(a)~(a1)的任一者,

[0038] (a) 重链可变区包含序列号39的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号43的氨基

酸序列的抗体或其片段；

[0039] (b) 重链可变区包含序列号47的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号51的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0040] (c) 重链可变区包含序列号55的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号59的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0041] (d) 重链可变区包含序列号63的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号67的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0042] (e) 重链可变区包含序列号68的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号69的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0043] (f) 重链可变区包含序列号70的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号71的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0044] (g) 重链可变区包含序列号72的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号73的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0045] (h) 重链可变区包含序列号74的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号75的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0046] (i) 重链可变区包含序列号76的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号77的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0047] (j) 重链可变区包含序列号78的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号79的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0048] (k) 重链可变区包含序列号80的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号81的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0049] (l) 重链可变区包含序列号82的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号83的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0050] (m) 重链可变区包含序列号84的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号85的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0051] (n) 重链可变区包含序列号86的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号87的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0052] (o) 重链可变区包含序列号88的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号89的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0053] (p) 重链可变区包含序列号90的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号91的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0054] (q) 重链可变区包含序列号92的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号93的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0055] (r) 重链可变区包含序列号94的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号95的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0056] (s) 重链可变区包含序列号96的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号97的氨基酸序列的抗体或其片段；

[0057] (t) 重链可变区包含序列号98的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号99的氨基酸序列的抗体或其片段；

- [0058] (u) 重链可变区包含序列号100的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号101的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0059] (v) 重链可变区包含序列号102的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号103的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0060] (w) 重链可变区包含序列号104的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号105的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0061] (x) 重链可变区包含序列号106的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号107的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0062] (y) 重链可变区包含序列号108的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号109的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0063] (z) 重链可变区包含序列号110的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号111的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0064] (aa) 重链可变区包含序列号112的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号113的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0065] (ab) 重链可变区包含序列号114的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号115的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0066] (ac) 重链可变区包含序列号116的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号117的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0067] (ad) 重链可变区包含序列号118的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号119的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0068] (ae) 重链可变区包含序列号120的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号121的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0069] (af) 重链可变区包含序列号122的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号123的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0070] (ag) 重链可变区包含序列号124的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号125的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0071] (ah) 重链可变区包含序列号126的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号127的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0072] (ai) 重链可变区包含序列号128的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号129的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0073] (aj) 重链可变区包含序列号130的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号131的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0074] (ak) 重链可变区包含序列号132的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号133的氨基酸序列的抗体或其片段；
- [0075] (al) 重链可变区包含序列号300的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号304的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0076] (9) 根据(1) ~ (8)的任一项所述的药品,所述抗体是人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或单链抗体。
- [0077] (10) 根据(1) ~ (9)的任一项所述的药品,所述癌是在细胞膜表面表达CAPRIN-1蛋

白质的癌。

[0078] (11) 根据(1) ~ (10)的任一项所述的药品,所述癌是大肠癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、肾癌、乳癌、胃癌、胆管癌、甲状腺癌、黑素瘤、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、头颈癌、间皮瘤、结肠/直肠癌、食道癌、食管胃结合部癌、肝细胞癌、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、膀胱癌、子宫癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性睾丸淋巴瘤、胆道癌、脑肿瘤、白血病、肝癌、肉瘤、纤维肉瘤、肥大细胞瘤、肾上腺皮质癌、尤因肉瘤、睾丸癌、基底细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、佩吉特病或皮肤癌。

[0079] (12) 癌的治疗和/或预防用药物组合物的药效增强剂,所述癌的治疗和/或预防用药物组合物以与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段作为有效成分,所述药效增强剂以PDGFR抑制剂作为有效成分。

[0080] (13) 癌的治疗和/或预防用药物组合物的药效增强剂,所述癌的治疗和/或预防用药物组合物以PDGFR抑制剂作为有效成分,所述药效增强剂以与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段作为有效成分。

[0081] (14) 用于癌的治疗和/或预防的方法,其特征在于,将与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段、和PDGFR抑制剂一起或各自分开地施与受试者。

[0082] 发明的效果

[0083] 本发明所涉及的针对CAPRIN-1蛋白质的抗体或其片段、与PDGFR抑制剂的联用与针对CAPRIN-1蛋白质的抗体单独或现有化疗剂单独相比发挥强的抗肿瘤效果。特别是虽然成为PDGFR抑制剂的靶标的信号转导系统与免疫系统没有直接相关性,但通过本发明能获得利用免疫细胞的癌细胞的吞噬活性增强这样的效果。因此,针对CAPRIN-1蛋白质的抗体或其片段与PDGFR抑制剂的联用对于癌的治疗、预防是有效的。

附图说明

[0084] 图1是显示抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼的联用对人大肠癌细胞株(HCT116)的、经由人单核细胞(THP-1)的吞噬活性的图。参考编号1:联用药剂非添加试验区。参考编号2:索拉非尼联用试验区(10 μ M)。柱状图显示对各样品以N=3获得的数据的平均值。误差条表示标准偏差(S.D.)。进行了学生t检验的结果是,药剂联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高($p < 0.001$;显著性水平5%)。

[0085] 图2是显示抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼的联用对人大肠癌细胞株(HCT116)的、经由人单核细胞(THP-1)的吞噬活性的图。参考编号1:联用药剂非添加试验区。参考编号2:索拉非尼联用试验区(10 μ M)。参考编号A:对照IgG抗体处理组;参考编号B:抗CAPRIN-1抗体处理组。柱状图显示对各样品以N=3获得的数据的平均值。误差条表示标准偏差(S.D.)。进行了Dunnett's检验的结果是,在抗CAPRIN-1抗体处理组中,药剂联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高($p < 0.001$;显著性水平5%)。

[0086] 图3是显示抗CAPRIN-1抗体、抗CD20抗体和抗HER-2抗体单独、或者与索拉非尼的联用对人大肠癌细胞株(HCT116)的、经由人单核细胞(THP-1)的吞噬活性的图。参考编号3:联用药剂非添加试验区。参考编号4:索拉非尼联用试验区(10 μ M)。A:抗CAPRIN-1抗体试验区(1 μ M)、B:抗CD20抗体试验区(1 μ M)、C:抗HER-2抗体试验区(1 μ M)。柱状图显示对各样品以N=3获得的数据的平均值。误差条表示标准偏差(S.D.)。进行了Dunnett's检验的结果是,

在抗CAPRIN-1抗体试验区,药剂联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高($p < 0.001$;显著性水平5%)。在抗CD20抗体或抗HER-2抗体试验区,药剂联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比未观察到有意义的变化。n.s.:不显著。

[0087] 图4是显示抗CAPRIN-1抗体单独、或者与索拉非尼或顺铂的联用对人大肠癌细胞株(HCT116)的、经由人单核细胞(THP-1)的吞噬活性的图。参考编号5:联用药剂非添加试验区。参考编号6:索拉非尼(10 μ M)、参考编号7:顺铂联用试验区(1 μ M)。柱状图显示对各样品以N=3获得的数据的平均值。误差条表示标准偏差(S.D.)。检验:Dunnett's检验、 $p < 0.001$ 、显著性水平5%。n.s.:不显著。

具体实施方式

[0088] 由本发明中使用的针对CAPRIN-1蛋白质的抗体或其片段(以下称为“抗CAPRIN-1抗体”)和PDGFR抑制剂的联用产生的抗肿瘤效果如后所述,优选地通过调查在体外将癌细胞与免疫细胞共培养时由免疫细胞产生的癌细胞的吞噬活性而评价。其中,在体外评价抗肿瘤效果时使用的免疫细胞只要是具有吞噬活性的血细胞就可以是任何细胞,优选为人单核细胞(THP-1或U937)。抗体如果与癌细胞结合,则被免疫细胞识别,经由由免疫细胞产生的吞噬活性而杀伤癌细胞,由此评价在所述体外的抗肿瘤效果,从而能够预测在体内的抗肿瘤效果。

[0089] 本说明书中,“联用”或“组合”是指将抗CAPRIN-1抗体与PDGFR抑制剂向同一生物体或细胞同时或设置规定的间隔作为各自独立的有效成分进行施与或添加。其间隔可以是同时施与,也可以是30分钟后、或1小时后、3小时后、6小时后、12小时后、1天后、2天后、3天后、5天后、7天后、2周后、3周后、4周后。抗CAPRIN-1抗体或者PDGFR抑制剂显示其抗肿瘤效果时,任意者都可以被施与或添加。

[0090] 本说明书中使用的“一起包含或各自分开地组合包含”这样的术语具有多种药剂以可以同时或分别地施与患者的形态被包含的含义,该形态例如,可以是多种药剂被混合了的所谓混合制剂的形态,或者,可以是包含多种药剂作为分别的制剂的所谓试剂盒制剂(制药试剂盒)的形态。该形态还包含将多种药剂在2个以上的制剂中以任意的组合包含的试剂盒制剂的形态。

[0091] 本发明所涉及的这样的试剂盒制剂例如可以是包含:包含抗CAPRIN-1抗体的制剂(或药物组合物)、与包含PDGFR抑制剂的制剂(或药物组合物)的试剂盒制剂。

[0092] 本发明所涉及的抗CAPRIN-1抗体可以是单克隆抗体或多克隆抗体,优选为单克隆抗体,只要本发明的抗体能够发挥抗肿瘤效果,就可以是任何种类的抗体,抗体是重组抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、非人动物抗体。

[0093] 另外,本发明中作为癌的治疗和/或预防的对象的受试者是灵长类、宠物、家畜类、竞技用动物等哺乳动物,优选为犬和猫,更优选为人。

[0094] 以下对于本发明所涉及的包含抗CAPRIN-1抗体、PDGFR抑制剂作为有效成分的药物以及癌的治疗和/或预防方法进行说明。

[0095] <抗CAPRIN-1抗体>

[0096] 作为与本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体具有免疫反应性的抗原的具体例的、具有序列号2~30中的偶数序列号的任一项所示的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质中,序列号6、

8、10、12和14所示的氨基酸序列是犬的CAPRIN-1蛋白质的氨基酸序列,序列号2和4所示的氨基酸序列是人的CAPRIN-1蛋白质的氨基酸序列,序列号16所示的氨基酸序列是牛的CAPRIN-1蛋白质的氨基酸序列,序列号18所示的氨基酸序列是马的CAPRIN-1蛋白质的氨基酸序列,序列号20、22、24、26和28所示的氨基酸序列是小鼠的CAPRIN-1蛋白质的氨基酸序列,序列号30所示的氨基酸序列是鸡的CAPRIN-1蛋白质的氨基酸序列。

[0097] 另外,本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体也可以是与相对于所述序列号2~30中的偶数序列号的任一项所示的氨基酸序列有80%以上、优选为90%以上、更优选为95%以上、进一步优选为99%以上的序列同一性的CAPRIN-1蛋白质的变异体有免疫反应性的抗体。这里,“%序列同一性”是将2个序列在导入间隙或不导入间隙的情况下以形成最大的类似度(或一致度)的方式比对(排列)时,相同氨基酸(或碱基)相对于氨基酸(或碱基)的总数的百分比(%)。

[0098] 本发明中抗CAPRIN-1抗体是指与CAPRIN-1蛋白质的全长或其片段具有免疫反应性的抗体或其片段(抗原结合片段)。这里,“免疫反应性”是指在生物体内抗体与CAPRIN-1蛋白质或其部分多肽特异地结合的特性。

[0099] 本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体可以是单克隆抗体或多克隆抗体。

[0100] 与CAPRIN-1蛋白质的全长或其片段具有免疫反应性的多克隆抗体(抗CAPRIN-1多克隆抗体)可以通过例如使用天然的CAPRIN-1蛋白质、或与GST等的融合蛋白质、或其部分肽免疫小鼠、产生人抗体的小鼠、大鼠、兔、鸡等之后,获得血清,从所得的血清通过例如硫酸铵沉淀、蛋白A、蛋白G、DEAE离子交换柱、偶联了CAPRIN-1蛋白质或部分肽的亲和柱等进行纯化,从而获得。

[0101] 关于上述免疫中使用的CAPRIN-1及其同源物的碱基序列和氨基酸序列例如可以通过登录GenBank(美国NCBI),利用BLAST、FASTA等算法(Karlin and Altschul, Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:5873-5877,1993;Altschul et al.,Nucleic Acids Res.25:3389-3402,1997)来得到。另外,其CAPRIN-1蛋白质的制作方法可以通过参照W02014/012479获得,也可以使用表达CAPRIN-1蛋白质的细胞等。

[0102] 与CAPRIN-1蛋白质的全长或其片段具有免疫反应性的单克隆抗体(抗CAPRIN-1单克隆抗体)例如可以通过将表达CAPRIN-1的乳癌细胞SK-BR-3、CAPRIN-1蛋白质的全长或其片段等施与小鼠进行免疫,将从该小鼠分离的脾脏细胞与骨髓瘤细胞,从所得的融合细胞(杂交瘤)选择产生抗CAPRIN-1单克隆抗体的克隆,从而获得。由所选择的杂交瘤产生的抗体可以通过与前述的多克隆抗体的纯化方法同样的方法获得。

[0103] 本发明中使用的抗体包含人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、非人动物抗体、单链抗体。

[0104] 人抗体可以将感染了EB病毒的人淋巴细胞用蛋白质、蛋白质表达细胞或其溶解物致敏,使致敏淋巴细胞与人来源的U266细胞等骨髓瘤细胞进行细胞融合,从所得的融合细胞获得与CAPRIN-1蛋白质的全长或其片段具有免疫反应性的抗体。

[0105] 人源化抗体是也称为重构(reshaped)人抗体的改变抗体。人源化抗体通过将来源于免疫动物的抗体的互补决定区移植到人抗体的互补性决定区中来构建。作为其一般方法的基因重组方法也是广为人知的技术。具体来说,通过PCR法,由以末端部具有重叠部分的方式制作的数个寡核苷酸,由其合成以将例如小鼠抗体、兔抗体的互补决定区与人抗体的

框架区连接的方式设计的DNA序列。将所得的DNA与编码人抗体恒定区的DNA连接,接着整合到表达载体中,将其导入宿主而使其产生,从而得到人源化抗体(参照欧洲专利申请公开第EP239400号、国际公开号W096/02576)。介由互补决定区连接的人抗体的框架区可以选择使互补性决定区形成良好的抗原结合部位的框架区。根据需要,也可以替换抗体的可变区中的框架区的氨基酸,以使重构人抗体的互补性决定区形成适当的抗原结合部位(Sato K. et al., Cancer Research 1993, 53:851-856)。另外,也可以替换为来源于各种人抗体的框架区(参照W099/51743)。

[0106] 抗体通常是至少包含2条重链和2条轻链的杂多聚体糖蛋白质。抗体由2条相同的轻链和2条相同的重链构成。重链在一端具有重链可变区,几个恒定区与其相连。轻链在一端具有轻链可变区,几个恒定区与其相连。可变区具有被称为互补决定区(CDR)的特定可变区,对抗体赋予结合特异性。可变区中相对保守的部分被称为框架区(FR)。完整的重链和轻链的可变区包含分别由3个CDR(CDR1~CDR3)连接而成的4个FR。

[0107] 此外,人来源的重链和轻链的恒定区和可变区的序列可以从例如NCBI(美国:GenBank、UniGene等)获得,例如,人IgG1的重链恒定区可以参照登记号J00228的序列,人IgG2的重链恒定区可以参照登记号J00230的序列,人轻链 κ 恒定区可以参照登记号V00557、X64135、X64133等的序列,人轻链 λ 恒定区可以参照登记号X64132、X64134等的序列。

[0108] 嵌合抗体是将来源于不同动物的序列组合而制作的抗体,例如,包含小鼠抗体的重链可变区和轻链可变区以及人抗体的重链恒定区和轻链恒定区的抗体等。嵌合抗体的制作可以使用公知的方法进行,例如可以通过将编码抗体V区的DNA与编码人抗体C区的DNA连接,将其整合到表达载体中并导入宿主,而使其产生,从而得到。

[0109] 非人动物抗体可以按照公知的方法使致敏抗原免疫非人动物,作为一般的方法,通过将致敏抗原注射到小鼠等动物的腹腔内或皮内或皮下来获得。注射致敏抗原时,可以与以CFA(弗氏完全佐剂)为代表的各种佐剂适量混合而对动物多次施与。免疫动物,确认了血清中含有抗CAPRIN-1抗体之后获得血清,如前所述,通过硫酸铵沉淀、蛋白A、蛋白G、DEAE离子交换柱、偶联了CAPRIN-1蛋白质或部分肽的亲合柱等进行纯化,从而获得非人动物抗体。另外,在从非人动物获得单克隆抗体时,可以通过从免疫后的动物采集免疫细胞,与骨髓瘤细胞进行细胞融合来获得。所述免疫细胞与骨髓瘤细胞的细胞融合可以依照公知的方法进行(参照Kohler, G. and Milstein, C. Methods Enzymol. (1981) 73, 3-46)。

[0110] 本发明中使用的抗体也可以作为从杂交瘤克隆抗体基因,整合到适当的载体中,将其导入宿主,使用基因重组技术使其产生的基因重组型抗体获得(参照Carl, A. K. Borrebaeck, James, W. Larrick, THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, Published in the United Kingdom by MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990)。

[0111] 本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体可以是可变区(例如FR)、恒定区中的氨基酸被替换成其他氨基酸而得的抗体。氨基酸替换为1或多个、例如小于15个、小于10个、8个以下、6个以下、5个以下、4个以下、3个以下、或2个以下的氨基酸、优选为1~9个氨基酸的替换,替换后的抗体应当是与未替换抗体相比,对抗原特异地结合的性质、与抗原的结合亲和性为同等或其以上,对人应用时不发生排斥反应的抗体。氨基酸替换期望是保守的氨基酸替换,这是电荷、侧链、极性、芳香族性等性质类似的氨基酸间的替换。性质类似的氨基酸例如可以分类为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸、组氨酸)、酸性氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸)、无电荷极

性氨基酸(甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸)、无极性氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、蛋氨酸)、支链氨基酸(苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)、芳香族氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、组氨酸)等。

[0112] 本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体与癌细胞表面上的CAPRIN-1蛋白质的结合亲和性越高,则越能期待更强的抗肿瘤效果。期望结合常数(亲和常数)Ka (kon/koff) 优选为至少 10^7M^{-1} 、至少 10^8M^{-1} 、至少 $5 \times 10^8\text{M}^{-1}$ 、至少 10^9M^{-1} 、至少 $5 \times 10^9\text{M}^{-1}$ 、至少 10^{10}M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{10}\text{M}^{-1}$ 、至少 10^{11}M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{11}\text{M}^{-1}$ 、至少 10^{12}M^{-1} 、或至少 10^{13}M^{-1} 。

[0113] 本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体可以被化学修饰,作为这样的抗体修饰物,可列举例如,与聚乙二醇(PEG)、抗肿瘤性化合物(例如,下述例示的抗肿瘤剂)等各种分子结合的抗体。在本发明的抗体修饰物中,不限定结合的物质。为了得到这样的抗体修饰物,可以通过对所得的抗体实施化学修饰来得到。这些方法在本领域已经被确立。

[0114] 本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体通过将抗体的重链恒定区的氨基酸替换1个、2个或数个,或除去与结合于重链恒定区的N-糖苷键型糖链中的N-乙酰葡萄糖胺结合的岩藻糖,能够提高抗CAPRIN-1抗体对效应细胞的结合力。上述可以是单独的氨基酸替换,另外,也可以是与结合了岩藻糖的抗体的组合物。

[0115] 将重链恒定区的氨基酸替换了1个、2个或数个的抗体可以参照例如W02004/063351、W02011/120135、美国专利8388955、W02011/005481、美国专利6737056、W02005/063351来制作。

[0116] 除去了重链恒定区中的N-糖苷键型糖链中的N-乙酰葡萄糖胺所附带的岩藻糖的抗体或产生该抗体的细胞,可以参照美国专利6602684号、欧洲专利1914244、美国专利7579170来制作。除去了与结合于重链恒定区的N-糖苷键型糖链中的N-乙酰葡萄糖胺结合的岩藻糖的抗体和结合了岩藻糖的抗体的组合物或产生该组合物的细胞,可以参照例如美国专利8642292号来制作。

[0117] 本发明中使用的抗CAPRIN-1多克隆抗体、抗CAPRIN-1单克隆抗体、抗体的制作方法、纯化方法以及用于免疫的CAPRIN-1蛋白质或其部分多肽的制作方法可以参照W02010/016526、W02011/096517、W02011/096528、W02011/096519、W02011/096533、W02011/096534、W02011/096535、W02013/018886、W02013/018894、W02013/018892、W02013/018891、W02013/018889、W02013/018883、W02013/125636、W02013/125654、W02013/125630、W02013/125640、W02013/147169、W02013/147176以及W02015/020212获得。

[0118] 作为本发明中的抗CAPRIN-1抗体的具体例,可列举前述的W02010/016526、W02011/096517、W02011/096528、W02011/096519、W02011/096533、W02011/096534、W02011/096535、W02013/018886、W02013/018894、W02013/018892、W02013/018891、W02013/018889、W02013/018883、W02013/125636、W02013/125654、W02013/125630、W02013/125640、W02013/147169、W02013/147176以及W02015/020212中记载的抗CAPRIN-1抗体,但作为优选的抗CAPRIN-1抗体可列举以下抗体。

[0119] 与具有序列号2或序列号4所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上、更进一步优选为99%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。

[0120] 与具有序列号31所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号36、37和38的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号40、41和42的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段;或者含有包含序列号140、141和142的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号143、144和145的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段;或者含有包含序列号164、165和166的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号167、168和169的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号39的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号43的氨基酸序列的抗体或其片段;或者重链可变区包含序列号70的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号71的氨基酸序列的抗体或其片段;或者重链可变区包含序列号78的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号79的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0121] 与具有序列号33所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号60、61和62的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号64、65和66的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号63的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号67的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0122] 与具有序列号32所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号52、53和54的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号56、57和58的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号55的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号59的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0123] 与具有序列号34所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号170、171和172的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号173、174和175的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段;或者含有包含序列号176、177和178的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号179、180和181的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号80的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号81的氨基酸序列的抗体或其片段;或者重链可变区包含序列号82的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号83的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0124] 与具有序列号35所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号182、183和184的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号185、186和187的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段;或者含有包含序列号188、189和190的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号191、192和193的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号84的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号85的氨基酸序列的抗体或其片段;或者重链可变区包含序列号86的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号87的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0125] 含有包含序列号44、45和46的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号48、49和50的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为重链可变区包含序列号47的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号51的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0126] 与具有序列号296所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号146、147和148的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号149、150和151的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号72的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号73的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0127] 与具有序列号297所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号272、273和274的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号275、276和277的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号114的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号115的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0128] 与具有序列号298所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号290、291和292的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号293、294和295的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号120的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号121的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0129] 与具有序列号299所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号301、

302和303的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号305、306和307的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号300的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号304的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0130] 与具有序列号308所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号134、135和136的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号137、138和139的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号68的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号69的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0131] 与具有序列号309所示的氨基酸序列或相对于该氨基酸序列的序列同一性为80%以上(优选为85%以上、更优选为90%以上、进一步优选为95%以上)的氨基酸序列的CAPRIN-1蛋白质的部分多肽具有免疫反应性的抗体或其片段。优选为含有包含序列号134、135和136的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的重链可变区、和包含序列号137、138和139的互补决定区(分别为CDR1、CDR2和CDR3)的轻链可变区,且与CAPRIN-1蛋白质具有免疫反应性的抗体或其片段。更优选为重链可变区包含序列号68的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号69的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0132] 另外,以下的抗CAPRIN-1抗体也优选使用。

[0133] 重链可变区包含序列号68的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号69的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0134] 重链可变区包含序列号70的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号71的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0135] 重链可变区包含序列号72的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号73的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0136] 重链可变区包含序列号74的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号75的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0137] 重链可变区包含序列号76的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号77的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0138] 重链可变区包含序列号78的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号79的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0139] 重链可变区包含序列号80的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号81的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0140] 重链可变区包含序列号82的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号83的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0141] 重链可变区包含序列号84的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号85的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0142] 重链可变区包含序列号86的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号87的氨基酸序列的抗体或其片段。

- [0143] 重链可变区包含序列号88的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号89的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0144] 重链可变区包含序列号90的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号91的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0145] 重链可变区包含序列号92的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号93的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0146] 重链可变区包含序列号94的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号95的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0147] 重链可变区包含序列号96的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号97的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0148] 重链可变区包含序列号98的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号99的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0149] 重链可变区包含序列号100的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号101的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0150] 重链可变区包含序列号102的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号103的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0151] 重链可变区包含序列号104的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号105的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0152] 重链可变区包含序列号106的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号107的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0153] 重链可变区包含序列号108的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号109的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0154] 重链可变区包含序列号110的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号111的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0155] 重链可变区包含序列号112的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号113的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0156] 重链可变区包含序列号114的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号115的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0157] 重链可变区包含序列号116的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号117的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0158] 重链可变区包含序列号118的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号119的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0159] 重链可变区包含序列号120的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号121的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0160] 重链可变区包含序列号122的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号123的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0161] 重链可变区包含序列号124的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号125的氨基酸序列的抗体或其片段。
- [0162] 重链可变区包含序列号126的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号127的氨基酸

序列的抗体或其片段。

[0163] 重链可变区包含序列号128的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号129的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0164] 重链可变区包含序列号130的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号131的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0165] 重链可变区包含序列号132的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号133的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0166] 重链可变区包含序列号300的氨基酸序列、且轻链可变区包含序列号304的氨基酸序列的抗体或其片段。

[0167] 在后述的实施例中,针对CAPRIN-1蛋白质的全长、在癌细胞的细胞膜表面表达的区域的一部分的多肽的上述多克隆抗体或单克隆抗体被确认了显示对多种人癌细胞的细胞膜表面的反应性,另外,在人癌患者中得到了显示奏效的结果,在一部分的癌部位得到了使肿瘤完全消失的显著的抗肿瘤效果。

[0168] <PDGFR抑制剂>

[0169] 所谓PDGFR抑制剂,是以下详述的具有抑制PDGFR(血小板衍生生长因子受体; Platelet-Derived Growth Factor Receptor)的活性的作用的药剂。

[0170] PDGFR是受体型酪氨酸激酶的一种,存在结构上类似的2种亚型:PDGFR α 和 β 。作为结构的特征,任意亚型均在细胞外具有5个免疫球蛋白样结构域,进而在一次细胞跨膜结构域和细胞内具有被效应分子或衔接分子的结合所需的激酶插入序列区域分为两段的TK结构域(ATP结合口袋和活性环)。通常这些受体蛋白质在细胞膜上以单体存在,但通过配体的结合而形成二聚体,PDGFR的酪氨酸残基受到自身磷酸化,变成与具有SH2结构域的信号转导分子(PLC- γ 、Grb2、PI3K等)的结合部位而将作为下游的信号转导途径的Ras-MAPK、PI3K-AKT、PL γ -PKC等途径激活,促进迁移、增殖、细胞生存等。所形成的二聚体存在PDGFR- $\alpha\alpha$ 、PDGFR- $\alpha\beta$ 、PDGFR- $\beta\beta$ 的三种组合,这些复合物各自对配体的亲和性不同。已知PDGFR α 的异常表达在脊椎动物模型中发生异常,在人中与多种疾病相关。PDGFR α 在与纤维化、硬化的过程有关的肾细胞中广泛表达。PDGF与其受体PDGFR α 是炎症性肠疾病的恢复期中的纤维化的诱导因子,提示可能也与活动性的炎症期有关。PDGFR β 参与心血管系统的发达、细胞增殖、迁移。通过作为配体的血小板衍生生长因子(PDGF)结合,从而形成同二聚体或与PDGFR α 形成杂二聚体而活化,并活化MAPK、PI3K/Akt/mTOR、JAK/STAT、PLC γ 和NF- κ B等下游信号。通过与12号染色体的ETV6的转座而形成的融合基因在慢性骨髓增生性疾病中被发现。

[0171] 已知PDGFR抑制剂通过PDGFR的二聚体形成抑制、配体的中和、配体的结合抑制或PDGFR的内在化等来抑制信号转导途径,从而发挥癌治疗效果,但在本发明中,能够增强癌免疫治疗自身的药效、具体为本申请说明书的实施例所示那样的利用免疫细胞的癌细胞的吞噬活性。因为被PDGFR活化的信号转导途径与免疫系统没有直接的相关性,所以由本发明产生的癌免疫治疗自身的药效的增强是由当下的本领域技术人员的技术水准无法预想的新认知。

[0172] 作为PDGFR抑制剂的具体例,可列举Agerafenib(RXDX-105)、阿莫伐替尼(Amuvatinib)(MP-470)、阿伐替尼(Avapritinib)(BLU-285)、阿昔替尼(Axitinib)(AG 013736)、西地尼布(Cediranib)(AZD2171)、克瑞诺拉尼(Crenolanib)(CP-868596)、达沙替

尼(Dasatinib) (BMS 345825/BMS 354825/BMS 35482513/Sprycel)、厄达替尼(Erdafitinib) (JNJ-42756493)、氟马替尼(Flumatinib) (HH-GV-678)、福瑞替尼(Foretinib) (GSK1363089)、伊马替尼(Imatinib) (STI571)、甲磺酸伊马替尼(Imatinib Mesylate)、仑伐替尼(Lenvatinib) (E7080)、甲磺酸仑伐替尼(Lenvatinib Mesylate)、利尼伐尼(Linifanib) (ABT-869)、马赛替尼(Masitinib) (AB1010)、甲磺酸马赛替尼(Masitinib mesylate)、二磷酸莫特塞尼(Motesanib Diphosphate) (AMG-706)、尼达尼布(Nintedanib) (BIBF 1120)、尼洛替尼(Nilotinib) (AMN107/Tasigna)、奥兰替尼(Orantinib) (SU6668)、培唑帕尼(Pazopanib) (GW786034)、盐酸培唑帕尼(Pazopanib HCl) (GW786034HCl)、泊那替尼(Ponatinib) (AP24534)、瑞戈非尼(Regorafenib) (BAY 73-4506)、瑞戈非尼一水合物(Regorafenib Monohydrate)、瑞派替尼(Ripretinib) (DCC-2618)、塞拉替尼(Seralutinib) (GB002)、索拉非尼(Sorafenib) (BAY 43-9006)、索拉非尼甲苯磺酸盐(Sorafenib tosylate)、舒尼替尼(Sunitinib) (SU11248)、替拉替尼(Telatinib)、替沃扎尼(Tivozanib) (AV-951)、托西尼布磷酸盐(Toceranib phosphate)、PDGFR抑制剂1、X-82(伏罗尼布,Vorolanib)、AZD2932、AZD3229、CP-673451、ENMD-2076、JNJ-10198409、Ki20227、Ki8751、MK-2461、N-(对香豆酰)羟色胺、ON123300、PP121、SKLB 610、SU14813、SU5402、曲匹地尔(Trapidil)、Tyrphostin 9、Tyrphostin AG 1296和它们的药学上可容许的(公知的)盐或(公知的)衍生物。这些PDGFR抑制剂中,优选为Agerafenib、阿莫伐替尼、阿伐替尼、阿昔替尼、西地尼布、克瑞诺拉尼、达沙替尼、厄达替尼、氟马替尼、福瑞替尼、伊马替尼、甲磺酸伊马替尼、仑伐替尼、甲磺酸仑伐替尼、利尼伐尼、马赛替尼、甲磺酸马赛替尼、二磷酸莫特塞尼(AMG-706)、尼达尼布、尼洛替尼、奥兰替尼、培唑帕尼、盐酸培唑帕尼(GW786034HCl)、泊那替尼、瑞戈非尼、瑞戈非尼一水合物、瑞派替尼、塞拉替尼、索拉非尼、索拉非尼甲苯磺酸盐、舒尼替尼、替拉替尼、替沃扎尼或它们的药学上可容许的(公知的)盐或(公知的)衍生物,更优选为索拉非尼、舒尼替尼、达沙替尼、尼洛替尼、培唑帕尼、瑞戈非尼、尼达尼布或它们的药学上可容许的(公知的)盐或(公知的)衍生物,进一步优选为索拉非尼或其药学上可容许的(公知的)盐或(公知的)衍生物。

[0173] 索拉非尼(Sorafenib) (别名:BAY 43-9006、NSC-724772)抑制PDGFR- β 的活性。CAS编号用284461-73-0表示,IUPAC名表示为4-[4-[[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨甲酰基氨基]苯氧基]-N-甲基吡啶-2-甲酰胺。分子式为 $C_{21}H_{16}ClF_3N_4O_3$,分子量为464.8。索拉非尼也作为索拉非尼甲苯磺酸盐使用,CAS编号用475207-59-1表示,IUPAC名表示为4-[4-[[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨甲酰基氨基]苯氧基]-N-甲基吡啶-2-甲酰胺;4-甲基苯磺酸。分子式为 $C_{28}H_{24}ClF_3N_4O_6S$,分子量为637.0。在本说明书中,仅仅记载为索拉非尼时,是索拉非尼的游离体和甲苯磺酸盐的总称。

[0174] <其他药剂>

[0175] 作为本发明的药品的有效成分,在不阻碍作为本发明的药品的效果的范围内,除了所述抗CAPRIN-1抗体和PDGFR抑制剂之外,还可以包含文献等中公知的抗肿瘤剂。作为公知的抗肿瘤剂不特别限制,作为具体例,包含5-氟尿嘧啶、伊立替康、奥沙利铂、卡波铂、顺铂、奈达铂、吉西他滨、紫杉醇、白蛋白紫杉醇、咪喹莫特、免疫检查点抑制剂、多柔比星、柔红霉素、环磷酰胺、甲氨蝶呤、噻替派、白消安、英丙舒凡、派泊舒凡、benzodopa、卡波醌、meturedopa、uredopa、六甲蜜胺(altretamine)、三亚乙基三聚氰胺、三亚乙基磷酰胺、三亚

乙基硫代磷酰胺 (triethylenethiophosphoramidate)、三羟甲基三聚氰胺 (trimethylololomelamine)、布拉他辛、布拉他辛酮、喜树碱、苔藓虫素、海绵多聚乙酰 (callystatin)、cryptophycin1、cryptophycin8、海兔毒素 (dolastatin)、倍癌霉素 (duocarmycin)、艾榴塞洛素 (eleutherobin)、水鬼蕉碱 (pancratistatin)、匍枝珊瑚醇 (sarcodictyin)、spongistatin、苯丁酸氮芥、萘氮芥 (chlornaphazine)、氯磷酰胺 (cholophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、甲氮芥、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新氮芥 (novembichin)、苯芥胆甾醇 (phenesterine)、泼尼莫司汀 (prednimustine)、曲磷胺 (trofosfamide)、乌拉莫司汀、卡莫司汀、氯乙链脲菌素 (chlorozotocin)、福莫司汀 (fotemustine)、洛莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀、卡奇霉素 (calicheamicin)、达内霉素 (dynemicin)、氯屈膦酸、埃斯培拉霉素 (esperamicin)、阿克拉霉素、放线菌素、安曲霉素 (authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C (cactinomycin)、卡柔比星 (carabycin)、洋红霉素、嗜癌菌素 (carzinophilin)、色霉素、更生霉素、detorbicin、6-重氨基-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素 (adriamycin)、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素 (marcellomycin)、丝裂霉素C、霉酚酸 (mycophenolic acid)、诺加霉素 (nogalamycin)、橄榄霉素 (olivomycins)、培洛霉素、甲基丝裂霉素 (potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素 (quelamycin)、罗多比星 (rodorubicin)、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素 (tubercidin)、乌苯美司、净司他丁 (zinostatin)、佐柔比星 (zorubicin)、二甲叶酸 (denopterin)、蝶罗呤 (pteropterin)、三甲曲沙 (trimetrexate)、氟达拉滨 (fludarabine)、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤、安西他滨、阿扎胞苷 (azacitidine)、6-氮杂尿苷 (azauridine)、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨 (enocitabine)、氟尿苷 (floxuridine); 雄激素类、例如卡普睾酮 (calusterone)、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酮 (testolactone)、氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦、亚叶酸 (frolinic acid)、醋葡萄糖内酯、醛磷酰胺糖苷、氨基乙酰丙酸、恩尿嘧啶 (eniluracil)、安吡啶 (amsacrine)、阿莫司汀 (bestrabucil)、比生群 (bisantrene)、defofamine、秋水仙胺 (demecolcine)、地吡醌 (diaziquone)、依氟鸟氨酸 (elfornithine)、依利醋铵 (elliptinium)、埃博霉素 (epothilone)、依托格鲁 (etoglucid)、香菇多糖、氯尼达明 (lonidamine)、美登素 (maytansine)、安丝菌素 (ansamitocine)、米托胍脲 (mitoguazone)、米托蒽醌、mopidanmol、二胺硝吡啶 nitraerine、喷司他丁、蛋氨酸氮芥 (phenamet)、吡柔比星、洛索蒽醌 (losoxantrone)、足叶草酸 (podophyllinic acid)、2-乙基酰肼、甲苄肼、雷佐生 (razoxane)、根瘤菌素 (rhizoxin)、西佐喃、锗螺胺 (spirogermanium)、细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid)、三乙撑亚胺苯醌 (triaziquone)、杆孢菌素 (roridine) A、蛇形菌素 (anguidine)、聚氨酯、长春地辛、达卡巴嗪、甘露醇氮芥 (mannomustine)、二溴甘露醇、二溴卫矛醇 (mitolactol)、哌泊溴烷 (pipobroman)、gacytosine、多西他赛、吉西他滨 (gemcitabine)、6-巯鸟嘌呤、硫嘌呤、长春碱、足叶乙甙、长春新碱、长春瑞滨、诺消灵 (novantrone)、替尼泊苷、依达曲沙 (edatrexate)、道诺霉素、氮蝶呤、希罗达 (xeloda)、伊班膦酸盐 (ibandronate)、二氟甲基鸟氨酸 (DMFO)、拓扑异构酶抑制剂、视黄酸、亚叶酸、以及它们的药学上容许的 (公知的) 盐或 (公知的) 衍生物。

[0176] <本发明的抗肿瘤效果>

[0177] 由本发明的抗CAPRIN-1抗体与PDGFR抑制剂的联用产生的抗肿瘤效果可以在体内

或体外进行评价。体内的抗肿瘤效果可以通过对具有癌的生物体施与抗CAPRIN-1抗体和PDGFR抑制剂,测量施与后的肿瘤的大小,并经时地调查癌的大小来评价。另外,体内的抗肿瘤效果也可以通过调查生物体的生存率来评价。另外,也可以通过调查细胞因子或者趋化因子的产生能力来评价。进而,也可以通过调查癌的预防、转移的预防、或者复发的预防来评价。

[0178] 体外的抗肿瘤效果可以通过调查将癌细胞与免疫细胞共培养时免疫细胞对癌细胞的细胞毒活性、吞噬活性来评价。因此,由抗CAPRIN-1抗体与PDGFR抑制剂的联用产生的抗肿瘤效果,可以通过向癌细胞与免疫细胞的共培养体系中通过联用而添加抗CAPRIN-1抗体和PDGFR抑制剂,调查免疫细胞对癌细胞的细胞毒活性或吞噬活性,从而评价。这里使用的免疫细胞只要是具有细胞毒活性、吞噬活性的血细胞就可以是任何细胞,优选在评价细胞毒活性的情况下为人NK细胞,在评价吞噬活性的情况下为人单核细胞(THP-1或U937)。抗体如果与癌细胞结合则被免疫细胞识别,经由由免疫细胞产生的细胞毒活性、吞噬活性而杀伤癌细胞,由此通过评价所述体外的抗肿瘤效果,从而能够预测体内的抗肿瘤效果。

[0179] 本发明中使用的抗CAPRIN-1抗体与CAPRIN-1结合的能力可以利用使用了例如ELISA法、蛋白质印迹法、免疫荧光和流式细胞计量术等的结合检验来特定。

[0180] 本发明的抗CAPRIN-1抗体与PDGFR抑制剂的组合与单独的抗CAPRIN-1抗体相比,体外的抗肿瘤效果增强。其增强率优选为1.5倍以上、更优选为2倍以上、进一步优选为3倍以上。

[0181] <用于癌的治疗和/或预防的药品>

[0182] 本发明的药品以癌的治疗和/或预防为目的。成为本发明的药品的靶标的癌,只要是表达CAPRIN-1蛋白质的癌(细胞)、特别是在细胞膜表面表达CAPRIN-1蛋白质的癌(细胞),就不特别限定。

[0183] 本说明书中使用的“治疗”是指基于前述的抗肿瘤效果的癌的治疗。另外,本说明书中使用的“预防”不仅指癌的发生的预防,还指癌的转移或复发的预防。

[0184] 本说明书中使用的“肿瘤”和“癌”这样的术语是指恶性新生物,可以互换使用。

[0185] 作为在本发明中成为对象的癌,只要是在细胞膜表面上表达CAPRIN-1蛋白质的癌就可以是任何癌。优选为大肠癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、胰癌、肾癌、乳癌、胃癌、胆管癌、甲状腺癌、黑素瘤、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、头颈癌、中皮癌、结肠/直肠癌、食道癌、胃食管接合物癌、肝细胞癌、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、膀胱癌、子宫癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性睾丸淋巴瘤、胆道癌、脑肿瘤、白血病、肝癌、肉瘤、纤维肉瘤、肥大细胞瘤、肾上腺皮质癌、尤因肉瘤、睾丸癌、基底细胞癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、佩吉特病或皮肤癌。另外,上述这些癌可以是原发癌、转移性癌、转移了的癌或复发了的癌、术后的癌、或不能切除的癌。此外,黑素瘤经常与恶性黑素瘤或恶性黑色素瘤(malignant melanoma)同义地使用。

[0186] 所述癌更具体地包含例如,皮肤T/NK细胞淋巴瘤、外周血T细胞性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、鲍温病、鳞状细胞癌、乳房外佩吉特病、蕈样真菌病、Sezary综合征、仅皮肤有病变的T细胞白血病/淋巴瘤、皮肤B细胞淋巴瘤(惰性组)、皮肤T细胞淋巴乳腺癌、复合型乳腺癌、乳腺恶性混合肿瘤、乳管内乳头状腺癌、肺腺癌、鳞状细胞癌、小细胞癌、大细胞癌、作为神经上皮组织性肿瘤的神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、室管膜瘤、神经元肿瘤、胎儿型的神经外胚层肿瘤、神经鞘瘤、纤维神经瘤、脑脊膜瘤、慢性淋巴细胞白血病、淋巴

瘤、消化道淋巴瘤、消化器官淋巴瘤、小~中细胞型淋巴瘤、盲肠癌、升结肠癌、降结肠癌、横结肠癌、乙状结肠癌、直肠癌、卵巢上皮癌、胚细胞瘤、间质细胞瘤、胰管癌、浸润性胰管癌、胰癌的腺癌、腺泡细胞癌、腺扁平上皮癌、巨细胞瘤、胰管内乳头粘液性肿瘤、粘液性囊腺癌、胰母细胞瘤、胰头细胞瘤、Frantz肿瘤、浆液性囊腺癌、固体乳头状癌、胃泌素瘤、胰高血糖素瘤、胰岛素瘤、多发性内分泌腺瘤综合症1(Wermer综合症)、非功能性胰岛细胞瘤、生长激素抑制素瘤、VIP产生瘤、子宫颈癌、子宫体癌、纤维肉瘤、骨·关节肉瘤、尤文肉瘤、肾母细胞瘤(Wilms' tumor)、肝母细胞瘤、软组织肉瘤、急性白血病、慢性白血病、脊髓肿瘤、软组织恶性肿瘤、畸胎瘤肿瘤、头颈癌包括下咽癌、中咽癌、舌癌、上咽癌、口腔癌、口唇癌、鼻窦癌、喉癌、肾盂输尿管癌、膀胱癌、尿道癌、精巢肿瘤、恶性胸膜间皮瘤、恶性骨肿瘤、子宫体癌、儿童恶性实体肿瘤(横纹肌肉瘤、成神经细胞瘤、肝母细胞瘤、成神经细胞瘤、肾母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、中枢神经系统胚胎细胞肿瘤、尤文肉瘤家族肿瘤)等,但不限于这些。另外包含以上述癌为原发的能够触诊的癌、存在于皮下的癌、存在于皮内的癌、浅表性的癌、存在于真皮的癌或存在于非实体器官的癌、渐进性的癌。另外包含以上述癌为原发、通过转移或复发而能够触诊的癌、存在于皮下的癌、存在于皮内的癌、浅表性的癌、存在于真皮的癌或存在于非实体器官的癌。

[0187] 另外,成为对象的优选的受试者(患者)是哺乳动物,例如是包含灵长类、宠物、家畜类、竞技用动物等的哺乳动物,特别优选是人、犬和猫。

[0188] 本发明的药品可以利用本领域技术人员公知的方法进行制剂化。本发明的药品可以以例如在水或除水以外的药学上容许的液体中的无菌性溶液、或悬浮液剂的注射剂的形式非经口地使用。在本发明的药品中,也可以对每种制剂或药物组合物将其有效成分(抗CAPRIN-1抗体、和PDGFR抑制剂中的至少1种)与例如与药理学上容许的载体、介质、或添加剂,具体来说为灭菌水、生理盐水、等渗液、缓冲剂(缓冲液等)、植物油、油性液、氧化防止剂、助溶剂、乳化剂、悬浮剂、表面活性剂、稳定剂、芳香剂、赋形剂、结合剂等适当组合,优选可以通过以一般认为的制药实施所要求的单位用量方式与它们混和来进行制剂化。这些制剂中的有效分量,是可得所指示的范围的适当的用量那样的量。

[0189] 用于注射的无菌组合物可以使用注射用蒸馏水这样的媒介物,按照通常的制剂实施来处方。作为注射用的水溶液,可以列举例如,生理盐水、含有葡萄糖和/或其他辅助剂、例如D-山梨糖醇、D-甘露糖、D-甘露醇、氯化钠的等渗液,也可以与适当的溶解助剂、例如醇、具体为乙醇、多元醇例如丙二醇、聚乙二醇、非离子性表面活性剂例如聚山梨醇酯80(TM)、HCO-60联用。作为油性液可以列举芝麻油、大豆油,其也可以与作为溶解助剂的苯甲酸苄酯、苄醇联用。另外,还可以与缓冲剂例如磷酸盐缓冲液、乙酸钠缓冲液、镇痛剂例如盐酸普鲁卡因、稳定剂例如苄醇、苯酚、抗氧化剂混配。制备的注射液通常填充到适当的安瓿中即可。

[0190] 施与为经口或非经口,优选非经口施与,具体来说,可以列举注射剂型、经鼻施与剂型、经肺施与剂型、经皮施与型等。作为注射剂型的例子,可以通过例如静脉内注射、肌肉内注射、腹腔内注射、皮下注射、肿瘤内注射等全身或局部性地施与。作为经皮施与型的例子,例如为被称为涂布剂或外用药的剂型。作为外用药,可列举固体制剂、液剂、喷雾剂、软膏剂、乳膏剂、或凝胶剂。

[0191] 另外,可以根据患者的年龄、体重、性别、症状等选择适当的施与方法。作为含有抗

CAPRIN-1抗体、和PDGFR抑制剂中的至少1种的药物组合物的施与量,以各有效成分的量记,例如,可以在一次每1kg体重为0.0001mg至1000mg的范围中选择。或者,例如,可以在每个患者0.001~100000mg/个体的范围、或例如患者的每1kg体重0.1~300mg、或1mg~30mg中选择有效成分的施与量,但未必限于这些数值。施与量、施与方法根据患者的体重、年龄、性别、症状等不同而变化,只要是本领域技术人员就可以适当选择。

[0192] <施与方法>

[0193] 利用本发明的用于癌的治疗和/或预防的药品、的癌的治疗和/或预防,除了作为前述的药品施与之外,包含各种形式。例如,本发明的药品的各有效成分可以同时并行、或按顺序逐个施与。作为具体例,可以在约3周以下的时间间隔内、即在从刚刚施与了第1有效成分之后开始到约3周施与第2有效成分。此时,可以接着外科处置之后而实施,也可以在第1药剂与第2药剂的施与之间实施外科处置。另外,可以将本发明的用于癌的治疗和/或预防的药品按照多个施与循环进行施与。例如,在实施本发明的用于癌的治疗和/或预防的药品、的各有效成分的同时施与的情况下,将包含双方的有效成分的药物组合物以约2天至约3周为1循环进行施与。然后,按照负责的医师的判断,根据需要可以将该治疗循环重复。同样地在计划按照顺序的处方时,可以分别将各个药剂的施与期间调整为相同期间。循环之间的间隔在0~2个月之间变化。本发明的用于癌的治疗和/或预防的药品、的各有效成分的施与量可以与上述药物组合物中的各有效成分的施与量同样地设定。

[0194] <制药试剂盒>

[0195] 本发明的癌的治疗和/或预防用的药品可以是制药试剂盒的形态。制药试剂盒是指在治疗和/或预防癌的方法中,用于将有效成分以单个的药物组合物(制剂)的形态使用的包,该包可以包含用于施与各有效成分的使用说明书。制药试剂盒中包含的癌的治疗和/或预防用的上述药物组合物的各有效成分,可以是以能够将各有效成分一起或分别施与的方式分别如上所述制剂化而成的药物组合物的形态。另外,制药试剂盒为了能够将各有效成分按照上述施与方法施与,包含对于1次或多次的用量为充分的量的有效成分。

[0196] <治疗和/或预防方法>

[0197] 基于上面具体说明的内容,本发明提供包括将本发明的上述药品、或本发明的抗CAPRIN-1抗体与PDGFR抑制剂施与受试者(患者)的用于癌的治疗和/或预防的方法。例如,本发明进一步提供包括将本发明的上述药品等施与被怀疑具有癌的受试者(患者)的用于癌的治疗和/或预防的方法。另外,在其实施方式中,例如上述药品所包含的本发明的抗CAPRIN-1抗体(抗体或其片段)、PDGFR抑制剂、和任意抗肿瘤剂可以同时或分别施与上述受试者(患者)。

[0198] 实施例

[0199] 以下,基于实施例具体地说明本发明,但本发明的范围不受这些具体例限制。

[0200] (实施例1) 抗CAPRIN-1抗体的制作

[0201] 将按照W02010/016526的实施例3制作的人CAPRIN-1重组蛋白质100 μ g与等量的MPL+TDM佐剂(シグマ社制)混合,将此作为每1只小鼠的抗原溶液。将抗原溶液施与到6周龄的Balb/c小鼠(日本SLC社制)的腹腔内后,每1周进一步进行施与3次和24次,从而完成免疫。从最后的免疫起3天后摘出的各自的脾脏用灭菌后的2枚载玻片夹持磨碎,将使用PBS(-)(日水社制)洗涤、以1500rpm离心10分钟并除去上清的操作重复3次,获得脾脏细胞。将

所得的脾脏细胞与小鼠骨髓瘤细胞SP2/0 (从ATCC购入) 以10:1的比率混和, 在其中加入将加温至37°C的包含10% FBS的RPMI1640培养基200 μ L和PEG1500 (ベーリンガー社制) 800 μ L混合而制备的PEG溶液, 并静置5分钟, 从而进行细胞融合。以1700转/分钟离心5分钟, 除去上清, 然后用加入了2% 当量的Gibco社制的HAT溶液的含15% FBS的RPMI1640培养基 (HAT选择培养基) 150ml 悬浮细胞, 以96孔板 (ヌンク社制) 的每1孔各100 μ L接种于15块板中。以7天、37°C、5% CO₂的条件培养, 从而得到脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合而成的杂交瘤。以制作的杂交瘤所产生的抗体的对CAPRIN-1蛋白质的结合亲和性为指标筛选杂交瘤。将CAPRIN-1蛋白质溶液1 μ g/ml在96孔板每1孔中添加100 μ L, 在4°C静置18小时。将各孔用PBS-T洗涤3次后, 在每1孔中添加0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) 溶液 (シグマ社制) 400 μ L, 在室温静置3小时。除去溶液, 对每1孔用400 μ L的PBS-T洗涤孔3次后, 在每1孔中添加上述所得的杂交瘤的各培养上清100 μ L, 在室温静置2小时。用PBS-T洗涤各孔3次后, 在每1孔中添加用PBS稀释至5000倍的HRP标记抗小鼠IgG (H+L) 抗体 (インビトロジェン社制) 100 μ L, 在室温静置1小时。用PBS-T洗涤孔3次后, 在每1孔中添加TMB底物溶液 (Thermo社制) 100 μ L, 并静置15~30分钟, 从而进行显色反应。显色后, 在每1孔中添加1N硫酸100 μ L使反应停止, 使用吸光度计测定450nm和595nm的吸光度值。其结果是, 筛选出了多个产生吸光度值高的抗体的杂交瘤。将筛选出的杂交瘤以96孔板每1孔0.5个的方式添加到板中进行培养。1周后, 观察到在孔中形成单个集落的杂交瘤。将这些孔的细胞进行进一步培养, 以由克隆化的杂交瘤产生的抗体对CAPRIN-1蛋白质的结合亲和性为指标筛选杂交瘤。将CAPRIN-1蛋白质溶液1 μ g/ml在96孔板的每1孔中添加100 μ L, 在4°C静置18小时。用PBS-T洗涤各孔3次后, 在每1孔中添加0.5% BSA溶液400 μ L, 并在室温静置3小时。除去溶液, 对每1孔用400 μ L的PBS-T洗涤孔3次后, 在每1孔中添加上述所得的杂交瘤的各培养上清100 μ L, 在室温静置2小时。用PBS-T洗涤各孔3次后, 在每1孔中添加用PBS稀释至5000倍的HRP标记抗小鼠IgG (H+L) 抗体 (インビトロジェン社制) 100 μ L并在室温静置1小时。用PBS-T洗涤孔3次后, 在每1孔中添加TMB底物溶液 (Thermo社制) 100 μ L, 并静置15~30分钟, 从而进行显色反应。显色后, 在每1孔中添加1N硫酸100 μ L使反应停止, 使用吸光度计测定450nm和595nm的吸光度值。其结果是, 得到了多个对CAPRIN-1蛋白质显示反应性的小鼠单克隆抗体。

[0202] 进而通过流式细胞计量术确认对人癌细胞的反应性, 所述人癌细胞是已经确认了在细胞膜表面表达CAPRIN-1蛋白质的细胞。作为阴性对照使用不与所述癌细胞显示反应性的小鼠IgG对照抗体。确认的结果是, 对所述癌细胞, 得到了数个与小鼠IgG对照抗体相比荧光强度高、与在细胞膜表面表达CAPRIN-1的上述癌细胞的细胞膜表面强烈地反应的单克隆抗体。从中作为与CAPRIN-1蛋白质显示反应性的单克隆抗体, 筛选出了作为W02013/125630中记载的针对CAPRIN-1的单克隆抗体的包含序列号114所示的重链可变区的氨基酸序列、和序列号115所示的轻链可变区的氨基酸序列的抗体。

[0203] 特定上述筛选出的抗体的重链可变区的CDR1~3, 以能够表达框架区包含人抗体的序列的重链可变区的方式设计碱基序列, 将其插入到已经插入有人IgG1的重链恒定区的哺乳类表达用载体中。同样地, 特定轻链可变区的CDR1~3, 以能够表达框架区包含人抗体的序列的轻链可变区的方式设计碱基序列, 将其插入到已经插入有人IgG1的轻链恒定区的哺乳类表达用载体中。将上述2种重组表达载体按照常规方法导入哺乳类细胞, 获得包含针对CAPRIN-1的人源化单克隆抗体#1 (人源化抗体#1) 的培养上清。人源化单克隆抗体#1的重

链的CDR1、CDR2、和CDR3的氨基酸序列分别示于序列号272、273、274。人源化单克隆抗体#1的轻链的CDR1、CDR2、和CDR3的氨基酸序列分别示于序列号275、276、277。

[0204] 将所得的包含人源化抗CAPRIN-1单克隆抗体#1的培养上清按照常规方法使用Hitrap Protein A SepharoseFF (GEヘルスケア社制) 进行纯化, 替换成PBS(-), 用0.22 μ m的过滤器(ミポア社制) 进行过滤, 从而制备。

[0205] 上述抗CAPRIN-1抗体对CAPRIN-1蛋白质的特异反应性通过将CAPRIN-1蛋白质在平板上固相化使用ELISA法进行检测来确认。

[0206] 此外, 使用上述抗CAPRIN-1抗体通过流式细胞计量术调查与未进行细胞膜的透过处理的癌细胞的反应性, 从而如以下实施例所示, 确认了CAPRIN-1蛋白质的一部分在癌细胞的细胞膜表面表达。

[0207] 通过流式细胞计量术确认了, 对作为确认了CAPRIN-1的基因的表达的人癌细胞的乳癌细胞(BT-474)、大肠癌细胞(HT-29, HCT116)、肺癌细胞(QG56, H1650, A549)、胃癌细胞(NCI-N87)、子宫癌细胞(HEC-1-A)、前列腺癌细胞(22Rv1, DU145)、胰癌细胞(Panc10.5)、肝癌细胞(Hep3B)、卵巢癌细胞(SKOV3)、肾癌细胞(Caki-2)、脑肿瘤细胞(U-87MG)、膀胱癌细胞(T24)、食道癌细胞(OE33)、白血病细胞(OCI-AML5)、淋巴瘤细胞(Ramos)、胆囊癌细胞(TGBC14TKB)、纤维肉瘤细胞(HT-1080)、黑素瘤细胞(G-361, A375)、确认了CAPRIN-1的基因的表达的小鼠肾癌细胞(Renca)、小鼠乳癌细胞(4T1)的任意癌细胞, 人源化抗体#1都比对作为阴性对照的癌细胞不显示反应性的人IgG对照抗体以及兔IgG抗体荧光强度高, 确认了与CAPRIN-1表达的上述癌细胞的细胞膜表面强烈地反应。

[0208] 另外, 对于W02010/016526、W02011/096517、W02011/096528、W02011/096519、W02011/096533、W02011/096534、W02011/096535、W02013/018886、W02013/018894、W02013/018892、W02013/018891、W02013/018889、W02013/018883、W02013/125636、W02013/125654、W02013/125640、W02013/147169、W02013/147176和W02015/020212中记载的抗CAPRIN-1抗体也同样地确认了与上述癌细胞膜表面强烈地反应。

[0209] (实施例2A) 抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼联用的体外抗肿瘤效果1

[0210] 在体外评价了抗CAPRIN-1抗体与作为PDGFR抑制剂的索拉非尼的联用的抗肿瘤效果。索拉非尼使用从Chemscene社购买的索拉非尼甲苯磺酸盐(Cat.No.:CS-0164)。

[0211] 具体地, 在PDGFR抑制剂联用试验区, 将事先使各联用药剂作用后的人癌细胞, 在抗CAPRIN-1抗体的存在下与人单核细胞(THP-1)共培养, 评价了由THP-1产生的经由抗体的癌细胞的吞噬活性。

[0212] 作为人来源的癌细胞, 使用了作为大肠癌细胞株的HCT116。在6-孔板上, 在索拉非尼联用试验区将人来源的癌细胞在索拉非尼(10 μ M)的存在下培养2天。另外, 作为对照设置仅添加了抗CAPRIN-1抗体的联用药剂非添加试验区, 事先在不添加各联用药剂的状态下将癌细胞培养了2天。

[0213] 将所述培养后的癌细胞株用“TrypLE Express”(Thermo)剥离, 通过加入终浓度0.04 μ g/mL的Calcein-AM在37 $^{\circ}$ C孵育10分钟, 从而将癌细胞染色。接着将细胞以每1孔 5×10^3 个癌细胞的方式分注到96-孔板中, 添加终浓度1 μ g/mL的抗CAPRIN-1抗体和 1.25×10^5 个THP-1, 在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的条件下培养1小时。然后, 用含有1%FBS(胎牛血清)的PBS(磷酸缓冲液)洗涤细胞, 使终浓度0.25 μ g/mL的APC(别藻蓝蛋白, Allophycocyanin)标记抗人CD45

抗体反应而将人单核细胞染色。进一步用终浓度 $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 的碘化丙啶(PI)将死细胞染色后,通过流式细胞计量术测定各细胞的荧光。分析时将PI阳性的死细胞除外。作为人单核细胞的THP-1识别结合于癌细胞上的抗体而吞噬癌细胞。此时,如果癌细胞被Calcein-AM染色了,则通过吞噬而摄入了它的单核细胞也变成Calcein-AM阳性。因此,本评价系统中的吞噬活性通过全部Calcein-AM阳性集团中的APC阳性/Calcein-AM阳性的比例(%)计算出。

[0214] 作为抗CAPRIN-1抗体使用实施例1中制作的抗CAPRIN-1抗体(抗CAPRIN-1人源化抗体#1)进行评价的结果是,联用药剂非添加试验区的HCT116观察到39%以下的癌细胞吞噬活性,与此相对,在索拉非尼联用试验区观察到90%以上的癌细胞吞噬活性。进行了学生t检验的结果是,索拉非尼联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高($p < 0.001$;显著性水平5%) (图1)。因此,抗CAPRIN-1抗体对上述的人癌细胞的抗肿瘤效果通过与索拉非尼的联用有意义地增强了约2.3倍。

[0215] 另外,在W02010/016526、W02011/096517、W02011/096528、W02011/096519、W02011/096533、W02011/096534、W02011/096535、W02013/018886、W02013/018894、W02013/018892、W02013/018891、W02013/018889、W02013/018883、W02013/125636、W02013/125654、W02013/125640、W02013/147169、W02013/147176和W02015/020212中记载的抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼的联用中,也观察到与对上述的人癌细胞的抗CAPRIN-1人源化抗体#1与索拉非尼的联用同样的癌细胞吞噬活性的增强。

[0216] (实施例2B) 抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼联用的体外抗肿瘤效果2

[0217] 在体外评价了抗CAPRIN-1抗体与作为PDGFR抑制剂的索拉非尼的联用的抗肿瘤效果。索拉非尼使用从Chemscene社购买的索拉非尼甲苯磺酸盐(Cat.No.:CS-0164)。

[0218] 具体地,在PDGFR抑制剂联用试验区,将事先使各联用药剂作用后的人癌细胞,在抗CAPRIN-1抗体的存在下与人单核细胞(THP-1)共培养,评价了由THP-1产生的经由抗体的癌细胞的吞噬活性。作为对照抗体使用了人IgG抗体(シグマ社Cat.No.:4506)。

[0219] 作为人来源的癌细胞,使用了作为大肠癌细胞株的HCT116。在6-孔板上,在索拉非尼联用试验区将人来源的癌细胞在索拉非尼($10\mu\text{M}$)存在下培养2天。另外,作为对照设置仅添加了抗CAPRIN-1抗体的联用药剂非添加试验区,事先在不添加各联用药剂的状态下将癌细胞培养了2天。

[0220] 将所述培养后的癌细胞株用“TrypLE Express”(Thermo)剥离,通过加入终浓度 $0.04\mu\text{g}/\text{mL}$ 的Calcein-AM在 37°C 孵育10分钟,从而将癌细胞染色。接着将细胞以每1孔 5×10^3 个癌细胞的方式分注到96-孔板中,添加终浓度 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抗CAPRIN-1抗体(或者相同浓度的对照IgG抗体)和 1.25×10^5 个THP-1,在 37°C 、5% CO_2 的条件下培养1小时。然后,用含有1%FBS(胎牛血清)的PBS(磷酸缓冲液)洗涤细胞,使终浓度 $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ 的APC(别藻蓝蛋白,Allophycocyanin)标记抗人CD45抗体反应而将人单核细胞染色。进一步用终浓度 $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 的碘化丙啶(PI)将死细胞染色后,通过流式细胞计量术测定各细胞的荧光。分析时将PI阳性的死细胞除外。作为人单核细胞的THP-1识别结合于癌细胞上的抗体而吞噬癌细胞。此时,如果癌细胞被Calcein-AM染色了,则通过吞噬而摄入了它的单核细胞也变成Calcein-AM阳性。因此,本评价系统中的吞噬活性通过全部Calcein-AM阳性集团中的APC阳性/Calcein-AM阳性的比例(%)计算出。

[0221] 作为抗CAPRIN-1抗体使用实施例1中制作的抗CAPRIN-1抗体(抗CAPRIN-1人源化

抗体#1) 进行评价的结果是, 联用药剂非添加试验区的HCT116观察到39%以下的癌细胞吞噬活性, 与此相对, 在索拉非尼联用试验区观察到90%以上的癌细胞吞噬活性。进行了Dunnett's检验的结果是, 索拉非尼联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高($p < 0.001$; 显著性水平5%) (图2)。因此, 抗CAPRIN-1抗体对上述的人癌细胞的抗肿瘤效果通过与索拉非尼的联用有意义地增强了约2.3倍。

[0222] (实施例3) 抗体单独、或者抗体与索拉非尼联用的体外抗肿瘤效果

[0223] 在体外评价了抗CAPRIN-1抗体、抗CD20抗体和抗HER-2抗体单独、或者这些抗体与索拉非尼联用的抗肿瘤效果。索拉非尼使用从Chemscene社购买的索拉非尼甲苯磺酸盐(Cat.No.:CS-0164)。抗CD20抗体(“利妥昔单抗”)和抗HER-2抗体(“赫赛汀”)使用中外制药株式会社购买的。

[0224] 具体地, 索拉非尼联用试验区, 将事先使索拉非尼作用后的人癌细胞在 $1\mu\text{M}$ 的抗CAPRIN-1抗体、抗CD20抗体、或者抗HER-2抗体的存在下与人单核细胞(THP-1)共培养, 评价了由THP-1产生的经由抗体的癌细胞的吞噬活性。

[0225] 作为人来源的癌细胞, 使用了作为大肠癌细胞株的HCT116。在6-孔板上, 在索拉非尼联用试验区将人来源的癌细胞在索拉非尼的存在下培养2天。具体地, 在HCT116中以索拉非尼($10\mu\text{M}$)的浓度添加。另外, 作为对照设置仅添加了抗CAPRIN-1抗体、抗CD20抗体、或者抗HER-2抗体的联用药剂非添加试验区, 事先在不添加索拉非尼的状态下将癌细胞培养2天。

[0226] 将所述培养后的癌细胞株用“TrypLE Express”(Thermo)剥离, 通过加入终浓度 $0.04\mu\text{g/mL}$ 的Calcein-AM在 37°C 孵育10分钟, 从而将癌细胞染色。接着将细胞以每1孔 1×10^4 个癌细胞的方式分注到96-孔板中, 添加终浓度 $1\mu\text{g/mL}$ 的抗CAPRIN-1抗体、抗CD20抗体、或者抗HER-2抗体和 1×10^5 个THP-1, 在 37°C 、5% CO_2 的条件下培养1小时。然后, 用含有1% FBS(胎牛血清)的PBS(磷酸缓冲液)洗涤细胞, 使终浓度 $0.25\mu\text{g/mL}$ 的APC(别藻蓝蛋白, Allophycocyanin)标记抗人CD45抗体反应而将人单核细胞染色。进一步用终浓度 $0.1\mu\text{g/mL}$ 的碘化丙啶(PI)将死细胞染色后, 通过流式细胞计量术测定各细胞的荧光。分析时将PI阳性的死细胞除外。作为人单核细胞的THP-1识别结合于癌细胞上的抗体而吞噬癌细胞。此时, 如果癌细胞被Calcein-AM染色了, 则通过吞噬而摄入了它的单核细胞也变成Calcein-AM阳性。因此, 本评价系统中的吞噬活性通过全部Calcein-AM阳性集团中的APC阳性/Calcein-AM阳性的比例(%)计算出。

[0227] 作为抗CAPRIN-1抗体使用实施例1中制作的抗CAPRIN-1抗体(抗CAPRIN-1人源化抗体#1)进行评价的结果是, 联用药剂非添加试验区的HCT116观察到21%以下的癌细胞吞噬活性, 与此相对, 在索拉非尼联用试验区观察到64%以上的癌细胞吞噬活性。进行了Dunnett's检验的结果是, 索拉非尼联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高($p < 0.001$; 显著性水平5%) (图2)。

[0228] 另一方面, 使用抗CD20抗体、或者抗HER-2抗体进行评价的结果是, 对于抗CD20抗体, 在联用药剂非添加试验区的HCT116观察到7%以下的癌细胞吞噬活性, 与此相对, 在索拉非尼联用试验区显示8%以下的癌细胞吞噬活性, 没有有意义地观察到由联用产生的药效的增强。对于抗HER-2抗体, 在联用药剂非添加试验区的HCT116观察到10%以下的癌细胞吞噬活性, 与此相对, 在索拉非尼联用试验区显示9%以下的癌细胞吞噬活性, 没有有意义

地观察到由联用产生的药效的增强(图3)。

[0229] 由以上提示,与索拉非尼联用产生的抗肿瘤效果的增强是抗CAPRIN-1抗体特异性的效果。

[0230] 另外,在W02010/016526、W02011/096517、W02011/096528、W02011/096519、W02011/096533、W02011/096534、W02011/096535、W02013/018886、W02013/018894、W02013/018892、W02013/018891、W02013/018889、W02013/018883、W02013/125636、W02013/125654、W02013/125640、W02013/147169、W02013/147176和W02015/020212中记载的抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼的联用中,也观察到与对上述的人癌细胞的抗CAPRIN-1人源化抗体#1与索拉非尼的联用同样的吞噬活性的增强。

[0231] (实施例4) 抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼或顺铂的联用的体外抗肿瘤效果

[0232] 在体外评价了抗CAPRIN-1抗体与索拉非尼或顺铂的联用的抗肿瘤效果。索拉非尼使用从Chemscene社购买的索拉非尼甲苯磺酸盐(Cat.No.:CS-0164)。顺铂使用从ファイザー购买的。

[0233] 具体地,在各抑制剂联用试验区中,将事先使各联用药剂作用后的人癌细胞,在抗CAPRIN-1抗体的存在下与人单核细胞(THP-1)共培养,评价了由THP-1产生的经由抗体的癌细胞的吞噬活性。

[0234] 作为人来源的癌细胞,使用了作为大肠癌细胞株的HCT116。在6-孔板上,在各种药剂联用试验区将人来源的癌细胞在各个联用药剂的存在下培养了2天。具体地,在HCT116中以10 μ M的浓度添加索拉非尼、以1 μ M的浓度添加顺铂。另外,作为对照设置仅添加了抗CAPRIN-1抗体的联用药剂非添加试验区,事先在不添加各联用药剂的状态下将癌细胞培养了2天。

[0235] 将所述培养后的癌细胞株用“TrypLE Express”(Thermo)剥离,通过加入终浓度0.04 μ g/mL的Calcein-AM在37 $^{\circ}$ C孵育10分钟,从而将癌细胞染色。接着将细胞以每1孔1 \times 10⁴个癌细胞的方式分注到96-孔板中,添加终浓度1 μ g/mL的抗CAPRIN-1抗体和1 \times 10⁵个THP-1,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的条件下培养1小时。然后,用含有1%FBS(胎牛血清)的PBS(磷酸缓冲液)洗涤细胞,使终浓度0.25 μ g/mL的APC(别藻蓝蛋白,Allophycocyanin)标记抗人CD45抗体反应而将人单核细胞染色。进一步用终浓度0.1 μ g/mL的碘化丙啶(PI)将死细胞染色后,通过流式细胞计量术测定各细胞的荧光。分析时将PI阳性的死细胞除外。作为人单核细胞的THP-1识别结合于癌细胞上的抗体而吞噬癌细胞。此时,如果癌细胞被Calcein-AM染色了,则通过吞噬而摄入了它的单核细胞也变成Calcein-AM阳性。因此,本评价系统中的吞噬活性通过全部Calcein-AM阳性集团中的APC阳性/Calcein-AM阳性的比例(%)计算出。

[0236] 作为抗CAPRIN-1抗体使用实施例1中制作的抗CAPRIN-1抗体(抗CAPRIN-1人源化抗体#1)进行评价的结果是,联用药剂非添加试验区的HCT116观察到21%以下的癌细胞吞噬活性,与此相对,在索拉非尼联用试验区观察到64%以上的癌细胞吞噬活性。另一方面,在顺铂联用试验区观察到23%以下癌细胞吞噬活性。进行了Dunnett's检验的结果是,索拉非尼联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比有意义地高(p<0.001;显著性水平5%),另一方面顺铂联用试验区的吞噬活性与联用药剂非添加试验区相比未发现有意义的变化(图4)。

[0237] 由以上提示,由药剂联用产生的抗肿瘤效果的增强是PDGFR抑制剂特异性的效果。

[0238] 另外,在W02010/016526、W02011/096517、W02011/096528、W02011/096519、W02011/096533、W02011/096534、W02011/096535、W02013/018886、W02013/018894、W02013/018892、W02013/018891、W02013/018889、W02013/018883、W02013/125636、W02013/125654、W02013/125640、W02013/147169、W02013/147176和W02015/020212中记载的抗CAPRIN-1抗体在与各种药剂的联用中,也观察到与对上述的人癌细胞的抗CAPRIN-1人源化抗体#1与各种药剂的联用同样的吞噬活性的变化。

[0239] 本说明书中引用的全部期刊、专利和专利申请均直接通过引用而纳入本说明书中。

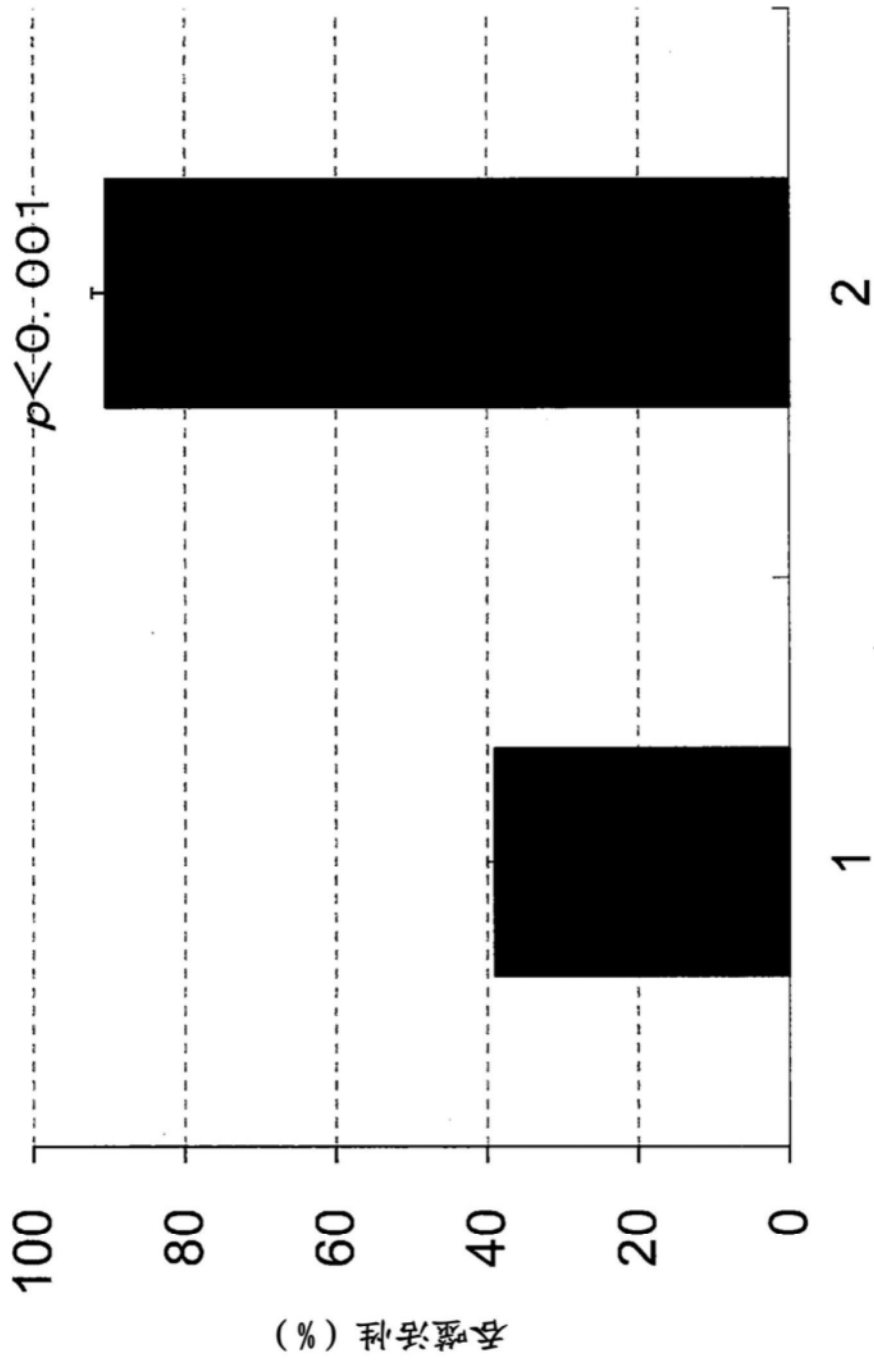


图1

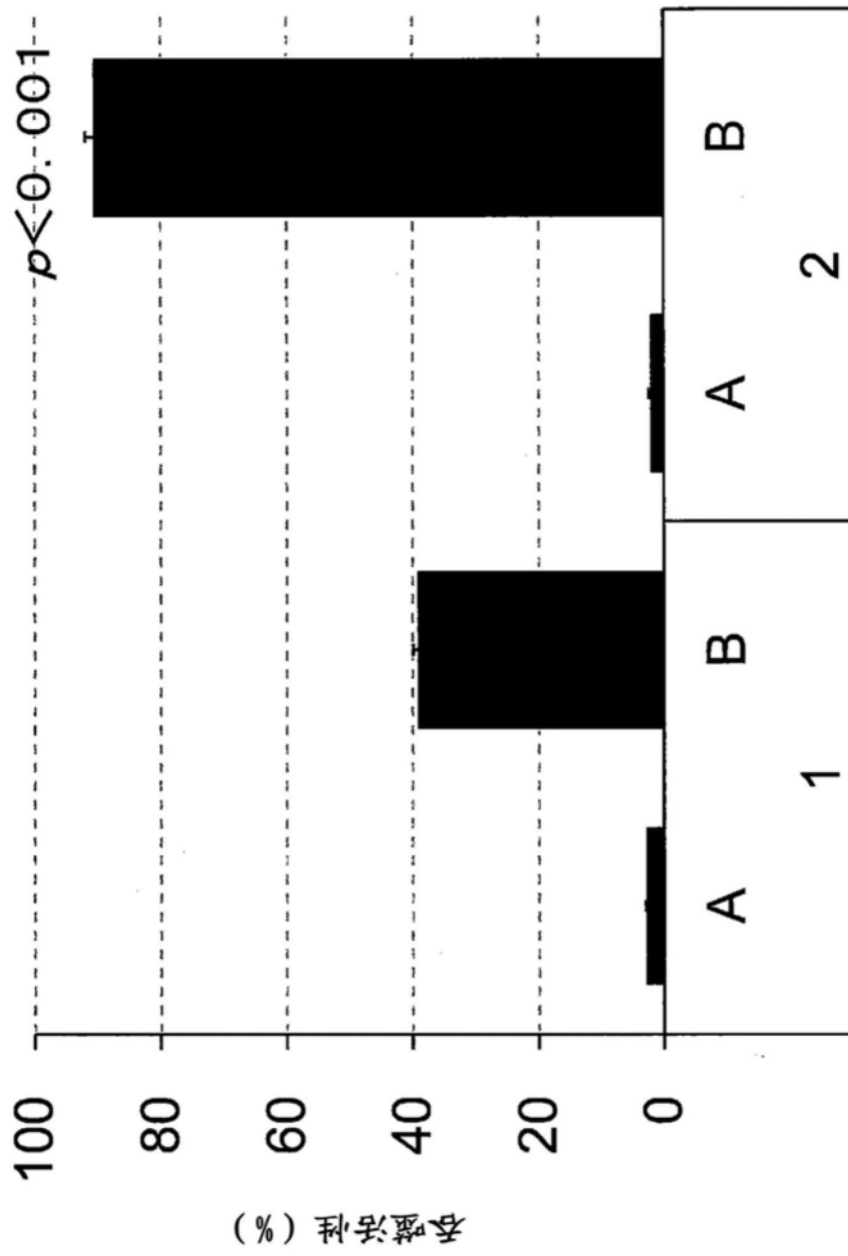


图2

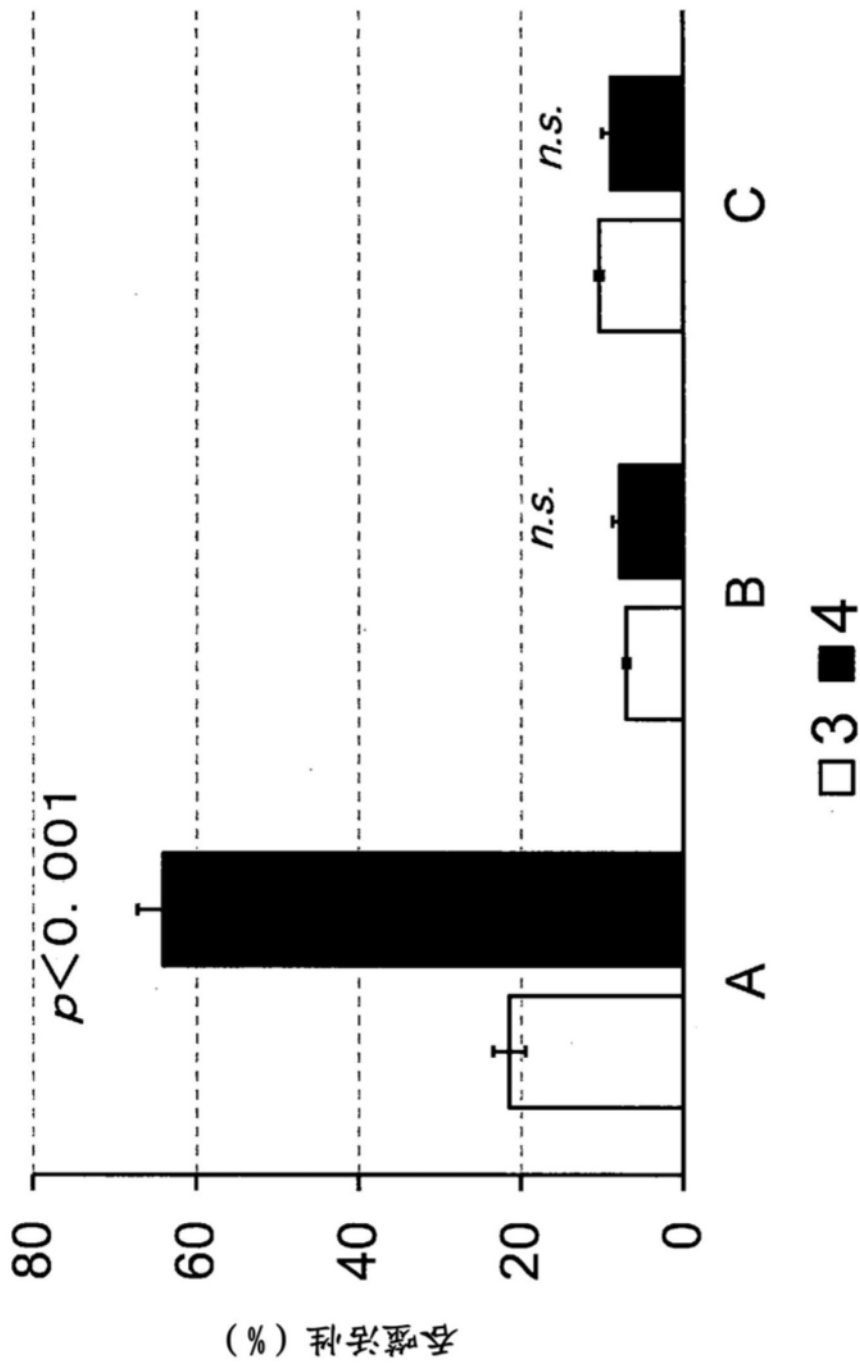


图3

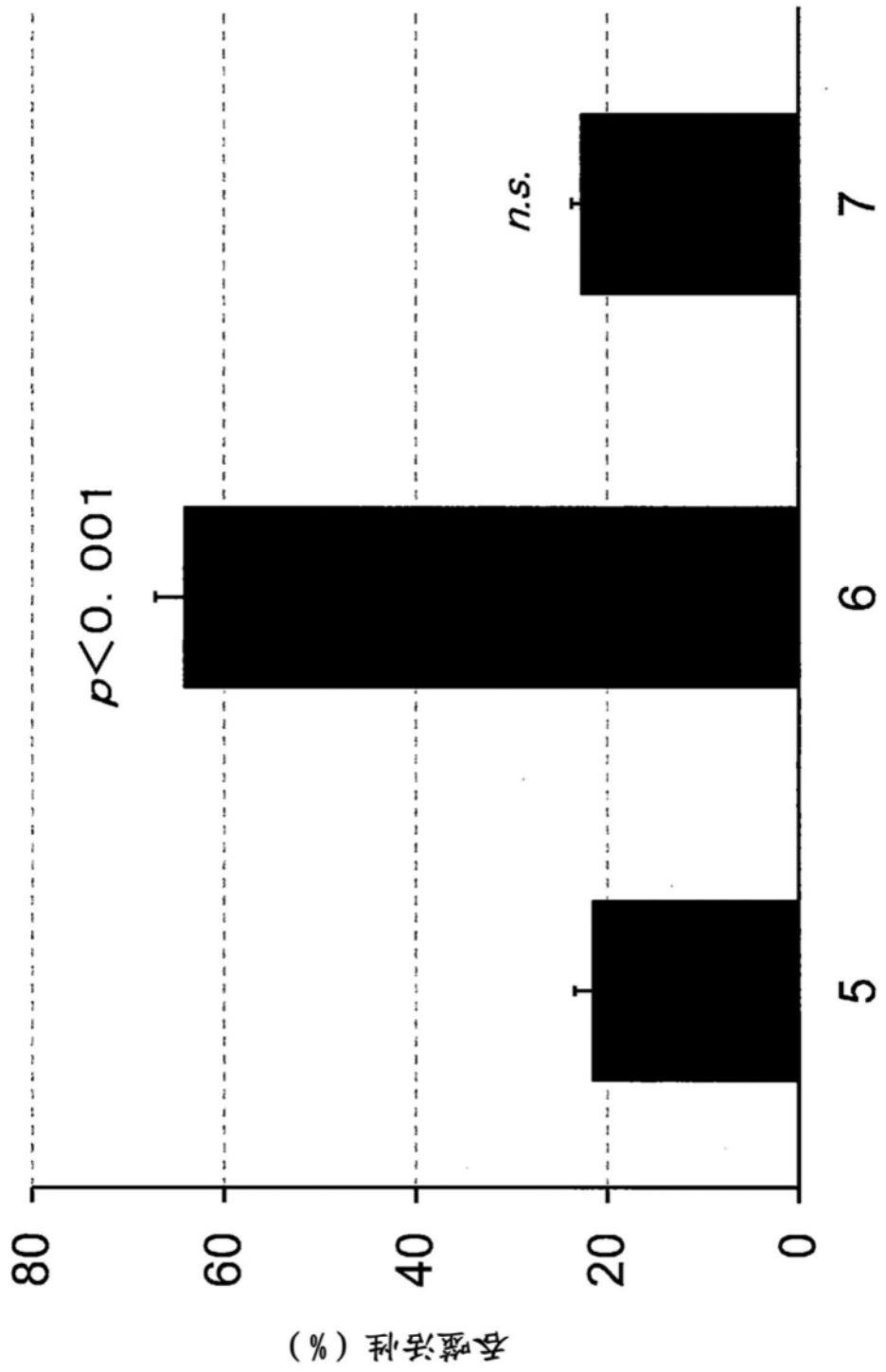


图4