

(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2008-504214

(P2008-504214A)

(43) 公表日 平成20年2月14日(2008.2.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 5/10 (2006.01)</b>	C O 7 K 5/10 Z N A	2 G 0 8 8
<b>A61K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 4
<b>A61P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
<b>A61K 49/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 49/00 C	4 C 0 9 3
<b>A61K 49/04 (2006.01)</b>	A 6 1 K 49/04 A	4 C 0 9 6
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 93 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2006-533737 (P2006-533737)  
 (86) (22) 出願日 平成16年6月14日 (2004.6.14)  
 (85) 翻訳文提出日 平成18年2月13日 (2006.2.13)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2004/018646  
 (87) 国際公開番号 W02005/021494  
 (87) 国際公開日 平成17年3月10日 (2005.3.10)  
 (31) 優先権主張番号 60/478,403  
 (32) 優先日 平成15年6月13日 (2003.6.13)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

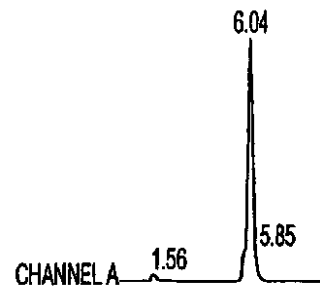
(71) 出願人 504149971  
 イミューノメディクス、インコーポレイテッド  
 IMMUNOMEDICS, INC.  
 アメリカ合衆国ニュージャージー州、モリス、ブレインズ、アメリカン、ロード、300  
 (74) 代理人 100075812  
 弁理士 吉武 賢次  
 (74) 代理人 100091487  
 弁理士 中村 行孝  
 (74) 代理人 100094640  
 弁理士 紺野 昭男  
 (74) 代理人 100107342  
 弁理士 横田 修孝

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 D-アミノ酸ペプチド

## (57) 【要約】

本発明は、式： $X - R^1 - D - [Dpr, Orn または Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn または Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$ ；または  $R^1 (X) - D - [Dpr, Orn または Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn または Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  [式中、Xは硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、またはAc-であり； $R^1$ 、 $R^2$ および $R^3$ は共有結合、または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸から独立に選択され；Yは硬酸陽イオンキレート剤もしくは軟酸陽イオンキレート剤であるか、または存在せず；Zは硬酸陽イオンキレート剤もしくは軟酸陽イオンキレート剤であるか、または存在せず；AおよびBは独立にハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく；かつ、 $R^4$ および $R^5$ は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬およびHからなる群から独立に選択される]の化合物を提供する。本発明はまた、これらの化合物を用いる方法およびこれらの化合物



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下記の式で表される化合物：

$X - R^1 - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  ; または

$R^1 (X) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$

[式中、

X は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、または Ac - であり、

R<sup>1</sup> は共有結合または同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり

、  
R<sup>2</sup> は共有結合または同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり

、  
R<sup>3</sup> は共有結合または同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり

、  
Y は硬酸陽イオンキレート剤もしくは軟酸陽イオンキレート剤であるか、または存在せず、

Z は硬酸陽イオンキレート剤もしくは軟酸陽イオンキレート剤であるか、または存在せず、

A および B は独立にハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく、かつ、

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬および H からなる群から独立に選択される]。

## 【請求項 2】

式： $X - R^1 - D - Lys (A) - R^2 - D - Lys (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  で表される、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 3】

R<sup>2</sup> が単一の D - アミノ酸である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 4】

R<sup>2</sup> が、同じであっても異なってもよい 2 つの D - アミノ酸である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 5】

R<sup>3</sup> が D - Lys であり、Y が硬酸陽イオンキレート剤または軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 6】

R<sup>2</sup> が D - Lys ではない、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 7】

A および B がヒスタミン - スクシニル - グリシン (HSG)、DTPA、および検出可能な標識からなる群から独立に選択される、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 8】

R<sup>1</sup> が、同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり、

R<sup>2</sup> が、同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり、

R<sup>3</sup> が共有結合であり、

Y が存在せず、かつ、

A および B がハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらが同じであっても異なってもよい、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 9】

A および B がハブテンであり、これらが同じであっても異なってもよい、請求項 8 に記載の化合物。

## 【請求項 10】

10

20

30

40

50

R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> が単一の D - アミノ酸であり、これらが同じであっても異なってもよい、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 11】

R<sup>1</sup> が D - T y r、D - A l a、D - S e r、D - T h r、D - C y s、D - L e u、D - I l e、D - M e t、D - G l n、D - A s n、D - V a l、および D - P h e からなる群から選択される、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 12】

R<sup>2</sup> が D - A s p、D - G l u および D - T y r からなる群から選択される、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 13】

10

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> がともに H である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 14】

X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つが硬酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 15】

残された X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つが軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 16】

X が硬酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 17】

20

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> の一方が硬酸陽イオンキレート剤である、請求項 16 に記載の化合物。

【請求項 18】

硬酸陽イオンキレート剤がカルボン酸基またはアミン基を含んでなる、請求項 14 に記載の化合物。

【請求項 19】

硬酸陽イオンキレート剤が N O T A、D O T A、D T P A、および T E T A からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 20】

X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つが軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

30

【請求項 21】

軟酸陽イオンキレート剤がチオール基を含んでなる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 22】

軟酸陽イオンキレート剤が T s c g - C y s および T s c a - C y s からなる群から選択される、請求項 21 に記載の化合物。

【請求項 23】

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> の一方が軟酸陽イオンキレート剤であり、残りの R<sup>4</sup> または R<sup>5</sup> が H である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 24】

40

X が A c - であり、

A および B が硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく、

R<sup>3</sup> が共有結合であり、かつ、

Y が存在しない、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 25】

X が A c - であり、

A および B がハプテンであり、これらは同じであっても異なってもよく、

R<sup>1</sup> が共有結合であり、かつ、

Y が軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 1 に記載の化合物。

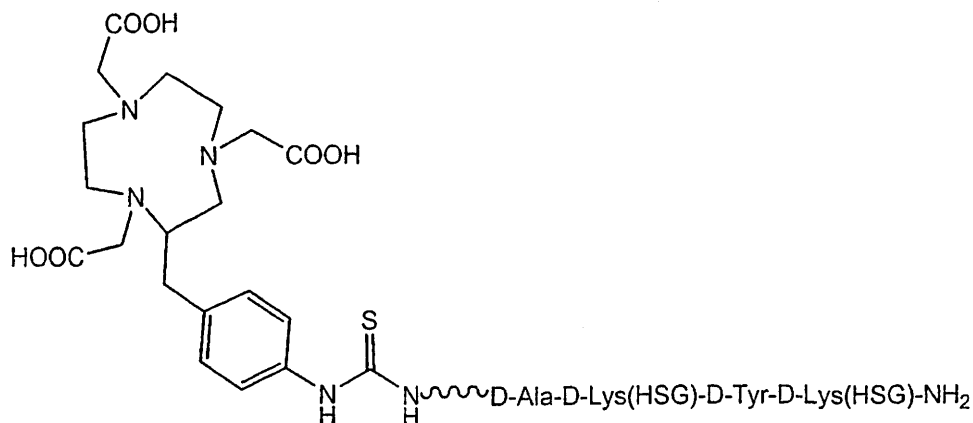
【請求項 26】

50

## 【化 1】

DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 271);  
 DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 277);  
 DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 288);  
 DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 281);  
 DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 284);  
 DOTA-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 301)  
 DOTA-D-Lys(HSG)-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-  
 Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 302)  
 DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Cys-NH<sub>2</sub> (IMP 305)  
 Ac-D-Lys(In-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(In-DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub> MH+  
 1813 (IMP 297)  
 HCO-CO-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 289); および

10



20

30

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 27】

(i) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの多くとも 1 つが硬酸陽イオンキレート剤であり、かつ

(ii) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの多くとも 1 つが軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 28】

## 【化 2】

Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;  
 DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;  
 Tscg-Cys-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;  
 Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>; および  
 Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-D-Cys-NH<sub>2</sub>.

40

50

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 29】

少なくとも 1 つの放射性核種をさらに含んでなる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 30】

放射性核種が  $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{75}\text{Br}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{154}\text{Gd}$ 、 $^{155}\text{Gd}$ 、 $^{156}\text{Gd}$ 、 $^{157}\text{Gd}$ 、 $^{158}\text{Gd}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{120}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{110}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{194}\text{Ir}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{51}\text{Mn}$ 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{211}\text{Pb}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{82\text{m}}\text{Rb}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{189}\text{Re}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{83}\text{Sr}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、および  $^{89}\text{Zr}$  からなる群から選択される、請求項 29 に記載の化合物。

10

【請求項 31】

硬酸陽イオンキレート剤が、IIa 族および IIIa 族の金属陽イオンからなる群から選択される陽イオンとキレート化されている、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 32】

軟酸陽イオンキレート剤が、遷移金属、Bi、ランタニド類およびアクチニド類からなる群から選択される陽イオンとキレート化されている、請求項 1 に記載の化合物。

20

【請求項 33】

陽イオンが Tc、Re、および Bi からなる群から選択される、請求項 32 に記載の化合物。

【請求項 34】

$\text{R}^4$  または  $\text{R}^5$  が治療薬、診断薬または酵素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 35】

治療薬、診断薬または酵素がリンカー部分により共有結合されている、請求項 34 に記載の化合物。

【請求項 36】

リンカー部分が少なくとも 1 つのアミノ酸を含んでなる、請求項 35 に記載の化合物。

30

【請求項 37】

治療薬が薬物、プロドラッグまたは毒素を含んでなる、請求項 34 に記載の化合物。

【請求項 38】

プロドラッグがエピルビシingleクロニド、CPT-11、エトポシドingleクロニド、ダウノマイシingleクロニドおよびドキソルビシingleクロニドからなる群から選択される、請求項 37 に記載の化合物。

【請求項 39】

毒素がリシン、アブリン、リボヌクレアーゼ (RNアーゼ)、DNアーゼ I、ブドウ球菌エンテロトキシン-A、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒、シュードモナス外毒素、およびシュードモナス内毒素からなる群から選択される、請求項 37 に記載の化合物。

40

【請求項 40】

治療薬がドキソルビシン、SN-38、カンプトテシン、エトポシド、メトトレキサート、6-メルカプトプリンまたはリン酸エトポシドを含んでなる、請求項 34 に記載の化合物。

【請求項 41】

診断薬が光線力学療法用の 1 以上の薬剤を含んでなる、請求項 34 に記載の化合物。

【請求項 42】

光線力学療法用の薬剤が光増感剤である、請求項 41 に記載の化合物。

50

## 【請求項 4 3】

光増感剤がベンゾポルフィリン酸環 A ( B P D - M A )、錫エチオブルプリン ( S n E T 2 )、スルホン化アルミニウムフタロシアニン ( A l S P c ) およびルテチウムテキサフィリン ( L u t e x ) からなる群から選択される、請求項 4 2 に記載の化合物。

## 【請求項 4 4】

診断薬が磁気共鳴映像法 ( M R I ) で用いるための 1 以上の画像増強剤を含んでなる、請求項 3 4 に記載の化合物。

## 【請求項 4 5】

画像増強剤が M n、F e、L a または G d を含んでなる、請求項 4 4 に記載の化合物。

## 【請求項 4 6】

診断薬が X 線またはコンピューター断層撮影法用の 1 以上の放射線不透過剤または造影剤を含んでなる、請求項 3 4 に記載の化合物。

## 【請求項 4 7】

放射線不透過剤または造影剤がバリウム、ジアトリゾエート、エチオド化オイル、クエン酸ガリウム、イオカルム酸、イオセタム酸、ヨードミド、ヨージバミド、ヨードキサム酸、イオグラミド、イオヘキソール、イオパミドール、イオパン酸、イオプロセム酸、イオセファム酸、イオセル酸、イオスラミドメグルミン、イオセメ酸、イオタスル、イオテトル酸、イオサラム酸、イオトロキシ酸、イオキサグル酸、イオキソトリゾ酸、イボデート、メグルミン、メトリザミド、メトリゾエート、プロピリオドンまたは塩化タリウムを含んでなる、請求項 4 6 に記載の化合物。

## 【請求項 4 8】

診断薬が 1 以上の超音波造影剤を含んでなる、請求項 3 4 に記載の化合物。

## 【請求項 4 9】

超音波造影剤がリボソームまたはデキストランを含んでなる、請求項 3 8 に記載の化合物。

## 【請求項 5 0】

リボソームがガス充填されている、請求項 4 9 に記載の化合物。

## 【請求項 5 1】

酵素が、薬物の中間体を有毒型に変換することによって標的部位における前記薬物の毒性を高めることができるものである、請求項 3 4 に記載の化合物。

## 【請求項 5 2】

疾病または疾病に至る可能性のある症状を診断、治療、または診断および治療する方法であって、

( A ) 疾病または症状を有する、または有する疑いのある被験体に、請求項 1 に記載の化合物を含んでなるターゲッティング可能な構築物であって、少なくとも 1 つの診断用もしくは治療用陽イオン、および / またはキレート化されている、もしくは化学的に結合されている 1 以上の治療薬、診断薬、もしくは酵素を含んでなるターゲッティング可能な構築物を投与する工程、および

( B ) その被験体に、標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、前記ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する多重特異性抗体または抗体フラグメントを投与する工程を含んでなる、方法。

## 【請求項 5 3】

( C ) 被験体に、非局在抗体または抗体フラグメントの被験体からのクリアランスを促進するクリアリング組成物を投与する工程をさらに含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 5 4】

ターゲッティング可能な構築物と多重特異性抗体または抗体フラグメントが実質的に同時に投与される、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 5 5】

10

20

30

40

50

治療用陽イオンが $20 \sim 10,000 \text{ keV}$ の粒子および/または陽電子を放射する、請求項52に記載の方法。

【請求項56】

治療用陽イオンが $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^6\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{189}\text{Re}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{194}\text{Ir}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$ および $^{211}\text{Pb}$ からなる群から選択される、請求項55に記載の方法

10

【請求項57】

診断用陽イオンが $25 \sim 10,000 \text{ keV}$ の粒子および/または陽電子を放射する、請求項56に記載の方法。

【請求項58】

診断用陽イオンが $^{110}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{120}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{154}\text{-}$  $^{158}\text{Gd}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{51}\text{Mn}$ 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{75}\text{Br}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{82\text{m}}\text{Rb}$ および $^{83}\text{Sr}$ からなる群から選択される、請求項52に記載の方法。

20

【請求項59】

診断薬がポジトロン放射断層撮影法(PET)に用いられる診断薬である、請求項52に記載の方法。

【請求項60】

診断薬がSPECT映像法に用いられる診断薬である、請求項52に記載の方法。

【請求項61】

診断用陽イオンまたは診断薬が磁気共鳴映像法(MRI)に用いられる1以上の画像増強剤を含んでなる、請求項52に記載の方法。

【請求項62】

画像増強剤がMn、Fe、LaおよびGdからなる群から選択される、請求項61に記載の方法。

30

【請求項63】

診断薬がX線またはコンピューター断層撮影法用の1以上の放射線不透過剤または造影剤を含んでなる、請求項52に記載の方法。

【請求項64】

放射線不透過剤または造影剤がバリウム、ジアトリゾエート、エチオド化オイル、クエン酸ガリウム、イオカルム酸、イオセタム酸、ヨーダミド、ヨージパミド、ヨードキサム酸、イオグラミド、イオヘキソール、イオパミドール、イオパン酸、イオプロセム酸、イオセファム酸、イオセル酸、イオスラミドメグルミン、イオセメ酸、イオタスル、イオテトル酸、イオサラム酸、イオトロキシ酸、イオキサグル酸、イオキシトリゾ酸、イボデート、メグルミン、メトリザミド、メトリゾエート、プロピリオドンおよび塩化タリウムからなる群から選択される、請求項63に記載の方法。

40

【請求項65】

診断薬が1以上の超音波造影剤を含んでなる、請求項52に記載の方法。

【請求項66】

超音波造影剤がリボソームまたはデキストランを含んでなる、請求項65に記載の方法。

【請求項67】

リボソームがガス充填されている、請求項66に記載の方法。

【請求項68】

50

1以上の診断薬が蛍光化合物、化学発光化合物、および生物発光化合物からなる群から選択される、請求項52に記載の方法。

【請求項69】

蛍光化合物がフルオレセイン、ローダミン、フィコエリセリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒドおよびフルオレサミンからなる群から選択される、請求項68に記載の方法。

【請求項70】

化学発光化合物がルミノール、イソルミノール、芳香族アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルからなる群から選択される、請求項68に記載の方法。

10

【請求項71】

生物発光化合物がルシフェリン、ルシフェラーゼおよびエクオリンからなる群から選択される、請求項68に記載の方法。

【請求項72】

標的組織が腫瘍である、請求項52に記載の方法。

【請求項73】

腫瘍が、結腸特異的抗原-p(CSAp)、癌胎児性抗原(CEA)、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD30、CD74、CD80、HLA-DR、Ia、MUC1、MUC2、MUC3、MUC4、EGFR、HER2/neu、PAM-4、TAG-72、EGP-1、EGP-2、A3、KS-1、Le(y)、S100、PSMA、PSA、テネイシン、葉酸受容体、VEGF、壊死抗原、IL-2、T101、MAGE、IL-6、インスリン様増殖因子受容体、炭酸脱水酵素IX、およびそれらの組合せからなる群から選択される抗原を産生する、または該抗原に関連するものである、請求項72に記載の方法。

20

【請求項74】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つの前記アームがモノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のフラグメントである、請求項52に記載の方法。

【請求項75】

ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの前記他のアームがモノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のフラグメントである、請求項52に記載の方法。

30

【請求項76】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つの前記アームがヒト、キメラもしくはヒト化抗体、またはヒト、キメラもしくはヒト化抗体のフラグメントである、請求項52に記載の方法。

【請求項77】

ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの前記他のアームがヒト、キメラもしくはヒト化抗体、またはヒト、キメラもしくはヒト化抗体のフラグメントである、請求項52に記載の方法。

【請求項78】

多重特異性抗体または抗体フラグメントが治療用核種をさらに含んでなる、請求項52に記載の方法。

40

【請求項79】

治療用核種が<sup>111</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>212</sup>Bi、<sup>213</sup>Bi、<sup>211</sup>At、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>90</sup>Y、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>47</sup>Sc、<sup>111</sup>Ag、<sup>67</sup>Ga、<sup>142</sup>Pr、<sup>153</sup>Sm、<sup>161</sup>Tb、<sup>166</sup>Dy、<sup>166</sup>Ho、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>189</sup>Re、<sup>212</sup>Pb、<sup>223</sup>Ra、<sup>225</sup>Ac、<sup>59</sup>Fe、<sup>75</sup>Se、<sup>77</sup>As、<sup>89</sup>Sr、<sup>99</sup>Mo、<sup>105</sup>Rh、<sup>109</sup>Pd、<sup>143</sup>Pr、<sup>149</sup>Pm、<sup>169</sup>Er、<sup>194</sup>Ir、<sup>198</sup>Au、<sup>199</sup>Auおよび<sup>211</sup>Pbからなる群から選択される、請求項78に記載の方法。

50



## 【請求項 8 0】

多重特異性抗体が M A b M u - 9 の F v および M A b 6 7 9 の F v を含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 8 1】

M u - 9 および / または 6 7 9 がキメラ化またはヒト化されている、請求項 8 0 に記載の方法。

## 【請求項 8 2】

M u - 9 および / または 6 7 9 がヒト M u - 9 およびヒト 6 7 9 である、請求項 8 0 に記載の方法。

## 【請求項 8 3】

多重特異性抗体が M u - 9 の 1 以上の C D R を含んでなる、請求項 8 0 に記載の方法。

## 【請求項 8 4】

多重特異性抗体が 6 7 9 の 1 以上の C D R を含んでなる、請求項 8 0 に記載の方法。

## 【請求項 8 5】

多重特異性抗体が融合タンパク質である、請求項 8 0 に記載の方法。

## 【請求項 8 6】

多重特異性抗体が M A b M N - 1 4 の F v および M A b 6 7 9 の F v を含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 8 7】

M N - 1 4 および / または 6 7 9 がキメラ化またはヒト化されている、請求項 8 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 8】

M N - 1 4 および / または 6 7 9 がヒト M N - 1 4 およびヒト 6 7 9 である、請求項 8 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 9】

多重特異性抗体が M N - 1 4 の 1 以上の C D R を含んでなる、請求項 8 6 に記載の方法。

## 【請求項 9 0】

多重特異性抗体が 6 7 9 の 1 以上の C D R を含んでなる、請求項 8 6 に記載の方法。

## 【請求項 9 1】

多重特異性抗体が融合タンパク質である、請求項 8 6 に記載の方法。

## 【請求項 9 2】

融合タンパク質が三価であり、C S A p と反応性のある抗体の F v が組み込まれている、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 3】

多重特異性抗体にクラス I I I 抗 C E A 抗体および 6 7 9 の F v が組み込まれている、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 4】

ターゲッティング可能な構築物が、罹患組織を死滅させ得る 1 以上の放射性同位元素を含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 5】

ターゲッティング可能な構築物が  $^{10}\text{B}$  原子を含んでなるものであり、  
( C ) 標的組織に局在した  $^{10}\text{B}$  原子を照射し、それにより、標的組織のホウ素中性子捕捉療法を行う工程  
をさらに含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 6】

ターゲッティング可能な構築物が酵素を含んでなるものであり、  
( C ) 該酵素によって有毒型に変換され、これにより標的組織での毒性を高め得る薬物を被験体に投与する工程  
をさらに含んでなる、請求項 5 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 97】**

被験体において標的細胞、組織または病原体を検出、同定または処置するための方法であって、

(a) 被験体に請求項 1 に記載の化合物を含んでなるターゲッティング可能な構築物を投与する工程、および

(b) その被験体に、標的細胞、組織または病原体に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを含んでなる多重特異性抗体または抗体フラグメントを投与する工程を含んでなる、方法。

**【請求項 98】**

標的が標的細胞、組織または病原体により産生される、または標的細胞、組織または病原体に関連する分子を含んでなる、請求項 97 に記載の方法。

**【請求項 99】**

標的組織が罹患組織である、請求項 98 に記載の方法。

**【請求項 100】**

罹患組織が術中同定、内視鏡同定、または血管内同定される、請求項 99 に記載の方法。

**【請求項 101】**

標的組織が正常組織である、請求項 98 に記載の方法。

**【請求項 102】**

標的組織が卵巣、胸腺、副甲状腺、子宮内膜、骨髓、または脾臓である、請求項 101 に記載の方法。

**【請求項 103】**

病原体が真菌、ウイルス、寄生虫、細菌、原生動物、またはマイコプラズマである、請求項 98 に記載の方法。

**【請求項 104】**

真菌が小孢子菌、白癬菌、表皮菌、スポロトリクス・シェンキー、シルプトコッカス・ネオフォルマンズ、コクシジオイデス・イミチス、ヒストプラズム・カプスラツム、プラストミセス・デルマティティディス、およびカンジダ・アルビカンスからなる群から選択される、請求項 103 に記載の方法。

**【請求項 105】**

ウイルスがヒト免疫不全ウイルス (HIV)、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、B 型肝炎ウイルス、センダイウイルス、ネコ白血病ウイルス、レオウイルス、ポリオウイルス、ヒト血清バルボ様ウイルス、シミアンウイルス 40、呼吸器多核体 (RS) ウイルス、マウス乳癌ウイルス、水疱 - 帯状疱疹ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルス、ヒト T 細胞白血病ウイルス、エプスタイン - バーウイルス、マウス白血病ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、シンドビスウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、疣贅ウイルスおよびブルータングウイルスからなる群から選択される、請求項 103 に記載の方法。

**【請求項 106】**

細菌が炭疽菌、ストレプトコッカス・アガラクチエ、レジュネラ・ニューモフィラ、化膿連鎖球菌、大腸菌、淋菌、髄膜炎菌、肺炎双球菌、B 型インフルエンザ菌、梅毒トレポネーマ、ライム病スピロヘータ、緑膿菌、らい菌、ウシ流産菌、結核菌および破傷風毒素からなる群から選択される、請求項 103 に記載の方法。

**【請求項 107】**

寄生虫が蠕虫またはマラリア原虫である、請求項 103 に記載の方法。

**【請求項 108】**

原生動物が熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、トキソプラズマ、ランゲリ・トリパノソーマ、クルーズ・トリパノソーマ、ローデシア・トリパノソーマ、ブルセイ・ト

10

20

30

40

50

リパノソーマ、マンソン住血吸虫、日本住血吸虫、ウシバベシア、エルメリア・テネラ、回旋糸状虫、熱帯リーシュマニア、旋毛虫、タイレリア・バルバ、胞状条虫、テニア・オビス、カギナシサナダ、単胞条虫およびメソセストイデス・コルチからなる群から選択される、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 109】

マイコプラズマがマイコプラズマ・アルスリティディス、マイコプラズマ・ヒオリニス、マイコプラズマ・オーラル、マイコプラズマ・アルギニニ、アコレプラズマ・ライドラウィー、マイコプラズマ・サリバルム、および肺炎マイコプラズマからなる群から選択される、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 110】

ターゲッティング可能な構築物が、少なくとも 1 種の放射性核種、治療薬、診断薬または酵素をさらに含んでなる、請求項 98 に記載の方法。

【請求項 111】

放射性核種が  $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{75}\text{Br}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{154}\text{Gd}$ 、 $^{155}\text{Gd}$ 、 $^{156}\text{Gd}$ 、 $^{157}\text{Gd}$ 、 $^{158}\text{Gd}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{120}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{110}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{194}\text{Ir}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{51}\text{Mn}$ 、 $^{52}\text{Mn}$ 、 $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{211}\text{Pb}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{82}\text{Rb}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{189}\text{Re}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{83}\text{Sr}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、および  $^{89}\text{Zr}$  からなる群から選択される、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 112】

診断薬がイメージング剤を含む、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 113】

(c) 被験体に、非局在抗体または抗体フラグメントの被験体からのクリアランスを促進するクリアリング組成物を投与する工程をさらに含んでなる、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 114】

被験体が哺乳類である、請求項 98 に記載の方法。

【請求項 115】

哺乳類がヒト、霊長類、ウマ類、イヌ類およびネコ類からなる群から選択される、請求項 114 に記載の方法。

【請求項 116】

治療薬が 1 以上の薬物、毒素、サイトカイン、ホルモン、または増殖因子を含んでなる、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 117】

診断薬が造影剤を含んでなる、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 118】

イメージング剤が PET に用いられる薬剤である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 119】

イメージング剤が SPECT に用いられる薬剤である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 120】

被験体において罹患組織を処置または同定するためのキットであって、

(A) 請求項 1 に記載の化合物を含んでなるターゲッティング可能な構築物、および

(B) 標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する多重特異性抗体または抗体フラグメント

10

20

30

40

50

を含んでなる、キット。

【請求項 1 2 1】

(C) 非局在抗体および抗体フラグメントのクリアランスを促進するためのクリアリング組成物

をさらに含んでなる、請求項 1 2 0 に記載のキット。

【請求項 1 2 2】

診断薬が  $^{110}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{120}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{154}\text{-}^{158}\text{Gd}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{51}\text{Mn}$ 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{75}\text{Br}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{82\text{m}}\text{Rb}$  および  $^{83}\text{Sr}$  からなる群から選択される、請求項 1 2 0 に記載のキット。

10

【請求項 1 2 3】

治療薬が  $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{189}\text{Re}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{194}\text{Ir}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$  および  $^{211}\text{Pb}$  からなる群から選択される、請求項 1 2 0 に記載のキット。

20

【請求項 1 2 4】

ターゲッティング可能な構築物が酵素を含んでなるものであり、キットが、該酵素によって有毒型に変換され、それにより毒性を高め得る薬物をさらに含んでなる、請求項 1 2 0 に記載のキット。

【請求項 1 2 5】

請求項 1 に記載の化合物を含んでなる、ターゲッティング可能な構築物。

【請求項 1 2 6】

多重特異性抗体または抗体フラグメントが二重特異性である、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

多重特異性抗体または抗体フラグメントが二重特異性である、請求項 9 7 に記載の方法。

30

【請求項 1 2 8】

疾病または症状が癌、感染性疾患、炎症性疾患、自己免疫疾患、循環器病、代謝疾患、および神経疾患からなる群から選択される、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

疾病または症状が癌である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

癌が白血病、リンパ腫、肉腫、黒色腫、癌腫、神経膠腫、および皮膚癌からなる群から選択される、請求項 1 2 9 に記載の方法。

40

【請求項 1 3 1】

癌が B 細胞悪性腫瘍、B 細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、非ホジキンリンパ腫、急性リンパ性白血病、または多発性骨髄腫である、請求項 1 2 9 に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

癌が食道癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、膀胱癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、精巣癌、腎臓癌、副腎癌または肝臓癌である、請求項 1 2 9 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

疾病または症状が、病原体によって引き起こされる感染性疾患である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

50

## 【請求項 1 3 4】

病原体が真菌、ウイルス、寄生虫、細菌、原生動物、またはマイコプラズマである、請求項 1 3 3 に記載の方法。

## 【請求項 1 3 5】

病原体が、小孢子菌、白癬菌、表皮菌、スポロトリクス・シェンキー、シルプトコッカス・ネオフォルマンズ、コクシジオイデス・イミチス、ヒストプラズム・カプスラツム、ブラストミセス・デルマティティディス、およびカンジダ・アルビカンスからなる群から選択される真菌である、請求項 1 3 4 に記載の方法

## 【請求項 1 3 6】

病原体が、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、B 型肝炎ウイルス、センダイウイルス、ネコ白血病ウイルス、レオウイルス、ポリオウイルス、ヒト血清バルボ様ウイルス、シミアンウイルス 40、呼吸器多核体(RS)ウイルス、マウス乳癌ウイルス、水疱・带状疱疹ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルス、ヒト T 細胞白血病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、乳頭腫ウイルス、マウス白血病ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、シンドビスウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、疣贅ウイルスおよびブルータングウイルスからなる群から選択されるウイルスである、請求項 1 3 4 に記載の方法。

10

## 【請求項 1 3 7】

病原体が、炭疽菌、ストレプトコッカス・アガラクチエ、レジュネラ・ニューモフィラ、化膿連鎖球菌、ブドウ球菌、大腸菌、淋菌、髄膜炎菌、肺炎双球菌、B 型インフルエンザ菌、梅毒トレポネーマ、ライム病スピロヘータ、緑膿菌、らい菌、ウシ流産菌、結核菌および破傷風菌からなる群から選択される細菌である、請求項 1 3 4 に記載の方法。

20

## 【請求項 1 3 8】

病原体が、蠕虫およびマラリア原虫からなる群から選択される寄生虫である、請求項 1 3 4 に記載の方法。

## 【請求項 1 3 9】

病原体が、熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、トキソプラズマ、ランゲリ・トリパノソーマ、クルーズ・トリパノソーマ、ローデシア・トリパノソーマ、ブルセイ・トリパノソーマ、マンソン住血吸虫、日本住血吸虫、ウシバベシア、エルメリア・テネラ、回旋糸状虫、熱帯リーシュマニア、旋毛虫、タイレリア・バルバ、胞状条虫、テニア・オビス、カギナシサナダ、単胞条虫およびメソセストイデス・コルチからなる群から選択される原生動物である、請求項 1 3 4 に記載の方法。

30

## 【請求項 1 4 0】

病原体が、マイコプラズマ・アルスリティディス、マイコプラズマ・ヒオリニス、マイコプラズマ・オーラル、マイコプラズマ・アルギニニ、アコレプラズマ・ライドラウィー、マイコプラズマ・サリバルム、および肺炎マイコプラズマからなる群から選択されるマイコプラズマである、請求項 1 3 4 に記載の方法。

## 【請求項 1 4 1】

疾病または症状が炎症性疾患である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

40

## 【請求項 1 4 2】

炎症性疾患が自己免疫疾患である、請求項 1 4 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 4 3】

自己免疫疾患が急性特発性血小板減少性紫斑病、慢性特発性血小板減少性紫斑病、皮膚筋炎、シドナム舞踏病、重症筋無力症、全身性紅斑性狼瘡、狼瘡腎炎、リウマチ熱、多腺性症候群、水疱性類天疱瘡、糖尿病、ヘノッホ・シェンライン紫斑病、溶連菌感染後腎炎、結節性紅斑、高安動脈炎、アジソン病、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、サルコイドーシス、潰瘍性大腸炎、多形性紅斑、IgA 腎症、結節性多発性動脈炎、強直性脊椎炎、グッドパスチャー症候群、閉塞性血栓血管炎(thromboangitis obliterans)、シェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変、橋本甲状腺炎、甲状腺中毒症、硬皮症、慢性活動性肝炎、

50

多発性筋炎 / 皮膚筋炎、多発性軟骨炎、尋常性天疱瘡 (parnphigus vulgaris)、ウェゲナー肉芽腫、膜性腎症、筋萎縮性側索硬化症、脊髄ろう、巨細胞性動脈炎 / 多発性筋痛、悪性貧血、急速進行性糸球体腎炎、乾癬、および繊維性肺肺炎からなる群から選択される、請求項 1 4 2 に記載の方法。

【請求項 1 4 4】

疾病または症状が循環器病である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 4 5】

循環器病が心筋梗塞、虚血性心疾患、アテローム斑、血餅、および塞栓からなる群から選択される、請求項 1 4 4 に記載の方法。

【請求項 1 4 6】

疾病または症状が代謝疾患である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 4 7】

代謝疾患がアミロイド症である、請求項 1 4 6 に記載の方法。

【請求項 1 4 8】

疾病または症状が神経疾患である、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 4 9】

神経疾患がアルツハイマー病である、請求項 1 4 8 に記載の方法。

【請求項 1 5 0】

$R^1$  または  $R^3$  が共有結合であるとき、他方の  $R^1$  または  $R^3$  が同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 5 1】

$R^2$  が同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【発明の背景】

【0001】

発明の分野

本発明は、例えば放射免疫療法 (R A I T) などの治療用途、および例えば放射免疫診断 (R A I D) および磁気共鳴映像法 (M R I) などの診断用途のための免疫学的試薬に関する。本願は、2003年6月13日出願の仮特許出願第60/478,403号の優先権を主張するものであり、その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とする。また、米国出願第60/090,142号および米国出願第60/104,156号の全開示内容も引用することにより本明細書の一部とする。

【0002】

関連技術

癌の治療および診断のアプローチには、抗体または抗体フラグメントを罹患組織に与えることが含まれ、この抗体または抗体フラグメントは罹患部位に診断薬または治療薬をターゲティングすることができる。検討されてきたこの方法の1つのアプローチとして、標的罹患組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、標的低分子量ハプテンに特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する b s A b の使用が含まれる。この方法では、b s A b を投与して標的に局在化させ、正常な組織からクリアリングする。しばらくしてから、b s A b の第二の特異性によって認識され、元の標的にも局在する、放射性標識された低分子量のハプテンを与える。

【0003】

b s A b と組み合わせて用いる低分子量ハプテンは、多数の特定の画像化および治療用途があるものの、可能な各適用のための各 b s A b の調製は実用的ではない。さらに、この b s A b / 低分子量ハプテンの系を適用するには、他のいくつかの問題を克服しなければならない。第一に、低分子量のハプテンに結合する b s A b のアームは、b s A b と結合した場合、低分子量のハプテンが生体系から迅速にクリアリングされるように設計されているので、高い親和性で結合されなければならない。第二に、非 b s A b 結合低分子ハ

10

20

30

40

50

ブテンは、非標的組織の取り込みおよび保持を回避するために、生体系を実際にクリアリングする必要がある。第三に、検出薬および/または治療薬は、用いる b s A b プロトコールでの適用中、低分子ハブテンとの会合を維持していなければならない。

#### 【0004】

このアプローチで着目されるのは、適切な二重特異性の A b を用いてキレート剤および金属キレート複合体を癌へ向ける b s A b である。用いるキレート剤および金属キレート複合体は多くの場合が放射性であり、放射免疫映像法にはコバルト - 57 (Goodwin et al., 米国特許第 4, 863, 713 号)、インジウム - 111 (Barbet et al., 米国特許第 5, 256, 395 号および米国特許第 5, 274, 076 号, Goodwin et al., J. Nucl. Med., 33:1366-1372 (1992)、および Kranenborg et al., Cancer Res (suppl.), 55:586 4s-5867s (1995) および Cancer (suppl.) 80:2390-2397 (1997)) および ガリウム - 68 (Boden et al., Bioconjugate Chem., 6:373-379, (1995) および Schuhmacher et al., Cancer Res., 55:115-123 (1995)) が用いられる。この A b はキレート剤および金属キレート複合体に対して惹起されたものなので、それらが本来惹起された複合体に対して顕著な特異性を有する。実際、Boden et al. の b s A b は、キレート剤および金属キレート複合体の鏡像異性体混合物のうちの 1 つの鏡像異性体に対して特異性を有する。この顕著な特異性は、放射免疫療法 (R A I T) に有用な イットリウム - 90 および ビスマス - 213、ならびに M R I に有用な ガドリニウムなどの他の核種が別の用途で利用可能な試薬と容易に交換できないという 1 つの点で不利であることが分かっている。結果として非金属である ヨウ素 - 131 が、第二のターゲッティング工程で I - 131 標識インジウム - 金属キレート複合体の使用による R A I T 用に採用されてきた。この方法のもう 1 つの不利な点は、診断または治療用に望ましい薬剤ごとに抗体を惹起する必要があることである。

#### 【0005】

プレターゲッティング法は癌の画像化および治療に関してかなりの注目を浴びてきた。エフェクター分子 (例えば、小担体に結合された放射性核種または薬物) が直接ターゲッティング剤に結合される直接ターゲッティング系とは違い、プレターゲッティング系では、エフェクター分子はターゲッティング剤の後しばらくしてから与えられる。これにより、ターゲッティング剤を腫瘍病巣に局在させ、より重要なことには身体からクリアリングする時間ができる。ほとんどのターゲッティング剤は抗体タンパク質であったことから、それらは小さなエフェクター分子 (通常、分の単位) よりもはるかにゆっくり身体からクリアリングされる傾向がある (通常、日の単位)。治療用放射性核種を含む直接ターゲッティング系では、ターゲッティング剤が腫瘍においてそのピークレベルにゆっくり達し、身体からクリアリングされる間中、身体および特に極めて傷つきやすい赤色骨髄が放射線に曝される。プレターゲッティング系では、放射性核種は通常、身体から極めて迅速にクリアリングされるキレートまたはペプチドなどの小「エフェクター」分子に結合されているので、正常な組織の暴露は最小となる。小分子は腫瘍の脈管構造を効率的に横断して一次ターゲッティング剤に結合するので、放射性核種の最大腫瘍取り込みもまた極めて迅速である。その大きさが小さいこともまた、腫瘍中でのより均一な分布を促す。

#### 【0006】

プレターゲッティングではいくつかの異なる戦略が用いられてきたが、アビジン / ストレプトアビジン - ビオチン認識系、または腫瘍抗原とエフェクター分子を同時に認識する二重特異性抗体を伴う場合が最も多い。アビジン / ストレプトアビジン - ビオチン系は極めて用途が広く、いくつかの構成で用いられている。抗体をストレプトアビジンまたはビオチンに結合させ、これを一次ターゲッティング剤として用いる。その後、それぞれビオチンまたはアビジン / ストレプトアビジンと結合させたエフェクター分子がくることもある。別の構成として、まず、ビオチン結合抗体を、その後、ストレプトアビジン / アビジンとの架橋をターゲッティングし、次に、ビオチン結合エフェクターを与える三工程のアプローチに頼るものがある。これらの系は、エフェクターおよびターゲッティング剤が用いる構成に応じてビオチンまたはストレプトアビジン / アビジンと結合可能である限り、種々のエフェクター物質とともに用いるために容易に変換することができる。多くのター

ゲッティング状況で用いるためのその用途の広さとアビジン/ストレプトアビジンとビオチンの間の高い結合親和性により、この種のプレターゲッティングは、提案されている他の系に優る著しい利点を持つ。しかし、アビジンおよびストレプトアビジンは外来タンパク質であることから免疫原性があり、臨床適用において投与できる回数は制限される。この点で、b s A bには比較的免疫原性のないヒト化タンパク質として操作することができるという利点がある。b s A bの結合親和性(典型的には  $10^{-9} \sim 10^{-10}$  M)はストレプトアビジン/アビジン-ビオチンの極めて高い親和性( $\sim 10^{-15}$  M)とは比べものにならず、両プレターゲッティング系とも一次ターゲッティング剤の結合親和性に依存し、従って、ストレプトアビジン/アビジン-ビオチン系のより高い親和性はb s A bプレターゲッティング系に優る実質的な利点を提供し得ない。しかし、ほとんどのb s A bは一次標的と結合するために利用できるアームを1つしか持っておらず、一方、ストレプトアビジン/アビジン-ビオチンプレターゲッティング系は典型的には標的と結合するためのアームを2つ持つ完全なIgGを用いており、これが標的結合を強化する。二価ペプチドを用いることにより、親和性の増強がなされ、これにより、一価のペプチドに比べて標的部位に対するペプチドの結合が著しく向上する。このように、両系とも、妥当な保持力を持つ優れたターゲッティング比をもたらす可能性がある。

#### 【0007】

b s A bを用いたプレターゲッティングはまた、エフェクター分子を認識する抗体の1つのアームを必要とする。これまでに報告されているほとんどの放射性核種ターゲッティング系は、インジウム付加DTPAに対する抗体または他のキレートに対する抗体などのキレート金属複合体に対する抗体に頼ってきた。この抗体は一般にこの特定のキレート金属複合体に対して高い選択性があることから、特定のエフェクター分子を用いて新たなb s A bを構築する必要がある。もし抗体がエフェクターに特異的でなく、その代わりに別の物質と反応性があったとすればこの必要はなくなる可能性がある。このような場合には、それらがまた抗体認識物質を含んでいる限り、種々のエフェクターが作製される得る。本発明者らは、種々のエフェクター物質が調製できる認識系としてヒスタミン誘導体であるヒスタミン-スクシニル-グリシル(HSG)に対する抗体を用いたJanevik-Ivanovska et al.が最初に記載しているプレターゲッティング系の開発を続けてきた。放射性ヨウ素化し、かつレニウムを付加した二価のHSG含有ペプチドを用いて優れたプレターゲッティング結果が報告されている。この研究では、発明者らは、この系を、放射性標識 $^{90}$ Y、 $^{111}$ In、および $^{177}$ Luに好適なペプチド、ならびに別の $^{99m}$ Tc結合ペプチドを含むように拡張した。

#### 【0008】

このように、罹患組織に向けることができ、かつ、次に投与されるターゲッティング可能な診断または治療複合体に特異的に結合し得る免疫剤、および二重特異性または多重特異性抗体の変更なく種々の診断薬および治療薬に適合する柔軟な系の必要が依然としてある。

#### 【0009】

本発明者らは1以上の診断薬または治療薬を有し得るターゲッティング可能な構築物に対して多重特異性A bを惹起することが有利であることを見出した。この技術を用いることにより、キレート剤、金属キレート複合体、治療薬または診断薬の性質を、新規な適用ごとに新たな多重特異性A bを惹起することなく種々の適用に適合するよう変えることができる。さらに、このアプローチを用いることにより、2以上の異なるキレート剤、金属キレート複合体、診断薬または治療薬を本発明の多重特異性A bとともに用いることができる。

#### 【発明の概要】

#### 【0010】

本発明の一つの実施態様によれば、式：

$X - R^1 - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  ; または

10

20

30

40

50



$R^1(X) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys](A) - R^2(Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys](B) - R^3(Y) - NR^4R^5$

[式中、

Xは硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬、またはAc-であり；

R<sup>1</sup>は共有結合または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり；

R<sup>2</sup>は共有結合または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり；

R<sup>3</sup>は共有結合または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり；

Yは硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、もしくは診断薬であるか、または存在せず；

Zは硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、もしくは診断薬であるか、または存在せず；

AおよびBはハプテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく；かつ、

R<sup>4</sup>およびR<sup>5</sup>は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬およびHからなる群から独立に選択される]

を含んでなる化合物が提供される。本式では、Dprは2,3-ジアミノプロピオン酸である。これらの実施態様のいくつかのものでは、R<sup>1</sup>またはR<sup>3</sup>が共有結合であるとき、他方のR<sup>1</sup>またはR<sup>3</sup>は同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり得る。これらの実施態様およびその他の実施態様では、R<sup>2</sup>は同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり得る。これらの実施態様のさらに別の場合では、この化合物は式X-R<sup>1</sup>-D-Lys(A)-R<sup>2</sup>-D-Lys(B)-R<sup>3</sup>(Y)-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>を含むことができる。これらの実施態様のいくつかのものでは、R<sup>2</sup>は単一のD-アミノ酸である。他の実施態様では、R<sup>2</sup>は同じであっても異なってもよい2つのD-アミノ酸である。さらなる実施態様では、R<sup>3</sup>はD-Lysであり、Yは硬酸陽イオンキレート剤または軟酸陽イオンキレート剤である。これらの実施態様のいくつかのものでは、R<sup>2</sup>はD-Lysではない。なおさらなる実施態様では、AおよびBはヒスタミン-スクシニル-グリシン(HSG)、DTPAおよびフルオレセインイソチオシアネートからなる群から独立に選択される。さらに他の実施態様では、R<sup>1</sup>は同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり、R<sup>2</sup>は同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり、R<sup>3</sup>は共有結合であり、Yは存在せず、かつ、AおよびBはハプテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよい。さらなる実施態様では、AおよびBはハプテンであり、これらは同じであっても異なってもよい。これらの実施態様およびその他の実施態様では、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は単一のD-アミノ酸であり、これらは同じであっても異なってもよい。R<sup>1</sup>が1を超えるアミノ酸であるとき、そのアミノ酸の1つ、任意の個数、または総てが(X)基と結合していてもよい。同様に、R<sup>2</sup>が1を超えるアミノ酸であるとき、そのアミノ酸の1つ、任意の個数、または総てが(Z)基と結合していてもよい。いくつかの実施態様では、Zは存在しない。いくつかの実施態様では、X、Y、Z、R<sup>4</sup>またはR<sup>5</sup>の1つまたは2つだけが酵素、治療薬または診断薬である。括弧はアミノ酸側鎖の置換基を示す。これらの分子がペプチドの主鎖にある場合には、それらは括弧で囲まれない。

【0011】

さらなる実施態様では、R<sup>1</sup>はD-Tyr、D-Ala、D-Ser、D-Thr、D-Cys、D-Leu、D-Ile、D-Met、D-Gln、D-Asn、D-Val、およびD-Pheからなる群から選択される。さらなる実施態様では、R<sup>1</sup>はD-Pro、D-His、D-Trp、D-Glu、D-Asp、D-Arg、およびD-Lysからなる群から選択される。これら実施態様およびその他の実施態様では、R<sup>2</sup>はD-A

s p、D - G l uおよびD - T y rからなる群から選択される。本明細書に記載の実施態様のいくつかのものでは、 $R^4$ および $R^5$ はともにHである。他の実施態様では、X、 $R^4$ および $R^5$ のうちの1つが硬酸陽イオンキレート剤である。これら実施態様およびその他の実施態様では、残されたX、 $R^4$ および $R^5$ のうちの1つが軟酸陽イオンキレート剤である。いくつかの実施態様では、Xは硬酸陽イオンキレート剤である。さらなる実施態様では、 $R^4$ および $R^5$ の一方が硬酸陽イオンキレート剤である。いくつかの実施態様では、硬酸陽イオンキレート剤はカルボン酸基またはアミン基を含んでなる。なおさらなる実施態様では、硬酸陽イオンキレート剤はNOTA、DOTA、DTPA、およびTEETAからなる群から選択される。さらに他の実施態様では、X、 $R^4$ および $R^5$ のうちの1つが軟酸陽イオンキレート剤であり、これはチオール基を含んでいてもよい。この軟酸陽イオンキレート剤はTscg-CysおよびTscg-Cysからなる群から選択することができる。本化合物のいくつかのものでは、 $R^4$ および $R^5$ の一方が軟酸陽イオンキレート剤であり、残りの $R^4$ または $R^5$ がHである。

10

# 【0012】

ある実施態様では、XはAc-であり、AおよびBは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく、 $R^3$ は共有結合であり、かつ、Yは存在しない。いくつかの実施態様では、XはAc-であり、AおよびBはハブテンであり、これらは同じであっても異なってもよく、 $R^1$ は共有結合であり、かつ、Yは軟酸陽イオンキレート剤である。本化合物の具体例としては、

20

DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 271);

DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 277);

DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 288);

DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 281);

DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 284)

DOTA-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 301)

DOTA-D-Lys(HSG)-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-

30

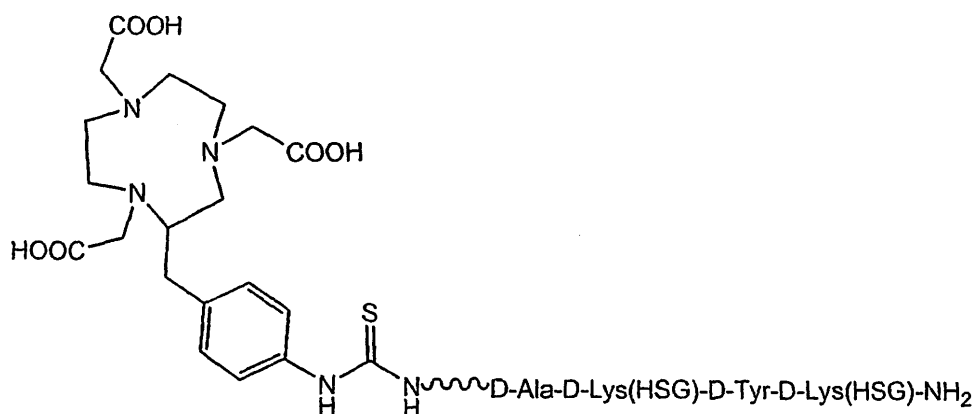
Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 302)

DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Cys-NH<sub>2</sub> (IMP 305)

Ac-D-Lys(In-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(In-DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub> MH+

1813 (IMP 297)

HCO-CO-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 289); および



40

が挙げられる。

# 【0013】

50

本化合物のいくつかの実施態様では、(i) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの多くとも1つだけが硬酸陽イオンキレート剤であり、かつ、(ii) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの多くとも1つが軟酸陽イオンキレート剤である。本化合物のさらなる具体例としては、

【化2】

Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Phe-D-Lys(Bz-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(Bz-DTPA)-NH<sub>2</sub>

Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;

10

DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;

(Tscg-Cys)-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;

Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>;

(Tscg-Cys)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-D-Cys-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Cys-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-D-Lys(TscG-Cys)-NH<sub>2</sub>; および

20

Ac-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-D-Lys(TscG-Cys)-NH<sub>2</sub>.

が挙げられる。

【0014】

これらの実施態様およびその他の実施態様では、これらの化合物は少なくとも1つの放射性核種をさらに含んでもよい。好適な放射性核種の例としては、<sup>225</sup>Ac、<sup>111</sup>Ag、<sup>72</sup>As、<sup>77</sup>As、<sup>211</sup>At、<sup>198</sup>Au、<sup>199</sup>Au、<sup>212</sup>Bi、<sup>213</sup>Bi、<sup>75</sup>Br、<sup>76</sup>Br、<sup>11</sup>C、<sup>55</sup>Co、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>166</sup>Dy、<sup>169</sup>Er、<sup>18</sup>F、<sup>52</sup>Fe、<sup>59</sup>Fe、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>154</sup>Gd、<sup>155</sup>Gd、<sup>156</sup>Gd、<sup>157</sup>Gd、<sup>158</sup>Gd、<sup>166</sup>Ho、<sup>120</sup>I、<sup>123</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>110</sup>In、<sup>111</sup>In、<sup>194</sup>Ir、<sup>177</sup>Lu、<sup>51</sup>Mn、<sup>52m</sup>Mn、<sup>99</sup>Mo、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>O、<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>211</sup>Pb、<sup>212</sup>Pb、<sup>109</sup>Pd、<sup>149</sup>Pm、<sup>142</sup>Pr、<sup>143</sup>Pr、<sup>223</sup>Ra、<sup>82m</sup>Rb、<sup>86</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>189</sup>Re、<sup>105</sup>Rh、<sup>47</sup>Sc、<sup>153</sup>Sm、<sup>75</sup>Se、<sup>83</sup>Sr、<sup>89</sup>Sr、<sup>161</sup>Tb、<sup>94m</sup>Tc、<sup>94</sup>Tc、<sup>99m</sup>Tc、<sup>86</sup>Y、<sup>90</sup>Y、<sup>90</sup>Y、および<sup>89</sup>Zrが挙げられる。

30

【0015】

本化合物のいくつかのものでは、硬酸陽イオンキレート剤は、IIa族およびIIla族の金属陽イオンからなる群から選択される陽イオンとキレート化されている。これらの実施態様およびその他の実施態様では、軟酸陽イオンキレート剤は、遷移金属、Bi、ランタニド類およびアクチニド類からなる群から選択される陽イオンとキレート化されている。好適な陽イオンとしては、Tc、Re、およびBiが挙げられる。

40

【0016】

さらにその他の実施態様では、本化合物のR<sup>4</sup>またはR<sup>5</sup>は治療薬、診断薬または酵素である。これらの実施態様では、治療薬、診断薬または酵素はリンカー部分により化合物と共有結合させることができる。いくつかの実施態様では、このリンカー部分は少なくとも1つのアミノ酸を含んでもよい。本発明での使用に好適な治療薬としては、薬物、プロドラッグまたは毒素が挙げられる。プロドラッグとしては、エピルビシingleクロニド、CPT-11、エトポシドingleクロニド、ダウノマイシingleクロニドおよびドキソルビシingleクロニドからなる群から選択することができる。毒素としては、リシン、ア

50

ブリン、リボヌクレアーゼ ( R N アーゼ )、D N アーゼ I、ブドウ球菌エンテロトキシン - A、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒、シュードモナス外毒素、およびシュードモナス内毒素からなる群から選択することができる。治療薬は、ドキシソルピシン、S N - 3 8、カンプトテシン、エトポシド、メトトレキサート、6 - メルカプトブリンまたはリン酸エトポシドを含んでいてもよい。診断薬としては、光線力学療法用の 1 以上の薬剤、例えば、ベンゾボルフィリン酸環 A ( B P D - M A )、錫エチオプルブリン ( S n E T 2 )、スルホン化アルミニウムフタロシアニン ( A l S P c ) およびルテチウムテキサフィリン ( L u t e x ) などの光増感剤を含んでいてもよい。他の好適な診断薬としては、磁気共鳴映像法 ( M R I ) で用いるための 1 以上の画像増強剤、例えば、M n、F e、L a または G d を含んでいてもよい。診断薬としてはまた、X 線またはコンピューター断層撮影法用の 1 以上の放射線不透過剤または造影剤、例えば、バリウム、ジアトリゾエート、エチオド化オイル、クエン酸ガリウム、イオカルム酸、イオセタム酸、ヨードミド、ヨージパミド、ヨードキサム酸、イオグラミド、イオヘキソール、イオパミドール、イオパン酸、イオプロセム酸、イオセファム酸、イオセル酸、イオスラミドメグルミン、イオセメ酸、イオタスル、イオテトル酸、イオサラム酸、イオトロキシ酸、イオキサグル酸、イオキソトリゾ酸、イボデート、メグルミン、メトリザミド、メトリゾエート、プロピリオドンまたは塩化タリウムを含んでいてもよい。診断薬はまた、1 以上の超音波造影剤、例えば、リボソームまたはデキストランを含んでいてもよい。いくつかの実施態様では、リボソームはガス充填されている。いくつかの実施態様では、薬物の中間体を有毒型に変換することによって標的部位における前記薬物の毒性を高めることができる酵素を化合物に含めることができる。

10

20

30

40

50

#### 【 0 0 1 7 】

本化合物のいくつかのものでは、そのアミノ酸主鎖は 2 ~ 約 5 0、7 5、8 5 または 1 0 0 連続アミノ酸の長さを有し得る。例えば、R<sup>1</sup> または R<sup>3</sup> は約 1、2、5、1 0 または 1 5 アミノ酸 ~ 約 2 0、2 5、3 0 または 3 5 アミノ酸長であり得る。ある化合物では、このアミノ酸鎖は 3、4、5、6、7、8、9 または 1 0 アミノ酸長である。ある実施態様では、R<sup>2</sup> は 1、2、または 3 アミノ酸長である。いくつかの実施態様では、本発明はまた、本化合物のいずれかを含んでなるターゲッティング可能な構築物も提供する。本化合物のいくつかのものでは、そのアミノ酸主鎖は環状であるが、他のものでは直鎖である。

#### 【 0 0 1 8 】

本発明の別の実施態様では、疾病または疾病に至る可能性のある症状を診断、治療、または診断および治療する方法であって、

( A ) 疾病または症状を有する、または有する疑いのある被験体に、本化合物のいずれかを含んでなるターゲッティング可能な構築物であって、少なくとも 1 つの診断用もしくは治療用陽イオン、および / またはキレート化されている、もしくは化学的に結合されている 1 以上の治療薬、診断薬、もしくは酵素を含んでなるターゲッティング可能な構築物を投与する工程 ; および

( B ) その被験体に、標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、前記ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する多重特異性抗体または抗体フラグメントを投与する工程を含んでなる方法が提供される。これらの方法は、

( C ) 被験体に、非同在抗体または抗体フラグメントの被験体からのクリアランスを促進するクリアリング組成物を投与する工程をさらに含んでもよい。本方法では、ターゲッティング可能な構築物と多重特異性抗体または抗体フラグメントを実質的に同時に投与することができる。

#### 【 0 0 1 9 】

本法で用いられる治療用陽イオンの好適な例は、2 0 ~ 1 0 , 0 0 0 k e V の粒子および / または陽電子を放射するものであってよく、例えば、<sup>1 1 1</sup> I n、<sup>1 7 7</sup> L u、<sup>2 1 2</sup> B i、<sup>2 1 3</sup> B i、<sup>2 1 1</sup> A t、<sup>6 2</sup> C u、<sup>6 4</sup> C u、<sup>6 7</sup> C u、<sup>9 0</sup> Y、<sup>1 2 5</sup> I、

<sup>131</sup>I、<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>47</sup>Sc、<sup>111</sup>Ag、<sup>67</sup>Ga、<sup>142</sup>Pr、<sup>153</sup>Sm、<sup>161</sup>Tb、<sup>166</sup>Dy、<sup>166</sup>Ho、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>189</sup>Re、<sup>212</sup>Pb、<sup>223</sup>Ra、<sup>225</sup>Ac、<sup>59</sup>Fe、<sup>75</sup>Se、<sup>77</sup>As、<sup>89</sup>Sr、<sup>99</sup>Mo、<sup>105</sup>Rh、<sup>109</sup>Pd、<sup>143</sup>Pr、<sup>149</sup>Pm、<sup>169</sup>Er、<sup>194</sup>Ir、<sup>198</sup>Au、<sup>199</sup>Auおよび<sup>211</sup>Pbが挙げられる。他の実施態様では、診断用陽イオンは25～10,000 keVの粒子および/または陽電子を放射し、例えば、<sup>110</sup>In、<sup>111</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>18</sup>F、<sup>52</sup>Fe、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>86</sup>Y、<sup>90</sup>Y、<sup>89</sup>Zr、<sup>94m</sup>Tc、<sup>94</sup>Tc、<sup>99m</sup>Tc、<sup>120</sup>I、<sup>123</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>154</sup>Gd、<sup>158</sup>Gd、<sup>32</sup>P、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>O、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>51</sup>Mn、<sup>52m</sup>Mn、<sup>55</sup>Co、<sup>72</sup>As、<sup>75</sup>Br、<sup>76</sup>Br、<sup>82m</sup>Rbおよび<sup>83</sup>Srが挙げられる。

#### 【0020】

本方法のいくつかのものでは、診断用陽イオンまたは診断薬は、ポジトロン放射断層撮影法（PET）またはSPEC T映像法に用いられるものとされる。他の実施態様では、この診断用陽イオンまたは診断薬は、磁気共鳴映像法（MRI）で用いられる1以上の画像増強剤、例えば、Mn、Fe、LaおよびGdを含んでなる。他の方法では、診断薬はX線またはコンピューター断層撮影法用の1以上の放射線不透過剤または造影剤を含んでなり、例えば、バリウム、ジアトリゾエート、エチオド化オイル、クエン酸ガリウム、イオカルム酸、イオセタム酸、ヨーダミド、ヨージバミド、ヨードキサム酸、イオグラミド、イオヘキソール、イオパミドール、イオパン酸、イオプロセム酸、イオセファム酸、イオセル酸、イオスラミドメグルミン、イオセメ酸、イオタスル、イオテトル酸、イオサラム酸、イオトロキシ酸、イオキサグル酸、イオキシトリゾ酸、イボデート、メグルミン、メトリザミド、メトリゾエート、プロピリオドンまたは塩化タリウムを含んでなる。なおさらなる方法では、診断薬は1以上の超音波造影剤、例えば、リボソームまたはデキストランを含んでなる。いくつかの方法では、このリボソームはガス充填されている。

#### 【0021】

さらなる方法では、これら1以上の診断薬は蛍光化合物、化学発光化合物、および生物発光化合物からなる群から選択される。好適な蛍光化合物としては、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、フィコエリセリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒドおよびフルオレサミンが挙げられる。好適な化学発光化合物としては、ルミノール、イソルミノール、芳香族アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルが挙げられる。好適な生物発光化合物としては、ルシフェリン、ルシフェラーゼおよびエクオリンが挙げられる。

#### 【0022】

本方法のいくつかの実施態様では、標的組織は腫瘍である。いくつかの実施態様では、この腫瘍は、結腸特異的抗原-p（CSAp）、癌胎児性抗原（CEA）、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD30、CD74、CD80、HLA-DR、Ia、MUC1、MUC2、MUC3、MUC4、EGFR、HER2/neu、PAM-4、TAG-72、EGP-1、EGP-2、A3、KS-1、Le(y)、S100、PSMA、PSA、テネイシン、葉酸受容体、VEGF、壊死抗原、IL-2、T101、MAGE、IL-6、インスリン様増殖因子受容体、炭酸脱水酵素IX、およびそれらの組合せからなる群から選択される抗原を産生する、または該抗原に関連するものとされる。

#### 【0023】

他の方法では、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つの前記アームは、モノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のフラグメントである。なおさらなる方法では、ターゲティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの前記他のアームは、モノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のフラグメントである。さらなる方法では、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つの前記アームは、ヒト、キメラもしくはヒト化抗体、またはヒト、キメラもしくはヒト化抗体のフラグメントである。さらなる方法で

は、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの前記他のアームは、ヒト、キメラもしくはヒト化抗体、またはヒト、キメラもしくはヒト化抗体のフラグメントである。本方法のいくつかのものでは、多重特異性抗体または抗体フラグメントは、治療用核種、例えば、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{189}\text{Re}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{99}\text{Mo}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{194}\text{Ir}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$ および $^{211}\text{Pb}$ からなる群から選択されるものをさらに含んでなる。

10

#### 【0024】

ある方法では、この多重特異性抗体はMAb Mu-9のFvおよびMAb 679のFvを含んでなる。これらの方法のいくつかのものでは、Mu-9および/または679はキメラ化またはヒト化されている。これらの方法の他のものでは、Mu-9および/または679はヒトMu9およびヒト679である。さらなる方法では、この多重特異性抗体はMu-9の1以上のCDRを含んでなる。本方法のいくつかのものでは、この多重特異性抗体は679の1以上のCDRを含んでなる。いくつかの方法では、この多重特異性抗体は融合タンパク質である。なおさらなる方法では、この多重特異性抗体はMAb MN-14のFvおよびMAb 679のFvを含んでなる。これらの方法のいくつかのものでは、MN-14および/または679はキメラ化またはヒト化されている。他の方法では、この多重特異性抗体はMN-14の1以上のCDRを含んでなる。さらなる方法では、この多重特異性抗体は679の1以上のCDRを含んでなる。なおさらなる方法では、この多重特異性抗体は融合タンパク質である。本方法のいくつかのものでは、この融合タンパク質は三価であり、CSApと反応性のある抗体のFvが組み込まれている。いくつかの方法では、この多重特異性抗体にはクラスIII抗CEA抗体および679のFvが組み込まれている。

20

#### 【0025】

本明細書で開示されるさらなる方法では、ターゲッティング可能な構築物は $^{10}\text{B}$ 原子を含んでなるものであり、その方法は

(C) 標的組織に局在した $^{10}\text{B}$ 原子を照射し、それにより、標的組織のホウ素中性子捕捉療法を行う工程をさらに含む。

30

#### 【0026】

さらなる方法では、ターゲッティング可能な構築物は酵素を含んでなるものであり、その方法は

(C) 該酵素によって有毒型に変換され、これにより標的組織での毒性を高め得る薬物を被験体に投与する工程をさらに含む。

#### 【0027】

本方法のいくつかのものでは、この疾病または症状は、癌、感染性疾患、炎症性疾患、自己免疫疾患、循環器病、代謝疾患、および神経疾患からなる群から選択される。癌の例としては、白血病、リンパ腫、肉腫、黒色腫、癌腫、神経膠腫、および皮膚癌が挙げられる。癌の具体例としては、B細胞悪性腫瘍、B細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、非ホジキンリンパ腫、急性リンパ性白血病、または多発性骨髄腫が挙げられる。本方法を施せる癌としては、食道癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、膀胱癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、精巣癌、腎臓癌、副腎癌または肝臓癌が挙げられる。

40

#### 【0028】

本方法のいくつかのものでは、疾病または症状は病原体によって引き起こされる感染性疾患である。病原体の例としては、真菌、ウイルス、寄生虫、細菌、原生動物、またはマイコプラズマが挙げられる。いくつかの方法では、この病原体は、小孢子菌(Microsporum

50

)、白癬菌(*Trichophyton*)、表皮菌(*Epidermophyton*)、スポロトリクス・シェンキー(*Sporothrix schenckii*)、シルプトコッカス・ネオフォルマンス(*Cryptococcus neoformans*)、コクシジオイデス・イミチス(*Coccisoides immitis*)、ヒストプラズム・カプスラツム(*Histoplasma capsulatum*)、ブラストミセス・デルマティティデス(*Blastomyces dermatitidis*)、およびカンジダ・アルビカンス(*Candida albicans*)からなる群から選択される真菌である。他の方法では、この病原体は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルス、センダイウイルス、ネコ白血病ウイルス、レオウイルス、ポリオウイルス、ヒト血清パルボ様ウイルス、シミアンウイルス40、呼吸器多核体(RS)ウイルス、マウス乳癌ウイルス、水疱・带状疱疹ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、乳頭腫ウイルス、マウス白血病ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、シンジスウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、疣贅ウイルスおよびブルータンゲウイルスからなる群から選択されるウイルスである。さらなる方法では、この病原体は、炭疽菌(*Anthrax bacillus*)、ストレプトコッカス・アガラクチエ(*Streptococcus agalactiae*)、レジュネラ・ニューモフィラ(*Legionella pneumophila*)、化膿連鎖球菌(*Streptococcus pyogenes*)、ブドウ球菌(*Staphylococcus*)、大腸菌(*Escherichia coli*)、淋菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、髄膜炎菌(*Neisseria meningitidis*)、肺炎双球菌(*Pneumococcus*)、B型インフルエンザ菌(*Hemophilis influenzae B*)、梅毒トレポネマ(*Treponema pallidum*)、ライム病スピロヘータ、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、らい菌(*Mycobacterium leprae*)、ウシ流産菌(*Brucella abortus*)、結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)および破傷風菌(*Clostridium tetani*)からなる群から選択される細菌である。

#### 【0029】

なおさらなる方法では、病原体は、蠕虫およびマラリア原虫からなる群から選択される寄生虫である。なおその他の方法では、病原体は、熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*)、三日熱マラリア原虫(*Plasmodium vivax*)、トキソプラズマ(*Toxoplasma gondii*)、ランゲリ・トリパノソーマ(*Trypanosoma rangeli*)、クルーズ・トリパノソーマ(*Trypanosoma cruzi*)、ローデシア・トリパノソーマ(*Trypanosoma rhodesiense*)、ブルセイ・トリパノソーマ(*Trypanosoma brucei*)、マンソン住血吸虫(*Schistosoma mansoni*)、日本住血吸虫(*Schistosoma japonicum*)、ウシバベシア(*Babesia bovis*)、エルメリア・テネラ(*Eimeria tenella*)、回旋糸状虫(*Onchocerca volvulus*)、熱帯リーシュマニア(*Leishmania tropica*)、旋毛虫(*Trichinella spiralis*)、回旋糸状虫(*Onchocerca volvulus*)、タイレリア・パルバ(*Theileria parva*)、胞状条虫(*Taenia hydatigena*)、テニア・オビス(*Taenia ovis*)、カギナシサナダ(*Taenia saginata*)、単胞条虫(*Echinococcus granulosus*)およびメソセストイデス・コルチ(*Mesocestoides corti*)からなる群から選択される原生動物である。なおさらなる方法では、病原体は、マイコプラズマ・アルスリティデス(*Mycoplasma arthritidis*)、マイコプラズマ・ヒオリニス(*Mycoplasma hyorhinis*)、マイコプラズマ・オーラル(*Mycoplasma orale*)、マイコプラズマ・アルギニニ(*Mycoplasma arginini*)、アコレプラスマ・ライドラウィー(*Acholeplasma laidlawii*)、マイコプラズマ・サリバルム(*Mycoplasma salivarum*)、および肺炎マイコプラズマ(*Mycoplasma pneumoniae*)からなる群から選択されるマイコプラズマである。

#### 【0030】

本方法のいくつかのものでは、この疾病または症状は、急性特発性血小板減少性紫斑病、慢性特発性血小板減少性紫斑病、皮膚筋炎、シドナム舞踏病、重症筋無力症、全身性紅斑性狼瘡、狼瘡腎炎、リウマチ熱、多腺性症候群、水疱性類天疱瘡、糖尿病、ヘノッホ・シェンライン紫斑病、溶連菌感染後腎炎、結節性紅斑、高安動脈炎、アジソン病、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、サルコイドーシス、潰瘍性大腸炎、多形性紅斑、IgA腎症、結節性多発性動脈炎、強直性脊椎炎、グッドパスチャー症候群、閉塞性血栓血管炎(thromboangitis obliterans)、シェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変、橋本甲状腺炎、甲

10

20

30

40

50

状腺中毒症、硬皮症、慢性活動性肝炎、多発性筋炎／皮膚筋炎、多発性軟骨炎、尋常性天疱瘡(*parnphigus vulgaris*)、ウェゲナー肉芽腫、膜性腎症、筋萎縮性側索硬化症、脊髄ろう、巨細胞性動脈炎／多発性筋痛、悪性貧血、急速進行性糸球体腎炎、乾癬、および繊維性肺肺炎などの炎症性疾患または自己免疫疾患である。その他の方法では、疾病または症状は心筋梗塞、虚血性心疾患、アテローム斑、血餅、および塞栓などの循環器病である。さらなる方法では、疾病または症状はアミロイド症などの代謝疾患である。またさらなる方法では、疾病または症状はアルツハイマー病などの神経疾患である。

#### 【 0 0 3 1 】

本発明はまた、被験体において標的細胞、組織または病原体を検出、同定または処置するための方法であって、

( a ) 被験体に本発明の化合物のいずれかを含んでなるターゲッティング可能な構築物を投与する工程；および

( b ) その被験体に、標的細胞、組織または病原体に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを含んでなる多重特異性抗体または抗体フラグメントを投与する工程を含んでなる方法も提供する。

#### 【 0 0 3 2 】

これらの方法のいくつかのものでは、標的は標的細胞、組織または病原体により産生される、または標的細胞、組織または病原体に関連する分子を含んでなる。ある方法では、標的組織は罹患組織である。罹患組織は術中同定、内視鏡同定、または血管内同定することができる。いくつかの方法では、標的組織は、卵巣、胸腺、副甲状腺、子宮内膜、骨髓、または脾臓などの正常組織である。さらなる方法では、病原体は真菌、ウイルス、寄生虫、細菌、原生動物、またはマイコプラズマである。真菌の例としては、小孢子菌、白癬菌、表皮菌、スポトリクス・シェンキー、シルプトコッカス・ネオフォルマンズ、コクシジオイデス・イミチス、ヒストプラズマ・カプスラツム、プラストミセス・デルマティティディス、およびカンジダ・アルビカンスが挙げられる。ウイルスの例としては、ヒト免疫不全ウイルス( HIV )、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルス、センダイウイルス、ネコ白血病ウイルス、レオウイルス、ポリオウイルス、ヒト血清パルボ様ウイルス、シミアンウイルス40、呼吸器多核体( RS )ウイルス、マウス乳癌ウイルス、水疱・带状疱疹ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、マウス白血病ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、水疱性口内炎ウイルス、シンドビスウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、疣贅ウイルスおよびブルータングウイルスが挙げられる。細菌の例としては、炭疽菌、ストレプトコッカス・アガラクチエ、レジュネラ・ニューモフィラ、化膿連鎖球菌、大腸菌、淋菌、髄膜炎菌、肺炎双球菌、B型インフルエンザ菌、梅毒トレポネーマ、ライム病スピロヘータ、緑膿菌、らい菌、ウシ流産菌、結核菌および破傷風毒素が挙げられる。寄生虫としては、蠕虫またはマラリア原虫であり得る。原生動物の例としては、熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、トキソプラズマ、ランゲリ・トリパノソーマ、クルーズ・トリパノソーマ、ローデシア・トリパノソーマ、ブルセイ・トリパノソーマ、マンソン住血吸虫、日本住血吸虫、ウシバベシア、エルメリア・テネラ、回旋糸状虫、熱帯リーシュマニア、旋毛虫、回旋糸状虫、タイレリア・パルバ、胞状条虫、テニア・オビス、カギナシサナダ、単胞条虫およびメソセストイデス・コルチが挙げられる。マイコプラズマの例としては、マイコプラズマ・アルスリティディス、マイコプラズマ・ヒオリニス、マイコプラズマ・オーラル、マイコプラズマ・アルギニニ、アコレプラズマ・ライドラウィー、マイコプラズマ・サリバルム、および肺炎マイコプラズマが挙げられる。

#### 【 0 0 3 3 】

本方法のいくつかのものでは、ターゲッティング可能な構築物は、少なくとも1種の放射性核種、治療薬、診断薬または酵素をさらに含んでなる。放射性核種の例としては、<sup>2</sup><sub>5</sub>Ac、<sup>1</sup><sub>11</sub>Ag、<sup>7</sup><sub>2</sub>As、<sup>7</sup><sub>7</sub>As、<sup>2</sup><sub>11</sub>At、<sup>1</sup><sub>9</sub>8Au、<sup>1</sup><sub>9</sub>9Au、<sup>2</sup>

10

20

30

40

50



<sup>1 2</sup>Bi、<sup>2 1 3</sup>Bi、<sup>7 5</sup>Br、<sup>7 6</sup>Br、<sup>1 1</sup>C、<sup>5 5</sup>Co、<sup>6 2</sup>Cu、<sup>6 4</sup>Cu、  
<sup>6 7</sup>Cu、<sup>1 6 6</sup>Dy、<sup>1 6 9</sup>Er、<sup>1 8</sup>F、<sup>5 2</sup>Fe、<sup>5 9</sup>Fe、<sup>6 7</sup>Ga、<sup>6 8</sup>Ga  
、<sup>1 5 4</sup>Gd、<sup>1 5 5</sup>Gd、<sup>1 5 6</sup>Gd、<sup>1 5 7</sup>Gd、<sup>1 5 8</sup>Gd、<sup>1 6 6</sup>Ho、<sup>1 2 0</sup>  
I、<sup>1 2 3</sup>I、<sup>1 2 4</sup>I、<sup>1 2 5</sup>I、<sup>1 3 1</sup>I、<sup>1 1 0</sup>In、<sup>1 1 1</sup>In、<sup>1 9 4</sup>Ir、  
<sup>1 7 7</sup>Lu、<sup>5 1</sup>Mn、<sup>5 2 m</sup>Mn、<sup>9 9</sup>Mo、<sup>1 3</sup>N、<sup>1 5</sup>O、<sup>3 2</sup>P、<sup>3 3</sup>P、<sup>2 1</sup>  
<sup>1</sup>Pb、<sup>2 1 2</sup>Pb、<sup>1 0 9</sup>Pd、<sup>1 4 9</sup>Pm、<sup>1 4 2</sup>Pr、<sup>1 4 3</sup>Pr、<sup>2 2 3</sup>Ra、  
<sup>8 2 m</sup>Rb、<sup>1 8 6</sup>Re、<sup>1 8 8</sup>Re、<sup>1 8 9</sup>Re、<sup>1 0 5</sup>Rh、<sup>4 7</sup>Sc、<sup>1 5 3</sup>Sm  
、<sup>7 5</sup>Se、<sup>8 3</sup>Sr、<sup>8 9</sup>Sr、<sup>1 6 1</sup>Tb、<sup>9 4 m</sup>Tc、<sup>9 4</sup>Tc、<sup>9 9 m</sup>Tc、<sup>8</sup>  
<sup>6</sup>Y、<sup>9 0</sup>Y、<sup>9 0</sup>Y、および<sup>8 9</sup>Zrであり得る。

#### 【0034】

10

いくつかの方法では、診断薬はイメージング剤を含んでなる。開示されている方法のいくつかのものでは、その方法は、

(c) 被験体に、非局在抗体または抗体フラグメントの被験体からのクリアランスを促進するクリアリング組成物を投与する工程

をさらに含む。本方法は、ヒト、霊長類、ウマ類、イヌ類およびネコ類をはじめとする哺乳類を処置するために用いることができる。本方法のいくつかのものでは、治療薬は1以上の薬物、毒素、サイトカイン、ホルモン、または増殖因子を含んでなる。いくつかの方法では、診断薬は造影剤を含んでなる。さらなる方法では、イメージング剤はPETまたはSPECTに用いられる薬剤である。本方法のいくつかのものでは、多重特異性抗体または抗体フラグメントは二重特異性である。

20

#### 【0035】

本発明はまた、被験体において罹患組織を処置または同定するためのキットであって、

(a) 1以上の本化合物を含んでなるターゲッティング可能な構築物；および

(b) 標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する多重特異性抗体または抗体フラグメント

を含んでなるキットも提供する。本キットは、

(c) 非局在抗体および抗体フラグメントのクリアランスを促進するためのクリアリング組成物

をさらに含む得る。これらのキットのいくつかのものでは、診断薬は<sup>1 1 0</sup>In、<sup>1 1 1</sup>In、<sup>1 7 7</sup>Lu、<sup>1 8</sup>F、<sup>5 2</sup>Fe、<sup>6 2</sup>Cu、<sup>6 4</sup>Cu、<sup>6 7</sup>Cu、<sup>6 7</sup>Ga、<sup>6 8</sup>Ga、<sup>8 6</sup>Y、<sup>9 0</sup>Y、<sup>8 9</sup>Zr、<sup>9 4 m</sup>Tc、<sup>9 4</sup>Tc、<sup>9 9 m</sup>Tc、<sup>1 2 0</sup>I、<sup>1 2 3</sup>I、<sup>1 2 4</sup>I、<sup>1 2 5</sup>I、<sup>1 3 1</sup>I、<sup>1 5 4</sup>Gd、<sup>1 5 8</sup>Gd、<sup>3 2</sup>P、<sup>1 1</sup>C、<sup>1 3</sup>N、<sup>1 5</sup>O、<sup>1 8 6</sup>Re、<sup>1 8 8</sup>Re、<sup>5 1</sup>Mn、<sup>5 2 m</sup>Mn、<sup>5 5</sup>Co、<sup>7 2</sup>As、<sup>7 5</sup>Br、<sup>7 6</sup>Br、<sup>8 2 m</sup>Rbおよび<sup>8 3</sup>Srからなる群から選択される。その他のキットでは、治療薬は<sup>1 1 1</sup>In、<sup>1 7 7</sup>Lu、<sup>2 1 2</sup>Bi、<sup>2 1 3</sup>Bi、<sup>2 1 1</sup>At、<sup>6 2</sup>Cu、<sup>6 4</sup>Cu、<sup>6 7</sup>Cu、<sup>9 0</sup>Y、<sup>1 2 5</sup>I、<sup>1 3 1</sup>I、<sup>3 2</sup>P、<sup>3 3</sup>P、<sup>4 7</sup>Sc、<sup>1 1</sup>Ag、<sup>6 7</sup>Ga、<sup>1 4 2</sup>Pr、<sup>1 5 3</sup>Sm、<sup>1 6 1</sup>Tb、<sup>1 6 6</sup>Dy、<sup>1 6 6</sup>Ho、<sup>1 8 6</sup>Re、<sup>1 8 8</sup>Re、<sup>1 8 9</sup>Re、<sup>2 1 2</sup>Pb、<sup>2 2 3</sup>Ra、<sup>2 2 5</sup>Ac、<sup>5 9</sup>Fe、<sup>7 5</sup>Se、<sup>7 7</sup>As、<sup>8 9</sup>Sr、<sup>9 9</sup>Mo、<sup>1 0 5</sup>Rh、<sup>1 0 9</sup>Pd、<sup>1 4 3</sup>Pr、<sup>1 4 9</sup>Pm、<sup>1 6 9</sup>Er、<sup>1 9 4</sup>Ir、<sup>1 9 8</sup>Au、<sup>1 9 9</sup>Auおよび<sup>2 1 1</sup>Pbからなる群から選択される。

30

40

#### 【0036】

上記のキットのいくつかのものでは、ターゲッティング可能な構築物が酵素を含んでなる場合、キットは、その酵素によって有毒型に変換され、それにより毒性を高め得る薬物をさらに含んでなる。

#### 【0037】

本発明はまた、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する多重特異性または二重特異性の抗体または抗体フラグメントも提供することができる。

50

## 【0038】

本方法では、ターゲッティング可能な構築物が酵素を含んでなる場合には、これらの方法は、患者に、

1) 該酵素が標的部位においてプロドラッグを薬物に変換することができる場合には、プロドラッグ；

2) 該酵素が解毒型中間体を有毒型に再変換し、その結果、標的部位において該薬物の毒性を高め得る場合には、該患者中で解毒されて毒性の低い中間体を形成することができる薬物、

3) 該酵素が解毒型中間体を有毒型に再変換し、その結果、標的部位において該薬物の毒性を高め得る場合には、天然の過程によって該患者中で活性化され、毒性の低い中間体に変換されることによって解毒を受けるプロドラッグ、または、

4) 該酵素が標的部位において該プロドラッグを薬物に変換することができる場合には、該二重特異性抗体または抗体フラグメントの少なくとも1つの他のアームによって認識され得る少なくとも1つのエピトープを含むか、またはこれを担持する担体部分と、プロドラッグとを含んでなる、第二のターゲッティング可能な構築物を投与する工程をさらに含むことができる。

10

## 【0039】

別の実施態様では、キットは、第一のターゲッティング可能な構築物が酵素を含んでなる場合には、

1) 該酵素が標的部位においてプロドラッグを薬物に変換することができる場合には、プロドラッグ；

20

2) 該酵素が解毒型中間体を有毒型に再変換し、その結果、標的部位において該薬物の毒性を高め得る場合には、該患者中で解毒されて毒性の低い中間体を形成することができる薬物、

3) 該酵素が解毒型中間体を有毒型に再変換し、その結果、標的部位において該薬物の毒性を高め得る場合には、天然の過程によって該患者中で活性化され、毒性の低い中間体に変換されることによって解毒を受けるプロドラッグ、または、

4) 該酵素が標的部位において該プロドラッグを薬物に変換することができる場合には、該二重特異性抗体または抗体フラグメントの少なくとも1つの他のアームによって認識され得る少なくとも1つのエピトープを含むか、またはこれを担持する担体部分と、プロドラッグとを含んでなる、第二のターゲッティング可能な構築物をさらに含む得る。

30

## 【0040】

本発明の別の実施態様によれば、組換え技術による抗体または抗体フラグメントの調製法が提供される。本発明のこの態様によれば、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントの調製方法が提供され、その方法は、

(A) 宿主細胞に上記の組換えDNA構築物を導入する工程；

(B) 細胞を増殖させ、抗体または抗体フラグメントを単離する工程を含む。

40

## 【0041】

本発明の別の実施態様によれば、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性融合タンパク質の調製方法が提供され、その方法は、

(1) (A) 二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主中で産生し得る発現カセットを含んでなる組換えDNA構築物であって、5'から3'の転写方向で、宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントに連結したscFvをコードするDNA配列、ならびに宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終結調節領域を含み、二重特異性融合タンパク質のフラグメントがこれらの調

50

節領域の制御下にある組換えDNA構築物を宿主細胞に導入すること；

(B)(A)における軽鎖抗体フラグメントに相補的で、軽鎖抗体フラグメントに会合する場合、結合部位が標的組織に特異的なFabフラグメントを形成するFdフラグメントを宿主細胞中で産生し得る発現カセットを含んでなる組換えDNA構築物であって、5'から3'の転写方向で、宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、FdフラグメントをコードするDNA配列、ならびに宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終結調節領域を含んでなり、Fdフラグメントがこれらの調節領域の制御下にある組換えDNA構築物を宿主細胞に同時導入すること；

(C)細胞を増殖させ、二重特異性融合タンパク質を単離すること；あるいは

(2)(A)二重特異性融合タンパク質のフラグメントを第一の宿主中で産生し得る発現カセットを含んでなる組換えDNA構築物であって、5'から3'の転写方向で、第一の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、第一の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントに連結したscFvをコードするDNA配列、ならびに第一の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終結調節領域を含んでなり、二重特異性融合タンパク質のフラグメントがこれらの調節領域の制御下にある組換えDNA構築物を第一の宿主細胞に導入すること；

(B)(2)(A)における軽鎖抗体フラグメントに相補的で、軽鎖抗体フラグメントに会合する場合、結合部位が標的組織に特異的なFabフラグメントを形成するFdフラグメントを第二の宿主細胞中に産生し得る発現カセットを含んでなる組換えDNA構築物であって、5'から3'の転写方向で、第二の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、第二の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、FdフラグメントをコードするDNA配列、ならびに第二の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終結調節領域を含んでなり、Fdフラグメントがこれらの調節領域の制御下にある組換えDNA構築物を第二の宿主細胞に導入すること；

(C)第一の宿主細胞および第二の宿主細胞を増殖させること；

(D)所望により、二重特異性融合タンパク質フラグメントおよびFdフラグメントを単離すること；

(E)それらのフラグメントを組み合わせて二重特異性融合タンパク質を産生し、その二重特異性融合タンパク質を単離することを含む。

#### 【0042】

種々の宿主細胞を使用して二重特異性抗体または抗体フラグメントを調製することができ、宿主細胞には、限定されるものではないが、哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、および細菌細胞が含まれる。一つの実施態様では、本方法において、哺乳類の接合体を利用し、組換えDNA構築物の導入により、二重特異性抗体または抗体フラグメントを産生し得るトランスジェニック動物を産生する。

#### 【0043】

本発明者らは1以上の診断薬または治療薬を有し得るターゲッティング可能な構築物に対してbsAbを惹起することが有利であることを見出した。この技術を用いることにより、キレート剤、金属キレート複合体、治療薬または診断薬の性質を、新規な適用ごとに新たなbsAbを惹起することなく種々の適用に適合するよう変えることができる。さらに、このアプローチを用いることにより、二以上の異なるキレート剤、金属キレート複合体または治療薬を本発明のbsAbとともに用いることができる。

#### 【0044】

本発明はさらに、ターゲッティング可能な構築物をスクリーニングする方法に関し、その方法は、

該ターゲッティング可能な構築物を、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントと接触させて混合物を得ること（該少なくとも1つのアームは標的細胞、組織もしくは病原体上、またはそれらによって産生さ

10

20

30

40

50

れる、もしくはそれらに関連する分子上の相補的結合部分に結合し得る) ; ならびに  
 所望により、該混合物をインキュベートすること ; ならびに  
 該混合物を分析すること  
 を含む。

#### 【 0 0 4 5 】

本発明のさらなる態様、特徴、および利点を以下に記載し、その一部が本明細書から自明であるか、本発明の実施によって確認されるであろう。本発明の実施態様および利点は、本明細書に特に示される手段および組み合わせによって実施および取得することができる。当業者ならば、本明細書に記載される実施態様が、記載されている他のいずれかの好適な実施態様と組み合わせで適宜使用可能なことが分かるであろう。

10

#### 【 発明の具体的説明 】

#### 【 0 0 4 6 】

特に断りのない限り、可算名詞 ( “ a ” または “ a n ” ) は 1 つ以上のものを意味する。

#### 【 0 0 4 7 】

本発明によれば、式 :

$X - R^1 - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  ; または  
 $R^1 (X) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$

20

[ 式中、

X は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬、または Ac - であり ;

R<sup>1</sup> は共有結合または同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり ;

R<sup>2</sup> は共有結合または同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり ;

R<sup>3</sup> は共有結合または同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり ;

Y は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、もしくは診断薬であるか、または存在せず ;

30

Z は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、もしくは診断薬であるか、または存在せず ;

A および B はハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく ; かつ、

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬および H からなる群から独立に選択される ]

を含んでなる化合物が提供される。本式では、Dpr は 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸である。これらの実施態様のいくつかのものでは、R<sup>1</sup> または R<sup>3</sup> が共有結合であるとき、他方の R<sup>1</sup> または R<sup>3</sup> は同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり得る。これらの実施形態およびその他の実施態様では、R<sup>2</sup> は同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり得る。これらの実施態様のさらに別の場合では、この化合物は式  $X - R^1 - D - Lys (A) - R^2 - D - Lys (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  を含むことができる。これらの実施態様のいくつかのものでは、R<sup>2</sup> は単一の D - アミノ酸である。他の実施態様では、R<sup>2</sup> は同じであっても異なってもよい 2 つの D - アミノ酸である。さらなる実施態様では、R<sup>3</sup> は D - Lys であり、Y は硬酸陽イオンキレート剤または軟酸陽イオンキレート剤である。これらの実施態様のいくつかのものでは、R<sup>2</sup> は D - Lys ではない。なおさらなる実施態様では、A および B はヒスタミン - スクシニル - グリシン ( HSG )、DTPA およびフルオレセインイソチオシアネートからなる群から独立に選択される。さらに他の実施態様では、R<sup>1</sup> は同じであっても異な

40

50

ていてもよい 1 以上の D - アミノ酸であり、 $R^2$  は同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり、 $R^3$  は共有結合であり、Y は存在せず、かつ、A および B はハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよい。さらなる実施態様では、A および B はハブテンであり、これらは同じであっても異なってもよい。これらの実施形態およびその他の実施態様では、 $R^1$  および  $R^2$  は単一の D - アミノ酸であり、これらは同じであっても異なってもよい。 $R^1$  が 1 を超えるアミノ酸であるとき、そのアミノ酸の 1 つ、任意の個数、または総てが (X) 基と結合していてもよい。同様に、 $R^2$  が 1 を超えるアミノ酸であるとき、そのアミノ酸の 1 つ、任意の個数、または総てが (Z) 基と結合していてもよい。いくつかの実施態様では、Z は存在しない。いくつかの実施態様では、X、Y、Z、 $R^4$  または  $R^5$  の 1 つまたは 2 つだけが酵素、治療薬または診断薬である。括弧はアミノ酸側鎖の置換基を示す。これらの分子がペプチドの主鎖にある場合には、それらは括弧で囲まれない。本発明において、当業者ならば、1 以上のアミノ酸とは 1 ~ 10 個のアミノ酸、有利には 1 ~ 5 個のアミノ酸をさすが、必要であれば 10 を超えるアミノ酸も使用できることが分かるであろう。

【0048】

さらなる実施態様では、 $R^1$  は D - Tyr、D - Ala、D - Ser、D - Thr、D - Cys、D - Leu、D - Ile、D - Met、D - Gln、D - Asn、D - Val、および D - Phe からなる群から選択される。さらなる実施態様では、 $R^1$  は D - Pro、D - His、D - Trp、D - Glu、D - Asp、D - Arg、および D - Lys からなる群から選択される。これらの実施形態およびその他の実施態様では、 $R^2$  は D - Asp、D - Glu および D - Tyr からなる群から選択される。本明細書に記載の実施態様のいくつかのものは、 $R^4$  および  $R^5$  はともに H である。他の実施態様では、X、 $R^4$  および  $R^5$  のうちの 1 つが硬酸陽イオンキレート剤である。これらの実施形態およびその他の実施態様では、残された X、 $R^4$  および  $R^5$  のうちの 1 つが軟酸陽イオンキレート剤である。いくつかの実施態様では、X は硬酸陽イオンキレート剤である。さらなる実施態様では、 $R^4$  および  $R^5$  の一方が硬酸陽イオンキレート剤である。いくつかの実施態様では、硬酸陽イオンキレート剤はカルボン酸基またはアミン基を含んでなる。なおさらなる実施態様では、硬酸陽イオンキレート剤は NOTA、DOTA、DTPA、および TETA からなる群から選択される。さらに他の実施態様では、X、 $R^4$  および  $R^5$  のうちの 1 つが軟酸陽イオンキレート剤であり、これはチオール基を含んでいてもよい。この軟酸陽イオンキレート剤は Tscg - Cys および Tsc a - Cys からなる群から選択することができる。本化合物のいくつかのものは、 $R^4$  および  $R^5$  の一方が軟酸陽イオンキレート剤であり、残りの  $R^4$  または  $R^5$  が H である。

【0049】

ある実施態様では、X は Ac - であり、A および B は硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく、 $R^3$  は共有結合であり、かつ、Y は存在しない。いくつかの実施態様では、X は Ac - であり、A および B はハブテンであり、これらは同じであっても異なってもよく、 $R^1$  は共有結合であり、かつ、Y は軟酸陽イオンキレート剤である。本化合物の具体例としては、

## 【化 3】

DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 271);

DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 277);

DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 288);

DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 0281);

DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 284)

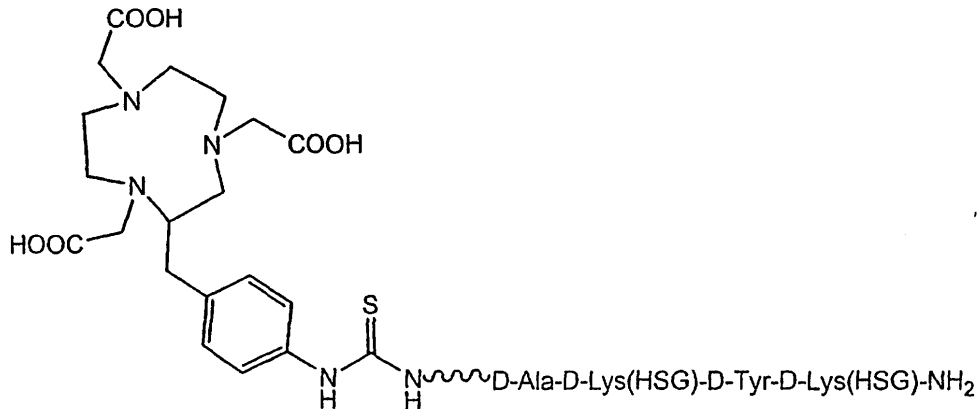
DOTA-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 301)

DOTA-D-Lys(HSG)-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 302)

DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Cys-NH<sub>2</sub> (IMP 305)

Ac-D-Lys(In-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(In-DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub> MH<sup>+</sup>  
1813 (IMP 297)

HCO-CO-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 289); および



が挙げられる。

## 【 0 0 5 0 】

本化合物のいくつかの実施態様では、(i) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つしか硬酸陽イオンキレート剤であることができず；かつ、(ii) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つしか軟酸陽イオンキレート剤であることができない。本化合物のさらなる具体例としては、

10

20

30

## 【化 4】

Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Phe-D-Lys(Bz-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(Bz-DTPA)-NH<sub>2</sub>  
 Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;  
 DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;  
 (Tscg-Cys)-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;  
 Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>;  
 (Tscg-Cys)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-D-Cys-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Cys-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH<sub>2</sub>;  
 Ac-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-D-Lys(TscG-Cys)-NH<sub>2</sub>; および  
 Ac-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-D-Lys(TscG-Cys)-NH<sub>2</sub>.

10

が挙げられる。

## 【0051】

20

これらの実施形態およびその他の実施態様では、これらの化合物は少なくとも1つの放射性核種をさらに含んでもよい。本化合物のいくつかのものでは、硬酸陽イオンキレート剤は、IIa族およびIIla族の金属陽イオンからなる群から選択される陽イオンとキレート化されている。これらの実施形態およびその他の実施態様では、軟酸陽イオンキレート剤は、遷移金属、Bi、ランタニド類およびアクチニド類からなる群から選択される陽イオンとキレート化されている。

## 【0052】

さらにその他の実施態様では、本化合物のR<sup>4</sup>またはR<sup>5</sup>は治療薬、診断薬または酵素である。

## 【0053】

30

本化合物のいくつかのものでは、そのアミノ酸主鎖は2～約50、75、85または100連続アミノ酸の長さを有し得る。例えば、R<sup>1</sup>またはR<sup>3</sup>は約1、2、5、10または15アミノ酸～約20、25、30または35アミノ酸長であり得る。ある化合物では、このアミノ酸鎖は3、4、5、6、7、8、9または10アミノ酸長である。ある実施態様では、R<sup>2</sup>は1、2、または3アミノ酸長である。いくつかの実施態様では、本発明はまた、本化合物のいずれかを含んでなるターゲッティング可能な構築物も提供する。本化合物のいくつかのものでは、そのアミノ酸主鎖は環状であるが、他のものでは直鎖である。本化合物はとりわけターゲッティング可能な構築物として有用である。

## 【0054】

望ましくは、ターゲッティング可能な構築物は、少なくとも2単位の認識可能なハプテンを有するペプチドを含む。認識可能なハプテンの例としては、限定されるものではないが、ヒスタミンスクシニルグリシン(HSG)およびフルオレセインイソチオシアネートが挙げられる。ターゲッティング可能な構築物は罹患組織の処置または同定に有用な種々の薬剤と結合させることができる。結合される薬剤の例としては、限定されるものではないが、キレート剤、金属キレート複合体、薬物、毒素(例えば、リシン、アブリン、リボヌクレアーゼ(例えば、RNアーゼ)、DNアーゼI、ブドウ球菌エンテロトキシン-A、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒、シュードモナス外毒素、シュードモナス内毒素)およびその他のエフェクター分子が挙げられる。さらに、プロドラッグの活性化または薬物の標的特異的毒性の増強に有用な酵素を、ターゲッティング可能な構築物に結合させることができる。従って、ターゲッティング可能な構築物

40

50

に対して反応性のある b s A b の使用により、適用ごとに新しい b s A b を惹起することなく種々の治療および診断適用を行うことができる。

#### 【0055】

二重特異性抗体 ( b s A b ) プレターゲッティングは、診断および治療適用の潜在的に免疫原性のない、選択性の高い代替法である。本明細書に記載の b s A b プレターゲッティング系は、種々の異なるイメージング剤または治療薬とともに用いるために開発できる可能性があるという点で、他のプレターゲッティング系に優る、さらなる著しい利点がある。この系の柔軟性は、ヒスタミン - スクシニル - グリシン ( H S G ) に対する抗体の使用と H S G 残基を含むペプチドの開発に基づくものである。H S G 含有ペプチドは  $^{111}\text{In}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、または  $^{177}\text{Lu}$  のキレート化のための D O T A、あるいはテクネチウム / レニウムキレートを用いて合成したものである。プレターゲッティングでは、これらのペプチドは、抗癌胎児抗原 ( C E A ) または抗結腸特異的抗原 - p ( C S A p ) 抗体のいずれかの F a b ' で化学的に安定化させた抗 H S G F a b ' を用いた二重特異性抗体と組み合わせて使用され、これにより、これらの抗原を発現する腫瘍への腫瘍ターゲッティングが可能とされる。しかしながら、他の抗原標的としては、C D 19、C D 20、C D 21、C D 22、C D 23、C D 25、C D 30、C D 74、C D 80、H L A - D R、I a、M U C 1、M U C 2、M U C 3、M U C 4、E G F R、H E R 2 / n e u、P A M - 4、B r E 3、T A G - 72 ( B 72 . 3 , C C 49 )、E G P - 1 ( 例えば R S 7 )、E G P - 2 ( 例えば 17 - I A およびその他の E p - C A M 標的 )、L e ( y ) ( 例えば B 3 )、A 3、K S - 1、S 100、I L - 2、T 101、壊死抗原、葉酸受容体、脈管形成因子 ( 例えば V E G F )、テネイシン、P S M A、P S A、腫瘍関連サイトカイン、M A G E、および / またはそのフラグメントなどに対する当技術分野で公知の多様な腫瘍関連抗原が挙げられる。組織特異的抗体 ( 例えば、C D 34、C D 74 などのような骨髓細胞に対するもの、パラチログロブリン抗体など )、ならびに血餅のフィブリン、アテローム性動脈硬化斑のマクロファージ抗原 ( 例えば C D 74 抗体 ) などの非悪性罹患組織に対する抗体、また、特定の病原体の抗体 ( 例えば、細菌、ウイルスおよび寄生虫に対するもの ) が当技術分野で周知である。

#### 【0056】

これらのペプチドは、精製の必要がない容易な方法により、高い特異的活性を持つように放射性標識することができる。いくつかの実施態様では、これらのペプチドは、腫瘍または正常組織における最低限の保持量を残し、身体から迅速にクリアリングされる。本明細書に記載のプレターゲッティング系は柔軟性が高く、診断イメージングおよび治療上着目される幅広い化合物アレイを用いることができ、また、優れた腫瘍の取り込み比およびターゲッティング比を達成することでこれらの適用における使用に極めて有望となる。

#### 【0057】

さらに、哺乳類において標的細胞、組織または病原体を検出および / または処置する方法が含まれ、その方法はターゲッティング可能な構築物としての 1 以上の本化合物の有効量を投与することを含む。この方法は、標的細胞、組織または病原体に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、ターゲッティング可能な構築物に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを含んでなる二重特異性抗体または抗体フラグメントを投与することをさらに含み得る。本明細書において「病原体」とは、限定されるものではないが、真菌 ( 例えば、小孢子菌、白癬菌、表皮菌、スポロトリクス・シェンキー、シルプトコッカス・ネオフォルマンズ、コクシジオイデス・イミチス、ヒストプラズム・カプスラツム、プラストミセス・デルマティティディス、カンジダ・アルビカンス )、ウイルス ( 例えば、ヒト免疫不全ウイルス ( H I V )、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、B 型肝炎ウイルス、センダイウイルス、ネコ白血病ウイルス、レオウイルス、ポリオウイルス、ヒト血清バルボ様ウイルス、シミアンウイルス 40、呼吸器多核体 ( R S ) ウイルス、マウス乳癌ウイルス、水疱 - 帯状疱疹ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルス、ヒト T 細胞白血病ウイルス、エプスタイン - バーウイルス、マウス白血病ウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス



、水疱性口内炎ウイルス、シンドビスウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、疣贅ウイルスおよびブルータングウイルス)、寄生虫、細菌(例えば、炭疽菌、ストレプトコッカス・アガラクチエ、レジューネラ・ニューモフィラ、化膿連鎖球菌、大腸菌、淋菌、髄膜炎菌、肺炎双球菌、B型インフルエンザ菌、梅毒トレポネーマ、ライム病スピロヘータ、緑膿菌、らい菌、ウシ流産菌、結核菌および破傷風毒素)、マイコプラズマ(例えば、マイコプラズマ・アルスリティディス、M・ヒオリニス、M・オーラル、M・アルギニニ、アコレプラズマ・ライドラウィー、M・サリバルム、および肺炎マイコプラズマ)、ならびに原生動物(例えば、熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、トキソプラズマ、ランゲリ・トリパノソーマ、クルーズ・トリパノソーマ)、ローデシア・トリパノソーマ、ブルセイ・トリパノソーマ、マンソン住血吸虫、日本住血吸虫、ウシバベシア、エルメリア・テネラ、回旋糸状虫、熱帯リーシュマニア、旋毛虫、回旋糸状虫、タイレリア・パルバ、胞状条虫、テニア・オビス、カギナシサナダ、単胞条虫およびメソセストイデス・コルチが挙げられる。米国特許第5,332,567号参照。

10

#### 【0058】

本明細書ではまた、抗体および抗体フラグメントも提供される。抗体フラグメントは、抗体の抗原結合部分であり、 $F(ab')_2$ 、 $F(ab)_2$ 、 $Fab'$ 、 $Fab$ などである。抗体フラグメントは、無傷の抗体によって認識される抗原と同一の抗原と結合する。例えば、抗CD22モノクローナル抗体フラグメントは、CD22のエピトープと結合する。

20

#### 【0059】

「抗体フラグメント」には、特定の抗原との結合によって複合体を形成する抗体のように作用する任意の合成または遺伝子操作されたタンパク質も含まれる。例えば、抗体フラグメントには、重鎖および軽鎖の可変領域からなる単離フラグメントの「Fv」フラグメント、軽鎖および重鎖可変領域がペプチドリinker(「sfvタンパク質」)によって連結されている組換え一本鎖ポリペプチド分子、および「超可変領域」を模倣するアミノ酸残基からなる最小の認識単位が含まれる。これらのいわゆる「超可変」領域または「相補性決定領域」(CDR)のうち3つが軽鎖または重鎖の各可変領域に見られる。各CDRは比較的保存されているフレームワーク領域(FR)によってフランキングされている。FRは可変領域の構造的完全性を維持しているものと思われる。軽鎖のCDRおよび対応する重鎖のCDRが抗原結合部位を形成する。CDRの「超可変性」により、抗体の特異性の多様性が説明される。

30

#### 【0060】

本明細書において「被験体」とは、動物(すわなち、脊椎動物および無脊椎動物)をいい、限定されるものではないが、ヒトおよびその他の霊長類、齧歯類(例えば、マウス、ラットおよびモルモット)、ウサギ類(例えば、ウサギ)、ウシ類(例えば、蓄牛)、ヒツジ類(例えば、ヒツジ)、ヤギ類(例えば、ヤギ)、ブタ類(例えば、ブタ)、ウマ類(例えば、ウマ)、イヌ類(例えば、イヌ)、ネコ類(例えば、ネコ)、家禽類(例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、アヒル、ガチョウ、その他のキジ類など)、ならびに限定されるものではないが、有蹄類(例えば、シカ)、クマ、魚類、ウサギ類、齧歯類、鳥類などの動物をはじめとする、野生化した、または野生の動物が挙げられる。この用語は特定の年齢または性に限定されるものではない。よって、雄であれ雌であれ、成体および新生被験体、ならびに胎児もこの用語に包含される。

40

#### 【0061】

本化合物とともに使用するための好適な抗体およびフラグメントとしては以下のものが挙げられる: "Anti-CD20 Antibodies And Fusion Proteins Thereof And Methods Of Use"と題された米国仮出願、代理人事件番号18733/1073、米国仮出願第60/356,132号、米国仮出願第60/416,232号および代理人事件番号18733/1155(その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる)に記載されているもののような抗CD20抗体に由来するFv;米国特許第5,874,540号(その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる)に開示されているもの

50

のような、クラスIII抗癌胎児性抗原抗体（抗CEA抗体）であるhMN-14抗体；米国特許出願第10/116,116号（その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されているもののようなMu-9抗体；米国仮特許出願第60/360,259号（その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されているもののようなLL1抗体；米国仮特許出願第60/399,707号（その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されているもののようなAFP抗体；"Monoclonal Antibody cPAM4"と題された米国仮出願、代理人事件番号18733/1102（その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されているもののようなPAM4抗体；米国仮出願第60/360,229号（その全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されているもののようなRS7抗体；米国仮特許出願第60/414,341号に開示されているもののようなヒト化MN3抗体；ならびに米国特許第5,789,554号および同第6,187,287号、および米国特許出願第09/741,843号および同第09/988,013号（それらの全開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に開示されているもののようなCD22抗体。引用されている出願に含まれているように、造血系腫瘍および固形腫瘍の他の多くの腫瘍関連抗原が当業者に知られており、（限定されるものではないが）CD15、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD40、CD45、CD66、CD74、CD80、Ii、Ia、HLA-DR、PSMA、PSA、前立腺(prostatic)酸性ホスファターゼ、テネイシン、Le(y)、AFP、HCG、CEA、CSAp、PAM4、MUC1、MUC2、MUC3、MUC4、EGP-1、EGP-2、EGFR、HER2/neu、インスリン増殖因子受容体、S100、VEGF、胎盤増殖因子(PLGF)、胎盤アルカリ性ホスファターゼ、壊死産物、癌遺伝子産物などが挙げられる。本化合物はまた、上記の出願に開示されている方法のいずれと併用することもできる。

10

20

30

40

50

#### 【0062】

#### II. 抗体に対してターゲッティング可能な構築物

ターゲッティング可能な構築物は本明細書に記載のように多様な構造であり得る。好ましい実施態様では、これらの化合物は、免疫応答の惹起をなくすため、かつ/またはbsAbターゲッティング法の範囲内で使用する場合はin vivoで迅速にクリアリングされるように選択される。強い免疫応答の惹起には疎水性の薬剤が最良であるのに対し、迅速なin vivoクリアリングのためには親水性の薬剤が好ましく、従って、疎水性と親水性の間のバランスを確立する必要がある。これは、多くの有機部分の固有の疎水性を相殺する親水性キレート剤の使用に一部依存することにより達成される。また、反対の溶解特性を有するターゲッティング可能な構築物のサブユニット（例えば、ペプチド）を選択することができ、あるものは疎水性であり、またあるものは親水性であるアミノ酸を含む。ペプチド以外に、炭水化物を使用することができる。

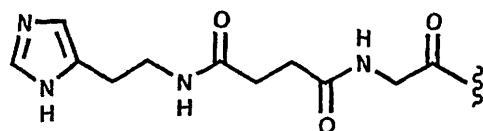
#### 【0063】

本化合物においては、天然および非天然アミノ酸を含め、いずれのアミノ酸を用いてもよい。

#### 【0064】

ターゲッティング可能な構築物は2つといったわずかなアミノ酸残基（好ましくはアミノ酸残基2~10個）を有するペプチド主鎖を含むことができ、キレート剤などの他の部分と結合させることができる。ターゲッティング可能な構築物は、好ましくはキレート剤に結合されていてもよい任意の金属イオンを含めて50,000ダルトン未満、有利には約20,000ダルトン未満、10,000ダルトン未満、または5,000ダルトン未満の分子量を有する低分子量の構築物であるべきである。例えば、公知のペプチドDTPA-Tyr-Lys(DTPA)-OH（ここで、DTPAはジエチレントリアミン五酢酸である）を使用して分子のインジウム-DTPA部分に対する抗体を作製している。しかし、非インジウム含有分子の使用および適切なスクリーニング工程により、チロシル-リジンジペプチドに対する新規のAbを作製することができる。より通常には、ターゲッ

ティング可能な構築物の抗原ペプチドは、ペプチド D O T A - D - P h e - D - L y s ( H S G ) - D - T y r - D - L y s ( H S G ) - N H <sub>2</sub> (ここで、D O T A は 1 , 4 , 7 , 10 - テトラアザシクロデカン四酢酸であり、H S G は式：  
【化 5】



のヒスタミンスクシニルグリシル基である) など、4 以上の残基を有する。

10

#### 【0065】

非金属含有ペプチドを免疫原として使用し、得られた A b を D - P h e - D - L y s - D - T y r - D - L y s 主鎖に対する反応性についてスクリーニングしてもよい。

#### 【0066】

ターゲッティング可能な構築物のハプテンも、例えば化学ハプテンなど、免疫認識部分を提供する。化学ハプテン、好ましくは H S G ハプテンを用いると、抗体に対する構築物の高い特異性が示される。これは、H S G ハプテンに対して惹起された抗体は公知であり、適当な b s A b に容易に組み込むことができることに基づく。よって、このペプチド主鎖に対するハプテンの結合により、b s A b または b s F a b に対して特異的なターゲッティング可能な構築物が得られる。

20

#### 【0067】

本発明者らは、D - アミノ酸主鎖を有するペプチドが、1 個または数個の D - アミノ酸が主鎖に組み込まれているペプチドと比較しても *in vitro* および *in vivo* で安定であることを見出した。非天然アミノ酸、例えば、D - アミノ酸の、ペプチド主鎖構造への組み込みはまた、最終的に b s A b / 構築物系とともに用いる場合、ターゲッティング可能な構築物を認識する b s A b のアームが特異的であることを保証する助けともなる。本発明はさらに、非天然アミノ酸およびペプチドから構築されたものなどの他の主鎖構造も意図する。

#### 【0068】

このように使用されるペプチドは、固相支持体および標準的な連続的直交脱保護およびカップリング技術を用いた自動ペプチド合成装置によって便宜に合成することができる。ペプチド中の遊離のアミノ基（これは、後にキレート複合体として使用される）を、アセチル基などの標準的な保護基でブロックするのが有利である。このような保護基は当業者に公知である。Greene and Wuts Protective Groups in Organic Synthesis, 1999 (John Wiley and Sons, N. Y.) 参照。ペプチドを、その後 b s A b 系で用いるために調製する場合、*in vivo* におけるカルボキシペプチダーゼ活性を阻害するために樹脂から切断して対応する C 末端アミドを作出するのが有利である。

30

#### 【0069】

##### III. キレート部分

ターゲッティング可能な構築物における親水性のキレート部分の存在は、迅速な *in vivo* のクリアランスを保証する助けとなる。キレート剤は親水性の他、それらの金属結合特性に関して選択され、少なくとも、その b s A b エピトープがペプチドの一部であるか、または非キレート化学ハプテンであるターゲッティング可能な構築物に関しては金属 - キレート複合体の認識がもはや問題ではないので、所望に応じて変更してもよい。

40

#### 【0070】

特に有用な金属 - キレートの組み合わせとしては、放射イメージングおよび R A I T 用の <sup>47</sup>S c、<sup>52</sup>F e、<sup>55</sup>C o、<sup>67</sup>G a、<sup>68</sup>G a、<sup>111</sup>I n、<sup>89</sup>Z r、<sup>90</sup>Y、<sup>161</sup>T b、<sup>177</sup>L u、<sup>212</sup>B i、<sup>213</sup>B i、および <sup>225</sup>A c とともに用いる 2 - ベンジル - D T P A、ならびにそのモノメチルおよびシクロヘキシル類似体が挙げられる。本発明の b s A b とともに用いる場合、同じキレート剤を、M R I で用いる M n、

50

FeおよびGdなどの非放射活性金属と複合体を形成させる。NOTA(1, 4, 7-トリアザ-シクロノナン-N, N', N"-三酢酸)、DOTA、およびTETA(p-プロモアセタミド-ベンジル-テトラエチルアミン四酢酸)などの大環キレート剤は種々の金属および放射性金属とともに、より詳しくはそれぞれGa、YおよびCuの放射性核種とともに用いられる。

#### 【0071】

DTPAおよびDOTA型のキレート剤は、リガンドがカルボン酸基またはアミノ基などの硬塩基キレート官能基を含む場合、硬酸陽イオン、特にIIa族およびIIIa族の金属陽イオンをキレート化するのに最も有効である。このような金属-キレート複合体は、対象とする金属に環のサイズを適合させることで極めて安定にすることができる。RAITのための $^{223}\text{Ra}$ など、安定に結合する核種としては、大環ポリエーテルなどの他の環状キレート剤が対象となる。ポルフィリンキレート剤は多くの放射性金属とともに用いることができ、bsAbに向けられた免疫光療法のための特定の非放射活性金属複合体としても有用である。また、1を超える種類のキレート剤をターゲティング可能な構築物に結合させて複数の金属イオン、例えば非放射活性イオン、診断用放射性核種および/または治療用放射性核種と結合させてもよい。

#### 【0072】

ターゲティング可能な構築物のキレート剤と結合させることができる特に有用な診断用放射性核種としては、限定されるものではないが、 $^{110}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{120}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{154-158}\text{Gd}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{51}\text{Mn}$ 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{75}\text{Br}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{82\text{m}}\text{Rb}$ 、 $^{83}\text{Sr}$ 、またはその他の、または陽電子放射剤が挙げられる。好ましくは、診断用放射性核種としては、25~10,000 keVの範囲、より好ましくは25~4,000 keVの範囲、いっそうより好ましくは20~1,000 keVの範囲、なおいっそうより好ましくは70~700 keVの範囲の崩壊エネルギーを含む。有用な陽電子放射放射性核種の崩壊エネルギーは好ましくは<2,000 keV、より好ましくは1,000 keV未満であり、最も好ましくは<700 keVである。線検出を利用する診断薬として有用な放射性核種としては、限定されるものではないが、Cr-51、Co-57、Co-58、Fe-59、Cu-67、Ga-67、Se-75、Ru-97、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、In-111、In-114m、I-123、I-125、I-131、Yb-169、Hg-197およびTl-201が挙げられる。有用な線放出放射性核種の崩壊エネルギーは好ましくは20~2000 keV、より好ましくは60~600 keV、および最も好ましくは100~300 keVである。

#### 【0073】

好ましくは、ターゲティング可能な構築物のキレート剤に結合させることができる有用な治療用放射性核種としては、限定されるものではないが、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{111}\text{Ag}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{189}\text{Re}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{77}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{143}\text{Pr}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{194}\text{Ir}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$ および $^{211}\text{Pb}$ が挙げられる。治療用放射性核種は好ましくは25~10,000 keVの範囲の崩壊エネルギーを有する。有用な粒子放出核種の崩壊エネルギーは好ましくは25~5,000 keV、より好ましくは100~4,000 keV、最も好ましくは500~2,500 keVである。また、オージェ放出粒子により実質的に崩壊する放射性核種も好ましい。例えば、Co-58、Ga-67、Br-80m、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、Rh-103m、Pt-109、In-111、Sb-119、I-125、Ho-161、Os-189mおよびIr-192がある。有用な粒子放出核種

10

20

30

40

50

の崩壊エネルギーは好ましくは $< 1,000 \text{ keV}$ 、より好ましくは $< 100 \text{ keV}$ 、最も好ましくは $< 70 \text{ keV}$ である。また、粒子の生成によって実質的に崩壊する放射性核種も好ましい。このような放射性核種としては、限定されるものではないが、 $\text{Dy} - 152$ 、 $\text{At} - 211$ 、 $\text{Bi} - 212$ 、 $\text{Ra} - 223$ 、 $\text{Rn} - 219$ 、 $\text{Po} - 215$ 、 $\text{Bi} - 211$ 、 $\text{Ac} - 225$ 、 $\text{Fr} - 221$ 、 $\text{At} - 217$ 、 $\text{Bi} - 213$ および $\text{Fm} - 255$ が挙げられる。有用な粒子放出放射性核種の崩壊エネルギーは好ましくは $2,000 \sim 9,000 \text{ keV}$ 、より好ましくは $3,000 \sim 8,000 \text{ keV}$ 、最も好ましくは $4,000 \sim 7,000 \text{ keV}$ である。

#### 【0074】

米国特許第5,753,206号に開示のキレート剤（特に、チオセミカルバゾニルグリオキシルシステイン（ $\text{Tscg-Cys}$ ）およびチオセミカルバジニルアセチルシステイン（ $\text{TscA-Cys}$ ）キレート剤）を有利に使用して、 $\text{Tc}$ 、 $\text{Re}$ 、 $\text{Bi}$ 、ならびに軟塩基リガンド（特に、硫黄またはリン含有リガンド）に強く結合する他の遷移金属、ランタニドおよびアクチニドの軟酸陽イオンを結合させる。これは、ペプチドへの1種より多い型のキレート剤、例えば、 $\text{In}(\text{III})$ 陽イオンには $\text{DTPA}$ などの硬酸キレート剤、および $\text{Tc}$ 陽イオンには軟酸キレート剤（例えば、 $\text{Tscg-Cys}$ などのチオール含有キレート剤）の結合に有用であり得る。ジ $\text{DTPA}$ ハプテンに対する抗体が公知（Barbet '395, 前掲）であり、標的抗体と容易に結合して $\text{bsAb}$ を形成するので、プレターゲットイングプロトコールにおける放射性同位元素標的用の、非放射性ジ $\text{DTPA}$ キレート剤および放射性同位元素結合用の他のキレート剤を有するペプチドハプテンを使用することができる。このようなペプチドの一例は、 $\text{Ac-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH}_2$ である。このペプチドに予め $\text{In}(\text{III})$ を付加した後、 $99\text{-m-Tc}$ 陽イオンで標識することができ、 $\text{In}(\text{III})$ イオンは $\text{DTPA}$ によって優先的にキレート化され、 $\text{Tc}$ 陽イオンはチオール含有 $\text{Tscg-Cys}$ に優先的に結合する。 $\text{NOTA}$ 、 $\text{DOTA}$ 、 $\text{TETA}$ などの他の硬酸キレート剤を、 $\text{DTPA}$ 基と置換することができ、それらに特異的な $\text{Mab}$ を、類似の技術を用いて産生することができ、これを使用して抗ジ- $\text{DTPA Mab}$ を作製することができる。

#### 【0075】

2つの異なる硬酸または軟酸キレート剤を、異なるサイズの陽イオン、キレート環の幾何学、および陽イオンの好ましい複合体イオン構造によって、2つの異なる硬酸または軟酸陽イオンに優先的に結合するように、リンカーに（例えば、異なるキレート環のサイズで）組込むことができると考えられる。これにより、2つの異なる金属（その1つまたは両方が放射性であるか、 $\text{MRI}$ 増強に有用であるものでよい）を、プレターゲットイングされた $\text{bsAb}$ による最終的な捕捉のためのリンカーに組み込ませる。

#### 【0076】

好ましいキレート剤としては $\text{NOTA}$ 、 $\text{DOTA}$ および $\text{Tscg}$ 、ならびにそれらの組み合わせが挙げられる。これらのキレート剤は以下の構築物：

10

20

30

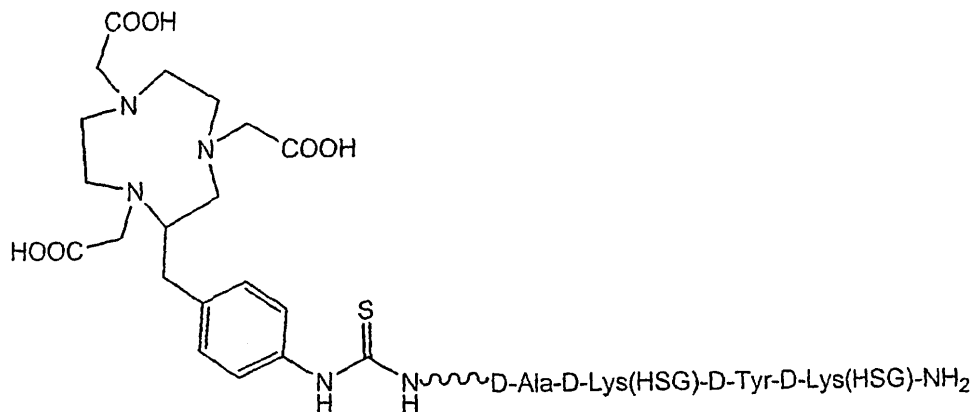
## 【化 6】

DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 271);  
 DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 277);  
 DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 288);  
 DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 0281);  
 DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 284)  
 DOTA-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 301)  
 DOTA-D-Lys(HSG)-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-  
 Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 302)  
 DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Cys-NH<sub>2</sub> (IMP 305)

10

Ac-D-Lys(In-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(In-DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub> MH<sup>+</sup>  
 1813 (IMP 297)

HCO-CO-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 289); および



20

30

に例示されるように、キレート剤 - ペプチド複合体モチーフに組み込まれている。

## 【0077】

上記のキレート剤 - ペプチド複合体は<sup>68</sup>Gaと結合することができることから、ポジトロン放射断層撮影 (PET) 適用に有用である。

## 【0078】

キレート剤は標準的な化学を用いてターゲッティング可能な構築物のペプチドに結合されるが、そのいくつかは以下の実施例で詳しく開示される。

## 【0079】

## IV. 金属キレート調製の一般法

キレート剤 - ペプチド複合体は、固体として長期保存することができる。これらを、金属結合反応のための単位用量に定量し、固体、液体、または半液体溶液、凍結溶液または凍結乾燥調製物のいずれかとして単位用量で保存できる。これらは周知の手順によって標識することができる。

40

## 【0080】

典型的には、硬酸陽イオンを、便宜な塩の溶液として導入し、硬酸キレート剤または可能ならば軟酸キレート剤によって取り上げる。しかし、その後の軟酸陽イオンの添加によって、軟酸キレート剤によるその結合が誘導されて、キレート化することができる任意の硬酸陽イオンが置き換わる。例えば、過剰な非放射性<sup>111</sup>InCl<sub>3</sub>の存在下でさえ、*in situ*で塩化ズスおよびNa<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>を用いて作製された<sup>99m</sup>Tc(V)グルコヘプトネートまたはTc陽イオンでの標識は、軟酸キレート剤に対して定量的に進

50

行する。

【0081】

他の軟酸陽イオン ( $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{213}\text{Bi}$  など) および  $\text{Mn}$ 、 $\text{Co}$ 、 $\text{Ni}$ 、 $\text{Pb}$ 、 $\text{Cu}$ 、 $\text{Cd}$ 、 $\text{Au}$ 、 $\text{Fe}$ 、 $\text{Ag}$  (一価)、 $\text{Zn}$ 、および  $\text{Hg}$  の二価または三価の陽イオン (特に、 $^{64}\text{Cu}$  および  $^{67}\text{Cu}$ ) (これらのいくつかは放射免疫診断または放射免疫治療に有用である) を、類似の方法によってリンカーペプチドに付加することができる。 $\text{Re}$  陽イオンを、過レニウム酸塩および錫イオンから *in situ* で作製するか、予め還元したグルコヘプトン酸レニウムまたは他のトランスキレート剤を使用することができる。過レニウム酸塩の還元には  $\text{Tc}$  の還元に必要なものよりも多量の錫イオン (典型的には、 $200\text{ }\mu\text{g/mL}$  を超える最終濃度) を必要とするので、高レベルの錫イオンがジスルフィド環化ペプチドに存在するもののような感受性ジスルフィド結合を還元させないように、十分注意が必要である。レニウムで放射性標識する際にも  $\text{Tc}-99\text{m}$  で用いたものと同様の手順が用いられる。 $\text{Tscg}-\text{Cys}$ -リガンドの  $\text{ReO}$  金属複合体の調製のための1つの方法は、ペプチドの  $\text{ReOCl}_3(\text{P}(\text{Ph}_3)_2)_2$  との反応であるが、 $\text{ReO}$  (エチレンジアミン) $_2$  などの他の還元種の使用も可能である。

10

【0082】

V. 投与法

以下に示される考察の多くは、罹患組織を処置する場合の、本開示のターゲッティング可能な構築物の使用に着目するものであることに注意すべきである。しかしながら、本発明は、米国特許第6,126,916号、同第6,077,499号、同第6,010,680号、同第5,776,095号、同第5,776,094号、同第5,776,093号、同第5,772,981号、同第5,753,206号、同第5,746,996号、同第5,697,902号、同第5,328,679号、同第5,128,119号、同第5,101,827号、および同第4,735,210号 (これらは引用することにより本明細書の一部とされる) に記載の方法を用いて、正常な組織および臓器の処置および/またはイメージングに本二重特異性抗体およびターゲッティング可能な構築物を用いることも意図する。本明細書において「組織」とは、限定されるものではないが、卵巣、胸腺、副甲状腺、骨髄または脾臓由来の組織をはじめとする組織をさす。正常組織をターゲッティングする場合に重要な使用としては、子宮内膜症など、異所性の (すなわち、正規の位置からはずれている) 組織を同定および処置することである。

20

30

【0083】

上記で論じた  $\text{bsAb}$  およびターゲッティング可能な構築物の投与は、リンカー部分と結合した治療薬の投与前のいずれかの時間に  $\text{bsAb}$  を投与することにより行えばよい。試薬の用量およびタイミングは、当業者ならば容易に判断することができ、これは、使用する試薬の特定の性質によって異なる。 $\text{bsAb}-\text{F}(\text{ab}')_2$  誘導体を最初に投与する場合、ターゲッティング可能な構築物の投与前に1~6日間待機するのが適切である。 $\text{IgG}-\text{F}(\text{ab}')_2$   $\text{bsAb}$  複合体が一次標的ベクターである場合、このリンカー部分の投与前の待機時間はより長く、3~15日間の範囲で指示すればよい。あるいは、 $\text{bsAb}$  およびターゲッティング可能な構築物はカクテル型または一方の後に他方を投与することのいずれかで実質的に同時に投与することもできる。

40

【0084】

多様な診断薬および治療薬を、本ターゲッティング可能な構築物に有利に結合させることができる。一般に、診断薬および治療薬としては、同位元素、薬物、毒素、サイトカイン、サイトカイン複合体、ホルモン、増殖因子、複合体、放射性核種、造影剤、金属、細胞傷害剤および免疫調節剤が挙げられる。例えば、ガドリニウム金属は磁気共鳴イメージングに用いられ、フルオロクロムは光線力学療法と組み合わせることができる。さらに、造影剤はMRI造影剤 (ガドリニウムイオン、ランタンイオン、マグネシウムイオン、鉄、クロム、銅、コバルト、ニッケル、ジスプロシウム、レニウム、ユーロピウム、テルビウム、ホルミウム、ネオジウム、またはその他の匹敵する標識など)、CT造影剤、および超音波造影剤であり得る。さらなる診断薬としては、蛍光標識化合物 (フルオレセイン

50

イソチオシアネート、ローダミン、フィコエリセリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、*o*-フタルデヒドおよびフルオレサミンなど)、化学発光化合物(ルミノール、イソルミノール、芳香族アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルなど)、および生物発光化合物(ルシフェリン、ルシフェラーゼおよびエクオリンなど)が挙げられる。また、放射性核種も診断および/または治療薬として使用することができ、例えば、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、および $^{211}\text{At}$ が挙げられる。

#### 【0085】

治療薬としてはまた、例えば、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン、エピドフィロトキシン、タキサン、代謝拮抗物質、アルキル化剤、抗体、 $\text{COX-2}$ 阻害剤、有糸分裂阻害剤、抗血管形成剤、およびアポトーシス剤、特にドキソルビシン、メトトレキサート、タキソール、 $\text{CPT-11}$ 、カンプトテカンなどの化学療法薬、ならびにこれらおよび他種の抗癌剤に由来するもの含まれる。免疫複合体および抗体融合タンパク質の調製に有用な他の治療薬としては、ナイトロジェンマスタード、スルホン酸アルキル、ニトロソ尿素、トリアゼン、葉酸類似体、 $\text{COX-2}$ 阻害剤、ピリミジン類似体、プリン類似体、プラチナ錯体、ホルモンなどが挙げられる。好適な治療薬は、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 19th Ed. (Mack Publishing Co. 1995)、およびGOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 7th Ed. (MacMillan Publishing Co. 1985)、ならびにこれらの刊行物の改訂版に記載されている。試験中の薬物など、その他の好適な治療薬は当業者に公知である。治療薬はまた、限定されるものではないが、他の薬物、プロドラッグおよび/または毒素も含み得る。「薬物」、「プロドラッグ」および「毒素」の用語は本明細書を通じて定義される。「診断薬」または「診断」とは、限定されるものではないが、検出剤、検出、または局在化を含む。

#### 【0086】

ターゲッティング可能な構築物が診断薬を含む場合、 $b s A b$ は治療薬の投与前に投与するのが好ましい。この $b s A b$ が罹患組織をターゲッティングするのに十分な時間が経過後、診断薬を、ターゲッティング可能な構築物の手段により投与すれば、結果として画像化が達成できる。適当な波長の光を当てた後にそれを回収して種々の構造を直接的または間接的に可視化する手段により、または放射性プローブもしくは経口検出器などのような特殊な検出器によっても、体腔中の腫瘍を検出することができる。非電離放射線を当ててこれらの構造から再捕捉することができる限り、いずれの身体部位の病変も可視化することができる。例えば、高分解能で非侵襲性の画像化技術であるPETを、ヒト疾患の可視化のための本発明の抗体およびターゲッティング可能な構築物とともに使用することができる。PETでは、陽電子消滅崩壊の際に生じた $511\text{keV}$ の光子が検出される。X線、コンピューター断層撮影(CT)、MRIおよびイメージング(例えば、単光子放出コンピューター断層撮影法Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT))もまた、これらの理学療法とともに機能する診断薬の使用を通して用いることができる。

#### 【0087】

先に考察したように、ターゲッティング可能な構築物は $25 \sim 10,000\text{keV}$ の、およびオージェ粒子および/または陽電子を放射する放射性診断薬を含み得る。このような薬剤の例としては、限定されるものではないが、 $^{18}\text{S}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{154}\text{Gd}$ 、 $^{158}\text{Gd}$ および $^{175}\text{Lu}$ が挙げられる。

#### 【0088】

本 $b s A b$ または $b s F a b$ は、米国特許第6,096,289号、同第4,331,647号、同第4,818,709号、同第4,348,376号、同第4,361,544号、同第4,444,744号、同第5,851,527号に記載のように、光線力



学療法 ( P T D ) の方法において使用することができる。 P D T では、光増感剤、( 例えば、ジヘマトポルフィリンエーテルなどのヘマトポルフィリン誘導体 ) を被験体に投与する。例えば 630nm の光を用いて抗腫瘍活性を誘導する。皮膚の太陽光線による光増感が不十分である場合、別の光増感剤 ( より長い波長で有用な物質を含む ) を使用することができる。このような光増感剤の例としては、限定されるものではないが、ベンゾポルフィリン-酸環 A ( B P D - M A ) 、錫エチオブルプリン ( S n E T 2 ) 、スルホン化アルミニウムフタロシアニン ( A l S P c ) 、およびルテチウムテキサフィリン ( L u t e x ) が挙げられる。

#### 【 0089 】

さらに、 P D T では、診断薬を、例えば全身注射し、レーザー誘起蛍光法を使用して光活性剤が結合した癌部位を内視鏡 ( ワイヤレスのカプセルサイズの内視鏡またはカメラを含む ) によって検出することができる。例えば、これは初期肺腫瘍の蛍光気管支鏡検査に適用されている。Doiron et al, Chest 76:32(1979)。別の例では、これらの抗体および抗体フラグメントを、単光子放出に使用することができる。例えば、本発明の抗体または抗体フラグメントの投与後に、被験体へ T c - 99m 標識診断薬を投与することができる。次いで、被験体を線カメラでスキャンして単光子放出コンピューター断層撮影画像を得て病変または腫瘍部位を決定する。

#### 【 0090 】

治療上有用な免疫複合体は光活性剤または色素を抗体コンボジットにコンジュゲートさせることにより得られる。蛍光およびその他の色素源または色素 ( 可視光に感受性のあるポルフィリンなど ) は、病変部に適当な光を照射することにより病変部を検出および処置するのに使用されてきた。療法では、これは光照射、光線療法または光線力学療法と呼ばれている (Jori et al (eds.), Photodynamic Therapy of Tumors and Other Diseases (Libreria Progetto 1985); van den Bergh, Chem. Britain 22:430(1986))。さらに、光線療法を達成するため、モノクローナル抗体が光活性化色素に結合されてきた。Mew et al., J. Immunol. 130:1473 (1983); 同上, Cancer Res. 45:4380 (1985); Oseroff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:8744 (1986); 同上, Photochem. Photobiol. 46:83 (1987); Hasan et al., Prog. Clin. Biol. Res. 283:471(1989); Tatsuta et al, Lasers Surg. Med. 9:422 (1989); Pelegrin et al., Cancer 67:2529 (1991)。しかしながら、これらの初期の研究では内視鏡による治療適用 ( 特に、抗体フラグメントまたはサブフラグメントを併用する場合 ) の使用は含まれていなかった。従って、本発明は、光活性剤または色素を含んでなる免疫複合体の治療的使用を意図する。

#### 【 0091 】

X 線およびコンピューター断層撮影を増強するためには放射線透過剤および造影剤が用いられるが、これらにはヨウ素化合物、バリウム化合物、ガリウム化合物、タリウム化合物などが含まれる。特定の化合物としては、バリウム、ジアトリゾエート、エチオド化オイル、クエン酸ガリウム、イオカルム酸、イオセタム酸、ヨーダミド、ヨーダパミド、ヨードキサム酸、イオグラミド、イオヘキソール、イオパミドール、イオパン酸、イオプロセム酸、イオセファム酸、イオセル酸、イオスラミドメグルミン、イオセメ酸、イオタスル、イオテトル酸、イオサラム酸、イオトロキシ酸、イオキサグル酸、イオキシトリゾ酸、イポデート、メグルミン、メトリザミド、メトリゾエート、プロピリオドンおよび塩化タリウムが含まれる。また、デキストランおよびリポソーム、特にガス充填リポソームをはじめとする超音波造影剤も使用できる。一つの実施態様では、サイトカインなどの免疫調節剤を治療構築物に結合させてもよい。本明細書において「免疫調節剤」とは、サイトカイン、幹細胞増殖因子、リンボトキシン ( 腫瘍壊死 ( T N F ) など ) 、および造血因子 ( インターロイキン ( 例えば、インターロイキン ( I L - 1 ) 、 I L - 2 、 I L - 3 、 I L - 6 、 I L - 10 、 I L - 12 および I L - 18 ) など ) 、コロニー刺激因子 ( 例えば、顆粒球コロニー刺激因子 ( G - C S F ) および顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 ( G M - C S F ) ) 、インターフェロン ( 例えば、インターフェロン - 、 - および - ) 、「 S 1 因子」と呼ばれる幹細胞増殖因子、エリスロポエチン、およびトロンボポ

10

20

30

40

50

エチンが挙げられる。好適な免疫調節剤部分の例としては、IL - 2、IL - 6、IL - 10、IL - 12、IL - 18、インターフェロン - 、TNF - などが挙げられる。

【0092】

ターゲッティング可能な構築物はまた、標的部位で薬物/プロドラッグを活性化することができるか、身体の解毒経路の調節によって通常の治療薬を改良することができる酵素に結合させることもできる。bsAbの投与後、低分子量ハプテンを有するターゲッティング可能な構築物に結合させた酵素を投与する。酵素を、bsAb：ターゲッティング可能な構築物の結合によって標的部位にプレターゲッティングした後、標的部位で作用することが知られている細胞傷害剤を注射する。この薬物は哺乳類の通常の解毒処理によって解毒されて毒性の低い中間体を形成するものであってもよい。例えば、薬物は、肝臓において潜在的に毒性の低いグルクロニドへと変換するものであってもよい。解毒中間体は次に、標的部位でプレターゲッティング酵素によってより有毒な形態に再変換することができ、これにより標的部位での毒性が増強する。

10

【0093】

あるいは、投与したプロドラッグは、プレターゲッティング酵素によって有効薬へと変換させることもできる。プレターゲッティング酵素は、解毒薬物の再循環によって治療の効率を改良する。このアプローチは、どんな酵素 - 薬物対との併用にも適用することができる。あるいは、ターゲッティング可能な構築物を酵素とともに、患者に投与する前にターゲッティングbsAbと混合することもできる。bsAb：ターゲッティング可能な構築物の複合体が標的部位に局在し、結合していないターゲッティング可能な構築物が循環からクリアリングされるのに十分な時間が経過した後、プロドラッグを投与する。上述のように、このプロドラッグは次に、プレターゲッティング酵素によりin situで薬物に変換される。

20

【0094】

抗癌治療に有用な特定の細胞傷害剤は血清に比較的不溶である。非結合形態では極めて有毒なものもあり、その毒性はプロドラッグへの変換によってかなり減少する。難溶性薬物のより溶解性の高い複合体（例えば、グルクロニド、親水性の酸のエステルまたは親水性アミンのアミド）への変換により、血清の水相でのその溶解性および静脈、動脈、または毛細血管の細胞壁を通り抜け、腫瘍が浸かっている間質液への到達能が向上する。標的部位にてプロドラッグが切断され、溶解性の低い薬物が蓄積する。このようなプロドラッグから薬物への変換についての多くの例が、Hansenの米国特許第5,851,527号に開示されている。

30

【0095】

芳香族または脂環式アルコール、チオール、フェノールおよびアミンなどの特定の毒性物質の肝臓内でのグルクロニドへの変換は、毒性物質を解毒し、尿中に排泄しやすくする身体の方法である。このような物質に変換することができる抗腫瘍薬の一種が、アントラサイクリングリコシドであり、ヒト-D-グルクロニダーゼの基質であることが示されている、ドキソルビシン（アドリアマイシン）の4-エピマー、エピルビシンである。例えば、Arcamone Cancer Res. 45: 5995 (1985)参照。極性基の少ない他の類似体はより親油性が高いと考えられ、このようなアプローチにより有望であると考えられる。芳香族または脂環式アルコール、チオールまたはアミン基を有する他の薬物または毒素は、このような複合体形成の候補である。これらの薬物またはその他のプロドラッグ形態は、本発明の部位特異的増強法の好適な候補である。

40

【0096】

プロドラッグCPT - 11（イリノテカン）は、in vivoにてカルボキシルエステラーゼによって活性な代謝産物SN - 38に変換される。従って、本発明の1つの適用では、腫瘍およびハプテン（例えば、ジ - DTPA）をターゲッティングするbsAbを用い、その後、ジ - DTPA - カルボキシルエステラーゼ複合体の注射を行う。一度、適切な腫瘍対バックグラウンド局在化比が達成されると、CPT - 11を与え、腫瘍に局在しているカルボキシルエステラーゼは、腫瘍においてCPT - 11をSN - 38へと変換する働

50

きをする。活性な S N - 38 は難溶性であるために腫瘍周辺に残存し、結果的にターゲッティングされている抗原に関して陰性である隣接腫瘍細胞に対して効果を発揮する。このことが本方法のさらなる利点である。改変型カルボキシエステラーゼについては文献に記載されており、これも本発明の範囲内である。例えば、Potter et al., Cancer Res. 58 : 2646-2651 (1998) および Potter et al., Cancer Res. 58: 3627-3632 (1998) 参照。

#### 【0097】

エトポシドは、そのグルクロニドの形成によって大幅に解毒される、広く使用されている制癌剤であり、これは本発明の範囲内である。例えば、Hande et al. Cancer Res. 48: 1829-1834 (1988) 参照。グルクロニド複合体は細胞傷害剤から調製でき、m A b - グルクロニダーゼ複合体でプレターゲッティングした腫瘍の治療薬として注射することができる。例えば、Wang et al. Cancer Res. 52: 4484-4491 (1992) 参照。従って、このような複合体を本明細書に記載のプレターゲッティングアプローチと併用することもできる。同様に、ダウノマイシンおよびドキソルビシンの誘導体に基づいて設計されたプロドラッグについては、カルボキシエステラーゼおよびグルクロニダーゼとの併用について記載されている。例えば、Bakina et al. J. Med Chem. 40: 4013-4018 (1997) 参照。本発明の範囲内で使用することができるプロドラッグ / 酵素対の他の例としては、限定されるものではないが、フェノールマスタードのヒドロキシ誘導体のグルクロニドプロドラッグと - グルクロニダーゼ ; フェノールマスタードまたは C P T - 11 とカルボキシペプチダーゼ ; メトトレキサート置換 - アミノ酸とカルボキシペプチダーゼ A ; 6 - メルカプトプリンおよびドキソルビシンなどの薬物のペニシリンまたはセファロスポリン複合体と - ラクタマーゼ ; およびリン酸エトポシドとアルカリ性ホスファターゼが挙げられる。

#### 【0098】

あるいは、標的部位にてプロドラッグを活性化することができるか、または身体の解毒経路を制御することによって通常の治療薬の効果を向上させることができる酵素をハプテンと結合させてもよい。酵素 - ハプテン複合体を、プレターゲッティング b s A b の投与後に被験体に投与し、標的部位に向かわせる。酵素を標的部位に局在させた後、標的部位において作用することが知られている細胞傷害剤またはプレターゲッティング酵素によって in situ で薬物に変換されるそのプロドラッグ形態を注射する。上記のように、薬物は、哺乳動物の通常解毒プロセスを用いて解毒されて毒性の低い中間体、最も一般的にはグルクロニドを形成するものである。解毒された中間体、例えば、グルクロニドはプレターゲッティング酵素によってそのより毒性のある形態に再変換されることにより、標的部位での細胞傷害性が増大する。これにより薬物が再循環する。同様に、投与されたプロドラッグを通常生物学的プロセスによって活性な薬物に変換することもできる。プレターゲッティング酵素は、解毒された薬物の再循環によって治療効果を向上させる。このアプローチは、どんな酵素 - 薬物対との併用にも適用することができる。

#### 【0099】

別の実施態様では、酵素 - ハプテン複合体を、患者への投与前にターゲッティング b s A b と混合することができる。酵素 - ハプテン - b s A b 複合体が標的部位に局在化し、結合していない複合体が循環からクリアリングされるのに十分な時間が経過した後に、プロドラッグを投与する。上述のように、このプロドラッグは次に、プレターゲッティング酵素により in situ で薬物に変換される。

#### 【0100】

本発明はさらに、本発明の b s A b および診断薬のホウ素中性子捕獲療法 (Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)) プロトコールにおける使用を意図する。BNCT は、腫瘍に局在している  $^{10}\text{B}$  原子の中性子照射によって腫瘍細胞に電離放射線を送達させるように設計された二成分系である。BNCT は、安定な同位元素 (同位元素が富化された  $^{10}\text{B}$  (19.8% の天然存在度で存在)) を熱中性子照射して 粒子および  $^7\text{Li}$  原子核を生成する場合に生じる核反応に基づく。これらの粒子は、約 1 細胞の直径の路程を有し、それにより高い線形エネルギー移動が得られる。この核反応で生成したごく少数の短距離の 1.7 MeV の 粒子で、細胞核をターゲッティングし、それを破壊するのに十分

である。癌でBNC Tを成功させるには、腫瘍部位に高濃度の $^{10}\text{B}$ を局所化させつつ、非標的器官を本質的にホウ素の無い状態にしておく必要がある。BNC Tに向けたプレターゲットティングbsAbを用いて被験体の腫瘍を処置する組成物および方法については、米国特許第6,228,362号に記載されており、これは本発明の目的に向けて容易に改変することができる。

#### 【0101】

本発明の別の実施態様では、ターゲットティング可能な構築物のペプチド主鎖をプロドラッグと結合させる。プレターゲットティングbsAbを患者に投与し、標的に局在させ、循環を実質的にクリアリングする。適当な時間の後、プロドラッグを含むターゲットティング可能な構築物（例えば、ポリグルタミン酸（SN-38-エステル） $_{10}$ ）を与え、それによって薬物を腫瘍標的に特異的に局在させる。腫瘍は、腫瘍内および腫瘍周囲の細胞の高速溶解によって、細胞内供給源から放出される酵素の量を増加させることが分かっている。実施者は、これらの酵素によって活性化することができるプロドラッグを適切に選択することによってこの事実を十分に利用することができる。例えば、カルボキシルエステラーゼは、ポリグルタミン酸（SN-38-エステル） $_{10}$ のエステル結合を切断することによってプロドラッグポリグルタミン酸（SN-38-エステル） $_{10}$ を活性化し、腫瘍において遊離型のSN-38の濃縮物を大量に放出する。あるいは、好適な酵素を腫瘍部位にターゲットティングすることもできる。

#### 【0102】

ターゲットティング可能な構築物からの切断後、薬物は腫瘍細胞によってインターナライズされる。あるいは、標的での架橋によって無傷の複合体の一部として薬物をインターナライズすることができる。ターゲットティング可能な構築物は、腫瘍結合bsAbのインターナライゼーションを誘導し、それによってインターナライズされるべき薬物のレベルが高まることで治療効果を向上させることができる。

#### 【0103】

種々のペプチド担体がプロドラッグとの結合に十分に適しており、その担体としては、ポリアミノ酸（例えば、ポリリジン、ポリグルタミン酸（E）およびアスパラギン酸（D）（そのD-アミノ酸類似体を含む））、コポリマー（例えば、ポリ（Lys-Glu）{ポリ[KE]}）が挙げられ、その比は1:10~10:1が有利である。アミノ酸混合物に基づくコポリマー（例えば、ポリ（Lys-Ala-Glu-Tyr）（KAEY; 5:6:2:1））も使用することができる。規定の分子量のより小さな高分子担体は固相ペプチド合成技術によって作製することができ、2~50残基の鎖長のポリペプチドが容易に作製することができる。この種の試薬の第2の利点は、正確な構造定義のほか、鎖内の一定のポイントに1つまたは所望の数の化学結合手を配置することができるということである。これは後に、各部分の選択されたレベルでの認識および治療ハプテンの結合に使用することができる。

#### 【0104】

ポリ（エチレン）グリコール[PEG]は、二重特異性抗体プロドラッグアプローチに望ましいin vivoでの性質を有する。SN-38のヒドロキシル基と標準的なジヒドロキシルPEGの両端とのエステル結合を、SN-38とPEGのヒドロキシル基との間への二価酸（例えば、コハク酸）の挿入によって導入してSN-38-O-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO-O-PEG-O-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO-OSN-38などの種を合成する。合成されたジ-SN-38-PEGはSN-38-ポリマープロドラッグのクラスの最も短いメンバーと考えることができる。PEG誘導体の所望のin vivoでの性質およびその二量体の機能性のための限られた負荷能力により、Poiani et al.により記載されものような、より高いハプテン保持能を有するPEGコポリマーを作製するに至った。例えば、Poiani et al. Bioconjugate Chem., 5: 621-630, 1994参照。PEG誘導体を、そのビス（スクシンイミジル）カーボネート誘導体として両端で活性化させ、リジンなどの多官能ジアミンと共重合させる。リシルカルボキシル基が重合プロセスに関与しない（-Lys（COOH）-PEG-Lys（COOH）-PEG-）<sub>n</sub> 反復単位を含むこのような共重

10

20

30

40

50

合産物を S N - 3 8 残基の結合に使用することができる。S N - 3 8 残基を遊離カルボキシル基と反応させ、( - L y s - ( C O O H ) - P E G - L y s ( C O O H ) - P E G - )<sub>n</sub> 鎖の S N - 3 8 エステルを生成させる。

#### 【 0 1 0 5 】

認識ハブテンおよびプロドラッグの保持に使用することができる他の合成ポリマーとしては、N - ( 2 - ヒドロキシプロピル ) メタクリルアミド ( H M P A ) コポリマー、ポリ ( スチレン - コ - マレイン酸 / 無水物 ) ( S M A )、ポリ ( ジビニルエーテルマレイン酸無水物 ) ( D I V E M A )、ポリエチレンイミン、エトシキ化ポリエチレン - イミン、スターバーストデンドリマーおよびポリ ( N - ビニルピロリドン ) ( P V P ) が挙げられる。例として、複数の無水物単位からなる D I V E M A ポリマーを限定量の S N - 3 8 と反応させ、ポリマー主鎖に所望の薬物置換率を生じさせる。残存した無水物基を水性条件下で切断して遊離カルボン酸基を生成させる。限定数の遊離カルボン酸基を標準的な水溶性ペプチドカップリング剤 ( 例えば、塩酸 1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド ( E D C ) ) を用いて活性化し、遊離アミノ基を有する認識部分とカップリングさせる。後者の例はヒスタミンであり、これに対する抗体は過去に惹起されている。

10

#### 【 0 1 0 6 】

種々のプロドラッグをターゲッティング可能な構築物と結合させることができる。ポリマー用途の上記の例は、プロドラッグ C P T - 1 1 ( イリノテカン ) の活性代謝物 S N - 3 8 と関係する。S N - 3 8 は、エステラーゼ型酵素に感受性を有するアリールエステルを作製する以上での記述で使用された芳香族ヒドロキシル基を有する。同様に、化学療法で広く使用されるカンプトセシン類似体のトポテカンは、S N - 3 8 に関して記載されるものと類似の様式で使用してエステラーゼ感受性ポリマー - プロドラッグを生成し得る利用可能な芳香族ヒドロキシル残基を有している。

20

#### 【 0 1 0 7 】

ドキソルビシンはまた、カンプトセシンファミリーに関して記載されるものと類似の酸触媒反応を用いてカルボン酸含有高分子担体とカップリングすることができる芳香族ヒドロキシル基を含む。同様に、ダウノマイシン、エピルビシンおよびイダルビシンのようなドキソルビシン類似体を、同じ様式でカップリングすることができる。高分子担体との化学的カップリングに十分に活性なアミノ「化学結合手」を有するドキソルビシンおよび他の薬物を、多数の方法においてこれらの遊離アミノ基を介して担体分子と効率的にカップリングすることができる。遊離カルボン酸基を有するポリマーを *in situ* にて活性化し ( E D C )、活性化したポリマーをドキソルビシンと混合して、薬物をアミド結合を介してポリマーの側鎖と直接結合することができる。ビス ( スクシンイミジル ) エステル基との反応後に 2 つのアミドとして 2 つのアミンを架橋するために、アミノ含有薬物を、市販の切断可能な架橋剤 ( 例えば、エチレングリコビス ( スクシンイミジルスクシネート ) ( E G S , Pierce Chemical Co., Rockford, IL) またはビス - [ 2 - ( スクシンイミドオキシカルボニルオキシ ) エチル ] スルホン ( B S O C O E S , Molecular Biosciences, Huntsville, AL ) ) を混合することによってアミノペンダントポリマーとカップリングすることもできる。これはこれらの基が依然として酵素による切断に感受性を有しているために有利である。例えば、( ドキソルビシン - E G S )<sub>n</sub> - ポリリジンは、依然として、エステラーゼなどの酵素による E G S 結合鎖内のジエステル基の酵素切断に感受性を有している。ドキソルビシンはまた、確立された手順 ( H y B n = p - H<sub>2</sub> N N H C<sub>6</sub> H<sub>4</sub> C O<sub>2</sub> H ) を用いて種々のペプチド ( 例えば、H y B n K ( D T P A ) Y K ( D T P A ) - N H<sub>2</sub> ) と結合することができる。Kaneko et al., J Biocoyugate Chem., 2: 133-141, 1991 参照。

30

40

#### 【 0 1 0 8 】

1 つの好ましい実施態様では、治療複合体はアミン残基を含む担体およびキレート剤 ( 例えば、D T P A ) とカップリングしたドキソルビシンを含有して D T P A - ペプチド - ドキソルビシン複合体を形成し、ここでは、D T P A がプレターゲッティング b s A b の認識部分となる。いくつかの実施態様では、担体はチロシル - リジンジペプチド、例えば

50

、D - T y r - D - L y s ( D T P A ) - N H <sub>2</sub> を含み、D - L y s ( D T P A ) - D - T y r - D - L y s ( D T P A ) - N H <sub>2</sub> を含むこともできる。治療複合体においては、ビス - D P T A 含有ペプチドとのドキソルビシンフェニルヒドラゾン複合体が特に望ましい。

#### 【 0 1 0 9 】

メトトレキセートはまた、ドキソルビシンに関して記載されるものと類似の様式で活性化カルボン酸含有ポリマーとカップリングするのに利用可能なアミノ基を有する。これはアミノ基含有ポリマーとカップリングするために活性化され得る2つのグルタミルカルボキシル基( および )も有する。メトトレキセートの遊離カルボン酸基を *in situ* にて活性化し( E D C )、活性化した薬物をアミノ含有ポリマーと混合して、薬物を、アミド結合を介してポリマーの側鎖と直接結合することができる。過剰な未反応または交差反応薬物は、サイズ排除またはイオン交換クロマトグラフィーを用いてポリマー - 薬物複合体から容易に分離される。

10

#### 【 0 1 1 0 】

メイタンシノイドおよびカリケアミシン(例えば、エスペラマイシン)は、切断されて化学操作に有用な単一のチオールを有する種を生成することができる混合ジおよびトリスルフィド結合を含む。チオメイタンシノイドまたはチオエスペラマイシンをまず、ペプチダーゼによる切断に感受性を有するマレイミド - ペプチドなどの架橋剤と反応させる。次いで、ペプチドのC末端を活性化し、ポリリジンなどのアミノ含有ポリマーとカップリングする。

20

#### 【 0 1 1 1 】

さらに別の実施態様では、*in vivo*での標的への治療薬またはプロドラッグポリマーの二重特異性抗体により指定される送達を放射性核種の二重特異性抗体送達と組み合わせて、化学療法と放射免疫治療の組合せを達成することができる。各治療薬をターゲッティング可能な構築物と結合させ、同時投与してもよいし、または核種を第1のターゲッティング可能な構築物の一部として与え、薬物を第2のターゲッティング可能な構築物の一部として後のステップで与えてもよい。1つの簡単な実施態様では、単一のプロドラッグと単一の核種を含むペプチドを構築する。例えば、トリペプチド A c - D - G l u - D - G l y - D - L y s - N H <sub>2</sub> はターゲッティング可能な構築物の担体部分として使用し、それにより、S N - 3 8 をアリアルエステルとして グルタミルカルボキシル基と結合させることができる一方、キレート D O T A をアミドとして - アミノ基と結合させて、複合体 A c - D - G l u ( S N - 3 8 ) - D - G l y - D - L y s ( D O T A ) - N H <sub>2</sub> を生成することができる。次いで、D O T A キレート画像化および治療目的で種々の金属( I n - 1 1 1、Y - 9 0、S m - 1 5 3、L u - 1 7 7 および Z r - 8 9 を含む)により放射性標識することができる。金属 - D O T A 複合体はターゲッティング可能な構築物で認識可能なハプテンを提示し得るため、D O T A 複合体の一部として使用する金属の唯一の要件は、そのうえ使用する第2の認識抗体が十分に高い親和性で特定の金属 - D O T A 複合体を認識することである。一般に、この親和性( l o g K<sub>a</sub>)は6 ~ 11である。ポリ[ D - G l u ( S N - 3 8 )<sub>10</sub> - D - L y s ( Y - 9 0 - D O T A )<sub>2</sub>]などの高分子ペプチドは、より化学的に定義された上記の低MW試薬と同じくらい容易に与えることができ、それらがまさに好ましい。また、認識薬剤が放射免疫治療薬と無関係であるように三置換されたポリマー(例えば、ポリ[ D - G l u ( S n - 3 8 )<sub>10</sub> - D - L y s ( Y - 9 0 - D O T A )<sub>n</sub>(ヒスタミン - スクシネート)<sub>m</sub>](ここで、nおよびmは整数である))を使用することができる。プロドラッグは、腫瘍部位に存在するカルボキシエステラーゼまたは第2のターゲッティング可能な構築物を使用してその部位を標的化したカルボキシルエステラーゼにより活性化される。

30

40

#### 【 0 1 1 2 】

あるいは、別々のステップで化学療法薬および放射免疫治療薬を投与することによって併用療法を行うことができる。例えば、C E A - 腫瘍を発現している患者にまず、C E A と特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ハプテンがイットリウム - D O T A の複

50

合体であるターゲッティング可能な構築物と特異的に結合する少なくとも1つの別のアームとを有するbsAbを投与する。その後、患者をイットリウム-DOTA-グルクロニダーゼの複合体を含むターゲッティング可能な構築物を用いて処置する。bsAbおよび酵素の局在化およびクリアリングに十分な時間の経過後、Ac-D-Glu(SN-38)-D-Gly-D-Lys(Y-90-DOTA)-NH<sub>2</sub>を含む第2のターゲッティング可能な構築物を与える。第2のターゲッティング可能な構築物は、第1のターゲッティング可能な構築物とまだ結合していない腫瘍のbsAbによって、腫瘍に局在する。標的部位に局在した第1のターゲッティング可能な構築物は、Ac-D-Glu(SN-38)-D-Gly-D-Lys(Y-90-DOTA)-NH<sub>2</sub>にて作用して遊離したSN-38薬物を放出する。プロドラッグとその個々の酵素双方の標的部位における局在は、酵素を限定されない基質とすることを保証することによって、活性薬物の生成を促す。この実施態様は、当技術分野で現在実施されている現行のプロドラッグ方法論を著しく改良したものである。

#### 【0113】

核種を先に与えるターゲッティング可能な構築物の一部として送達させた後、後のステップでプロドラッグ-ポリマーを投与する別の利点は、照射と薬物治療との相乗効果を操作し、それゆえ、その効果を最大にすることができることである。PAIT後の照射損傷により腫瘍がより「漏出性」になると推定される。こうして、ポリマー-プロドラッグを腫瘍により完全でかつ深く侵入させることができる。これにより化学治療が向上する。

#### 【0114】

あるいは、RAIT治療薬を、ターゲッティング可能な構築物ではなく、bsAbと結合させてもよい。例えば、Y-90-DOTAと結合した抗CEA×抗DTPAをまず、CEA発現腫瘍患者に投与する。この例では、抗インジウム-DTPA抗体がイットリウム-DOTAキレートと結合しないという点で、特定の抗キレートmAbの選択性を利用する。Y-90-DOTA-抗CEA×抗インジウム-DTPAを腫瘍にて最大にし、非標的組織を実質的にクリアリングした後に、インジウム-DTPA-グルクロニダーゼの複合体を注射してCEA腫瘍部位に特異的に局在させる。次いで、患者にポリ(Glu)(SN-38)<sub>10</sub>などのポリマー-プロドラッグを注射する。腫瘍において後者を活性な単量体SN-38へと選択的に切断し、化学治療と先に投与したRAITが上手く組み合わせられる。

#### 【0115】

標的部位の抗原に特異的な少なくとも1つの結合部位と、抗体-酵素複合体の酵素成分に特異的な少なくとも1つの別の結合部位とを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを、本方法で 사용할 ことができることにもまた注目すべきである。このような抗体は、注射前に酵素と結合することにより、酵素と抗体とが共有結合する必要性を未然に回避することができるし、または、それを注射し、標的部位に局在させることができ、非標的抗体が哺乳類の循環系から実質的にクリアリングされた後に、酵素を、十分な量の酵素が局在する抗体または抗体フラグメントに到達し、それと結合して、in situにて抗体-酵素複合体を形成することができる量および経路で注射することができる。

#### 【0116】

本発明はまた、特許出願第60/220,782号に記載されるような、少なくとも3つの異なる標的結合部位を有する多価標的結合タンパク質の使用も意図することにもまた注目すべきである。多価標的結合タンパク質は、いくつかのFab様フラグメントを化学的リンカーを介して架橋することによって作製されている。米国特許第5,262,524号；同第5,091,542号およびLandsdorp et al., Euro. J. Immunol. 16: 679-83 (1986)参照。また、多価標的結合タンパク質は、いくつかの単鎖Fv分子(scFv)を共有結合して単一ポリペプチドを形成することによっても作製されている。米国特許第5,892,020号参照。基本的にはscFv分子の凝集物である多価標的結合タンパク質については、米国特許第6,025,165号および第5,837,242号で開示されている。3つのscFv分子を含む3価の標的結合タンパク質については、Krott

10

20

30

40

50

et al., *Proten Engineering* 10 (4): 423-433 (1997)で記載されている。

【0117】

b s A bの投与とターゲッティング可能な構築物の投与との間に与えられるクリアリング剤を使用することができる。本発明者らは、新規の力学的作用を有するクリアリング剤（すなわち、b s A bの疾病標的アームに対して向けられるグリコシル化抗イディオタイプF a b'フラグメント）を本発明でを使用することができることを発見した。抗C E A（M N - 1 4 A b）×抗ペプチドb s A bを与え、疾病標的中で最大限の範囲まで付着させることができる。残るb s A bをクリアリングするために、W I 2と呼ばれるM N - 1 4に対する抗イディオタイプA bを、好ましくは、グリコシル化F a b'フラグメントとして与える。クリアリング剤が一価でb s A bと結合する一方で、その付加グリコシル残基が全ての複合体を肝臓に向け、そこで迅速な代謝が行われる。次いで、ターゲッティング可能な構築物と結合した治療薬または診断薬を被験体に与える。b s A bのM N - 1 4アームに対するW I 2 A bは、W I 2 - F a b'が一価部分であることから、架橋に関与しないために、高い親和性を有し、クリアリング機構は他の開示された機構（Goodwin et al., 前記参照）とは異なっている。

10

【0118】

本発明のさらに別の態様によれば、本発明は、患者の罹患組織の治療または同定に好適なキットであって、標的組織と特異的に結合する少なくとも1つのアームとターゲッティング可能な構築物と特異的に結合する少なくとも1つの別のアームを有する二重特異性抗体または抗体フラグメント、二重特異性抗体または抗体フラグメントの少なくとも1つの別のアームによって認識可能な少なくとも1つのエピトープを含むか有する担体部分を含む第1のターゲッティング可能な構築物、1以上の複合した治療薬もしくは診断薬、または酵素、ならびに、所望により、非局在化抗体および抗体フラグメントをクリアリングするのに有用なクリアリング組成物を含むキットを提供する。第1のターゲッティング可能な構築物が、標的部位にてプロドラッグを薬物へと変換することができる酵素、薬物の解毒された中間体を有毒形態に再変換し、その結果、標的部位にて薬物の毒性を増強し得る酵素、または自然プロセスを通じて患者中で活性化され、毒性の低い中間体への変換による解毒を受けるプロドラッグを、解毒された中間体から毒性ある形態へと再変換し、その結果、標的部位にて薬物の毒性を増強し得る酵素を含む場合、キットは、所望により、プロドラッグを含んでいてもよい。また、二重特異性抗体または抗体フラグメントの少なくとも1つの別のアームによって認識可能な少なくとも1つのエピトープを含むか有する担体部分、酵素が標的部位にてプロドラッグを薬物へと変換することができる場合には、プロドラッグを含む第2のターゲッティング可能な構築物も使用し得る。罹患組織の同定または治療を容易にする手段もキットに含めることができる。例として、限定されるものではないが、シリンジなどの適用装置が挙げられる。罹患組織の同定または治療用に開示された本発明の利用に必要な溶液もキットに含めることができる。

20

30

【0119】

ターゲッティング可能な構築物または抗体フラグメントは、静脈内、動脈内、術中、内視鏡的、腹腔内、筋肉内、皮下、胸膜内、髄腔内投与、局所カテーテルによる灌流、または直接病変内局注により、持続注入または単一もしくは複数のボラスにより、あるいは罹患組織の診断（検出）および治療に向けた当業者には公知のその他の方法によっても投与可能である。さらに、ターゲッティング可能な構築物は、罹患組織の検出および治療のための他の方法に向けた薬剤を含んでもよい（限定されるものではないが、これまでに記載されたような、超音波検査で使用するデキストランまたはリボソーム製剤のターゲッティング可能な構築物との複合体、またはX線、C T、P E T、S P E C Tおよび超音波検査などの他の画像診断技術で使用する他の造影剤など）。

40

【0120】

VI. 抗体産生方法

ペプチド主鎖および/またはハプテンに対するA bは、A b産生に関する周知の方法によって作製される。例えば、正常な免疫能を有する動物にフロイントの完全アジュバント

50



中の免疫原、例えば、(ペプチド)<sub>n</sub> - K L H (ここで、K L Hはキーホールリンペットヘモシアニンであり、かつn = 1 ~ 30)を注射し、続いて、フロイントの不完全アジュバント中に懸濁した同じ免疫原を2回注射し、抗原のi.v.追加免疫の3日後に脾臓細胞を回収した。次いで、回収した脾臓細胞を、S p 2 / 0 - A g 1 4 骨髄腫細胞と融合し、得られたクローンの培養物上清を、直接結合E L I S Aにより抗ペプチド反応性について解析する。産生したA bの詳細な特異性は、最初の免疫原のペプチド断片を用いて解析することができる。これらの断片は、自動ペプチド合成装置によって容易に作製することができる。A b産生では、酵素欠損ハイブリドーマを単離して融合細胞株を選択することができる。この技術を使用してリンカー(例えば、I n (I I I) - D T P Aキレート)を含む1以上のキレートに対する抗体を惹起することもできる。I n (I I I) - ジ - D T P Aに対するマウスモノクローナル抗体が公知である(Barbet'395、前掲)。

10

#### 【0121】

本発明において使用する抗体は、マーカー物質として種々の細胞表面または細胞内腫瘍関連抗原に特異的である。これらのマーカーは、腫瘍によって生じる物質であってもよいし、腫瘍部位に、腫瘍細胞表面上に、または腫瘍細胞(細胞質、核または種々の細胞小器官もしくは細胞以下の構造を問わない)内に蓄積する物質であってもよい。このような腫瘍関連マーカーのうち、Herberman, "Immunodiagnosis of Cancer", in Fleisher ed., "The Clinical Biochemistry of Cancer", page 347(American Association of Clinical Chemists, 1979)により、ならびに米国特許第4, 150, 149号;同第4, 361, 544号;および第同4, 444, 744号に開示されるものである。Thorpe et al.の米国特許第5, 965, 132号、Thorpe et al.の米国特許第6, 004, 554号、Epstein et al.の米国特許第6, 071, 491号、Epstein et al.の米国特許第6, 017, 514号、Epstein et al.の米国特許第5, 882, 626号、Epstein et al.の米国特許第5, 019, 368号、およびThorpe et al.の米国特許第6, 342, 221号も参照。これらは全て、引用することにより本明細書の一部とされる。

20

#### 【0122】

腫瘍関連マーカーは、Herberman, 前掲によって、癌胎児性抗原、胎盤抗原、発癌または腫瘍ウイルス関連抗原、組織関連抗原、器官関連抗原、異所性ホルモンおよび正常抗原もしくはその変異体をはじめとする数多くのカテゴリーに分類されている。腫瘍関連マーカーのサブユニットを使用して腫瘍特異性(例えば、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)の - サブユニットまたは癌胎児性抗原(CEA)の領域)の高い抗体を惹起することが時に有利であり、米国特許第4, 361, 644号および同第4, 444, 744号で開示されるように、非腫瘍物質との交差反応性が極めて低い抗体の産生が刺激される。また、腫瘍血管構造(例えば、VEGF)マーカー、腫瘍壊死(エプステインの特許)マーカー、膜受容体(例えば、葉酸受容体、EGFR)マーカー、トランスメンブラン抗原(例えば、PSMA)マーカー、および癌遺伝子産物マーカーは、抗体または抗体フラグメントの好適な腫瘍関連標的としての役割も果たし得る。腫瘍細胞で豊富に発現されるB細胞複合抗原などの正常細胞構成要素のマーカー(例えば、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、およびB細胞悪性腫瘍のHLA-DR)、ならびに特定の腫瘍細胞で発現されるサイトカイン(例えば、T細胞悪性腫瘍のIL-2受容体)もまた、本発明の抗体および抗体フラグメントの好適な標的である。本発明の抗体および抗体フラグメントによって標的化することができる他の周知の腫瘍関連抗原としては、限定されるものではないが、CEA、CSAp、TAG-72、MUC-1、MUC-2、MUC-3、MUC-4、EGP-1、EGP-2、BRE3、PAM-4、KC-4、A3、KS-1、PSMA、PSA、テネイシン、T101、S100、MAGE、HLA-DR、CD19、CD20、CD22、CD30、およびCD74が挙げられる。

30

40

#### 【0123】

対象となる別のマーカーとして、トランスメンブランアクチベーターおよびCAML-インタラクター(TACI)がある。Yu et al. Nat Immunol. 1: 252-256 (2000)参照。簡潔には、TACIはB細胞悪性腫瘍(例えば、リンパ腫)のマーカーである。さらに、

50

T A C I および B 細胞成熟抗原 ( B C M A ) が腫瘍壊死因子相同体、増殖誘導リガンド ( A P R I L ) と結合することは公知である。A P R I L は、一次 B および T 細胞の *in vitro* 増殖を刺激し、*in vivo* での B 細胞の蓄積により脾臓重量が増加する。また、A P R I L は受容体結合に関して T A L L - 1 ( B L y S または B A F F と呼ばれる ) と競合する。可溶性 B C M A および T A C I は A P R I L の結合を特異的に妨げ、A P R I L により刺激される一次 B 細胞の増殖を遮断する。B C M A - F c は、マウスにおいてキーホールリンペットヘモシアニンおよびニューモバックスに対する抗体の産生も阻害し、B C M A および / または T A C I を介する A P R I L および / または T A L L - 1 シグナル伝達が体液性免疫の生起に必要であることがわかる。このように、A P R I L - T A L L - 1 および B C M A - T A C I が B および T 細胞機能の刺激に係る 2 リガンド - 2 受容体経路を構成している。

10

#### 【 0 1 2 4 】

免疫原に対する抗体の最初の惹起後、抗体を配列決定し、その後、組換え技術によって製造することができる。ネズミ抗体および抗体フラグメントのヒト化およびキメラ化は当業者に周知である。例えば、ヒト化モノクローナル抗体は、マウス免疫グロブリンの重鎖および軽鎖の可変領域由来のマウス相補性決定領域をヒト可変ドメインに導入し、次いで、ネズミ対応物のフレームワーク領域内でヒト残基と置換することによって作製される。ヒト化モノクローナル抗体由来の抗体成分を使用することで、ネズミ定常部の免疫原性に関する潜在的な問題が排除される。ネズミ免疫グロブリン可変ドメインをクローニングする一般的な方法は、例えば、各々引用することにより本明細書の一部とされる Orlandi et al. の刊行物、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86: 3833 (1989) に記載されている。ヒト化 M a b の作製技術は、例えば、Jones et al., Nature 321: 522 (1986), Riechmann et al., Nature 332: 323 (1988), Verhoeyen et al., Science 239: 1534 (1988), Carter et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89: 4285 (1992), Sandhu, Crit. Rev. Biotech. 12: 437 (1992)、および Singer et al., J. Immun. 150: 2844 (1993) に記載されており、その各々が引用することにより本明細書の一部とされる。

20

#### 【 0 1 2 5 】

あるいは、完全なヒトの抗体を、トランスジェニック非ヒト動物から得ることができる。例えば、Mendez et al., Nature Genetics, 15: 146-156 (1997) ; 米国特許第 5 , 6 3 3 , 4 2 5 号参照。例えば、ヒト抗体を、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を有するトランスジェニックマウスから回収することができる。マウス体液性免疫系を、内在性免疫グロブリン遺伝子を不活化し、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を導入することによってヒト化する。ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、非常に複雑で、ヒトゲノムのほぼ 0 . 2 % を占める多数の不連続なセグメントを含む。トランスジェニックマウスにより確実に抗体の十分なレパートリーを作製し得るように、ヒト重鎖および軽鎖の遺伝子座の大部分をマウスゲノムに導入しなければならない。これは段階的プロセスによって達成され、生殖細胞系配置中にヒト重鎖または軽鎖免疫グロブリン遺伝子座のいずれかを含む酵母人工染色体 ( Y A C ) の形成によって開始される。各挿入断片の大きさが約 1 M b であるため、Y A C 構築には免疫グロブリン遺伝子座の重複断片の相同組換えが必要である。2 つの Y A C ( 一方は重鎖遺伝子座を含み、他方は軽鎖遺伝子座を含む ) を、Y A C 含有酵母スフェロブラストとマウス胚幹細胞との融合を介してマウスに個別に導入する。次いで、胚幹細胞クローンをマウス胚盤胞にマイクロインジェクションする。得られた雄キメラを、その生殖細胞系によって Y A C を伝達する能力についてスクリーニングし、ネズミ抗体産生不全マウスと交配させる。2 つのトランスジェニック系統 ( 一方はヒト重鎖遺伝子座を含み、他方はヒト軽鎖遺伝子座を含む ) の交配により、免疫化に応答するヒト抗体を産生する子孫を作製する。

30

40

#### 【 0 1 2 6 】

非再配列ヒト免疫グロブリン遺伝子を、微小細胞媒介性染色体導入 ( M M C T ) を介してマウス胚幹細胞に導入することもできる。例えば、Tomizuka et al., Nature Genetics, 16: 133 (1997) 参照。この方法では、ヒト染色体を含む微小細胞をマウス胚幹細胞と融

50

合する。導入された染色体は安定に維持され、成体キメラは好適な組織特異的発現を示す。

#### 【0127】

あるいは、本発明の抗体または抗体フラグメントを、コンビナトリアル免疫グロブリンライブラリーから単離されたヒト抗体フラグメントから誘導してもよい。例えば、引用することにより本明細書の一部とされる、Barbas et al., METHODS: A Companion to Methods in Enzymology 2: 119 (1991)、およびWinter et al., Ann. Rev. Immunol. 12: 433 (1994)参照。B細胞の不死化によるモノクローナル抗体の作製に関連する多くの問題は、ファージディスプレイを用いて大腸菌(E.coli)中の抗体フラグメントを操作し、発現させることによって克服することができる。高親和性モノクローナル抗体を確実に回収するために、コンビナトリアル免疫グロブリンライブラリーは幅広いレパートリーサイズであるべきである。典型的な戦略は、逆転写酵素を用いてcDNAを合成するために免疫化マウスのリンパ球または脾臓細胞から得たmRNAを利用する。重鎖および軽鎖遺伝子をPCRで個別に増幅し、ファージクローニングベクターに連結する。2つの異なるライブラリー(一方は重鎖遺伝子を含み、他方は軽鎖遺伝子を含む)を作製する。ファージDNAを各ライブラリーから単離し、重鎖および軽鎖配列をとともに連結し、パッケージングしてコンビナトリアルライブラリーを作製する。各ファージは重鎖cDNAと軽鎖cDNAとの無作為な対を含み、大腸菌の感染の際に感染細胞での抗体鎖の発現を指示する。目的の抗原を認識する抗体を同定するために、ファージライブラリーをプレーティングし、ブラック中に存在する抗体分子をフィルターへ移す。フィルターを放射性標識抗原とともにインキュベートした後、洗浄して過剰の結合していないリガンドを除去する。オートラジオグラムによる放射性スポットにより、抗原と結合している抗体を含むブラックを同定する。ヒト免疫グロブリンファージライブラリーの作製に有用なクローニングベクターおよび発現ベクターを、例えば、STRATAGENEクローニングシステム(La Jolla, CA)から得ることができる。

10

20

#### 【0128】

類似の戦略を用いて高親和性のscFvを得ることができる。例えば、Vaughn et al., Nat. Biotechnol., 14: 309-314 (1996)参照。幅広いレパートリーを有するscFvライブラリーを、全ての公知のV<sub>H</sub>、V<sub>L</sub>およびV<sub>H</sub>遺伝子ファミリーに相当するPCRプライマーを用いて非免疫化ヒト供与体由来のV<sub>H</sub>遺伝子を単離することによって構築することができる。増幅後、V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>プールを合わせて1つのプールとする。これらのフラグメントをファージミドベクターに連結する。次いで、scFvリンカー(Gly4、Ser)<sub>3</sub>をV<sub>L</sub>フラグメントの上流のファージミドに連結する。V<sub>H</sub>およびリンカー-V<sub>L</sub>フラグメントを増幅し、J<sub>H</sub>領域で構成する。得られたV<sub>H</sub>-リンカー-V<sub>L</sub>フラグメントをファージミドベクターに連結する。ファージミドライブラリーを上記のようにフィルターを用いるか、免疫チューブ(Nunc; Maxisorp)を用いてパンニングする。免疫化ウサギのリンパ球または脾臓細胞由来のコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリーを構築することによって、また、P.pastorisでscFv構築物を発現させることによって類似の結果を達成することができる。例えば、Ridder et al., Biotechnology, 13: 255-260 (1995)参照。さらに、好適なscFvの単離後、結合親和性が高く、解離速度が遅い抗体フラグメントをCDR3突然変異誘発および鎖のシャッフリングなどの親和性成熟プロセスによって得ることができる。例えば、Jackson et al., Br. J. Cancer, 78: 181-188 (1998); Osbourn et al., Immunotechnolog, 2: 181-196 (1996)参照。

30

40

#### 【0129】

抗体フラグメントの別の形態が単一のCDRをコードするペプチドである。CDRペプチド(「最小認識単位」)は、目的の抗体のCDRをコードする遺伝子を構築することによって得ることができる。このような遺伝子は、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応を用いて抗体産生細胞のRNA由来の変換領域を合成することによって作製される。例えば、Larrick et al., Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2: 106 (1991); Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in MONOCLONAL ANTIBODI

50

ES: PRODUCTION, ENGINEERING AND CLINICAL APPLICATION, Ritter et al. (eds.), page s 166-179 (Cambridge University Press 1995);およびWard et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies, "in MONOCLONAL ANTIBODIES; PRINCIPLES AND APPLICATIONS, Birch et al., (eds.), pages 137-185 (Wiley-Liss, Inc. 1995) 参照。

#### 【 0 1 3 0 】

b s A b を当技術分野で公知の技術によって調製することができる。例えば、抗 C E A 腫瘍 A b および抗ペプチド A b を個別にペプシンで消化してそれぞれ  $F(a b')_2$  を得る。抗 C E A - A b -  $F(a b')_2$  をシステインで還元して  $F a b'$  単量体単位を作製し、これを架橋剤ビス(マレイミド)ヘキサノールとさらに反応させて  $F a b' - \text{マレイミド}$  部分を作製する。抗ペプチド A b -  $F(a b')_2$  をシステインで還元し、精製し、回収した抗ペプチド  $F a b' - S H$  を抗 C E A -  $F a b' - \text{マレイミド}$  と反応させて  $F a b' \times F a b'$  二重特異性 A b を作製する。あるいは、抗ペプチド  $F a b' - S H$  フラグメントを抗 C E A  $F(a b')_2$  とカップリングして  $F(a b')_2 \times F a b'$  構築物を作製するか、抗 C E A I g G とカップリングして  $I g G \times F a b'$  二重特異性構築物を作製する。1つの実施態様では、 $I g G \times F a b'$  構築物を、過ヨウ素酸塩で酸化し、続いて、市販のヒドラジン-マレイミド架橋剤との反応によって活性化した抗 C E A I g G 重鎖炭水化物への抗ペプチド  $F a b'$  チオール基の付着により部位特異的に調製することができる。使用した成分 A b を公知の技術によってキメラ化またはヒト化することができる。キメラ抗体は齧歯動物由来の可変ドメインおよび相補性決定領域領域を含む組換えタンパク質であり、抗体分子の残りの部分はヒト抗体由来である。ヒト化抗体はモノクローナル抗体のネズミ相補性決定領域がネズミ免疫グロブリンの重鎖および軽鎖可変領域からヒト可変ドメインに導入された組換えタンパク質である。

#### 【 0 1 3 1 】

種々の組換え法を使用して二重特異性抗体および抗体フラグメントを作製することができる。例えば、二重特異性抗体および抗体フラグメントをトランスジェニック家畜の乳汁中で作製することができる。例えば、Colman, A., Biochem. Soc. Symp., 63: 141-147, 1998; 米国特許第 5, 8 2 7, 6 9 0 号参照。免疫グロブリンの重鎖および軽鎖対をコードする D N A セグメントをそれぞれ含む 2 つの D N A 構築物を調製する。フラグメントを、哺乳類上皮細胞において優先的に発現するプロモーター配列を含む発現ベクターにクローニングする。例としては、限定されるものではないが、ウサギ、ウシおよびヒツジカゼイン遺伝子、ウシ-ラクトグロブリン遺伝子、ヒツジ-ラクトグロブリン遺伝子、ならびにマウスホエイ酸タンパク質遺伝子由来のプロモーターが挙げられる。好ましくは、挿入したフラグメントは、哺乳類特異的遺伝子由来の同起源のゲノム配列のその 3' 側にフランキングしている。これにより、ポリアデニル化部位および転写安定配列が提供される。発現カセットを受精した哺乳類の卵子の前核に同時注入し、これを、その後、受容体である雌の子宮に移植し、懐胎させる。出産後、その子孫をサザン解析により両トランスジェノムの存在についてスクリーニングする。抗体が存在するためには、重鎖および軽鎖遺伝子いずれもが同一細胞で同時に発現されなければならない。当技術分野では公知の標準的な免疫学的方法を使用し、トランスジェニック雌由来の乳汁を抗体または抗体フラグメントの存在および機能性について解析する。抗体は当技術分野で公知の標準的な方法により乳汁から精製することができる。

#### 【 0 1 3 2 】

キメラ A b は、マウス軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインをコードする c D N A 断片の、ヒト抗体由来の C ドメインをコードする断片への連結によって構築される。C ドメインは抗原結合に寄与しないため、キメラ抗体は起源のマウス A b と同一の抗原特異性を維持するが、配列はヒト抗体により近い。キメラ A b は、いくつかのマウス配列を依然含んでいるが、なお免疫原性である。ヒト化 A b は、抗原を認識するのに必要なマウスアミノ酸のみを含む。この産物は、ヒト抗体フレームワークにマウス相補性決定領域由来のアミノ酸を確立することによって構築する。

#### 【 0 1 3 3 】

10

20

30

40

50

他の b s A b 作製方法としては、より一般的な免疫グロブリンイソタイプよりも強く架橋するように、さらなるシステイン残基を有する人工組換え A b が挙げられる。例えば、FitzGerald et al., Protein Eng. 10 (10): 1221-1225, 1997 参照。別のアプローチは、必要な二重特異性を有する 2 以上の異なる単鎖抗体または抗体フラグメントと連結した組換え融合タンパク質を操作することである。例えば、Coloma et al., Nature Biotech. 15: 159-163, 1997 参照。分子操作を用いて種々の二重特異性融合タンパク質を作製することができる。一形態では、二重特異性融合タンパク質は一価であり、例えば、1 つの抗原に対して 1 つの結合部位を有する s c F v と第 2 の抗原に対して 1 つの結合部位を有する F a b フラグメントからなる。別の形態では、二重特異性融合タンパク質は二価であり、例えば、1 つの抗原に対して 2 つの結合部位を有する I g G と第 2 の抗原に対して 2 つの結合部位を有する s c F v からなる。

10

#### 【0134】

ダイアボディーとも呼ばれる機能的二重特異性単鎖抗体 ( b s c A b ) を、組換え法を用いて哺乳類細胞で作製することができる。例えば、Mack et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 92: 7021-7025, 1995 参照。例えば、組換え法を用いたグリシン - セリンリンカーを介する 2 つの単鎖 F v フラグメントの連結によって b s c A b を作製する。目的の 2 つの抗体の V 軽鎖 ( V<sub>L</sub> ) および V 重鎖 ( V<sub>H</sub> ) ドメインを標準的な P C R 法を用いて単離する。次いで、各ハイブリドーマから得た V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> c D N A を連結して 2 ステップ融合 P C R にて単鎖フラグメントを形成する。第 1 の P C R ステップにより、( G l y<sub>4</sub> - S e r<sub>1</sub> )<sub>3</sub> リンカーを導入し、第 2 のステップにより、V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> アンプリコンを連結する。次いで、各単鎖分子を細菌発現ベクターにクローニングする。増幅後、単鎖分子の 1 つを切り出し、目的の第 2 の単鎖分子を含む他のベクターにサブクローニングする。得られた b s c A b フラグメントを真核生物発現ベクターにサブクローニングする。機能タンパク質発現は、ベクターをチャイニーズハムスター卵巣細胞にトランスフェクトすることにより得ることができる。二重特異性融合タンパク質は同様に調製される。二重特異性単鎖抗体および二重特異性融合タンパク質は本発明の範囲内に含まれる。

20

#### 【0135】

2 以上の異なる単鎖抗体または抗体フラグメントを結合した二重特異性融合タンパク質を同様に作製する。

#### 【0136】

組換え法を用いて種々の融合タンパク質を作製することができる。例えば、ヒト化モノクローナル抗 C E A 抗体由来の F a b フラグメントとネズミ抗ジ D T P A 由来の s c F v を含む融合タンパク質を作製することができる。フレキシブルリンカー (例えば、G G G S ) により s c F v を抗 C E A 抗体の重鎖の定常部に連結する。あるいは、s c F v を h M N - 1 4 の軽鎖の定常部に連結することができる。s c F v への重鎖 F d のインフレームでの連結に必要な好適なリンカー配列を P C R 反応を通じて V<sub>L</sub> および V<sub>K</sub> ドメインに導入する。次いで、s c F v をコードする D N A 断片を、C<sub>H</sub> 1 ドメインをコードする D N A 配列を含むステージングベクターに連結する。得られた s c F v - C<sub>H</sub> 1 構築物を切り出し、抗 C E A 抗体の V<sub>H</sub> 領域をコードする D N A 配列を含むベクターに連結する。得られたベクターを使用して二重特異性タンパク質発現用の哺乳類細胞にトランスフェクトすることができる。

30

40

#### 【0137】

大腸菌発現系を用いて大量の b s c A b および融合タンパク質を作製することができる。例えば、Zhenping et al., Biotechnology, 14 :192-196, 1996 参照。機能的な b s c A b を、2 つのフラグメントの V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> ドメインが異なるポリペプチド鎖に存在する 2 つの「交差」 s c F v フラグメントの大腸菌における同時発現によって作製することができる。目的の 2 つの抗体の V 軽鎖 ( V<sub>L</sub> ) および V 重鎖 ( V<sub>H</sub> ) ドメインを標準的な P C R 法を用いて単離する。次いで、c D N A を、目的の第 1 の抗体の V<sub>L</sub> ドメインの C 末端をリンカーを介して第 2 の抗体の V<sub>H</sub> ドメインの N 末端に連結するように細菌発現ベクターに連結する。同様に、目的の第 2 の抗体の V<sub>L</sub> ドメインの C 末端をリンカーを介し

50

て第1の抗体のV<sub>H</sub>ドメインのN末端に連結する。得られたニシストン型 $\lambda$ のオペロンを、強力なプロモーター（例えば、リン酸塩欠乏によって誘導される大腸菌アルカリ性ホスファターゼプロモーター）の転写制御下に置く。あるいは、単鎖融合構築物を、lacプロモーターおよび2%グリシンおよび1% Triton X-100からなる培地を用いて大腸菌で首尾よく発現させた。例えば、Yang et al., Appl. Environ. Microbiol., 64: 2869-2874, 1998参照。大腸菌の熱安定性エンテロトキシンIIシグナル配列を使用してペプチドを周縁質空間に向ける。分泌後、2つのペプチド鎖は会合して両方の抗原結合特異性を有する非共有結合ヘテロダイマーを形成する。bscAbは当技術分野で公知の標準的手順（例えば、ブドウ球菌プロテインAクロマトグラフィー）を用いて精製する。

#### 【0138】

機能的bscAbおよび融合タンパク質をトランスジェニック家畜の乳汁中で作製することもできる。例えば、Colman, A., Biochem. Soc. Symp., 63: 141-147, 1998; 米国特許第5,827,690号参照。上記のように得たbscAbフラグメントを、哺乳類上皮細胞において優先的に発現するプロモーター配列を含む発現ベクターにクローニングする。例として、限定されるものではないが、ウサギ、ウシおよびヒツジカゼイン遺伝子、ウシ-ラクトグロブリン遺伝子、ヒツジ-ラクトグロブリン遺伝子、ならびにマウスホエイ酸タンパク質遺伝子由来のプロモーターが挙げられる。好ましくは、挿入したbscAbは、哺乳類特異的遺伝子由来の同起源のゲノム配列のその3'側にフランキングしている。これにより、ポリアデニル化部位および転写安定配列が提供される。次いで、発現カセットを受精した哺乳類の卵子の前核に注入し、これを、その後、受容体である雌の子宮に移植し、懐胎させる。出産後、その子孫をサザン解析により導入したDNAの存在についてスクリーニングする。当技術分野では公知の標準的な免疫学的方法を使用し、トランスジェニック雌由来の乳汁をbscAbの存在および機能性について解析する。bscAbは当技術分野では公知の標準的な方法により乳汁から精製することができる。乳汁中でbscAbのトランスジェニック産生により、大量のbscAbの効率的な取得法が提供される。

#### 【0139】

機能的bscAbおよび融合タンパク質をトランスジェニック植物で作製することもできる。例えば、Fiedler et al., Biotech., 13: 1090-1093, 1995; Fiedler et al., Immunotechnology, 3: 205-216, 1997参照。このように作製することにより、いくつかの利点（低価格、大量生産および安定した長期保存など）が付与される。タンパク質を小胞体に向けるために、上記のように得たbscAbフラグメントを、プロモーター配列を含み、シグナルペプチド配列をコードする発現ベクターにクローニングする。種々のプロモーターを利用して、発現産物を植物内の特定の位置に向けることができる。例えば、タバコ植物における遍在的な発現は、強力なカリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーターを用いて達成することができ、器官特異的発現は種子特異的レグミンB4プロモーターを介して達成される。発現カセットを当技術分野で公知の標準的な方法によって形質転換する。形質転換をサザン解析によって評価する。当技術分野で公知の標準的な免疫学的方法を使用し、トランスジェニック植物をbscAbの存在および機能性について解析する。bscAbは当技術分野で公知の標準的な方法を用いて植物組織から精製することができる。

#### 【0140】

さらに、トランスジェニック植物は、bscAbおよび融合タンパク質の長期保存を容易にする。機能的に活性なscFvタンパク質を、室温で1週間保存後にタバコの葉から抽出した。同様に、室温で1年間保存したトランスジェニックタバコ種子には、scFvタンパク質またはその抗原結合活性の喪失は認められない。

#### 【0141】

機能的bscAbおよび融合タンパク質を昆虫細胞で作製することもできる。例えば、Mahiouz et al., J. Immunol. Methods, 212: 149-160 (1998)参照。昆虫に基づく発現系により、大量の均質で適切に折りたたまれたbscAbの作製産生手段が提供される。バ

10

20

30

40

50

キユロウイルスは広く使用されている昆虫細胞の発現ベクターであり、組換え抗体分子に首尾よく適用されてきた。例えば、Miller, L. K., Ann. Rev. Microbiol., 42: 177 (1988); Bei et al., J. Immunol. Methods, 186: 245 (1995) 参照。あるいは、誘導プロモーターの転写制御下での b s c A b 構築物を含む安定な昆虫細胞株を作製することにより誘導発現系を利用することができる。例えば、Mahiouz et al., J. Immunol. Methods, 212: 149-160 (1998) 参照。上記のように得た b s c A b フラグメントをキイロショウジョウバエ (*Drosophila*) メタトチオネインプロモーターおよびヒト H L A - A 2 リーダー配列を含む発現ベクターにクローニングする。次いで、構築物をキイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) S C - 2 細胞にトランスフェクトする。細胞を多量の銅、亜鉛、またはカドミウムに暴露することによって発現を誘導する。当技術分野で公知の標準的な免疫学的方法を使用して、b s c A b の存在および機能性を判定する。精製 b s c A b は当技術分野で公知の標準的な方法を用いて得られる。

10

#### 【0142】

本発明の好ましい二重特異性抗体は、M A b M u - 9 の F v と M A b 6 7 9 の F v または M A b M N - 1 4 の F v と M A b 6 7 9 の F v 、ならびにそれらのヒトキメラ化またはヒト化対応物を組み込んだものである。M N - 1 4 、ならびにそのキメラ化およびヒト化対応物については、米国特許第 5 , 8 7 4 , 5 4 0 号で開示されている。また、M u - 9 または 6 7 9 の 1 以上の C D R を組み込んだ二重特異性抗体も好ましい。また、抗体は融合タンパク質であり得るし、またはクラス - III 抗 C E A 抗体および 6 7 9 の F v を組み込んだ二重特異性抗体であり得る。クラス - III 抗 C E A をはじめとするク

20

#### 【0143】

### VII. 他の応用

本発明は、米国特許第 6 , 0 9 6 , 2 8 9 号で記載されているような、上記のターゲッティング可能な構築物と結合する b s A b および治療薬または診断薬の術中、血管内、内視鏡における腫瘍および病巣の検出、生検ならびに治療における使用を包含する。

#### 【0144】

本発明の抗体および抗体フラグメントは、治療および画像化の目的だけでなく、in vitro 研究の実施における補助手段として使用することができる。例えば、本発明の b s A b を in vitro にて使用して、ターゲッティング可能な構築物が 1 以上の b s A b と安定した複合体を形成することができるかどうかを確かめることができる。このようなアッセイは、b s A b と安定した複合体を形成するターゲッティング可能な構築物の同定において当業者の手助けとなる。これにより、当業者は治療薬および / または造影剤として優れていると考えられるターゲッティング可能な構築物の同定が可能になる。

30

#### 【0145】

アッセイは問題のターゲッティング可能な構築物を少なくとも 2 モル等量の b s A b と合わせることによって実施することが有利である。インキュベーション後、混合物をサイズ排除 H P L C により分析して構築物が b s A b と結合しているかどうかを判定する。あるいは、アッセイを標準的なコンビナトリアル法を使用して実施する（ここで、種々の b s A b 溶液を標準 9 6 ウェルプレートに入れる）。各ウェルに、ターゲッティング可能な構築物の溶液を添加する。インキュベートし、分析した後、構築物がどの b s A b と最良の結合をするかが容易に判定できる。

40

#### 【0146】

当然のことではあるが、b s A b のターゲッティング可能な構築物への添加順序は重要でない、すなわち、b s A b を構築物に添加してもよいし、逆の場合も同じである。また、b s A b も構築物も溶解状態である必要はない、すなわち、それらは、溶解状態またはストレートのいずれか都合のよい方法で添加してよい。最後に、結合が確立されさえすれば、結合についての解析方法は重要でない。よって、限定されるものではないが、サイズ

50

排除 HPLC と合わせた、もしくはその代替りの、FABMS、高電界型 NMR、または他の好適な方法をはじめとする標準的な解析方法を使用して結合について解析し得る。

【0147】

以下、本発明を実施例により説明するが、これらは何ら限定されるものではない。

【実施例】

【0148】

IMP281の標識

以下のペプチド：(MH+ : 1361) DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> を <sup>111</sup>In で標識した。

【0149】

さらに、このペプチドを、標識後、37 で20時間にわたるヒト血清（それまでは冷凍）中での安定性に関して試験した。この試験により、ペプチドは安定なままであることが示された。また、IMP281を、ヒト化抗体 m679 x hMN14 との結合に関して試験した。In-111 標識ペプチドを逆相 HPLC 系とサイズ排除 HPLC 系の双方で分析した。

【0150】

IMP281の合成

このペプチドを、標準的な Fmoc 合成法を用い、リンクアミド樹脂（2.0159 g, 0.7 mmol/g）上での固相ペプチド合成により合成した（NB Ref. CN2-34）。以下のアミノ酸：Fmoc-D-Lys(Alloc)-OH、Fmoc-D-Glu(OBu<sub>t</sub>)-OH、Fmoc-D-Lys(Alloc)-OH、Fmoc-D-Ala-OH および DOTA-トリス(t-ブチル)エステル（1回の結合につき6当量）を示された順序で加えた。各アミノ酸を、活性化剤としてまずジイソプロピルカルボジイミドを用いた2時間のカップリング、次にO-ベンゾトリアゾール-N,N,N',N'-テトラメチル-ウロニウム-ヘキサフルオロ-ホスフェート（HBTU）を用いたカップリングで二重にカップリングした。次に、通常の方法でPd触媒を用いてAlloc側鎖を除去し、そのトリチル-HSG-OHをリシン側鎖と二重にカップリングした。TFAを用いて樹脂からペプチドを切断し、エーテル中で沈殿させ、HPLCにより精製し、目的のペプチドを得た。合成の成功はESMS分析、MH+ : 1361により確認した。目的生成物の全収量は6画分で298.8 mgであった。これら6画分のうち4画分は、201.3 mg量の純粋なペプチドを含んでいるが、残りの2画分は若干の不純物を含み、総量97.5 mgである。

【0151】

IMP281溶液

ペプチド（3.5 mg）を1169 μLの0.5 M NH<sub>4</sub>OAcバッファ（pH 3.98, Ref. BM10-91）と合わせ、終濃度  $2.2 \times 10^{-3}$  Mとした。

【0152】

IMP281の標識（図1および2）

ねじ蓋付きプラスチックバイアル中、2.5 μLのIMP281溶液および150 μLの0.5 M NH<sub>4</sub>OAcバッファ（pH 3.98, Ref. BM10-91）に <sup>111</sup>InCl<sub>3</sub>（6.3 μL）を加えた。このバイアルを鉛の容器に入れ、15分間沸騰水浴中に浸漬した。プラスチックバイアルを取り出し、室温に戻した。次に、この標識ペプチドを逆相 HPLC およびサイズ排除 HPLC により分析した。クロマトグラム（図1および2）は、ペプチドが十分標識されていることを示した。この溶液のペプチド濃度は  $3.463 \times 10^{-4}$  Mであった。

【0153】

ヒト血清中の <sup>111</sup>In IMP281（図3）

標識ペプチドとヒト血清（それまでは冷凍）の（1 : 9）混合物を作製し、37 でインキュベートした。<sup>111</sup>In IMP281溶液（70 μL）および630 μLのヒト血清を合わせ、ボルテックスにかけた。これを一定温度で20時間維持し、t<sub>0</sub> = 0時間

10

20

30

40

50



、 $t_1 = 1.3$  時間、 $t_2 = 2.5$  時間および  $t_3 = 20$  時間に逆相 HPLC に注入した。この標識ペプチドは、ヒト血清中で混合しても何ら変化を受けなかったことが明らかである。この混合物のペプチド濃度は  $3.463 \times 10^{-5}$  M であった。

#### 【0154】

$^{111}\text{In}$  IMP281 と抗体の結合 (図4)

標識ペプチド ( $0.5 \mu\text{L}$ ) 混合物を  $4.33 \mu\text{L}$  の  $m679 \times hMN14$  抗体 (抗体 / ペプチド比 10 : 1) および  $995 \mu\text{L}$  の 0.9% 生理食塩水と合わせた。この溶液をボルテックスにかけ、サイズ排除 HPLC により分析した。クロマトグラムは、いくらかの抗体がペプチドと結合していたものの、ほとんど二抗体が結合していたことを示す。

#### 【0155】

$^{111}\text{In}$  IMP281 w / 抗体とヒト血清 (図5および6)

ヒト血清 ( $5.0 \mu\text{L}$ ) 中、 $^{111}\text{In}$  - IMP281 を、 $4.33 \mu\text{L}$  の  $m679 \times hMN14$  抗体 (抗体 / ペプチド比 10 : 1) および  $990 \mu\text{L}$  の 0.9% 生理食塩水に加えた。この混合物をボルテックスにかけ、2 時点 (1 時間と 20 時間) でサイズ排除 HPLC により分析した。これらの結果は、抗体単独を用いたペプチドの場合と同等であると思われた。

#### 【0156】

IMP284 の標識

以下のペプチド : (MH+ : 1471) DOTA - D - Phe - D - Lys (HSG) - D - Tyr - D - Lys (HSG) -  $\text{NH}_2$  を  $^{111}\text{In}$  で標識した。

#### 【0157】

さらに、このペプチドを、標識後、ヒト血清中で 21 時間、また、マウス血清中で 19 時間にわたる安定性に関して試験した。この試験により、ペプチドは安定なままであることが示された。また、IMP284 を、ヒト化抗体  $m679 \times hMN14$  との結合に関して試験した。この検討には逆相 HPLC 系とサイズ排除 HPLC 系を用い、標識、抗体結合、および血清安定性を分析した。

#### 【0158】

IMP284 の合成

このペプチドを、標準的な Fmoc 合成法を用い、リンクアミド樹脂 ( $1.0 \text{ g}$ ,  $0.6 \text{ mmol/g}$ ) 上での固相ペプチド合成により合成した。以下のアミノ酸 : Fmoc - D - Lys (Alloc) - OH、Fmoc - D - Tyr (But) - OH、Fmoc - D - Lys (Alloc) - OH、Fmoc - D - Phe - OH および DOTA - トリス (t - ブチル) エステル (結合 1 回につき 6 当量) を示された順序で加えた。活性化剤としてジイソプロピルカルボジイミド (DIC) を用い、各アミノ酸を一晩カップリングした。次に、通常の方法で Pd 触媒を用いて Alloc 側鎖を除去し、そのトリチル - HSG - OH (7 当量) を、DIEA (14 当量) の存在下、DIC (7 当量) を用いてリシン側鎖とカップリングさせた。TFA を用いて樹脂からペプチドを切断し、エーテル中で沈殿させ、HPLC により精製し、目的のペプチドを得た。合成の成功は ESMSS 分析、MH+ : 1471 により確認した。目的生成物の全収量は 3 画分で  $248.1 \text{ mg}$  であった。

#### 【0159】

IMP284 溶液

ペプチド ( $3.7 \text{ mg}$ ) を  $1143 \mu\text{L}$  の  $0.5 \text{ M}$   $\text{NH}_4\text{OAc}$  バッファー ( $\text{pH } 3.98$ , Ref. BM10-91) と合わせ、終濃度  $2.2 \times 10^{-3} \text{ M}$  とした。

#### 【0160】

IMP284 の標識 (図7および8)

「ねじ蓋付き」プラスチックバイアル中、 $2.5 \mu\text{L}$  の IMP284 溶液および  $150 \mu\text{L}$  の  $0.5 \text{ M}$   $\text{NH}_4\text{OAc}$  バッファー ( $\text{pH } 3.98$ , Ref. BM10-91) に  $^{111}\text{InCl}_3$  ( $7.9 \mu\text{L}$ ) を加えた。このバイアルを鉛の容器に入れ、それ自体を 15 分間沸騰水浴中に浸漬した。プラスチックバイアルを取り出し、室温に戻した後、逆

10

20

30

40

50

相 H P L C により分析した。クロマトグラムは、ペプチドが十分標識されていることを示した。この溶液のペプチド濃度は  $3.429 \times 10^{-5}$  M であった。

#### 【0161】

$^{111}\text{In}$  IMP 284 と抗体の結合 (図 9)

標識ペプチド (0.5  $\mu\text{L}$ ) 混合物を 3.1  $\mu\text{L}$  の m 679  $\times$  h M N 14 抗体 (抗体 / ペプチド比 19.7 : 1) および 1000  $\mu\text{L}$  の 0.9 % 生理食塩水と合わせた。この溶液をボルテックスにかけ、H P L C により分析した。クロマトグラムは、ほとんどが二結合で少量が一結合のペプチドであったことを示す。

#### 【0162】

ヒト血清中の  $^{111}\text{In}$  IMP 284 (図 10)

標識ペプチドとヒト血清の混合物を作製し、37 で 19.5 時間インキュベートした。ヒト血清を新たに抜き取り、遠心分離し、M i l l e x (登録商標) - G V 0.22  $\mu\text{m}$  フィルターユニットで濾過した。インジウム標識ペプチド溶液 (50  $\mu\text{L}$ ) および 450  $\mu\text{L}$  のヒト血清を合わせ、ボルテックスにかけた。インキュベーションしながら、 $t_0 = 0$  時間、 $t_1 = 2.0$  時間、および  $t_2 = 19.5$  時間に逆相 H P L C に注入を行った。この標識ペプチドは、ヒト血清中で混合しても何ら変化を受けなかったことが明らかである。ヒト血清中で希釈した後のこの混合物のペプチド濃度は  $3.429 \times 10^{-6}$  M であった。

10

#### 【0163】

マウス血清中の  $^{111}\text{In}$  IMP 284 (図 13)

標識ペプチドとマウス血清の混合物を作製し、37 でインキュベートした。マウス血清は同日 G S C C から得た新鮮なヌードマウス血清であった。インジウム標識ペプチド溶液 (50  $\mu\text{L}$ ) および 450  $\mu\text{L}$  のマウス血清を合わせ、ボルテックスにかけた。これを 37 で 18 時間インキュベートした。 $t_0 = 0$  時間および  $t_1 = 18.0$  時間に逆相 H P L C に注入した。この標識ペプチドは、マウス血清中で混合しても何ら変化を受けなかったことが明らかである。マウス血清中で希釈した後のこの混合物のペプチド濃度は  $3.429 \times 10^{-6}$  M であった。

20

#### 【0164】

$^{111}\text{In}$  IMP 284 w / 抗体とヒト血清 (図 11 および 12)

ヒト血清中の  $^{111}\text{In}$  - IMP 284 (1.0  $\mu\text{L}$ ) を 0.7  $\mu\text{L}$  の m 679  $\times$  h M N 14 抗体 (抗体 / ペプチド比 22.3 : 1) および 60  $\mu\text{L}$  の 0.9 % 生理食塩水に加えた。この混合物をボルテックスにかけ、サイズ排除 H P L C により分析した。同じ手順を 18 時間後に繰り返した。両放射線測定クロマトグラムの結果は、抗体単独を用いたペプチドの場合と同等であると思われた。

30

#### 【0165】

$^{111}\text{In}$  IMP 284 w / 抗体とヒト血清 (図 14 および 15)

ヒト血清中  $^{111}\text{In}$  - IMP 284 (1.0  $\mu\text{L}$ ) を 0.7  $\mu\text{L}$  の m 679  $\times$  h M N 14 抗体 (抗体 / ペプチド比 22.3 : 1) および 60  $\mu\text{L}$  の 0.9 % 生理食塩水に加えた。この混合物をボルテックスにかけ、サイズ排除 H P L C により分析した。同じ手順を 16 時間後に繰り返した。両放射線測定クロマトグラムの結果は、抗体単独を用いたペプチドの場合と同等であると思われた。

40

#### 【0166】

ペプチドの標識

以下のペプチド:

IMP 281:

D O T A - D - A l a - D - L y s (H S G) - D - G l u - D - L y s (H S G) - N H<sub>2</sub> (M H + : 1361)

IMP 284:

D O T A - D - P h e - D - L y s (H S G) - D - T y r - D - L y s (H S G) - N H<sub>2</sub> (M H + : 1471)

50

を  $^{111}\text{In}$  で標識した。

【0167】

さらに、これらのペプチドを、標識後、21時間にわたるヒト血清中での安定性に関して試験した。この試験により、両ペプチドとも安定なままであることが示された。また、IMP281およびIMP284を、ヒト化抗体m679×hMN14(100,000 g/mol - 1、10.9 mg/mL - 1)との結合に関して試験した。逆相HPLC系とサイズ排除HPLC系の双方で分析を行った。

【0168】

IMP281

このペプチドを従前に合成したところ、最初の精製後に不純物が見られたので、異なる移動相、カラム、流速および勾配を用いてさらに2回再精製した。本報告に記載した標識研究に用いた材料は約97%純度(HPLC)であった。

【0169】

IMP284

このペプチドを従前に合成したところ、最初の精製後に不純物が見られたので、異なる移動相、カラム、流速および勾配を用いてさらに2回再精製した。本報告に記載した標識研究に用いた材料は約97%純度(HPLC)であった。

【0170】

IMP281保存溶液

ペプチド(3.9 mg)を1303  $\mu\text{L}$ の0.5 M  $\text{NH}_4\text{OAc}$ バッファー(pH 3.98)と合わせ、濃度 $2.2 \times 10^{-3}$  Mとした。

【0171】

IMP284保存溶液

ペプチド(1.5 mg)を464  $\mu\text{L}$ の0.5 M  $\text{NH}_4\text{OAc}$ バッファー(pH 3.98)と合わせ、濃度 $2.2 \times 10^{-3}$  Mとした。

【0172】

IMP281の標識(図16および17)

ねじ蓋付きプラスチックバイアル中、2.5  $\mu\text{L}$ のIMP281保存溶液および150  $\mu\text{L}$ の0.5 M  $\text{NH}_4\text{OAc}$ バッファー(pH 3.98)に $^{111}\text{InCl}_3$ (6.2  $\mu\text{L}$ )を加えた。このバイアルを鉛の容器に入れ、32分間、沸騰水浴中に浸漬した。プラスチックバイアルを取り出し、室温に戻した後、逆相HPLCにより分析した。逆相HPLCは、ペプチドが十分標識され、結合していないインジウムは微量しかないと示した。この溶液のペプチド濃度は $3.466 \times 10^{-5}$  Mであった。

【0173】

$^{111}\text{In}$  IMP281と抗体の結合(図18)

標識ペプチド(1.0  $\mu\text{L}$ )混合物を3.2  $\mu\text{L}$ のm679×hMN14抗体(抗体/ペプチド比10:1)および200  $\mu\text{L}$ の0.9%生理食塩水と合わせた。この溶液をボルテックスにかけ、HPLCにより分析した。クロマトグラムは、同様に、一結合ペプチドがいくらかあったものの、ほとんどが二結合であることを示す。

【0174】

IMP284の標識(図19および20)

ねじ蓋付きプラスチックバイアル中、2.5  $\mu\text{L}$ のIMP284保存溶液および150  $\mu\text{L}$ の0.5 M  $\text{NH}_4\text{OAc}$ バッファー(pH 3.98)に $^{111}\text{InCl}_3$ (6.2  $\mu\text{L}$ )を加えた。このバイアルを鉛の容器に入れ、32分間、沸騰水浴中に浸漬した。プラスチックバイアルを取り出し、室温に戻した後、逆相HPLCにより分析した。逆相HPLCは、ペプチドが十分標識され、結合していないインジウムは微量しかないと示した。この溶液のペプチド濃度は $3.466 \times 10^{-5}$  Mであった。

【0175】

$^{111}\text{In}$  IMP284と抗体の結合(図21)

標識ペプチド(1.0  $\mu\text{L}$ )混合物を3.2  $\mu\text{L}$ のm679×hMN14抗体(抗体/

10

20

30

40

50

ペプチド比 10 : 1 ) および 200  $\mu$ L の 0.9 % 生理食塩水と合わせた。この溶液をボルテックスにかけ、HPLCにより分析した。クロマトグラムは、同様に、一結合ペプチドがいくらかあったものの、ほとんどが二結合であることを示す。

#### 【0176】

ヒト血清中の  $^{111}\text{In}$  IMP 281 (図 22)

標識ペプチドと新しく抜き取って濾過したヒト血清の混合物を作製し、37 でインキュベートした。インジウム - 111 標識ペプチド (50  $\mu$ L) と 450  $\mu$ L のヒト血清を合わせ、ボルテックスにかけた。これを一定温度で 21 時間維持し、 $t_0 = 2.25$  時間、 $t_1 = 3.25$  時間、および  $t_2 = 20.25$  時間に逆相 HPLC に注入した。この標識ペプチドは、ヒト血清中で混合しても何ら変化を受けなかったことが明らかである。この混合物のペプチド濃度は  $3.466 \times 10^{-6}$  M であった。

10

#### 【0177】

ヒト血清中の  $^{111}\text{In}$  IMP 284 (図 23)

標識ペプチドと新しく抜き取って濾過したヒト血清の混合物を作製し、37 でインキュベートした。インジウム - 111 標識ペプチド (50  $\mu$ L) と 450  $\mu$ L のヒト血清を合わせ、ボルテックスにかけた。これを一定温度で 21 時間維持し、 $t_0 = 2.5$  時間および  $t_1 = 20.5$  時間に逆相 HPLC に注入した。この標識ペプチドは、ヒト血清中で混合しても何ら変化を受けなかったことが明らかである。この混合物のペプチド濃度は  $3.466 \times 10^{-6}$  M であった。

20

#### 【0178】

$^{111}\text{In}$  IMP 281 w / 抗体とヒト血清 (図 24)

ヒト血清中  $^{111}\text{In}$  - IMP 281 (1.0  $\mu$ L) を 0.64  $\mu$ L の m679 x hMN14 抗体 (抗体 / ペプチド比 20 : 1) および 200  $\mu$ L の 0.9 % 生理食塩水に加えた。この混合物をボルテックスにかけ、サイズ排除 HPLC により分析した。これらの結果は、抗体単独を用いたペプチドの場合と同等であると思われた。

#### 【0179】

$^{111}\text{In}$  IMP 284 w / 抗体とヒト血清 (図 25)

ヒト血清中  $^{111}\text{In}$  - IMP 284 (1.0  $\mu$ L) を 0.64  $\mu$ L の m679 x hMN14 抗体 (抗体 / ペプチド比 20 : 1) および 200  $\mu$ L の 0.9 % 生理食塩水に加えた。この混合物をボルテックスにかけ、サイズ排除 HPLC により分析した。これらの結果は、抗体単独を用いたペプチドの場合と同等であると思われた。

30

#### 【0180】

以下のペプチド : (IMP 277 MH + 1419) DOTA - D - Glu - D - Lys (HSG) - D - Glu - D - Lys (HSG) -  $\text{NH}_2$  を合成し、 $^{111}\text{In}$  で標識した。

血清中でのペプチドの安定性を向上させるため、全 D - アミノ酸を用いた。

#### 【0181】

合成 :

ペプチドを、Fmoc 法を用い、Sieber アミド樹脂上での固相ペプチド合成により合成した。以下のアミノ酸 : Fmoc - D - Lys (Alloc) - OH、Fmoc - D - Glu (OBu) - OH、Fmoc - D - Lys (Alloc) - OH、Fmoc - D - Glu (OBu) - OH、DOTA - トリス (tBu) エステルを示された順序で加えた。各アミノ酸を、活性化剤としてまずジイソプロピルカルボジイミドを用いた 2 時間のカップリング、次に O - ベンゾトリアゾール - N, N, N', N' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート (HBTU) を用いたカップリングで二重にカップリングした。次に、通常の方法で Pd 触媒を用いて Alloc 側鎖を除去し、そのトリチル - HSG - OH をリシン側鎖と二重にカップリングした。TFA を用いて樹脂からペプチドを切断し、エーテル中で沈殿させ、HPLC により精製し、目的のペプチドを得た。

40

#### 【0182】

50

標識溶液：

ペプチド  $0.0015 \text{ g}$  ( $1.06 \times 10^{-6} \text{ mol}$ ) を標識のため、 $480 \mu\text{L}$  の  $0.5 \text{ M}$   $\text{NH}_4\text{OAc}$   $\text{pH} 3.98$  に溶解した。

【0183】

放射性標識：

ペプチド  $2.5 \mu\text{L}$  を  $20 \mu\text{L}$  の  $\text{In} - 111$  ( $2.78 \text{ mCi}$ ) および  $60 \mu\text{L}$  の  $0.5 \text{ M}$   $\text{NH}_4\text{OAc}$   $\text{pH} 3.98$  と混合した。この溶液を沸騰水浴中で15分間加熱した。

【0184】

別に、異なるバッファーとして  $30 \mu\text{L}$  の  $0.5 \text{ M}$   $\text{NH}_4\text{OAc}$   $\text{pH} 5.5$  バッファーを使用したこと以外は同じ条件を用い、標識を行った。

【0185】

血清安定性：

ヒト血清：

$\text{In} - 111$   $\text{IMP} 277$  ( $30 \mu\text{L}$ ) を  $540 \mu\text{L}$  の新鮮なヒト血清で希釈し、37のインキュベーターに入れた。種々の時点でアリコートを採取し、逆相  $\text{HPLC}$  およびサイズ排除  $\text{HPLC}$  により分析した。

【0186】

マウス血清：

$\text{In} - 111$   $\text{IMP} 277$  ( $15 \mu\text{L}$ ) を  $150 \mu\text{L}$  の新鮮なマウス血清で希釈し、37のインキュベーターに入れた。種々の時点でアリコートを採取し、逆相  $\text{HPLC}$  およびサイズ排除  $\text{HPLC}$  により分析した。

【0187】

結果：

ペプチドは  $\text{In} - 111$  で十分標識されるが、逆相  $\text{HPLC}$  は、用いた標識条件によって様々な量で不純物を含むことを示す。抗体結合試験は、ペプチドが2つの  $\text{hMN} - 14 \times 679$  二重特異性抗体と結合するが、 $\text{hMN} - 14 \times 734$  とは結合しないことを示す。このペプチドはヒト血清中で極めて安定であり、マウス血清中での安定性と同様であると思われる。このマウス血清抗体結合  $\text{SEC} - \text{HPLC}$  実験は、存在するはずのない抗体領域にいくつかのピークが見られるが、これはおそらく前の注入のインジェクターまたはシリンジ中にその抗体が残っていたためであると思われる。

【0188】

結論：

ペプチドは十分標識され、マウス血清およびヒト血清中で安定である。

【0189】

二重特異性抗体腫瘍プレターゲッティングによる腫瘍への治療用 / 画像用放射性同位元素の運搬のためのペプチド例： $\text{DOTA} - \text{Phe} - \text{Lys} (\text{HSG}) - \text{Tyr} - \text{Lys} (\text{HSG}) - \text{NH}_2$  ( $\text{IMP} 237$ ) を合成し、二重特異性抗体腫瘍プレターゲッティングにより、 $^{90}\text{Y}$  または  $^{177}\text{Lu}$  などの治療用放射性同位元素を腫瘍へ送達した。この二重特異性抗体は、腫瘍上の抗原に結合する1つの部分と、 $\text{HSG}$  ペプチドに結合する別の部分からなる。 $\text{HSG}$  ペプチドに結合する抗体は679である。この系はまた、 $^{111}\text{In} - 111$  などの画像用同位元素を送達するためにも使用できる。

【0190】

$\text{IMP} 237$  合成

以下の保護アミノ酸： $\text{Fmoc} - \text{Lys} (\text{Alloc}) - \text{OH}$ 、 $\text{Fmoc} - \text{Tyr} (\text{Boc}) - \text{OH}$ 、 $\text{Fmoc} - \text{Lys} (\text{Alloc}) - \text{OH}$ 、 $\text{Fmoc} - \text{Phe} - \text{OH}$  (Advanced Chemtechからの試薬) トリ - t - ブチル  $\text{DOTA}$  (Macrocyclics) をこの順序で含むペプチド主鎖を構築すべく、標準的な  $\text{Fmoc}$  に基づく固相ペプチド合成を用い、 $\text{Sieber}$  アミド樹脂 (Nova-Biochem) 上で  $\text{IMP} 237$  を合成した。次に、Dangles et. al. J. Org. Chem. 52:4984-4993 (1987) の方法により、 $\text{Pd} [\text{P} (\text{Ph})_3]_4$  を用いてリシン

10

20

30

40

50

側鎖を脱保護した。次に、アミノ酸の付加に用いるBOP/HBTU二重カップリング法を用い、HSGリガンドをトリチルHSGとして付加した(下記の合成)。このペプチドを樹脂から切断し、TFA処理により保護基を除去した。HPLCによりペプチドを精製し、1.823gのFmoc-Lys(Alloc)-Tyr(But)-Lys(Alloc)-NH-Sieberアミド樹脂から0.6079gのペプチドを得た。

#### 【0191】

##### N-トリチル-HSG-OHの合成

グリシン $t$ -ブチルエステル塩酸塩(15.263g,  $9.1 \times 10^{-2}$  mol)と19.760gの $\text{Na}_2\text{CO}_3$ を混合した後、50mLの $\text{H}_2\text{O}$ に懸濁させ、氷浴で冷却した。この反応溶液に無水コハク酸(9.142g,  $9.14 \times 10^{-2}$  mol)を加え、ゆっくり室温まで温め、18時間攪拌した。クエン酸(39.911g)を50mLの $\text{H}_2\text{O}$ に溶解し、反応溶液にゆっくり加えた後、 $2 \times 150$  mLのEtOAcで抽出した。有機抽出物を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濾過および濃縮し、25.709gの白色固体を得た。

10

#### 【0192】

粗生成物(25.709g)を125mLのジオキサンに溶解し、室温の水浴中で冷却し、11.244gのN-ヒドロキシスクシンイミドと混合した。この反応溶液にジイソプロピルカルボジイミド15.0mLを加え、1時間攪拌した。次に、二塩酸ヒスタミン(18.402g,  $1.00 \times 10^{-1}$  mol)を100mLのDMFおよび35mLのジイソプロピルエチルアミンに溶解した。このヒスタミン混合物を反応溶液に加え、室温で21時間攪拌した。反応物を100mLの水で急冷し、濾過して沈殿を除去した。溶媒をロータリーエバポレーターにて真空下で除去した。粗生成物を300mLのジクロロメタンに溶解し、100mLの飽和 $\text{NaHCO}_3$ で抽出した。有機層を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮し、34.19gの粗生成物を黄色の油状物として得た。

20

#### 【0193】

粗生成物(34.19g)を50mLのクロロホルムに溶解し、31mLのジイソプロピルエチルアミンと混合した。塩化トリフェニルメチル(25.415g)を50mLのクロロホルムに溶解し、攪拌した反応溶液に滴下し、氷浴で冷却した。反応物を45分間攪拌した後、100mLの $\text{H}_2\text{O}$ で急冷した。層を分離し、有機溶液を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮すると緑色のガム質が生じた。このガム質を100mLの $\text{Et}_2\text{O}$ でトリチュレートすると黄色の沈殿が得られ、これを $3 \times 50$  mL部の $\text{Et}_2\text{O}$ で洗浄した。固体を真空乾燥させて30.641g(全体の収率59.5%)のN-トリチル-HSG- $t$ -ブチルエステルを得た。

30

#### 【0194】

N-トリチル-HSG- $t$ -ブチルエステル(20.620g,  $3.64 \times 10^{-2}$  mol)を、30mLのクロロホルムおよび35mLの氷酢酸の溶液に溶解した。反応物を氷浴で冷却し、この反応溶液に15mLの $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ をゆっくり加えた。この反応物を室温までゆっくり温め、5時間混合した。この反応物を200mLの1M NaOH中に注ぐことにより急冷し、生成物を200mLのクロロホルムで抽出した。有機層を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮して粗ガム質えを得、これを100mLの $\text{Et}_2\text{O}$ でトリチュレートすると沈殿が生じた。この粗沈殿400mLの0.5M pH7.5のリン酸バッファーに注ぎ、 $2 \times 200$  mLのEtOAcで抽出した。水層を1M HClでpH3.5に酸性化し、 $2 \times 200$  mLのクロロホルムで抽出した。沈殿が生じ、濾過により回収した(8.58g)。この沈殿は、従前のサンプル(ESMS MH+511)とのHPLC比較によれば、目的生成物であった。

40

#### 【0195】

##### 放射性標識

##### $^{111}\text{In}$ での標識

$^{111}\text{In}$ (約300  $\mu\text{Ci}$ /キット)を脱イオン水で0.5mLに希釈し、凍結乾燥キットに加えた。これらのキットを沸騰水浴中で15分間加熱し、それらのバイアルを冷

50

却し、0.5 M 酢酸バッファー中  $2.56 \times 10^{-5}$  M の  $^{111}\text{In}$  0.5 mL を加え、これらのキットを再び沸騰水浴中で15分間加熱した。これら標識ペプチドのバイアルを室温まで冷却し、逆相 HPLC (HPLC 条件: Waters Nova-Pak C-18,  $8 \times 100$  mm RCM カラム、100% ( $\text{H}_2\text{O}$  中 0.1% TFA) ~ 100% (90%  $\text{CH}_3\text{CN}$ 、0.1% TFA、10%  $\text{H}_2\text{O}$ ) の直線勾配を用い 3 mL / 分で溶出) によって評価した。この HPLC 分析により、この組成を用いた場合に標識に必要な最低ペプチド濃度 (非結合  $^{111}\text{In}$  は 4.7%) は  $35 \mu\text{g} / \text{mL}$  であった。逆相 HPLC トレースは、鋭い  $^{111}\text{In}$  標識ペプチドピークを示した。この標識ペプチドは、過剰量の 679 IgG と混合した場合、サイズ排除 HPLC M によれば、完全に結合した。

#### 【0196】

##### in vivo 研究

GW-39 ヒト結腸異種移植片腫瘍 (100 ~ 500 mg) を担持するヌードマウスを二重特異性抗体 hMN-14 × m679 ( $1.5 \times 10^{-10}$  mol) を注射した。この抗体を24時間クリアリングさせた後、 $^{111}\text{In}$  標識ペプチド ( $8.8 \mu\text{Ci}$ ,  $1.5 \times 10^{-11}$  mol) を注射した。注射後3時間、24時間、48時間で動物を犠牲にした。

#### 【0197】

hMN-14 × m679 でプレターゲティングしたマウスにおけるペプチドの生体分布研究の結果を表1に示す。このプレターゲティング研究におけるペプチドの腫瘍 / 非腫瘍比を表2に示す。

#### 【0198】

##### 【表1】

表1

hMN-14 × m679 の注射から24時間後の  $^{111}\text{In}$  標識ペプチドによるプレターゲティング

%注射 / 組織 g

組織	3 時間後 $^{111}\text{In}$ IMP 237	24 時間後 $^{111}\text{In}$ IMP 237	48 時間後 $^{111}\text{In}$ IMP 237
GW-39	7.25 ± 2.79	8.38 ± 1.70	5.39 ± 1.46
肝臓	0.58 ± 0.13	0.62 ± 0.09	0.61 ± 0.16
脾臓	0.50 ± 0.14	0.71 ± 0.16	0.57 ± 0.15
腎臓	3.59 ± 0.75	2.24 ± 0.40	1.27 ± 0.33
肺	1.19 ± 0.26	0.44 ± 0.10	0.22 ± 0.06
血液	2.42 ± 0.61	0.73 ± 0.17	0.17 ± 0.06
胃	0.18 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.02
小腸	0.65 ± 0.74	0.18 ± 0.03	0.11 ± 0.02
大腸	0.30 ± 0.07	0.17 ± 0.03	0.13 ± 0.03

#### 【0199】

## 【表 2】

表 2

hMN-14×m679の注射から24時間後の $^{111}\text{In}$ 標識ペプチドによるプレターゲッティング

腫瘍／非腫瘍組織比

組織	3 時間後 $^{111}\text{In}$ IMP 237	24 時間後 $^{111}\text{In}$ IMP 237	48 時間後 $^{111}\text{In}$ IMP 237
肝臓	12.6±4.44	13.6±2.83	8.88±1.78
脾臓	15.1±6.32	12.1±2.86	9.50±1.62
腎臓	2.04±0.74	3.84±1.04	4.25±0.19
肺	6.11±1.96	19.6±5.91	25.4±6.00
血液	3.04±1.13	11.9±3.20	31.9±4.79
胃	40.5±16.5	104.±39.6	83.3±16.5
小腸	18.9±12.6	47.5±10.3	49.5±7.83
大腸	25.2±10.6	50.1±16.7	43.7±9.35

10

DOTA-Phe-Lys(HSG)-Tyr-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>(IMP237)およびDOTA-Phe-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>(IMP241)の血清安定性

20

ペプチドの標識とHPLC分析

ペプチドIMP237およびIMP241を、Karacay et. al. Bioconjugate Chem. 11: 842-854 (2000)が記載している手順に従って標識した。ペプチドIMP241(0.0019g)を587μlの0.5M NH<sub>4</sub>Cl, pH 5.5に溶解した。このペプチド溶液の1.7μlアリコート(165μlの0.5M NH<sub>4</sub>Cl, pH 5.5で希釈した。このペプチド溶液に10μl中 $^{111}\text{In}$ (1.8mCi)を加え、この混合物を沸騰水浴中で30分間加熱した。

## 【0200】

標識ペプチドを、Waters 8×100mm radial-pak, novapak C-18 RCMカートリッジカラムを用い、HPLCにより分析した。カラムを、水中0.1%のTFA100%で始まり、10分間で、90%アセトニトリルおよび10%水中0.1%のTFA100%に向かう直線勾配を用い、3mL/分で溶出した。この標識法では約6%の非結合 $^{111}\text{In}$ が存在し、これはカラムのボイド容量(1.6分)に溶出した。また、5分および6.6~8分にいくらかの $^{111}\text{In}$ 標識ピークがあった。 $^{111}\text{In}$ 標識ペプチドは8.8分に単一のピークとして溶出した。 $^{111}\text{In}$ IMP237のHPLCプロフィールは $^{111}\text{In}$ IMP241とほぼ等しかった。

30

## 【0201】

血清安定性

$^{111}\text{In}$ IMP241のアリコート(30μl)を300μlの新鮮なマウス血清に入れ、37℃のインキュベーターに入れた。ペプチドを上記のようにしてHPLCによりモニタリングした。

40

## 【0202】

$^{111}\text{In}$ IMP237のアリコート(24μl)を230μlの新鮮なマウス血清に入れ、37℃のインキュベーターに入れた。ペプチドを上記のようにしてHPLCによりモニタリングした。

## 【0203】

この分析で、 $^{111}\text{In}$ IMP241は37℃のマウス血清中で22時間後にわずかに(約5%)分解したことが示された。 $^{111}\text{In}$ IMP237は、37℃で22時間のインキュベーション後に約70%がより短い保持時間のピークに変化した。

## 【0204】

50



## 結論

I M P 2 4 1 ペプチド中の D - チロシンは、I M P 2 3 7 の場合に比べてマウス血清中のペプチドの分解を遅くする。

## 【0205】

I M P 2 3 7 と I M P 2 4 1 の in vivo 安定性の比較

<sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n I M P 2 3 7 と <sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n I M P 2 4 1 の in vivo 安定性を、30 分および 60 分の時点のマウスからの尿サンプルを調べることにより (H P L C による) 比較した。ペプチド I M P 2 4 1 および I M P 2 3 7 は 1 上記のように <sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n - 1 1 1 で標識した。

## 【0206】

これらの標識ペプチドを B a l b / c マウスに注射し、ペプチドの注射後 30 分と 60 分に、1 時点につき 1 個体を用い、犠牲にした。H P L C トレースは、<sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n I M P 2 4 1 は完全な形で溶出したが、<sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n I M P 2 3 7 はほぼ完全に新たな <sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n 標識ペプチドに代謝されていたことを示した。

## 【0207】

## 結論

ペプチド主鎖における T y r の D - T y r での置換は、in vivo においてこのペプチドの代謝を軽減する。

## 【0208】

D O T A - D - A s p - D - L y s ( H S G ) - D - A s p - D - L y s ( H S G ) - N H <sub>2</sub> ( I M P 2 7 1 ) の合成

以下の保護アミノ酸：F m o c - D - L y s ( A l o c ) - O H、F m o c - D - A s p ( B u t ) - O H、F m o c - D - L y s ( A l o c ) - O H、および F m o c - D - A s p ( B u t ) - O H (Advanced Chemtech からの試薬) をこの順序で含むペプチド主鎖を構築すべく、標準的な F m o c に基づく固相ペプチド合成を用い、S i e b e r アミド樹脂 (Nova-Biochem) 上で I M P 2 3 7 を合成した。直鎖ペプチドを構築し、D O T A - トリス ( t B u ) エステル (Macrocyclics) をその N 末端に付加した。次に、Dangles et. al. J. Org. Chem. 52:4984-4993 (1987) の方法により、P d [ P ( P h ) <sub>3</sub> ] <sub>4</sub> を用いて D - リシン上の A l o c 側鎖を除去した。次に、アミノ酸の付加に用いる B O P / H B T U 二重カップリング法を用い、H S G リガンドをトリチル H S G として付加した (下記の合成)。このペプチドを樹脂から切断し、T F A 処理により保護基を除去した。H P L C によりペプチドを精製した。

## 【0209】

プレターゲティングおよび単独注射時における新規ペプチド <sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> I n - I M P 2 8 1 および I M P 2 8 4 と I M P 2 4 1 との生体分布の比較

目的：本実施例では I M P 2 8 1 の腫瘍ターゲティングを調べた。

試薬：h M N - 1 4 x m 6 7 9 F a b ' x F a b ' : G N , L N 0 7 3 1 0 2 , 1 0 . 9 m g / m L

N C r ヌード：( N C I ) Taconic から、4 週齢

G W 3 9 : 生成 # 8 ; S C 1 0 % を 3 0 0 μ L

I M P 2 4 1 : D O T A - P h e - L y s ( H S G ) - D - T y r - L y s ( H S G ) - N H <sub>2</sub>

I M P 2 8 1 : D O T A - D - A l a - D - L y s ( H S G ) - D - G l u - D - L y s ( H S G ) - N H <sub>2</sub> ; M H + 1 3 6 1

I M P 2 8 4 : D O T A - D - P h e - D - L y s ( H S G ) - D - T y r - D - L y s ( H S G ) - N H <sub>2</sub> ; M H + 1 4 7 1

## 【0210】

I 群 I M P 2 4 1

A . プレターゲティング

I - 1 2 5 標識 b s M a b ( 1 5 μ g ) を 1 0 G W 異種移植片担持マウス (腫瘍重 0

10

20

30

40

50

・2 g) に注射する。局在化と血液からのクリアランスのための時間をおいた後、 $^{111}\text{In}$ -IMP-241 を注射する。上記に示した時点で、1 時点につき 5 個体のマウスを剖検する。組織（腫瘍、肝臓、脾臓、腎臓、肺、血液、胃、大腸および小腸）を単離し、秤量し、適当な枠で計数する。

#### 【0211】

##### B. ペプチド単独

$^{111}\text{In}$ -IMP-241 ( $8.8 \mu\text{Ci}$ ,  $1.5 \times 10^{-11} \text{mol}$ ) を 10 個体の担癌マウスに注射する。注射後 3 時間および 24 時間で、1 時点につき 5 個体のマウスを剖検する。組織（腫瘍、肝臓、脾臓、腎臓、肺、血液、胃、大腸および小腸）を単離し、秤量し、適当な枠で計数する。

10

#### 【0212】

##### II 群 IMP 281

##### A. プレターゲティング

I-125 標識 bsMab ( $15 \mu\text{g}$ ) を 10 GW 異種移植片担持マウス（腫瘍重 0.2 g) に注射する。局在化と血液からのクリアランスのための時間をおいた後、 $^{111}\text{In}$ -IMP-281 を注射する。上記に示した時点で、1 時点につき 5 個体のマウスを剖検する。組織（腫瘍、肝臓、脾臓、腎臓、肺、血液、胃、大腸および小腸）を単離し、秤量し、適当な枠で計数する。

#### 【0213】

##### B. ペプチド単独

$^{111}\text{In}$ -IMP-281 ( $8.8 \mu\text{Ci}$ ,  $1.5 \times 10^{-11} \text{mol}$ ) を 12 個体の担癌マウスに注射する。注射後 3 時間および 24 時間で、1 時点につき 5 個体のマウスを剖検し、30 分で 2 個体のマウスを剖検する。組織（腫瘍、肝臓、脾臓、腎臓、肺、血液、胃、大腸および小腸）を単離し、秤量し、適当な枠で計数する。

20

#### 【0214】

##### III 群 IMP 284

##### A. プレターゲティング

I-125 標識 bsMab ( $15 \mu\text{g}$ ) を 10 GW 異種移植片担持マウス（腫瘍重 0.2 g) に注射する。局在化と血液からのクリアランスのための時間をおいた後、 $^{111}\text{In}$ -IMP-281 を注射する。上記に示した時点で、1 時点につき 5 個体のマウスを剖検する。組織（腫瘍、肝臓、脾臓、腎臓、肺、血液、胃、大腸および小腸）を単離し、秤量し、適当な枠で計数する。

30

#### 【0215】

##### B. ペプチド単独

$^{111}\text{In}$ -IMP-284 ( $8.8 \mu\text{Ci}$ ,  $1.5 \times 10^{-11} \text{mol}$ ) を 13 個体の担癌マウスに注射する。注射後 3 時間および 24 時間で、1 時点につき 5 個体のマウスを剖検し、30 分で 3 個体のマウスを剖検する。組織（腫瘍、肝臓、脾臓、腎臓、肺、血液、胃、大腸および小腸）を単離し、秤量し、適当な枠で計数する。

#### 【0216】

##### 放射性標識：

以下のプロトコールに従い、IMP-241 ペプチドを  $^{111}\text{In}$ -111 で標識する。

$^{111}\text{InCl}_3$  ( $3 \text{mCi}$ )。

0.5 M 酢酸アンモニウム, pH 5.5 ( $^{111}\text{In}$ -111 の 3 倍量)。

ペプチドは 0.5 M 酢酸アンモニウム pH 5.5 中  $2.2 \times 10^{-3} \text{M}$  を  $2.32 \mu\text{L}$

40

。遠心分離。

沸騰水浴中で 30 分間加熱。

氷浴上で 5 分間冷却。

遠心分離。

DTPA ( $0.1 \text{M}$  NaOAc, pH 6.50 中  $1 \text{M}$ ) を加えて最終 DTPA 濃度を

50

3 m Mとする。

室温で15分間置く。

0.1 M酢酸ナトリウムpH 6.5を加えて1 mLとする。

ITLCおよびHPLCにより分析。ITLCストリップは飽和塩化ナトリウムおよび水：エタノール：アンモニア（5：2：1）で展開する。

【0217】

放射性標識：

以下のプロトコールに従い、IMP-281ペプチドをIn-111で標識する。

$^{111}\text{InCl}_3$  (3 mCi)。

0.5 M酢酸アンモニウム, pH 5.5 (In-111の3倍量)。

ペプチドは0.5 M酢酸アンモニウムpH 5.5中 $2.2 \times 10^{-3}$  Mを2.32  $\mu$ L

10

。遠心分離。

沸騰水浴中で30分間加熱。

氷浴上で5分間冷却。

遠心分離。

DTPA (0.1 M NaOAc, pH 6.50中1 M)を加えて最終DTPA濃度を3 m Mとする。

室温で15分間置く。

0.1 M酢酸ナトリウムpH 6.5を加えて1 mLとする。

20

ITLCおよびHPLCにより分析。ITLCストリップは飽和塩化ナトリウムおよび水：エタノール：アンモニア（5：2：1）で展開する。

【0218】

放射性標識：

以下のプロトコールに従い、IMP-284ペプチドをIn-111で標識する。

$^{111}\text{InCl}_3$  (3 mCi)。

0.5 M酢酸アンモニウム, pH 5.5 (In-111の3倍量)。

ペプチドは0.5 M酢酸アンモニウムpH 5.5中 $2.2 \times 10^{-3}$  Mを2.32  $\mu$ L

。

遠心分離。

30

沸騰水浴中で30分間加熱。

氷浴上で5分間冷却。

遠心分離。

DTPA (0.1 M NaOAc, pH 6.50中1 M)を加えて最終DTPA濃度を3 m Mとする。

室温で15分間置く。

0.1 M酢酸ナトリウムpH 6.5を加えて1 mLとする。

ITLCおよびHPLCにより分析。ITLCストリップは飽和塩化ナトリウムおよび水：エタノール：アンモニア（5：2：1）で展開する。

結果：ペプチド $^{111}\text{In}$ -IMP 241、281および284単独とhMN 14 x m 679 Fab' x Fab'を用いたプレターゲティングの比較

40

【0219】

本実施例では、IMP 241を、単独およびプレターゲティングの場合で、上記実施例に記載の2つ総てのD-アミノ酸主鎖ペプチドと比較した。プロトコールおよび生体分布データを添付する。

【0220】

これらのペプチドの放射性標識データ：

## 【表 3】

I T L C		
ペプチド	非結合%	コロイド%
IMP 241	1.5	0.3
IMP 281	0.6	0.3
IMP 284	0.9	0.3

## 【0221】

10

## 【表 4】

<sup>111</sup>I n 標識ペプチドのSE HPLC

ペプチド	RT 単独	回収率%	ペプチド +hMN14xm679 の RT	bsAb のシフト%	回収率%
IMP 241	13.81	97.9	ND		
IMP 281	13.46	99	8.80	99	74
IMP 284	13.88	96.4	8.77	99	72

## 【0222】

20

## 【表 5】

<sup>111</sup>I n 標識ペプチドのC18 逆相HPLC

ペプチド	RT, 分	面積%
IMP 241	2.4	1.8
	11.51	97.7
IMP 281	2.3	0.75
	8.5	98.5
IMP 284	2.3	1.3
	11.61	98

30

## 【0223】

## 生体分布：

生体分布データを以下に示す。3つのペプチドを比較すると、腫瘍のペプチド取り込みは、注射後3時間および24時間で、プレターゲティングの場合、3つ総てのペプチドで同等であった(図27)。IMP281は、プレターゲティングの場合でも単独を与えた場合でも、IMP241および284よりも低い腎臓取り込みを示した(図28および29)。

## 【0224】

結論：bsAbおよびペプチド腫瘍取り込みは、種々のペプチドを用いた3つのプレターゲティング群で同じであった。IMP281はプレターゲティングにおいてIMP241および284よりもわずかに低い腎臓取り込みを示した。IMP281の腎臓取り込みの低減は、ペプチド単独を注射した場合により明らかであった。

40

## 【0225】

## 【表 6】

表 3

注射後の時間： 24 時間  
 実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体ブレターゲッティング

群番号： IA ( $^{125}\text{I}$ →24 時間→ $^{111}\text{In}$ -IMP-241) 注射した MAb 1 同位元素 : I-125  
 注射した  $\mu\text{Ci}$ : 6 注射した MAb 1 : hMN-14 x m679  
 補正された注射 MAb 1 cpm: 9802182

平均体重: 21.09

10

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.447	0.054	3.06	0.61	1.35	0.22	1.00	0.00
肝臓	5	1.223	0.197	0.19	0.06	0.22	0.04	17.04	3.17
脾臓	5	0.081	0.018	0.20	0.06	0.02	0.00	16.05	3.09
腎臓	5	0.139	0.016	0.14	0.03	0.02	0.00	22.27	3.44
肺	5	0.153	0.026	0.13	0.03	0.02	0.00	24.52	7.49
血液	5	0.241	0.002	0.15	0.03	0.23	0.03	20.26	3.91
胃	5	0.493	0.160	0.50	0.27	0.22	0.09	8.14	5.42
小腸	5	1.124	0.235	0.08	0.04	0.09	0.05	43.63	16.32
大腸	5	0.875	0.262	0.08	0.02	0.06	0.01	41.10	12.16

20

注射した MAb 2 同位元素 : In-111  
 注射 MAb 2 cpm: 4975201.6 注射した MAb 2 : IMP-241

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.447	0.054	11.31	1.38	5.05	0.75	1.00	0.00
肝臓	5	1.223	0.197	0.28	0.09	0.33	0.06	42.24	8.25
脾臓	5	0.081	0.018	0.28	0.11	0.02	0.01	44.15	13.06
腎臓	5	0.139	0.016	1.41	0.21	0.20	0.02	8.06	0.83
肺	5	0.153	0.026	0.19	0.08	0.03	0.01	67.48	20.75
血液	5	0.241	0.002	0.19	0.06	0.29	0.07	61.67	9.61
胃	5	0.493	0.160	0.04	0.01	0.02	0.01	344.86	101.23
小腸	5	1.124	0.235	0.08	0.04	0.08	0.03	168.22	53.20
大腸	5	0.875	0.262	0.08	0.02	0.07	0.02	141.82	33.27

30

## 【 0 2 2 6 】

## 【表 7】

表 4

注射後の時間： 3 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲティング

群番号： IA ( $^{125}\text{I}$ →24 時間→ $^{111}\text{In}$ -IMP-241)

注射した MAb 1 同位元素 :I-125

注射した  $\mu\text{Ci}$ : 6

注射した MAb 1 :hMN-14 x m679

補正された注射 MAb 1 cpm: 9892972

平均体重: 20.09

10

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.489	0.065	5.67	1.50	2.73	0.62	1.00	0.00
肝臓	5	1.069	0.154	0.57	0.12	0.60	0.12	10.36	3.25
脾臓	5	0.083	0.009	0.65	0.12	0.05	0.01	8.76	2.05
腎臓	5	0.131	0.020	0.40	0.06	0.05	0.01	14.38	3.80
肺	5	0.139	0.020	0.40	0.04	0.05	0.01	14.49	4.16
血液	5	0.233	0.003	0.57	0.07	0.84	0.13	10.16	2.89
胃	5	0.337	0.046	2.87	0.86	0.94	0.21	2.21	1.06
小腸	5	0.962	0.176	0.25	0.05	0.24	0.06	23.84	8.09
大腸	5	0.814	0.133	0.36	0.07	0.29	0.05	16.18	4.96

20

注射した MAb 2 同位元素 :In-111

注射 MAb 2 cpm: 6151305

注射した MAb 2 :IMP-241

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.489	0.065	17.92	6.32	8.62	2.65	1.00	0.00
肝臓	5	1.069	0.154	0.38	0.11	0.40	0.06	47.71	14.04
脾臓	5	0.083	0.009	0.31	0.07	0.02	0.00	57.95	11.64
腎臓	5	0.131	0.020	2.78	0.25	0.36	0.04	6.38	1.78
肺	5	0.139	0.020	0.54	0.10	0.07	0.01	33.54	10.60
血液	5	0.233	0.003	0.76	0.17	1.11	0.18	23.74	6.56
胃	5	0.337	0.046	0.08	0.02	0.03	0.00	226.83	73.39
小腸	5	0.962	0.176	0.16	0.05	0.15	0.03	120.60	46.41
大腸	5	0.814	0.133	0.22	0.09	0.17	0.06	88.84	31.75

30

## 【 0 2 2 7 】

## 【表 8】

表 5

注射後の時間： 24 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IB

注射した  $\mu$  Ci: 8.8 注射した同位元素: In-111 注射した MAb: IMP-241

注射した CPM: 6296515

平均体重: 19.89

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.360	0.086	0.038	0.013	0.015	0.008	1.000	0.000
肝臓	5	1.008	0.125	0.071	0.016	0.070	0.010	0.542	0.154
脾臓	5	0.067	0.015	0.037	0.009	0.002	0.001	1.026	0.196
腎臓	5	0.140	0.039	1.857	0.346	0.255	0.056	0.021	0.006
肺	5	0.137	0.012	0.018	0.002	0.002	0.000	2.078	0.536
血液	5	0.236	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	569.530	196.879
胃	5	0.378	0.074	0.040	0.026	0.015	0.008	1.140	0.604
小腸	5	0.952	0.204	0.044	0.019	0.039	0.011	0.898	0.136
大腸	5	0.779	0.181	0.156	0.047	0.121	0.042	0.261	0.124

全血液 CPM は 0 であった。

全脾臓 CPM は 200 以下であった。

全肺 CPM は 170 以下であった。

## 【0 2 2 8】

## 【表 9】

表 6

注射後の時間： 3 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IB

注射した  $\mu$  Ci: 8.8 注射した同位元素: In-111 注射した MAb: IMP-241

注射した CPM: 7771826.6

平均体重: 18.08

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.376	0.127	0.209	0.120	0.066	0.008	1.000	0.000
肝臓	5	0.875	0.130	0.149	0.012	0.129	0.011	1.425	0.874
脾臓	5	0.066	0.014	0.078	0.007	0.005	0.001	2.738	1.701
腎臓	5	0.113	0.014	4.327	0.559	0.488	0.081	0.047	0.020
肺	5	0.129	0.017	0.114	0.043	0.015	0.007	2.098	1.561
血液	5	0.232	0.003	0.010	0.003	0.013	0.003	22.736	14.408
胃	5	0.263	0.034	0.128	0.091	0.032	0.022	2.430	1.763
小腸	5	0.818	0.113	0.293	0.389	0.229	0.301	1.754	1.473
大腸	5	0.689	0.173	0.308	0.089	0.201	0.022	0.756	0.523

全血液 CPM は 250 以下であった。

## 【0 2 2 9】

## 【表 10】

表 7

注射後の時間： 24 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IIA ( $^{125}\text{I}$ →24 時間→ $^{111}\text{In}$ -IMP-281)

注射した MAb 1 同位元素 : I-125

注射した  $\mu\text{Ci}$ : 6

注射した MAb 1 : hMN-14 x m679

補正された注射 MAb 1 cpm: 9788320

平均体重: 18.92

10

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.590	0.042	3.51	0.74	2.05	0.36	1.00	0.00
肝臓	5	0.919	0.060	0.25	0.02	0.23	0.01	14.08	2.06
脾臓	5	0.070	0.005	0.26	0.03	0.02	0.00	13.49	3.14
腎臓	5	0.126	0.016	0.16	0.03	0.02	0.00	22.05	2.77
肺	5	0.149	0.016	0.19	0.04	0.03	0.00	19.09	2.82
血液	5	0.239	0.002	0.21	0.05	0.29	0.05	16.63	1.19
胃	5	0.334	0.041	0.84	0.43	0.28	0.14	4.58	1.27
小腸	5	0.882	0.064	0.08	0.02	0.07	0.02	44.14	4.36
大腸	5	0.793	0.090	0.10	0.04	0.08	0.04	35.48	7.79

20

注射した MAb 2 cpm: 6659738.3

注射した MAb 2 同位元素 : In-111  
注射した MAb 2 : IMP-281

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.590	0.042	12.66	2.55	7.41	1.30	1.00	0.00
肝臓	5	0.919	0.060	0.28	0.07	0.26	0.05	45.21	6.11
脾臓	5	0.070	0.005	0.23	0.04	0.02	0.00	54.68	12.53
腎臓	5	0.126	0.016	1.09	0.22	0.14	0.03	12.21	4.51
肺	5	0.149	0.016	0.18	0.06	0.03	0.01	74.26	14.28
血液	5	0.239	0.002	0.17	0.05	0.23	0.05	76.26	10.04
胃	5	0.334	0.041	0.04	0.01	0.01	0.01	299.09	55.84
小腸	5	0.882	0.064	0.06	0.02	0.06	0.02	207.34	42.11
大腸	5	0.793	0.090	0.13	0.11	0.11	0.10	126.67	55.69

30

## 【0230】



## 【表 1 1】

表 8

注射後の時間： 3 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体ブレターゲッティング

群番号： IIA ( $^{125}\text{I}$ →24 時間→ $^{111}\text{In}$ -IMP-281)

注射した MAb 1 同位元素 :I-125

注射した  $\mu\text{Ci}$ : 6

注射した MAb 1 :hMN-14 x m679

補正された注射 MAb 1 cpm: 9853618

平均体重: 19.01

10

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	4	0.529	0.049	5.38	0.82	2.85	0.53	1.00	0.00
肝臓	4	0.874	0.148	0.90	0.21	0.77	0.10	6.12	1.02
脾臓	4	0.070	0.010	1.25	0.33	0.09	0.02	4.38	0.56
腎臓	4	0.119	0.011	0.61	0.15	0.07	0.01	9.10	1.40
肺	4	0.138	0.033	0.65	0.23	0.08	0.01	8.74	1.68
血液	4	0.240	0.002	0.89	0.26	1.24	0.26	6.30	1.03
胃	4	0.337	0.066	6.98	3.33	2.26	1.00	0.94	0.50
小腸	4	0.980	0.153	0.36	0.11	0.34	0.08	15.87	3.44
大腸	4	0.694	0.137	0.59	0.19	0.40	0.13	9.83	2.94

20

注射した MAb 2 cpm: 8149181.6

注射した MAb 2 同位元素 :In-111

注射した MAb 2 :IMP-281

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	4	0.529	0.049	17.92	5.28	9.49	2.87	1.00	0.00
肝臓	4	0.874	0.148	0.36	0.09	0.30	0.04	49.60	2.59
脾臓	4	0.070	0.010	0.37	0.11	0.03	0.01	48.46	2.10
腎臓	4	0.119	0.011	2.25	0.41	0.27	0.05	7.95	1.70
肺	4	0.138	0.033	0.56	0.13	0.07	0.01	31.88	3.82
血液	4	0.240	0.002	0.89	0.28	1.25	0.29	20.28	1.19
胃	4	0.337	0.066	0.80	0.03	0.03	0.00	224.02	47.19
小腸	4	0.980	0.153	0.14	0.04	0.14	0.03	129.75	37.91
大腸	4	0.694	0.137	0.39	0.38	0.23	0.17	69.68	43.20

30

## 【 0 2 3 1 】

## 【表 1 2】

表 9

注射後の時間： 24 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IIB

注射した  $\mu$  Ci: 8.8 注射した同位元素： In-111 注射した MAb: IMP-281

注射した CPM: 8605706.6

平均体重: 20.69

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.306	0.085	0.026	0.002	0.008	0.002	1.000	0.000
肝臓	5	1.085	0.136	0.035	0.005	0.038	0.006	0.753	0.102
脾臓	5	0.079	0.011	0.032	0.003	0.003	0.001	0.805	0.082
腎臓	5	0.131	0.010	1.068	0.133	0.140	0.017	0.024	0.003
肺	5	0.141	0.009	0.017	0.005	0.002	0.001	1.660	0.423
血液	5	0.239	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	346.489	269.842
胃	5	0.356	0.080	0.007	0.002	0.003	0.001	3.816	1.387
小腸	5	0.964	0.122	0.017	0.002	0.016	0.002	1.543	0.246
大腸	5	0.847	0.075	0.031	0.008	0.026	0.008	0.907	0.320

全血液 CPM は 15 以下であった。

全肺 CPM は 300 以下であった。

10

20

## 【 0 2 3 2】

## 【表 1 3】

表 1 0

注射後の時間： 3 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IIB

注射した  $\mu$  Ci: 8.8 注射した同位元素： In-111 注射した MAb: IMP-281

注射した CPM: 10691556.6

平均体重: 18.06

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.301	0.062	0.100	0.034	0.029	0.008	1.000	0.000
肝臓	5	0.877	0.148	0.060	0.009	0.052	0.008	1.667	0.541
脾臓	5	0.070	0.015	0.040	0.005	0.003	0.001	2.481	0.722
腎臓	5	0.115	0.012	2.133	0.668	0.246	0.085	0.047	0.014
肺	5	0.131	0.016	0.037	0.007	0.005	0.001	2.618	0.528
血液	5	0.243	0.002	0.004	0.002	0.006	0.003	26.510	9.697
胃	5	0.361	0.097	0.032	0.013	0.011	0.006	3.744	2.828
小腸	5	0.819	0.140	0.082	0.045	0.069	0.046	1.627	1.183
大腸	5	0.611	0.062	0.295	0.119	0.178	0.065	0.418	0.278

全血液 CPM は 180 以下であった。

30

40

## 【 0 2 3 3】

## 【表 1 4】

表 1 1

注射後の時間： 30 分

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲティング

群番号： IIB

注射した  $\mu\text{Ci}$ : 8.8 注射した同位元素: In-111 注射した MAb: IMP-281

注射した CPM: 10598413.3

平均体重: 17.89

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	3	0.258	0.021	2.298	0.052	0.594	0.052	1.000	0.000
肝臓	3	0.982	0.201	0.270	0.087	0.266	0.101	9.075	2.628
脾臓	3	0.080	0.018	0.257	0.081	0.020	0.008	9.629	3.393
腎臓	3	0.113	0.007	4.984	1.280	0.558	0.109	0.481	0.121
肺	3	0.135	0.029	0.664	0.139	0.088	0.018	3.582	0.870
血液	3	0.245	0.002	0.854	0.290	1.141	0.450	2.934	1.093
胃	3	0.393	0.094	0.171	0.079	0.063	0.024	16.758	10.840
小腸	3	0.888	0.161	0.441	0.112	0.387	0.103	5.479	1.562
大腸	3	0.655	0.098	0.240	0.196	0.169	0.161	14.223	8.914

10

20

## 【0 2 3 4】

## 【表 1 5】

表 1 2

注射後の時間： 24 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲティング

群番号： IIIA ( $^{125}\text{I}$ →24 時間→ $^{111}\text{In}$ -IMP-284) 注射した MAb 1 同位元素 :I-125注射した  $\mu\text{Ci}$ : 6 注射した MAb 1 :hMN-14 x m679

補正された注射 MAb 1 cpm: 9788320

平均体重: 19.84

10

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.605	0.049	3.46	0.75	2.11	0.54	1.00	0.00
肝臓	5	1.019	0.172	0.26	0.07	0.26	0.03	13.79	4.49
脾臓	5	0.075	0.015	0.28	0.05	0.02	0.00	12.44	3.45
腎臓	5	0.126	0.019	0.16	0.02	0.02	0.00	21.37	4.88
肺	5	0.150	0.022	0.16	0.02	0.02	0.00	21.88	5.72
血液	5	0.242	0.002	0.20	0.03	0.30	0.03	17.28	4.44
胃	5	0.401	0.043	0.70	0.24	0.28	0.08	5.38	2.14
小腸	5	0.892	0.134	0.12	0.06	0.10	0.04	35.67	16.07
大腸	5	0.697	0.056	0.11	0.03	0.08	0.03	34.77	13.25

20

注射した MAb 2 同位元素 :In-111

注射した MAb 2 cpm: 4317976.6

注射した MAb 2 :IMP-284

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.605	0.049	11.58	2.17	7.00	1.45	1.00	0.00
肝臓	5	1.019	0.172	0.40	0.08	0.40	0.05	29.76	7.51
脾臓	5	0.075	0.015	0.40	0.11	0.03	0.00	30.25	6.78
腎臓	5	0.126	0.019	1.80	0.16	0.22	0.02	6.45	1.18
肺	5	0.150	0.022	0.21	0.04	0.03	0.00	55.57	11.50
血液	5	0.242	0.002	0.22	0.04	0.33	0.05	52.95	12.65
胃	5	0.401	0.043	0.04	0.02	0.02	0.01	303.88	103.30
小腸	5	0.892	0.134	0.08	0.02	0.07	0.01	155.54	34.18
大腸	5	0.697	0.056	0.07	0.01	0.05	0.01	166.52	42.08

30

## 【0 2 3 5】

## 【表 1 6】

表 1 3

注射後の時間： 3 時間  
 実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IIIA ( $^{125}\text{I}$ →24 時間→ $^{111}\text{In}$ -IMP-284) 注射した MAb 1 同位元素 : I-125  
 注射した  $\mu\text{Ci}$ : 6 注射した MAb 1 : hMN-14 x m679  
 補正された注射 MAb 1 cpm: 9853618

平均体重: 19.39

10

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.571	0.103	5.06	1.20	2.89	0.84	1.00	0.00
肝臓	5	0.901	0.088	0.73	0.12	0.66	0.07	7.13	2.27
脾臓	5	0.062	0.011	1.50	0.60	0.09	0.02	3.74	1.32
腎臓	5	0.124	0.004	0.50	0.09	0.06	0.01	10.52	3.36
肺	5	0.137	0.010	0.51	0.09	0.07	0.01	10.39	3.38
血液	5	0.234	0.002	0.77	0.21	1.10	0.28	7.13	2.86
胃	5	0.432	0.163	3.45	1.91	1.32	0.53	2.03	1.54
小腸	5	0.906	0.178	0.32	0.07	0.29	0.06	16.60	5.97
大腸	5	0.716	0.122	0.45	0.20	0.32	0.12	13.56	7.60

20

注射した MAb 2 同位元素 : In-111  
 注射した MAb 2 cpm: 5380911.6 注射した MAb 2 : IMP-284

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.571	0.103	16.72	2.35	9.56	2.20	1.00	0.00
肝臓	5	0.901	0.088	0.46	0.17	0.41	0.11	39.47	12.02
脾臓	5	0.062	0.011	0.82	0.42	0.05	0.02	23.55	8.10
腎臓	5	0.124	0.004	2.51	0.51	0.31	0.06	6.87	1.61
肺	5	0.137	0.010	0.68	0.10	0.09	0.01	24.87	3.94
血液	5	0.234	0.002	1.13	0.40	1.61	0.53	16.42	6.27
胃	5	0.432	0.163	0.08	0.02	0.03	0.01	209.92	52.53
小腸	5	0.906	0.178	0.17	0.07	0.14	0.02	109.59	35.41
大腸	5	0.716	0.122	0.18	0.05	0.13	0.02	100.97	45.57

30

## 【 0 2 3 6 】

## 【表 1 7】

表 1 4

注射後の時間： 24 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IIIB

注射した  $\mu\text{Ci}$ : 8.8 注射した同位元素: In-111 注射した MAb: IMP-284

注射した CPM: 5380911.6

平均体重: 19.71

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.315	0.053	0.053	0.013	0.016	0.004	1.000	0.000
肝臓	5	1.061	0.103	0.095	0.005	0.101	0.014	0.559	0.134
脾臓	5	0.070	0.004	0.071	0.009	0.005	0.001	0.744	0.161
腎臓	5	0.130	0.010	2.437	0.254	0.317	0.047	0.022	0.006
肺	5	0.131	0.010	0.047	0.005	0.006	0.001	1.141	0.348
血液	5	0.235	0.004	0.004	0.002	0.006	0.002	15.167	9.733
胃	5	0.367	0.066	0.027	0.016	0.010	0.006	2.441	1.365
小腸	5	0.970	0.071	0.038	0.012	0.036	0.011	1.464	0.429
大腸	5	0.829	0.093	0.071	0.032	0.060	0.033	0.808	0.253

全血液 CPM は 75 以下であった。

全脾臓 CPM は 375 以下であった。

全肺 CPM は 350 以下であった。

## 【 0 2 3 7 】

## 【表 1 8】

表 1 5

注射後の時間： 3 時間

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲッティング

群番号： IIIB

注射した  $\mu\text{Ci}$ : 8.8 注射した同位元素: In-111 注射した MAb: IMP-284

注射した CPM: 6768496.6

平均体重: 19.16

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	5	0.306	0.076	0.255	0.081	0.075	0.023	1.000	0.000
肝臓	5	0.908	0.050	0.155	0.024	0.140	0.022	1.708	0.709
脾臓	5	0.076	0.007	0.077	0.013	0.006	0.001	3.507	1.588
腎臓	5	0.122	0.012	4.359	0.531	0.533	0.086	0.059	0.018
肺	5	0.151	0.019	0.149	0.135	0.022	0.019	2.732	1.914
血液	5	0.235	0.002	0.021	0.026	0.029	0.036	23.725	13.540
胃	5	0.299	0.069	0.078	0.032	0.022	0.009	3.483	0.863
小腸	5	0.910	0.059	0.138	0.040	0.127	0.041	2.002	0.884
大腸	5	0.646	0.071	0.522	0.138	0.336	0.094	0.494	0.099

## 【 0 2 3 8 】

## 【表 1 9】

表 1 6

注射後の時間： 30 分

実験内容： In-111-IMP-241 と IMP-281 と IMP-284 による生体プレターゲティング

群番号： IIIB

注射した  $\mu\text{Ci}$ ： 8.8

注射した同位元素： In-111

注射した MAb:IMP-284

注射した CPM: 6768496.6

平均体重: 19.92

組織	n	重量	STD WT	%ID/g	STD%ID/g	%ID/org	STD%ID/org	T/NT	STD T/NT
腫瘍	2	0.294	0.016	2.515	0.590	0.743	0.214	1.000	0.000
肝臓	2	0.939	0.072	0.506	0.194	0.482	0.219	5.122	0.797
脾臓	2	0.085	0.018	0.520	0.171	0.046	0.024	4.915	0.482
腎臓	2	0.127	0.003	6.705	0.699	0.851	0.070	0.373	0.049
肺	2	0.148	0.002	1.310	0.367	0.193	0.051	1.933	0.091
血液	2	0.233	0.001	1.725	0.965	2.560	1.487	1.615	0.561
胃	2	0.430	0.078	0.285	0.170	0.116	0.051	9.980	3.876
小腸	2	1.032	0.001	0.446	0.175	0.460	0.180	5.827	0.968
大腸	2	0.579	0.032	0.339	0.134	0.194	0.067	7.670	1.289

## 【0 2 3 9】

当業者が理解しているように、特に表記するという点で、いずれか、また総ての目的で、本明細書に開示されている範囲は総て、いずれか、また総ての可能性のある部分範囲、およびその部分範囲の組合せも包含する。挙げられている範囲はいずれも、同じ範囲が少なくとも二等分、三分の一、四分の一、五分之一、十分の一などに細分されることを十分述べ、それが可能であることが容易に認識できよう。非限定的な例として、本明細書に開示されている各範囲は下三分の一、中三分の一、上三分の一などに容易に細分できる。当業者が理解しているように、「～まで」、「少なくとも～」、「～より大きい」、「～より小さい」、「～を超える」などの言葉は示されている数値を含み、上述のようにさらに部分範囲に細分できる範囲を表す。同様に、本明細書に開示されている比は総て、より広い比内にある総ての部分比を含む。

## 【0 2 4 0】

また、当業者ならば、各メンバーが M a r k u s h 方式などの一般的な様式で分類されている場合、本発明は全体像として挙げられている完全な群だけでなく、個々にその群の各メンバーおよび主要な群の可能性のある総ての亜群も包含する。従って、あらゆる目的で、本発明は、主要な群だけではなく 1 以上の群メンバーが存在しない主要な群も包含する。本発明はまた、請求の発明における群メンバーのいずれか 1 以上の明確な排除も意図する。

## 【0 2 4 1】

当業者ならば、本発明の組成物および方法に対して種々の変形や変更が可能であることが明らかである。従って、本発明は、添付の特許請求の範囲およびそれらの等価物の範囲内にある限り、このような変形や変更も含むものとする。

## 【0 2 4 2】

本明細書に開示されている総ての刊行物の開示内容は明らかに引用することにより、各々が個々に引用することにより本明細書の一部とされる場合と同じく、そのまま本明細書の一部とされる。

## 【0 2 4 3】

注目されるさらなる参考文献としては次のものがある。

## 【表 2 0】

Arano Y, Uezono T, Akizawa H, Ono M, Wakisaka K, Nakayama M, Sakahara H, Konishi J, Yokoyama A., "Reassessment of diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) as a chelating agent for indium-111 labeling of polypeptides using a newly synthesized monoreactive DTPA derivative," *J Med Chem.* 1996 Aug 30; 39(18):3451-60.

Bamias, A., and Epenetos, A.A. Two-step strategies for the diagnosis and treatment of cancer with bioconjugates. *Antibody, Immunoconjugates, Radiopharm.* 1992; 5: 385-395.

10

Barbet, J., Peltier, P., Bardet, S., Vuillez, JP., Bachelot, I., Denet, S., Olivier, P., Lecia, F., Corcuff, B., Huglo, D., Proye, C., Rouvier, E., Meyer, P., Chatal, J.F. Radioimmunodetection of medullary thyroid carcinoma using indium-111 bivalent hapten and anti-CEA x anti-DTPA-indium bispecific antibody. *J.Nucl.Med.* 1998; 39:1172-1178.

Bos, ES., Kuijpers, WHA., Meesters-Winters, M., Pham, DT., deHaan, AS., van Doormalen, Am., Kaspersen, F.M., van Boeckel, CAA and Gougeon-Bertrand, F.

20



In vitro evaluation of DNA-DNA hybridization as a two-step approach in radioimmunotherapy of cancer. *Cancer Res.* 1994; 54:3479-3486.

Carr *et al.*, WO00/34317.

Gautherot, E., Bouhou, J., LeDoussal, J.-M., Manetti, C., Martin, M., Rouvier, E., Barbet, J. Therapy for colon carcinoma xenografts with bi-specific antibody-targeted, iodine-131-labeled bivalent hapten. *Cancer suppl.* 1997; 80: 2618-2623.

Gautherot, E., Bouhou, J., Loucif, E., Manetti, C., Martin, M., LeDoussal, J.-M., Rouvier, E., Barbet, J. Radioimmunotherapy of LS174T colon carcinoma in nude mice using an iodine-131-labeled bivalent hapten combined with an anti-CEA x anti-indium-DTPA bi-specific antibody. *J.Nucl. Med. Suppl.* 1997; 38: 7p.

10

Goodwin, D.A., Meares, C.F., McCall, M.J., McTigue, M., Chaovapong, W. Pre-targeted immunoscintigraphy of murine tumors with indium-111-labeled bifunctional haptens. *J.Nucl.Med.* 1988; 29:226-234.

Greenwood, F.C. and Hunter, W.M. The preparation of I-131 labeled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem.* 1963; 89:114-123.

20

Hawkins, G.A., McCabe, R.P., Kim, C.-H., Subramanian, R., Bredehorst, R., McCullers, G.A., Vogel, C.-W., Hanna, M.G.Jr., and Pomata, N. Delivery of radionuclides to pretargeted monoclonal antibodies using dihydrofolate reductase and methotrexate in an affinity system. *Cancer Res.* 1993; 53: 2368-2373.

Kranenborg, M.h., Boerman, O.C., Oosterwijk-Wakka, j., weijert, M., Corstens, F., Oosterwijk, E. Development and characterization of anti-renal cell carcinoma x antichelate bi-specific monoclonal antibodies for two-phase targeting of renal cell carcinoma. *Cancer Res.(suppl)* 1995; 55: 5864s-5867s

30

Losman M.J., Qu Z., Krishnan I.S., Wang J., Hansen H.J., Goldenberg D.M., Leung S.O. *Clin. Cancer Res.* 1999; 5(10 Suppl.):3101s-3105s.

Penefsky, H.S. A centrifuged column procedure for the measurement of ligand binding by beef heart F1. Part G. *Methods Enzymol.* 1979; 56:527-530.

Schuhmacher, J., Klivenyi, G., Matys, R., Stadler, M., Regiert, T., Hauser, H., Doll, J., Maier-Borst, W., Zoller, M. Multistep tumor targeting in nude mice using bi-specific antibodies and a gallium chelate suitable for immunocintigraphy with positron emission tomography. *Cancer Res.* 1995; 55, 115-123.

40

Sharkey, RM., Karacay, Griffiths, GL., Behr, TM., Blumenthal, RD., Mattes, MJ., Hansen, HJ., Goldenberg. Development of a streptavidin-anti-carcinoembryonic antigen antibody, radiolabeled biotin pretargeting method for radioimmunotherapy of colorectal cancer. Studies in a human colon cancer xenograft model. *Bioconjugate Chem* 1997; 8:595-604.

Stickney, DR., Anderson, LD., Slater, JB., Ahlem, CN., Kirk, GA., Schweighardt, SA and Frincke, JM. Bifunctional antibody: a binary radiopharmaceutical delivery system for imaging colorectal carcinoma. *Cancer Res.* 1991;51: 6650-6655.

10

#### 【 0 2 4 4 】

本明細書に挙げられている総ての参考文献は、引用することによりそのまま本明細書の一部とされる。

#### 【 図面の簡単な説明 】

#### 【 0 2 4 5 】

【 図 1 】 標識 IMP 2 8 1 の逆相 HPLC ( RP - HPLC ) トレースを示す。

20

【 図 2 】 標識 IMP 2 8 1 のサイズ排除 HPLC ( SE - HPLC ) トレースを示す。

【 図 3 】 ヒト血清中での IMP 2 8 1 の安定性を示す RP - HPLC トレースを示す。

【 図 4 】 m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合する IMP 2 8 1 の SE - HPLC を示す。

【 図 5 】 ヒト血清中でのインキュベーション後に m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した IMP 2 8 1 の SE - HPLC トレースを示す。

【 図 6 】 ヒト血清中でのインキュベーション後に m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した IMP 2 8 1 の SE - HPLC トレースを示す。

【 図 7 】 標識 IMP 2 8 4 の RP - および SE - HPLC トレースを示す。

【 図 8 】 標識 IMP 2 8 4 の RP - および SE - HPLC トレースを示す。

【 図 9 】 m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合する IMP 2 8 4 の SE - HPLC を示す。

30

【 図 1 0 】 ヒト血清中での IMP 2 8 4 の安定性を示す RP - HPLC トレースを示す。

【 図 1 1 】 ヒト血清中でのインキュベーション後に m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した IMP 2 8 4 の SE - HPLC トレースを示す。

【 図 1 2 】 ヒト血清中でのインキュベーション後に m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した IMP 2 8 4 の SE - HPLC トレースを示す。

【 図 1 3 】 マウス血清中での標識 IMP 2 8 4 の安定性を示す。

【 図 1 4 】 ヒト血清中での、 m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した標識 IMP 2 8 4 の安定性を示す。

【 図 1 5 】 ヒト血清中での、 m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した標識 IMP 2 8 4 の安定性を示す。

40

【 図 1 6 】 標識 IMP 2 8 1 の RP - および SE - HPLC トレースを示す。

【 図 1 7 】 標識 IMP 2 8 1 の RP - および SE - HPLC トレースを示す。

【 図 1 8 】 m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した標識 IMP 2 8 1 の SE - HPLC トレースを示す。

【 図 1 9 】 標識 IMP 2 8 4 の RP - および SE - HPLC トレースを示す。

【 図 2 0 】 標識 IMP 2 8 4 の RP - および SE - HPLC トレースを示す。

【 図 2 1 】 m 6 7 9 x h MN 1 4 と結合した IMP 2 8 4 の SE - HPLC トレースを示す。

【 図 2 2 】 ヒト血清中での標識 IMP 2 8 1 の安定性を示す。

【 図 2 3 】 ヒト血清中での標識 IMP 2 8 4 の安定性を示す。

50

【図 2 4】ヒト血清中での、m 6 7 9 x h M N 1 4 と結合した標識 I M P 2 8 1 の安定性を示す。

【図 2 5】ヒト血清中での、m 6 7 9 x h M N 1 4 と結合した標識 I M P 2 8 4 の安定性を示す。

【図 2 6】ペプチド注射後 3 時間および 2 4 時間でのプレターゲティングにおける  $^{125}\text{I}$  h M N 1 4 x m 6 7 9 F a b ' x F a b ' の組織取り込みを示す。

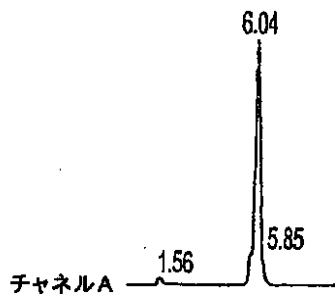
【図 2 7】ペプチド注射後 3 時間（上）および 2 4 時間（下）でのプレターゲティングにおけるペプチド I M P 2 4 1、2 8 1 および 2 8 4 の組織取り込みの比較を示す。

【図 2 8】ペプチド注射後 3 時間および 2 4 時間でのプレターゲティングにおけるペプチドの腎臓取り込みの比較を示す。

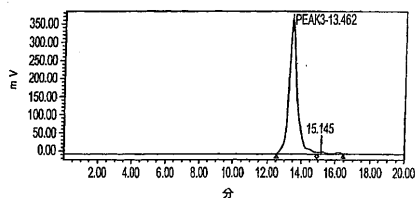
【図 2 9】ペプチド注射後 3 時間および 2 4 時間での I M P 2 4 1、2 8 1 および 2 8 4 ペプチドの組織取り込みを示す。

10

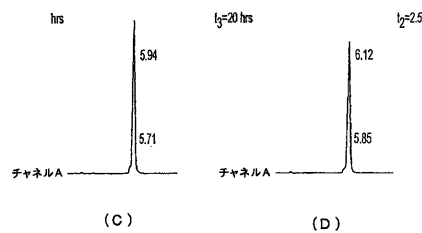
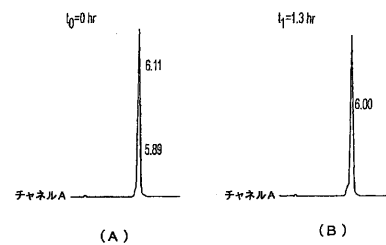
【図 1】



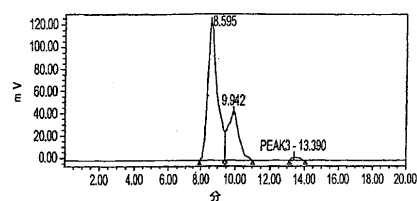
【図 2】



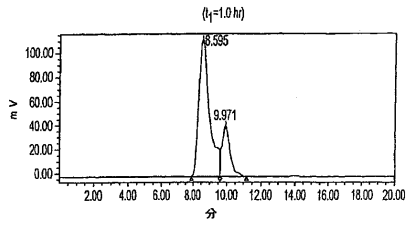
【図 3】



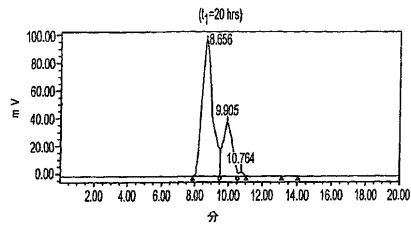
【図 4】



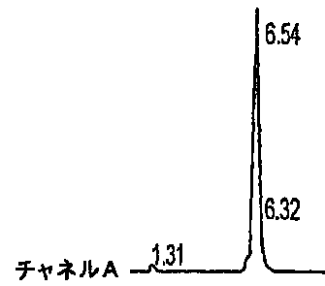
【図 5】



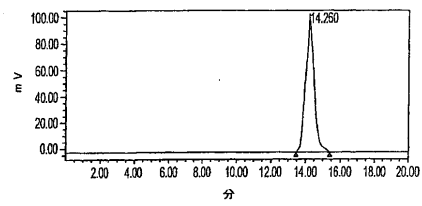
【図 6】



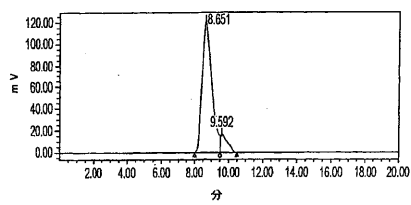
【図 7】



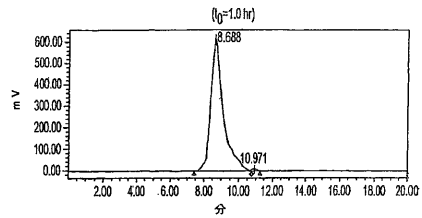
【図 8】



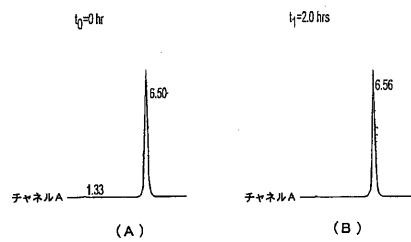
【図 9】



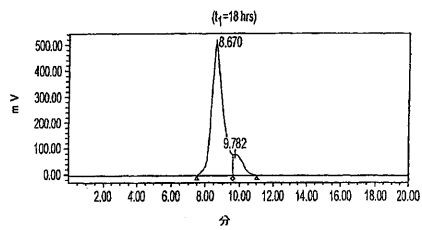
【図 11】



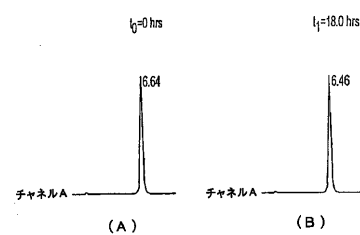
【図 10】



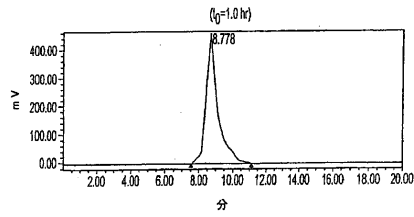
【図 12】



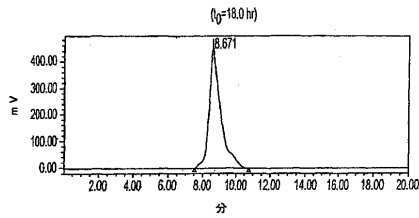
【図 13】



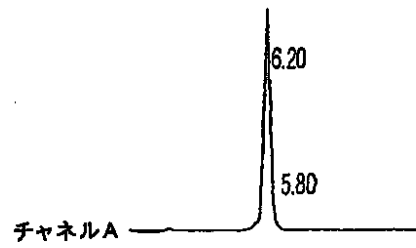
【図 14】



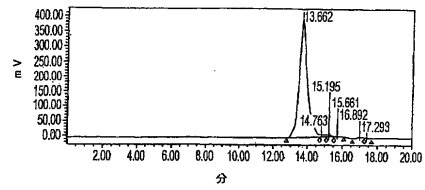
【図 15】



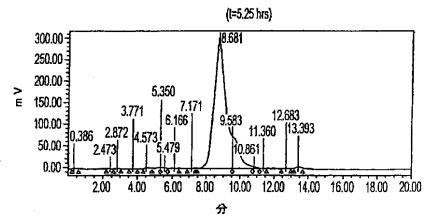
【図 16】



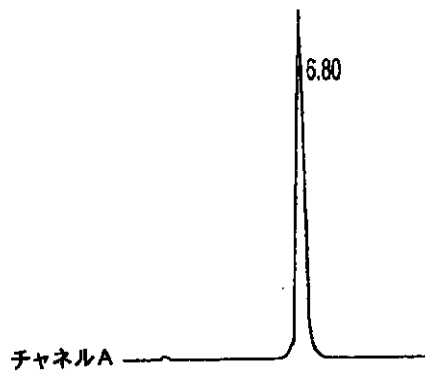
【図 17】



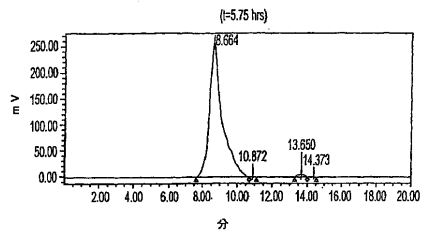
【図 18】



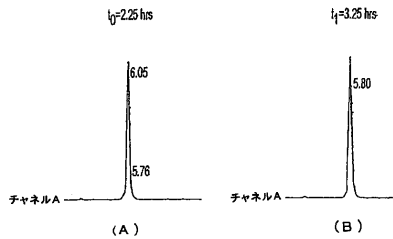
【図 19】



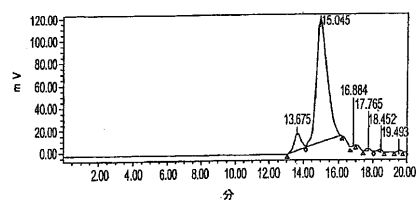
【図 21】



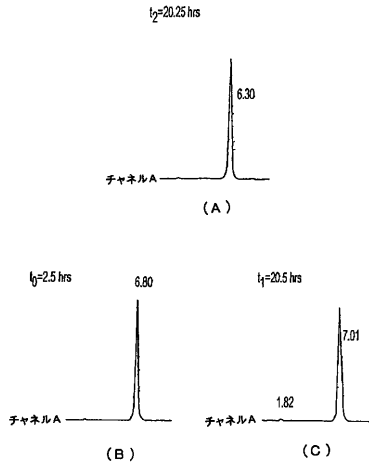
【図 22】



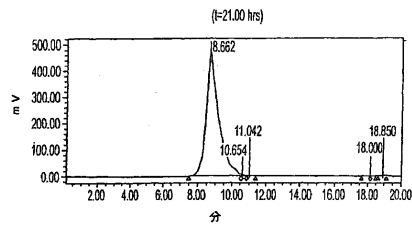
【図 20】



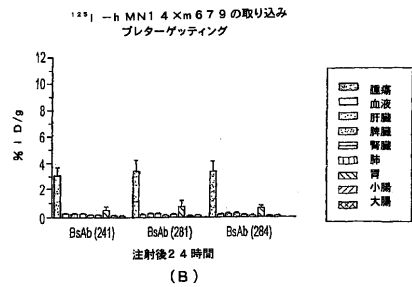
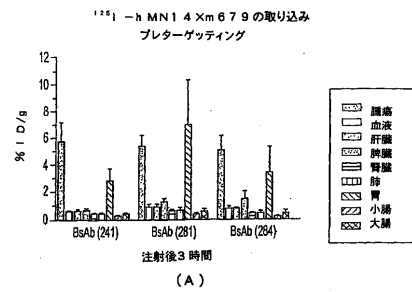
【図 23】



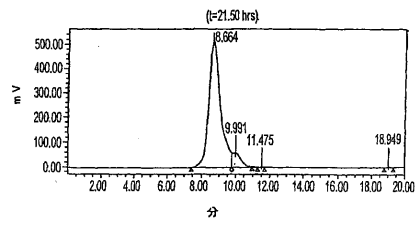
【図 24】



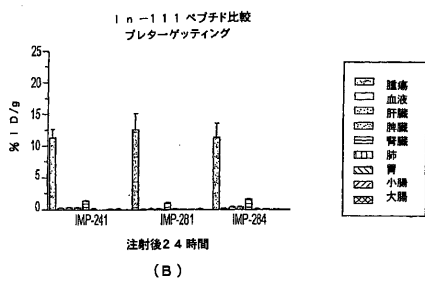
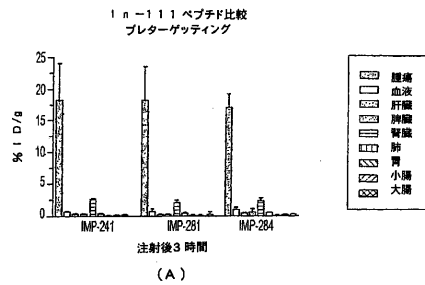
【図 26】



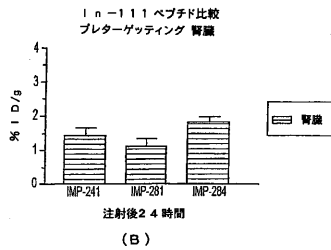
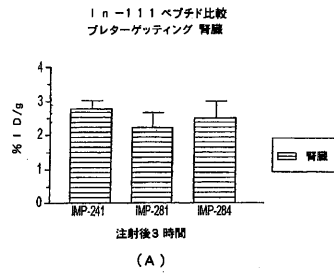
【図 25】



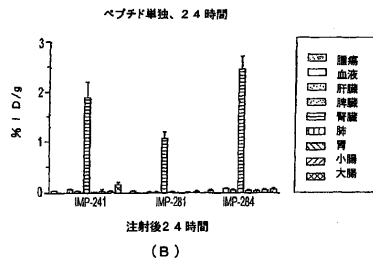
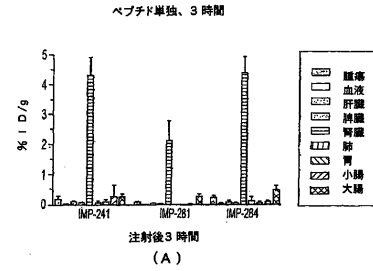
【図 27】



【図 28】



【図 29】



## 【手続補正書】

【提出日】平成19年3月29日(2007.3.29)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記の式で表される化合物：

$X - R^1 - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$  ; または  
 $R^1 (X) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (A) - R^2 (Z) - D - [Dpr, Orn \text{ または } Lys] (B) - R^3 (Y) - NR^4 R^5$

[式中、

Xは硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、またはAc-であり、

R<sup>1</sup>は共有結合または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり、

、

R<sup>2</sup>は共有結合または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり、

、

R<sup>3</sup>は共有結合または同じであっても異なってもよい1以上のD-アミノ酸であり、

、

Yは硬酸陽イオンキレート剤もしくは軟酸陽イオンキレート剤であるか、または存在せず、

Zは硬酸陽イオンキレート剤もしくは軟酸陽イオンキレート剤であるか、または存在せず、

ず、

A および B は独立にハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく、かつ、

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> は硬酸陽イオンキレート剤、軟酸陽イオンキレート剤、酵素、治療薬、診断薬および H からなる群から独立に選択される】。

【請求項 2】

式：X - R<sup>1</sup> - D - L y s ( A ) - R<sup>2</sup> - D - L y s ( B ) - R<sup>3</sup> ( Y ) - N R<sup>4</sup> R<sup>5</sup> で表される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R<sup>2</sup> が単一の D - アミノ酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

R<sup>2</sup> が、同じであっても異なってもよい 2 つの D - アミノ酸である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R<sup>3</sup> が D - L y s であり、Y が硬酸陽イオンキレート剤または軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

R<sup>2</sup> が D - L y s ではない、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

A および B がヒスタミン - スクシニル - グリシン ( H S G )、D T P A、および検出可能な標識からなる群から独立に選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 8】

R<sup>1</sup> が、同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり、

R<sup>2</sup> が、同じであっても異なってもよい 1 以上の D - アミノ酸であり、

R<sup>3</sup> が共有結合であり、

Y が存在せず、かつ、

A および B がハブテンまたは硬酸陽イオンキレート剤であり、これらが同じであっても異なってもよい、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

A および B がハブテンであり、これらが同じであっても異なってもよい、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 10】

R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> が単一の D - アミノ酸であり、これらが同じであっても異なってもよい、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 11】

R<sup>1</sup> が D - T y r、D - A l a、D - S e r、D - T h r、D - C y s、D - L e u、D - I l e、D - M e t、D - G l n、D - A s n、D - V a l、および D - P h e からなる群から選択される、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 12】

R<sup>2</sup> が D - A s p、D - G l u および D - T y r からなる群から選択される、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 13】

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> がともに H である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 14】

X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つが硬酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 15】

残された X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの 1 つが軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 16】



X が硬酸陽イオンキレート剤である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 17】

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> の一方が硬酸陽イオンキレート剤である、請求項 16 に記載の化合物。

【請求項 18】

硬酸陽イオンキレート剤がカルボン酸基またはアミン基を含んでなる、請求項 14 に記載の化合物。

【請求項 19】

硬酸陽イオンキレート剤が NOTA、DOTA、DTPA、および TETA からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 20】

軟酸陽イオンキレート剤がチオール基を含んでなる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 21】

軟酸陽イオンキレート剤が Tscg-Cys および Tscg-Cys からなる群から選択される、請求項 20 に記載の化合物。

【請求項 22】

R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> の一方が軟酸陽イオンキレート剤であり、残りの R<sup>4</sup> または R<sup>5</sup> が H である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 23】

X が Ac- であり、

A および B が硬酸陽イオンキレート剤であり、これらは同じであっても異なってもよく、

R<sup>3</sup> が共有結合であり、かつ、

Y が存在しない、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 24】

X が Ac- であり、

A および B がハブテンであり、これらは同じであっても異なってもよく、

R<sup>1</sup> が共有結合であり、かつ、

Y が軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 25】

【化 1】

DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 271);

DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 277);

DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 288);

DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 281);

DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 284);

DOTA-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 301)

DOTA-D-Lys(HSG)-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-

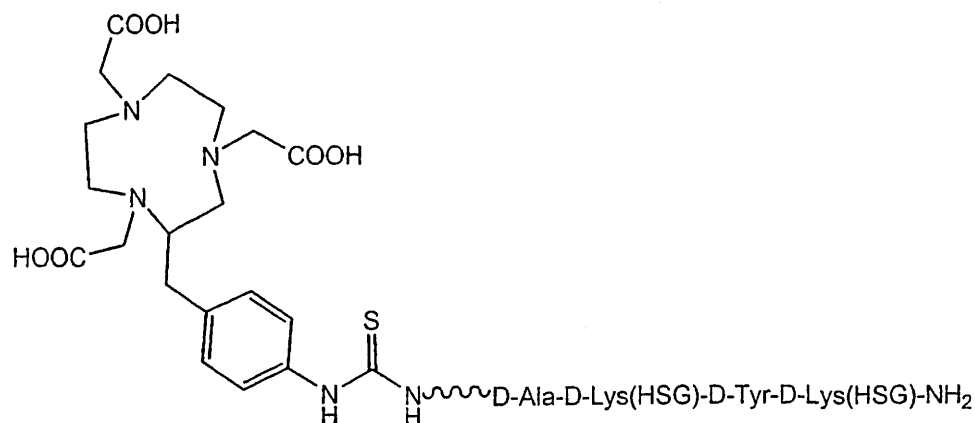
Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 302)

DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Cys-NH<sub>2</sub> (IMP 305)

Ac-D-Lys(In-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(In-DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub> MH+

1813 (IMP 297)

HCO-CO-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub> (IMP 289); および



からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 26】

(i) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの多くとも 1 つが硬酸陽イオンキレート剤であり、かつ

(ii) X、R<sup>4</sup> および R<sup>5</sup> のうちの多くとも 1 つが軟酸陽イオンキレート剤である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 27】

【化 2】

Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH<sub>2</sub>;

Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;

DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH<sub>2</sub>;

Tscg-Cys-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH<sub>2</sub>;

Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH<sub>2</sub>; および

Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-D-Cys-NH<sub>2</sub>.

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 28】

少なくとも 1 つの放射性核種をさらに含んでなる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 29】

放射性核種が <sup>225</sup>Ac、<sup>111</sup>Ag、<sup>72</sup>As、<sup>77</sup>As、<sup>211</sup>At、<sup>198</sup>Au、<sup>199</sup>Au、<sup>212</sup>Bi、<sup>213</sup>Bi、<sup>75</sup>Br、<sup>76</sup>Br、<sup>11</sup>C、<sup>55</sup>Co、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>166</sup>Dy、<sup>169</sup>Er、<sup>18</sup>F、<sup>52</sup>Fe、<sup>59</sup>Fe、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>154</sup>Gd、<sup>155</sup>Gd、<sup>156</sup>Gd、<sup>157</sup>Gd、<sup>158</sup>Gd、<sup>166</sup>Ho、<sup>120</sup>I、<sup>123</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>110</sup>In、<sup>111</sup>In、<sup>194</sup>Ir、<sup>177</sup>Lu、<sup>51</sup>Mn、<sup>52m</sup>Mn、<sup>99</sup>Mo、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>O、<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>211</sup>Pb、<sup>212</sup>Pb、<sup>109</sup>Pd、<sup>149</sup>Pm、<sup>142</sup>Pr、<sup>143</sup>Pr、<sup>223</sup>Ra、<sup>82m</sup>Rb、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>189</sup>Re、<sup>105</sup>Rh、<sup>47</sup>Sc、<sup>153</sup>Sm、<sup>75</sup>Se、<sup>83</sup>Sr、<sup>89</sup>Sr、<sup>161</sup>Tb、<sup>94m</sup>Tc、<sup>94</sup>Tc、<sup>99m</sup>Tc、<sup>86</sup>Y、<sup>90</sup>Y、<sup>90</sup>Y、および <sup>89</sup>Zr からなる群から選択される、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 30】

硬酸陽イオンキレート剤が、IIa 族および IIIa 族の金属陽イオンからなる群から選択される陽イオンとキレート化されている、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 3 1】

軟酸陽イオンキレート剤が、遷移金属、Bi、ランタニド類およびアクチニド類からなる群から選択される陽イオンとキレート化されている、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 3 2】

陽イオンがTc、Re、およびBiからなる群から選択される、請求項 3 1 に記載の化合物。

## 【請求項 3 3】

R<sup>4</sup> または R<sup>5</sup> が治療薬、診断薬または酵素である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 3 4】

治療薬、診断薬または酵素がリンカー部分により共有結合されている、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 3 5】

リンカー部分が少なくとも 1 つのアミノ酸を含んでなる、請求項 3 4 に記載の化合物。

## 【請求項 3 6】

治療薬が薬物、プロドラッグまたは毒素を含んでなる、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 3 7】

プロドラッグがエピルビシシグルクロニド、CPT-11、エトポシドグルクロニド、ダウノマイシシグルクロニドおよびドキソルビシシグルクロニドからなる群から選択される、請求項 3 6 に記載の化合物。

## 【請求項 3 8】

毒素がリシン、アブリン、リボヌクレアーゼ(RNアーゼ)、DNアーゼI、ブドウ球菌エンテロトキシン-A、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒、シュードモナス外毒素、およびシュードモナス内毒素からなる群から選択される、請求項 3 6 に記載の化合物。

## 【請求項 3 9】

治療薬がドキソルビシン、SN-38、カンプトテシン、エトポシド、メトトレキサート、6-メルカプトプリンまたはリン酸エトポシドを含んでなる、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 4 0】

診断薬が光線力学療法用の 1 以上の薬剤を含んでなる、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 4 1】

光線力学療法用の薬剤が光増感剤である、請求項 4 0 に記載の化合物。

## 【請求項 4 2】

診断薬が磁気共鳴映像法(MRI)で用いるための 1 以上の画像増強剤を含んでなる、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 4 3】

診断薬がX線またはコンピューター断層撮影法用の 1 以上の放射線不透過剤または造影剤を含んでなる、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 4 4】

診断薬が 1 以上の超音波造影剤を含んでなる、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【請求項 4 5】

酵素が、薬物の中間体を有毒型に変換することによって標的部位における前記薬物の毒性を高めることができるものである、請求項 3 3 に記載の化合物。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/18646

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : C07K 38/12		
US CL : 530/329,345		
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) U.S. : 530/329,345		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EAST & PubMed		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2002/0006379 A1 (Hansen et al) 17 January 2002 (17.01.2002), see entire document and claims.	1-151
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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	"T"
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X"
"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)	"Y"
"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	
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
13 May 2005 (13.05.2005)		01 JUN 2005
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. (703) 305-3230		Authorized officer Thomas S Heard Telephone No. (571) 272-9060

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

## 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 P 31/10 (2006.01)		A 6 1 K 49/00	A	4 C 6 0 1
A 6 1 P 31/12 (2006.01)		A 6 1 P 31/10		4 H 0 4 5
A 6 1 P 33/00 (2006.01)		A 6 1 P 31/12		
A 6 1 P 31/02 (2006.01)		A 6 1 P 33/00		
A 6 1 P 29/00 (2006.01)		A 6 1 P 31/02		
A 6 1 P 37/02 (2006.01)		A 6 1 P 29/00		
A 6 1 P 9/00 (2006.01)		A 6 1 P 37/02		
A 6 1 P 9/10 (2006.01)		A 6 1 P 9/00		
A 6 1 P 25/28 (2006.01)		A 6 1 P 9/10		
A 6 1 K 39/395 (2006.01)		A 6 1 P 25/28		
A 6 1 P 7/02 (2006.01)		A 6 1 K 39/395	C	
A 6 1 B 8/08 (2006.01)		A 6 1 P 9/10	1 0 3	
A 6 1 B 6/00 (2006.01)		A 6 1 P 7/02		
A 6 1 B 6/03 (2006.01)		A 6 1 B 8/08		
A 6 1 B 5/055 (2006.01)		A 6 1 B 6/00	3 3 1	
G 0 1 T 1/161 (2006.01)		A 6 1 B 6/03	3 7 5	
		A 6 1 B 5/05	3 8 3	
		G 0 1 T 1/161	A	
		G 0 1 T 1/161	B	
		G 0 1 T 1/161	D	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ウィリアム、ジェイ・マクブライド

アメリカ合衆国ニュージャージー州、ブントン、グローバー、ストリート、116

(72)発明者 デイビッド、エム・ゴールデンバーグ

アメリカ合衆国ニュージャージー州、メンダム、キャロライス、ファーム、ロード、1

Fターム(参考) 2G088 EE02 FF04 FF07 HH06

4C084 AA02 AA07 BA01 BA09 BA16 BA17 BA32 BA41 BA42 DA32  
 NA13 NA15 ZA022 ZA162 ZA362 ZA452 ZA542 ZB072 ZB112 ZB262  
 ZB272 ZB332 ZB352 ZB372  
 4C085 AA19 AA21 AA26 AA27 BB01 CC22 CC26 DD88 HH01 HH03  
 HH05 HH07 HH09 HH11 JJ05 KA03 KA09 KA27 KA28 KA29  
 KA36 KB07 KB08 KB09 KB11 KB12 KB15 KB18 KB56 KB82  
 LL07 LL13 LL18  
 4C093 AA01 AA22 EE20  
 4C096 AA11 AD19 FC14  
 4C601 DE07 EE10  
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA01 BA13 BA50 BA51 EA20 EA50 FA10

## 【要約の続き】

を含有するキットも提供する。

专利名称(译)	D-氨基酸肽		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008504214A</a>	公开(公告)日	2008-02-14
申请号	JP2006533737	申请日	2004-06-14
[标]申请(专利权)人(译)	免疫医疗公司 IMMUNOMEDICS , INC		
申请(专利权)人(译)	李宙卢武铉梅迪库斯公司		
[标]发明人	ウィリアムジェイマクブライド デイビッドエムゴールデンバーグ		
发明人	ウィリアム、ジェイ.マクブライド デイビッド、エム.ゴールデンバーグ		
IPC分类号	C07K5/10 A61K38/00 A61P35/00 A61K49/00 A61K49/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P31/02 A61P29/00 A61P37/02 A61P9/00 A61P9/10 A61P25/28 A61K39/395 A61P7/02 A61B8/08 A61B6/00 A61B6/03 A61B5/055 G01T1/161		
CPC分类号	A61K38/00 A61K47/6897 A61K49/0002 A61K51/109 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/02 A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 B82Y5/00 C07K5/0815 C07K5/1008 C07K5/1016 C07K5/1019 C07K5/1021 C07K7/06 Y02A50/411		
FI分类号	C07K5/10.ZNA A61K37/02 A61P35/00 A61K49/00.C A61K49/04.A A61K49/00.A A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P31/02 A61P29/00 A61P37/02 A61P9/00 A61P9/10 A61P25/28 A61K39/395.C A61P9/10.103 A61P7/02 A61B8/08 A61B6/00.331 A61B6/03.375 A61B5/05.383 G01T1/161.A G01T1/161.B G01T1/161.D		
F-TERM分类号	2G088/EE02 2G088/FF04 2G088/FF07 2G088/HH06 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA09 4C084/BA16 4C084/BA17 4C084/BA32 4C084/BA41 4C084/BA42 4C084/DA32 4C084/NA13 4C084/NA15 4C084/ZA022 4C084/ZA162 4C084/ZA362 4C084/ZA452 4C084/ZA542 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZB332 4C084/ZB352 4C084/ZB372 4C085/AA19 4C085/AA21 4C085/AA26 4C085/AA27 4C085/BB01 4C085/CC22 4C085/CC26 4C085/DD88 4C085/HH01 4C085/HH03 4C085/HH05 4C085/HH07 4C085/HH09 4C085/HH11 4C085/JJ05 4C085/KA03 4C085/KA09 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4C085/KA36 4C085/KB07 4C085/KB08 4C085/KB09 4C085/KB11 4C085/KB12 4C085/KB15 4C085/KB18 4C085/KB56 4C085/KB82 4C085/LL07 4C085/LL13 4C085/LL18 4C093/AA01 4C093/AA22 4C093/EE20 4C096/AA11 4C096/AD19 4C096/FC14 4C601/DE07 4C601/EE10 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA01 4H045/BA13 4H045/BA50 4H045/BA51 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA10		
代理人(译)	耀希达凯贤治 中村KoTakashi		
优先权	60/478403 2003-06-13 US		
其他公开文献	JP4937751B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供式X-R1-D- [Dpr , Orn或Lys] ( A ) -R2 ( Z ) -D- [Dpr , Orn或Lys] ( B ) -R3 ( Y ) -NR4R5的化合物;或R1 ( X ) -D- [Dpr , Orn或Lys] ( A ) -R2 ( Z ) -D- [Dpr , Orn或Lys] ( B ) -R3 ( Y ) -NR4R5 , 其中X是硬的酸阳离子螯合剂 , 软酸阳离子螯合剂或Ac<sup>-</sup> , R1 , R2和R3独立地选自共价键或一个或多个可以相同或不同的D-氨基酸 , Y是硬酸阳离子螯合剂 , a软酸阳离子螯合剂或

不存在，Z是硬酸阳离子螯合剂，软酸阳离子螯合剂或不存在，A和B是半抗原或硬酸阳离子螯合剂，可以相同或不同，R4和R5独立地选自该组包括硬酸阳离子螯合剂，软酸阳离子螯合剂，酶，治疗剂，诊断剂和H.本发明还提供了使用这些化合物的方法和含有这些化合物的试剂盒。

