(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2017-534253
(P2017-534253A)
(43)公表日　平成29年11月24日(2017.11.24)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B064
C07K 16/30	(2006.01)	C07K	16/30		4C076
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4C084
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08		4C085
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00		4C086

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 210 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-513637 (P2017-513637)
(86)(22)出願日　平成27年9月11日 (2015.9.11)
(85)翻訳文提出日　平成29年3月10日 (2017.3.10)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/049549
(87)国際公開番号　WO2016/040723
(87)国際公開日　平成28年3月17日 (2016.3.17)
(31)優先権主張番号　62/049,594
(32)優先日　平成26年9月12日 (2014.9.12)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　チェン，　シャオチョン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　1
(72)発明者　デニス，　マーク
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　1

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＨＥＲ２抗体及び免疫複合体

(57)【要約】
本開示は、抗ＨＥＲ２抗体及び免疫複合体、ならびにそれらの使用方法を提供する。
【選択図】図３

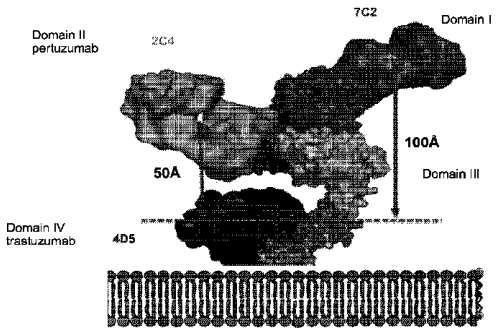
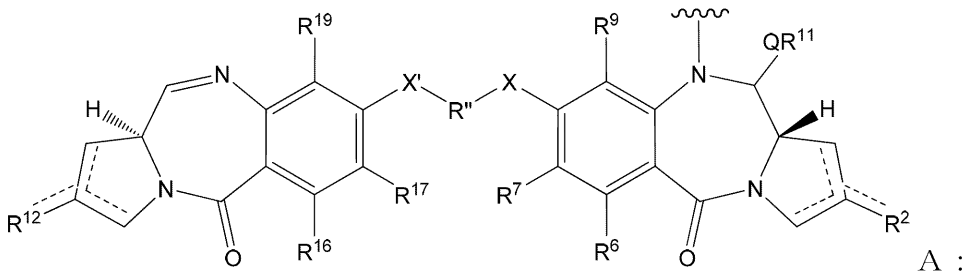


FIG. 3

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＨＥＲ２に結合する単離抗体であって、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３と、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｅ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｆ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３と、を含む、前記単離抗体。
【請求項２】
配列番号１１の配列を含む重鎖可変領域と、配列番号１０の配列を含む軽鎖可変領域と、を含む、請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
モノクローナル抗体である、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項４】
ヒト化またはキメラ抗体である、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項５】
ＨＥＲ２に結合する抗体断片である、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項６】
ＨＥＲ２が、配列番号１のアミノ酸２３～１２５５を含むヒトＨＥＲ２である、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項７】
ＨＥＲ２の細胞外ドメインＩに結合する、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項８】
ＨＥＲ２の細胞外ドメインＩが、配列番号３５の配列を有する、請求項７に記載の抗体。
【請求項９】
ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、またはＩｇＧ２ｂ抗体である、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０】
Ａ１１８Ｃ及びＳ４００Ｃから選択される重鎖定常領域内に少なくとも１つの突然変異を含む、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１】
Ｋ１４９Ｃ及びＶ２０５Ｃから選択される軽鎖定常領域内に少なくとも１つの突然変異を含む、先行請求項のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１２】
前記抗体が、
ａ）配列番号１９の配列を含む重鎖、及び配列番号１８の配列を含む軽鎖、または
ｂ）配列番号１９の配列を含む重鎖、及び配列番号２３の配列を含む軽鎖、または
ｃ）配列番号２４の配列を含む重鎖、及び配列番号１８の配列を含む軽鎖を含む、請求項１～９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１３】
配列番号２８の重鎖定常領域を含む、請求項１～９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１４】
配列番号２５の軽鎖定常領域を含む、請求項１～９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１５】
ＨＥＲ２に結合する単離抗体であって、配列番号１９の配列を含む重鎖と、配列番号２３の配列を含む軽鎖と、を含む、前記単離抗体。
【請求項１６】
ＨＥＲ２に結合する単離抗体であって、配列番号２４の配列を含む重鎖と、配列番号１８の配列を含む軽鎖と、を含む、前記単離抗体。
【請求項１７】

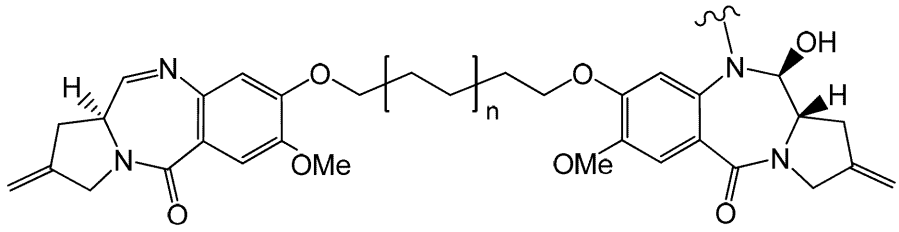
先行請求項のいずれか一項に記載の抗体をコードする、単離核酸。
【請求項１８】
請求項１７に記載の核酸を含む、宿主細胞。
【請求項１９】
前記抗体が産生されるように、請求項１８に記載の宿主細胞を培養することを含む、抗体の産生方法。
【請求項２０】
請求項１～１６のいずれか一項に記載の抗体と、細胞傷害性薬剤と、を含む、免疫複合体。
【請求項２１】
式Ａｂ－（Ｌ－Ｄ）ｐを有し、式中、
（ａ）Ａｂが、請求項１～１６のいずれか一項に記載の抗体であり、
（ｂ）Ｌが、リンカーであり、
（ｃ）Ｄが、細胞傷害性薬剤であり、
（ｄ）ｐが、１～８の範囲である、請求項２０に記載の免疫複合体。
【請求項２２】
前記細胞傷害性薬剤が、オーリスタチン、マイタンシノイド、カリケアミシン、ピロロベンゾジアゼピン、ネモルビシン誘導体、及び１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）から選択される、請求項２０または請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項２３】
前記細胞傷害性薬剤が、式Ａ、



Ａ：

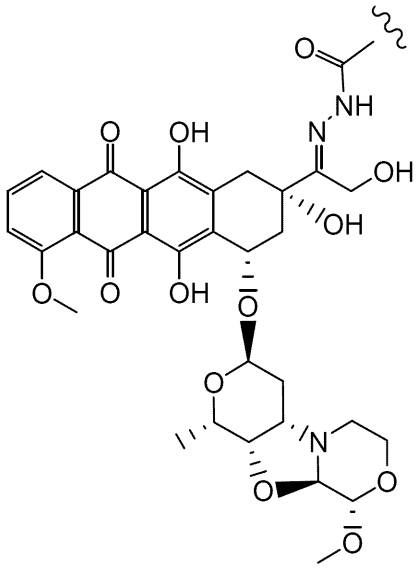
のピロロベンゾジアゼピンであり、式中、点線が、Ｃ１とＣ２またはＣ２とＣ３との間の二重結合の任意の存在を示し、
R^2が独立して、Ｈ、ＯＨ、＝Ｏ、＝CH_2、ＣＮ、Ｒ、ＯＲ、＝ＣＨ－R^D、＝Ｃ（R^D）$_2$、Ｏ－SO_2－Ｒ、CO_2Ｒ、及びＣＯＲから選択され、任意にハロまたはジハロからさらに選択され、R^Dが独立して、Ｒ、CO_2Ｒ、ＣＯＲ、ＣＨＯ、CO_2Ｈ、及びハロから選択され、
R^6及びR^9が独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ′、NO_2、Me_3Sn、及びハロから選択され、
R^7が独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ′、NO_2、Me_3Sn、及びハロから選択され、
Ｑが独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮＨから選択され、
R^{11}が、Ｈ若しくはＲのいずれかであるか、またはＱがＯである場合にはSO_3Ｍであり、式中、Ｍが金属陽イオンであり、
Ｒ及びＲ′がそれぞれ独立して、任意に置換される$C_{1\sim8}$アルキル、$C_{3\sim8}$ヘテロシクリル、及び$C_{5\sim20}$アリール基から選択され、任意に基ＮＲＲ′との関連で、Ｒ及びＲ′が、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４員、５員、６員、または７員の複素環式環を形成し、
R^{12}、R^{16}、R^{19}、及びR^{17}が、それぞれR^2、R^6、R^9、及びR^7について定義される通りであり、
Ｒ″が、$C_{3\sim12}$アルキレン基であり、その鎖が、任意に置換される１つ以上のヘテ

ロ原子及び／または芳香族環によって分断され得、
Ｘ及びＸ＇が独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮ（Ｈ）から選択される、請求項２０または請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項２４】
Ｄが、構造

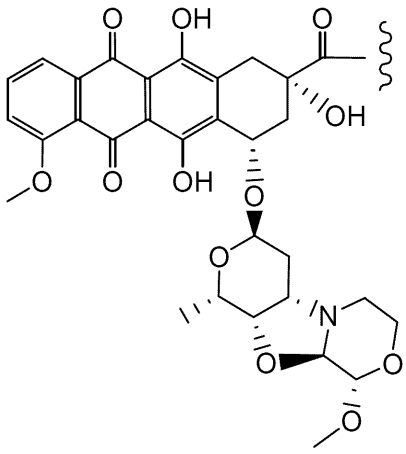


、

を有し、式中、ｎが、０または１である、請求項２３に記載の免疫複合体。
【請求項２５】
前記細胞傷害性薬剤が、ネモルビシン誘導体である、請求項２０または請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項２６】
前記細胞傷害性薬剤が、

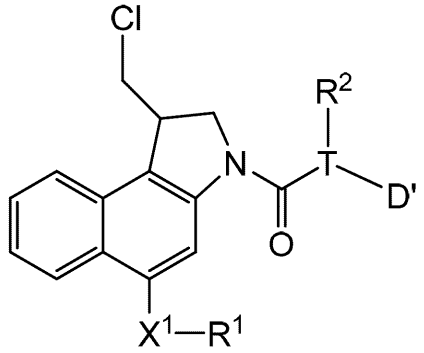


、及び

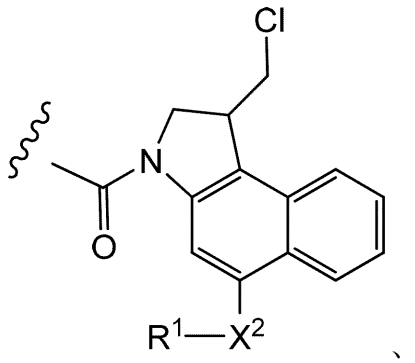


から選択される構造を有する、請求項２５に記載の免疫複合体。
【請求項２７】
前記細胞傷害性薬剤が、１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）を含む、請求項２０または請求項２１に記載の免疫複合体。

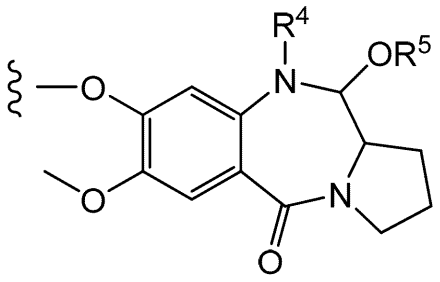
【請求項２８】
前記細胞傷害性薬剤が、式：



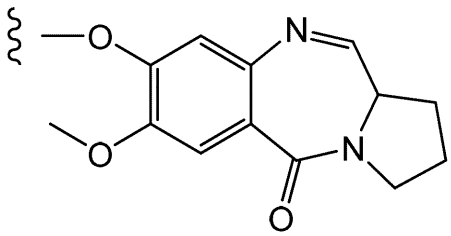
を有し、式中、
R^1が、H、P（O）$_3H_2$、C（O）NR^aR^b、またはLへの結合から選択され、
R^2が、H、P（O）$_3H_2$、C（O）NR^aR^b、またはLへの結合から選択され、
R^a及びR^bが独立して、H、及び１つ以上のFで任意に置換されるC_1～C_6アルキルから選択されるか、
またはR^a及びR^bが、５員または６員の複素環式基を形成し、
Tが、C_3～C_{12}アルキレン、Y、（C_1～C_6アルキレン）－Y－（C_1～C_6アルキレン）、（C_1～C_6アルキレン）－Y－（C_1～C_6アルキレン）－Y－（C_1～C_6アルキレン）、（C_2～C_6アルケニレン）－Y－（C_2～C_6アルケニレン）、及び（C_2～C_6アルキニレン）－Y－（C_2～C_6アルキニレン）から選択されるテザー基であり、
式中、Yが独立して、O、S、NR^1、アリール、及びヘテロアリールから選択され、
アルキレン、アルケニレン、アリール、及びヘテロアリールが独立してかつ任意に、F、OH、O（C_1～C_6アルキル）、NH_2、$NHCH_3$、N（CH_3）$_2$、OP（O）$_3H_2$、及びC_1～C_6アルキルで置換され、式中、アルキルが、１つ以上のFで任意に置換されるか、
またはアルキレン、アルケニレン、アリール、及びヘテロアリールが独立してかつ任意に、Lへの結合で置換され、
D'が、



、



、及び



から選択される薬物部分であり、式中、波線が、Ｔへの結合部位を示し、

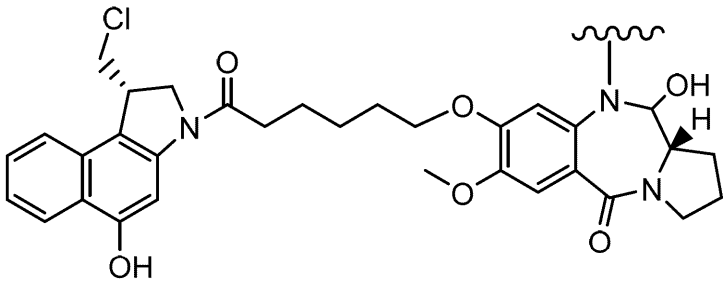
X^1及びX^2が独立して、Ｏ及びNR^3から選択され、式中、R^3が、Ｈ、及び１つ以上のＦで任意に置換されるC_1～C_6アルキルから選択され、

R^4が、Ｈ、CO_2R、またはリンカー（Ｌ）への結合であり、式中、Ｒが、C_1～C_6アルキル、またはベンジルであり、

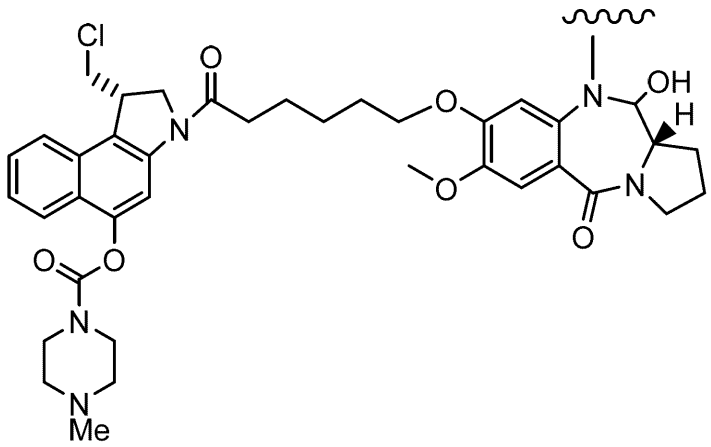
R^5が、Ｈ、またはC_1～C_6アルキルである、請求項２７に記載の免疫複合体。

【請求項２９】

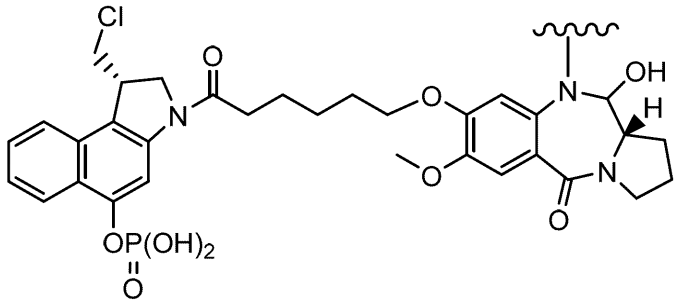
前記細胞傷害性薬剤が、



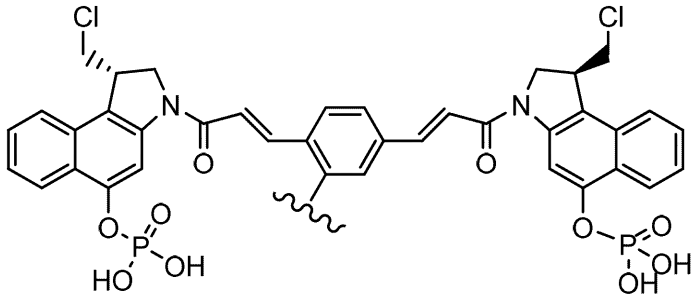
、



、



、及び



から選択される構造を有する、請求項２８に記載の免疫複合体。

【請求項３０】

前記リンカーが、プロテアーゼによって切断可能である、請求項２１～２９のいずれか一項に記載の免疫複合体。

【請求項３１】

前記リンカーが、酸不安定性である、請求項２１～２９のいずれか一項に記載の免疫複合体。

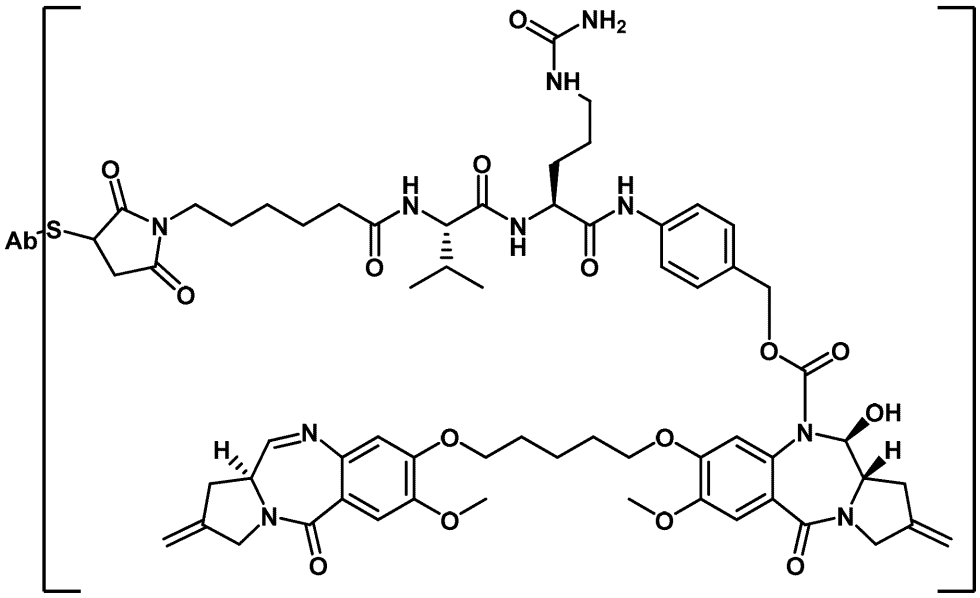
【請求項３２】

前記リンカーが、ヒドラゾンを含む、請求項３１に記載の免疫複合体。

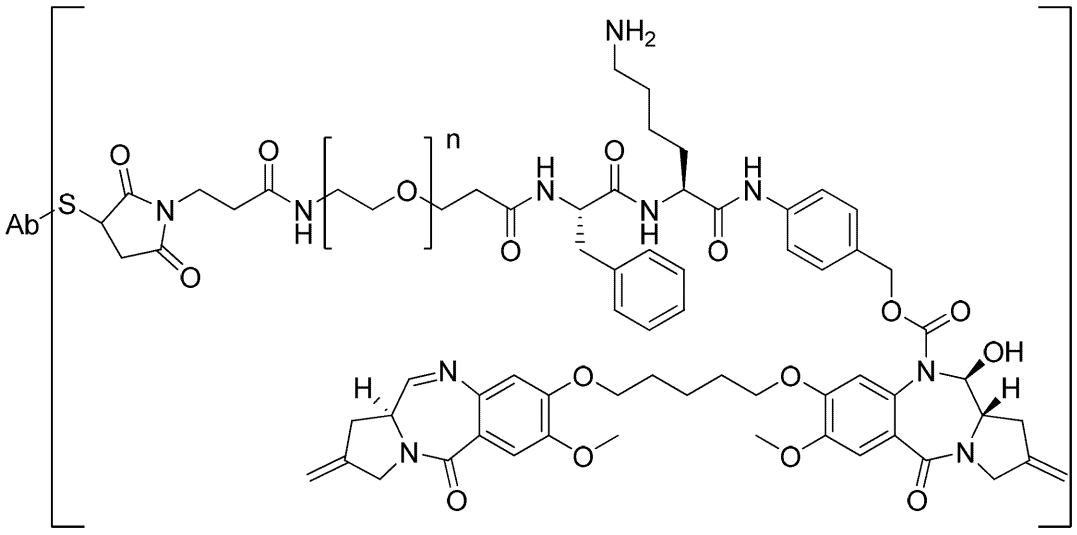
【請求項３３】

前記リンカーが、ジスルフィドを含む、請求項２１～２９のいずれか一項に記載の免疫複合体。

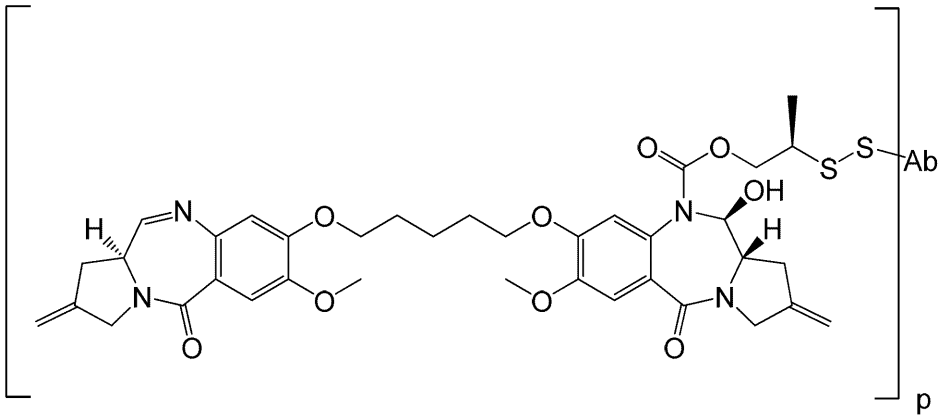
【請求項３４】



、

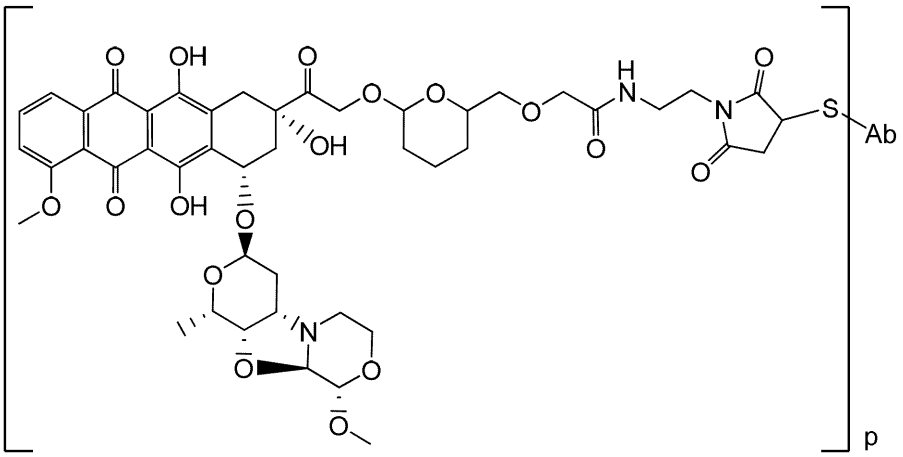


、及び

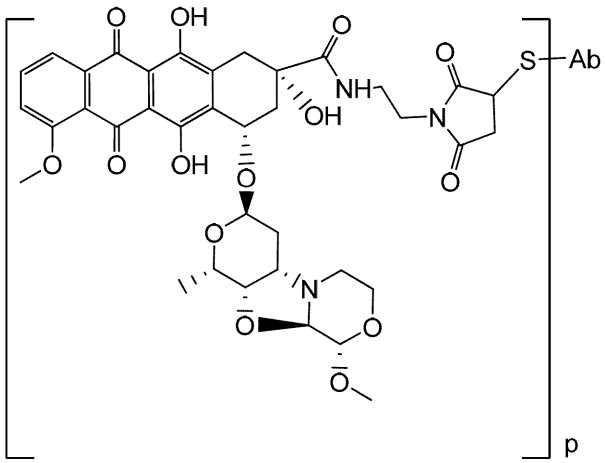


から選択される構造を有する、請求項２１または請求項２４に記載の免疫複合体。

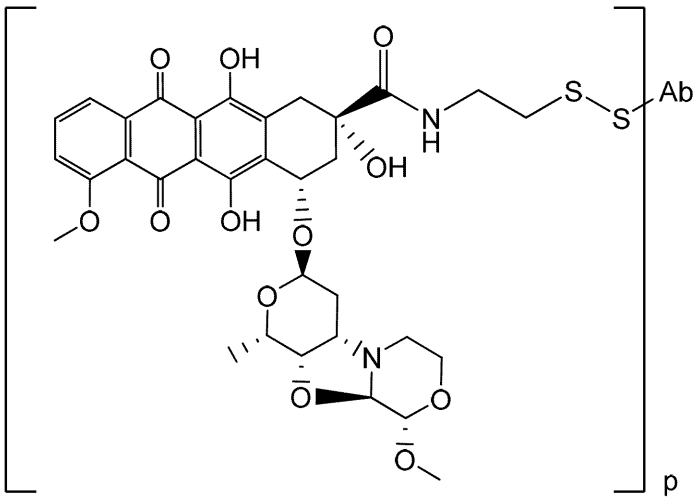
【請求項３５】



、

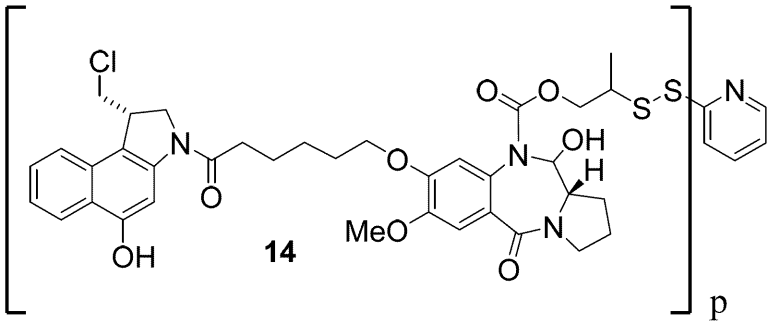


、及び



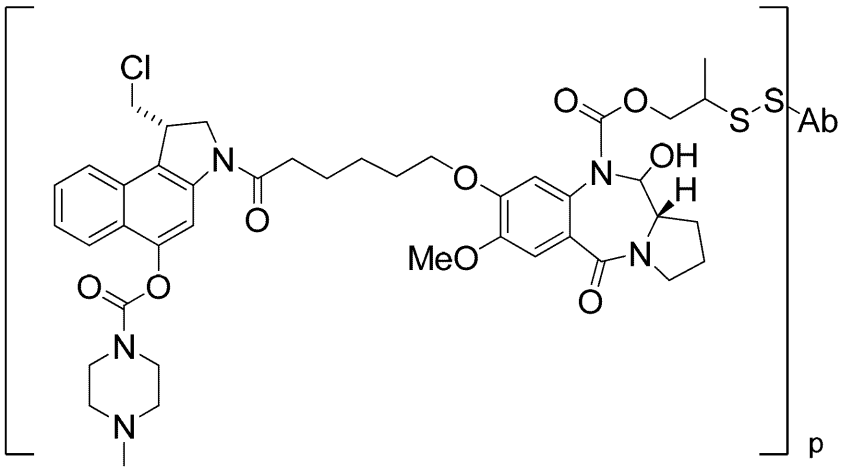
から選択される構造を有する、請求項２１または請求項２６に記載の免疫複合体。

【請求項３６】

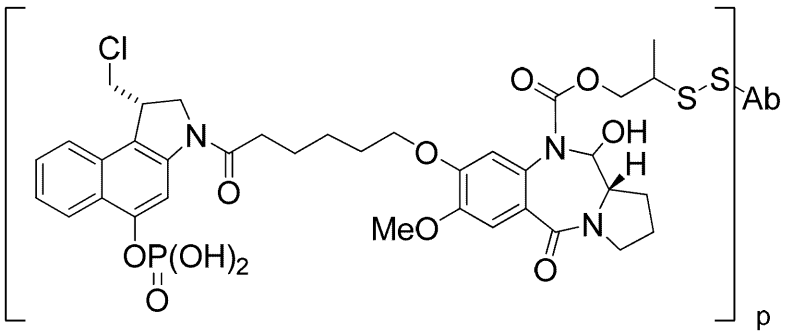


Ａｂ

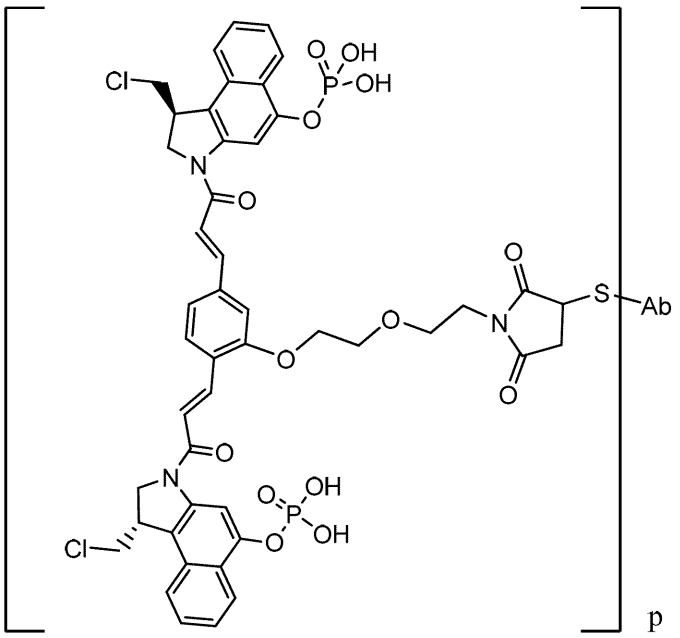
、



、

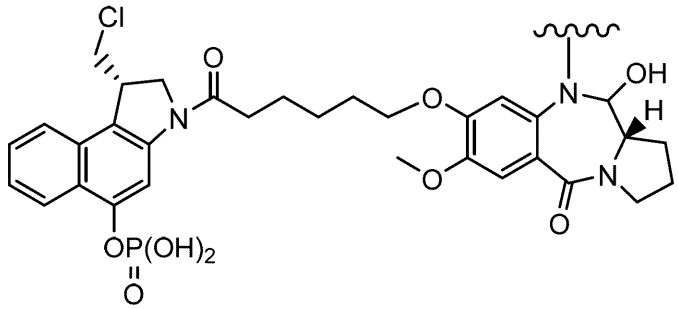


、及び



から選択される構造を有する、請求項２１または請求項２９に記載の免疫複合体。

【請求項３７】
前記細胞傷害性薬剤が、構造：



を含む、請求項２０または請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項３８】
ｐが、１．３～２または２～５の範囲である、請求項２１～３７のいずれか一項に記載の免疫複合体。
【請求項３９】
請求項２０～３８のいずれか一項に記載の免疫複合体と、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的製剤。
【請求項４０】
追加の治療剤をさらに含む、請求項３９に記載の薬学的製剤。
【請求項４１】
前記追加の治療剤が、ＨＥＲ２に結合する抗体または免疫複合体である、請求項４０に記載の薬学的製剤。
【請求項４２】
前記追加の治療剤が、（ｉ）ＨＥＲ２のドメインＩＩに結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）ドメインＩＶ若しくはＨＥＲ２に結合する抗体若しくは免疫複合体である、請求項４１に記載の薬学的製剤。
【請求項４３】
前記追加の治療剤が、（ｉ）エピトープ２Ｃ４に結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）エピトープ４Ｄ５に結合する抗体若しくは免疫複合体である、請求項４１に記載の薬学的製剤。
【請求項４４】
前記追加の治療剤が、トラスツズマブ、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１）、及びペルツズマブから選択される、請求項４０に記載の薬学的製剤。
【請求項４５】
（１）トラスツズマブまたはＴ－ＤＭ１、及び（２）ペルツズマブをさらに含む、請求項４０に記載の薬学的製剤。
【請求項４６】
ＨＥＲ２陽性癌を有する個体の治療方法であって、有効量の、請求項２０～３８のいずれか一項に記載の免疫複合体、または請求項３９～４５のいずれか一項に記載の薬学的製剤を前記個体に投与することを含む、前記方法。
【請求項４７】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、乳癌または胃癌である、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
前記ＨＥＲ２陽性乳癌が、早期乳癌である、請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
前記ＨＥＲ２陽性乳癌が、転移性乳癌である、請求項４７に記載の方法。
【請求項５０】
追加の治療剤を前記個体に投与することをさらに含む、請求項４６～４９のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５１】
ＨＥＲ２陽性癌を有する個体の治療方法であって、有効量の、請求項２０～３８のいずれか一項に記載の免疫複合体、及び少なくとも１つの追加の治療剤を前記個体に投与することを含む、前記方法。
【請求項５２】
前記追加の治療剤が、ＨＥＲ２に結合する抗体または免疫複合体である、請求項５１に記載の方法。
【請求項５３】
前記追加の治療剤が、（ｉ）ＨＥＲ２のドメインＩＩに結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）ドメインＩＶ若しくはＨＥＲ２に結合する抗体若しくは免疫複合体である、請求項５２に記載の方法。
【請求項５４】
前記追加の治療剤が、（ｉ）エピトープ２Ｃ４に結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）エピトープ４Ｄ５に結合する抗体若しくは免疫複合体である、請求項５２に記載の方法。
【請求項５５】
前記追加の治療剤が、トラスツズマブ、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１）、及びペルツズマブから選択される、請求項５１に記載の方法。
【請求項５６】
前記追加の治療剤が、（１）トラスツズマブまたはＴ－ＤＭ１、及び（２）ペルツズマブである、請求項５１に記載の方法。
【請求項５７】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、乳癌または胃癌である、請求項５１～５６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５８】
前記ＨＥＲ２陽性乳癌が、転移性乳癌である、請求項５７に記載の方法。
【請求項５９】
前記ＨＥＲ２陽性乳癌が、早期乳癌である、請求項５７に記載の方法。
【請求項６０】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、再発癌である、請求項４６～５９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６１】
前記再発癌が、局所性再発癌である、請求項６０に記載の方法。
【請求項６２】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、進行癌である、請求項４６～５８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６３】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、切除不可能である、請求項４６～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６４】
ＨＥＲ２陽性癌を有する個体の治療方法であって、
ａ）前記個体に対して、請求項２０～３８のいずれか一項に記載の免疫複合体、または請求項３９～４５のいずれか一項に記載の薬学的製剤を用いるネオアジュバント治療を行うことと、
ｂ）前記癌を根治手術によって除去することと、
ｃ）前記個体に対して、請求項２０～３８のいずれか一項に記載の免疫複合体、または請求項３９～４５のいずれか一項に記載の薬学的製剤を用いるアジュバント治療を行うことと、を含む、前記方法。
【請求項６５】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、乳癌または胃癌である、請求項６４に記載の方法。

【請求項６６】
前記ＨＥＲ２陽性癌が、乳癌である、請求項６５に記載の方法。
【請求項６７】
ＨＥＲ２陽性細胞の増殖の阻害方法であって、前記細胞を、請求項２０～３８のいずれか一項に記載の免疫複合体に、前記細胞の表面上のＨＥＲ２に前記免疫複合体が結合することを許容する条件下で曝露し、それによって前記細胞の増殖を阻害することを含む、前記方法。
【請求項６８】
前記細胞が、乳癌細胞または胃癌細胞である、請求項６７に記載の方法。
【請求項６９】
標識にコンジュゲートされる、請求項１～１６のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項７０】
前記標識が、陽電子放出体である、請求項６９に記載の抗体。
【請求項７１】
前記陽電子放出体が、^{89}Ｚｒである、請求項７０に記載の抗体。
【請求項７２】
生体試料中のヒトＨＥＲ２の検出方法であって、前記生体試料を、請求項１～１６及び６９のいずれか一項に記載の抗ＨＥＲ２抗体と、天然に存在するヒトＨＥＲ２に前記抗ＨＥＲ２抗体が結合することを許容する条件下で接触させることと、前記生体試料中で、前記抗ＨＥＲ２抗体と天然に存在するヒトＨＥＲ２との間の複合体が形成されるかどうかを検出することと、を含む、前記方法。
【請求項７３】
前記生体試料が、乳癌または胃癌試料である、請求項７２に記載の方法。
【請求項７４】
ＨＥＲ２陽性癌の検出方法であって、（ｉ）標識された抗ＨＥＲ２抗体を、ＨＥＲ２陽性癌を有するか、またはそれを有することが疑われる対象に投与することであって、前記標識された抗ＨＥＲ２抗体が、請求項１～１６のいずれか一項に記載の抗ＨＥＲ２抗体を含む、前記投与することと、（ｉｉ）前記対象において前記標識された抗ＨＥＲ２抗体を検出することであって、前記対象におけるＨＥＲ２陽性癌を示す、前記検出することと、を含む、前記方法。
【請求項７５】
前記標識された抗ＨＥＲ２抗体が、陽電子放出体にコンジュゲートされた抗ＨＥＲ２抗体を含む、請求項７４に記載の方法。
【請求項７６】
前記陽電子放出体が、^{89}Ｚｒである、請求項７５に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１４年９月１２日出願の米国特許仮出願第６２／０４９，５９４号の優先権の利益を主張し、参照によりその全体があらゆる目的で本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
本出願は、電子形式の配列表と共に出願される。配列表は、２０１５年９月８日に作成された「２０１５－０９－１１＿０１１４６－００３７－００ＰＣＴ＿Ｓｅｑｕｅｎｃｅ＿Ｌｉｓｔｉｎｇ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ」と題されるファイル（サイズ：７６，２０７バイト）として提供される。配列表の電子形式の情報は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０００３】
本発明は、抗ＨＥＲ２抗体及び免疫複合体ならびにそれらを使用する方法に関する。

【背景技術】
【０００４】
乳癌は、世界中で罹患率及び死亡率の非常に大きな原因となっている。毎年、世界中で１３０万症例を超える乳癌が診断され、その疾患に関連する死亡は４５０，０００件を超える（Ｊｅｍａｌ Ａ，Ｂｒａｙ Ｆ，Ｃｅｎｔｅｒ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｇｌｏｂａｌ ｃａｎｃｅｒ ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ．ＣＡ Ｃａｎｃｅｒ Ｊ Ｃｌｉｎ，２０１１；６１（２）：６９－９０）。
【０００５】
ＨＥＲ２（ＥｒｂＢ２）受容体チロシンキナーゼは、膜貫通受容体の上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）ファミリーのメンバーである。ＨＥＲ２の過剰発現は、ヒト乳癌のおよそ２０％に観察され、これらの腫瘍に関連する侵攻性の成長及び臨床転帰不良に関連付けられている（Ｓｌａｍｏｎ ｅｔ ａｌ（１９８７）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３５：１７７－１８２）。ＨＥＲ２タンパク質過剰発現は、固定腫瘍ブロックの免疫組織化学に基づく評価を使用して決定され得る（Ｐｒｅｓｓ ＭＦ，ｅｔ ａｌ（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５３：４９６０－７０）。
【０００６】
トラスツズマブ（ＣＡＳ １８０２８８－６９－１、ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標）、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－８、ｒｈｕＭＡｂ ＨＥＲ２、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）は、細胞ベースのアッセイにおいて、ＨＥＲ２の細胞外ドメインに高親和性で選択的に結合する（Ｋｄ＝５ｎＭ）マウス抗ＨＥＲ２抗体（４Ｄ５）のヒト化バージョンである、組み換えＤＮＡ由来のＩｇＧ１κ、モノクローナル抗体である（米国特許第５６７７１７１号、同第５８２１３３７号、同第６０５４２９７号、同第６１６５４６４号、同第６３３９１４２号、同第６４０７２１３号、同第６６３９０５５号、同第６７１９９７１号、同第６８００７３８号、同第７０７４４０４号、Ｃｏｕｓｓｅｎｓ ｅｔ ａｌ（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３０：１１３２－９、Ｓｌａｍｏｎ ｅｔ ａｌ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４４：７０７－１２、Ｓｌａｍｏｎ ｅｔ ａｌ（２００１）Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３４４：７８３－７９２）。トラスツズマブは、ｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイ及び動物の両方において、ＨＥＲ２を過剰発現するヒト腫瘍細胞の増殖を阻害することが示された（Ｈｕｄｚｉａｋ ｅｔ ａｌ（１９８９）Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ ９：１１６５－７２、Ｌｅｗｉｓ ｅｔ ａｌ（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ；３７：２５５－６３、Ｂａｓｅｌｇａ ｅｔ ａｌ（１９９８）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５８：２８２５－２８３１）。トラスツズマブは、抗体依存的細胞性細胞傷害性、ＡＤＣＣの媒介因子である（Ｌｅｗｉｓ ｅｔ ａｌ（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ ３７（４）：２５５－２６３、Ｈｏｔａｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ（１９９６）［ａｂｓｔｒａｃｔ］．Ｐｒｏｃ．Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ Ａｍ Ａｓｓｏｃ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ；３７：４７１、Ｐｅｇｒａｍ ＭＤ，ｅｔ ａｌ（１９９７）［ａｂｓｔｒａｃｔ］．Ｐｒｏｃ Ａｍ Ａｓｓｏｃ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ；３８：６０２、Ｓｌｉｗｋｏｗｓｋｉ ｅｔ ａｌ（１９９９）Ｓｅｍｉｎａｒｓ ｉｎ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２６（４），Ｓｕｐｐｌ １２：６０－７０、Ｙａｒｄｅｎ Ｙ．ａｎｄ Ｓｌｉｗｋｏｗｓｋｉ，Ｍ．（２００１）Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ：Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｍａｃｍｉｌｌａｎ Ｍａｇａｚｉｎｅｓ，Ｌｔｄ．，Ｖｏｌ．２：１２７－１３７）。
【０００７】
ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標）は、ＨＥＲ２を過剰発現する転移性乳癌を有する、広範な前抗癌療法を受けた患者の治療のために１９９８年に承認され（Ｂａｓｅｌｇａ ｅｔ ａｌ，（１９９６）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．１４：７３７－７４４）、それ以来３００，０００名を超える患者において使用されてきた（Ｓｌａｍｏｎ ＤＪ，ｅｔ ａｌ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ２００１；３４４：７８３－９２、Ｖｏｇｅｌ ＣＬ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ２００２；２０：７１９－２６、Ｍａｒｔｙ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ２００５；２３：４２６５－７４、Ｒｏｍ

ｏｎｄ ＥＨ，ｅｔ ａｌ．Ｔ Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ２００５；３５３：１６７３－８４、Ｐｉｃｃａｒｔ－Ｇｅｂｈａｒｔ ＭＪ，ｅｔ ａｌ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ２００５；３５３：１６５９－７２、Ｓｌａｍｏｎ Ｄ，ｅｔ ａｌ．［ａｂｓｔｒａｃｔ］．Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ Ｔｒｅａｔ ２００６，１００（Ｓｕｐｐｌ １）：５２）。２００６年にＦＤＡは、ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標）（トラスツズマブ、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ Ｉｎｃ．）を、ＨＥＲ２陽性、リンパ節転移陽性乳癌を有する患者のアジュバント治療のためのドキソルビシン、シクロホスファミド、及びパクリタキセルを含む治療レジメンの一部として承認した。

【０００８】

ＨＥＲ２陽性乳癌の治療のための新規の抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）である、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１、トラスツズマブエムタンシン、アド－トラスツズマブエムタンシン、ＫＡＤＣＹＬＡ（登録商標））は、ＭＣＣリンカーを介してリシン側鎖においてトラスツズマブにコンジュゲートされた細胞傷害性薬剤ＤＭ１（チオール含有マイタンシノイド抗微小管剤）で構成され、約３．５の平均薬物負荷（薬物対抗体比）を有する。腫瘍細胞上で発現したＨＥＲ２に結合した後、Ｔ－ＤＭ１は、受容体媒介性内部移行を経て、ＤＭ１を含有する細胞傷害性カタボライトの細胞内放出、及びその後細胞死がもたらされる。

【０００９】

米国食品医薬品局は、２０１３年２月２２日、トラスツズマブ及びタキサンによる治療を以前に受けたＨＥＲ２陽性転移性乳癌を有する患者の治療のために、商品名ＫＡＤＣＹＬＡ（登録商標）で市販されるアドトラスツズマブエムタンシンを承認した。

【００１０】

ペルツズマブ（組み換えヒト化モノクローナル抗体２Ｃ４、ｒｈｕＭＡｂ ２Ｃ４、ＰＥＲＪＥＴＡ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ、Ｓｏｕｔｈ Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ）としても知られる）は、ＨＥＲ二量体化阻害剤（ＨＤＩ）として知られる薬剤の新たなクラスの筆頭であり、ＨＥＲ２が、他のＨＥＲ受容体（例えば、ＥＧＦＲ／ＨＥＲ１、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、及びＨＥＲ４）との活性ヘテロ二量体またはホモ二量体を形成する能力を阻害するように機能する。例えば、Ｈａｒａｒｉ ａｎｄ Ｙａｒｄｅｎ Ｏｎｃｏｇｅｎｅ １９：６１０２－１４（２０００）、Ｙａｒｄｅｎ ａｎｄ Ｓｌｉｗｋｏｗｓｋｉ．Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ ２：１２７－３７（２００１）、Ｓｌｉｗｋｏｗｓｋｉ Ｎａｔ Ｓｔｒｕｃｔ Ｂｉｏｌ １０：１５８－９（２００３）、Ｃｈｏ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ４２１：７５６－６０（２００３）、及びＭａｌｉｋ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏ Ａｍ Ｓｏｃ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ４４：１７６－７（２００３）を参照されたい。

【００１１】

腫瘍細胞内のＨＥＲ２－ＨＥＲ３ヘテロ二量体の形成がペルツズマブにより遮断されることがで、重大な細胞シグナル伝達が阻害され、腫瘍増殖が低下して生存がもたらされることが実証された（Ａｇｕｓ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ ２：１２７－３７（２００２））。

【００１２】

ペルツズマブは、第ＩＩ相試験において、転移性疾患のためにトラスツズマブを以前に受けたＨＥＲ２陽性転移性乳癌を有する患者において、トラスツズマブと併せて評価された。国立癌研究所（ＮＣＩ）によって行われた、ある研究は、以前に治療された、ＨＥＲ２陽性転移性乳癌を有する１１名の患者を登録した。１１名の患者のうちの２名は、部分奏功（ＰＲ）を示した（Ｂａｓｅｌｇａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ２００７ ＡＳＣＯ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ；２５：１８ Ｓ（Ｊｕｎｅ ２０ Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ）：１００４。ＣＴＲＣ－ＡＡＣＲ Ｓａｎ Ａｎｔｏｎｉｏ Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ（ＳＡＢＣＳ），Ｄｅｃ．８－１２，２０１０において提示される、早期ＨＥＲ２陽性乳癌を有する女性におけるペルツズマブ及びトラスツズマブ＋化学療法（ドセタキセル）の新規併用レジ

メンの効果を評価する第ＩＩ相ネオアジュバント試験の結果は、手術前のネオアジュバント設定において付与された２つのＨＥＲ２抗体＋ドセタキセルが、乳房における完全腫瘍消失率（病理学的完全奏功率（ｐＣＲ）４５．８％）を、トラスツズマブ＋ドセタキセル（ｐＣＲ、２９．０％）と比較して半数超で有意に改善したことを示した。ｐ＝０．０１４。

【００１３】

商品名ＰＥＲＪＥＴＡ（登録商標）で市販されるペルツズマブは、２０１２年、進行性または後期（転移性）ＨＥＲ２陽性乳癌を有する患者の治療のために承認された。ＨＥＲ２陽性乳癌では、癌細胞成長及び生存に寄与するＨＥＲ２タンパク質の量が増加している。

【００１４】

２０１３年９月３０日に、米国食品医薬品局は、早期乳癌（ＥＢＣ）を有する患者のための、手術前（ネオアジュバント設定）の完全治療レジメンの一部として、ＰＥＲＪＥＴＡ（登録商標）（ペルツズマブ）に対して迅速承認を付与した。ＰＥＲＪＥＴＡ（登録商標）は、乳癌のネオアジュバント治療のための最初のＦＤＡ承認薬である。

【００１５】

当該技術分野において、単独療法及び併用療法において使用するための、乳癌等のＨＥＲ２関連病態の治療用の、ＨＥＲ２を標的とする安全で有効な追加の薬剤が必要とされている。本発明はその必要性を満たし、また他の便益を提供する。

【発明の概要】

【００１６】

本発明は、抗ＨＥＲ２抗体及び免疫複合体ならびにそれらを使用する方法を提供する。

【００１７】

いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２に結合する単離抗体が提供され、該抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３と、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｅ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｆ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３と、を含む。いくつかの実施形態において、該抗体は、配列番号１１の配列を含む重鎖可変領域と、配列番号１０の配列を含む軽鎖可変領域と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト化またはキメラ抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、ＨＥＲ２に結合する抗体断片である。

【００１８】

いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２は、配列番号１のアミノ酸２３～１２５５を含むヒトＨＥＲ２である。いくつかの実施形態において、抗体は、ＨＥＲ２の細胞外ドメインＩに結合する。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２の細胞外ドメインＩは、配列番号３５の配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、細胞外ドメインＩのループ１６３～１８９及びループ１８５～１８９に結合する（例えば、細胞外ドメインＩの、アミノ酸１６３～１８９によって定義される第１のループ及びアミノ酸１８５～１８９によって定義される第２のループ）。いくつかの実施形態において、抗体は、細胞外ドメインＩのＨｉｓ１７１、Ｓｅｒ１８６、Ｓｅｒ１８７、及びＧｌｕ１８８に接触する。

【００１９】

いくつかの実施形態において、本抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、またはＩｇＧ２ｂ抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、Ａ１１８Ｃ及びＳ４００Ｃから選択される重鎖定常領域内に少なくとも１つの突然変異を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、Ｋ１４９Ｃ及びＶ２０５Ｃから選択される軽鎖定常領域内に少なくとも１つの突然変異を含む。

【００２０】

いくつかの実施形態において、抗体は、

ａ）配列番号１９の配列を含む重鎖、及び配列番号１８の配列を含む軽鎖、または
ｂ）配列番号１９の配列を含む重鎖、及び配列番号２３の配列を含む軽鎖、または
ｃ）配列番号２４の配列を含む重鎖、及び配列番号１８の配列を含む軽鎖を含む。
いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号２８の重鎖定常領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号２５の軽鎖定常領域を含む。

【００２１】

いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２に結合する単離抗体が提供され、該抗体は、配列番号１９の配列を含む重鎖と、配列番号２３の配列を含む軽鎖と、を含む。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２に結合する単離抗体が提供され、該抗体は、配列番号２４の配列を含む重鎖と、配列番号１８の配列を含む軽鎖と、を含む。

【００２２】

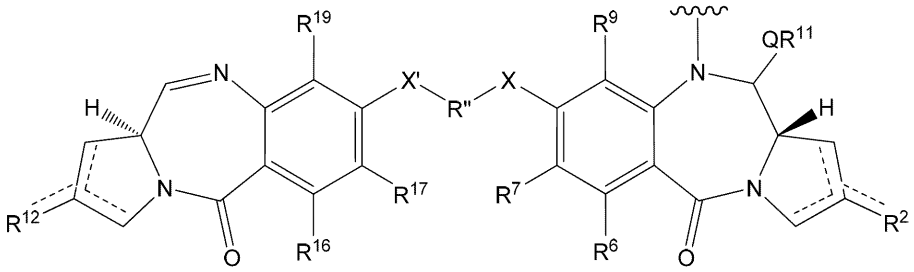
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体をコードする単離核酸が提供される。いくつかの実施形態において、核酸を含む宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態において、抗体が産生されるように、宿主細胞を培養することを含む、抗体の産生方法が提供される。

【００２３】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体と、細胞傷害性薬剤と、を含む、免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態において、免疫複合体は、式Ａｂ－（Ｌ－Ｄ）ｐを有し、式中、
（ａ）Ａｂが、請求項１～１６のいずれか一項に記載の抗体であり、
（ｂ）Ｌが、リンカーであり、
（ｃ）Ｄが、細胞傷害性薬剤であり、
（ｄ）ｐが、１～８の範囲である。
いくつかの実施形態において、細胞傷害性薬剤は、オーリスタチン、マイタンシノイド、カリケアミシン、ピロロベンゾジアゼピン、ネモルビシン誘導体、及び１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）から選択される。

【００２４】

いくつかの実施形態において、免疫複合体が提供され、式中、Ｄは、式



Ａ：

のピロロベンゾジアゼピンであり、式中、点線が、Ｃ１とＣ２またはＣ２とＣ３との間の二重結合の任意の存在を示し、
R^2が独立して、Ｈ、ＯＨ、＝Ｏ、＝CH_2、ＣＮ、Ｒ、ＯＲ、＝ＣＨ－R^D、＝Ｃ（R^D）$_2$、Ｏ－SO_2－Ｒ、CO_2Ｒ、及びＣＯＲから選択され、任意にハロまたはジハロからさらに選択され、R^Dが独立して、Ｒ、CO_2Ｒ、ＣＯＲ、ＣＨＯ、CO_2Ｈ、及びハロから選択され、
R^6及びR^9が独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ′、NO_2、Me_3Sn、及びハロから選択され、
R^7が独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ′、NO_2、Me_3Sn、及びハロから選択され、
Ｑが独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮＨから選択され、
R^{11}が、Ｈ若しくはＲのいずれかであるか、またはＱがＯである場合にはSO_3Ｍであり、式中、Ｍが金属陽イオンであり、
Ｒ及びＲ′がそれぞれ独立して、任意に置換される$C_{1\sim8}$アルキル、$C_{3\sim8}$ヘテロ

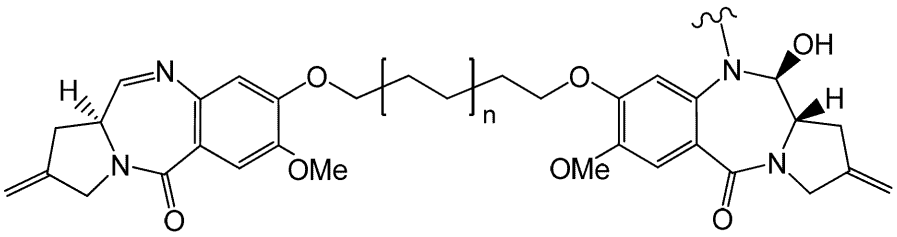
シクリル、及びＣ５～２０アリール基から選択され、任意に基ＮＲＲ′との関連で、Ｒ及びＲ′が、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４員、５員、６員、または７員の複素環式環を形成し、

Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１９、及びＲ１７が、それぞれＲ２、Ｒ６、Ｒ９、及びＲ７について定義される通りであり、

Ｒ″が、Ｃ３～１２アルキレン基であり、その鎖が、任意に置換される１つ以上のヘテロ原子及び／または芳香族環によって分断され得、

Ｘ及びＸ′が独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮ（Ｈ）から選択される。

いくつかの実施形態において、Ｄは、構造

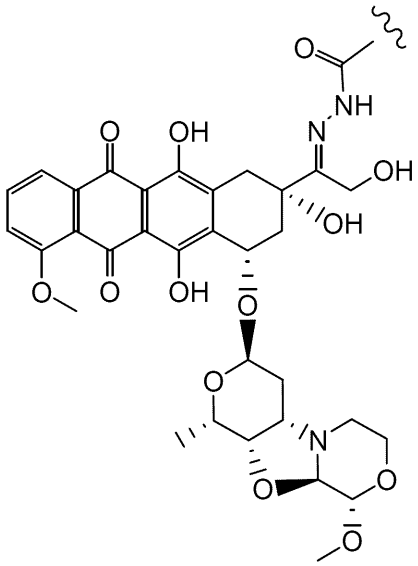


、

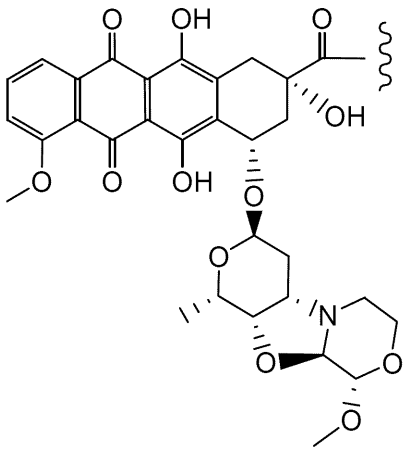
を有し、式中、ｎが、０または１である。

【００２５】

いくつかの実施形態において、Ｄは、ネモルビシン誘導体である免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態において、Ｄは、



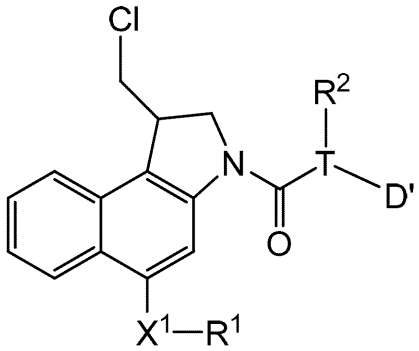
、及び



から選択される構造を有する。

【００２６】

いくつかの実施形態において、Ｄが、１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）を含む、免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態において、Ｄは、式：



を有し、式中、

R^1が、Ｈ、Ｐ（Ｏ）$_3H_2$、Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{a}Ｒ^b、またはＬへの結合から選択され、

R^2が、Ｈ、Ｐ（Ｏ）$_3H_2$、Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{a}Ｒ^b、またはＬへの結合から選択され、

Ｒ^{a}及びＲ^{b}が独立して、Ｈ、及び１つ以上のＦで任意に置換されるＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルから選択されるか、

またはＲ^{a}及びＲ^{b}が、５員または６員の複素環式基を形成し、

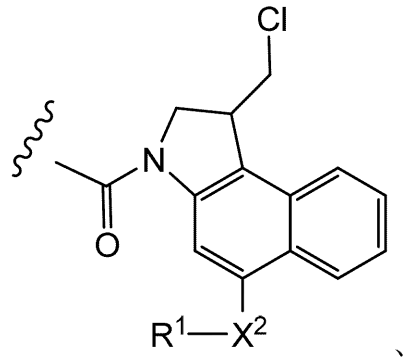
Ｔが、Ｃ$_3$～Ｃ$_{12}$アルキレン、Ｙ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－Ｙ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－Ｙ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－Ｙ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニレン）－Ｙ－（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニレン）、及び（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニレン）－Ｙ－（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニレン）から選択されるテザー基であり、

式中、Ｙが独立して、Ｏ、Ｓ、ＮＲ^1、アリール、及びヘテロアリールから選択され、

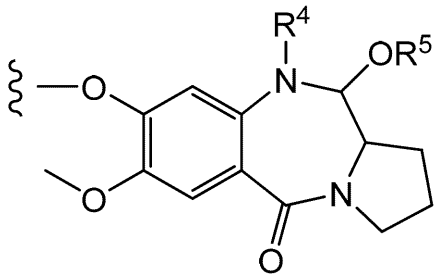
アルキレン、アルケニレン、アリール、及びヘテロアリールが独立してかつ任意に、Ｆ、ＯＨ、Ｏ（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル）、ＮＨ$_2$、ＮＨＣＨ$_3$、Ｎ（ＣＨ$_3$）$_2$、ＯＰ（Ｏ）$_3H_2$、及びＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルで置換され、式中、アルキルが、１つ以上のＦで任意に置換されるか、

またはアルキレン、アルケニレン、アリール、及びヘテロアリールが独立してかつ任意に、Ｌへの結合で置換され、

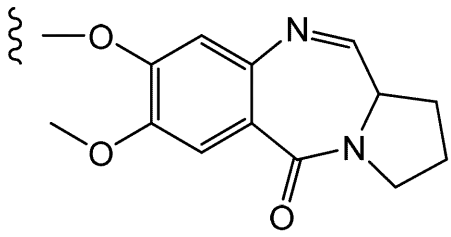
Ｄ′が、



、



、及び



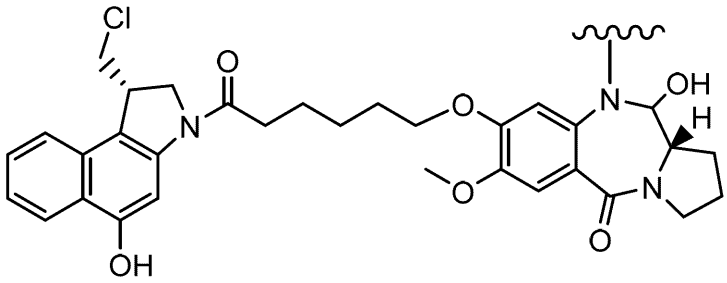
から選択される薬物部分であり、式中、波線が、Ｔへの結合部位を示し、

Ｘ^{1}及びＸ^{2}が独立して、Ｏ及びＮＲ^{3}から選択され、式中、Ｒ^{3}が、Ｈ、及び１つ以上のＦで任意に置換されるＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルから選択され、

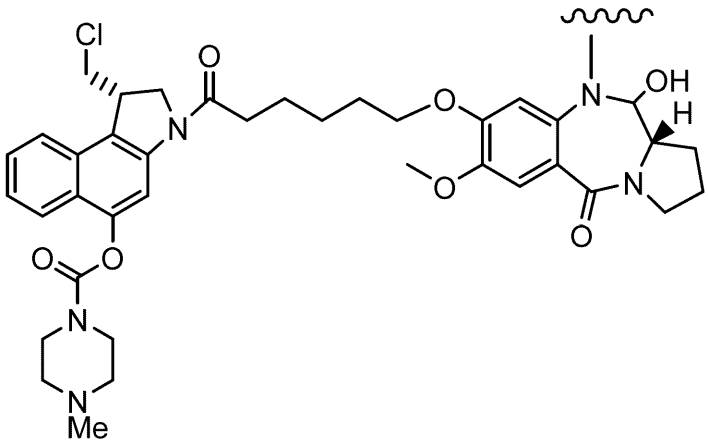
Ｒ^{4}が、Ｈ、ＣＯ$_{2}$Ｒ、またはリンカー（Ｌ）への結合であり、式中、Ｒが、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、またはベンジルであり、

Ｒ^{5}が、Ｈ、またはＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルである。

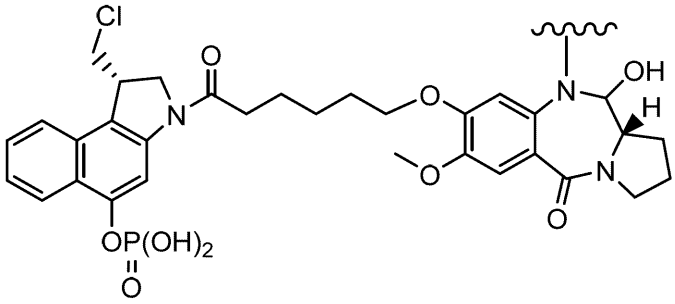
いくつかの実施形態において、Ｄは、



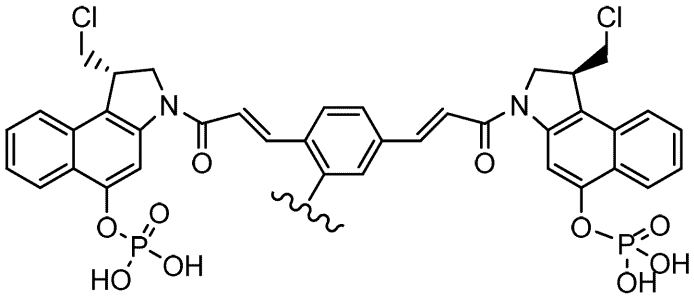
、



、



、及び



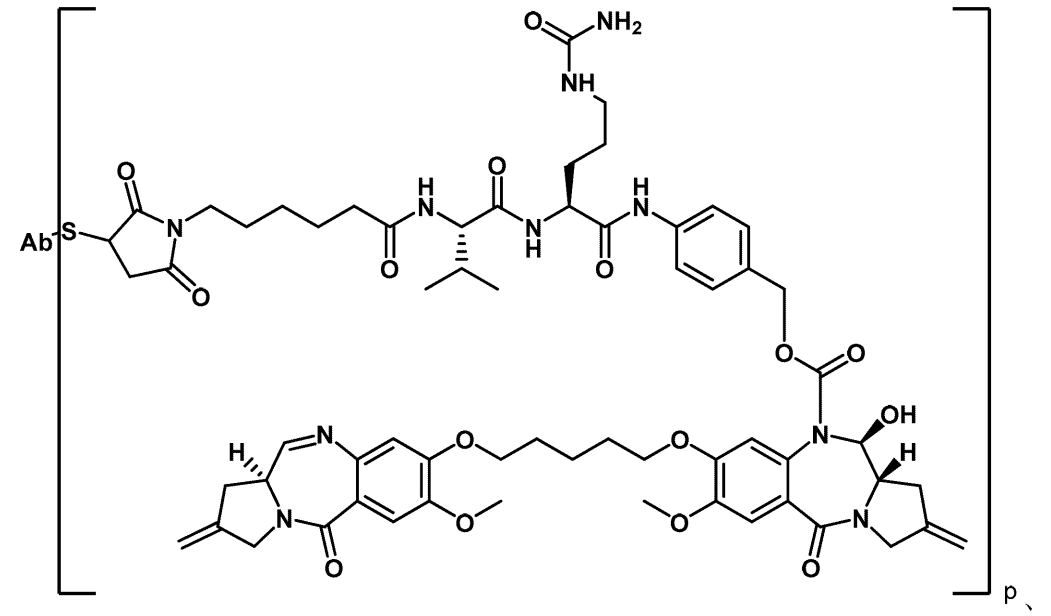
から選択される構造を有する。

【００２７】

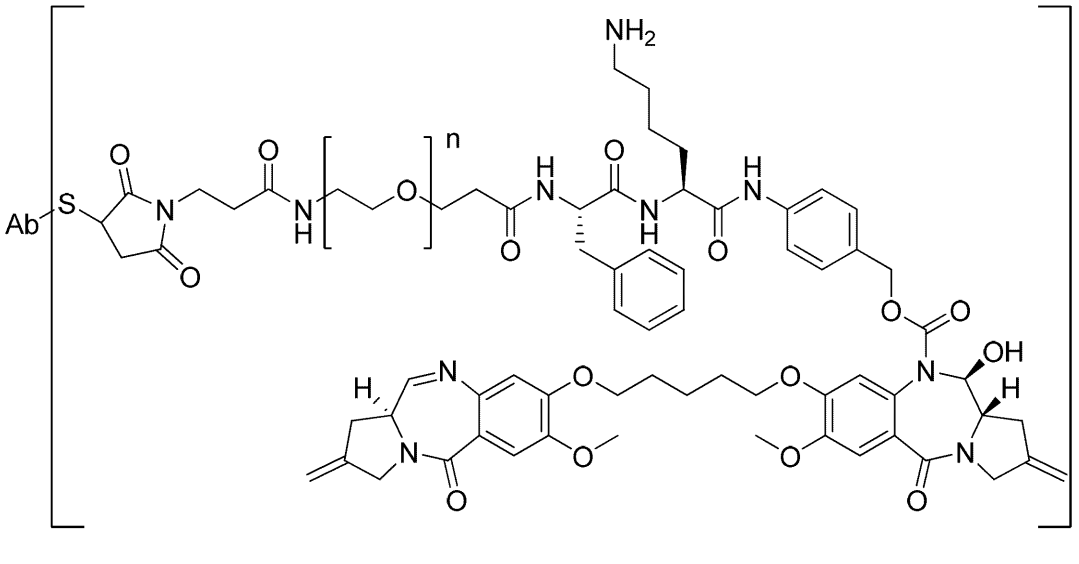
いくつかの実施形態において、免疫複合体が提供され、リンカーは、プロテアーゼによって切断可能である。いくつかの実施形態において、リンカーは、酸不安定性である。いくつかの実施形態において、リンカーは、ヒドラゾンを含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、ジスルフィドを含む。

【００２８】

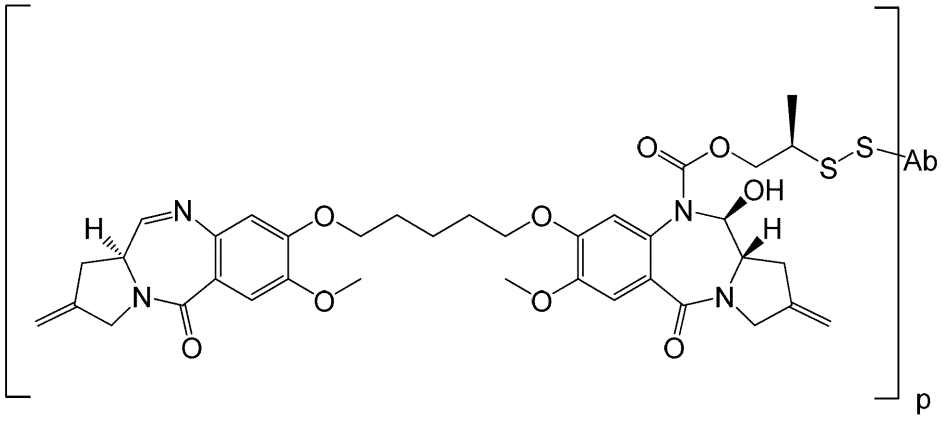
いくつかの実施形態において、免疫複合体が提供され、該免疫複合体は、



、



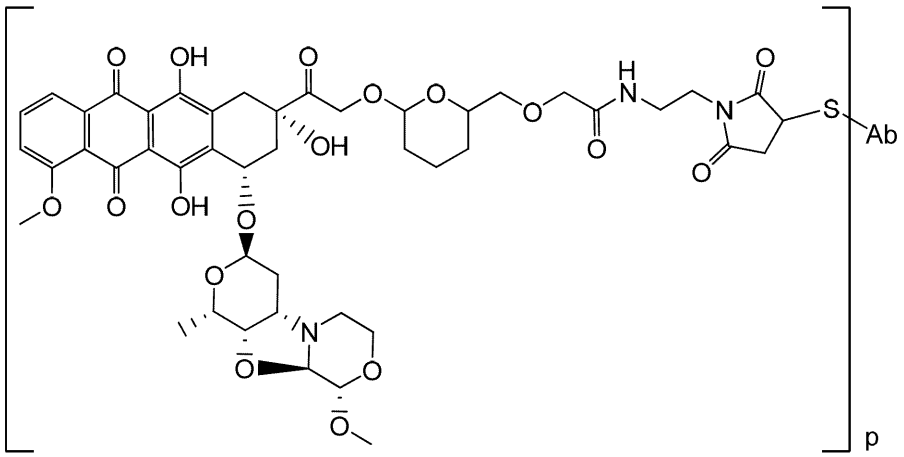
、及び



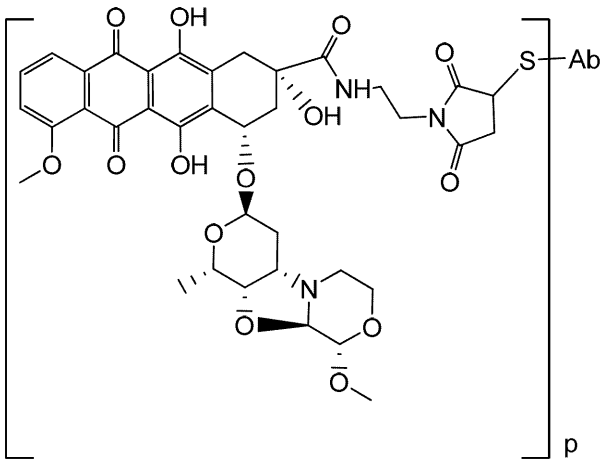
から選択される構造を含み、式中、Ａｂは、本明細書に記載される抗体である。

【００２９】

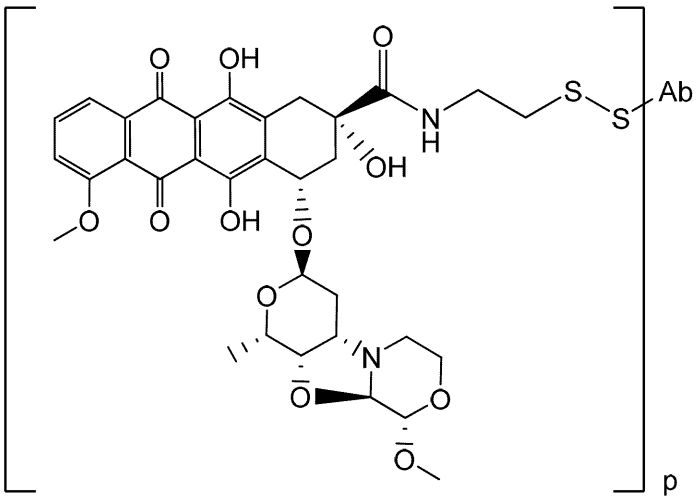
いくつかの実施形態において、免疫複合体が提供され、該免疫複合体は、



、



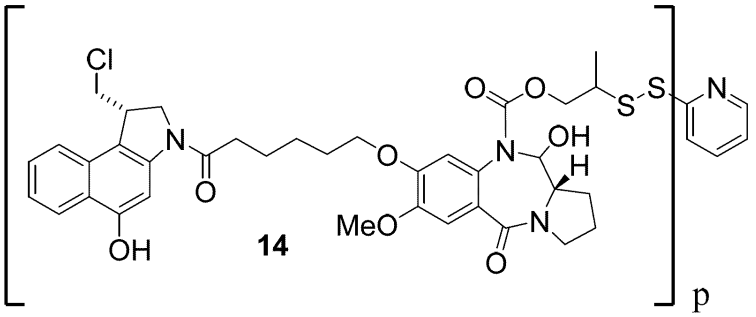
、及び



から選択される構造を含み、式中、Ａｂは、本明細書に記載される抗体である。

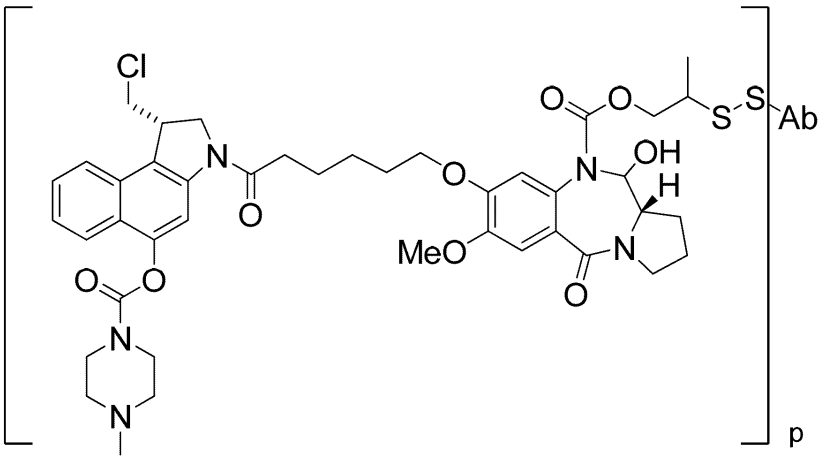
【００３０】

いくつかの実施形態において、免疫複合体が提供され、該免疫複合体は、

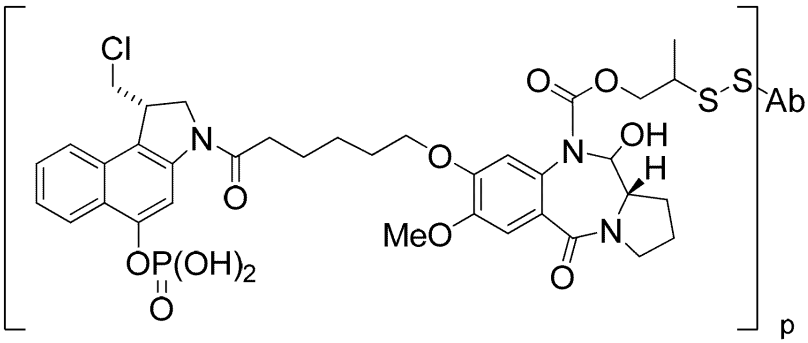


Ａｂ

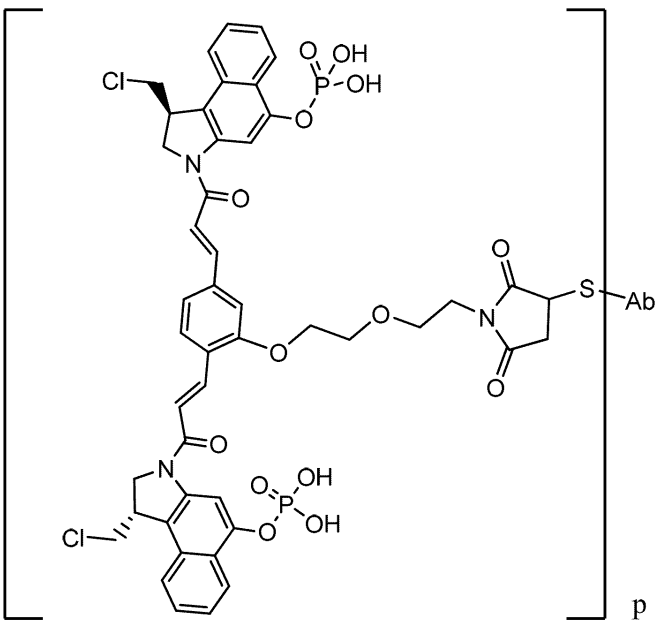
、



、



、及び



から選択される構造を含み、式中、Ａｂは、本明細書に記載される抗体である。

【００３１】
本明細書に記載される免疫複合体のいずれかにおいて、ｐは、１．３～２、１．４～２、１．５～２、または２～５の範囲であり得る。
【００３２】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される免疫複合体と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的製剤が提供される。いくつかの実施形態において、薬学的製剤は、追加の治療剤をさらに含む。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、ＨＥＲ２に結合する抗体または免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（ｉ）ＨＥＲ２のドメインＩＩに結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）ドメインＩＶ若しくはＨＥＲ２に結合する抗体若しくは免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（ｉ）エピトープ２Ｃ４に結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）エピトープ４Ｄ５に結合する抗体若しくは免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、トラスツズマブ、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１）、及びペルツズマブから選択される。いくつかの実施形態において、薬学的製剤は、（１）トラスツズマブまたはＴ－ＤＭ１、及び（２）ペルツズマブをさらに含む。
【００３３】
いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌を有する個体の治療方法が提供される。いくつかの実施形態において、方法は、有効量の、本明細書に記載される免疫複合体、または本明細書に記載される薬学的組成物を個体に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、乳癌または胃癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性乳癌は、早期乳癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性乳癌は、転移性乳癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、再発癌である。いくつかの実施形態において、再発癌は、局所再発癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、進行癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、切除不可能である。いくつかの実施形態において、本方法は、追加の治療剤を個体に投与することをさらに含む。
【００３４】
いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌を有する個体の治療方法は、有効量の、本明細書に記載される免疫複合体、及び少なくとも１つの追加の治療剤を個体に投与することを含む。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、ＨＥＲ２に結合する抗体または免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（ｉ）ＨＥＲ２のドメインＩＩに結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）ドメインＩＶ若しくはＨＥＲ２に結合する抗体若しくは免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（ｉ）エピトープ２Ｃ４に結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）エピトープ４Ｄ５に結合する抗体若しくは免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、トラスツズマブ、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１）、及びペルツズマブから選択される。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（１）トラスツズマブまたはＴ－ＤＭ１、及び（２）ペルツズマブである。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、乳癌または胃癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性乳癌は、早期乳癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性乳癌は、転移性乳癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、再発癌である。いくつかの実施形態において、再発癌は、局所再発癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、進行癌である。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、切除不可能である。
【００３５】
いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌を有する個体の治療方法は、
ａ）個体に対して、本明細書に記載される免疫複合体、または本明細書に記載される薬学的製剤を用いるネオアジュバント治療を行うことと、
ｂ）癌を根治手術によって除去することと、

ｃ）個体に対して、本明細書に記載される免疫複合体、または本明細書に記載される薬学的製剤を用いるアジュバント治療を行うことと、を含む。

いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、乳癌または胃癌である。

【００３６】

いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性細胞の増殖の阻害方法が提供される。いくつかの実施形態において、方法は、細胞を、本明細書に記載される免疫複合体に、細胞の表面上のＨＥＲ２に免疫複合体が結合することを許容する条件下で曝露し、それによって細胞の増殖を阻害することを含む。いくつかの実施形態において、細胞は、乳癌細胞または胃癌細胞である。

【００３７】

いくつかの実施形態において、標識にコンジュゲートされた本明細書に記載される抗体が提供される。いくつかの実施形態において、標識は、陽電子放出体である。いくつかの実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【００３８】

いくつかの実施形態において、生体試料中のヒトＨＥＲ２の検出方法が提供される。いくつかの実施形態において、方法は、生体試料を、本明細書に記載される抗ＨＥＲ２抗体と、天然に存在するヒトＨＥＲ２に抗ＨＥＲ２抗体が結合することを許容する条件下で接触させることと、生体試料中で、抗ＨＥＲ２抗体と天然に存在するヒトＨＥＲ２との間の複合体が形成されるかどうかを検出することと、を含む。いくつかの実施形態において、生体試料は、乳癌または胃癌試料である。

【００３９】

いくつかの実施形態において、対象におけるＨＥＲ２陽性癌の検出方法が提供される。いくつかの実施形態において、方法は、（ｉ）標識された抗ＨＥＲ２抗体を、ＨＥＲ２陽性癌を有するか、またはそれを有することが疑われる対象に投与することであって、標識された抗ＨＥＲ２抗体が、本明細書に記載される抗ＨＥＲ２抗体を含む、投与することと、（ｉｉ）対象において標識された抗ＨＥＲ２抗体を検出することであって、対象におけるＨＥＲ２陽性癌を示す、検出することと、を含む。いくつかの実施形態において、標識された抗ＨＥＲ２抗体は、陽電子放出体にコンジュゲートされた抗ＨＥＲ２抗体を含む。いくつかの実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【図面の簡単な説明】

【００４０】

【図１】実施例１に記載される、ヒトＶＨ下位集団Ｉ（VH_I）コンセンサス配列、ならびにマウス７Ｃ２．Ｂ９（「７Ｃ２」）及びヒト化７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡの重鎖可変領域配列のアラインメントを示す。

【図２】実施例１に記載される、ヒトＶＬκＩＶ（VL_{KIV}）コンセンサス配列、ならびにマウス７Ｃ２．Ｂ９（「７Ｃ２」）及びヒト化７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡの軽鎖可変領域配列のアラインメントを示す。

【図３】ドメインＩ～ＩＶが示されるＨｅｒ２細胞外ドメイン構造を示す。これらのドメインに、抗Ｈｅｒ２抗体トラスツズマブ、ペルツズマブ、及び７Ｃ２が結合する。

【図４】実施例３に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。

【図５】実施例４に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。

【図６】実施例５に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。

【図７】実施例６に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。

【図８】実施例７に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。

【図９】実施例３に記載される、ある特定のＣＢ－ＰＢＤリンカー薬物中間体を作製する

ための例示的な合成方法を示す。
【図１０】実施例３に記載される、ある特定のＣＢ－ＰＢＤリンカー薬物中間体を作製するための例示的な合成方法を示す。
【図１１】実施例３に記載される、ある特定のＣＢＩ－ＣＢＩリンカー薬物中間体を作製するための例示的な合成方法を示す。
【図１２Ａ】本明細書における実施例で使用される、ある特定の抗体－薬物複合体の構造を示す。
【図１２Ｂ】本明細書における実施例で使用される、ある特定の抗体－薬物複合体の構造を示す。
【図１２Ｃ】本明細書における実施例で使用される、ある特定の抗体－薬物複合体の構造を示す。
【図１２Ｄ】本明細書における実施例で使用される、ある特定の抗体－薬物複合体の構造を示す。
【図１２Ｅ】本明細書における実施例で使用される、ある特定の抗体－薬物複合体の構造を示す。
【図１２Ｆ】本明細書における実施例で使用される、ある特定の抗体－薬物複合体の構造を示す。
【図１３Ａ】ペルツズマブ主要種抗体軽鎖（Ａ）及び重鎖（Ｂ）アミノ酸配列を示す。
【図１３Ｂ】ペルツズマブ主要種抗体軽鎖（Ａ）及び重鎖（Ｂ）アミノ酸配列を示す。
【図１４Ａ】例示的なペルツズマブ変異種抗体軽鎖（Ａ）及び重鎖（Ｂ）アミノ酸配列を示す。
【図１４Ｂ】例示的なペルツズマブ変異種抗体軽鎖（Ａ）及び重鎖（Ｂ）アミノ酸配列を示す。
【図１５Ａ】トラスツズマブ抗体軽鎖（Ａ）及び重鎖（Ｂ）アミノ酸配列を示す。
【図１５Ｂ】トラスツズマブ抗体軽鎖（Ａ）及び重鎖（Ｂ）アミノ酸配列を示す。
【図１６】ドメインＩ～ＩＶのＨｅｒ２受容体及び配列の概略図を示す。
【図１７】実施例８に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。
【図１８】実施例９に記載される、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）での治療時の、経時的な腫瘍体積（ｍｍ３）の変化を示す。
【図１９Ａ】（Ａ）ＨＥＲ２　ＥＣＤ（ドメインによって陰影付けられ、空間充填モデルとして示される表面）と、７Ｃ２　Ｆａｂとの間の複合体の結晶構造を示す。７Ｃ２　Ｆａｂは、トラスツズマブＦａｂ（Ｔｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｎ８Ｚ）及びペルツズマブＦａｂ（Ｐｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｓ７８）の結合エピトープとは異なる、ＨＥＲ２のドメインＩに結合する。（Ｂ）トラスツズマブ／ＨＥＲ２複合体、ペルツズマブ／ＨＥＲ２複合体、及び７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体内のＨＥＲ２　ＥＣＤの構造の重ね合わせ。（Ｃ）７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体界面。７Ｃ２／ＨＥＲ２相互作用に関与する残基の側鎖は、棒として示される。潜在的な分子間水素結合の一部は、点線として示される。（Ｄ）７Ｃ２結合エピトープは、ｃｈＡ２１単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）と部分的に重なっている。ｃｈＡ２１　ｓｃＦｖ／ＨＥＲ２複合体（ＰＤＢコード：３Ｈ３Ｂ）と７Ｃ２／ＨＥＲ２との構造の重ね合わせ。
【図１９Ｂ】（Ａ）ＨＥＲ２　ＥＣＤ（ドメインによって陰影付けられ、空間充填モデルとして示される表面）と、７Ｃ２　Ｆａｂとの間の複合体の結晶構造を示す。７Ｃ２　Ｆａｂは、トラスツズマブＦａｂ（Ｔｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｎ８Ｚ）及びペルツズマブＦａｂ（Ｐｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｓ７８）の結合エピトープとは異なる、ＨＥＲ２のドメインＩに結合する。（Ｂ）トラスツズマブ／ＨＥＲ２複合体、ペルツズマブ／ＨＥＲ２複合体、及び７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体内のＨＥＲ２　ＥＣＤの構造の重ね合わせ。（Ｃ）７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体界面。７Ｃ２／ＨＥＲ２相互作用に関与する残基の側鎖は、棒として示される。潜在的な分子間水素結合の一部は、点線として示される。（Ｄ）７Ｃ２結合エピトープは、ｃｈＡ２１単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）と部分的に重なっている。ｃｈＡ２

１　ｓｃＦｖ／ＨＥＲ２複合体（ＰＤＢコード：３Ｈ３Ｂ）と７Ｃ２／ＨＥＲ２との構造の重ね合わせ。
【図１９Ｃ】（Ａ）ＨＥＲ２　ＥＣＤ（ドメインによって陰影付けられ、空間充填モデルとして示される表面）と、７Ｃ２　Ｆａｂとの間の複合体の結晶構造を示す。７Ｃ２　Ｆａｂは、トラスツズマブＦａｂ（Ｔｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｎ８Ｚ）及びペルツズマブＦａｂ（Ｐｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｓ７８）の結合エピトープとは異なる、ＨＥＲ２のドメインＩに結合する。（Ｂ）トラスツズマブ／ＨＥＲ２複合体、ペルツズマブ／ＨＥＲ２複合体、及び７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体内のＨＥＲ２　ＥＣＤの構造の重ね合わせ。（Ｃ）７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体界面。７Ｃ２／ＨＥＲ２相互作用に関与する残基の側鎖は、棒として示される。潜在的な分子間水素結合の一部は、点線として示される。（Ｄ）７Ｃ２結合エピトープは、ｃｈＡ２１単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）と部分的に重なっている。ｃｈＡ２１　ｓｃＦｖ／ＨＥＲ２複合体（ＰＤＢコード：３Ｈ３Ｂ）と７Ｃ２／ＨＥＲ２との構造の重ね合わせ。
【図１９Ｄ】（Ａ）ＨＥＲ２　ＥＣＤ（ドメインによって陰影付けられ、空間充填モデルとして示される表面）と、７Ｃ２　Ｆａｂとの間の複合体の結晶構造を示す。７Ｃ２　Ｆａｂは、トラスツズマブＦａｂ（Ｔｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｎ８Ｚ）及びペルツズマブＦａｂ（Ｐｍａｂ、ＰＤＢコード：１Ｓ７８）の結合エピトープとは異なる、ＨＥＲ２のドメインＩに結合する。（Ｂ）トラスツズマブ／ＨＥＲ２複合体、ペルツズマブ／ＨＥＲ２複合体、及び７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体内のＨＥＲ２　ＥＣＤの構造の重ね合わせ。（Ｃ）７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体界面。７Ｃ２／ＨＥＲ２相互作用に関与する残基の側鎖は、棒として示される。潜在的な分子間水素結合の一部は、点線として示される。（Ｄ）７Ｃ２結合エピトープは、ｃｈＡ２１単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）と部分的に重なっている。ｃｈＡ２１　ｓｃＦｖ／ＨＥＲ２複合体（ＰＤＢコード：３Ｈ３Ｂ）と７Ｃ２／ＨＥＲ２との構造の重ね合わせ。
【発明を実施するための形態】
【００４１】
ここで本発明のある特定の実施形態について詳細に言及され、それらの実施例は、付随する構造及び式で例証される。本発明は、列挙される実施形態と併せて記載されるが、本発明をそれらの実施形態に限定することを意図するものではないことを理解されたい。反対に、本発明は、特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲内に含まれ得る、全ての代替例、修正、及び均等物を網羅することを意図するものである。当業者であれば、本発明の実施において使用され得る、本明細書に記載されるものと同様または同等の多くの方法及び材料を認識するであろう。本発明は、記載される方法及び材料に決して限定されない。
【００４２】
本開示全体で引用される全ての参照文献は、参照によりそれら全体が本明細書に明示的に組み込まれる。組み込まれる文献、特許、及び同様の資料のうちの１つ以上が、本出願（定義される用語、用語の用法、記載される技法等を含むがそれらに限定されない）と異なるか、または矛盾する場合は、本出願が優先される。
【００４３】
Ｉ．定義
「ｃｏｍｐｒｉｓｅ（含む）」、「ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ（含むこと）」、「ｉｎｃｌｕｄｅ（含む）」、「ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ（含むこと）」、及び「ｉｎｃｌｕｄｅｓ（含む）」という語は、本明細書及び特許請求の範囲内で使用される場合、述べられる特徴、整数、成分、または工程の存在を特定することを意図するものであるが、それらは、１つ以上の他の特徴、整数、成分、工程、またはそれらの群の存在または追加を排除するものではない。
【００４４】
本明細書では、「アクセプターヒトフレームワーク」は、以下に定義される、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変

ドメイン（ＶＬ）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（ＶＨ）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはそれは、アミノ酸配列変化を含有し得る。いくつかの実施形態において、アミノ酸変化の数は、１０以下、９以下、８以下、７以下、６以下、５以下、４以下、３以下、または２以下である。いくつかの実施形態において、ＶＬアクセプターヒトフレームワークの配列は、ＶＬヒト免役グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

【００４５】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有性相互作用の合計の強度を指す。別途指定されない限り、本明細書で使用されるとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の１：１の相互作用を反映する、本来の結合親和性を指す。分子Ｘの、そのパートナーＹに対する親和性は、一般に、解離定数（Ｋｄ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例証的説明及び例示的な実施形態が、以下に記載される。

【００４６】

「親和性成熟」抗体は、変化を有しない親抗体と比較して、１つ以上の超可変領域（ＨＶＲ）において１つ以上の変化を有し、かかる変化によって抗原に対する抗体の親和性を改善する、抗体を指す。

【００４７】

「抗ＨＥＲ２抗体」及び「ＨＥＲ２に結合する抗体」という用語は、抗体が、ＨＥＲ２を標的とする際に診断剤及び／または治療剤として有用となるように、ＨＥＲ２に十分な親和性で結合可能である抗体を指す。一実施形態において、無関係の非ＨＥＲ２タンパク質に抗ＨＥＲ２抗体が結合する程度は、例えば、放射免疫測定法（ＲＩＡ）によって測定されうように、ＨＥＲ２に抗体が結合する程度の約１０％未満である。ある特定の実施形態において、ＨＥＲ２に結合する抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、、５ｎｍ以下、、４ｎＭ以下、、３ｎＭ以下、、２ｎＭ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下、または０．００１ｎＭ以下（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（Ｋｄ）を有する。ある特定の実施形態において、抗ＨＥＲ２抗体は、異なる種由来のＨＥＲ２の間で保存されるＨＥＲ２のエピトープに結合する。

【００４８】

「抗体」という用語は、本明細書で最も広義に使用され、それらが所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含むが、これらに限定されない、種々の抗体構造を包含する。

【００４９】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部分を含み、インタクトな抗体が結合する抗原に結合する、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、$F(ab')_2$、二重特異性抗体、線状抗体、単鎖抗体分子（例えば、ｓｃＦｖ）、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されない。

【００５０】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、参照抗体がその抗原に結合するのを５０％以上遮断する抗体、及び逆に、競合アッセイにおいて、抗体がその抗原に結合するのを５０％以上遮断する参照抗体を指す。例示的な競合アッセイが本明細書に提供される。

【００５１】

「癌」及び「癌性」という用語は、細胞成長／増殖の未制御によって典型的に特徴付けられる、哺乳動物における生理的状態を指すか、または説明する。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、癌は、乳癌または胃癌である。いくつかの実施形態において、癌は、任意のＨＥＲ２陽性癌である。

【００５２】

「ＨＥＲ２陽性」癌は、正常レベルよりも高いＨＥＲ２を有する癌細胞を含む。ＨＥＲ２陽性癌の例としては、ＨＥＲ２陽性乳癌及びＨＥＲ２陽性胃癌が挙げられる。任意に、ＨＥＲ２陽性癌は、２＋若しくは３＋の免疫組織化学（ＩＨＣ）スコア、及び／または２．０以上のｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）増幅率を有する。

【００５３】

「早期乳癌（ＥＢＣ）」または「早期乳癌」という用語は、本明細書において、乳房または腋窩リンパ節を越えて拡散していない乳癌を指すように使用される。これは、上皮内腺管癌、Ｉ期、ＩＩＡ期、ＩＩＢ期、及びＩＩＩＡ期の乳癌を含む。

【００５４】

「０期」、「Ｉ期」、「ＩＩ期」、「ＩＩＩ期」、または「ＩＶ期」、及びこの分類内の様々な亜期の腫瘍または癌への言及は、当該技術分野において既知の全ステージグループ分けまたはローマ数字ステージング方法を使用する腫瘍または癌の分類を示す。一般に癌の実際の病期は癌の種類によって決定されるが、０期癌は上皮病変であり、Ｉ期癌は、小さい局在化腫瘍であり、ＩＩ期及びＩＩＩ期癌は、局所リンパ節の関与を示す局所進行腫瘍であり、ＩＶ期癌は、転移性癌を表す。各種の腫瘍に特異的な病期は、熟練した臨床医に既知である。

【００５５】

「転移性乳癌」という用語は、癌細胞が、血管またはリンパ腺によって元の部位から体内の１つ以上の他の部位に伝播し、乳房以外の１つ以上の臓器内で１つ以上の二次腫瘍を形成する乳癌の状態を意味する。

【００５６】

「進行」癌は、局所浸潤または転移のいずれかによって元の部位または臓器の外側に拡散しているものである。したがって、「進行」癌という用語は、局所的に進行した疾患及び転移性疾患の両方を含む。

【００５７】

「再発」癌は、手術等の初期療法への応答後に、初期部位または遠位部位のいずれかにおいて再成長したものである。

【００５８】

「局所的再発」癌は、治療後に以前に治療された癌と同じ場所で再発する癌である。

【００５９】

「手術可能な」または「切除可能な」癌は、主要臓器に限定され、手術（切除）に適した癌である。

【００６０】

「ｎｏｎ－ｒｅｓｅｃｔａｂｌｅ（切除不可能な）」または「ｕｎｒｅｓｅｃｔａｂｌｅ（切除不可能な）」癌は、手術によって除去（切除）することができない。

【００６１】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部分が特定の源または種に由来し、重鎖及び／または軽鎖の残りの部分が異なる源または種に由来する抗体を指す。

【００６２】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメインまたは定常領域の型を指す。５つの主要な抗体クラスＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭが存在し、これらのうちの数個は、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2にさらに分類され得る。免役グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、及びμと呼ばれ

る。

【００６３】

本明細書で使用される「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害する若しくは阻止する、かつ／または細胞死若しくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞傷害性薬剤には、放射性同位体（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、及びＬｕの放射性同位体）、化学療法剤若しくは化学療法薬（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンＣ、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他のインターカレート剤）、成長阻害剤、核酸分解酵素等の酵素及びそれらの断片、抗生物質、細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片及び／または変異形を含む）等の毒素、ならびに以下に記載される種々の抗腫瘍または抗癌薬剤が含まれるが、これらに限定されない。

【００６４】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより異なる抗体のＦｃ領域に起因し得る生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）、食作用、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方制御、ならびにＢ細胞活性化が挙げられる。

【００６５】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」は、所望の治療的または予防的結果を達成するために必要である、一定期間にわって投与する投薬量の有効な量を指す。癌を治療するための有効量の薬物によって、癌細胞の数が低減し、腫瘍サイズが縮小し、抹消臓器への癌細胞浸潤が阻害され（すなわち、ある程度遅れる、好ましくは止まる）、腫瘍転移が阻害され（すなわち、ある程度遅れる、好ましくは止まる）、腫瘍成長がある程度阻害され、かつ／または癌と関連付けられる症状のうちの１つ以上がある程度緩和され得る。薬物が成長を防止する、かつ／または既存の癌細胞を死滅させることができる範囲で、それは細胞増殖抑制性及び／または細胞傷害性であり得る。有効量によって、無進行生存率が上昇し（例えば、固体腫瘍の奏功評価基準（ＲＥＣＩＳＴ）若しくはＣＡ－１２５変化によって測定される）、客観的奏功がもたらされ（部分奏功（ＰＲ）若しくは完全奏功（ＣＲ））、全生存期間が延長し、かつ／または癌の１つ以上の症状が改善される（例えば、ＦＯＳＩによって評価される）。

【００６６】

「エピトープ」という用語は、抗体が結合する抗原分子上の特定の部位を指す。

【００６７】

「エピトープ４Ｄ５」または「４Ｄ５エピトープ」または「４Ｄ５」は、抗体４Ｄ５（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１０４６３）及びトラスツズマブが結合するＨＥＲ２の細胞外ドメイン内の領域である。このエピトープは、ＨＥＲ２の膜貫通ドメインに近くにあり、ＨＥＲ２のドメインＩＶ内にある。４Ｄ５エピトープに結合する抗体をスクリーニングするために、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｅｄ　Ｈａｒｌｏｗ　ａｎｄ　ｄａｖｉｄ　Ｌａｎｅ（１９８８）に記載されるもの等のルーチンクロスブロッキングアッセイを行うことができる。代替として、エピトープマッピングを行い、抗体がＨＥＲ２の４Ｄ５エピトープ（例えば、ＨＥＲ２を含む約残基５５０～約残基６１０に由来する領域内の任意の１つ以上の残基（配列番号３９））に結合するかどうかを評価することができる。

【００６８】

「エピトープ２Ｃ４」または「２Ｃ４エピトープ」は、抗体２Ｃ４が結合するＨＥＲ２の細胞外ドメイン内の領域である。２Ｃ４エピトープに結合する抗体をスクリーニングするために、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｅｄ　Ｈａｒｌｏｗ　ａｎｄ

ｄａｖｉｄ Ｌａｎｅ（１９８８）に記載されるもの等のルーチンクロスブロッキングアッセイを行うことができる。代替として、エピトープマッピングを行い、抗体がＨＥＲ２の２Ｃ４エピトープに結合するかどうかを評価することができる。エピトープ２Ｃ４は、ＨＥＲ２の細胞外ドメイン内のドメインＩＩからの残基を含む。２Ｃ４抗体及びペルツズマブは、ドメインＩ、ＩＩ、及びＩＩＩの接合部でＨＥＲ２の細胞外ドメインに結合する（Ｆｒａｎｋｌｉｎ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ ５：３１７－３２８（２００４））。

【００６９】

本明細書における「Ｆｃ領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含有する、免役グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するように使用される。この用語は、天然配列Ｆｃ領域及び変異形Ｆｃ領域を含む。一実施形態において、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃｙｓ２２６から、またはＰｒｏ２３０から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は、存在する場合もあれば、しない場合もある。本明細書で別途明記されない限り、Ｆｃ領域または定常領域におけるアミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，１９９１に記載される、ＥＵインデックスとも呼ばれる、ＥＵ付番方式に従う。

【００７０】

「フレームワーク」または「ＦＲ」は、超可変領域（ＨＶＲ）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのＦＲは、一般に、４つのＦＲドメインＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４からなる。したがって、ＨＶＲ及びＦＲ配列は、一般に、ＶＨ（またはＶＬ）において次の配列、ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４で出現する。

【００７１】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書で、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有するか、または本明細書に定義されるＦｃ領域を含有する重鎖を有する抗体を指すように互換的に使用される。

【００７２】

「ＨＥＲ２のグリコシル化型」という用語は、炭水化物残基の付加によって翻訳後修飾されている、ＨＥＲ２の自然発生型を指す。

【００７３】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、互換的に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、かかる細胞の子孫を含む。宿主細胞には、初代形質転換細胞及び継代の数に関わらずそれに由来する子孫を含む、「形質転換体」及び「形質転換細胞」が含まれる。子孫の核酸含量は親細胞と完全に同一でない場合があるが、突然変異を含有し得る。元々形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物活性を有する突然変異体子孫が、本明細書に含まれる。

【００７４】

「ヒト抗体」は、ヒト若しくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レパートリーを利用する非ヒト源に由来する、抗体のアミノ酸配列、または他のヒト抗体コード配列に対応する、アミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に除外する。

【００７５】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免役グロブリンＶＬまたはＶＨフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免役グロブリンＶＬまたはＶＨ配列の選択は、可変ドメイン配列の下位集団から行われる。一般に、配列の下位集団は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓ

ｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ９１－３２４２，Ｂｅｔｈｅｓｄａ ＭＤ（１９９１），ｖｏｌｓ．１－３にあるような下位集団である。一実施形態において、ＶＬについて、下位集団は、上記のＫａｂａｔらにあるような下位集団カッパＩである。一実施形態において、ＶＨについて、下位集団は、上記のＫａｂａｔらにあるような下位集団ＩＩＩである。

【００７６】

「ヒト化」抗体は、非ヒトＨＶＲ由来のアミノ酸残基及びヒトＦＲ由来のアミノ酸残基を含む、キメラ抗体を指す。ある特定の実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、そのＨＶＲ（例えば、ＣＤＲ）の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、そのＦＲの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は任意に、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。抗体、例えば非ヒト抗体の、「ヒト化型」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【００７７】

本明細書で使用される「超可変領域」または「ＨＶＲ」という用語は、配列が高度に変化する、かつ／または構造的に規定されたループ（「超可変ループ」）を形成する、抗体可変ドメインの領域のそれぞれを指す。一般に、天然４本鎖抗体は、６つのＨＶＲを含み、このうち３つがＶＨ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）にあり、３つがＶＬ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）にある。ＨＶＲは一般に、超可変ループに由来するかつ／または「相補性決定領域」（ＣＤＲ）に由来するアミノ酸残基を含み、後者は、配列可変性が最も高く、及び／または抗原認識に関与する。例示的な超可変ループは、アミノ酸残基２６～３２（Ｌ１）、５０～５２（Ｌ２）、９１～９６（Ｌ３）、２６～３２（Ｈ１）、５３～５５（Ｈ２）、及び９６～１０１（Ｈ３）において生じる（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７））。例示的なＣＤＲ（ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、ＣＤＲ－Ｌ３、ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、及びＣＤＲ－Ｈ３）は、アミノ酸残基Ｌ１の２４～３４、Ｌ２の５０～５６、Ｌ３の８９～９７、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～６５、及びＨ３の９５～１０２において生じる。（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１））。ＶＨにおけるＣＤＲ１を除いて、ＣＤＲは一般に、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。ＣＤＲはまた、抗原に接触する残基である、「特異性決定残基」または「ＳＤＲ」も含む。ＳＤＲは、短縮型（ａｂｂｒｅｖｉａｔｅｄ）ＣＤＲ、またはａ－ＣＤＲと呼ばれるＣＤＲの領域内に含有される。例示的なａ－ＣＤＲ（ａ－ＣＤＲ－Ｌ１、ａ－ＣＤＲ－Ｌ２、ａ－ＣＤＲ－Ｌ３、ａ－ＣＤＲ－Ｈ１、ａ－ＣＤＲ－Ｈ２、及びａ－ＣＤＲ－Ｈ３）は、アミノ酸残基Ｌ１の３１～３４、Ｌ２の５０～５５、Ｌ３の８９～９６、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～５８、及びＨ３の９５～１０２において生じる。（Ｓｅｅ Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）を参照されたい）。別途指定されない限り、可変ドメインにおけるＨＶＲ残基及び他の残基（例えば、ＦＲ残基）は、本明細書において上記のＫａｂａｔらに従って付番される。

【００７８】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これらに限定されない１個以上の異種性分子（複数可）にコンジュゲートされる抗体である。

【００７９】

「患者」または「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、患者、個体、または対象は、ヒトである。いくつかの実施形態において、患者は「癌患者」、すなわち、癌、特に胃癌または乳癌

の１つ以上の症状を罹患しているか、または罹患する危険性がある者であり得る。
【００８０】
「患者集団」は、癌患者の群を指す。そのような集団を使用して、薬物の統計的に有意な有効性及び／または安全性を実証することができる。
【００８１】
「再発」患者は、寛解後に癌の兆候または症状を有する者である。任意に、患者は、アジュバントまたはネオアジュバント療法後に再発した。
【００８２】
「ＨＥＲ発現、増幅、または活性化を示す」癌または生体試料は、診断試験において、ＨＥＲ受容体を発現する（過剰発現を含む）、ＨＥＲ遺伝子が増幅する、かつ／またはさもなければＨＥＲ受容体の活性化若しくはホスホリル化を実証するものである。
【００８３】
「ネオアジュバント療法」または「術前療法」は、本明細書において、手術前に付与される療法を指す。ネオアジュバント療法の目標は、即時の全身治療を提供することであり、潜在的に、手術、それに続く全身療法の標準シーケンスに従った場合にさもなくば増殖するであろう微小転移を根絶する。ネオアジュバント療法はまた、腫瘍サイズを低減し、それにより最初に切除不可能であった腫瘍を完全に切除するか、または臓器及びその機能の一部を保存するのに役立つ場合がある。さらに、ネオアジュバント療法は、薬効のｉｎｖｉｖｏ評価を可能にし、これによって後続の治療の選択を導かれ得る。
【００８４】
「アジュバント療法」は、本明細書において、疾患再発の危険性を低減するために、残留疾患の証拠を検出することができない根治手術後に付与される療法を指す。アジュバント療法の目標は、癌の再発を防止すること、したがって癌関連死の可能性を低減することである。アジュバント療法は、本明細書において、ネオアジュバント療法を具体的に除外する。
【００８５】
「根治手術」は、その用語が医学コミュニティ内で使用されるように使用される。根治手術としては、例えば、腫瘍の除去または切除をもたらす手順、手術、またはさもなければ、腫瘍の除去または切除をもたらすもの、例えば、全ての肉眼視可能な腫瘍の除去または切除をもたらすものを含む。根治手術としては、例えば、腫瘍の完全若しくは治癒的切除、または肉眼的完全切除が挙げられる。根治手術は、１つ以上の段階で起こる手順を含み、例えば、腫瘍の切除前に１つ以上の手術または他の手順が行われる複数段階手術手順を含む。根治手術は、関与する臓器、臓器及び組織の一部、ならびに周囲臓器、例えば、リンパ節、臓器の一部、または組織を含む腫瘍を除去する、または切除する手順を含む。除去は不完全であり得るため、腫瘍細胞は検出されないまま残留する場合がある。
【００８６】
「生存（率）」は、患者が依然として生存していることを指し、無疾患生存（ＤＦＳ）、無進行生存（ＰＦＳ）、及び全生存（ＯＳ）を含む。生存率は、カプラン－マイヤー方法によって推定することができ、生存率のいかなる相違も、層別ログランク検定を使用して計算される。
【００８７】
「無進行生存」（ＰＦＳ）は、治療の初日から、どちらが最初に起こるかに関わらず、記録された疾患進行（単離されたＣＮＳ進行を含む）または研究上のあらゆる原因による死亡までの期間である。
【００８８】
「無疾患生存（ＤＦＳ）」は、癌を再起することなく、治療の開始から、または最初の診断から例えば、約１年、約２年、約３年、約４年、約５年、約１０年の定義された期間にわたってなおも患者が生存していることを指す。本発明の一態様において、ＤＦＳは、ＩＴＴ（ｉｎｔｅｎｔ－ｔｏ－ｔｒｅａｔ）原則に従って解析される。すなわち、患者は、割り付けられた療法に基づいて評価される。ＤＦＳの解析で使用される事象は、癌の局

所的再発、局所再発、及び遠隔再発、二次癌の発生、及び先行事象（例えば、乳癌再発または第２の原発癌）のない患者の任意の原因による死亡を含み得る。

【００８９】

「全生存」は、患者が、治療の開始から、または最初の診断から約１年、約２年、約３年、約４年、約５年、約１０年等の定義された期間にわたってもなお生存していることを指す。本発明の根拠をなす試験において、生存分析に使用される事象は、任意の原因による死亡であった。

【００９０】

「生存を延長させる」とは、未治療の患者と比較して、または対照治療プロトコルと比較して、治療された患者におけるＤＦＳ及び／またはＯＳを増加させることを意味する。生存は、治療の開始の後、または最初の診断の後、少なくとも約６ヶ月、または少なくとも約１年、または少なくとも約２年、または少なくとも約３年、または少なくとも約４年、または少なくとも約５年、または少なくとも約１０年等にわたって監視される。

【００９１】

「単剤療法」とは、一連の治療期間中に、癌または腫瘍の治療のために単一治療剤のみを含む治療レジメンを意味する。

【００９２】

「維持療法」とは、疾患再発または進行の可能性を低減するために付与される治療レジメンを意味する。維持療法は、対象の寿命までの長期間を含む、任意の期間にわたって提供され得る。維持療法は、初期療法後に提供されるか、または初期療法若しくは追加療法と併せて提供され得る。維持療法に使用される投薬量は異なる場合があり、他の種類の療法に使用される投薬量と比較して低減した投薬量を含み得る。

【００９３】

本明細書で定義される場合、「トラスツズマブ」、「ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標）」、及び「ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－８」という用語は、互換的に使用される。かかる抗体は、好ましくは、配列番号３０及び配列番号２９にそれぞれ示される軽鎖アミノ酸配列及び重鎖アミノ酸配列を含む。

【００９４】

本明細書では、「ペルツズマブ」、「ＰＥＲＪＥＴＡ（登録商標）」、及び「ｒｈｕＭＡｂ　２Ｃ４」は、互換的に使用される。かかる抗体は、配列番号３２及び３１それぞれの軽鎖アミノ酸配列及び重鎖アミノ酸配列を有する主要種抗体を含む（図１３Ａ及びＢ）。いくつかの実施形態において、ペルツズマブは、アミノ末端リーダー伸長を有する変異種抗体を含み、例えば、配列番号３４の軽鎖アミノ酸配列、及び配列番号３３の重鎖アミノ酸配列を含む。抗体は、組み換えチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞によって任意に産生される。

【００９５】

本明細書で定義されるように、「Ｔ－ＤＭ１」、「トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１」、「アドートラスツズマブエムタンシン」、「トラスツズマブエムタンシン」、及び「ＫＡＤＣＹＬＡ（登録商標）」という用語は、互換的に使用され、リンカー部分ＭＣＣによってマイタンシノイド薬物部分ＤＭ１に結合されたトラスツズマブを指し、１、２、３、４、５、６、７、及び８つの薬物部分が抗体トラスツズマブに共有結合される、様々に負荷及び結合された抗体－薬物複合体の全ての混合物を含む（ＵＳ７０９７８４０、ＵＳ８３３７８５６、ＵＳ２００５／０２７６８１２、ＵＳ２００５／０１６６９９３）。

【００９６】

「単離抗体」は、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、例えば、電気泳動法（例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、等電点電気泳動（ＩＥＦ）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフ法（例えば、イオン交換または逆相ＨＰＬＣ）によって決定される、９５％超または９９％超の純度まで精製される。抗体の純度の評価のための方法の概説については、例えば、Ｆｌａｔｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ　８４８：７９－８７（２００７）を参照されたい

。
【００９７】
「単離核酸」は、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸には、核酸分子を通常含有する細胞内に含有される核酸分子が含まれるが、その核酸分子は、染色体外に、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。
【００９８】
「抗ＨＥＲ２抗体をコードする単離核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖（またはそれらの断片）をコードする１個以上の核酸分子を指し、それには単一のベクターまたは別個のベクターにおけるかかる核酸分子（複数可）が含まれ、かかる核酸分子（複数可）は、宿主細胞内の１つ以上の場所に存在する。
【００９９】
本明細書で使用される「ＨＥＲ２」という用語は、細胞内のＨＥＲ２前駆体タンパク質の処理からもたらされる任意の天然の成熟ＨＥＲ２を指す。この用語には、別途指定されない限り、霊長類（例えば、ヒト及びカニクイザル）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来のＨＥＲ２が含まれる。この用語はまた、ＨＥＲ２の自然発生変異形、例えば、スプライス変異形または対立遺伝子変異形を包含する。シグナル配列を含む（シグナル配列であるアミノ酸１～２２を含む）、例示的なヒトＨＥＲ２前駆体タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１０に示される。例示的な成熟ヒトＨＥＲ２のアミノ酸配列は、配列番号１のアミノ酸２３～１２５５である。
【０１００】
「ＨＥＲ２陽性細胞」という用語は、その表面上でＨＥＲ２を発現する細胞を指す。
【０１０１】
本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指す。すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、同一であり、かつ／または同じエピトープに結合するが、例えば、自然発生突然変異を含有する、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に発生する、想定される変異形抗体は例外であり、かかる変異形は一般に少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基を対象とする。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体の特徴を示しており、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組み換えＤＮＡ法、ファージディスプレイ法、及びヒト免役グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むが、これらに限定されない、多様な技法によって作製されてもよく、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。
【０１０２】
「裸の抗体」は、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識にコンジュゲートされていない抗体を指す。裸の抗体は、薬学的製剤中に存在してもよい。
【０１０３】
「天然抗体」は、様々な構造を有する、自然発生免役グロブリン分子を指す。例えば、天然ＩｇＧ抗体は、ジスルフィド結合されている２つの同一の軽鎖及び２つの同一の重鎖から構成される、約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。Ｎ末端からＣ末端まで、各重鎖は、可変重ドメイン（ｖａｒｉａｂｌｅ ｈｅａｖｙ ｄｏｍａｉｎ）または重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＨ）、続いて３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３）を有する。同様に、Ｎ末端からＣ末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメイン（ｖａｒｉａｂｌｅ ｌｉｇｈｔ ｄｏｍａｉｎ）または軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＬ）、続いて定常軽（ＣＬ）ドメインを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる２つの型うちの１つに割り付けられ得る。

【０１０４】
「バイアル」は、液体または凍結乾燥調製物を保有するのに好適な容器である。一実施形態において、バイアルは、単回使用バイアル、例えば、栓を有する２０ｃｃの単回使用バイアルである
【０１０５】
「添付文書」という用語は、かかる治療薬の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症についての情報、及び／またはその使用に関する警告を含有する、治療剤製品のパッケージに通例含まれる指示書を指すように使用される。
【０１０６】
参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列をアライメントし、配列同一性最大パーセントを得るのに必要な場合はギャップを導入した後に、いかなる保存的置換も配列同一性の部分として考慮せずに、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内の種々の方式で、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア等の、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長にわたる最大のアライメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするために適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書では、アミノ酸配列同一性％値は、配列比較コンピュータプログラムＡＬＩＧＮ－２を使用して生成される。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．によって記述され、ソースコードは、ユーザ文書と共に米国著作権庁（Ｕ．Ｓ．Ｃｏｐｙｒｉｇｈｔ　Ｏｆｆｉｃｅ）、Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．，２０５５９に提出されており、米国著作権番号ＴＸＵ５１００８７の下に登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから公的に利用可能であるか、またはソースコードから編集されてもよい。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、デジタルＵＮＩＸＶ４．０Ｄを含むＵＮＩＸオペレーティングシステムで使用するために編集すべきである。全ての配列比較パラメータは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムによって設定され、変更されない。
【０１０７】
アミノ酸配列比較のためにＡＬＩＧＮ－２が用いられる場合、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比した、所与のアミノ酸配列Ａのアミノ酸配列同一性％（代替的に、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比したある特定のアミノ酸配列同一性％を有する、またはそれを含む、所与のアミノ酸配列Ａと表現され得る）は、次のように算出される。
１００×分数Ｘ／Ｙ
式中、Ｘは、配列アライメントプログラムＡＬＩＧＮ－２によって、そのプログラムのＡ及びＢのアライメントにおいて完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂ中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合、Ｂに対するＡのアミノ酸配列同一性％は、Ａに対するＢのアミノ酸配列同一性％と等しくはならないことが理解されよう。特に別途定めのない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性％値は、直前の段落に記載されるように、ＡＬＩＧＮ－２コンピュータプログラムを使用して得られる。
【０１０８】
「薬学的製剤」という用語は、調製物の中に含有される活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒である追加の構成成分を何ら含有しない調製物を指す。
【０１０９】
「薬学的に許容される担体」は、対象にとって無毒である、活性成分以外の薬学的製剤

中の成分を指す。薬学的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤、または防腐剤が含まれるが、これらに限定されない。

【０１１０】

本明細書で使用されるとき、「治療」（及び「治療する」または「治療すること」等のその文法上の変形形態）は、治療されている個体の自然経過を変えることを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程中に行うことができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の予防、疾患進行速度の低減、病状の寛解または緩和、及緩解または予後の改善が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体を使用して、疾患の発達を遅らせるか、または疾患の進行を減速させる。

【０１１１】

「共投与」とは、２つの薬物の連続点滴ではなく、同一投与中に２つ（以上）の薬物を静脈内投与することを意味する。一般に、これは、２つ（以上）の薬物を、その共投与前に同じＩＶバッグ内に合わせることを必要とする。

【０１１２】

１つ以上の他の薬物と「同時に」投与される薬物は、同一治療サイクル中、１つ以上の他の薬物と同じ治療日に、任意に１つ以上の他の薬物と同じ時間に投与される。例えば、３週間毎に付与される癌療法の場合、同時に投与される薬物はそれぞれ、３週間のサイクルの１日目に投与される。

【０１１３】

「化学療法」は、癌の治療に有用な化学療法剤の使用である。

【０１１４】

「化学療法剤」は、作用の機序に関わらず、癌の治療に有用な化学化合物である。化学療法剤のクラスとしては、アルキル化剤、抗代謝物質、紡錘体毒植物アルカロイド、細胞傷害性／抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、抗体、感光剤、及びキナーゼ阻害剤が含まれるが、これらに限定されない。化学療法剤の例としては、アントラシクリン、例えば、エピルビシンまたはドキソルビシン（ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標））、シクロホスファミド（ＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標）、ＮＥＯＳＡＲ（登録商標））、アントラシクリン及びシクロホスファミドの組み合わせ（「ＡＣ」）、タキサン、例えば、ドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標））またはパクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標））、５－ＦＵ（フルオロウラシル、５－フルオロウラシル、ＣＡＳ番号５１－２１－８）、ラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標））、カペシタビン（ＸＥＬＯＤＡ（登録商標））、ゲムシタビン（ＧＥＭＺＡＲ（登録商標）、Ｌｉｌｌｙ）、ＰＤ－０３２５９０１（ＣＡＳ番号３９１２１０－１０－９、Ｐｆｉｚｅｒ）、シスプラチン（シス－ジアミン、ジクロロプラチナ（ＩＩ）、ＣＡＳ番号１５６６３－２７－１）、カルボプラチン（ＣＡＳ番号４１５７５－９４－４）、テモゾロミド（４－メチル－５－オキソ－２，３，４，６，８－ペンタアザビシクロ［４．３．０］ノナ－２，７，９－トリエン－９－カルボキシアミド、ＣＡＳ番号８５６２２－９３－１、ＴＥＭＯＤＡＲ（登録商標）、ＴＥＭＯＤＡＬ（登録商標）、Ｓｃｈｅｒｉｎｇ　Ｐｌｏｕｇｈ）、タモキシフェン（（Ｚ）－２－［４－（１，２－ジフェニルブト－１－エニル）フェノキシ］－Ｎ，Ｎ－ジメチル－エタンアミン、ＮＯＬＶＡＤＥＸ（登録商標）、ＩＳＴＵＢＡＬ（登録商標）、ＶＡＬＯＤＥＸ（登録商標））が挙げられる。

【０１１５】

化学療法剤のさらなる例としては、オキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（登録商標）、Ｓａｎｏｆｉ）、ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標）、Ｍｉｌｌｅｎｎｉｕｍ　Ｐｈａｒｍ．）、ステント（ＳＵＮＩＴＩＮＩＢ（登録商標）、ＳＵ１１２４８、Ｐｆｉｚｅｒ）、レトロゾール（ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、イマチニブメシラート（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＸＬ－５１８（ＭＥＫ阻害剤、Ｅｘｅｌｉｘｉｓ、ＷＯ２００７／０４４５１５号）、ＡＲＲＹ－８８６（Ｍ

ｅｋ阻害剤、ＡＺＤ６２４４、Ａｒｒａｙ ＢｉｏＰｈａｒｍａ、Ａｓｔｒａ Ｚｅｎｅｃａ）、ＳＦ－１１２６（ＰＩ３Ｋ阻害剤、Ｓｅｍａｆｏｒｅ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ＢＥＺ－２３５（ＰＩ３Ｋ阻害剤、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＸＬ－１４７（ＰＩ３Ｋ阻害剤、Ｅｘｅｌｉｘｉｓ）、ＰＴＫ７８７／ＺＫ ２２２５８４（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、フルベストラント（ＦＡＳＬＯＤＥＸ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ロイコボリン（ホリニン酸）、ラパマイシン（シロリムス、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）、ロナファルニブ（ＳＡＲＡＳＡＲ（商標）、ＳＣＨ ６６３３６、Ｓｃｈｅｒｉｎｇ Ｐｌｏｕｇｈ）、ソラフェニブ（ＮＥＸＡＶＡＲ（登録商標）、ＢＡＹ４３－９００６、Ｂａｙｅｒ Ｌａｂｓ）、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、イリノテカン（ＣＡＭＰＴＯＳＡＲ（登録商標）、ＣＰＴ－１１、Ｐｆｉｚｅｒ）、チピファルニブ（ＺＡＲＮＥＳＴＲＡ（商標）、Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ）、ＡＢＲＡＸＡＮＥ（商標）（Ｃｒｅｍｏｐｈｏｒ不含）、パクリタキセルのアルブミン操作されたナノ粒子製剤（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐａｒｔｎｅｒｓ、Ｓｃｈａｕｍｂｅｒｇ，Ｉｌ）、バンデタニブ（ｒＩＮＮ、ＺＤ６４７４、ＺＡＣＴＩＭＡ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、クロランブシル、ＡＧ１４７８、ＡＧ１５７１（ＳＵ ５２７１；Ｓｕｇｅｎ）、テムシロリムス（ＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）、パゾパニブ（ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、カンフォスファミド（ＴＥＬＣＹＴＡ（登録商標）、Ｔｅｌｉｋ）、チオテパ及びシクロスホスファミド（ＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標）、ＮＥＯＳＡＲ（登録商標））、ブスルファン、イムプロスルファン、及びピポスルファン等のアルキルスルホン酸塩、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパ等のアジリジン、エチレンイミン及びメチルアメラミン（アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチロメラミンを含む）、アセトゲニン（特にブラタシン及びブラタシノン）、カンプトテシン（合成類似体トポテカンを含む）、ブリオスタチン、カリスタチン、ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成類似体を含む）、クリプトフィシン（特にクリプトフィシン－１及びクリプトフィシン－８）、ドラスタチン、デュオカルマイシン（合成類似体、ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１を含む）、エリュテロビン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、クロランブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イフォスファミド、メクロレタミン、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムビシン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチン等のニトロソウレア、エネジイン抗生物質等の抗生物質（例えば、カリケアミシン、カリケアミシンγＩＩ、カリケアミシンωＩＩ（Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．（１９９４）３３：１８３－１８６）、ダイネマイシン、ダイネマイシンＡ、クロドロネート等のビスホスホネート、エスペラミシン、ならびにネオカルジノスタチン発色団及び関連色素タンパクエンジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン（ｃａｒａｂｉｃｉｎ）、カルミノマイシン（ｃａｒｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、クロモマイシン（ｃｈｒｏｍｏｍｙｃｉｎｉｓ）、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシン、モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン、及びデオキシドキソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン（ｍａｒｃｅｌｌｏｍｙｃｉｎ）、マイトマイシンＣ等のマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン（ｑｕｅｌａｍｙｃｉｎ）、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン（ｔｕｂｅｒｃｉｄｉｎ）、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン、メトトレキサート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）等の代謝拮抗物質、デノプテリン（ｄｅｎｏ

ｐｔｅｒｉｎ）、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサート等の葉酸類似体、フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン等のプリン類似体、アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン等のピリミジン類似体、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン等のアンドロゲン、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎剤（ａｎｔｉ－ａｄｒｅｎａｌ）、葉酸等の葉酸補充剤、アセグラトン、アルドホスファミド（ａｌｄｏｐｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）グリコシド、アミノレブリン酸、エニルウラシル（ｅｎｉｌｕｒａｃｉｌ）、アムサクリン、ベストラブシル（ｂｅｓｔｒａｂｕｃｉｌ）、ビサントレン、エダトレキサート（ｅｄａｔｒａｘａｔｅ）、デフォファミン（ｄｅｆｏｆａｍｉｎｅ）、デメコルチン、ジアジコン（ｄｉａｚｉｑｕｏｎｅ）、エルフオルニチン、酢酸エリプチニウム、エポチロン（ｅｐｏｔｈｉｌｏｎｅ）、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダミン（ｌｏｎｉｄａｉｎｉｎｅ）、メイタンシン（ｍａｙｔａｎｓｉｎｅ）及びアンサミトシン（ａｎｓａｍｉｔｏｃｉｎ）等のメイタンシノイド、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モピダモール（ｍｏｐｉｄａｎｍｏｌ）、ニトラエリン（ｎｉｔｒａｅｒｉｎｅ）、ペントスタチン、フェナメト（ｐｈｅｎａｍｅｔ）、ピラルビシン、ロソキサントロン（ｌｏｓｏｘａｎｔｒｏｎｅ）、ポドフィリン酸、２－エチルヒドラジン、プロカルバジン、ＰＳＫ（登録商標）多糖類複合体（ＪＨＳ　Ｎａｔｕｒａｌ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）、ラゾキサン、リゾキシン（ｒｈｉｚｏｘｉｎ）、シゾフィラン、スピロゲルマニウム、テヌアゾン酸、トリアジコン、２，２’，２”－トリクロロトリエチルアミン、トリコテセン（ｔｒｉｃｈｏｔｈｅｃｅｎｅ）（Ｔ－２トキシン、ベラクリンＡ（ｖｅｒｒａｃｕｒｉｎ　Ａ）、ロリジンＡ（ｒｏｒｉｄｉｎ　Ａ）、及びアングイジン（ａｎｇｕｉｄｉｎｅ））、ウレタン、ビンデシン、ダカルバジン、マンノムスチン、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン（ｇａｃｙｔｏｓｉｎｅ）、アラビノシド（Ａｒａ－Ｃ）、クロホスファミド、チオテパ、６－チオグアニン、メルカプトプリン、メトトレキサート、シスプラチン及びカルボプラチン等の白金類似体、ビンブラスチン、エトポシド（ＶＰ－１６）、イフォスファミド、ミトキサントロン、ビンクリスチン、ビノレルビン（ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標））、ノバントロン、テニポシド、エダトレキセート、ダウノマイシン、アミノプテリン、イバンドロネート、ＣＰＴ－１１、トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ　２０００、ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）、レチノイン酸等のレチノイド、ならびに上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体が挙げられる。

【０１１６】

本明細書における治療剤の「固定」または「一定」用量は、患者の体重（ＷＴ）または体表面積（ＢＳＡ）に関係なくヒト患者に投与される用量を指す。したがって、この固定用量または一定用量は、ｍｇ／ｋｇ用量またはｍｇ／ｍ２用量として提供されないが、むしろ治療剤の絶対量として提供される。

【０１１７】

本明細書における「負荷」用量は一般に、患者に投与される治療剤の初期用量を含み、その１つ以上の維持用量（複数可）が続く。一般に、単一負荷用量が投与されるが、本明細書において複数の負荷用量が企図される。通常、維持用量（複数可）で達成され得るより早く治療剤の所望の安定状態濃度を達成するように、投与される負荷用量（複数可）の量は、投与される維持用量（複数可）の量を超え、かつ／または負荷用量（複数可）は、維持用量（複数可）より頻繁に投与される。

【０１１８】

本明細書における「維持」用量は、治療期間にわたって患者に投与される治療剤の１つ以上の用量を指す。通常、維持用量は、ほぼ毎週、約２週間毎、約３週間毎、または約４週間毎の治療間隔で投与されるが、３週間毎等の治療間隔で投与されることが好ましい。

【０１１９】

「点滴」または「点滴する」は、治療と目的として、静脈から体内に薬物含有溶液を導入することを指す。一般に、これは、点滴（ＩＶ）バッグを介して達成される。

【０１２０】

「点滴バッグ」または「ＩＶバッグ」は、患者の静脈を介して投与され得る溶液を保持することができるバッグである。一実施形態において、溶液は、生理食塩液である（例えば、約０．９％または約０．４５％ＮａＣｌ）。任意に、ＩＶバッグは、ポリオレフィンまたはポリ塩化ビニルから形成される。

【０１２１】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合することに関与する、抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、ＶＨ及びＶＬ）は一般に、同様の構造を有し、各ドメインは、４つの保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）及び３つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む。（例えば、Ｋｉｎｄｔ ｅｔ ａｌ．Ｋｕｂｙ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６^{ｔｈ} ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．，ｐａｇｅ ９１（２００７）を参照されたい。）抗原結合特異性を付与するためには、単一のＶＨまたはＶＬドメインで十分であり得る。さらに、抗原に結合する抗体のＶＨまたはＶＬドメインを使用して、それぞれ、相補的ＶＬまたはＶＨドメインのライブラリをスクリーニングして、特定の抗原に結合する抗体を単離してもよい。例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５０：８８０－８８７（１９９３）、Ｃｌａｒｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）を参照されたい。

【０１２２】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、連結している別の核酸を増殖することが可能な核酸分子を指す。この用語には、自己複製核酸構造としてのベクター及び導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターが含まれる。ある特定のベクターは、作動的に連結された核酸の発現を導くことが可能である。かかるベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。

【０１２３】

「アルキル」は、ノルマル、第二級、第三級、または環式炭素原子を含有するＣ１～Ｃ１８炭化水素である。例として、メチル（Ｍｅ、－ＣＨ３）、エチル（Ｅｔ、－ＣＨ２ＣＨ３）、１－プロピル（ｎ－Ｐｒ、ｎ－プロピル、－ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、２－プロピル（ｉ－Ｐｒ、ｉ－プロピル、－ＣＨ（ＣＨ３）２）、１－ブチル（ｎ－Ｂｕ、ｎ－ブチル、－ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、２－メチル－１－プロピル（ｉ－Ｂｕ、ｉ－ブチル、－ＣＨ２ＣＨ（ＣＨ３）２）、２－ブチル（ｓ－Ｂｕ、ｓ－ブチル、－ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ２ＣＨ３）、２－メチル－２－プロピル（ｔ－Ｂｕ、ｔ－ブチル、－Ｃ（ＣＨ３）３）、１－ペンチル（ｎ－ペンチル、－ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、２－ペンチル（－ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、３－ペンチル（－ＣＨ（ＣＨ２ＣＨ３）２）、２－メチル－２－ブチル（－Ｃ（ＣＨ３）２ＣＨ２ＣＨ３）、３－メチル－２－ブチル（－ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ（ＣＨ３）２）、３－メチル－１－ブチル（－ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ（ＣＨ３）２）、２－メチル－１－ブチル（－ＣＨ２ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ２ＣＨ３）、１－ヘキシル（－ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、２－ヘキシル（－ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、３－ヘキシル（－ＣＨ（ＣＨ２ＣＨ３）（ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３））、２－メチル－２－ペンチル（－Ｃ（ＣＨ３）２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ３）、３－メチル－２－ペンチル（－ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ２ＣＨ３）、４－メチル－２－ペンチル（－ＣＨ（ＣＨ３）ＣＨ２ＣＨ（ＣＨ３）２）、３－メチル－３－ペンチル（－Ｃ（ＣＨ３）（ＣＨ２ＣＨ３）２）、２－メチル－３－ペンチル（－ＣＨ（ＣＨ２ＣＨ３）ＣＨ（ＣＨ３）２）、２，３－ジメチル－２－ブチル（－Ｃ（ＣＨ３）２ＣＨ（ＣＨ３）２）、３，３－ジメチル－２－ブチル（－ＣＨ（ＣＨ３）Ｃ（ＣＨ３）３がある。

【０１２４】

本明細書で使用される「Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル」という用語は、１～８個の炭素原子を有

する直鎖または分岐、飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「C_1～C_8アルキル」基としては、－メチル、－エチル、－ｎ－プロピル、－ｎ－ブチル、－ｎ－ペンチル、－ｎ－ヘキシル、－ｎ－ヘプチル、－ｎ－オクチル、－ｎ－ノニル、及び－ｎ－デシルが含まれるが、これらに限定されず、分岐C_1～C_8アルキルとしては、－イソプロピル、－ｓｅｃ－ブチル、－イソブチル、－ｔｅｒｔ－ブチル、－イソペンチル、２－メチルブチルが含まれるが、これらに限定されず、不飽和C_1～C_8アルキルとしては、－ビニル、－アリル、－１－ブテニル、－２－ブテニル、－イソブチレニル、－１－ペンテニル、－２－ペンテニル、－３－メチル－１－ブテニル、－２－メチル－２－ブテニル、－２，３－ジメチル－２－ブテニル、１－ヘキシル、２－ヘキシル、３－ヘキシル、－アセチレニル、－プロピニル、－１－ブチニル、－２－ブチニル、－１－ペンチニル、－２－ペンチニル、－３－メチル－１－ブチニルが含まれるが、これらに限定されない。C_1～C_8アルキル基は、非置換であり得るか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－SO_3Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、－ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_2$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない１つ以上の基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、及びアリールから選択される。

【０１２５】

本明細書で使用される「C_1～C_{12}アルキル」という用語は、１～１２個の炭素原子を有する直鎖または分岐、飽和または不飽和炭化水素を指す。C_1～C_{12}アルキル基は、非置換であり得るか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－SO_3Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、－ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_2$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない１つ以上の基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、及びアリールから選択される。

【０１２６】

本明細書で使用される「C_1～C_6アルキル」という用語は、１～６個の炭素原子を有する直鎖または分岐、飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「C_1～C_6アルキル」基としては、－メチル、－エチル、－ｎ－プロピル、－ｎ－ブチル、－ｎ－ペンチル、及び－ｎ－ヘキシルが含まれるが、これらに限定されず、分岐C_1～C_6アルキルとしては、－イソプロピル、－ｓｅｃ－ブチル、－イソブチル、－ｔｅｒｔ－ブチル、－イソペンチル、及び２－メチルブチルが含まれるが、これらに限定されず、不飽和C_1～C_6アルキルとしては、－ビニル、－アリル、－１－ブテニル、－２－ブテニル、及び－イソブチレニル、－１－ペンテニル、－２－ペンテニル、－３－メチル－１－ブテニル、－２－メチル－２－ブテニル、－２，３－ジメチル－２－ブテニル、１－ヘキシル、２－ヘキシル、及び３－ヘキシルが含まれるが、これらに限定されない。C_1～C_6アルキル基は、非置換であり得るか、またはC_1～C_8アルキル基について上述されるように、１つ以上の基で置換され得る。

【０１２７】

本明細書で使用される「C_1～C_4アルキル」という用語は、１～４個の炭素原子を有する直鎖または分岐、飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「C_1～C_4アルキル」基としては、－メチル、－エチル、－ｎ－プロピル、－ｎ－ブチルが含まれるが、これらに限定されず、分岐C_1～C_4アルキルとしては、－イソプロピル、－ｓｅｃ－ブチル、－イソブチル、－ｔｅｒｔ－ブチルが含まれるが、これらに限定されず、不飽和C_1～C_4アルキルとしては、－ビニル、－アリル、－１－ブテニル、－２－ブテニル、及び－イソブチレニルが含まれるが、これらに限定されない。C_1～C_4アルキル基は、非置換であり得るか、またはC_1～C_8アルキル基について上述されるように、１つ以上の基で

置換され得る。

【０１２８】

「アルコキシ」は、酸素に単一結合されたアルキル基である。例示的なアルコキシ基としては、メトキシ（－ＯＣＨ$_3$）及びエトキシ（－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）が含まれるが、これらに限定されない。「Ｃ$_1$～Ｃ$_5$アルコキシ」は、１～５個の炭素原子を有するアルコキシ基である。アルコキシ基は、非置換であり得るか、またはアルキル基について上述されるように、１つ以上の基で置換され得る。

【０１２９】

「アルケニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち、炭素－炭素、ｓｐ^{2}二重結合を有するノルマル、第二級、第三級、または環式炭素原子を含有するＣ２～Ｃ１８炭化水素である。例としては、エチレンまたはビニル（－ＣＨ＝ＣＨ$_2$）、アリル（－ＣＨ$_2$ＣＨ＝ＣＨ$_2$）、シクロペンテニル（－Ｃ$_5$Ｈ$_7$）、及び５－ヘキセニル（－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ＝ＣＨ$_2$）が含まれるが、これらに限定されない。「Ｃ$_2$～Ｃ$_8$アルケニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち、炭素－炭素、ｓｐ^{2}二重結合を有する２～８個のノルマル、第二級、第三級、または環式炭素原子を含有する炭化水素である。

【０１３０】

「アルキニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち、炭素－炭素、ｓｐ三重結合を有するノルマル、第二級、第三級、または環式炭素原子を含有するＣ２～Ｃ１８炭化水素である。例としては、アセチレン（－Ｃ≡ＣＨ）及びプロパルギル（－ＣＨ$_2$Ｃ≡ＣＨ）が含まれるが、これらに限定されない。「Ｃ$_2$～Ｃ$_8$アルキニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち、炭素－炭素、ｓｐ三重結合を有する２～８個のノルマル、第二級、第三級、または環式炭素原子を含有する炭化水素である。

【０１３１】

「アルキレン」は、１～１８個の炭素原子の飽和、分岐若しくは直鎖、または環式炭化水素ラジカルを指し、親アルカンの同じ、または２つの異なる炭素原子から２つの水素原子を除去することによって得られる２つの一価ラジカル中心を有する。典型的なアルキレンラジカルとしては、メチレン（－ＣＨ$_2$－）１，２－エチル（－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－）、１，３－プロピル（－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－）、１，４－ブチル（－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－）等が含まれるが、これらに限定されない。

【０１３２】

「アルケニレン」は、２～１８個の炭素原子の不飽和、分岐若しくは直鎖、または環式炭化水素ラジカルを指し、親アルケンの同じ、または２つの異なる炭素原子から２つの水素原子を除去することによって得られる２つの一価ラジカル中心を有する。典型的なアルケニレンラジカルとしては、１，２－エチレン（－ＣＨ＝ＣＨ－）が含まれるが、これに限定されない。

【０１３３】

「アルキニレン」は、２～１８個の炭素原子の不飽和、分岐若しくは直鎖、または環式炭化水素ラジカルを指し、親アルキンの同じ、または２つの異なる炭素原子から２つの水素原子を除去することによって得られる２つの一価ラジカル中心を有する。典型的なアルキニレンラジカルとしては、アセチレン（－Ｃ≡Ｃ－）、プロパルギル（－ＣＨ$_2$Ｃ≡Ｃ－）、及び４－ペンチニル（－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｃ≡Ｃ－）が含まれるが、これらに限定されない。

【０１３４】

「アリール」は、炭素環式芳香族基を指す。アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、及びアントラセニルが含まれるが、これらに限定されない。炭素環式芳香族基または複素環式芳香族基は、非置換であり得るが、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（Ｒ

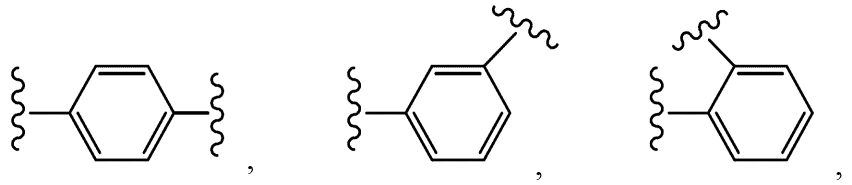
′）、－Ｎ（Ｒ′）$_2$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない１つ以上の基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、及びアリールから選択される。

【０１３５】

「Ｃ$_5$～Ｃ$_{20}$アリール」は、炭素環式芳香族環内に５～２０個の炭素原子を有するアリール基である。Ｃ$_5$～Ｃ$_{20}$アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、及びアントラセニルが含まれるが、これらに限定されない。Ｃ$_5$～Ｃ$_{20}$アリール基は、アリール基について上述されるように置換され得るか、または非置換であり得る。「Ｃ$_5$～Ｃ$_{14}$アリール」は、炭素環式芳香族環内に５～１４個の炭素原子を有するアリール基である。Ｃ$_5$～Ｃ$_{14}$アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、及びアントラセニルが含まれるが、これらに限定されない。Ｃ$_5$～Ｃ$_{14}$アリール基は、アリール基について上述されるように置換され得るか、または非置換であり得る。

【０１３６】

「アリーレン」は、２つの共有結合を有し、以下の構造に示されるように、オルト、メタ、またはパラ構成であり得るアリール基であり、



フェニル基が、非置換であり得るか、または－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_2$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大４つの基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、及びアリールから選択される。

【０１３７】

「アリールアルキル」は、炭素原子に結合された水素原子のうちの１個、典型的には末端またはsp^3炭素原子がアリールラジカルで置換される、非環式アルキルラジカルを指す。典型的なアリールアルキル基としては、ベンジル、２－フェニルエタン－１－イル、２－フェニルエタン－１－イル、ナフチルメチル、２－ナフチルエタン－１－イル、２－ナフチルエテン－１－イル、ナフトベンジル、２－ナフトフェニルエタン－１－イル等が含まれるが、これらに限定されない。アリールアルキル基は、６～２０個の炭素原子を含み、例えば、アリールアルキル基のアルカニル、アルケニル、またはアルキニル基を含むアルキル部分は、１～６個の炭素原子であり、アリール部分は、５～１４個の炭素原子である。

【０１３８】

「ヘテロアリールアルキル」は、炭素原子に結合された水素原子のうちの１個、典型的には末端またはsp^3炭素原子がヘテロアリールラジカルで置換される、非環式アルキルラジカルを指す。典型的なヘテロアリールアルキル基としては、２－ベンズイミダゾリルメチル、２－フリルエチル等が含まれるが、これらに限定されない。ヘテロアリールアルキル基は、６～２０個の炭素原子を含み、例えば、ヘテロアリールアルキル基のアルカニル、アルケニル、またはアルキニル基を含むアルキル部分は、１～６個の炭素原子である、ヘテロアリール部分が、５～１４個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子である。ヘテロアリールアルキル基のヘテロアリール部分は、３～７環員（２～６個の炭素原子）を有する単環、または７～１０環員（４～９個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子）を有する二環、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、または［６，６］系であり

得る。

【０１３９】

「置換アルキル」、「置換アリール」、及び「置換アリールアルキル」は、それぞれアルキル、アリール、及びアリールアルキルを意味し、１つ以上の水素原子は、それぞれ独立して置換基で置換される。典型的な置換基としては、－Ｘ、－Ｒ、－Ｏ$^{-}$、－ＯＲ、－ＳＲ、－Ｓ$^{-}$、－ＮＲ$_{2}$、－ＮＲ$_{3}$、＝ＮＲ、－ＣＸ$_{3}$、－ＣＮ、－ＯＣＮ、－ＳＣＮ、－Ｎ＝Ｃ＝Ｏ、－ＮＣＳ、－ＮＯ、－ＮＯ$_{2}$、＝Ｎ$_{2}$、－Ｎ$_{3}$、ＮＣ（＝Ｏ）Ｒ、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_{2}$、－ＳＯ$_{3}^{-}$、－ＳＯ$_{3}$Ｈ、－Ｓ（＝Ｏ）$_{2}$Ｒ、－ＯＳ（＝Ｏ）$_{2}$ＯＲ、－Ｓ（＝Ｏ）$_{2}$ＮＲ、－Ｓ（＝Ｏ）Ｒ、－ＯＰ（＝Ｏ）（ＯＲ）$_{2}$、－Ｐ（＝Ｏ）（ＯＲ）$_{2}$、－ＰＯ$^{-}_{3}$、－ＰＯ$_{3}$Ｈ$_{2}$、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ、－Ｃ（＝Ｏ）Ｘ、－Ｃ（＝Ｓ）Ｒ、－ＣＯ$_{2}$Ｒ、－ＣＯ$_{2}^{-}$、－Ｃ（＝Ｓ）ＯＲ、－Ｃ（＝Ｏ）ＳＲ、－Ｃ（＝Ｓ）ＳＲ、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_{2}$、－Ｃ（＝Ｓ）ＮＲ$_{2}$、－Ｃ（＝ＮＲ）ＮＲ$_{2}$が含まれるが、これらに限定されず、式中、各Ｘは独立して、ハロゲン、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、またはＩであり、各Ｒは独立して、－Ｈ、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{18}$アルキル、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{20}$アリール、Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{14}$複素環、保護基、またはプロドラッグ部分である。上述のアルキレン、アルケニレン、及びアルキニレン基もまた、同様に置換され得る。

【０１４０】

「ヘテロアリール」及び「複素環」は、１個以上の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、及び硫黄である環系を指す。複素環ラジカルは、３～２０個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む。複素環は、３～７環員（２～６個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子）を有する単環、または７～１０環員（４～９個の炭素原子、ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子）を有する二環、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、または［６，６］系であり得る。

【０１４１】

例示的な複素環は、例えば、Ｐａｑｕｅｔｔｅ，Ｌｅｏ Ａ.，"Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｍｏｄｅｒｎ Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ"（Ｗ. Ａ. Ｂｅｎｊａｍｉｎ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９６８）の特に第１章、第３章、第４章、第６章、第７章、及び第９章、"Ｔｈｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ，Ａ ｓｅｒｉｅｓ ｏｆ Ｍｏｎｏｇｒａｐｈｓ"（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９５０～現在）の特に第１３巻、第１４巻、第１６巻、第１９巻、及び第２８巻、ならびにＪ. Ａｍ. Ｃｈｅｍ. Ｓｏｃ.（１９６０）８２：５５６６に記載されている。

【０１４２】

例示的な複素環には、例として、ピリジル、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、チアゾリル、テトラヒドロチオフェニル、酸化硫黄テトラヒドロチオフェニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、テトラゾリル、ベンゾフラニル、チアナフタレニル、インドリル、インドレニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、ピペリジニル、４－ピペリドニル、ピロリジニル、２－ピロリドニル、ピロリニル、テトラヒドロフラニル、ビス－テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビス－テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、アゾシニル、トリアジニル、６Ｈ－１，２，５－チアジアジニル、２Ｈ，６Ｈ－１，５，２－ジチアジニル、チエニル、チアントレニル、ピラニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサンテニル、フェノキサンチニル、２Ｈ－ピロリル、イソチアゾリル、イソキゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、インドリジニル、イソインドリル、３Ｈ－インドリル、１Ｈ－インダゾリル、プリニル、４Ｈ－キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、プテリジニル、４ａＨ－カルバゾリル、カルバゾリル、β－カルボリニル、フェナントリジニル、アクリジニル、ピリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フラザニル、フェノキサジニル

、イソクロマニル、クロマニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピペラジニル、インドリニル、イソインドリニル、キヌクリジニル、モルホリニル、オキサゾリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイソキサゾリル、オキシンドリル、ベンゾキサゾリニル、及びイサチノイルが含まれるが、これらに限定されない。

【０１４３】

例えば、限定されないが、炭素結合した複素環は、ピリジンの２、３、４、５、若しくは６位、ピリダジンの３、４、５、若しくは６位、ピリミジンの２、４、５、若しくは６位、ピラジンの２、３、５、若しくは６位、フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフェン、ピロール、若しくはテトラヒドロピロールの２、３、４、若しくは５位、オキサゾール、イミダゾール、若しくはチアゾールの２、４、若しくは５位、イソキサゾール、ピラゾール、若しくはイソチアゾールの３、４、若しくは５位、アジリジンの２若しくは３位、アゼチジンの２、３、若しくは４位、キノリンの２、３、４、５、６、７、若しくは８位、またはイソキノリンの１、３、４、５、６、７、若しくは８位で結合される。さらにより典型的には、炭素結合した複素環としては、２－ピリジル、３－ピリジル、４－ピリジル、５－ピリジル、６－ピリジル、３－ピリダジニル、４－ピリダジニル、５－ピリダジニル、６－ピリダジニル、２－ピリミジニル、４－ピリミジニル、５－ピリミジニル、６－ピリミジニル、２－ピラジニル、３－ピラジニル、５－ピラジニル、６－ピラジニル、２－チアゾリル、４－チアゾリル、または５－チアゾリルが挙げられる。

【０１４４】

例えば、限定されないが、窒素結合した複素環は、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、２－ピロリン、３－ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、２－イミダゾリン、３－イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、２－ピラゾリン、３－ピラゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドール、インドリン、１Ｈ－インダゾールの１位、イソインドールまたはイソインドリンの２位、モルホリンの４位、及びカルバゾールまたはβ－カルボリンの９位で結合される。さらにより典型的には、窒素結合した複素環としては、１－アジリジル、１－アゼテジル、１－ピロリル、１－イミダゾリル、１－ピラゾリル、及び１－ピペリジニルが挙げられる。

【０１４５】

「C_3～C_8複素環」は、芳香族または非芳香族C_3～C_8炭素環を指し、環炭素原子のうちの１～４個が独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮからなる群からのヘテロ原子で置換される。C_3～C_8複素環の代表例としては、ベンゾフラニル、ベンゾチオフェン、インドリル、ベンゾピラゾリル、クマリニル、イソキノリニル、ピロリル、チオフェニル、フラニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、キノリニル、ピリミジニル、ピリジニル、ピリドニル、ピラジニル、ピリダジニル、イソチアゾリル、イソキサゾリル、及びテトラゾリルが含まれるが、これらに限定されない。C_3～C_8複素環は、非置換であり得るか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_2$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大７つの基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、及びアリールから選択される。

【０１４６】

「C_3～C_8ヘテロシクロ」は、上で定義されるC_3～C_8複素環基を指し、この複素環基の水素原子のうちの１個が結合で置換される。C_3～C_8ヘテロシクロは、非置換であり得るか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_2$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大６つの基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、及びアリールから選択される。

【０１４７】
「Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{20}$複素環」は、芳香族または非芳香族Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{8}$炭素環を指し、環炭素原子のうちの１～４個独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮからなる群からのヘテロ原子で置換される。Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{20}$複素環は、非置換であり得るか、または－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_{2}$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_{3}$、－ＮＨ$_{2}$、－ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_{2}$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大７つの基で置換され得、式中、各Ｒ′が独立して、Ｈ、－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、及びアリールから選択される。
【０１４８】
「Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{20}$ヘテロシクロ」は、上で定義されるＣ$_{3}$～Ｃ$_{20}$複素環基を指し、この複素環基の水素原子のうちの１個が結合で置換される。
【０１４９】
「炭素環」は、単環として３～７個の炭素原子、または二環として７～１２個の炭素原子を有する飽和または不飽和環を意味する。単環式炭素環は、３～６個の環原子、さらにより典型的には５または６個の環原子を有する。二環式炭素環は、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、若しくは［６，６］系として配列された７～１２個の環原子、またはビシクロ［５，６］または［６，６］系として配列された９または１０個の環原子を有する。単環式炭素環の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、１－シクロペント－１－エニル、１－シクロペント－２－エニル、１－シクロペント－３－エニル、シクロヘキシル、１－シクロヘキシ－１－エニル、１－シクロヘキシ－２－エニル、１－シクロヘキシ－３－エニル、シクロヘプチル、及びシクロオクチルが挙げられる。
【０１５０】
「Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{8}$炭素環」は、３員、４員、５員、６員、７員、または８員の飽和または不飽和非芳香族炭素環式環である。代表的なＣ$_{3}$～Ｃ$_{8}$炭素環としては、－シクロプロピル、－シクロブチル、－シクロペンチル、－シクロペンタジエニル、－シクロヘキシル、－シクロヘキセニル、－１，３－シクロヘキサジエニル、－１，４－シクロヘキサジエニル、－シクロヘプチル、－１，３－シクロヘプタジエニル、－１，３，５－シクロヘプタトリエニル、－シクロオクチル、及び－シクロオクタジエニルが含まれるが、これらに限定されない。Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{8}$炭素環基は、非置換であり得るか、または－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ′、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ′、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）$_{2}$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｒ′、－Ｓ（Ｏ）Ｒ′、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_{3}$、－ＮＨ$_{2}$、－ＮＨ（Ｒ′）、－Ｎ（Ｒ′）$_{2}$、及び－ＣＮを含むが、これらに限定されない１つ以上の基で置換され得、式中、各Ｒ′は独立して、Ｈ、－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル、及びアリールから選択される。
【０１５１】
「Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{8}$ヘテロシクロ」は、上で定義されるＣ$_{3}$～Ｃ$_{8}$炭素環基を指し、この炭素環基の水素原子のうちの１個が結合で置換される。
【０１５２】
「リンカー」は、共有結合、または抗体を薬物部分に共有結合させる原子の鎖を含む、化学部分を指す。様々な実施形態において、リンカーは、二価ラジカル、例えば、アルキルジイル、アリールジイル、ヘテロアリールジイル、－（ＣＲ$_{2}$）$_{n}$Ｏ（ＣＲ$_{2}$）$_{n}$－、アルキルオキシ（例えば、ポリエチレンオキシ、ＰＥＧ、ポリメチレンオキシ）、及びアルキルアミン（例えば、ポリエチレンアミノ、Ｊｅｆｆａｍｉｎｅ（商標））の反復単位、ならびにコハク酸塩、スクシンアミド、ジグリコール酸塩、マロン酸塩、及びカプロアミドを含む二酸エステル及びアミド等の部分を含む。様々な実施形態において、リンカーは、１つ以上のアミノ酸残基、例えば、バリン、フェニルアラニン、リシン、及びホモリ

シンを含み得る。

【０１５３】

「キラル」という用語は、鏡像パートナーの重ね合せできない（ｎｏｎ－ｓｕｐｅｒｉｍｐｏｓａｂｉｌｉｔｙ）特性を有する分子を指し、一方で「アキラル」という用語は、それらの鏡像パートナーと重ね合せできる（ｓｕｐｅｒｉｍｐｏｓａｂｉｌｉｔｙ）分子を指す。

【０１５４】

「立体異性体」という用語は、同一の化学構成を有するが、空間内の原子または基の配置に関して異なる、化合物を指す。

【０１５５】

「ジアステレオマー」は、２つ以上のキラル性の中心を有し、それらの分子が互いの鏡像でない、立体異性体を指す。ジアステレオマーは、異なる物理特性、例えば、融点、沸点、スペクトル特性、及び反応性を有する。ジアステレオマーの混合物は、電気泳動法及びクロマトグラフィー等の高分解能分析手順の下で分離されてもよい。

【０１５６】

「鏡像異性体」は、互いに重ね合せできない鏡像である、化合物の２つの立体異性体を指す。

【０１５７】

本明細書で使用される立体化学的な定義及び慣例は、一般に、Ｓ．Ｐ．Ｐａｒｋｅｒ，Ｅｄ．，ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｔｅｒｍｓ（１９８４）ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｂｏｏｋ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、及びＥｌｉｅｌ，Ｅ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｎ，Ｓ．，Ｓｔｅｒｅｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ（１９９４）Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋに従う。多くの有機化合物は、光学活性形態で存在し、すなわち、それらは、平面偏光の平面を回転させる能力を有する。光学活性化合物を説明する際、接頭辞Ｄ及びＬ、またはＲ及びＳは、そのキラル中心（複数可）の周りの分子の絶対配置を表すように使用される。接頭辞ｄ及びｌまたは（＋）及び（－）は、化合物による平面偏光の回転の徴候を表記するために用いられ、このうち（－）またはｌは、化合物が左旋性であることを意味する。（＋）またはｄの接頭辞を有する化合物は、右旋性である。所与の化学構造について、これらの立体異性体は、それらが互いの鏡像であることを除いて同一である。特定の立体異性体はまた、鏡像異性体とも称され得、かかる異性体の混合物は、しばしば鏡像異性体混合物と呼ばれる。鏡像異性体の５０：５０混合物は、ラセミ混合物またはラセミ体と称され、それらは、化学反応またはプロセスにおいて立体選択または立体特異性が存在していない場合に生じ得る。「ラセミ混合物」及び「ラセミ体」という用語は、光学活性を欠く２つの鏡像異性体種の等モル混合物を指す。

【０１５８】

「脱離基」は、別の官能基によって置換され得る官能基を指す。ある特定の脱離基は、当該技術分野で周知であり、例としては、ハロゲン化物（例えば、塩化物、臭化物、ヨウ化物）、メタンスルホニル（メシル）、ｐ－トルエンスルホニル（トシル）、トリフルオロメチルスルホニル（トリフル酸塩）、及びトリフルオロメチルスルホン酸塩が含まれるが、これらに限定されない。

【０１５９】

「保護基」という用語は、特定の官能性を、化合物上の他の官能基を反応させながら、ブロッキングするまたは保護するために一般的に用いられる置換基を指す。例えば、「アミノ保護基」は、化合物中のアミノ官能性をブロッキングするまたは保護する、アミノ基に結合した置換基である。好適なアミノ保護基には、アセチル、トリフルオロアセチル、ｔ－ブトキシカルボニル（ＢＯＣ）、ベンジルオキシカルボニル（ＣＢＺ）、及び９－フルオレニルメチレンオキシカルボニル（ｆｌｕｏｒｅｎｙｌｍｅｔｈｙｌｅｎｏｘｙｃａｒｂｏｎｙｌ）（Ｆｍｏｃ）が含まれるが、これらに限定されない。保護基の一般的な説

明及びそれらの使用については、Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９１、またはより新しい版を参照されたい。

【０１６０】

ＩＩ．組成物及び方法

一態様において、本発明は、部分的に、ＨＥＲ２に結合する抗体及びかかる抗体を含む免疫複合体に基づく。本発明の抗体及び免疫複合体は、例えば、ＨＥＲ２陽性癌の診断または治療に有用である。

【０１６１】

Ａ．例示的な抗ＨＥＲ２抗体

本明細書において、ＨＥＲ２のドメインＩに結合する単離抗体が提供される。いくつかの実施形態において、抗体は、ＨＥＲ２へのトラスツズマブ及び／またはペルツズマブ結合を干渉しない。いくつかの実施形態において、抗体は、ＨＥＲ２へのトラスツズマブ結合を干渉せず、かつ／またはＨＥＲ２へのペルツズマブ結合を干渉しない。本明細書に記載される実施形態のいずれかにおいて、抗体は、モノクローナル抗体であってもよい。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体であってもよい。

【０１６２】

例示的な天然に存在するヒトＨＥＲ２前駆体タンパク質配列は、シグナル配列（アミノ酸１～２２）と共に、配列番号１に提供され、対応する成熟ＨＥＲ２タンパク質配列は、配列番号１のアミノ酸２３～１２５５に対応する。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２のドメインＩは、配列番号３５のアミノ酸配列を有し、ドメインＩＩは、配列番号３６のアミノ酸配列を有し、ドメインＩＩＩは、配列番号３７のアミノ酸配列を有し、ドメインＩＶは、配列番号３８のアミノ酸配列を有する（図１６を参照されたい）。

【０１６３】

抗体ｈｕ７Ｃ２及び他の実施形態

いくつかの実施形態において、本発明は、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１、２、３、４、５、または６つのＨＶＲを含む、抗ＨＥＲ２抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む抗ＨＥＲ２抗体と、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｃ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｄ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｅ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１、２、３、４、または５つのＨＶＲを含む、抗ＨＥＲ２抗体と、を提供する。

【０１６４】

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または３つ全てのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。一実施形態において、本抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。別の実施形態において、本抗体は、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３及び配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、及び配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６のアミ

ノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１６５】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または３つ全てのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１６６】

別の態様において、本発明の抗体は、（ａ）（ｉ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び（ｉｉｉ）配列番号１７から選択されるアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含むＶＨドメイン、ならびに（ｂ）（ｉ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含むＶＬドメイン、ならびに（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１６７】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む抗体を提供する。

【０１６８】

上の実施形態のいずれにおいても、抗ＨＥＲ２抗体は、ヒト化されている。一実施形態において、抗ＨＥＲ２抗体は、上の実施形態のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。ある特定の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、ヒトＶＬカッパＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）フレームワーク及び／またはＶＨフレームワークVH_1である。ある特定の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、本明細書に記載される突然変異のうちのいずれか１つを含む、ヒトＶＬカッパＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）フレームワーク及び／またはＶＨフレームワークVH_1である。

【０１６９】

別の態様において、抗ＨＥＲ２抗体は、配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。ある特定の実施形態において、配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するＶＨ配列は、参照配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＨＥＲ２抗体は、ＨＥＲ２に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、合計１～１０個のアミノ酸が、配列番号１１内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１１内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意に、抗ＨＥＲ２抗体は、配列番号１１のＶＨ配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番

号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される１、２、または３つのＨＶＲを含む。

【０１７０】

別の態様において、抗ＨＥＲ２抗体が提供され、該抗体は、配列番号１０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。ある特定の実施形態において、配列番号１０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するＶＬ配列は、参照配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＨＥＲ２抗体は、ＨＥＲ２に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、合計１～１０個のアミノ酸が、配列番号１０内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１０内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意に、抗ＨＥＲ２抗体は、配列番号１０のＶＬ配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態において、ＶＬは、（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１７１】

別の態様において、抗ＨＥＲ２抗体が提供され、この抗体は、上述の実施形態のいずれかにあるようなＶＨ、及び上述の実施形態のいずれかにあるようなＶＬを含む。

【０１７２】

一実施形態において、本抗体は、配列番号１１及び配列番号１０それぞれのＶＨ及びＶＬ配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。

【０１７３】

さらなる態様において、本明細書において、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。例えば、ある特定の実施形態において、配列番号１１のＶＨ配列及び配列番号１０のＶＬ配列をそれぞれ含む抗ＨＥＲ２抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。

【０１７４】

別の態様において、抗ＨＥＲ２抗体は、配列番号１９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する重鎖配列を含む。ある特定の実施形態において、配列番号１９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する重鎖配列は、参照配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＨＥＲ２抗体は、ＨＥＲ２に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、合計１～１０個のアミノ酸が、配列番号１９内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１９内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意に、抗ＨＥＲ２抗体は、配列番号１９の重鎖配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態において、重鎖は、（ａ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、１、２、または３つのＨＶＲを含む。

【０１７５】

別の態様において、抗ＨＥＲ２抗体はが提供され、この抗体は、配列番号１８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する軽鎖配列を含む。ある特

定の実施形態において、配列番号１８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する軽鎖配列は、参照配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＨＥＲ２抗体は、ＨＥＲ２に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、合計１～１０個のアミノ酸が、配列番号１８内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１８内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意に、抗ＨＥＲ２抗体は、配列番号１８の軽鎖配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態において、軽鎖は、（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１、２、または３つのＨＶＲを含む。

【０１７６】

別の態様において、抗ＨＥＲ２抗体が提供され、この抗体は、上述の実施形態のいずれかにあるような重鎖、及び上述の実施形態のいずれかにあるような軽鎖を含む。

【０１７７】

一実施形態において、本抗体は、配列番号１９及び配列番号１８それぞれの重鎖及び軽鎖配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。

【０１７８】

さらなる態様において、本明細書において、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。例えば、ある特定の実施形態において、配列番号１９の重鎖配列及び配列番号１８の軽鎖配列をそれぞれ含む抗ＨＥＲ２抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。

【０１７９】

本明細書において、図１に示されるＫａｂａｔ付番に従うＨＶＲ１－ＬＣ、ＨＶＲ２－ＬＣ、及びＨＶＲ３－ＬＣ配列を含む軽鎖可変ドメインと、図２に示されるＫａｂａｔ付番に従うＨＶＲ１－ＨＣ、ＨＶＲ２－ＨＣ、及びＨＶＲ３－ＨＣ配列を含む重鎖可変ドメインと、を含む抗体が提供される。いくつかの実施形態において、本抗体は、図１に示されるＨＶＲ１－ＬＣ、ＨＶＲ２－ＬＣ、及び／またはＨＶＲ３－ＬＣ配列、ならびにＦＲ１－ＬＣ、ＦＲ２－ＬＣ、ＦＲ３－ＬＣ、及び／またはＦＲ４－ＬＣ配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、図２に示されるＨＶＲ１－ＨＣ、ＨＶＲ２－ＨＣ、及び／またはＨＶＲ３－ＨＣ配列、ならびにＦＲ１－ＨＣ、ＦＲ２－ＨＣ、ＦＲ３－ＨＣ、及び／またはＦＲ４－ＨＣ配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１８０】

本発明のさらなる態様において、上記実施形態のいずれかによる抗ＨＥＲ２抗体は、ヒト抗体を含むモノクローナル抗体である。一実施形態において、抗ＨＥＲ２抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、ダイアボディ、またはＦ（ａｂ’）$_2$断片である。別の実施形態において、本抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるＩｇＧ１抗体、ＩｇＧ２ａ抗体、または他の抗体クラス若しくはアイソタイプである。

【０１８１】

さらなる態様において、上記実施形態のいずれかによる抗ＨＥＲ２抗体は、以下に記載される特長のうちのいずれかを、単独でまたは組み合わせて組み込むことができる。

【０１８２】

１．抗体親和性

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、５０ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、５ｎｍ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下、または０．００１ｎＭ以下の解離定数（Ｋｄ）を有し、任意選択で10^{-13}Ｍ以下である（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-}

^{9}Ｍ～１０$^{-13}$Ｍ）。

【０１８３】

一実施形態において、Ｋｄは、目的の抗体のＦａｂバージョン及びその抗原と共に行われる、放射標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）によって、次のアッセイで説明されるように測定される。抗原に対するＦａｂの溶液結合親和性は、Ｆａｂを、未標識抗原の一連の滴定の存在下で、最小濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原と平衡化し、次いで抗Ｆａｂ抗体コーティングプレートと結合した抗原を捕捉することによって、測定される（例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するために、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、５μｇ／ｍＬの捕捉抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ　Ｌａｂｓ）含有５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）で一晩コーティングし、その後、２％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミン含有ＰＢＳにより、室温（およそ２３℃）で２～５時間ブロッキングする。非吸着性のプレート（Ｎｕｎｃ番号２６９６２０）中で、１００ｐＭまたは２６ｐＭ［^{125}Ｉ］－抗原を、目的のＦａｂの段階希釈液と混合する（例えば、Ｐｒｅｓｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９（１９９７）におけ抗ＶＥＧＦ抗体Ｆａｂ－１２の評価と一貫する）。目的のＦａｂを次いで一晩インキュベートするが、確実に平衡に到達するように、インキュベーションはより長い期間（例えば、約６５時間）継続してもよい。その後、混合物を、室温での（例えば、１時間にわたる）インキュベーションのために、捕捉プレートに移す。次いで溶液を除去し、プレートを、０．１％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））含有ＰＢＳで８回洗浄する。プレートが乾燥したとき、１５０μＬ／ウェルのシンチラント（ｓｃｉｎｔｉｌｌａｎｔ）（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）、Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、プレートをＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）γ計数器（Ｐａｃｋａｒｄ）により１０分間計数する。最大結合の２０％以下をもたらす各Ｆａｂの濃度を、競合結合アッセイにおいて使用するために選定する。

【０１８４】

別の実施形態によれば、Ｋｄは、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用した表面プラズモン共鳴アッセイを使用して、２５℃で、約１０応答単位（ＲＵ）で固定化された抗原ＣＭ５チップを用いて測定される。簡潔に述べると、供給業者の指示に従って、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ（ＣＭ５、ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）及びＮ－ヒドロキシコハク酸イミド（ＮＨＳ）により活性化する。抗原を１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ４．８）で５μｇ／ｍＬ（約０．２μＭ）まで希釈した後、５μＬ／分の流速で注入して、カップリングされたタンパク質のおよそ１０応答単位（ＲＵ）を達成する。抗原の注入後、１Ｍのエタノールアミンを注入して、未反応の基をブロッキングする。動態測定のために、Ｆａｂの２倍段階希釈液（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）を、０．０５％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））界面活性剤を含むＰＢＳ（ＰＢＳＴ）中に、２５℃で、およそ２５μＬ／分の流速で注入する。会合速度（ｋｏｎ）及び解離速度（ｋｏｆｆ）を、単純な１対１Ｌａｎｇｍｕｉｒ結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ第３．２版）を使用して、会合センサグラム及び解離センサグラムを同時に適合することによって、算出する。平衡解離定数（Ｋｄ）は、比率ｋｏｆｆ／ｋｏｎとして算出する。例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい。オン速度が、上記表面プラズモン共鳴アッセイによって、10^{6} Ｍ$^{-1}$ ｓ$^{-1}$を超える場合、オン速度は、撹拌キュベットを備えるストップトフロー装着分光光度計（Ａｖｉｖ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または８０００－シリーズＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）等の分光計において測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、２５℃で、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中２０ｎＭ抗－抗原抗体（Ｆａｂ型）の蛍光発光強度（励起＝２９５ｎｍ、発光＝３４０ｎｍ、１６ｎ

m帯域通過）の増加または減少を測定する、蛍光消光技法を使用することによって、決定することができる。

【０１８５】

２．抗体断片

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、及びｓｃＦｖ断片、ならびに以下に記載される他の断片が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）を参照されたい。ｓｃＦｖ断片の概説については、例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，ｉｎ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ），ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照されたく、また、ＷＯ９３／１６１８５号、ならびに米国特許第５，５７１，８９４号及び同第５，５８７，４５８号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、ｉｎ　ｖｉｖｏ半減期が増加した、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$断片の考察については、米国特許第５，８６９，０４６号を参照されたい。

【０１８６】

ダイアボディは、二価性または二重特異性であり得る、２つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第４０４，０９７号、ＷＯ１９９３／０１１６１号、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）、及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４－６４４８（１９９３）を参照されたい。トリアボディ（Ｔｒｉａｂｏｄｉｅｓ）及びテトラボディ（ｔｅｔｒａｂｏｄｉｅｓ）もまた、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）に記載される。

【０１８７】

単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て若しくは一部分、または軽鎖可変ドメインの全て若しくは一部分を含む、抗体断片である。ある特定の実施形態において、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ、例えば、米国特許第６，２４８，５１６Ｂ１号を参照されたい）。

【０１８８】

抗体断片は、本明細書に記載される、インタクトな抗体のタンパク質分解消化、及び組み換え宿主細胞（例えば、大腸菌またはファージ）による産生を含むが、これらに限定されない、種々の技法によって作製することができる。

【０１８９】

３．キメラ及びヒト化抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号、及びＭｏｒｒｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５（１９８４））に記載される。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサル等の非ヒト霊長類に由来する可変領域）、及びヒト定常領域を含む。さらなる実施例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更された、「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、それらの抗原結合断片が含まれる。

【０１９０】

ある特定の実施形態において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、ＨＶＲ、例えば、ＣＤＲ（またはそれらの部分）が非ヒト抗体に由来し、かつＦＲ（またはそれらの部分）がヒト抗体配列に由来する、１つ以上の可変ドメインを含む。また、ヒト化抗体は任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体におけるいくつかのＦ

Ｒ残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元するまたは改善するために、非ヒト抗体（例えば、ＨＶＲ残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

【０１９１】

ヒト化抗体及びそれらを作製する方法は、例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）に概説され、また例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９－１００３３（１９８９）、米国特許第５，８２１，３３７号、同第７，５２７，７９１号、同第６，９８２，３２１号、及び同第７，０８７，４０９号、Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５－３４（２００５）（ＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）移植について説明する）、Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９－４９８（１９９１）（「リサーフェシング（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）」について説明する）、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３－６０（２００５）（「ＦＲシャフリング」について説明する）、ならびにＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１－６８（２００５）、及びＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２－２６０（２０００）（ＦＲシャフリングへの「誘導選択（ｇｕｉｄｅｄ ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ）」アプローチについて説明する）についてさらに概説される。

【０１９２】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域には、「最良適合（ｂｅｓｔ－ｆｉｔ）」法を使用して選択されるフレームワーク領域（例えば、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）を参照されたい）、軽鎖または重鎖可変領域の特定の下位集団のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）、及びＰｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）を参照されたい）、ヒト成熟（体細胞突然変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞株フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）を参照されたい）、ならびにＦＲライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：１０６７８－１０６８４（１９９７）及びＲｏｓｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７１：２２６１１－２２６１８（１９９６）を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。

【０１９３】

４．ヒト抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において既知の種々の技法を使用して生成され得る。ヒト抗体は、一般に、ｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５：３６８－７４（２００１）及びＬｏｎｂｅｒｇ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０：４５０－４５９（２００８）に記載される。

【０１９４】

ヒト抗体は、免疫原を、抗原投与に応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を含むインタクトな抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に投与することによって、調製されてもよい。かかる動物は典型的に、内因性免役グロブリン遺伝子座を置き換えるか、または染色体外に存在するか、または動物の染色体中に無作為に組み込まれる、ヒト免役グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内因性免役グロブリン遺伝子座は一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３：１１１７－１１２５（２００５）を参照されたい。また、米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号（ＸＥＮＯＭ

ＯＵＳＥ（商標）技術について説明する）、米国特許第５，７７０，４２９号（ＨｕＭａｂ（登録商標）技術について説明する）、米国特許第７，０４１，８７０号（Ｋ－Ｍ ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について説明する）、ならびに米国特許出願公開第２００７／００６１９００号（ＶｅｌｏｃｉＭｏｕｓｅ（登録商標）技術について説明する）を参照されたい。かかる動物によって生成されるインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに修飾されてもよい。

【０１９５】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫細胞株及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株が記載されている。（例えば、Ｋｏｚｂｏｒ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）、Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７）、及びＢｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：８６（１９９１）を参照されたい）。ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体もまた、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２（２００６）に記載される。Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２（２００６）に記載される。追加の方法には、例えば、米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトＩｇＭ抗体の産生について説明する）、及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５－２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマについて説明する）に記載されるものが含まれる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ（Ｔｒｉｏｍａ）技術）はまた、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）：９２７－９３７－２００５及びＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５：９１－２００５にも記載される。

【０１９６】

ヒト抗体はまた、ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されるＦｖクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成されてもよい。かかる可変ドメイン配列は、所望のヒト定常ドメインと組み合わされてもよい。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法が、以下に記載される。

【０１９７】

５．ライブラリ由来抗体

本発明の抗体は、コンビナトリアルライブラリを、所望の活性（単数または複数）を有する抗体についてスクリーニングすることによって、単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、かかるライブラリを、所望の結合特性を保有する抗体についてスクリーニングするための、多様な方法が当該技術分野で知られている。かかる方法は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００１）に概説され、またさらに、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９２）、Ｍａｒｋｓ ａｎｄ Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１６１－１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３）、Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０（２００４）、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３（２００４）、Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４

６７－１２４７２（２００４）、及びＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２（２００４）に記載される。

【０１９８】

ある特定のファージディスプレイ法において、ＶＨ及びＶＬ遺伝子のレパートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって別個にクローニングされ、ファージライブラリ中で無作為に組み換えられ、それを次いで、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１２：４３３－４５５（１９９４）に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは典型的に、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片としてまたはＦａｂ断片としてのいずれかで、抗体断片を提示する。免疫された源のライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。代替的に、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ，１２：７２５－７３４（１９９３）によって記載されるように、ナイーブレパートリーをクローニングして（例えば、ヒトから）、いかなる免疫化も伴わずに、広範な非自己抗原また自己抗原に対する抗体の単一の源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリはまた、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１－３８８（１９９２）に記載されるように、幹細胞からの再配列されていないＶ遺伝子セグメントをクローニングし、無作為配列を含有するＰＣＲプライマーを使用して高度可変ＣＤＲ３領域をコードし、かつｉｎ ｖｉｔｒｏで再配列を達成することによって、合成的に作製することができる。ヒト抗体ファージライブラリについて説明する特許公開には、例えば、米国特許第５，７５０，３７３号、ならびに米国特許第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号、及び同第２００９／０００２３６０号が含まれる。

【０１９９】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書でヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【０２００】

６．多重特異性抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも２つの異なる部位に対する結合特異性を有する、モノクローナル抗体である。ある特定の実施形態において、結合特異性のうちの一方は、ＨＥＲ２に対するものであり、他方は、任意の他の抗原に対するものである。ある特定の実施形態において、結合特異性のうちの一方は、ＨＥＲ２に対するものであり、他方は、ＣＤ３に対するものである。例えば、米国特許第５，８２１，３３７号を参照されたい。ある特定の実施形態において、二重特異性抗体は、ＨＥＲ２の２つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体をまた使用して、細胞傷害性薬剤を、ＨＥＲ２を発現する細胞に限局させてもよい。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製することができる。

【０２０１】

多重特異性抗体を作製するための技法には、異なる特異性を有する２つの免役グロブリン重鎖－軽鎖対の組み換え共発現（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ ３０５：５３７（１９８３））、ＷＯ９３／０８８２９、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：３６５５（１９９１）を参照されたい）、及び「ノブ・イン・ホール（ｋｎｏｂ－ｉｎ－ｈｏｌｅ）」操作（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。本明細書で使用される「ノブ・イン・ホール」または「ＫｎＨ」技術という用語は、突起（ノブ）を１つのポリペプチドに、かつ空洞（ホール）を他のポリペプチドに、それらが相互作用する界面で導入することによって、２つのポリペプチドをｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏで一緒に対合することを導く技術を指す。例えば、ＫｎＨは、抗体のＦｃ：Ｆｃ結合

界面、ＣＬ：ＣＨ１界面、またはＶＨ／ＶＬ界面に導入されている（例えば、ＵＳ２０１１／０２８７００９、ＵＳ２００７／０１７８５５２、ＷＯ９６／０２７０１１、ＷＯ９８／０５０４３１、Ｚｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　６：７８１－７８８、及びＷＯ２０１２／１０６５８７を参照されたい）。いくつかの実施形態において、ＫｎＨは、多重特異性抗体の製造中に２つの異なる重鎖を一緒に対合させる。例えば、Ｆｃ領域内にＫｎＨを有する多重特異性抗体は、各Ｆｃ領域に結合された単一可変ドメインをさらに含み得るか、または同様の若しくは異なる軽鎖可変ドメインと対合する異なる重鎖可変ドメインをさらに含み得る。ＫｎＨ技術を使用して、２つの異なる受容体細胞外ドメインを一緒に、または異なる標的認識配列を含む（例えば、アフィボディ（ａｆｆｉｂｏｄｙ）、ペプチボディ（ｐｅｐｔｉｂｏｄｙ）、及び他のＦｃ融合を含む）、任意の他のポリペプチド配列を対合することもできる。

【０２０２】

本明細書で使用される「ノブ突然変異」という用語は、ポリペプチドが別のポリペプチドと相互作用する界面において、突起（ノブ）をポリペプチドに導入する突然変異を指す。いくつかの実施形態において、他のポリペプチドには、ホール突然変異を有する。

【０２０３】

本明細書で使用される「ホール突然変異」という用語は、ポリペプチドが別のポリペプチドと相互作用する界面において、空洞（ホール）をポリペプチドに導入する突然変異を指す。いくつかの実施形態において、他のポリペプチドは、ノブ突然変異を有する。

【０２０４】

簡単な非限定的論考が以下に提供される。

【０２０５】

「突起」は、第１のポリペプチドの界面からから突出し、したがってヘテロ多量体を安定化させるように、隣接した界面（すなわち、第２のポリペプチドの界面）における代償性空洞内に位置付け可能であり、それにより例えば、ホモ多量体形成よりもヘテロ多量体形成が有利になる、少なくとも１つのアミノ酸側鎖を指す。突起は、元の界面に存在し得るか、または合成的に（例えば、界面をコードする核酸を変更することによって）導入され得る。いくつかの実施形態において、第１のポリペプチドの界面をコードする核酸は、突起をコードするように変更される。これを達成するために、第１のポリペプチドの界面内の少なくとも１つの「元の」アミノ酸残基をコードする核酸は、元のアミノ酸残基よりも大きい側鎖体積を有する少なくとも１つの「インポート」アミノ酸残基をコードする核酸で置換される。複数の元の残基及び対応するインポート残基が存在し得ることが理解されるであろう。様々なアミノ残基の側鎖体積は、例えば、ＵＳ２０１１／０２８７００９の表１に示される。「突起」を導入する突然変異は、「ノブ突然変異」と称され得る。

【０２０６】

いくつかの実施形態において、突起の形成のためのインポート残基は、アルギニン（Ｒ）、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、及びトリプトファン（Ｗ）から選択される、天然に存在するアミノ酸残基である。いくつかの実施形態において、インポート残基は、トリプトファンまたはチロシンである。いくつかの実施形態において、突起の形成のための元の残基は、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、トレオニン、またはバリン等の小さい側鎖体積を有する。

【０２０７】

「空洞」は、第２のポリペプチドの界面から陥没する少なくとも１つのアミノ酸側鎖を指し、したがって、第１のポリペプチドの隣接界面上の対応する突起を収容する。空洞は、元の界面に存在し得るか、または合成的に（例えば、界面をコードする核酸を変更することによって）導入され得る。いくつかの実施形態において、第２のポリペプチドの界面をコードする核酸は、空洞をコードするように変更される。これを達成するために、第２のポリペプチドの界面内の少なくとも１つの「元の」アミノ酸残基をコードする核酸は、元のアミノ酸残基よりも小さい側鎖体積を有する少なくとも１つの「インポート」アミノ酸残基をコードするＤＮＡで置換される。複数の元の残基及び対応するインポート残基が

存在し得ることが理解されるであろう。いくつかの実施形態において、空洞の形成のためのインポート残基は、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、及びバリン（Ｖ）から選択される、天然に存在するアミノ酸残基である。いくつかの実施形態において、インポート残基は、セリン、アラニン、またはトレオニンである。いくつかの実施形態において、空洞の形成のための元の残基は、チロシン、アルギニン、フェニルアラニン、またはトリプトファン等の大きい側鎖体積を有する。「空洞」を導入する突然変異は、「ホール突然変異」と称され得る。

【０２０８】

突起が空洞内で「位置付け可能」であることは、第１のポリペプチド及び第２のポリペプチドそれぞれの界面上の突起及び空洞の空間位置、ならびに突起及び空洞のサイズが、界面における第１及び第２のポリペプチドの正常な会合を著しく妨害することなく突起が空洞内に位置し得るようなものであることを意味する。Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、及びＴｒｐ等の突起は、典型的に界面の軸から垂直に延出せず、好ましい構造を有さず、対応する空洞を有する突起のアラインメントは、場合によっては、Ｘ線結晶学または核磁気共鳴（ＮＭＲ）によって得られるもの等の３次元構造に基づいて、突起／空洞の対をモデル化することに依存する。これは、当該技術分野において広く許容される技法を使用して達成され得る。

【０２０９】

いくつかの実施形態において、ＩｇＧ１定常領域内のノブ突然変異は、Ｔ３６６Ｗ（ＥＵ付番）である。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ１定常領域内のホール突然変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ（ＥＵ付番）から選択される１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ１定常領域内のホール突然変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ（ＥＵ付番）を含む。

【０２１０】

いくつかの実施形態において、ＩｇＧ４定常領域内のノブ突然変異は、Ｔ３６６Ｗ（ＥＵ付番）である。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ４定常領域内のホール突然変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ（ＥＵ付番）から選択される１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ４定常領域内のホール突然変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ（ＥＵ付番）を含む。

【０２１１】

多重特異性抗体はまた、静電的ステアリング（ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃ ｓｔｅｅｒｉｎｇ）効果を操作して抗体Ｆｃ－ヘテロ二量体分子を作製すること（ＷＯ２００９／０８９００４Ａ１）、２つ以上の抗体または断片を架橋すること（例えば、米国特許第４，６７６，９８０号、及びＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）を参照されたい）、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること（例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）を参照されたい）、「ダイアボディ」技術を使用して二重特異性抗体断片を作製すること（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）を参照されたい）、及び単鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体を使用すること（例えば、Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５２：５３６８（１９９４）を参照されたい）、ならびに例えば、Ｔｕｔｔ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）に記載される三重特異性抗体を調製することによって、作製されてもよい。

【０２１２】

「オクトパス（Ｏｃｔｏｐｕｓ）抗体」を含む、３つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体もまた、本明細書に含まれる（例えば、ＵＳ２００６／００２５５７６Ａ１を参照されたい）。

【０２１３】

本明細書における抗体または断片にはまた、ＨＥＲ２及び別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用（Ｄｕａｌ Ａｃｔｉｎｇ）ＦＡｂ」または「ＤＡＦ」が

含まれる（例えば、ＵＳ２００８／００６９８２０を参照されたい）。

【０２１４】

７．抗体変異形

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異形が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変異形は、適切な修飾を、抗体をコードするヌクレオチド配列中に導入することによって、またはペプチド合成によって、調製されてもよい。かかる修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの残基の欠失、及び／またはそこへの残基の挿入、及び／または抗体のアミノ酸配列内での残基の置換が含まれる。欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを作製して、最終構築物に到達することができるが、但し、その最終構築物が、所望の特性、例えば、抗原結合性を保有することを条件とする。

【０２１５】

ａ）置換、挿入、及び欠失変異形

ある特定の実施形態において、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異形が提供される。置換型突然変異生成に対する目的の部位には、ＨＶＲ及びＦＲが含まれる。保存的置換は、表１において、「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化は、表１において、「例示的な置換」の見出しの下に提供され、またアミノ酸側鎖クラスを参照して以下でさらに説明される。アミノ酸置換が目的の抗体中に導入され、生成物が、所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の低下、またはＡＤＣＣ若しくはＣＤＣの改善についてスクリーニングされてもよい。

表１

元の 残基	例示的な 置換	好ましい 置換
Ａｌａ（A）	Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ	Ｖａｌ
Ａｒｇ（R）	Ｌｙｓ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ	Ｌｙｓ
Ａｓｎ（N）	Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ａｓｐ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ	Ｇｌｎ
Ａｓｐ（D）	Ｇｌｕ、Ａｓｎ	Ｇｌｕ
Ｃｙｓ（C）	Ｓｅｒ、Ａｌａ	Ｓｅｒ
Ｇｌｎ（Q）	Ａｓｎ、Ｇｌｕ	Ａｓｎ
Ｇｌｕ（E）	Ａｓｐ、Ｇｌｎ	Ａｓｐ
Ｇｌｙ（G）	Ａｌａ	Ａｌａ
Ｈｉｓ（H）	Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ	Ａｒｇ
Ｉｌｅ（I）	Ｌｅｕ、Ｖａｌ、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｐｈｅ、ノルロイシン	Ｌｅｕ
Ｌｅｕ（L）	ノルロイシン、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｐｈｅ	Ｉｌｅ
Ｌｙｓ（K）	Ａｒｇ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ	Ａｒｇ
Ｍｅｔ（M）	Ｌｅｕ、Ｐｈｅ、Ｉｌｅ	Ｌｅｕ
Ｐｈｅ（F）	Ｔｒｐ、Ｌｅｕ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ａｌａ、Ｔｙｒ	Ｔｙｒ
Ｐｒｏ（P）	Ａｌａ	Ａｌａ
Ｓｅｒ（S）	Ｔｈｒ	Ｔｈｒ
Ｔｈｒ（T）	Ｖａｌ、Ｓｅｒ	Ｓｅｒ
Ｔｒｐ（W）	Ｔｙｒ、Ｐｈｅ	Ｔｙｒ
Ｔｙｒ（Y）	Ｔｒｐ、Ｐｈｅ、Ｔｈｒ、Ｓｅｒ	Ｐｈｅ
Ｖａｌ（V）	Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ｐｈｅ、Ａｌａ、ノルロイシン	Ｌｅｕ

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って分類されてもよい。

（１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、

（２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、

（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ、

（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、

（５）鎖配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、

（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【０２１６】
非保存的置換には、これらのクラスのうちの１つのメンバーを別のクラスと交換することを伴うことになる。
【０２１７】
置換型変異形の１つの種類は、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗体）の１個以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される、結果として生じる変異形（複数可）は、親抗体と比較して、ある特定の生物学的特性の修飾（例えば、改善）（例えば、改善された親和性の改善、低下した免疫原性）を有することになり、かつ／または親抗体のある特定の生物学的特性を実質的に保持することになる。例示的な置換型変異形は、例えば、本明細書に記載されるもの等のファージディスプレイベースの親和性成熟技法を使用して、好都合に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔に述べると、１個以上のＨＶＲ残基が突然変異させられ、変異形抗体がファージ上で提示されて、特定の生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。
【０２１８】
変化（例えば、置換）をＨＶＲにおいて行って、例えば、抗体親和性を改善してもよい。かかる変化は、ＨＶＲ「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で突然変異を経るコドンによってコードされる残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６（２００８）を参照されたい）、及び／またはＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）において行われてもよく、結果として生じる変異形ＶＨまたはＶＬが、結合親和性について試験される。二次ライブラリを構築し、かつそこから再選択することによる親和性成熟は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．ｉｎ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　１７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態において、多様性が、多様な方法（例えば、エラープローンＰＣＲ、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指定突然変異生成）のうちのいずれかによって、成熟のために選定された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが作成される。次いで、ライブラリは、所望の親和性を有する任意の抗体変異形を特定するために、スクリーニングされる。多様性を導入するための別の方法は、数個のＨＶＲ残基（例えば、１回に４～６個の残基）が無作為化される、ＨＶＲ指向性アプローチを伴う。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えば、アラニンスキャニング突然変異生成またはモデリングを使用して、具体的に特定されてもよい。特にＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３が、標的とされることが多い。
【０２１９】
ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、かかる変化が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、１つ以上のＨＶＲ内で生じてもよい。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的変化（例えば、本明細書に提供される保存的置換）が、ＨＶＲにおいて行われてもよい。かかる変化は、ＨＶＲ「ホットスポット」またはＳＤＲの外側のものであってもよい。以上に提供される変異形ＶＨ及びＶＬ配列のある特定の実施形態において、各ＨＶＲは、不変であるか、または１つ以下、２つ以下、若しくは３つ以下のアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。
【０２２０】
突然変異生成のための標的とされ得る、抗体の残基または領域の特定のための有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ　ａｎｄ　Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５によって説明される「アラニンスキャニング変異生成」と呼ばれるものである。この方法において、標的残基（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、及びｇｌｕ等の荷電残基）のうちのある残基または基が特定され、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）によって置き換えられて、抗体と抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを決定する。さらなる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の場所に導入されてもよい。代替的に、または追加的に、抗原－抗体複合体の結晶構造を使用して、抗体と抗原との間の接触点が特定される。かかる接触

残基及び隣接する残基は、置換の候補として標的とされるか、または排除されてもよい。変異形をスクリーニングして、それらが所望の特性を含有するかどうかを決定してもよい。

【０２２１】

アミノ酸配列挿入には、１個の残基～１００個以上の残基を含有するポリペプチドの範囲の長さである、アミノ末端及び／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一のまたは多数のアミノ酸残基の配列内（ｉｎｔｒａｓｅｑｕｅｎｃｅ）挿入が含まれる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異形には、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、ＡＤＥＰＴのための）またはポリペプチドに対する抗体のＮ末端若しくはＣ末端への融合が含まれる。

【０２２２】

ｂ）グリコシル化変異形

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体を、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変化させる。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、１つ以上のグリコシル化部位が作成されるか、または除去されるように、アミノ酸配列を変化させることによって、好都合に行われてもよい。

【０２２３】

抗体がＦｃ領域を含む場合、そこに結合した炭水化物が変化し得る。哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、典型的に、一般にＮ－結合によって、Ｆｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７に結合される、分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ　ｅｔ　ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ１５：２６－３２（１９９７）を参照されたい。オリゴ糖類には、種々の炭水化物、例えば、マンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖類構造の「ステム」においてＧｌｃＮＡｃに結合したフコースが含まれ得る。いくつかの実施形態において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある特定の特性が改善された抗体変異形を作成するために行われてもよい。

【０２２４】

一実施形態において、Ｆｃ領域に（直接的にまたは間接的に）結合されるフコースを欠いた炭水化物構造を有する、抗体変異形が提供される。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、または２０％～４０％であってもよい。フコースの量は、例えば、ＷＯ２００８／０７７５４６に記載されるように、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析法によって測定される、Ａｓｎ　２９７に結合した全ての糖鎖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計と比較した、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を算出することによって決定される。Ａｓｎ２９７は、Ｆｃ領域における約２９７位（Ｆｃ領域残基のＥｕ付番）に位置するアスパラギン残基を指すが、Ａｓｎ２９７はまた、抗体での配列変異が小規模であることに起因して、２９７位から約±３アミノ酸上流または下流、すなわち、２９４位～３００位の間にも位置する場合がある。かかるフコシル化変異形では、ＡＤＣＣ機能が改善され得る。例えば、米国特許公開第２００３／０１５７１０８（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）、同第２００４／００９３６２１号（Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ　Ｋｏｇｙｏ　Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異形に関連する刊行物の例としては、ＵＳ２００３／０１５７１０８、ＷＯ２０００／６１７３９、ＷＯ２００１／２９２４６、ＵＳ２００３／０１１５６１４、ＵＳ２００２／０１６４３２８、ＵＳ２００４／００９３６２１、ＵＳ２００４／０１３２１４０、ＵＳ２００４／０１１０７０４、ＵＳ２００４／０１１０２８２、ＵＳ２００４／０１０９８６５、ＷＯ２００３／０８５１１９、ＷＯ２００３／０８４５７０、ＷＯ２００５／０３５５８６、ＷＯ２００５／０３５７７８、ＷＯ２００５／０５３７４２、ＷＯ２００２／０３１１４０号、Ｏｋａｚａｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９－１２４９（２００４）、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．８７：６１４（２００４）が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞株の例としては、タンパク

質フコシル化が欠損したＬｅｃ１３　ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ　ｅｔ　ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３－５４５（１９８６）、米国特許出願第２００３／０１５７１０８Ａ１号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ）、及びＷＯ２００４／０５６３１２Ａ１（Ａｄａｍｓら）（特に実施例１１））、及びα－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８、ノックアウトＣＨＯ細胞等のノックアウト細胞株（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）、Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０－６８８（２００６）、及びＷＯ２００３／０８５１０７を参照されたい）が挙げられる。

【０２２５】

例えば、抗体のＦｃ領域に結合した二分岐オリゴ糖類がＧｌｃＮＡｃによって二分される、二分されたオリゴ糖類を有する抗体変異形がさらに提供される。かかる抗体変異形では、フコシル化が低減され、かつ／またはＡＤＣＣ機能が改善され得る。かかる抗体変異形の例は、例えば、ＷＯ２００３／０１１８７８（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔら）、米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａら）、及びＵＳ２００５／０１２３５４６（Ｕｍａｎａら）に記載される。Ｆｃ領域に結合したオリゴ糖類において少なくとも１個のガラクトース残基を有する、抗体変異形もまた提供される。かかる抗体変異形では、ＣＤＣ機能が改善され得る。かかる抗体変異形は、例えば、ＷＯ１９９７／３００８７（Ｐａｔｅｌら）、ＷＯ１９９８／５８９６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）、及びＷＯ１９９９／２２７６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）に記載される。

【０２２６】

ｃ）Ｆｃ領域変異形

ある特定の実施形態において、１つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のＦｃ領域に導入され、それによってＦｃ領域変異形を生成してもよい。Ｆｃ領域変異形は、１つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含む、ヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域）を含んでもよい。

【０２２７】

ある特定の実施形態において、本発明は、いくつかのエフェクター機能を保有するが、全てのエフェクター機能は保有するわけではなく、それにより、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗体の半減期が重要であるが、なおもある特定のエフェクター機能（補体及びＡＤＣＣ等）が不必要であるかまたは有害である場合の適用に対する望ましい候補となる、抗体変異形を企図する。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及び／またはｉｎ　ｖｉｖｏの細胞傷害性アッセイを実行して、ＣＤＣ及び／またはＡＤＣＣ活性の低減／枯渇を確認することができる。例えば、抗体が確実に、ＦｃγＲ結合を欠く（よって、ＡＤＣＣ活性を欠いている可能性が高い）がＦｃＲｎ結合能力を保持するように、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実行することができる。ＡＤＣＣを媒介するための主要な細胞であるＮＫ細胞は、Ｆｃ（ＲＩＩＩのみを発現するが、一方で単球は、Ｆｃ（ＲＩ、Ｆｃ（ＲＩＩ及びＦｃ（ＲＩＩＩを発現する。造血細胞上でのＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ　ａｎｄ　Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－４９２（１９９１）の４６４ページ、表３に要約される。目的の分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイの非限定的な例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えば、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ．ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８３：７０５９－７０６３（１９８６）を参照されたい）及びＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：１４９９－１５０２（１９８５）、同第５，８２１，３３７号（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１－１３６１（１９８７）を参照されたい）に記載される。代替的に、非放射性アッセイ法が用いられてもよい（例えば、フローサイトメトリーのためのＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ，ＣＡ、及びＣｙｔｏＴｏｘ　９６（登録商標）非放射性細胞傷害性アッ

セイ（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を参照されたい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が含まれる。代替的に、または追加的に、目的の分子のＡＤＣＣ活性は、ｉｎ ｖｉｖｏで、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９５：６５２－６５６（１９９８）に開示されるもの等の動物モデルにおいて、評価されてもよい。また、Ｃ１ｑ結合アッセイをまた行って、抗体がＣ１ｑに結合不可能であり、したがってＣＤＣ活性を欠いていることを確認してもよい。例えば、ＷＯ２００６／０２９８７及びＷＯ２００５／１００４０２におけるＣ１ｑ及びＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイを行ってもよい（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）、Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ １０１：１０４５－１０５２（２００３）、及びＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ａｎｄ Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｂｌｏｏｄ １０３：２７３８－２７４３（２００４）を参照されたい）。ＦｃＲｎ結合及びｉｎ ｖｉｖｏクリアランス／半減期決定もまた、当該技術分野で既知の方法を使用して行うことができる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９－１７６９（２００６）を参照されたい）。

【０２２８】

いくつかの実施形態において、新生児Ｆｃ受容体へのＩｇＧ結合を増加させるために、１つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のＦｃ部分に導入されてもよい。ある特定の実施形態において、本抗体は、ＥＵ付番に従う以下の３つの突然変異、すなわちＭ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、及びＴ２５６Ｅ（「ＹＴＥ突然変異」を含む（米国特許第８，６９７，６５０号、Ｄａｌｌ'Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２８１（３３）：２３５１４－２３５２４（２００６）も参照されたい）。ある特定の実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体がその同族抗原に結合する能力に影響を及ぼさない。ある特定の実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体の血清半減期を、天然（すなわち、非ＹＴＥ突然変異体）抗体と比較して増加させる。いくつかの実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体の血清半減期を、天然（すなわち、非ＹＴＥ突然変異体）抗体と比較して３倍増加させる。いくつかの実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体の血清半減期を、天然（すなわち、非ＹＴＥ突然変異体）抗体と比較して２倍増加させる。いくつかの実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体の血清半減期を、天然（すなわち、非ＹＴＥ突然変異体）抗体と比較して４倍増加させる。いくつかの実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体の血清半減期を、天然（すなわち、非ＹＴＥ突然変異体）抗体と比較して少なくとも５倍増加させる。いくつかの実施形態において、ＹＴＥ突然変異は、抗体の血清半減期を、天然（すなわち、非ＹＴＥ突然変異体）抗体と比較して少なくとも１０倍増加させる。例えば、米国特許第８，６９７，６５０号を参照されたい。またＤａｌｌ'Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２８１（３３）：２３５１４－２３５２４（２００６）も参照されたい。

【０２２９】

ある特定の実施形態において、ＹＴＥ突然変異体は、抗体の抗体依存的細胞媒介性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）活性を調節する手段を提供する。ある特定の実施形態において、ＹＴＥ突然変異体は、ヒト抗原を対象とするヒト化ＩｇＧ抗体のＡＤＣＣ活性を調節する手段を提供する。例えば、米国特許第８，６９７，６５０号を参照されたい。またＤａｌｌ'Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２８１（３３）：２３５１４－２３５２４（２００６）も参照されたい。

【０２３０】

ある特定の実施形態において、ＹＴＥ突然変異体は、血清半減期、組織分布、及び抗体活性（例えば、ＩｇＧ抗体のＡＤＣＣ活性）の同時調節を可能にする。例えば、米国特許第８，６９７，６５０号を参照されたい。またＤａｌｌ'Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ

ｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２８１（３３）：２３５１４－２３５２４（２００６）も参照されたい。

【０２３１】

エフェクター機能が低下した抗体には、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、及び３２９のうちの１つ以上の置換を有するものが含まれる（米国特許第６，７３７，０５６号）。かかるＦｃ突然変異体には、アラニンへの残基２６５及び２９７の置換を有するいわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ突然変異体を含む（米国特許第７，３３２，５８１号）、アミノ酸２６５、２６９、２７０、２９７、及び３２７位のうちの２つ以上において置換を有するＦｃ突然変異体が含まれる。

【０２３２】

ある特定の実施形態において、野生型ヒトＦｃ領域の３２９位（ＥＵ付番）（Ｐ３２９）におけるプロリンは、グリシン若しくはアルギニン、またはＦｃのＰ３２９とＦｃｇＲＩＩＩのトリプトファン残基Ｗ８７及びＷ１１０との間に形成されるＦｃ／Ｆｃγ受容体界面内でプロリンサンドイッチを破壊するのに十分に大きいアミノ酸残基で置換される（Ｓｏｎｄｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．：Ｎａｔｕｒｅ ４０６，２６７－２７３（２０ Ｊｕｌｙ ２０００））。さらなる実施形態において、Ｆｃ変異形内の少なくとも１つのさらなるアミノ酸置換は、Ｓ２２８Ｐ、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｌ２３５Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｄ、またはＰ３３１Ｓであり、さらに別の実施形態において、該少なくとも１つのさらなるアミノ酸置換は、ヒトＩｇＧ１ Ｆｃ領域のＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ、またはヒトＩｇＧ４ Ｆｃ領域のＳ２２８Ｐ及びＬ２３５Ｅである。これらは全て、ＥＵ付番に従うものである（米国特許第８，９６９，５２６号、参照によりその全体が組み込まれる）。

【０２３３】

ある特定の実施形態において、ポリペプチドは、野生型ヒトＩｇＧ Ｆｃ領域のＦｃ変異形を含み、このポリペプチドは、グリシンで置換されたヒトＩｇＧ Ｆｃ領域のＰ３２９を有し、Ｆｃ変異形は、ヒトＩｇＧ１ Ｆｃ領域のＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ、またはヒトＩｇＧ４ Ｆｃ領域のＳ２２８Ｐ及びＬ２３５Ｅにおいて少なくとも２つのさらなるアミノ酸置換を含み、残基は、ＥＵ付番に従って付番される（米国特許第８，９６９，５２６号、参照によりその全体が組み込まれる）。ある特定の実施形態において、Ｐ３２９Ｇ、Ｌ２３４Ａ、及びＬ２３５Ａ（ＥＵ付番）置換を含むポリペプチドでは、野生型ヒトＩｇＧ Ｆｃ領域を含むポリペプチドによりＡＤＣＣが少なくともその２０％に下方調節される場合、及び／またはＡＤＣＰが下方調節される場合は、ヒトＦｃγＲＩＩＩＡ及びＦｃγＲＩＩＡに対する親和性の低下が示される（米国特許第８，９６９，５２６号、参照によりその全体が組み込まれる）。

【０２３４】

特定の実施形態において、野生型ヒトＦｃポリペプチドのＦｃ変異形を含むポリペプチドは、三重突然変異、ＥＵ付番（Ｐ３２９／ＬＡＬＡ）に従いＰｒｏ３２９、Ｌ２３４Ａ、及びＬ２３５Ａ位にアミノ酸置換を含む（米国特許第８，９６９，５２６号、参照によりその全体が組み込まれる）。特定の実施形態において、ポリペプチドは、以下のアミノ酸置換、すなわち、ＥＵ付番に従いＰ３２９Ｇ、Ｌ２３４Ａ、及びＬ２３５Ａを含む。

【０２３５】

ＦｃＲへ結合が改善されたまたは減少したある特定の抗体変異形が記載される。（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号、ＷＯ２００４／０５６３１２号、及びＳｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４（２００１）を参照されたい。）

【０２３６】

ある特定の実施形態において、抗体変異形は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８、３３３、及び／または３３４位（残基のＥＵ付番）における置換を有するＦｃ領域を含む。

【０２３７】

いくつかの実施形態において、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号、国際公開第９９／５１６４２号、及びＩｄｕｓｏｇｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）に記載されるように、Ｃ１ｑ結合及び／または補体依存性細胞傷害性（ＣＤＣ）の改変（改善または減少のいずれか）をもたらす改変が、Ｆｃ領域においてなされる。

【０２３８】

母体ＩｇＧの胎児への移入に関与する、半減期が増加しかつ新生児型Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への結合が改善された抗体（Ｇｕｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４））が、ＵＳ２００５／００１４９３４Ａ１（Ｈｉｎｔｏｎら）に記載される。それらの抗体は、ＦｃＲｎへのＦｃ領域の結合を改善する、１つ以上の置換を内部に有するＦｃ領域を含む。かかるＦｃ変異形には、Ｆｃ領域残基２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、または４３４のうちの１つ以上における置換、例えば、Ｆｃ領域残基４３４の置換（米国特許第７，３７１，８２６号）を有するものが含まれる。

【０２３９】

また、Ｆｃ領域変異形の他の例に関して、Ｄｕｎｃａｎ ＆ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ ３２２：７３８－４０（１９８８）、米国特許第５，６４８，２６０号、米国特許第５，６２４，８２１号、及びＷＯ９４／２９３５１も参照されたい。

【０２４０】

ｄ）システイン操作された抗体変異形

ある特定の実施形態において、抗体の１個以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「ＴＨＩＯＭＡＢ（商標）」を作成することが望ましい場合がある。特定の実施形態において、置換残基は、コンジュゲートに利用可能な抗体の部位において生じる。それらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基は、抗体の利用可能な部位に位置付けられ、それを使用して、抗体を、薬物部分またはリンカー－薬物部分等の他の部分にコンジュゲートして、本明細書にさらに記載される、免疫複合体を作成してもよい。ある特定の実施形態において、次の残基、すわなち軽鎖のＫ１４９（Ｋａｂａｔ付番）、軽鎖のＶ２０５（Ｋａｂａｔ付番）、重鎖のＡ１１８（ＥＵ付番）、重鎖のＡ１４０（ＥＵ付番）、重鎖のＬ１７４（ＥＵ付番）、重鎖のＹ３７３（ＥＵ付番）、及び重鎖Ｆｃ領域のＳ４００（ＥＵ付番）のうちの任意の１個以上が、システインで置換されてもよい。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ＨＣ－Ａ１４０Ｃ（ＥＵ付番）システイン置換を含む。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ（Ｋａｂａｔ付番）システイン置換を含む。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ＨＣ－Ａ１１８Ｃ（ＥＵ付番）システイン置換を含む。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第７，５２１，５４１号に記載されるように生成されてもよい。

【０２４１】

ある特定の実施形態において、本抗体は、以下の重鎖システイン置換のうちの１つを含む。

鎖（ＨＣ／ＬＣ）	残基	ＥＵ突然変異部位番号	Ｋａｂａｔ突然変異部位番号
ＨＣ	Ｔ	１１４	１１０
ＨＣ	Ａ	１４０	１３６
ＨＣ	Ｌ	１７４	１７０
ＨＣ	Ｌ	１７９	１７５
ＨＣ	Ｔ	１８７	１８３
ＨＣ	Ｔ	２０９	２０５
ＨＣ	Ｖ	２６２	２５８
ＨＣ	Ｇ	３７１	３６７
ＨＣ	Ｙ	３７３	３６９
ＨＣ	Ｅ	３８２	３７８
ＨＣ	Ｓ	４２４	４２０
ＨＣ	Ｎ	４３４	４３０
ＨＣ	Ｑ	４３８	４３４

【０２４２】

ある特定の実施形態において、抗体は、以下の軽鎖システイン置換のうちの１つを含む。

鎖（ＨＣ／ＬＣ）	残基	ＥＵ突然変異部位番号	Ｋａｂａｔ突然変異部位番号
ＬＣ	Ｉ	１０６	１０６
ＬＣ	Ｒ	１０８	１０８
ＬＣ	Ｒ	１４２	１４２
ＬＣ	Ｋ	１４９	１４９
ＬＣ	Ｖ	２０５	２０５

【０２４３】

非限定の例示的なｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ軽鎖（ＬＣ）Ｋ１４９Ｃ　ＴＨＩＯＭＡＢ（商標）は、それぞれ配列番号１９及び２３の重鎖及び軽鎖アミノ酸配列を有する。非限定の例示的なｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ重鎖（ＨＣ）Ａ１１８Ｃ　ＴＨＩＯＭＡＢ（商標）は、それぞれ配列番号２４及び１８の重鎖及び軽鎖アミノ酸配列を有する。

【０２４４】

例示的なＳ４００Ｃシステイン操作された重鎖定常領域は、配列番号２８に示される。Ｓ４００Ｃシステイン操作された重鎖定常領域は、配列番号１１に示されるｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ重鎖可変領域のＣ末端に融合され得る。結果として得られるｈｕ７Ｃ２．

ｖ２．２．ＬＡ　ＨＣ　Ｓ４００Ｃ重鎖は、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡκ軽鎖、例えば配列番号１８に示される軽鎖と対合され得る。

【０２４５】

例示的なＶ２０５Ｃシステイン操作された軽鎖定常領域は、配列番号２５に示される。Ｖ２０５Ｃシステイン操作された軽鎖定常領域は、配列番号１０に示されるｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ軽鎖可変領域のＣ末端に融合され得る。結果として得られるｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ　ＬＣ　Ｖ２０５Ｃ軽鎖は、ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ　ＩｇＧ重鎖、例えば配列番号１９に示される重鎖と対合され得る。

【０２４６】

ｅ）抗体誘導体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、かつ容易に入手可能な、追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレン（ｐｒｏｐｒｏｐｙｌｅｎｅ）グリコールホモポリマー、プロリプロピレン（ｐｒｏｌｙｐｒｏｐｙｌｅｎｅ）オキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性に起因して、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってもよく、分岐していても非分岐であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は、様々であってもよく、１つを超えるポリマーが結合される場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／または種類は、改善対象の抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定の条件下で療法において使用されるかどうか等を含むが、これらに限定されない考慮に基づいて決定することができる。

【０２４７】

別の実施形態において、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る、抗体及び非タンパク質性部分の複合体が提供される。一実施形態において、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブ（Ｋａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ１０２：１１６００－１１６０５（２００５））である。放射線は、任意の波長のものであってもよく、通常の細胞を害さないが、非タンパク質性部分を、抗体－非タンパク質性部分に近位の細胞が死滅させる温度まで加熱する波長が含まれるが、これらに限定されない。

【０２４８】

Ｂ．組み換え法及び組成物

抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号に記載される組み換え法及び組成物を使用して産生されてもよい。一実施形態において、本明細書に記載される抗ＨＥＲ２抗体をコードする単離核酸が提供される。かかる核酸は、抗体のＶＬを含むアミノ酸配列及び／またはＶＨを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む１つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む宿主細胞が提供される。１つのかかる実施形態において、宿主細胞は、（１）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列及び抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（２）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第１のベクター、及び抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第２のベクターを含む（例えば、それらで形

質転換されている）。一実施形態において、宿主細胞は、真核性、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Ｙ０、ＮＳ０、Ｓｐ２０細胞）である。一実施形態において、抗ＨＥＲ２抗体を作製する方法が提供され、本方法は、上記抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意選択で、抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することとを含む。

【０２４９】

抗ＨＥＲ２抗体の組み換え産生のために、例えば、上述のものなどの、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニング及び／または発現のために、１つ以上のベクター中に挿入される。かかる核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能である、オリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離されて配列決定され得る。

【０２５０】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、本明細書に記載される原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化及びＦｃエフェクター機能が必要とされない場合に、細菌において産生されてもよい。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第５，６４８，２３７号、同第５，７８９，１９９号、及び同第５，８４０，５２３号を参照されたい（また、大腸菌における抗体断片の発現について説明するＣｈａｒｌｔｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３），ｐｐ．２４５－２５４も参照されたい）。発現後、抗体は、可溶性画分において細菌細胞ペーストから単離されてもよく、またさらに精製されてもよい。

【０２５１】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母等の真核微生物は、抗体をコードするベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、それには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、それによって部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌及び酵母株が含まれる。Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２２：１４０９－１４１４（２００４）、及びＬｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２４：２１０－２１５（２００６）を参照されたい。

【０２５２】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞と併せて、特にヨトウガ細胞のトランスフェクションのために使用され得る、多数のバキュロウイルス株が特定されている。

【０２５３】

植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第５，９５９，１７７号、同第６，０４０，４９８号、同第６，４２０，５４８号、同第７，１２５，９７８号、及び同第６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのＰＬＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ（商標）技術について説明している）を参照されたい。

【０２５４】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳類細胞株が、有用であり得る。有用な哺乳類宿主細胞株の他の例としては、ＳＶ４０によって形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株（ＣＯＳ－７）、ヒト胚性腎臓株（例えば、Ｇｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７）に記載される２９３または２９３細胞）、ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ）、マウスセルトリ細胞（例えば、Ｍａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Error! Bookmark not defined.Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１（１９８０）Error! Bookmark not defined.に記載されるＴＭ４細胞）、サル腎臓細胞（ＣＶ１）、アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６

）、ヒト子宮頚癌細胞（ＨＥＬＡ）、イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ、バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ　３Ａ）、ヒト肺細胞（Ｗ１３８）、ヒト肝癌細胞（Ｈｅｐ　Ｇ２）、マウス乳腺腫瘍（ＭＭＴ　０６０５６２）、例えば、Ｍａｔｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎａｌｓ　Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８（１９８２）に記載されるＴＲＩ細胞、ＭＲＣ　５細胞、及びＦＳ４細胞がある。他の有用な哺乳類宿主細胞株には、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞（Ｕｒｌａｕｂ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　７７：４２１６（１９８０）を含む、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ならびにＹ０、ＮＳ０、及びＳｐ２／０等の骨髄腫細胞株が含まれる。抗体産生に好適なある特定の哺乳類宿主細胞株の概説については、例えば、Ｙａｚａｋｉ　ａｎｄ　Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ），ｐｐ．２５５－２６８（２００３）を参照されたい。

【０２５５】

Ｃ．アッセイ

本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体は、それらの物理／化学特性及び／または生物活性について、当該技術分野で既知の種々のアッセイによって、特定され、スクリーニングされ、または特徴付けられてもよい。

【０２５６】

一態様において、本発明の抗体は、その抗原結合活性について、例えば、ＥＬＩＳＡ、ＢＩＡＣｏｒｅ（登録商標）、ＦＡＣＳ、またはウェスタンブロット等の既知の方法によって試験される。

【０２５７】

別の態様において、競合アッセイを使用して、ＨＥＲ２への結合について本明細書に記載される抗体のいずれかと競合する抗体を特定してもよい。ある特定の実施形態において、かかる競合抗体は、本明細書に記載される抗体によって結合される、同じエピトープ（例えば、直線状または立体配座エピトープ）に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法は、Ｍｏｒｒｉｓ（１９９６）“Ｅｐｉｔｏｐｅ　Ｍａｐｐｉｎｇ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，”ｉｎ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　ｖｏｌ．６６（Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ）に提供される。

【０２５８】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたＨＥＲ２は、ＨＥＲ２に結合する第１の標識抗体（例えば、本明細書に記載される抗体のいずれか）、及びＨＥＲ２への結合について第１の抗体と競合するその能力について試験されている第２の未標識抗体を含む溶液中でインキュベートされる。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたＨＥＲ２が、第１の標識抗体を含むが、第２の未標識抗体を含まない溶液中でインキュベートされる。ＨＥＲ２に第１の抗体が結合することを許容する条件下でのインキュベーション後、過剰な非結合抗体が除去され、固定化されたＨＥＲ２に関連する標識の量が測定される。固定化されたＨＥＲ２に関連する標識の量が、対照試料と比較して試験試料中で実質的に低減される場合、それは、第２の抗体がＨＥＲ２への結合について第１の抗体と競合していることを示す。Ｈａｒｌｏｗ　ａｎｄ　Ｌａｎｅ（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ　ｃｈ．１４（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ）を参照されたい。

【０２５９】

Ｄ．免疫複合体

本発明はまた、化学療法剤若しくは化学療法薬、成長阻害性薬剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌、真菌、植物、若しくは動物起源の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、または放射性同位体（すなわち、放射性物質複合体（ｒａｄｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ））等の、１つ以上の細胞傷害性薬剤にコンジュゲートされる、本明細書中に記載の抗Ｈ

ＥＲ２抗体を含む免疫複合体も提供する。

【０２６０】

免疫複合体によって、腫瘍への薬物部分の送達を標的とすることが可能となり、いくつかの実施形態においては、コンジュゲートされていない薬物を全身投与することにより、正常な細胞にとって許容できないもレベルの毒性がもたされ得る場合に、その中の細胞内蓄積が可能となる（Ｐｏｌａｋｉｓ Ｐ．（２００５）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ５：３８２－３８７）。

【０２６１】

抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、強力な細胞傷害性薬物の標的を抗原発現腫瘍細胞にして（Ｔｅｉｃｈｅｒ，Ｂ．Ａ．（２００９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｓ ９：９８２－１００４）、それによって、有効性を最大化してオフターゲット毒性を最小化することにより治療指数を増強することで、抗体及び細胞傷害性薬物の両方の特性を併せ持つ標的化学療法分子である（Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．Ｊ．ａｎｄ Ｓｅｎｔｅｒ Ｐ．Ｄ．（２００８）Ｔｈｅ Ｃａｎｃｅｒ Ｊｏｕｒ．１４（３）：１５４－１６９、Ｃｈａｒｉ，Ｒ．Ｖ．（２００８）Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．４１：９８－１０７。

【０２６２】

本発明のＡＤＣ化合物には、抗癌活性を有するものが含まれる。いくつかの実施形態において、ＡＤＣ化合物には、薬物部分にコンジュゲートされた、すなわち、共有結合された抗体が含まれる。いくつかの実施形態において、本抗体は、リンカーによって薬物部分に共有結合される。本発明の抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、有効用量の薬物を腫瘍組織に選択的に送達し、それによって、治療指数（「治療濃度域」）を増加させながら、より高い選択性、すなわちより低い効果的用量が、達成され得る。

【０２６３】

抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）の薬物部分（Ｄ）は、細胞傷害性効果または細胞静止効果を有する任意の化合物、部分、または基を含んでもよい。薬物部分は、チューブリン結合、ＤＮＡ結合またはインターカレーション、ならびにＲＮＡポリメラーゼ、タンパク質合成、及び／またはトポイソメラーゼの阻害を含むが、これらに限定されない機序によって、それらの細胞傷害性効果及び細胞静止効果を付与し得る。例示的な薬物部分には、メイタンシノイド、ドラスタチン、オーリスタチン、カリケアマイシン、ピロロベンゾジアゼピン（ＰＢＤ）、ネモルビシン及びその誘導体、ＰＮＵ－１５９６８２、アントラサイクリン、デュオカルマイシン、ビンカアルカロイド、タキサン、トリコテセン、ＣＣ１０６５、カンプトテシン、エリナフィド、ならびに細胞傷害活性を有するそれらの立体異性体、イソスター（ｉｓｏｓｔｅｒｅｓ）、類似体、及び誘導体が含まれるが、これらに限定されない。かかる免疫複合体の非限定的な例が、以下でさらに詳細に考察される。

【０２６４】

１．例示的な抗体－薬物複合体

抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）化合物の例示的な実施形態は、腫瘍細胞を標的とする抗体（Ａｂ）、薬物部分（Ｄ）、及びＡｂをＤに結合させるリンカー部分（Ｌ）を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、リジン及び／またはシステイン等の１個以上のアミノ酸残基によって、リンカー部分（Ｌ）に結合される。

【０２６５】

例示的なＡＤＣは、式Ｉ：

$$Ab-(L-D)_p \quad I$$

を有し、式中、ｐは、１～約２０である。いくつかの実施形態において、抗体にコンジュゲートされ得る薬物部分の数は、遊離システイン残基の数によって限定される。いくつかの実施形態において、遊離システイン残基は、本明細書に記載される方法によって抗体アミノ酸配列中に導入される。式Ｉの例示的なＡＤＣには、１、２、３、または４個の操作されたシステインアミノ酸を有する抗体が含まれるが、これらに限定されない（Ｌｙｏｎ，Ｒ．ｅｔ ａｌ（２０１２）Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍ．５０２：１２３－１

３８）。いくつかの実施形態において、１個以上の遊離システイン残基が、操作を使用することなく、抗体においてすでに存在しており、その場合、既存の遊離システイン残基を使用して、抗体を薬物にコンジュゲートしてもよい。いくつかの実施形態において、抗体は、１個以上の遊離システイン残基を生成するために、抗体のコンジュゲート前に還元条件に曝露される。

【０２６６】

ａ）例示的なリンカー

「リンカー」（Ｌ）は、１個以上の薬物部分（Ｄ）を抗体（Ａｂ）に連結させて、式Ｉの抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）を形成させるために使用することができる、二機能性または多機能性部分である。いくつかの実施形態において、抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、薬物に及び抗体に共有結合するための反応性官能基を有するリンカーを使用して調製することができる。例えば、いくつかの実施形態において、抗体の（Ａｂ）システインチオールは、リンカーの反応性官能基または薬物－リンカー中間体との結合を形成して、ＡＤＣを作製することができる。

【０２６７】

一態様において、リンカーは、抗体上に存在する遊離システインと反応して共有結合を形成することが可能である官能性を有する。かかる反応性官能基の非限定的な例には、マレイミド、ハロアセトアミド、α－ハロアセチル、コハク酸イミドエステル、４－ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル等の活性化エステル、無水物、酸塩化物、塩化スルホニル、イソシアン酸塩、及びイソチオシアン酸塩が含まれる。例えば、Ｋｌｕｓｓｍａｎ，ｅｔ　ａｌ（２００４），Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　１５（４）：７６５－７７３の７６６ページにおけるコンジュゲート方法、及びその中の実施例を参照されたい。

【０２６８】

いくつかの実施形態において、リンカーは、抗体上に存在する求電子基と反応することが可能である官能性を有する。かかる求電子基の例には、アルデヒド基及びケトンカルボニル基が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、リンカーの反応性官能基のヘテロ原子が、抗体上の求電子基と反応して抗体単位との共有結合を形成することができる。かかる反応性官能基の非限定的な例には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボン酸塩、及びアリールヒドラジドが含まれるが、これらに限定されない。

【０２６９】

リンカーは、１つ以上のリンカー構成要素を含んでもよい。例示的なリンカー構成要素には、６－マレイミドカプロイル（「ＭＣ」）、マレイミドプロパノイル（「ＭＰ」）、バリン－シトルリン（「ｖａｌ－ｃｉｔ」または「ｖｃ」）、アラニン－フェニルアラニン（「ａｌａ－ｐｈｅ」）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（「ＰＡＢ」）、Ｎ－コハク酸イミジル４－（４－ピリジルチオ）ペンタン酸塩（「ＳＰＰ」）、及び２－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１カルボン酸塩（「ＭＣＣ」）が含まれる。種々のリンカー構成要素が当該技術分野で知られており、このうちのいくつかが以下に記載される。

【０２７０】

リンカーは、薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であってもよい。切断可能なリンカーの非限定的な例には、酸不安定性リンカー（例えば、ヒドラゾンを含む）、プロテアーゼ感受性（例えば、ペプチダーゼ感受性）リンカー、感光性リンカー、またはジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　５２：１２７－１３１（１９９２）、米国公開特許第５２０８０２０号）が含まれる。

【０２７１】

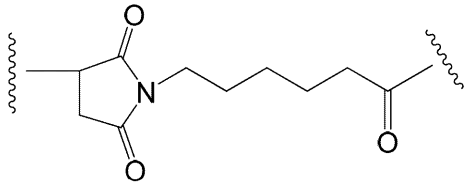
ある特定の実施形態において、リンカーは、次の式ＩＩ：

$$—A_a—W_w—Y_y—$$ ＩＩ

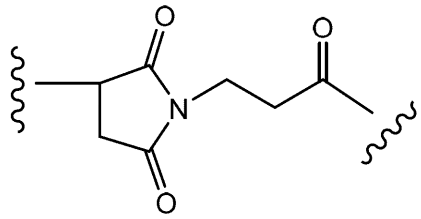
を有し、式中、Ａは、「ストレッチャー（ｓｔｒｅｔｃｈｅｒ）単位」であり、ａは、０～１の整数であり、Ｗは、「アミノ酸単位」であり、ｗは、０～１２の整数であり、Ｙは「スペーサ単位」であり、ｙは、０、１、または２であり、Ａｂ、Ｄ、及びｐは上記式Ｉで定義されるものである。かかるリンカーの例示的な実施形態は、米国特許第７，４９８，２９８号に記載され、それは参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０２７２】

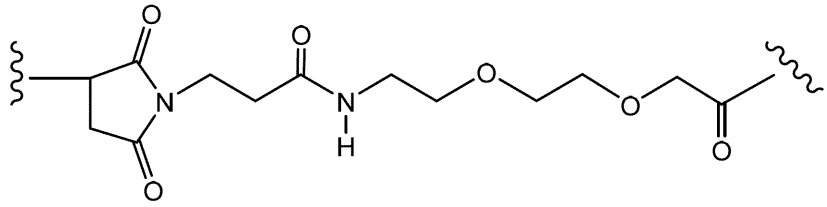
いくつかの実施形態において、リンカー構成要素は、抗体を別のリンカー構成要素にまたは薬物部分に連結させる「ストレッチャー単位」を含む。ストレッチャー単位の比限定的な例が以下に示される（ここで波線は、抗体、薬物、または追加のリンカー構成要素への共有結合の部位を示す）。



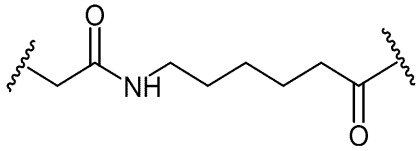
ＭＣ



ＭＰ



ｍＰＥＧ



【０２７３】

いくつかの実施形態において、リンカー構成要素は、「アミノ酸単位」を含む。いくつかのかかる実施形態において、アミノ酸単位は、プロテアーゼによるリンカーの切断を可能にし、それによって、リソソーム酵素等の細胞内プロテアーゼへの曝露時に免疫複合体から薬物が容易に放出される（Ｄｏｒｏｎｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２１：７７８－７８４）。例示的なアミノ酸単位には、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、及びペンタペプチドが含まれるが、これらに限定されない。例示的なジペプチドには、バリン－シトルリン（ｖｃまたはｖａｌ－ｃｉｔ）、アラニン－フェニルアラニン（ａｆまたはａｌａ－ｐｈｅ）、フェニルアラニン－リジン（ｆｋまたはｐｈｅ－ｌｙｓ）、フェニルアラニン－ホモリジン（ｐｈｅ－ｈｏｍｏｌｙｓ）、及びＮ－メチル－バリン－シトルリン（Ｍｅ－ｖａｌ－ｃｉｔ）が含まれるが、これらに限定されない。例示的なトリペプチドには、グリシン－バリン－シトルリン（ｇｌｙ－ｖａｌ－ｃｉｔ）及びグリシン－グリシン－グリシン（ｇｌｙ－ｇｌｙ－ｇｌｙ）が含まれるが、これらに限定されない。アミノ酸単位は、自然発生アミノ酸残基、及び／または微量アミノ酸、及び／またはシトルリン等の非自然発生アミノ酸類似体を含んでもよい

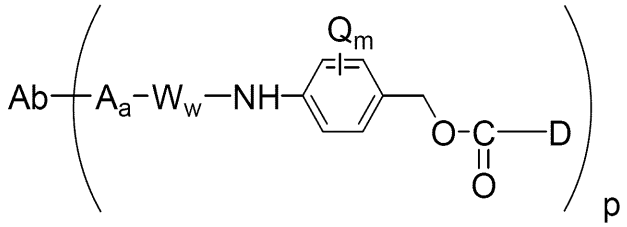
。アミノ酸単位は、特定の酵素、例えば、腫瘍関連プロテアーゼ、カテプシンＢ、Ｃ、及びＤ、またはプラスミンプロテアーゼによる酵素的切断のために設計して最適化することができる。

【０２７４】

いくつかの実施形態において、リンカー構成要素は、直接、またはストレッチャー単位及び／若しくはアミノ酸単位によって、抗体を薬物部分に連結する、「スペーサ」単位を含む。スペーサ単位は、「自己犠牲型（ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ）」または「非自己犠牲型」であり得る。「非自己犠牲型」スペーサ単位は、ＡＤＣの切断時にスペーサ単位の一部または全てが薬物部分に結合した状態に保持されているものである。非自己犠牲型スペーサ単位の例としては、グリシンスペーサ単位及びグリシン－グリシンスペーサ単位が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、腫瘍細胞関連プロテアーゼによる、グリシン－グリシンスペーサ単位を含有するＡＤＣの酵素的切断によって、ＡＤＣの残りの部分からグリシン－グリシン－薬物部分が放出する。いくつかのかかる実施形態において、グリシン－グリシン－薬物部分に対して、腫瘍細胞内で加水分解ステップを行い、その結果グリシン－グリシンスペーサ単位を薬物部分から切断する。

【０２７５】

「自己犠牲型」スペーサ単位は、薬物部分の放出を可能にする。ある特定の実施形態において、リンカーのスペーサ単位は、ｐ－アミノベンジル単位を含む。いくつかのかかる実施形態において、ｐ－アミノベンジルアルコールは、アミド結合によってアミノ酸単位に結合し、カルバミン酸塩、メチルカルバミン酸塩、または炭酸塩が、ベンジルアルコールと薬物との間に作製される（Ｈａｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．（２００５）Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｐａｔｅｎｔｓ（２００５）１５：１０８７－１１０３）。いくつかの実施形態において、スペーサ単位は、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）である。いくつかの実施形態において、自己犠牲型リンカーを含むＡＤＣは、構造：



を有し、式中、Ｑは、－Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル）、－ハロゲン、－ニトロ、または－シアノであり、ｍは、０～４範囲の整数であり、ｐは、１～約２０の範囲である。いくつかの実施形態において、ｐは、１～１０、１～７、１～５、または１～４の範囲である。

【０２７６】

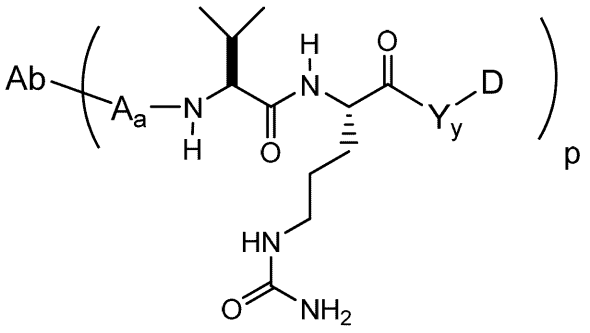
自己犠牲型スペーサの他の例としては、２－アミノイミダゾール－５－メタノール誘導体等の、ＰＡＢ基と電子的に同様である芳香族化合物（米国特許第７，３７５，０７８号、Ｈａｙ　ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．９：２２３７）及びオルト－またはパラ－アミノベンジルアセタールが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、置換及び非置換４－アミノ酪酸アミド（Ｒｏｄｒｉｇｕｅｓ　ｅｔ　ａｌ（１９９５）Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｂｉｏｌｏｇｙ２：２２３）、適切に置換されたビシクロ［２．２．１］及びビシクロ［２．２．２］環系（Ｓｔｏｒｍ　ｅｔ　ａｌ（１９７２）Ｊ．Ａｍｅｒ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．９４：５８１５）、ならびに２－アミノフェニルプロピオン酸アミド（Ａｍｓｂｅｒｒｙ，ｅｔ　ａｌ（１９９０）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５５：５８６７）等の、アミド結合加水分解時に環化を経るスペーサを使用することができる。グリシン残基のα－炭素への薬物の結合は、ＡＤＣにおいて有用であり得る自己犠牲型スペーサの別の例である（Ｋｉｎｇｓｂｕｒｙ　ｅｔ　ａｌ（１９８４）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２７：１４４７）。

【０２７７】

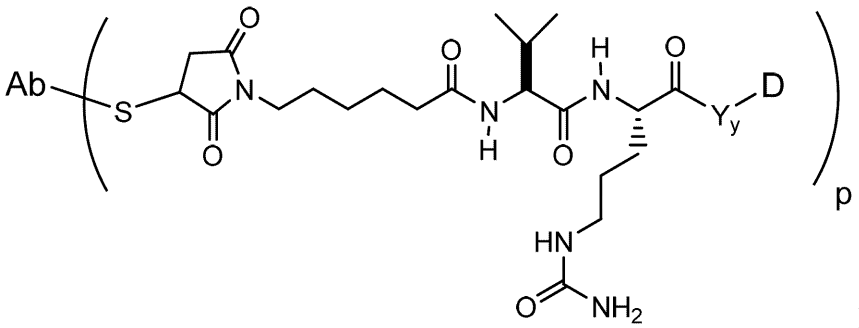
いくつかの実施形態において、リンカーＬは、分岐する多機能性リンカー部分を介して１超の薬物部分が抗体に共有結合するめの樹状型リンカーであり得る（Ｓｕｎ ｅｔ ａｌ（２００２）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ＆ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｌｅｔｔｅｒｓ １２：２２１３－２２１５、Ｓｕｎ ｅｔ ａｌ（２００３）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ＆ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １１：１７６１－１７６８）。樹状リンカーは、ＡＤＣの効力に関連する、薬物対抗体のモル比、すなわち、負荷を増加させることができる。したがって、抗体が１個のみの反応性システインチオール基を有する場合、多数の薬物部分が、樹状リンカーを介して結合され得る。

【０２７８】

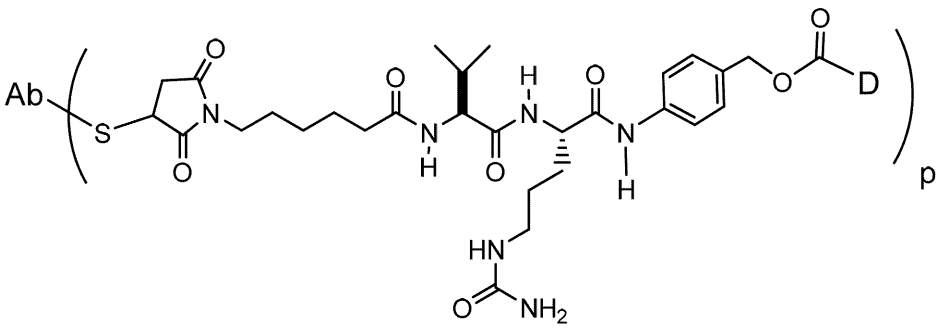
リンカーの非限定的な例は、式ＩのＡＤＣの関連において以下に示される。



ｖａｌ－ｃｉｔ



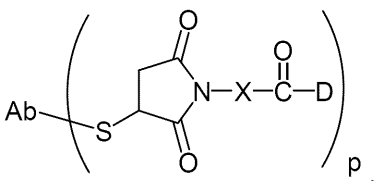
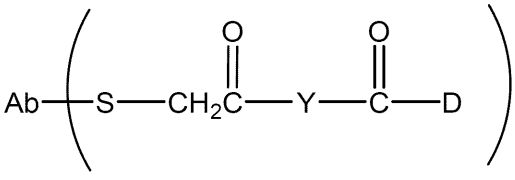
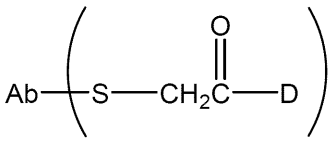
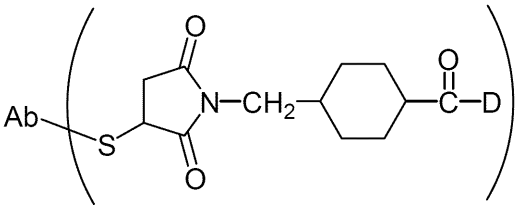
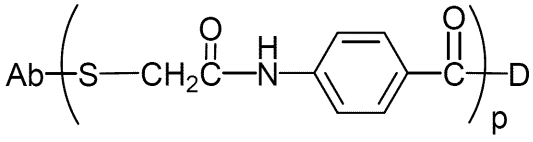
ＭＣ－ｖａｌ－ｃｉｔ



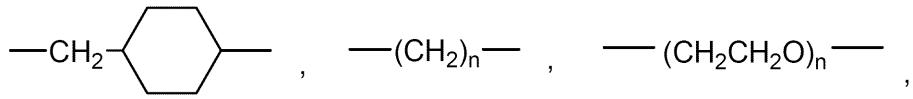
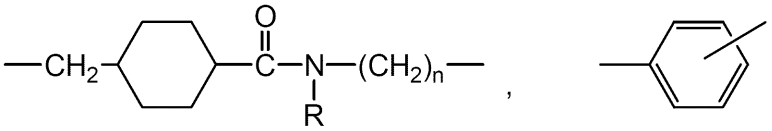
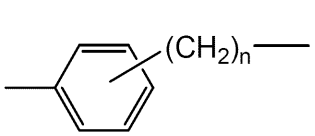
ＭＣ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ

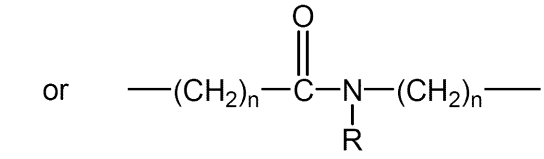
【０２７９】

ＡＤＣのさらなる非限定的例には、次の構造：

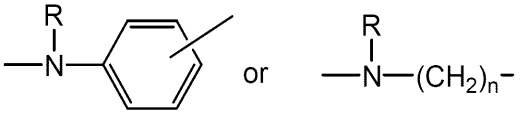

、

、

、

、

、

（式中、Ｘは、


、

、

、

、

、

であり、Ｙは、


、

各Ｒは独立して、ＨまたはＣ$_1$-Ｃ$_6$アルキルであり、ｎは、１～１２である）が含まれる。

【０２８０】

典型的に、ペプチド型リンカーは、２つ以上のアミノ酸及び／またはペプチド断片の間にペプチド結合を形成することによって調製することができる。かかるペプチド結合は、例えば、液相合成法に従って調製することができる（例えば、Ｅ．Ｓｃｈｒｏｄｅｒ ａｎｄ Ｋ．Ｌｕｂｋｅ（１９６５）″Ｔｈｅ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ”，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐｐ ７６－１３６，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）。

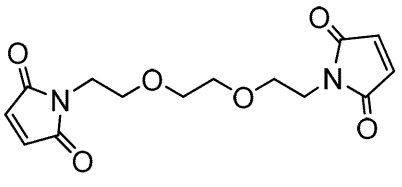
【０２８１】

いくつかの実施形態において、リンカーは、溶解性及び／または反応性を調節する基で置換される。非限定的な例として、スルホン酸塩（－ＳＯ$_3^-$）またはアンモニウム等の荷電置換基は、リンカー試薬の水溶性を増加させ、抗体及び／若しくは薬物部分とのリンカー試薬のカップリング反応を促進し得るか、またはＡＤＣを調製するために用いられる

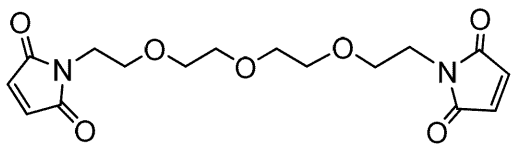
合成経路に応じて、ＤとのＡｂ－Ｌ（抗体－リンカー中間体）とのカップリング反応、若しくはＡｂとのＤ－Ｌ（薬物－リンカー中間体）とのカップリング反応を促進し得る。いくつかの実施形態において、リンカーの一部分が抗体にカップリングされ、リンカーの一部分が薬物にカップリングされ、次いでＡｂ－（リンカー部分）^{a}が薬物－（リンカー部分）^{b}にカップリングされて、式ＩのＡＤＣが形成される。いくつかのかかる実施形態において、本抗体は、１つを超える薬物が式ＩのＡＤＣにおいて抗体にカップリングされるように、１つを超える（リンカー部分）^{a}置換基を含む。

【０２８２】

本発明の化合物は、次のリンカー試薬、すなわちビス－マレイミド－トリオキシエチレングリコール（ＢＭＰＥＯ）、Ｎ－（β－マレイミドプロピルオキシ）－Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドエステル（ＢＭＰＳ）、Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）コハク酸イミドエステル（ＥＭＣＳ）、Ｎ－［γ－マレイミドブチリルオキシ］コハク酸イミドエステル（ＧＭＢＳ）、１，６－ヘキサン－ビス－ビニルスルホン（ＨＢＶＳ）、コハク酸イミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシ－（６－アミドカプロン酸塩）（ＬＣ－ＳＭＣＣ）、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドエステル（ＭＢＳ）、４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）酪酸ヒドラジド（ＭＰＢＨ）、コハク酸イミジル３－（ブロモアセトアミド）プロピオン酸塩（ＳＢＡＰ）、コハク酸イミジルヨード酢酸塩（ＳＩＡ）、コハク酸イミジル（４－ヨードアセチル）アミノ安息香酸塩（ＳＩＡＢ）、Ｎ－コハク酸イミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸塩（ＳＰＤＰ）、Ｎ－コハク酸イミジル－４－（２－ピリジルチオ）ペンタン酸塩（ＳＰＰ）、コハク酸イミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩（ＳＭＣＣ）、コハク酸イミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）酪酸塩（ＳＭＰＢ）、コハク酸イミジル６－［（β－マレイミドプロピオンアミド）ヘキサン酸塩］（ＳＭＰＨ）、イミノチオラン（ＩＴ）、スルホ－ＥＭＣＳ、スルホ－ＧＭＢＳ、スルホ－ＫＭＵＳ、スルホ－ＭＢＳ、スルホ－ＳＩＡＢ、スルホ－ＳＭＣＣ、及びスルホ－ＳＭＰＢ、ならびにコハク酸イミジル－（４－ビニルスルホン）安息香酸塩（ＳＶＳＢ）で、また次のビス－マレイミド試薬、すなわちジチオビスマレイミドエタン（ＤＴＭＥ）、１，４－ビスマレイミドブタン（ＢＭＢ）、１，４ビスマレイミジル－２，３－ジヒドロキシブタン（ＢＭＤＢ）、ビスマレイミドヘキサン（ＢＭＨ）、ビスマレイミドエタン（ＢＭＯＥ）、ＢＭ（ＰＥＧ）$_{2}$（以下に示される）、及びＢＭ（ＰＥＧ）$_{3}$（以下に示される）、イミドエステルの二機能性誘導体（アジプイミド酸ジメチルＨＣｌ等）、活性エステル（スベリン酸ジスクシンイミジル等）、アルデヒド（グルタルアルデヒド等）、ビス－アジド化合物（ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン等）、ビス－ジアゾニウム誘導体（ビス－（ｐ－ジアゾニウムンゾイル等）－エチレンジアミン）、ジイソシアン酸塩（トルエン２，６－ジイソシアン酸塩等）、及びビス活性フッ素化合物（１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン等）で調製されるＡＤＣを明示的に企図するが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、ビス－マレイミド試薬は、抗体におけるシステインのチオール基がチオール含有薬物部分、リンカー、またはリンカー－薬物中間体に結合するのを可能にする。チオール基と反応性である他の官能基には、ヨードアセトアミド、ブロモアセトアミド、ビニルピリジン、ジスルフィド、ピリジルジスルフィド、イソシアン酸塩、及びイソチオシアン酸塩が含まれるが、これらに限定されない。



BM(PEG)$_2$



BM(PEG)$_3$

【０２８３】

ある特定の有用なリンカー試薬は、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ），Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．（Ｂｏｕｌｄｅｒ，ＣＯ）等の、種々の商業的供給源から得るか、または当該技術分野において、例えば、Ｔｏｋｉ ｅｔ ａｌ（２００２）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．６７：１８６６－１８７２、Ｄｕｂｏｗｃｈｉｋ，ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔｅｒｓ，３８：５２５７－６０、Ｗａｌｋｅｒ，Ｍ．Ａ．（１９９５）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．６０：５３５２－５３５５、Ｆｒｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ（１９９６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．７：１８０－１８６、ＵＳ６２１４３４５、ＷＯ０２／０８８１７２、ＵＳ２００３１３０１８９、ＵＳ２００３０９６７４３、ＷＯ０３／０２６５７７、ＷＯ０３／０４３５８３、及びＷＯ０４／０３２８２８に記載される手順に従って合成することができる。

【０２８４】

炭素－１４標識１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、放射性ヌクレオチドを抗体にコンジュゲートさせるための、例示的なキレート剤である。例えば、ＷＯ９４／１１０２６を参照されたい。

【０２８５】

ｂ）例示的な薬物部分

（１）マイタンシン及びマイタンシノイド

いくつかの実施形態において、免疫複合体は、１つ以上のマイタンシノイド分子にコンジュゲートされた抗体を含む。マイタンシノイドは、マイタンシンの誘導体であり、チューブリン重合化を阻害することによって作用する有糸分裂阻害剤である。マイタンシンは、東アフリカ低木メイテナス・セラタ（ｅａｓｔ Ａｆｒｉｃａｎ ｓｈｒｕｂ Ｍａｙｔｅｎｕｓ ｓｅｒｒａｔａ）から最初に単離された（米国特許第３８９６１１１号）。その後、ある特定のマイクローブもまた、マイタンシノール及びＣ－３マイタンシノールエステル等のマイタンシノイドを産生することが発見された（米国特許第４，１５１，０４２号）。合成マイタンシノイドは、例えば、米国特許第４，１３７，２３０号、同第４，２４８，８７０号、同第４，２５６，７４６号、同第４，２６０，６０８号、同第４，２６５，８１４号、同第４，２９４，７５７号、同第４，３０７，０１６号、同第４，３０８，２６８号、同第４，３０８，２６９号、同第４，３０９，４２８号、同第４，３１３，９４６号、同第４，３１５，９２９号、同第４，３１７，８２１号、同第４，３２２，３４８号、同第４，３３１，５９８号、同第４，３６１，６５０号、同第４，３６４，８６６号、同第４，４２４，２１９号、同第４，４５０，２５４号、同第４，３６２，６６３号、及び同第４，３７１，５３３号に開示されている。

【０２８６】

マイタンシノイド薬物部分は、（ｉ）発酵または化学修飾または発酵生成物の誘導体化による調製に比較的利用しやすく、（ｉｉ）非ジスルフィドリンカーによる抗体へのコンジュゲートに好適な官能基との誘導体化に適しており、（ｉｉｉ）血漿中で安定しており、かつ（ｉｖ）様々な腫瘍細胞株に対して有効であるため、抗体－薬物複合体中の魅力的な薬物部分である。

【０２８７】

マイタンシノイド薬物部分としての使用に好適なある特定のマイタンシノイドは、当該技術分野において既知であり、既知の方法に従って天然源から単離され得るか、または遺伝子操作技法を使用して産生され得る（例えば、Ｙｕ ｅｔ ａｌ（２００２）ＰＮＡＳ ９９：７９６８－７９７３を参照されたい）。マイタンシノイドは、既知の方法に従って合成的に調製されてもよい。

【０２８８】

例示的なマイタンシノイド薬物部分としては、Ｃ－１９－デクロロ（米国特許第４２５６７４６号）（例えば、アンサマイトシンＰ２の水素化リチウムアルミニウム還元によって調製されるもの）、Ｃ－２０－ヒドロキシ（またはＣ－２０－デメチル）＋／－Ｃ－１９－デクロロ（米国特許第４３６１６５０号及び同第４３０７０１６号）（例えば、スト

レプトミセス若しくはアクチノミセスを使用する脱メチル化、またはＬＡＨを使用する脱塩素化によって調製されるもの）、及びＣ－２０－デメトキシ、Ｃ－２０－アシルオキシ（－ＯＣＯＲ）、＋／－デクロロ（米国特許第４，２９４，７５７号）（例えば、塩化アシルを使用するアシル化によって調製されるもの）等の修飾された芳香族環を有するもの、ならびに芳香族環の他の位置に修飾を有するものが含まれるが、これらに限定されない。

【０２８９】

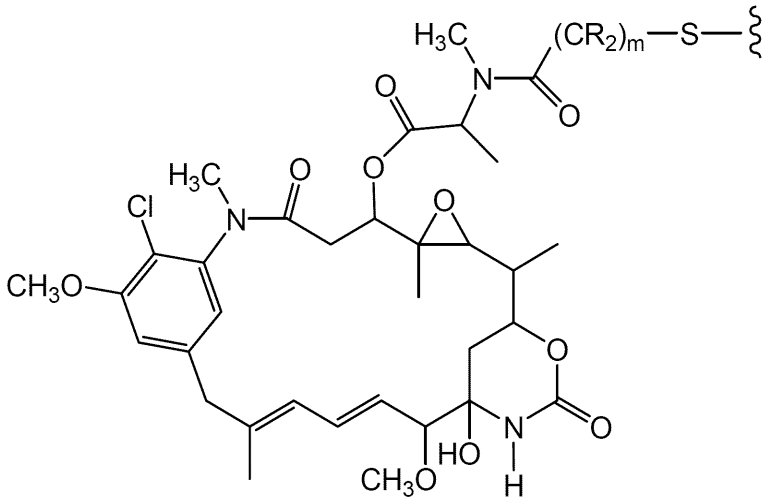
例示的なマイタンシノイド薬物部分としてはまた、Ｃ－９－ＳＨ（米国特許第４４２４２１９）（例えば、マイタンシノールと、H_2S若しくはP_2S_5との反応によって調製されるもの）、Ｃ－１４－アルコキシメチル（デメトキシ／CH_2OR）（米国特許第４３３１５９８号）、Ｃ－１４－ヒドロキシメチル若しくはアシルオキシメチル（CH_2OH若しくはCH_2OAc）（米国特許第４４５０２５４号）（例えば、ノカルディア（Ｎｏｃａｒｄｉａ）から調製されるもの）、Ｃ－１５－ヒドロキシ／アシルオキシ（米国特許第４３６４８６６号）（例えば、ストレプトミセスによるマイタンシノールの変換によって調製されるもの）、Ｃ－１５－メトキシ（米国特許第４３１３９４６号及び同第４３１５９２９号）（例えば、トレウィア・ヌドロフローラ（Ｔｒｅｗｉａ　ｎｕｄｌｆｌｏｒａ）から単離されるもの）、Ｃ－１８－Ｎ－ジメチル（米国特許第４３６２６６３号及び同第４３２２３４８号）（例えば、ストレプトミセスによるマイタンシノールの脱メチル化によって調製されるもの）、ならびに４，５－デオキシ（米国特許第４３７１５３３号）（例えば、マイタンシノールの三塩化チタン／ＬＡＨ還元によって調製されるもの）等の修飾を有するものが挙げられる。

【０２９０】

マイタンシノイド化合物上の多くの位置は、結合位置として有用である。例えば、エステル結合は、従来のカップリング技法を使用するヒドロキシル基との反応によって形成され得る。いくつかの実施形態において、この反応は、ヒドロキシル基を有するＣ－３位、ヒドロキシメチルで修飾されたＣ－１４位、ヒドロキシル基で修飾されたＣ－１５位、及びヒドロキシル基を有するＣ－２０位で起こり得る。いくつかの実施形態において、結合は、マイタンシノールまたはマイタンシノール類似体のＣ－３位で形成される。

【０２９１】

マイタンシノイド薬物部分としては、構造：

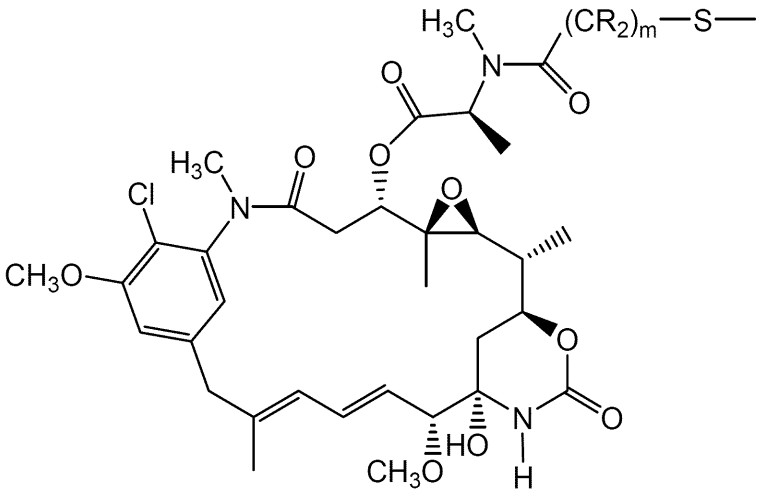


を有するものが挙げられ、式中、波線は、マイタンシノイド薬物部分の硫黄原子がＡＤＣのリンカーに対する共有結合を示す。各Ｒは独立して、ＨまたはＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり得る。アミド基を硫黄原子に結合させるアルキレン鎖は、メタニル、エタニル、またはプロピルであり得、すなわち、ｍは、１、２、または３である（ＵＳ６３３４１０、ＵＳ５２０８０２０、Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ（１９９２）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５２：１２７－１３１、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ

ＵＳＡ　９３：８６１８－８６２３）。

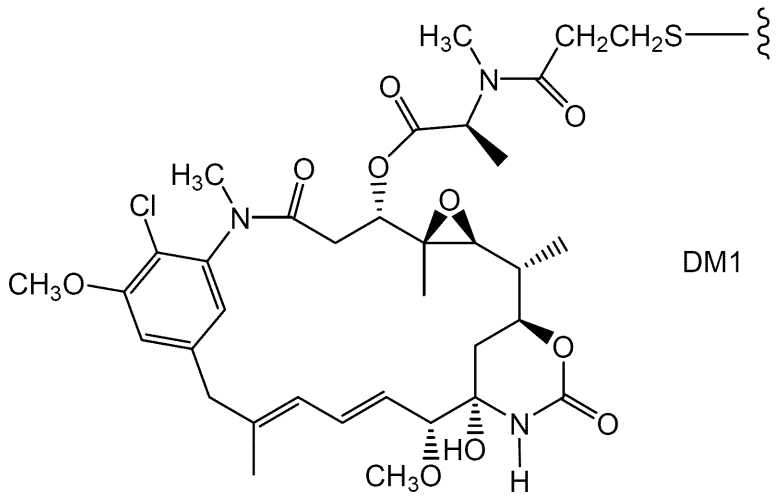
【０２９２】

マイタンシノイド薬物部分の全ての立体異性体は、本発明のＡＤＣ、すなわち、キラル炭素におけるＲ及びＳ構成の任意の組み合わせに対して企図される（ＵＳ７２７６４９７、ＵＳ６９１３７４８、ＵＳ６４４１１６３、ＵＳ６３３４１０（ＲＥ３９１５１）、ＵＳ５２０８０２０、Ｗｉｄｄｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ（２００６）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４９：４３９２－４４０８、これは参照により全体が組み込まれる）。いくつかの実施形態において、マイタンシノイド薬物部分は、以下の立体化学を有する。

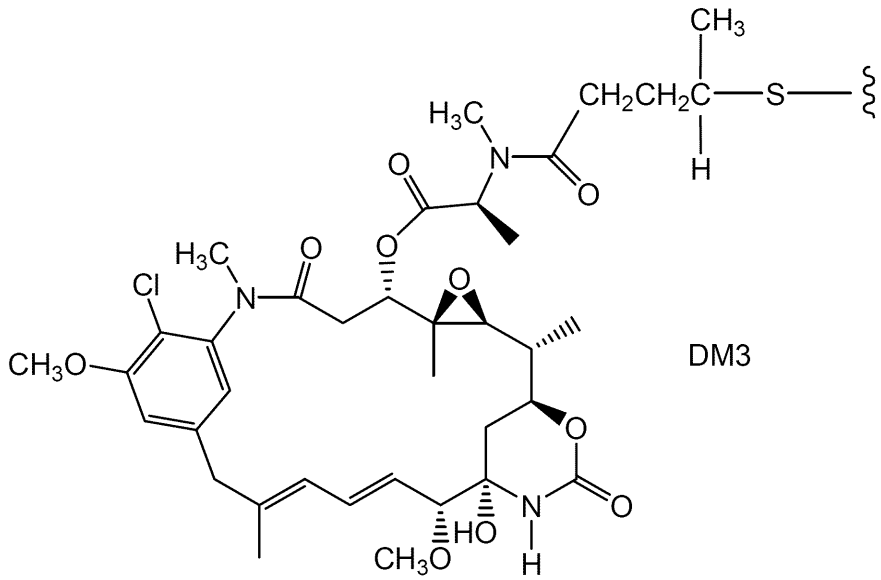


【０２９３】

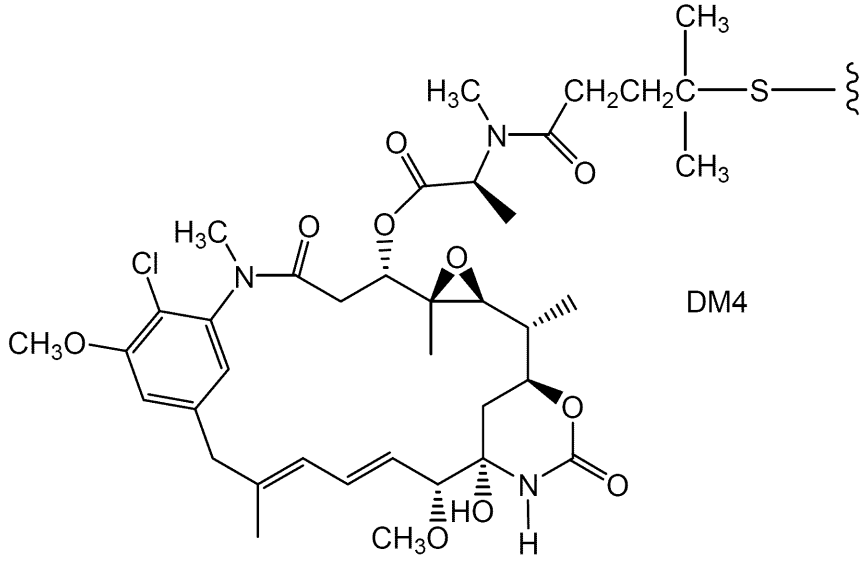
マイタンシノイド薬物部分の例示的な実施形態としては、構造：



DM1



DM3



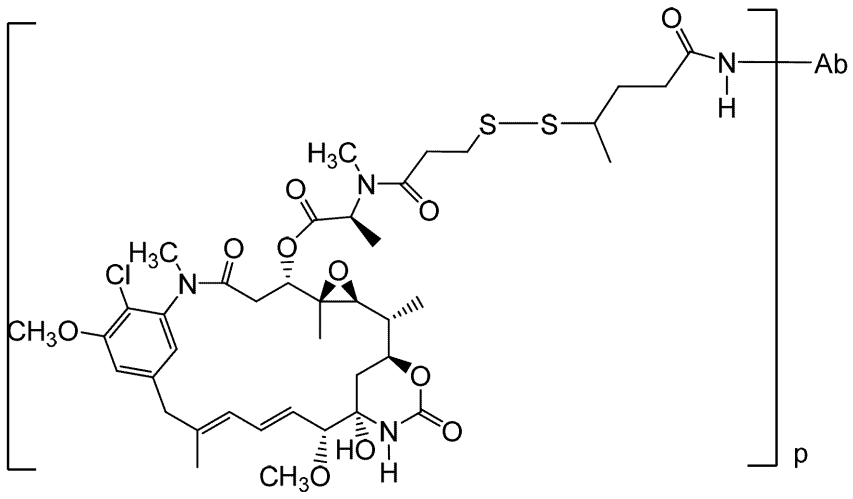
DM4

を有するＤＭ１、ＤＭ３、及びＤＭ４が含まれるが、これらに限定されず、式中、波線は、薬物の硫黄原子の、抗体－薬物複合体のリンカー（Ｌ）への共有結合を示す。

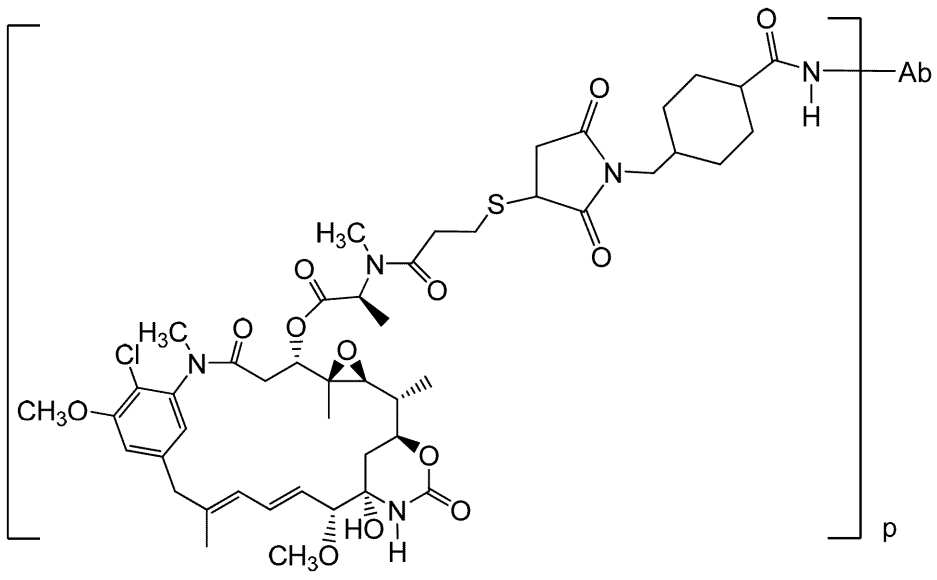
【０２９４】

他の例示的なマイタンシノイド抗体－薬物複合体は、以下の構造及び省略形を有する（式中、Ａｂは抗体であり、ｐは１～約２０である。いくつかの実施形態において、ｐは１

～１０であるか、ｐは１～７であるか、ｐは１～５であるか、またはｐは１～４である）。



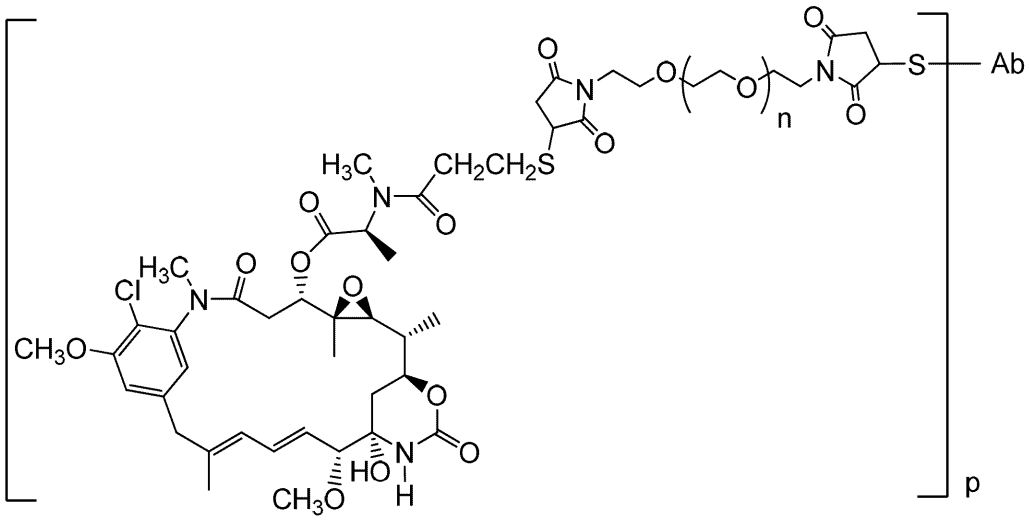
Ａｂ－ＳＰＰ－ＤＭ１



Ａｂ－ＳＭＣＣ－ＤＭ１

【０２９５】

ＤＭ１がＢＭＰＥＯリンカーを介して抗体のチオール基に結合される例示的な抗体－薬物複合体は、構造及び省略形：



を有し、式中、Ａｂは抗体であり、ｎは０、１、または２であり、ｐは１～約２０である

。いくつかの実施形態において、ｐは１～１０であるか、ｐは１～７であるか、ｐは１～５であるか、またはｐは１～４である。

【０２９６】

マイタンシノイドを含有する免疫複合体、その作製方法、及びそれらの治療的使用は、例えば、米国特許第５，２０８，０２０号及び同第５，４１６，０６４号、ＵＳ２００５／０２７６８１２Ａ１、ならびに欧州特許第０４２５２３５Ｂ１号に開示され、それらの開示は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：８６１８－８６２３（１９９６）、及びＣｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５２：１２７－１３１（１９９２）も参照されたい。

【０２９７】

いくつかの実施形態において、抗体－マイタンシノイド複合体は、抗体またはマイタンシノイド分子のいずれかの生物活性を著しく減少させることなく、抗体をマイタンシノイド分子に化学的に結合させることによって調製されてもよい。例えば、米国特許第５，２０８，０２０号を参照されたい（その開示は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる）。いくつかの実施形態において、抗体分子１個当たり平均３～４個のマイタンシノイド分子がコンジュゲートされたＡＤＣは、抗体の機能または可溶性に悪影響を及ぼすことなく、標的細胞の細胞傷害性を増強することにおいて有効性を示した。場合によっては、毒素／抗体の１つの分子でさえも、裸の抗体を使用するより細胞傷害性を増強することが予想される。

【０２９８】

抗体－マイタンシノイド複合体を作製するための例示的な結合基としては、例えば、本明細書に記載されるもの、及び米国特許第５２０８０２０号、欧州特許第０４２５２３５Ｂ１号、Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５２：１２７－１３１（１９９２）、ＵＳ２００５／０２７６８１２Ａ１、及びＵＳ２００５／０１６９９３Ａ１に開示されるものが挙げられ、それらの開示は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

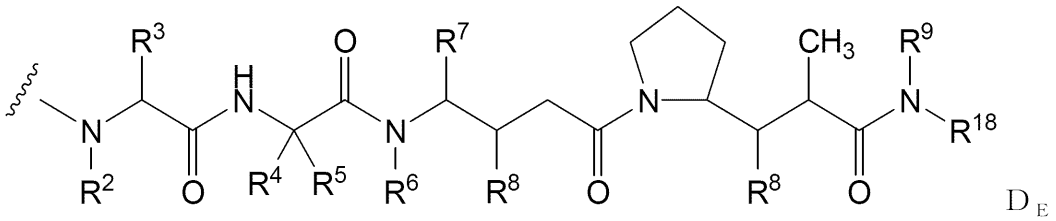
【０２９９】

（２）オーリスタチン及びドラスタチン

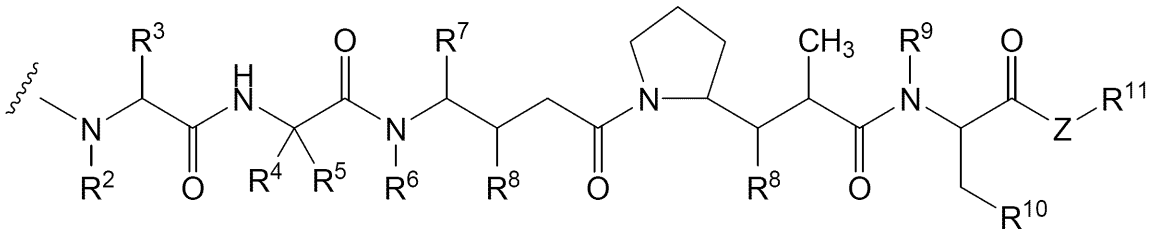
薬物部分は、ドラスタチン、オーリスタチン、ならびにそれらの類似体及び誘導体を含む（ＵＳ５６３５４８３、ＵＳ５７８０５８８、ＵＳ５７６７２３７、ＵＳ６１２４４３１）。オーリスタチンは、海生軟体動物化合物ドラスタチン－１０の誘導体である。いかなる特定の理論によっても拘束されることを意図しないが、ドラスタチン及びオーリスタチンは、微小管動態、ＧＴＰ加水分解、ならびに核分裂及び細胞分裂を干渉し（Ｗｏｙｋｅ ｅｔ ａｌ（２００１）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ ａｎｄ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４５（１２）：３５８０－３５８４）、抗癌活性（米国特許第５６６３１４９）及び抗菌活性（Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９９８）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４２：２９６１－２９６５）を有する。ドラスタチン／オーリスタチン薬物部分は、ペプチド薬物部分のＮ（アミノ）末端またはＣ（カルボキシル）末端を介して抗体に結合され得る（ＷＯ０２／０８８１７２、Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ（２００３）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２１（７）：７７８－７８４、Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ ｅｔ ａｌ（２００３）Ｂｌｏｏｄ １０２（４）：１４５８－１４６５）。

【０３００】

例示的なオーリスタチン実施形態としては、ＵＳ７４９８２９８及びＵＳ７６５９２４１に開示されるＮ末端結合されたモノメチルオーリスタチン薬物部分D_E及びD_Fが挙げられ、それらの開示は、参照にその全体が明示的に組み込まれ、



D_E



D_F

式中、D_E及びD_Fの破線は、抗体または抗体－リンカー成分への共有結合部位を示し、独立して各位置において、

R^2が、H及びC_1～C_8アルキルから選択され、

R^3が、H、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環、及びC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され、

R^4が、H、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環、及びC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され、

R^5が、H及びメチルから選択されるか、

またはR^4及びR^5が結合して炭素環を形成し、式－（CR^aR^b）$_n$－を有し、式中、R^a及びR^bが独立して、H、C_1～C_8アルキル、及びC_3～C_8炭素環から選択され、nが、2、3、4、5、及び6から選択され、

R^6が、H及びC_1～C_8アルキルから選択され、

R^7が、H、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環、及びC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され、

各R^8が独立して、H、OH、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、及びO－（C_1～C_8アルキル）から選択され、

R^9が、H及びC_1～C_8アルキルから選択され、

R^{10}が、アリールまたはC_3～C_8複素環から選択され、

Zが、O、S、NH、またはNR^{12}であり、式中、R^{12}が、C_1～C_8アルキルであり、

R^{11}が、H、C_1～C_{20}アルキル、アリール、C_3～C_8複素環、－（$R^{13}O$）$_m$－R^{14}、または－（$R^{13}O$）$_m$－$CH(R^{15})_2$から選択され、

mが、１～１０００の範囲の整数であり、

R^{13}が、C_2～C_8アルキルであり、

R^{14}が、HまたはC_1～C_8アルキルであり、

それぞれ存在するR^{15}が独立して、H、COOH、－（CH_2）$_n$－$N(R^{16})_2$、－（CH_2）$_n$－SO_3H、または－（CH_2）$_n$－SO_3－C_1～C_8アルキルであり、

それぞれ存在するR^{16}が独立して、H、C_1～C_8アルキル、または－（CH_2）$_n$－COOHであり、

R^{18}が、－$C(R^8)_2$－$C(R^8)_2$－アリール、－$C(R^8)_2$－$C(R^8)_2$－（C_3～C_8複素環）、及び－$C(R^8)_2$－$C(R^8)_2$－（C_3～C_8炭素環）から選択され、

ｎが、０～６の範囲の整数である。

【０３０１】

一実施形態において、R^3、R^4、及びR^7は独立して、イソプロピルまたはｓｅｃ－ブチルであり、R^5は、－Ｈまたはメチルである。例示的な実施形態において、R^3及びR^4は、それぞれイソプロピルであり、R^5は、－Ｈであり、R^7は、ｓｅｃ－ブチルである。

【０３０２】

さらに別の実施形態において、R^2及びR^6は、それぞれメチルであり、R^9は、－Ｈである。

【０３０３】

さらに別の実施形態において、それぞれ存在するR^8は、$-OCH_3$である。

【０３０４】

例示的な実施形態において、R^3及びR^4は、それぞれイソプロピルであり、R^2及びR^6は、それぞれメチルであり、R^5は、－Ｈであり、R^7は、ｓｅｃ－ブチルであり、それぞれ存在するR^8は、$-OCH_3$であり、R^9は、－Ｈである。

【０３０５】

一実施形態において、Ｚは、－Ｏ－または－ＮＨ－である。

【０３０６】

一実施形態において、R^{10}は、アリールである。

【０３０７】

例示的な実施形態において、R^{10}は、－フェニルである。

【０３０８】

例示的な実施形態において、Ｚが－Ｏ－である場合、R^{11}は、－Ｈ、メチル、またはｔ－ブチルである。

【０３０９】

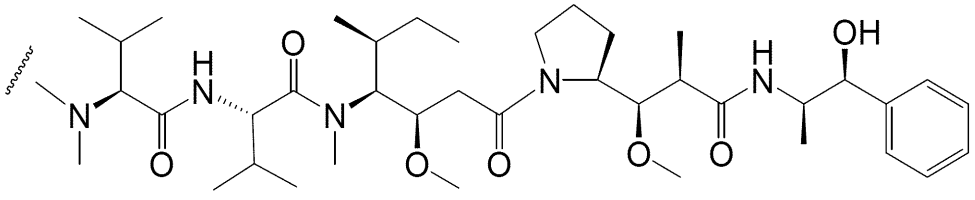
一実施形態において、Ｚが－ＮＨである場合、R^{11}は、$-CH(R^{15})_2$であり、式中、R^{15}が、$-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$であり、R^{16}が、$-C_1$～C_8アルキルまたは$-(CH_2)_n-COOH$である。

【０３１０】

別の実施形態において、Ｚが－ＮＨである場合、R^{11}は、$-CH(R^{15})_2$であり、式中、R^{15}は、$-(CH_2)_n-SO_3H$である。

【０３１１】

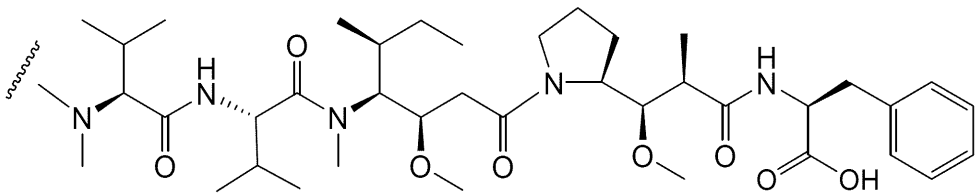
式D_Eの例示的なオーリスタチン実施形態は、ＭＭＡＥであり、式中、波線は、抗体－薬物複合体のリンカー（Ｌ）への共有結合を示す。



MMAE

【０３１２】

式D_Fの例示的なオーリスタチン実施形態は、ＭＭＡＦであり、式中、波線は、抗体－薬物複合体のリンカー（Ｌ）への共有結合を示す。



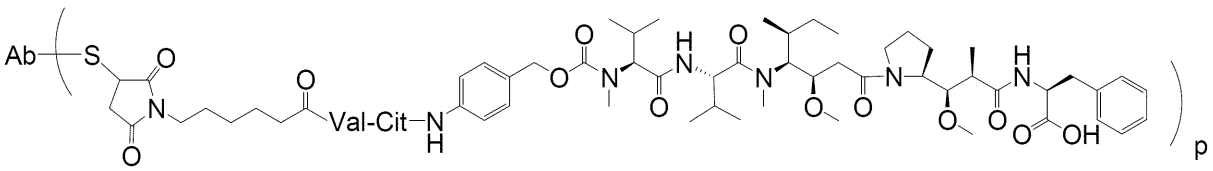
MMAF

【０３１３】

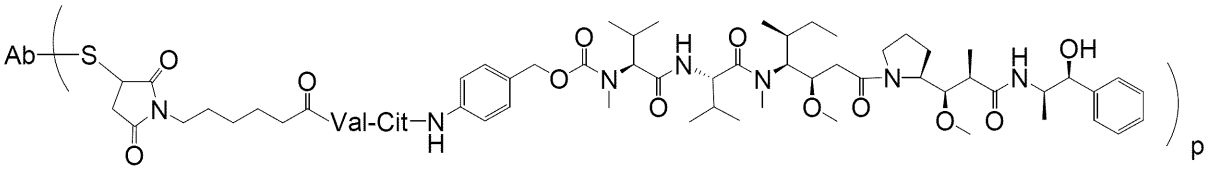
他の例示的な実施形態としては、ペンタペプチドオーリスタチン薬物部分のＣ末端にフェニルアラニンカルボキシ修飾を有するモノメチルバリン化合物（ＷＯ２００７／００８８４８）及びペンタペプチド薬物部分のＣ末端にフェニルアラニン側鎖修飾を有するモノメチルバリン化合物（ＷＯ２００７／００８６０３号）が挙げられる。

【０３１４】

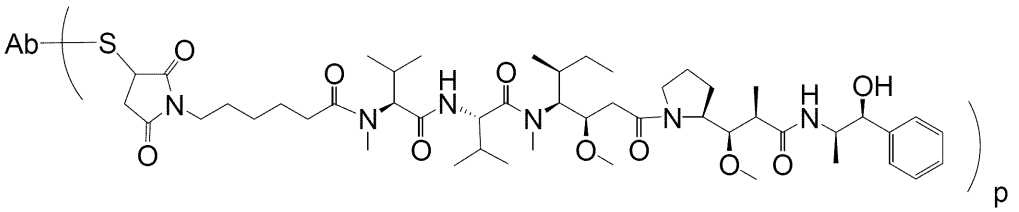
ＭＭＡＥまたはＭＭＡＦ及び様々なリンカー成分を含む式ＩのＡＤＣの実施形態の非限定的な例は、以下の構造及び省略形を有する（式中、「Ａｂ」は、抗体であり、ｐは、１～約８であり、「Ｖａｌ－Ｃｉｔ」は、バリン－シトルリンジペプチドであり、「Ｓ」は、硫黄原子である。



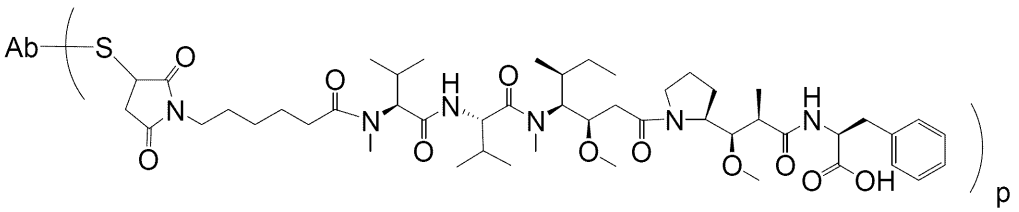
Ａｂ－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦ



Ａｂ－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ



Ａｂ－ＭＣ－ＭＭＡＥ



Ａｂ－ＭＣ－ＭＭＡＦ

【０３１５】

ＭＭＡＦ及び様々なリンカー成分を含む式ＩのＡＤＣの実施形態の非限定的な例としては、さらにＡｂ－ＭＣ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦ及びＡｂ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦが挙げられる。タンパク質分解的に切断可能でないリンカーによって抗体に結合されたＭＭＡＦを含む免疫複合体は、タンパク質的に切断可能なリンカーによって抗体に結合されたＭＭＡＦを含む免疫複合体に相当する活性を有することが示された（Ｄｏｒｏｎｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．（２００６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．１７：１１４－１２４）。いくつかのかかる実施形態において、薬物放出は、細胞内の抗体分解によって引き起こされると考えられる。

【０３１６】

典型的に、ペプチド型薬物部分は、２つ以上のアミノ酸及び／またはペプチド断片の間

にペプチド結合を形成することによって調製することができる。かかるペプチド結合は、例えば、液相合成法に従って調製することができる（例えば、Ｅ．Ｓｃｈｒｏｄｅｒ ａｎｄ Ｋ．Ｌｕｂｋｅ（１９６５）″Ｔｈｅ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ”，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐｐ ７６－１３６，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ）。オーリスタチン／ドラスタチン薬物部分は、いくつかの実施形態において、ＵＳ７４９８２９８、ＵＳ５６３５４８３、ＵＳ５７８０５８８、Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９８９）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１１１：５４６３－５４６５、Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９９８）Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ １３：２４３－２７７、Ｐｅｔｔｉｔ，Ｇ．Ｒ．，ｅｔ ａｌ．Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，１９９６，７１９－７２５、Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９９６）Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｐｅｒｋｉｎ Ｔｒａｎｓ．１ ５：８５９－８６３、及びＤｏｒｏｎｉｎａ（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２１（７）：７７８－７８４の方法に従って調製されてもよい。

【０３１７】

いくつかの実施形態において、ＭＭＡＥ等の式D_E、及びＭＭＡＦ等の式D_Fのオーリスタチン／ドラスタチン薬物部分、薬物－リンカー中間体、ならびにそれらの誘導体、例えば、ＭＣ－ＭＭＡＦ、ＭＣ－ＭＭＡＥ、ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦ、及びＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ等は、ＵＳ７４９８２９８、Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．（２００６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１７：１１４－１２４、及びＤｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２１：７７８－７８４に記載される方法を使用して調製され得、次に対象の抗体にコンジュゲートされ得る。

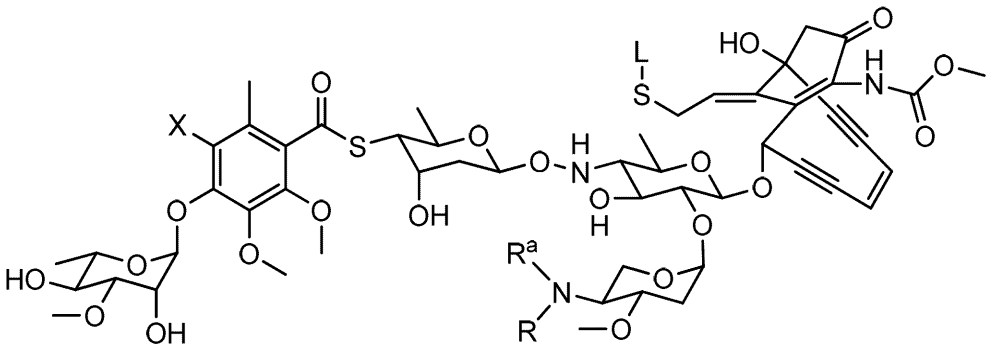
【０３１８】

（３）カリケアミシン

いくつかの実施形態において、免疫複合体は、１つ以上のカリケアミシン分子にコンジュゲートされた抗体を含む。カリケアミシンファミリーの抗生物質、及びそれらの類似体は、ピコモル以下の濃度で二重鎖ＤＮＡ切断を生成することができる（Ｈｉｎｍａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５３：３３３６－３３４２、Ｌｏｄｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９８）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５８：２９２５－２９２８）。カリケアミシンは、細胞内作用部位を有するが、ある特定の例では、血漿膜を容易に横断しない。したがって、いくつかの実施形態において、抗体媒介性内在化によるこれらの薬剤の細胞取り込みによって、それらの細胞傷害性効果を大幅に増強され得る。カリケアミシン薬物部分を有する抗体－薬物複合体を調製する方法の非限定的な例は、例えば、ＵＳ５７１２３７４、ＵＳ５７１４５８６、ＵＳ５７３９１１６、及びＵＳ５７６７２８５に記載されている。

【０３１９】

いくつかの実施形態において、抗体にコンジュゲートされるカリケアミシン薬物部分は、式：



、

を有する化合物であり、式中、Ｘが、ＢｒまたはＩであり、

Ｌが、リンカーであり、Ｒが、水素、$C_{1\sim6}$アルキル、または－Ｃ（＝Ｏ）$C_{1\sim6}$アルキルであり、R^aが、水素または$C_{1\sim6}$アルキルである。

【０３２０】

いくつかの実施形態において、Ｘは、Ｂｒであり、Ｒ^{a}は、水素であり、Ｒは、イソプロピルである。

【０３２１】

他の実施形態において、Ｘは、Ｂｒであり、Ｒ^{a}は、水素であり、Ｒは、エチルである。

【０３２２】

他の実施形態において、Ｘは、Ｉであり、Ｒ^{a}は、水素であり、Ｒは、イソプロピルである。

【０３２３】

他の実施形態において、Ｘは、Ｉであり、Ｒ^{a}は、水素であり、Ｒは、エチルである。

【０３２４】

いくつかの実施形態において、Ｘは、Ｂｒであり、Ｒ^{a}は、水素であり、Ｒは、－Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_{3}$である。

【０３２５】

他の実施形態において、Ｘは、Ｉであり、Ｒ^{a}は、水素であり、Ｒは、－Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_{3}$である。

【０３２６】

他の実施形態において、Ｘは、Ｉであり、Ｒ^{a}は、エチルであり、Ｒは、－Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_{3}$である。

【０３２７】

他の実施形態において、Ｘは、Ｂｒであり、Ｒ^{a}は、エチルであり、Ｒは、－Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_{3}$である。

【０３２８】

（４）ピロロベンゾジアゼピン

いくつかの実施形態において、ＡＤＣは、ピロロベンゾジアゼピン（ＰＢＤ）を含む。いくつかの実施形態において、ＰＢＤ二量体は、特異的なＤＮＡ配列を認識し、それに結合する。天然生成物アントラマイシンであるＰＢＤは、１９６５年に最初に報告された（Ｌｅｉｍｇｒｕｂｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（１９６５）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，８７：５７９３－５７９５、Ｌｅｉｍｇｒｕｂｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（１９６５）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，８７：５７９１－５７９３）。それ以来、三環式ＰＢＤ足場の二量体を含む、自然発生及び類似体の両方のいくつかのＰＢＤが、報告されてきている（Ｔｈｕｒｓｔｏｎ，ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．１９９４，４３３－４６５（ＵＳ６８８４７９９、ＵＳ７０４９３１１、ＵＳ７０６７５１１、ＵＳ７２６５１０５、ＵＳ７５１１０３２、ＵＳ７５２８１２６、ＵＳ７５５７０９９）。いかなる特定の理論にも拘束されることを意図せずに、二量体構造が、Ｂ型ＤＮＡの副溝との等螺旋性（ｉｓｏｈｅｌｉｃｉｔｙ）に適切な三次元形状を付与し、それによって結合部位において滑り嵌めがもたらされると考えられている（Ｋｏｈｎ，Ｉｎ Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ ＩＩＩ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．３－１１（１９７５）、Ｈｕｒｌｅｙ ａｎｄ Ｎｅｅｄｈａｍ－ＶａｎＤｅｖａｎｔｅｒ，（１９８６）Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．，１９：２３０－２３７）。Ｃ２アリール置換基を有する二量体ＰＢＤ化合物は、細胞傷害性薬剤として有用であることが示されてきた（Ｈａｒｔｌｅｙ ｅｔ ａｌ（２０１０）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．７０（１７）：６８４９－６８５８、Ａｎｔｏｎｏｗ（２０１０）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５３（７）：２９２７－２９４１、Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ（２００９）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ａｎｄ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ １９（２２）：６４６３－６４６６）。

【０３２９】

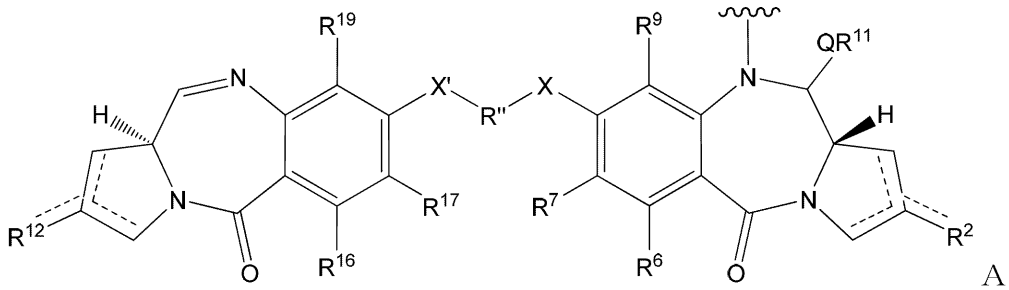
いくつかの実施形態において、ＰＢＤ化合物は、それらをＮ１０位において、ｉｎ ｖｉｖｏで除去可能である窒素保護基で保護することによって、プロドラッグとして用いることができる（ＷＯ００／１２５０７、ＷＯ２００５／０２３８１４号）。

【０３３０】

ＰＢＤ二量体は、抗体にコンジュゲートされており、結果として生じるＡＤＣは、抗癌特性を有することが示されてきた（ＵＳ２０１０／０２０３００７）。ＰＢＤ二量体上の結合部位の非限定的な例には、５員のピロロ環、ＰＢＤ単位の間のテザー、及びＮ１０－Ｃ１１イミン基が含まれる（ＷＯ２００９／０１６５１６、ＵＳ２００９／３０４７１０、ＵＳ２０１０／０４７２５７、ＵＳ２００９／０３６４３１、ＵＳ２０１１／０２５６１５７、ＷＯ２０１１／１３０５９８）。

【０３３１】

ＡＤＣのＰＢＤ二量体構成要素の非限定的な例は、式Ａ：



Ａ

のもの、ならびにその塩及び溶媒和物であり、式中、

波線は、リンカーへの共有結合部位を示し、

点線は、Ｃ１とＣ２との間またはＣ２とＣ３の間の二重結合の任意の存在を示し、

R^2が独立して、Ｈ、ＯＨ、＝Ｏ、＝CH_2、ＣＮ、Ｒ、ＯＲ、＝ＣＨ－R^D、＝$C(R^D)_2$、Ｏ－SO_2－Ｒ、CO_2R、及びＣＯＲから選択され、任意にハロまたはジハロからさらに選択され、R^Dが独立して、Ｒ、CO_2R、ＣＯＲ、ＣＨＯ、CO_2H、及びハロから選択され、

R^6及びR^9が独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ′、NO_2、Me_3Sn、及びハロから選択され、

R^7が独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ′、NO_2、Me_3Sn、及びハロから選択され、

Ｑが独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮＨから選択され、

R^{11}が、Ｈ若しくはＲのいずれかであるか、またはＱがＯである場合にはSO_3Mであり、式中、Ｍが金属陽イオンであり、

Ｒ及びＲ′がそれぞれ独立して、任意に置換されるC_{1-8}アルキル、C_{1-12}アルキル、C_{3-8}ヘテロシクリル、C_{3-20}ヘテロシクリル、及びC_{5-20}アリール基から選択され、任意に基ＮＲＲ′との関連で、Ｒ及びＲ′が、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４員、５員、６員、または７員の複素環式環を形成し、

R^{12}、R^{16}、R^{19}、及びR^{17}が、それぞれR^2、R^6、R^9、及びR^7について定義される通りであり、

Ｒ″は、C_{3-12}アルキレン基であり、その鎖は、１個以上のヘテロ原子、例えば、Ｏ、Ｓ、Ｎ（Ｈ）、ＮＭｅ、及び／または芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジンによって分断され得、それらの環は、任意に置換されており、

Ｘ及びＸ′が独立して、Ｏ、Ｓ、及びＮ（Ｈ）から選択される。

【０３３２】

いくつかの実施形態において、Ｒ及びＲ′はそれぞれ独立して、任意に置換される$C_{1\sim12}$アルキル、$C_{3\sim20}$複素環、及び$C_{5\sim20}$アリール基から選択され、任意に基ＮＲＲ′との関連で、Ｒ及びＲ′は、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４員、５員、６員、または７員の複素環式環を形成する。

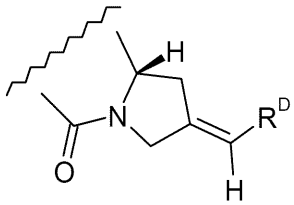
【０３３３】

いくつかの実施形態において、R^9及びR^{19}は、Ｈである。

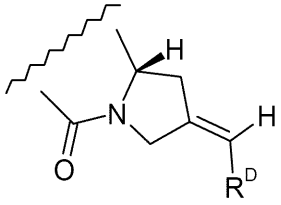
【０３３４】

いくつかの実施形態において、R^6及びR^{16}は、Ｈである。

【０３３５】
いくつかの実施形態において、R^{7}及びR^{17}は両方とも、OR^{7A}であり、式中、R^{7A}は、任意に置換されるC_{1-4}アルキルである。いくつかの実施形態において、R^{7A}は、Ｍｅである。いくつかの実施形態において、R^{7A}は、Ch_2Phであり、式中、Ｐｈは、フェニル基である。
【０３３６】
いくつかの実施形態において、Ｘは、Ｏである。
【０３３７】
いくつかの実施形態において、R^{11}は、Ｈである。
【０３３８】
いくつかの実施形態において、各単量体単位においてＣ２とＣ３との間に二重結合が存在する。
【０３３９】
いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}は独立して、Ｈ及びＲから選択される。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}は独立して、Ｒである。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}は独立して、任意に置換されるC_{5-20}アリールまたはC_{5-7}アリールまたはC_{8-10}アリールである。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}は独立して、任意に置換されるフェニル、チエニル、ナプチル（ｎａｐｔｈｙｌ）、ピリジル、キノリニル、またはイソキノリニルである。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}は独立して、＝Ｏ、$=CH_2$、$=CH-R^{D}$、及び$=C(R^{D})_2$から選択される。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}はそれぞれ、$=CH_2$である。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}はそれぞれＨである。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}はそれぞれ＝Ｏである。いくつかの実施形態において、R^{2}及びR^{12}はそれぞれ$=CF_2$である。いくつかの実施形態において、R^{2}及び／またはR^{12}は独立して、$=C(R^{D})_2$である。いくつかの実施形態において、R^{2}及び／またはR^{12}は独立して、$=CH-R^{D}$である。
【０３４０】
いくつかの実施形態において、R^{2}及び／またはR^{12}が$=CH-R^{D}$であるとき、各基は独立して、以下に示される立体配置のいずれかを有し得る。

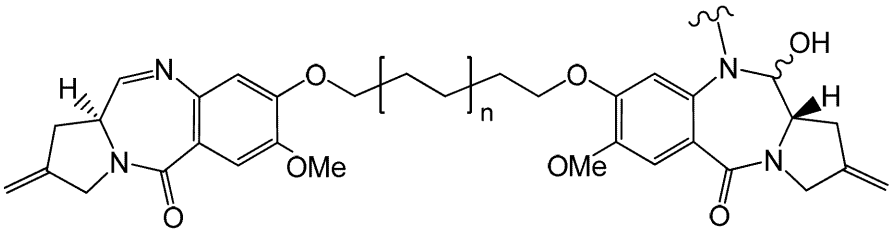


(I)



(II)

いくつかの実施形態において、$=CH-R^{D}$は、立体配置（Ｉ）にある。
【０３４１】
いくつかの実施形態において、Ｒ″は、C_3アルキレン基またはC_5アルキレン基である。
【０３４２】
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例示的なＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（Ｉ）：

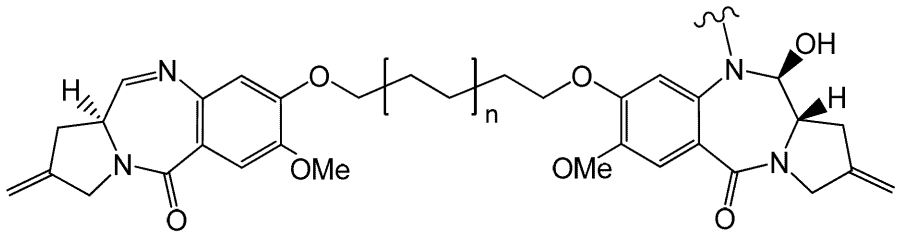


Ａ（Ｉ）、

の構造を有し、式中、ｎが、０または１である。

【０３４３】

いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例示的なＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（ＩＩ）：

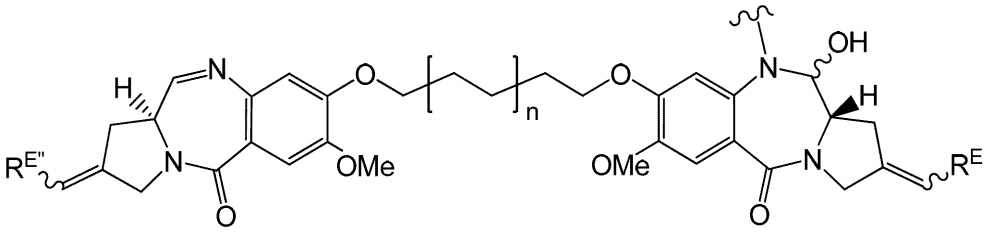


Ａ（ＩＩ）、

の構造を有し、式中、ｎが、０または１である。

【０３４４】

いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例示的なＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（ＩＩＩ）：



Ａ（ＩＩＩ）、

の構造を有し、式中、R^E及び$R^{E''}$はそれぞれ独立して、ＨまたはR^Dから選択され、式中、R^Dは、上記のように定義され、

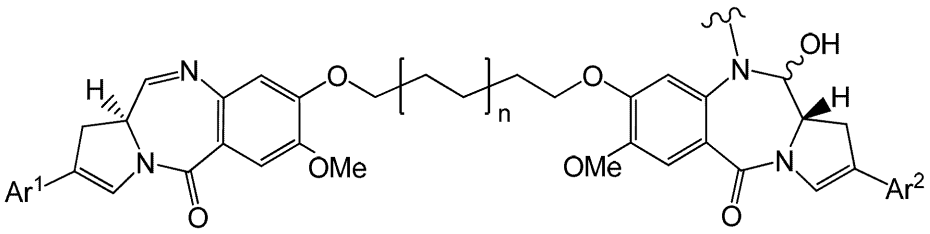
式中、ｎが、０または１である。

【０３４５】

いくつかの実施形態において、ｎは、０である。いくつかの実施形態において、ｎは、１である。いくつかの実施形態において、R^E及び／または$R^{E''}$はＨである。いくつかの実施形態において、R^E及び$R^{E''}$はＨである。いくつかの実施形態において、R^E及び／または$R^{E''}$はR^Dであり、式中、R^Dは、任意に置換されるC_{1-12}アルキルである。いくつかの実施形態において、R^E及び／または$R^{E''}$は、R^Dであり、式中、R^Dは、メチルである。

【０３４６】

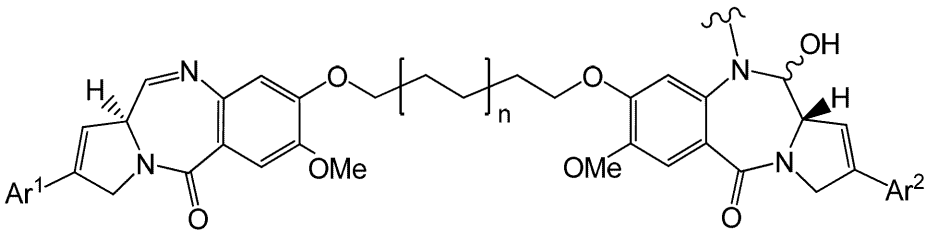
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例示的なＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（ＩＶ）：



Ａ（ＩＶ）、

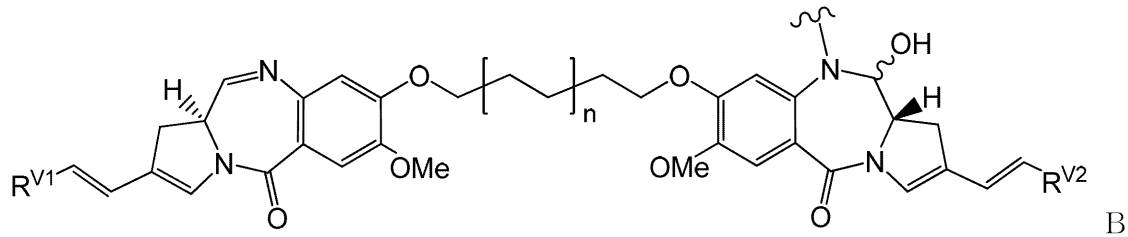
の構造を有し、式中、Ar^1及びAr^2はそれぞれ独立して、任意に置換されるC_{5-2}

$_{0}$アリールであり、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}は、同じであっても異なってもよく、
式中、ｎが、０または１である。
【０３４７】
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例示的なＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（Ｖ）：



Ａ（Ｖ）、

の構造を有し、式中、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}はそれぞれ独立して、任意に置換されるＣ$_{5-20}$アリールであり、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}は、同じであっても異なってもよく、
式中、ｎが、０または１である。
【０３４８】
いくつかの実施形態において、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}はそれぞれ独立して、任意に置換されるフェニル、フラニル、チオフェニル、及びピリジルから選択される。いくつかの実施形態において、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}はそれぞれ独立して、任意に置換されるフェニルである。いくつかの実施形態において、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}はそれぞれ独立して、任意に置換されるチエン－２－イルまたはチエン－３－イルである。いくつかの実施形態において、Ａｒ^{1}及びＡｒ^{2}はそれぞれ独立して、任意に置換されるキノリニルまたはイソキノリニルである。キノリニルまたはイソキノリニル基は、任意の利用可能な環の位置を介して、ＰＢＤコアに結合されてもよい。例えば、キノリニルは、キノリン－２－イル、キノリン－３－イル、キノリン－４イル、キノリン－５－イル、キノリン－６－イル、キノリン－７－イル、及びキノリン－８－イルであり得る。いくつかの実施形態において、キノリニルは、キノリン－３－イル及びキノリン－６－イルから選択される。イソキノリニルは、イソキノリン－１－イル、イソキノリン－３－イル、イソキノリン－４イル、イソキノリン－５－イル、イソキノリン－６－イル、イソキノリン－７－イル、及びイソキノリン－８－イルであり得る。いくつかの実施形態において、イソキノリニルは、イソキノリン－３－イル及びイソキノリン－６－イルから選択される。
【０３４９】
ＡＤＣのＰＢＤ二量体構成要素のさらなる非限定的な例は、式Ｂ：



Ｂ

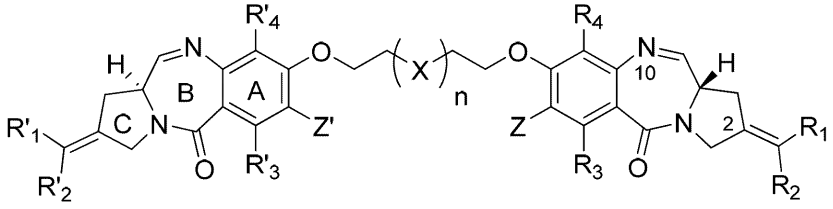
のもの、ならびにその塩及び溶媒和物であり、式中、
波線は、リンカーへの共有結合部位を示し、
ＯＨに接続された波線は、ＳまたはＲ配置を示し、
Ｒ^{Ｖ１}及びＲ^{Ｖ２}は独立して、Ｈ、メチル、エチル、及びフェニル（このフェニルは、特に４位において、フルオロで任意に置換されてもよい）、Ｃ$_{5-6}$ヘテロシクリルから選択され、式中、Ｒ^{Ｖ１}及びＲ^{Ｖ２}は、同じであっても異なってもよく、
ｎは、０または１である。
【０３５０】
いくつかの実施形態において、Ｒ^{Ｖ１}及びＲ^{Ｖ２}は独立して、Ｈ、フェニル、及び４－フルオロフェニルから選択される。

【０３５１】

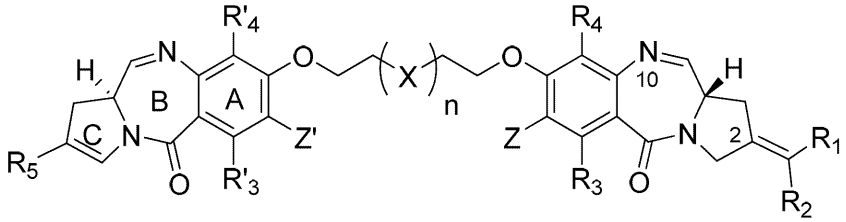
いくつかの実施形態において、リンカーは、Ｂ環のＮ１０イミン、Ｃ環のＣ－２エンド／エキソ位、またはＡ環を連結するテザー単位を含む、ＰＢＤ二量体薬物部分の種々の部位のうちの１つにおいて結合されてもよい（下の構造Ｃ（Ｉ）及びＣ（ＩＩ）を参照されたい）。

【０３５２】

ＡＤＣのＰＢＤ二量体構成要素の非限定的な例には、次の式Ｃ（Ｉ）及びＣ（ＩＩ）が含まれる。



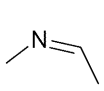
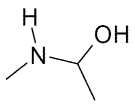
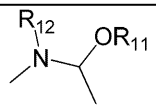
Ｃ（Ｉ）



Ｃ（ＩＩ）

【０３５３】

式Ｃ（Ｉ）及びＣ（ＩＩ）は、それらのＮ１０－Ｃ１１イミン型で示される。例示的なＰＢＤ薬物部分にはまた、以下の表に示される、カルビノールアミン及び保護されたカルビノールアミン型も含まれる。

 イミン	 カルビノールアミン	 保護されたカルビノールアミン

（式中、

Ｘは、ＣＨ$_2$（ｎ＝１～５）、Ｎ、またはＯであり、

Ｚ及びＺ’は独立して、ＯＲ及びＮＲ$_2$から選択され、式中、Ｒは、１～５個の炭素原子を含有する第一級、第二級、または第三級アルキル鎖であり、

Ｒ$_1$、Ｒ’$_1$、Ｒ$_2$及びＲ’$_2$はそれぞれ独立して、Ｈ、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_{5-20}$アリール（置換アリールを含む）、Ｃ$_{5-20}$ヘテロアリール基、－ＮＨ$_2$、－ＮＨＭｅ、－ＯＨ、及び－ＳＨから選択され、いくつかの実施形態において、アルキル、アルケニル、及びアルキニル鎖は、最大５個の炭素原子を含み、

Ｒ$_3$及びＲ’$_3$は独立して、Ｈ、ＯＲ、ＮＨＲ、及びＮＲ$_2$から選択され、式中、Ｒは、１～５個の炭素原子を含有する第一級、第二級、または第三級アルキル鎖であり、

Ｒ$_4$及びＲ’$_4$は独立して、Ｈ、Ｍｅ、及びＯＭｅから選択され、

Ｒ$_5$は、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_{5-20}$アリール（ハロ、ニトロ、シアノ、アルコキシ、アルキル、ヘテロシクリルによって置換されたアリールを含む）、及びＣ$_{5-20}$ヘテロアリール基から選択され、いくつかの実施形態において、アルキル、アルケニル、及びアルキニル鎖は、最大５個の炭素原子を含み、

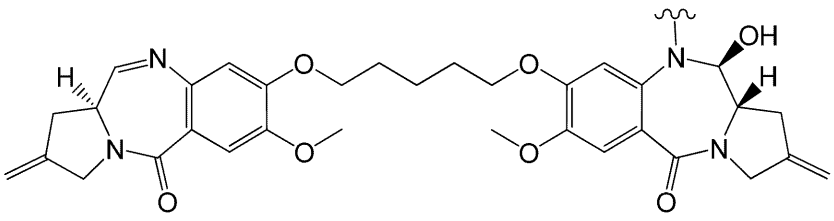
R_{11}は、H、C_1－C_8アルキル、または保護基（アセチル、トリフルオロアセチル、ｔ－ブトキシカルボニル（ＢＯＣ）、ベンジルオキシカルボニル（ＣＢＺ）、９－フルオレニルメチレンオキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）、またはバリン－シトルリン－ＰＡＢ等の自己犠牲単位を含む部分等）であり、

R_{12}はは、H、C_1－C_8アルキル、または保護基であり、

R_1、R'_1、R_2、R'_2、R_5、またはR_{12}のうちの１つの水素、またはＡ環の間の－$OCH_2CH_2(X)_nCH_2CH_2O$－スペーサの水素は、ＡＤＣのリンカーに接続された結合と置き換えられている）。

【０３５４】

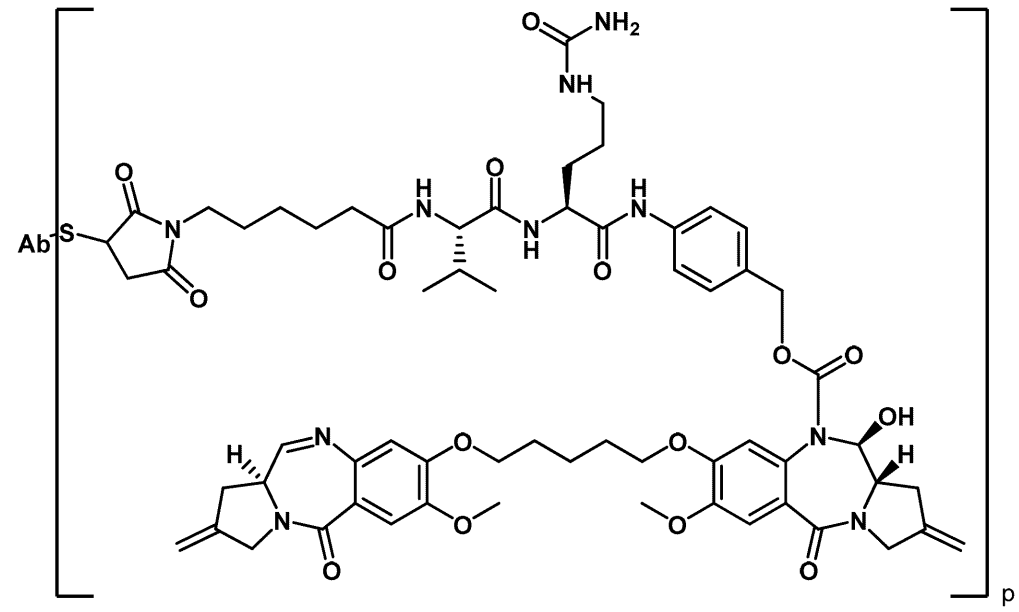
ＡＤＣの例示的なＰＢＤ二量体部分には、以下のものが含まれるが、これらに限定されない（波線は、リンカーへの共有結合の部位を示す）。



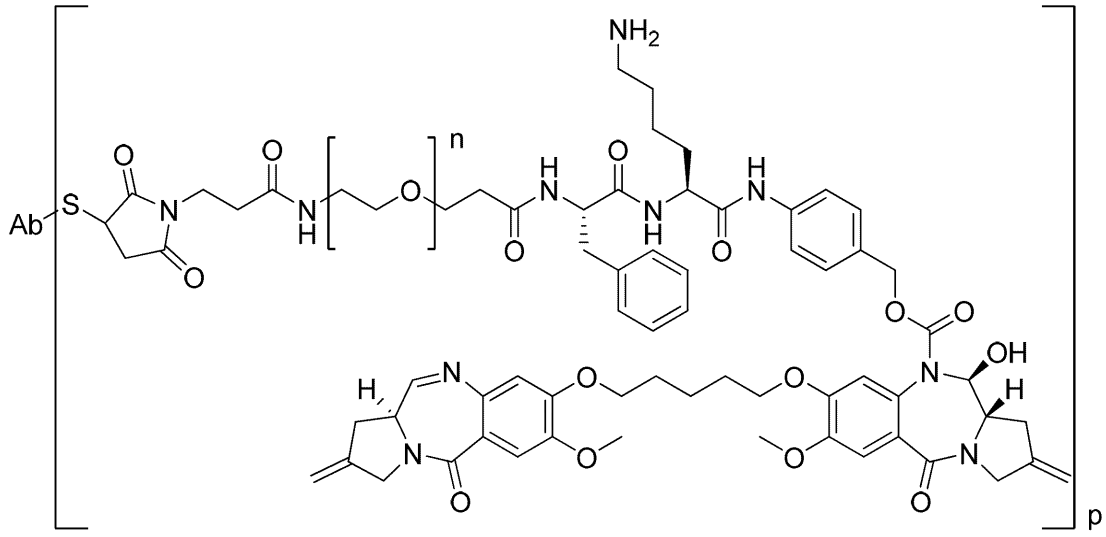
ＰＢＤ二量体、

【０３５５】

ＰＢＤ二量体を含むＡＤＣの実施形態の非限定的な例は、次の構造を有する。



ＰＢＤ二量体－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、

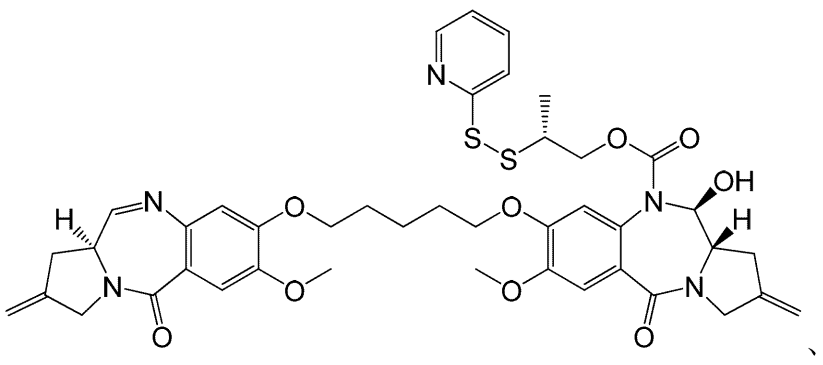


ＰＢＤ二量体－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ－ＰＡＢ－Ａｂ、式中、

ｎは、０～１２である。いくつかの実施形態において、ｎは、２～１０である。いくつかの実施形態において、ｎは、４～８である。いくつかの実施形態において、ｎは、４、５、６、７、及び８から選択される。

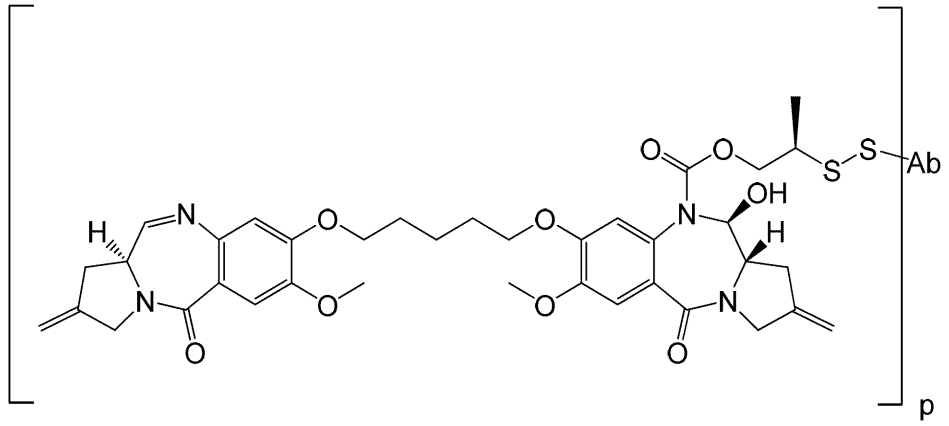
【０３５６】

ＰＢＤ二量体を含むＡＤＣのさらなる非限定的な例は、モノメチルジスルフィドＮ１０結合されたＰＢＤ（以下に示される）を抗体：



、

にコンジュゲートすることによって作製され、それによってモノメチルジスルフィドＮ１０結合されたＰＢＤ抗体－薬物複合体：



、

を産生することができる。例えば、ＰＣＴ公開第２０１３／０５５９８７号を参照されたい。

【０３５７】

ＰＢＤ二量体－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ及びＰＢＤ二量体－Ｐｈｅ－ホモＬｙｓ－ＰＡＢ－Ａｂのリンカーは、プロテアーゼ切断可能であるのに対して、ＰＢＤ二量体－マレイミド－アセタールのリンカーは、酸不安定性である。

【０３５８】

ＰＢＤ二量体及びＡＤＣを含むＰＢＤ二量体は、当該技術分野で既知の方法に従って調製されてもよい。例えば、ＷＯ２００９／０１６５１６、ＵＳ２００９／３０４７１０、ＵＳ２０１０／０４７２５７、ＵＳ２００９／０３６４３１、ＵＳ２０１１／０２５６１５７、ＷＯ２０１１／１３０５９８、ＷＯ２０１３／０５５９８７を参照されたい。

【０３５９】

（５）アントラシクリン

いくつかの実施形態において、ＡＤＣは、アントラシクリンを含む。アントラシクリンは、細胞傷害性活性を示す抗生物質化合物である。いかなる特定の理論によっても拘束されることを意図しないが、試験では、アントラシクリンが、１）薬物分子の、細胞のＤＮＡへのインターカレーションによってＤＮＡ依存的核酸合成を阻害すること、２）次に細胞巨大分子と反応して細胞への損傷を引き起こすフリーラジカルの薬物による産生、及び／または３）薬物分子と細胞膜との相互作用を含む、多くの異なる機序によって、細胞を死滅させるように動作し得ることを示した（例えば、Ｃ．Ｐｅｔｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，"Ｔｒａｎｓｐｏｒｔ Ａｎｄ Ｓｔｏｒａｇｅ Ｏｆ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ Ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｌｅｕｋｅｍｉａ"ｉｎ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｎ．Ｒ．Ｂａｃｈｕｒ，"Ｆｒｅｅ Ｒａｄｉｃａｌ Ｄａｍａｇｅ"ｉｄ．ａｔ ｐｐ．９７－１０２を参照されたい）。それらは細胞傷害性であるため、潜在的アントラシクリンは、白血病、乳癌、肺癌、卵巣腺癌、及び肉腫等の多くの癌の治療に使用されてきた（例えば、Ｐ．Ｈ－Ｗｉｅｒｎｉｋ，ｉｎ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ：Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｓｔａｔｕｓ Ａｎｄ Ｎｅｗ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｐ１１を参照されたい）。

【０３６０】

アントラシクリンの非限定的な例としては、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ダウノマイシン、ネモルビシン、及びそれらの誘導体が挙げられる。ダウノルビシン及びドキソルビシンの免疫複合体及びプロドラッグが調製され、試験されてきた（Ｋｒａｔｚ ｅｔ ａｌ（２００６）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１３：４７７－５２３、Ｊｅｆｆｒｅｙ ｅｔ ａｌ（２００６）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ&Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ １６：３５８－３６２、Ｔｏｒｇｏｖ ｅｔ ａｌ（２００５）Ｂ

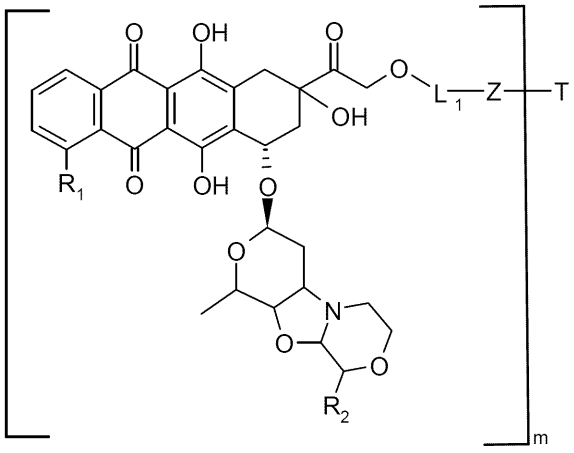
ioconj. Chem. 16：717－721、Nagy et al（2000）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97：829－834、Dubowchik et al（2002）Bioorg. &Med. Chem. Letters 12：1529－1532、King et al（2002）J. Med. Chem. 45：4336－4343、EP0328147、US6630579）。抗体－薬物複合体BR96－ドキソルビシンは、腫瘍関連抗原ルイス－Yと特異的に反応し、I相及びII相試験において評価された（Saleh et al（2000）J. Clin. Oncology 18：2282－2292、Ajani et al（2000）Cancer Jour. 6：78－81、Tolcher et al（1999）J. Clin. Oncology 17：478－484）。

【0361】

PNU－159682は、ネモルビシンの有力な代謝物（または誘導体）である（Quintieri, et al.（2005）Clinical Cancer Research 11（4）：1608－1617）。ネモルビシンは、ドキソルビシンのグリコシドアミノ上に2－メトキシモルホリノ基を有するドキソルビシンの半合成類似体であり、臨床評価中であり（Grandi et al（1990）Cancer Treat. Rev. 17：133、Ripamonti et al（1992）Brit. J. Cancer 65：703）（肝細胞癌についてのII相／III相治験を含む（Sun et al（2003））、Proceedings of the American Society for Clinical Oncology 22, Abs 1448、Quintieri（2003）Proceedings of the American Association of Cancer Research, 44：1st Ed, Abs 4649、Pacciarini et al（2006）Jour. Clin. Oncology 24：14116）。

【0362】

ネモルビシンまたはネモルビシン誘導体を含むADCの非限定的な例は、式Ia：



(Ia)

に示され、式中、R_1は、水素原子、ヒドロキシ、またはメトキシ基であり、R_2は、C_1～C_5アルコキシ基、またはその薬学的に許容される塩であり、

L_1及びZは一緒に、本明細書に記載されるリンカー（L）であり、

Tは、本明細書に記載される抗体（Ab）であり、

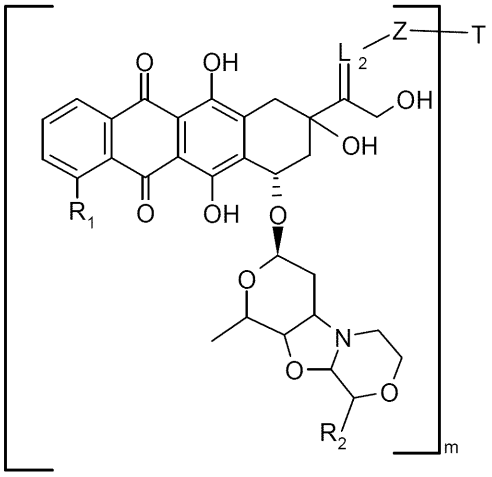
mは、1～約20である。いくつかの実施形態において、mは、1～10、1～7、1～5、または1～4である。

【0363】

いくつかの実施形態において、R_1及びR_2の両方がメトキシ（－OMe）である。

【0364】

ネモルビシンまたはネモルビシン誘導体を含むADCのさらに非限定的な例は、式Ib：



(Ib)

に示され、式中、R_1は、水素原子、ヒドロキシ、またはメトキシ基であり、R_2は、C_1～C_5アルコキシ基、またはその薬学的に許容される塩であり、

L_2及びＺは一緒に、本明細書に記載されるリンカー（Ｌ）であり、

Ｔは、本明細書に記載される抗体（Ａｂ）であり、

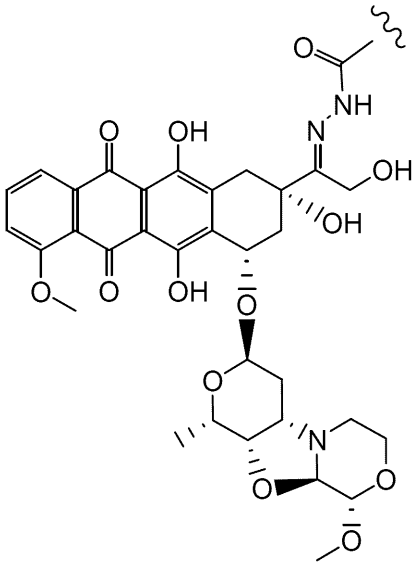
ｍは、１～約２０である。いくつかの実施形態において、ｍは、１～１０、１～７、１～５、または１～４である。

【０３６５】

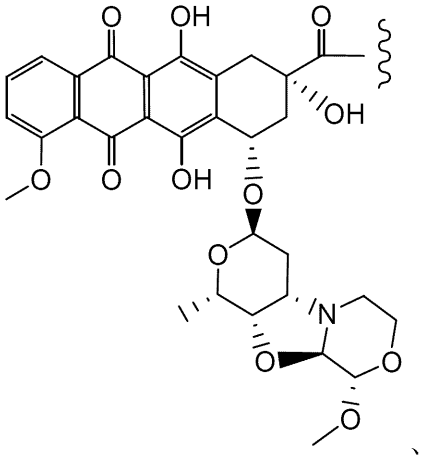
いくつかの実施形態において、R_1及びR_2の両方がメトキシ（－ＯＭｅ）である。

【０３６６】

いくつかの実施形態において、ネモルビシン含有ＡＤＣのネモルビシン成分は、ＰＮＵ－１５９６８２である。いくつかのそのような実施形態において、ＡＤＣの薬物部分は、以下の構造：



、または



、

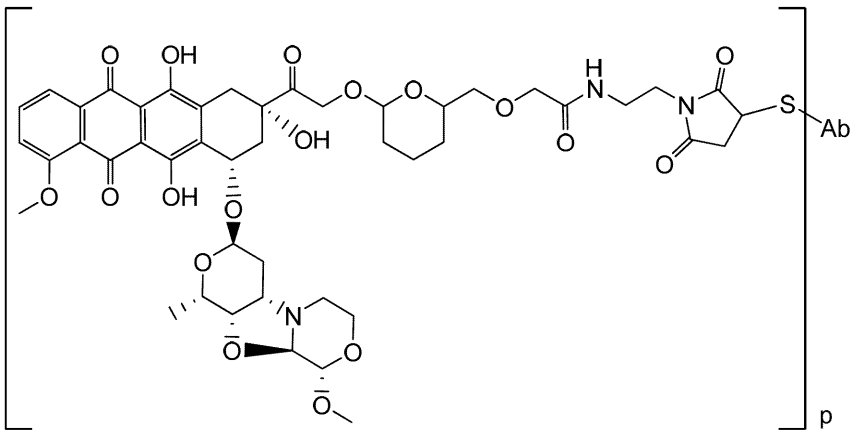
のうちの１つを有し得、式中、波線は、リンカー（Ｌ）への結合を示す。

【０３６７】

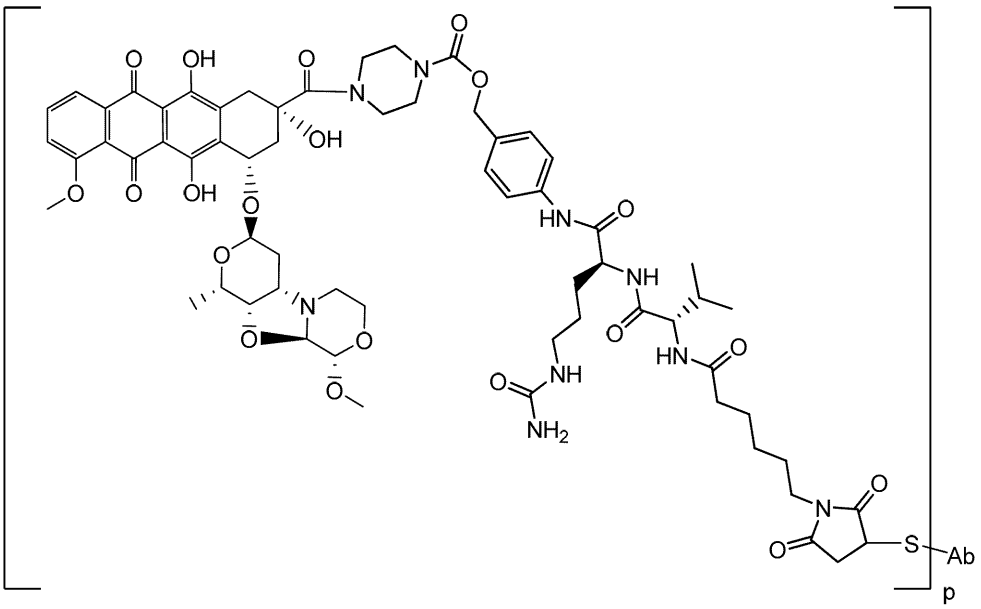
ＰＮＵ－１５９６８２を含むアントラシクリンは、いくつかの結合部位及び本明細書に記載されるリンカーを含む種々のリンカー（ＵＳ第２０１１／００７６２８７、ＷＯ２００９／０９９７４１、ＵＳ２０１０／００３４８３７、ＷＯ２０１０／００９１２４）を介して抗体にコンジュゲートされ得る。

【０３６８】

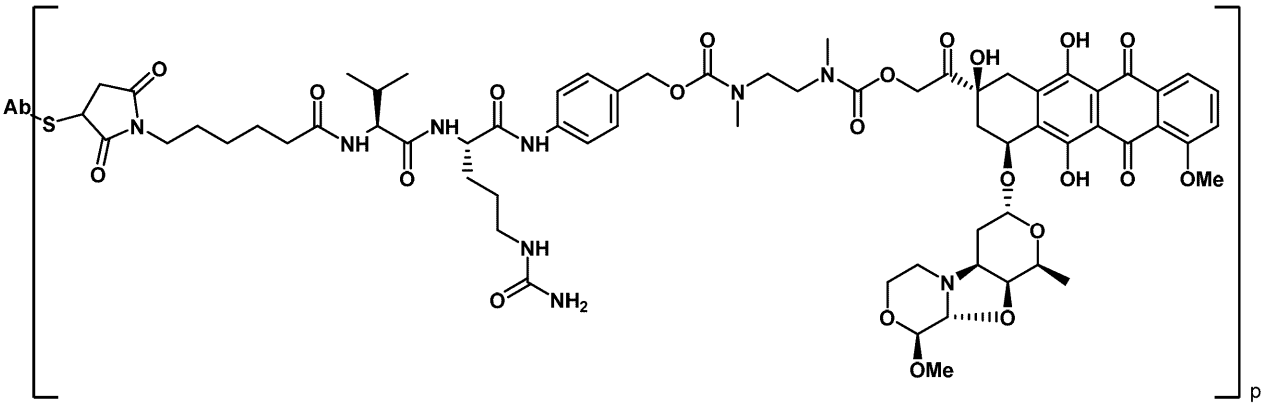
ネモルビシン及びリンカーを含む例示的なＡＤＣとしては、



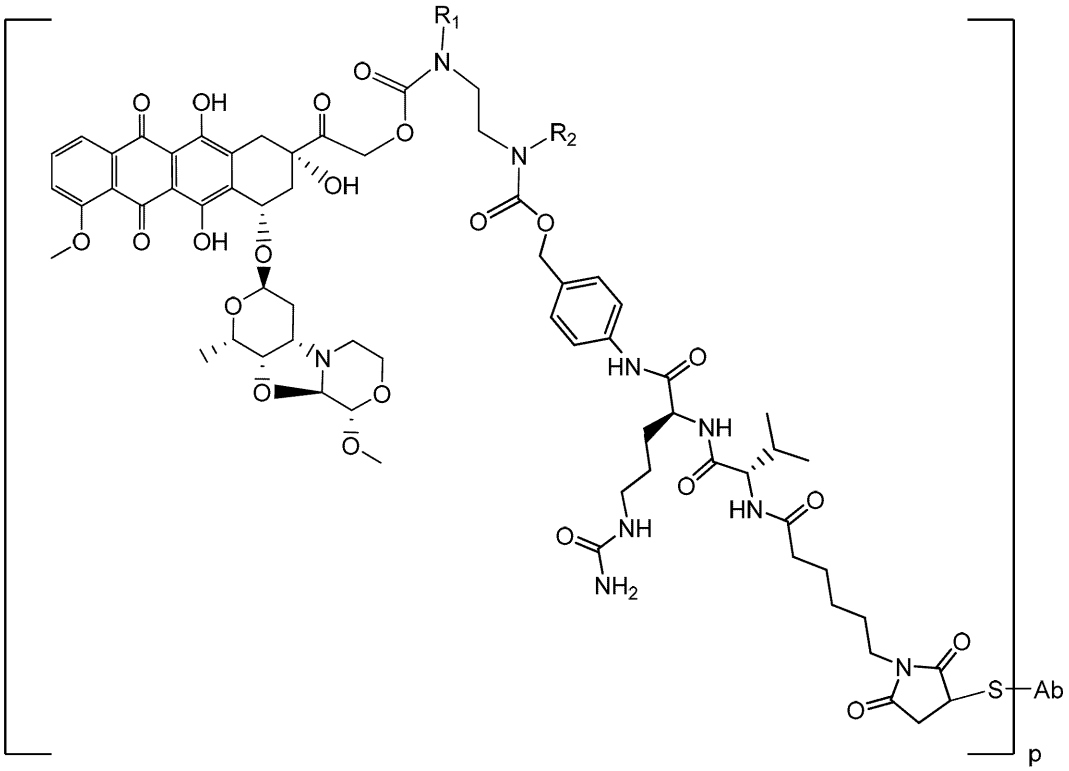
ＰＮＵ－１５９６８２マレイミドアセタール－Ａｂ、



ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、

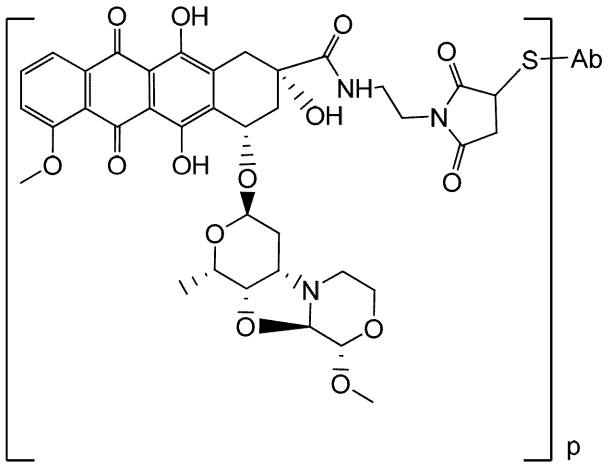


ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサ－Ａｂ、



ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサ（Ｒ^{1}Ｒ^{2}）－Ａｂが含まれるが、これらに限定されず、式中、

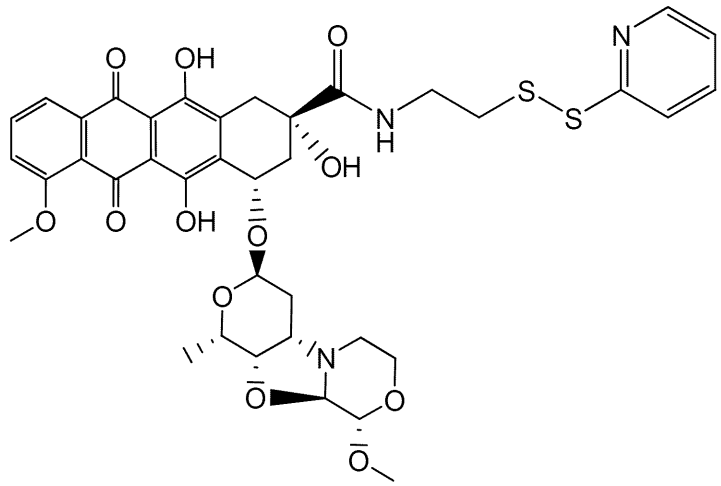
Ｒ$_{1}$及びＲ$_{2}$は独立して、Ｈ及びＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、及び



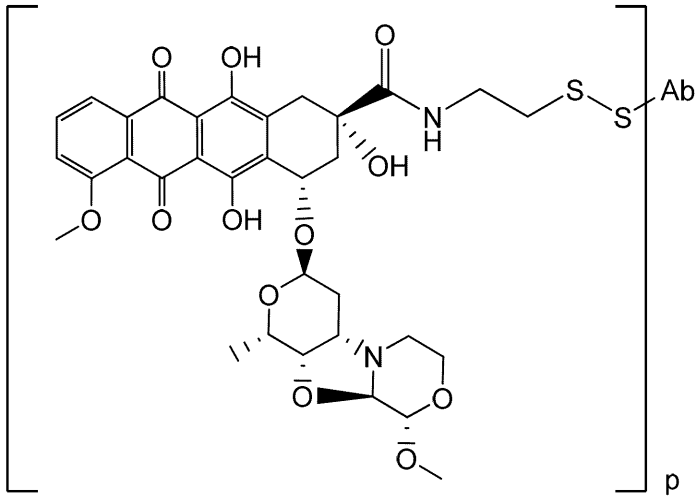
ＰＮＵ－１５９６８２－マレイミド－Ａｂから選択される。

【０３６９】

ＰＢＤ二量体を含むＡＤＣのさらなる非限定的な例は、ピリジルジスルフィドＰＮＵアミド（以下に示される）を抗体にコンジュゲートすることによって作製され、



それによってジスルフィド結合されたＰＮＵ－１５９６８２抗体－薬物複合体：



を産生することができる。

【０３７０】

ＰＮＵ－１５９６８２マレイミドアセタール－Ａｂのリンカーは、酸不安定性である一方で、ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサ－Ａｂ、及びＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサ（Ｒ^{1}Ｒ^{2}）－Ａｂのリンカーは、プロテアーゼ切断可能である。

【０３７１】

（６）１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）二量体薬物部分

いくつかの実施形態において、ＡＤＣは、１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）を含む。５－アミノ－１－（クロロメチル）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（アミノＣＢＩ）クラスのＤＮＡ小溝アルキル化剤は、有力な細胞傷害性薬剤であり（Ａｔｗｅｌｌ，ｅｔ　ａｌ（１９９９）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，４２：３４００）、癌療法のために設計された多くのクラスのプロドラッグ中のエフェクター単位として利用されてきた。これらは、抗体複合体（Ｊｅｆｆｒｅｙ，ｅｔ　ａｌ．（２００５）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，４８：１３４４）、ニトロベンジルカルバメートに基づく遺伝子療法のためのプロドラッグ（Ｈａｙ，ｅｔ　ａｌ（２００３）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４６：２４５６）、及び低酸素活性化プロドラッグとしての対応するニトロ－ＣＢＩ誘導体（Ｔｅｒｃｅｌ，ｅｔ　ａｌ（２０１１）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．，Ｉｎｔ．Ｅｄ．，５０：２６０６－２６０９）を含んでいた。ＣＢＩ及びピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン（ＰＢＤ）ファルマコフォアは

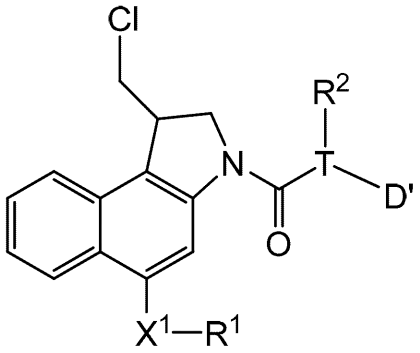
、アルキル鎖によって一緒に結合された（Ｔｅｒｃｅｌ　ｅｔ　ａｌ（２００３）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ　４６：２１３２－２１５１）。

【０３７２】

いくつかの実施形態において、ＡＤＣは、１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール（ＣＢＩ）二量体を含む。いくつかのかかる実施形態において、二量体は、ヘテロ二量体であり、その二量体の半分がＣＢＩ部分であり、二量体のもう半分がＰＢＤ部分である。

【０３７３】

いくつかの実施形態において、ＣＢＩ二量体は、式：



を含み、式中、

R^1が、H、$P(O)_3H_2$、$C(O)NR^aR^b$、またはＬへの結合から選択され、

R^2が、H、$P(O)_3H_2$、$C(O)NR^aR^b$、またはＬへの結合から選択され、

R^a及びR^bが独立して、H及び１つ以上のＦで任意に置換されたC_1～C_6アルキルから選択されるか、またはR^a及びR^bは、５員または６員複素環基を形成し、

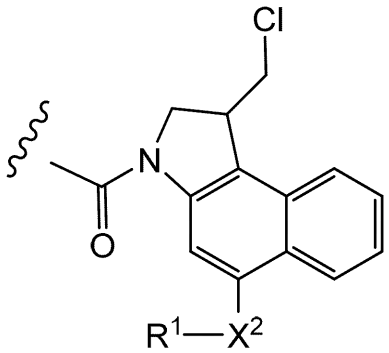
Ｔが、C_3～C_{12}アルキレン、Ｙ、（C_1～C_6アルキレン）－Ｙ－（C_1～C_6アルキレン）、（C_1～C_6アルキレン）－Ｙ－（C_1～C_6アルキレン）－Ｙ－（C_1～C_6アルキレン）、（C_2～C_6アルケニレン）－Ｙ－（C_2～C_6アルケニレン）、及び（C_2～C_6アルキニレン）－Ｙ－（C_2～C_6アルキニレン）から選択されるテザー基であり、

式中、Ｙが独立して、Ｏ、Ｓ、NR^1、アリール、及びヘテロアリールから選択され、

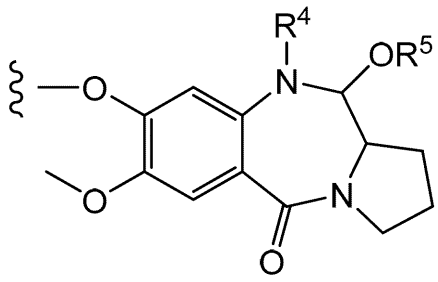
アルキレン、アルケニレン、アリール、及びヘテロアリールが独立してかつ任意に、Ｆ、ＯＨ、Ｏ（C_1～C_6アルキル）、NH_2、$NHCH_3$、$N(CH_3)_2$、$OP(O)_3H_2$、及びC_1～C_6アルキルで置換され、式中、アルキルが、１つ以上のＦで任意に置換されるか、

またはアルキレン、アルケニレン、アリール、及びヘテロアリールが独立してかつ任意に、Ｌへの結合で置換され、

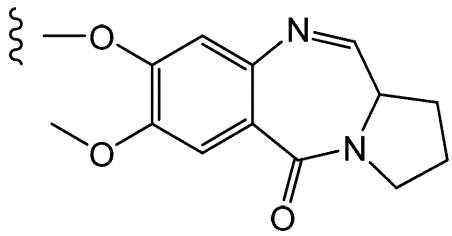
Ｄ′が、



、



、及び



から選択される薬物部分であり、式中、波線が、Ｔへの結合部位を示し、

Ｘ^{1}及びＸ^{2}が独立して、Ｏ及びＮＲ^{3}から選択され、式中、Ｒ^{3}が、Ｈ、及び１つ以上のＦで任意に置換されるＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルから選択され、

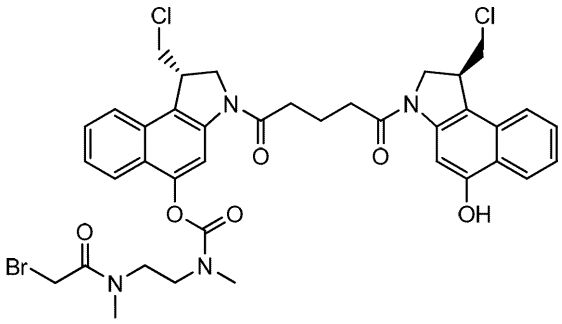
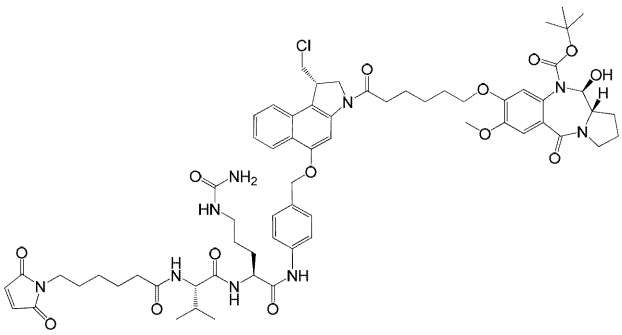
Ｒ^{4}が、Ｈ、ＣＯ$_{2}$Ｒ、またはリンカー（Ｌ）への結合であり、式中、Ｒが、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、またはベンジルであり、

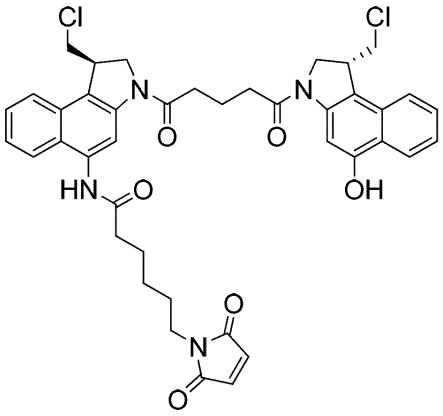
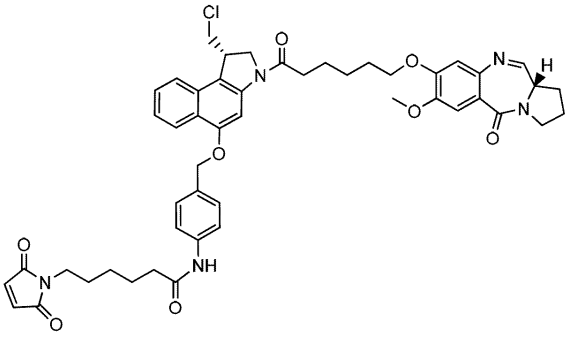
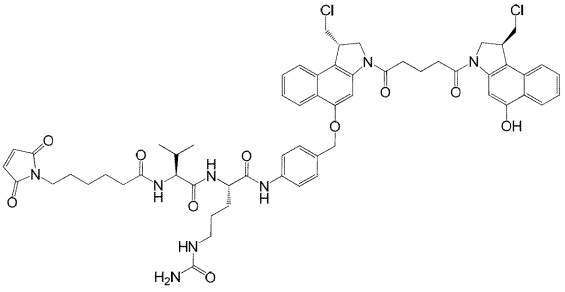
Ｒ^{5}が、Ｈ、またはＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルである。

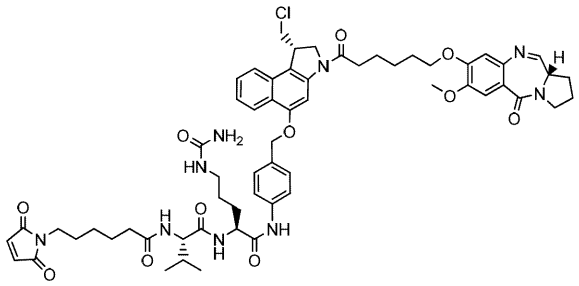
【０３７４】

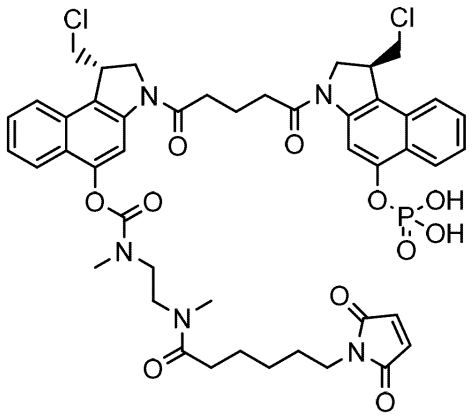
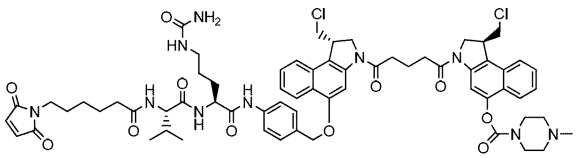
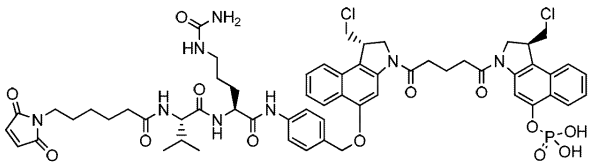
表Ａのリンカー－薬物中間体５１－８６は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１５／０２３３５５号の手順に従って、ＣＢＩ二量体またはＣＢＩ／ＰＢＤヘテロ二量体薬物部分を、リンカー試薬とカップリングすることによって調製された。

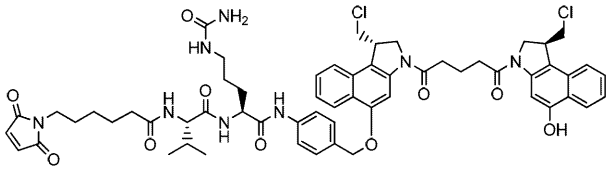
表Ａ　リンカー－ＣＢＩ二量体及びＣＢＩ／ＰＢＤヘテロ二量体薬物中間体５１－８６

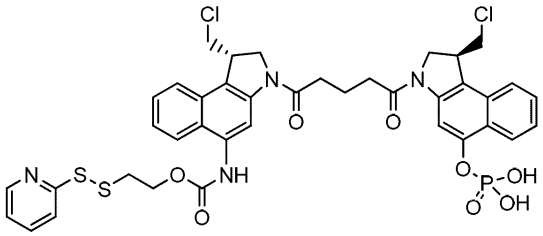
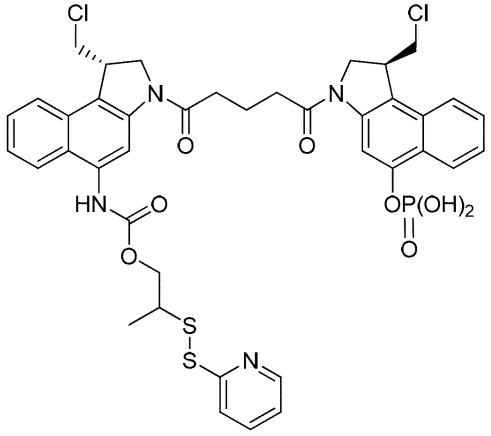
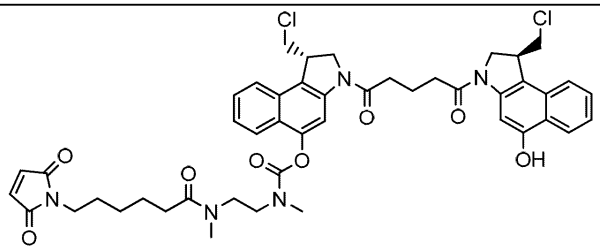
番号	構造	名称
51		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル２－（２－ブロモ－Ｎ－メチルアセトアミド）エチル（メチル）カルバメート
52		（１１Ｓ，１１ａＳ）－ｔｅｒｔ－ブチル８－（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（４－（（Ｓ）－２－（（Ｓ）－２－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド）－３－メチルブタンアミド）－５－ウレイドペンタンアミド）ベンジルオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－６－オキソヘキシルオキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート

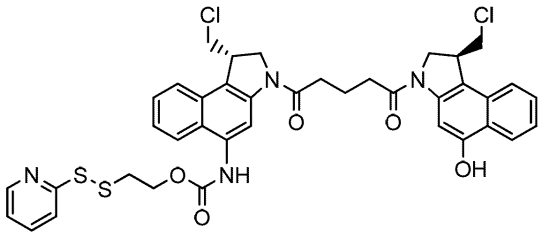
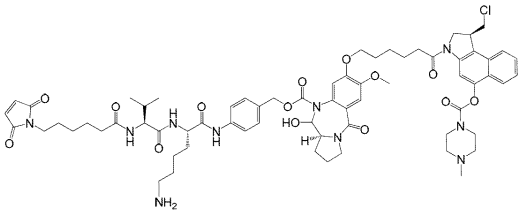
53		Ｎ－（Ｅ－１－（クロロメチル）－３－（５－（Ｅ－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
54		Ｎ－（４－（（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（６－（（Ｓ）－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，５，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－８－イルオキシ）ヘキサノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルオキシ）メチル）フェニル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
55		Ｎ－（（Ｓ）－１－（（Ｓ）－１－（４－（（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソ

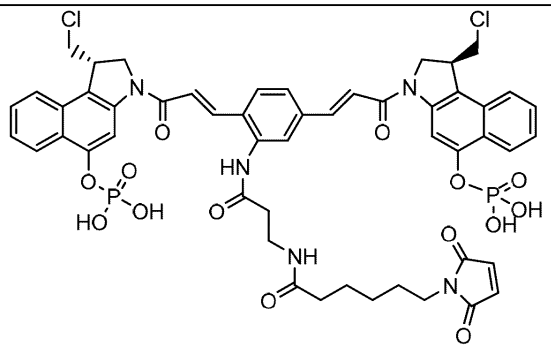
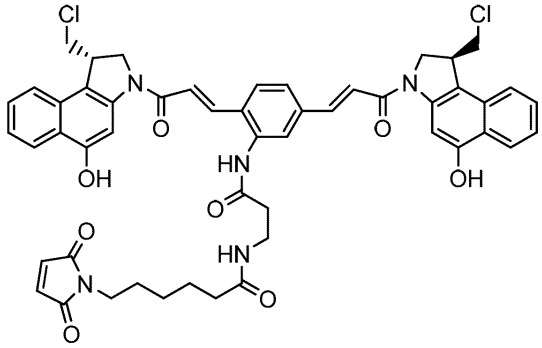
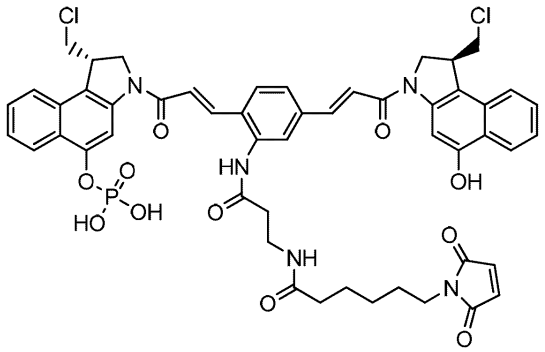
		ペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルオキシ）メチル）フェニルアミノ）－１－オキソ－５－ウレイドペンタン－２－イルアミノ）－３－メチル－１－オキソブタン－２－イル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
５６		Ｎ－（（Ｓ）－１－（（Ｓ）－１－（４－（（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（６－（（Ｓ）－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，５，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－８－イルオキシ）ヘキサノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルオキシ）メチル）フェニルアミノ）－１－オキソ－５－ウレイドペンタン－２－イルアミノ）－３－メチル－１－オキソブタン－２－イル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド

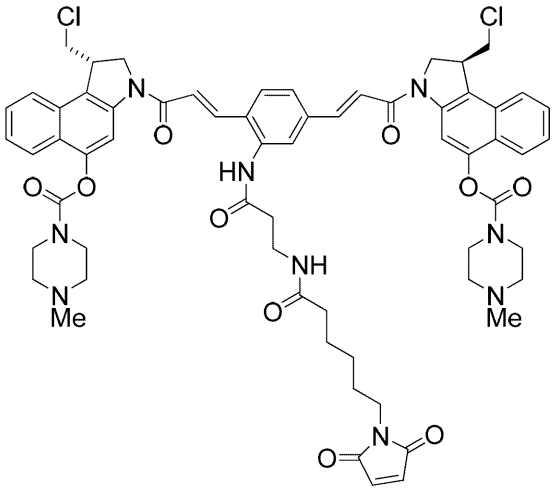
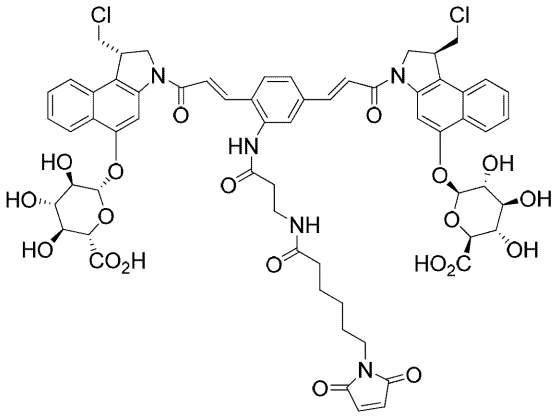
57		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル２－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）－Ｎ－メチルヘキサンアミド）エチル（メチル）カルバメート
58		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（４－（（Ｓ）－２－（（Ｓ）－２－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド－３－メチルブタンアミド）－５－ウレイドペンタンアミド）ベンジルオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル４－メチルピペラジン－１－カルボキシレート
59		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（４－

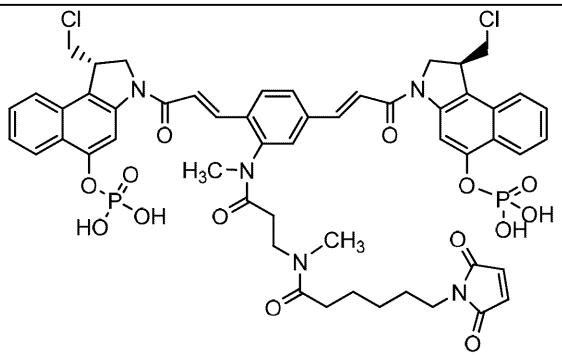
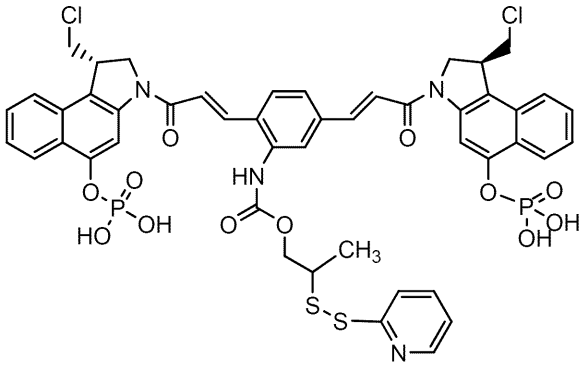
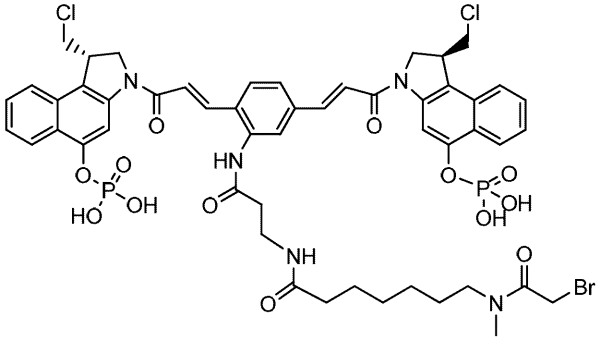
		（（Ｓ）－２－（（Ｓ）－２－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド－３－メチルブタンアミド）－５－ウレイドペンタンアミド）ベンジルオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルリン酸二水素
６０		Ｎ－（（Ｓ）－１－（（Ｓ）－１－（４－（（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルオキシ）メチル）フェニルアミノ）－１－オキソ－５－ウレイドペンタン－２－イルアミノ）－３－メチル－１－オキソブタン－２－イル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド

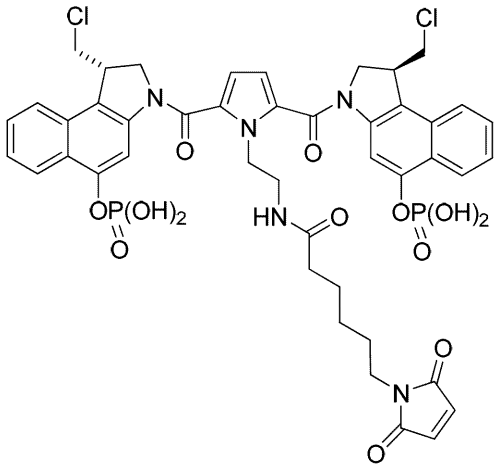
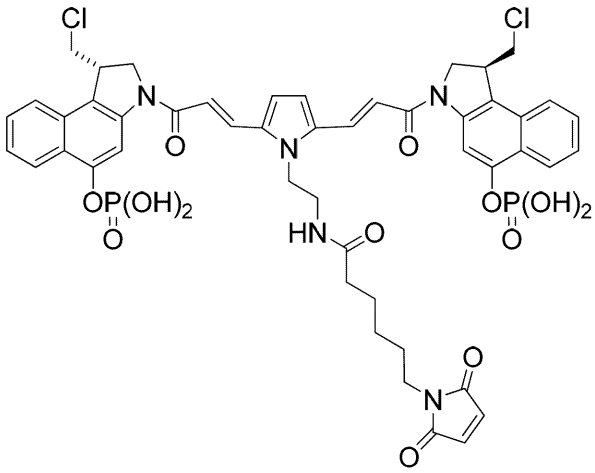
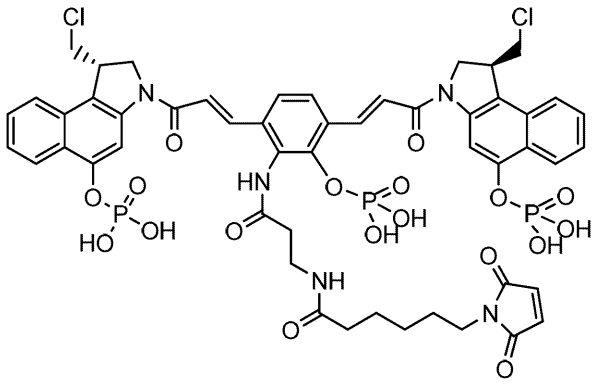
61		２－（’９７ミダゾール－２－イルジスルファニル）エチル（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルカルバメート
62		２－（’９７ミダゾール－２－イルジスルファニル）プロピル（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルカルバメート
63		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル２－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）－Ｎ－メチ

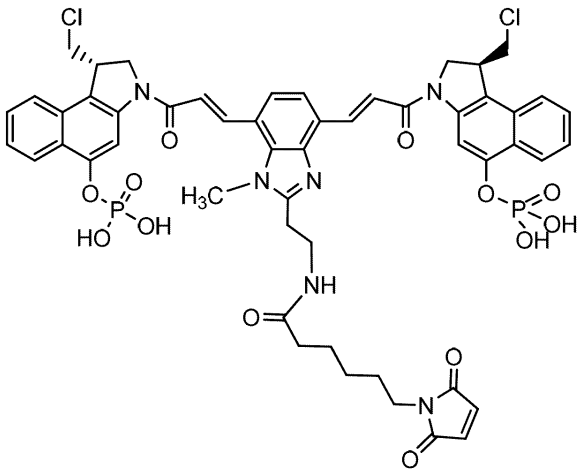
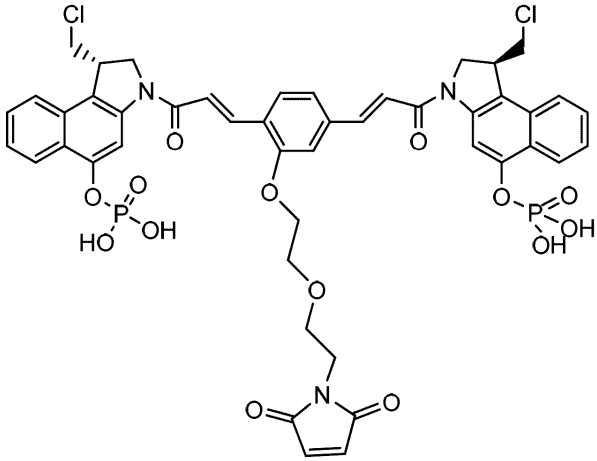
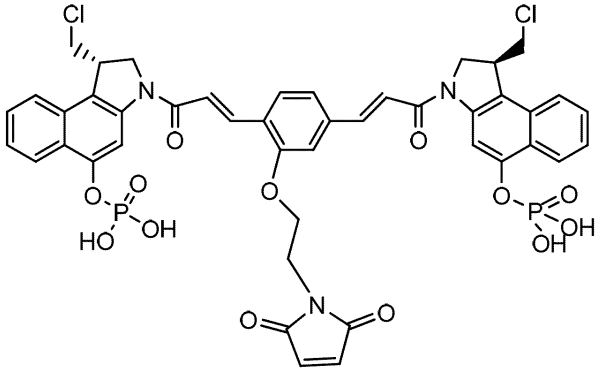
		ルヘキサンアミド）エチル（メチル）カルバメート
64		２－（’９７ミダゾール－２－イルジスルファニル）エチル（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（５－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－５－オキソペンタノイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルカルバメート
65		（１１ａＳ）－４－（（Ｓ）－６－アミノ－２－（（Ｓ）－２－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド）－３メチルブタンアミド）ヘキサンアミド）ベンジル８－（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（４－メチルピペラジン－１－カルボニルオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－６－オキソヘキシルオキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート

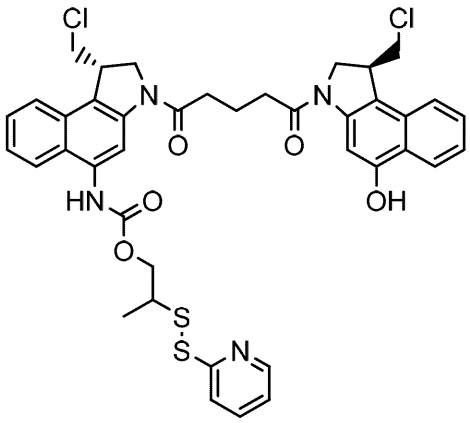
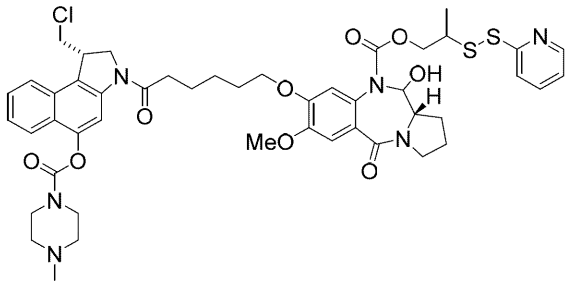
66		N－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ）－３－オキソプロピル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
67		Ｎ－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ）－３－オキソプロピル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
68		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（Ｅ－３－（４－（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）－２－（３－（６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド）プロパンアミド）フェ

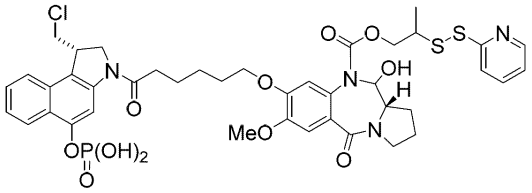
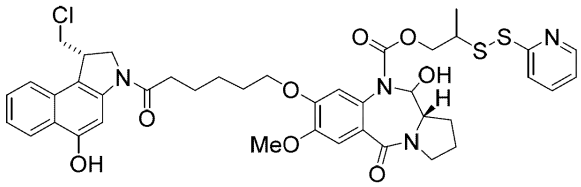
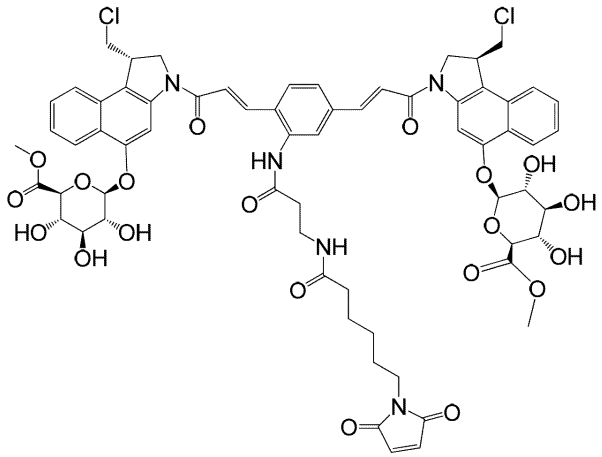
		ニル）アクリロイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルリン酸二水素
６９		Ｎ－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（４－メチルピペラジン－１－カルボニルオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ）－３－オキソプロピル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
７０		Ｎ－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（２Ｓ，３Ｓ，４Ｓ，５Ｒ，６Ｓ）－３，４，５－トリヒドロキシ－テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－２－カルボキシル－６－オキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ）－３－オキソプロピル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド

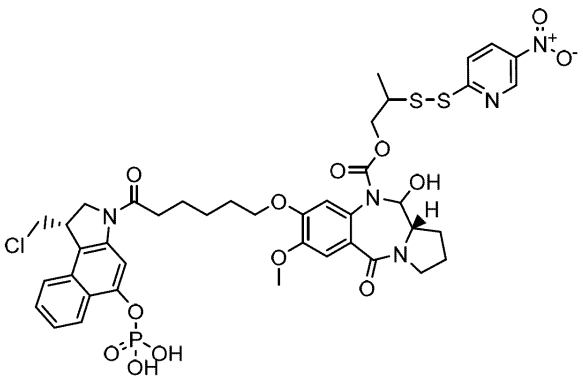
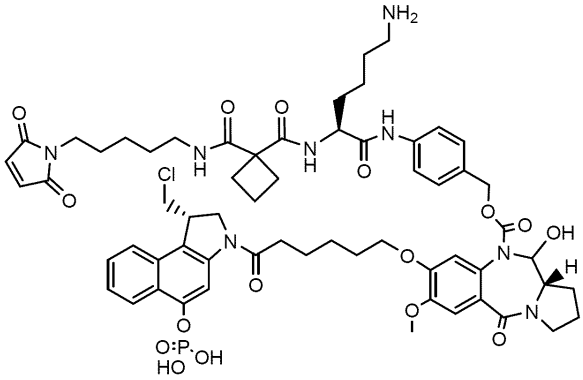
71		N－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）－Ｎ－メチル－Ｎ－（３－（メチルアミノ）－３－オキソプロピル）ヘキサンアミド
72		２－（’９９ミダゾール－２－イルジスルファニル）プロピル２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルカルバメート
73		Ｎ－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ）－７－（２－ブロモ－Ｎ－メチルアセトアミド）－Ｎ－（３－オキソプロピル）ヘプタンアミド

74		Ｎ－（２－（２，５－ビス（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－カルボニル）－１Ｈ－ピロール－１－イル）エチル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
75		Ｎ－（２－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）－１Ｈ－ピロール－１－イル）エチル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
76		Ｎ－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）フェニルアミノ，２－ホスホノキシ）－３－オキソプロピル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド

77		Ｎ－（３－（２，５－ビス（Ｅ－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－３－オキソプロプ－１－エニル）－１－メチル－１Ｈ－ベンゾ［ｄ］’１０１ミダゾール－２－イル）エチル）－６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサンアミド
78		［（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－［Ｅ－３－［４－［Ｅ－３－［（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－３－オキソ－プロプ－１－エニル］－２－［２－［２－（２，５－ジオキソピロール－１－イル）エトキシ］エトキシ］フェニル］プロプ－２－エノイル］－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－５－イル］リン酸二水素
79		［（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－［Ｅ－３－［４－［Ｅ－３－［（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－３－オキソ－プロプ－１

		－エニル］－２－［２－［２－（２，５－ジオキソピロール－１－イル）エトキシ］フェニル］プロプ－２－エノイル］－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－５－イル］リン酸二水素
８０		２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピルＮ－［１－（クロロメチル）－３－［５－［１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－５－オキソ－ペンタノイル］－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－５－イル］カルバメート
８１		２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピル３－［６－［１－（クロロメチル）－５－（４－メチルピペラジン－１－カルボンル）オキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－６－オキソ－ヘキシオキシ］－６－ヒドロキシ－２－メトキシ－１１－オキソ－６ａ，７，８，９－テトラヒドロ－６Ｈ－ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン－５－カルボキシレート

82		２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピル３－［６－［１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－６－オキソ－ヘキシオキシ］－６－ヒドロキシ－２－メトキシ－１１－オキソ－６ａ，７，８，９－テトラヒドロ－６Ｈ－ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン－５－カルボキシレート
83		２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピル３－［６－［１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－６－オキソ－ヘキシオキシ］－６－ヒドロキシ－２－メトキシ－１１－オキソ－６ａ，７，８，９－テトラヒドロ－６Ｈ－ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン－５－カルボキシレート
84		（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（（２Ｅ）－３－｛４－（（１Ｅ）－３－｛（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－［（６－メチル－β－Ｄ－グルコピラヌロノシル）オキシ］－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル｝－３－オキソ－１－プ

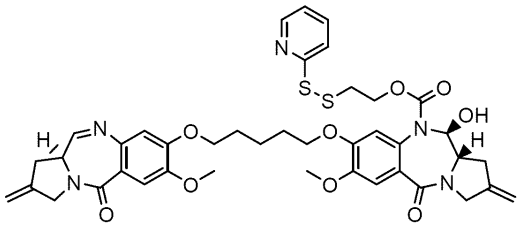
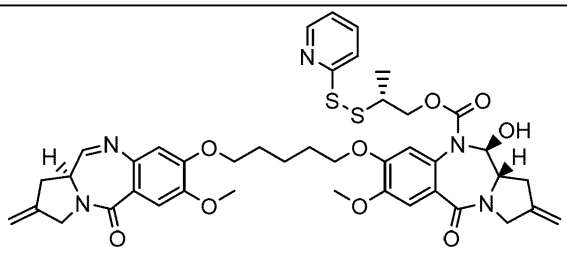
		ロペニル）－２－［（３－｛［６－（２，５－ジオオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサノイル］アミノ｝プロパノイル）アミノ］フェニル｝－２－プロペノイル）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルメチルβ－Ｄ－グルコピラノシドウロン酸塩
８５		２－（（５－ニトロピリジン－２－イル）ジスルファニル）プロピル（１１ａＳ）－８－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート
８６		４－（（Ｓ）－６－アミノ－２－（１－（（５－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ペンチル）カルバモイル）シクロブタン－１－カルボキシアミド）ヘキサンアミド）ベンジル（１１ａＳ）－８－（（６－

		（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート

【０３７５】

表Ｂのリンカー－薬物中間体８７及び８８は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１３／０５５９８７の手順に従って、ＰＢＤ二量体薬物部分を、リンカー試薬とカップリングすることによって調製された。

表Ｂ　ＰＢＤ二量体薬物中間体８７－８８

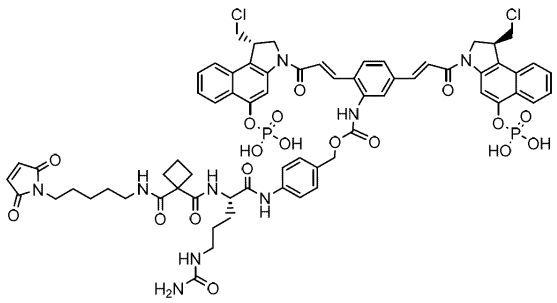
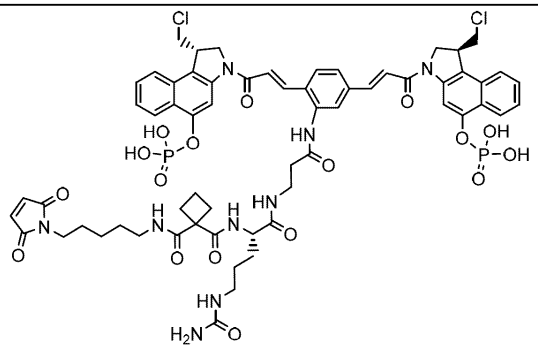
番号	構造	名称
87		２－（ピリジン－２－イルジスルファニル）エチル（１１Ｓ，１１ａＳ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－８－（（５－（（（Ｓ）－７－メトキシ－２－メチレン－５－オキソ－２，３，５，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－８－イル）オキシ）ペンチル）オキシ）－２－メチレン－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート
88		（Ｒ）－２－（ピリジン－２－イルジスルファニル）プロピル（１１Ｓ，１１ａＳ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－８－（（５－（（（Ｓ）－７－メトキシ－２－メチレン－５－オキソ－２，３，５，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－８－イル）オキシ）ペンチル）オキシ）－２－メチレン－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ

		［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート

【０３７６】

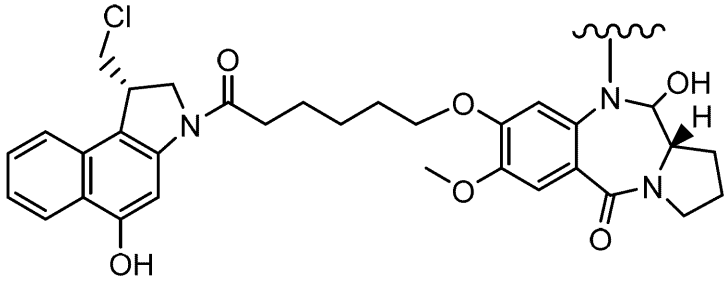
表Ｃのリンカー－薬物中間体８９及び９０は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１５／０９５２２７の手順に従って、ＣＢＩ二量体薬物部分を、ペプチド模倣体リンカー試薬とカップリングすることによって調製された。

表Ｃ　ＣＢＩ二量体ペプチド模倣体リンカー薬物中間体８９－９０

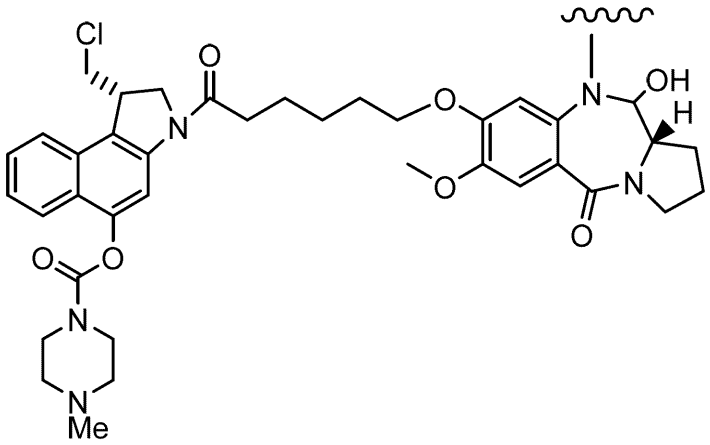
番号	構造	名称
89		４－（（Ｓ）－２－（１－（（５－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ペンチル）カルバモイル）シクロブタン－１－カルボキシアミド）－５－ウレイドペンタンアミド）ベンジル（２，５－ビス（（Ｅ）－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－３－オキソプロプ－１－エン－１－イル）フェニル）カルバメート
90		（Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－（（Ｅ）－３－（４－（（Ｅ）－３－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－３－オキソプロプ－１－エン－１－イル）－２－（３－（（Ｓ）－２－（１－（（５－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ペンチル）カルバモイル）シクロブタン－１－カルボキシ

		アミド）－５－ウレイドペンタンアミド）プロパンアミド）フェニル）アクリロイル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルリン酸二水素

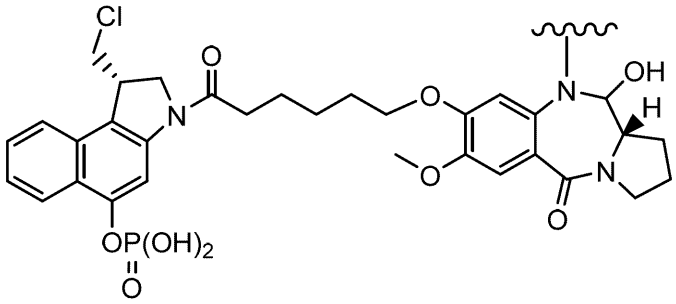
【０３７７】
ＡＤＣのＣＢＩ二量体部分の例としては、以下のＣＢＩ－ＰＢＤ二量体：



、

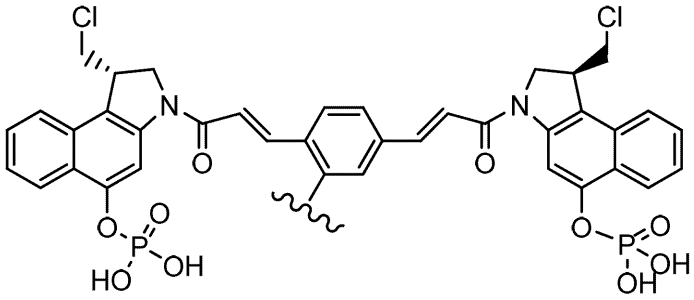


、



、及び

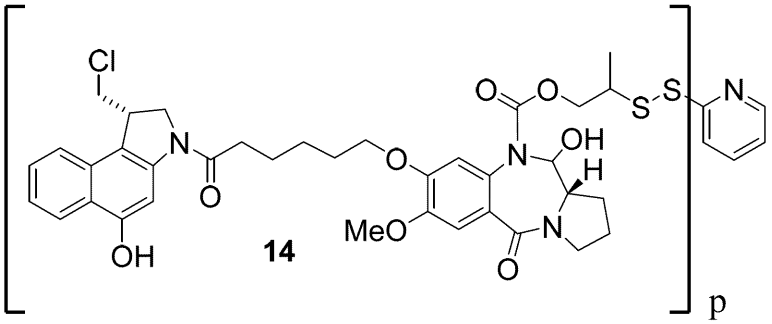
以下のＣＢＩ－ＣＢＩ二量体



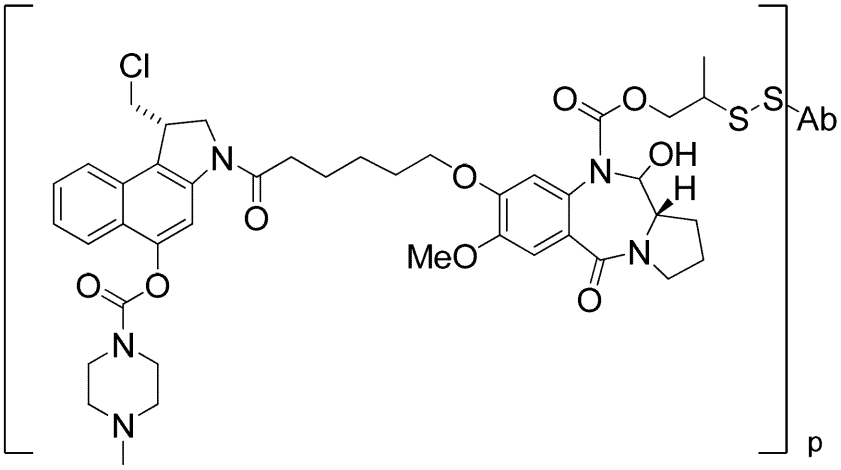
が含まれるが、これらに限定されない（波線は、リンカーへの共有結合の部位を示す）。

【０３７８】

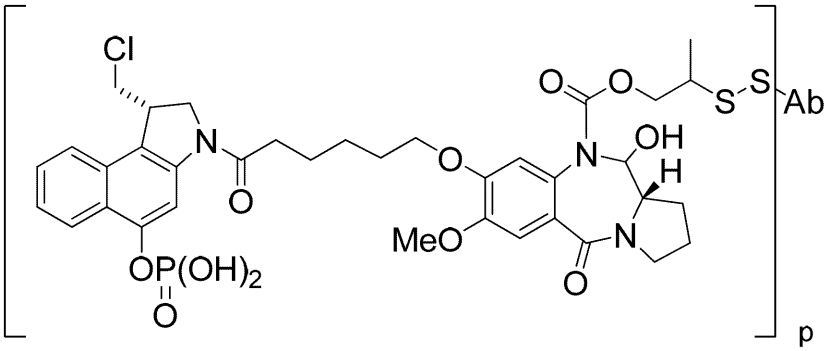
ＣＢＩ二量体を含むＡＤＣの実施形態の非限定的な例は、以下の構造を有する。



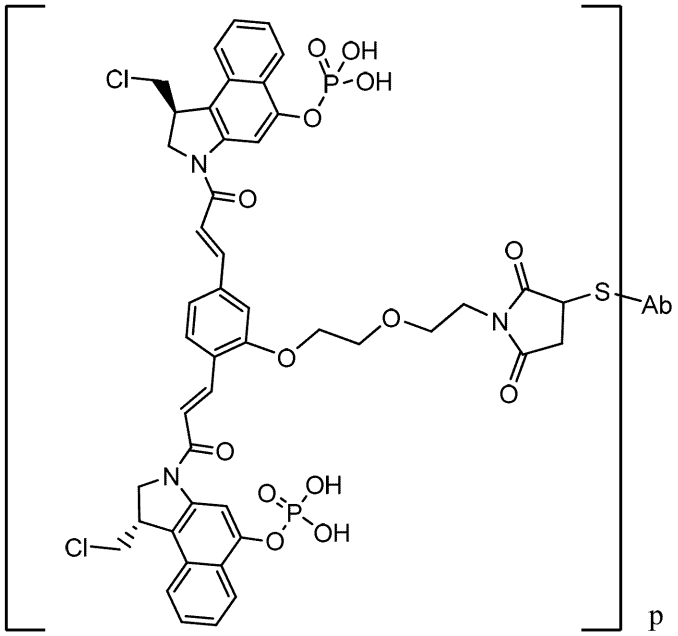
ＣＢＩ－ＰＢＤ－ジスルフィド－Ａｂ、または



ＣＢＩ－ＰＢＤ（ピペラジン－カルバメートプロドラッグ）－ジスルフィド－Ａｂ、



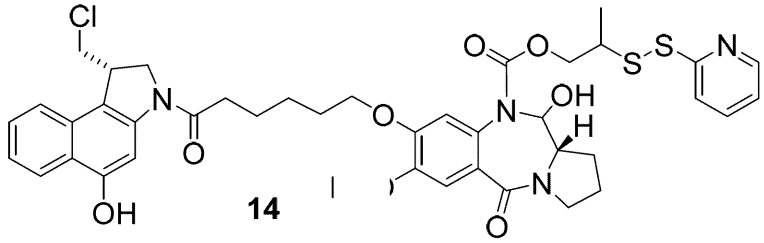
ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）－ジスルフィド－Ａｂ、及び



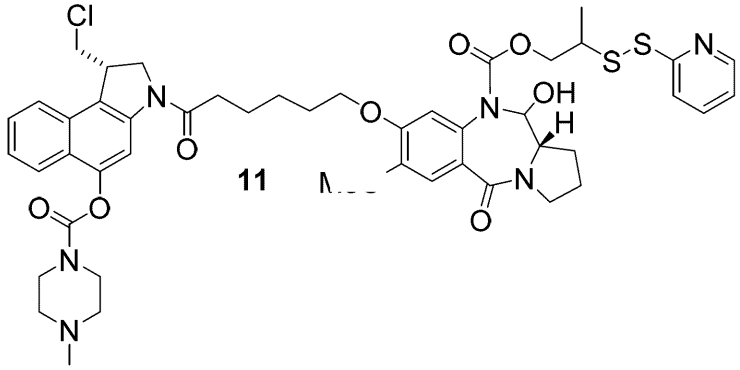
ＣＢＩ－ＣＢＩ（リン酸塩）－アセタール－マレイミド－Ａｂ。

【０３７９】

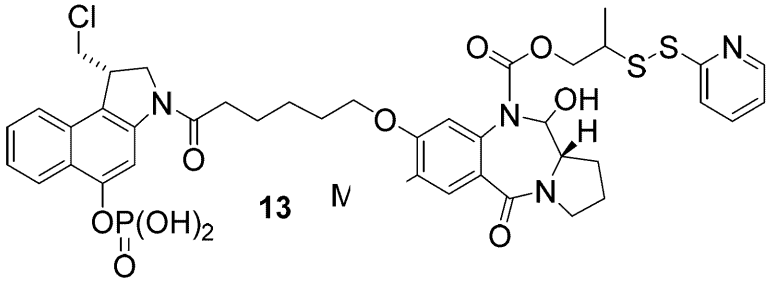
抗体にコンジュゲートされてＡＤＣを形成することができるＣＢＩ－ＰＢＤヘテロ二量体リンカー－薬物中間体の非限定的な例としては、



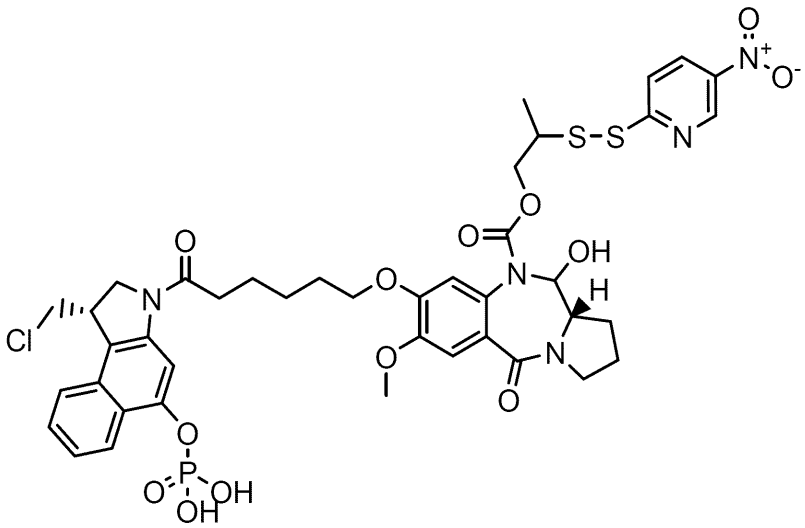
ＣＢＩ－ＰＢＤ－２－プロピルピリジルジスルフィド８３、



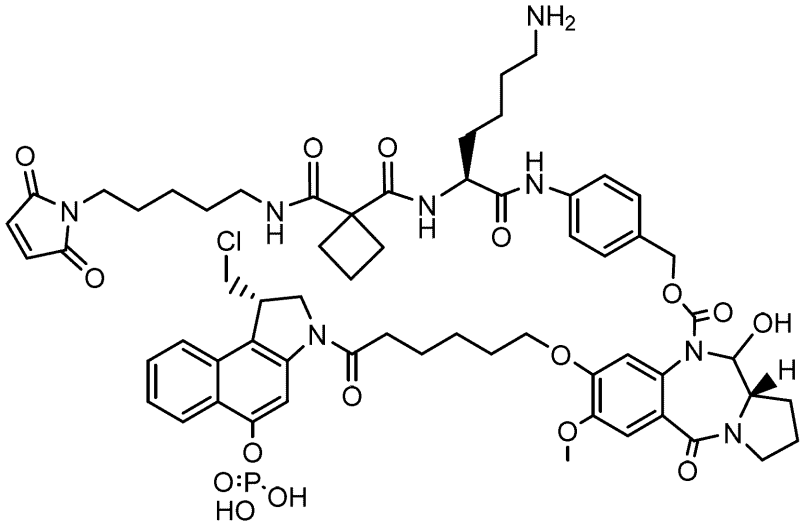
ＣＢＩ－ＰＢＤ（ピペラジン－カルバメートプロドラッグ）－２－プロピルピリジルジスルフィド８１、



ＣＢＩ－ＰＢＤ－（リン酸塩）－２－プロピルピリジルジスルフィド８２、



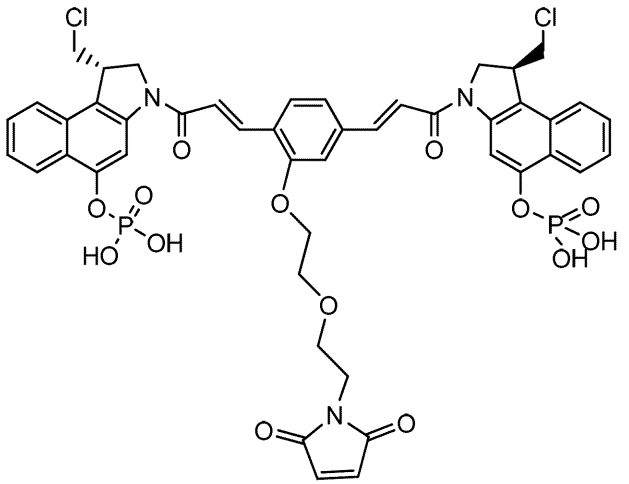
ＣＢＩ－ＰＢＤ－（リン酸塩）－２－プロピル、ニトロピリジルジスルフィド８５、及び



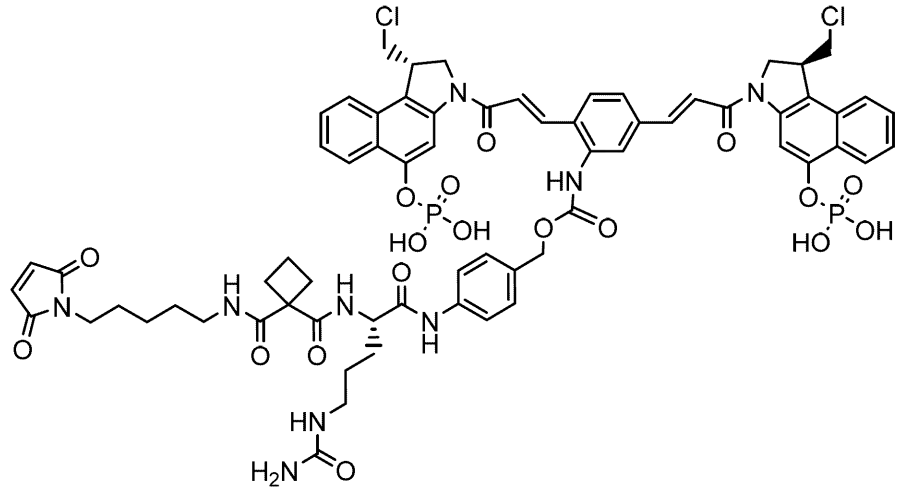
ＣＢＩ－ＰＢＤ－（リン酸塩）－ペプチド模倣体リンカー８６が含まれるが、これらに限定されない。

【０３８０】

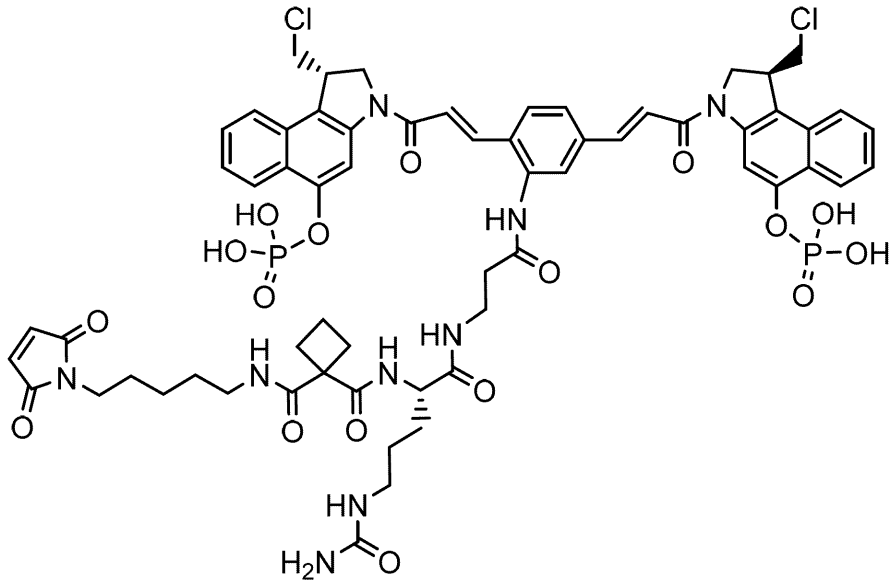
抗体にコンジュゲートされてＡＤＣを形成することができるＣＢＩ－ＣＢＩホモ二量体リンカー－薬物中間体の非限定的な例としては、



ＣＢＩ－ＣＢＩ（リン酸塩）－アセタール－マレイミド７８、



ＣＢＩ－ＣＢＩ（リン酸塩）－ペプチド模倣体ＰＡＢリンカー８９、及び



ＣＢＩ－ＣＢＩ（リン酸塩）－ペプチド模倣体ＥＤＡリンカー９０が含まれるが、これらに限定されない。

【０３８１】

（７）アマトキシン

いくつかの実施形態において、免疫複合体は、１つ以上のアマトキシン分子にコンジュ

ゲートされた抗体を含む。アマトキシンは、８個のアミノ酸からなる環状ペプチドである。それらは、タマゴテングダケ（Ａｍａｎｉｔａ　ｐｈａｌｌｏｉｄｅ）マッシュルームから単離され得るか、または合成的に調製され得る。アマトキシンは、哺乳動物細胞のＤＮＡ依存的ＲＮＡポリメラーゼＩＩを特異的に阻害し、それにより影響を受ける細胞の転写及びタンパク質生合成も阻害する。細胞内の転写の阻害により、成長及び増殖が停止する。例えば、Ｍｏｌｄｅｎｈａｕｅｒ　ｅｔ　ａｌ．ＪＮＣＩ　１０４：１－１３（２０１２）、ＷＯ２０１０１１５６２９、ＷＯ２０１２０４１５０４、ＷＯ２０１２１１９７８７、ＷＯ２０１４０４３４０３、ＷＯ２０１４１３５２８２、及びＷＯ２０１２１１９７８７（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。いくつかの実施形態において、１つ以上のアマトキシン分子は、１つ以上のα－アマニチン分子である。

【０３８２】

（８）他の薬物部分

薬物部分は、ゲルダナマイシン（Ｍａｎｄｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ（２０００）Ｊ．Ｎａｔ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔ．９２（１９）：１５７３－１５８１、Ｍａｎｄｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ（２０００）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ　１０：１０２５－１０２８、Ｍａｎｄｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ（２００２）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．１３：７８６－７９１）、ならびに、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、α－サルシン、シナアブラギリ（Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ　ｆｏｒｄｉｉ）タンパク質、ジアンシンタンパク質、アメリカヤマゴボウ（Ｐｈｙｔｏｌａｃａ　ａｍｅｒｉｃａｎａ）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ－Ｓ）、ニガウリ（ｍｏｍｏｒｄｉｃａ　ｃｈａｒａｎｔｉａ）阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ（ｓａｐａｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンが含まれるが、これらに限定されない酵素的活性毒素及びその断片も含む。例えば、ＷＯ９３／２１２３２を参照されたい。

【０３８３】

薬物部分は、核酸分解活性を有する化合物も含む（例えば、リボヌクレアーゼまたはＤＮＡエンドヌクレアーゼ）。

【０３８４】

ある特定の実施形態において、免疫複合体は、放射活性原子を含み得る。種々の放射活性アイソトープは、放射性複合抗体の産生に使用可能である。例としては、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、及びＬｕの放射活性アイソトープが挙げられる。いくつかの実施形態において、免疫複合体が検出に使用される場合、シンチグラフィー試験のための放射活性原子、例えば、Tc^{99}若しくはI^{123}、または核磁気共鳴（ＮＭＲ）撮像（磁気共鳴撮像（ＭＲＩ）としても知られる）のためのスピン標識，、例えば、ジルコニウム－８９、ヨード－１２３、ヨード－１３１、インジウム－１１１、フッ素－１９、炭素－１３、窒素－１５、酸素－１７、ガドリニウム、マンガネーゼ、または鉄を含み得る。ジルコニウム－８９は、様々な金属キレート剤に複合体化され得、例えば、ＰＥＴ撮像のために抗体にコンジュゲートされ得る（ＷＯ２０１１／０５６９８３号）。

【０３８５】

放射標識または他の標識が、既知の方法で免疫複合体に組み込まれてもよい。例えば、ペプチドは、例えば、１つ以上のフッ素－１９原子を１つ以上の水素の代わりに含む好適なアミノ酸前駆体を使用して、生合成され得るか、または化学的に合成され得る。いくつかの実施形態において、Tc^{99}、I^{123}、Re^{186}、Re^{188}、及びIn^{111}等の標識は、抗体内のシステイン残基を介して結合され得る。いくつかの実施形態において、イットリウム－９０は、抗体のリシン残基を介して結合され得る。いくつかの実施形態において、ＩＯＤＯＧＥＮ法（Ｆｒａｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ（１９７８）Ｂｉｏｃｈｅｍ

．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．８０：４９－５７を使用して、ヨード－１２３を組み込むことができる。「Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｓｃｉｎｔｉｇｒａｐｈｙ」（Ｃｈａｔａｌ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ １９８９）では、ある特定の他の方法を説明する。

【０３８６】

ある特定の実施形態において、免疫複合体は、プロドラッグ活性酵素にコンジュゲートされた抗体を含み得る。いくつかのかかる実施形態において、プロドラッグ活性酵素は、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、ＷＯ８１／０１１４５を参照されたい）を、抗癌薬等の活性薬物に変換する。かかる免疫複合体は、いくつかの実施形態において、抗体依存的酵素媒介性プロドラッグ療法（「ＡＤＥＰＴ」）において有用である。抗体にコンジュゲートされ得る酵素としては、リン酸含有プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なアルカリホスファターゼ、硫酸含有プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なアリールスルファターゼ、非傷害性５－フルオロシトシンを抗癌薬、５－フルオロウラシルに変換するために有用なシトシンデアミナーゼ、ペプチド含有プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なセラチアプロテアーゼ、サーモリシン、サブチリシン、カルボキシペプチダーゼ、及びカテプシン（例えば、カテプシンＢ及びＬ）等のプロテアーゼ、Ｄ－アミノ酸置換基を含有するプロドラッグを変換するために有用なＤ－アラニルカルボキシペプチダーゼ、グリコシル化プロドラッグを遊離薬物に変換するために有用なβ－ガラクトシダーゼ及びノイラミニダーゼ等の炭水化物切断酵素、β－ラクタムで誘導体化された薬物を遊離薬物に変換するために有用なβ－ラクタマーゼ、ならびにそれらのアミン窒素において、フェノキシアセチル基またはフェニルアセチル基でそれぞれ誘導体化された薬物を遊離薬物に変換するために有用なペニシリンＶアミダーゼ及びペニシリンＧアミダーゼ等のペニシリンアミダーゼが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、酵素は、当該技術分野において周知の組み換えＤＮＡ技法によって抗体に共有結合され得る。例えば、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３１２：６０４－６０８（１９８４）を参照されたい。

【０３８７】

ｃ）薬物負荷

薬物負荷は、式Ｉの分子における１抗体当たりの薬物部分の平均数である、ｐによって表される。薬物負荷は、１抗体当たり１～２０個の薬物部分（Ｄ）の範囲であり得る。式ＩのＡＤＣは、１～２０個の範囲の薬物部分とコンジュゲートされた抗体の集団を含む。複合反応からＡＤＣを調製する際の１抗体当たりの薬物部分の平均数は、質量分析法、ＥＬＩＳＡアッセイ、及びＨＰＬＣ等の従来の手段によって特徴付けられてもよい。また、ｐの単位でのＡＤＣの定量分布が決定されてもよい。いくつかの事例において、ｐがある特定の値である同種のＡＤＣを、他の薬物負荷を有するＡＤＣから分離し、精製し、かつ特徴付けることは、逆相ＨＰＬＣまたは電気泳動等の手段によって達成されてもよい。

【０３８８】

いくつかの抗体－薬物複合体では、ｐは、抗体上の結合部位の数によって限定され得る。例えば、上記のある特定の例示的な実施形態のように、結合がシステインチオールである場合、抗体は、１個のみ若しくは数個のシステインチオール基を有し得るか、または、１個のみ若しくは数個の反応性が十分なチオール基を有し得、それによって、リンカーが結合され得る。ある特定の実施形態において、薬物負荷がより高くなると、例えば、ｐが５超になると、ある特定の抗体－薬物複合体は凝集し、不溶性となり、毒性となるか、または細胞透過性が喪失し得る。ある特定の実施形態において、ＡＤＣの平均薬物負荷は、１～約８、すなわち約２～約６、または約３～約５の範囲である。実際、ある特定のＡＤＣでは、１抗体当たりの薬物部分の最適な比率は、８未満であり得、また約２～約５であり得ることが示されてきた（ＵＳ７４９８２９８）。

【０３８９】

ある特定の実施形態において、理論上の最大数よりも少ない薬物部分が、複合反応中に抗体にコンジュゲートされる。抗体は、以下に考察されるように、例えば、薬物－リンカ

ー中間体またはリンカー試薬と反応しないリジン残基を含有し得る。一般に、抗体は、薬物部分に連結し得る多くの遊離及び反応性システインチオール基を含有せず、実際、抗体におけるほとんどのシステインチオール残基は、ジスルフィド架橋として存在する。ある特定の実施形態において、抗体は、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）またはトリカルボニルエチルホスフィン（ＴＣＥＰ）等の還元剤により、部分または完全還元条件下で還元されて、反応性システインチオール基が生成され得る。ある特定の実施形態において、本抗体は、リジンまたはシステイン等の反応性求核基を明らかにするために、変性条件に置かれる。

【０３９０】

ＡＤＣの負荷（薬物／抗体比）は、異なる方式で、ならびに例えば、（ｉ）抗体と比較して比するモル過剰の薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬を限定すること、（ｉｉ）複合反応時間または温度を限定すること、及び（ｉｉｉ）システインチオール修飾のための部分または限定的還元条件によって制御されてもよい。

【０３９１】

１個を超える求核基が薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬と反応する場合、結果として生じる生成物は、抗体に結合する１個以上の薬物部分が分布するＡＤＣ化合物の混合物であることを理解されたい。１抗体当たりの平均数薬物は、抗体及び薬物に特異的である二重ＥＬＩＳＡ抗体アッセイによって混合物から算出されてもよい。個々のＡＤＣ分子は、質量分析法によって混合物中で特定され、ＨＰＬＣ、例えば、疎水性相互作用クロマトグラフィーによって、分離されてもよい（例えば、ＭｃＤｏｎａｇｈ ｅｔ ａｌ（２００６）Ｐｒｏｔ．Ｅｎｇｒ．Ｄｅｓｉｇｎ ＆ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ １９（７）：２９９－３０７、Ｈａｍｂｌｅｔｔ ｅｔ ａｌ（２００４）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１０：７０６３－７０７０、Ｈａｍｂｌｅｔｔ，Ｋ．Ｊ．，ｅｔ ａｌ．“Ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ ｄｒｕｇ ｌｏａｄｉｎｇ ｏｎ ｔｈｅ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ，ａｎｄ ｔｏｘｉｃｉｔｙ ｏｆ ａｎ ａｎｔｉ－ＣＤ３０ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅ，”Ａｂｓｔｒａｃｔ Ｎｏ．６２４，Ａｍｅｒｉｃａｎ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００４ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ，Ｍａｒｃｈ ２７－３１，２００４，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ ＡＡＣＲ，Ｖｏｌｕｍｅ ４５，Ｍａｒｃｈ ２００４、Ａｌｌｅｙ，Ｓ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．“Ｃｏｎｔｒｏｌｌｉｎｇ ｔｈｅ ｌｏｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｄｒｕｇ ａｔｔａｃｈｍｅｎｔ ｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ，”Ａｂｓｔｒａｃｔ Ｎｏ．６２７，Ａｍｅｒｉｃａｎ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００４ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ，Ｍａｒｃｈ ２７－３１，２００４，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ ＡＡＣＲ，Ｖｏｌｕｍｅ ４５，Ｍａｒｃｈ ２００４を参照されたい）。ある特定の実施形態において、単一の負荷値を有する同種のＡＤＣが、電気泳動またはクロマトグラフィーによって複合混合物から単離されてもよい。

【０３９２】

ｄ）免疫複合体を調製するある特定の方法

式ＩのＡＤＣは、（１）抗体の求核基と二価リンカー試薬とを反応させて共有結合によってＡｂ－Ｌを形成し、続いて薬物部分Ｄと反応させることと、（２）薬物部分の求核基と二価リンカー試薬とを反応させて、共有結合を介してＤ－Ｌを形成し、続いて抗体の求核基と反応させることとを含む、当業者に既知の有機化学反応、条件、及び試薬を用いるいくつかの経路によって調製されてもよい。後者の経路を介して式ＩのＡＤＣを調製するための例示的な方法は、ＵＳ７４９８２９８に記載され、それは参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０３９３】

抗体上の求核基には、（ｉ）Ｎ末端アミン基、（ｉｉ）側鎖アミン基、例えば、リジン、（ｉｉｉ）側鎖チオール基、例えば、システイン、及び（ｉｖ）抗体がグリコシル化される糖ヒドロキシルまたはアミノ基が含まれるが、これらに限定されない。アミン、チオ

ール、及びヒドロキシル基は、求核性であり、（ｉ）ＮＨＳエステル、ＨＯＢｔエステル、ハロホルメート（ｈａｌｏｆｏｒｍａｔｅ）、及び酸ハロゲン化物等の活性エステル、（ｉｉ）ハロアセトアミド等のアルキル及びベンジルハロゲン化物、ならびに（ｉｉｉ）アルデヒド、ケトン、カルボキシル、及びマレイミド基を含む、リンカー部分及びリンカー試薬上の求電子基と反応して、共有結合を形成することが可能である。ある特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、完全にまたは部分的に還元されるように、ＤＴＴ（ジチオスレイトール）またはトリカルボニルエチルホスフィン（ＴＣＥＰ）等の還元剤での処理によって、リンカー試薬とのコンジュゲートに対して反応し得る。したがって、各システイン架橋は、理論上、２つの反応性のチオール求核剤を形成することになる。追加の求核基は、リジン残基の修飾によって、例えば、リジン残基と２－イミノチオラン（トラウト試薬（Ｔｒａｕｔ’ｓ　ｒｅａｇｅｎｔ））とを反応させて、アミンをチオールへと変換させることによって抗体中に導入することができる。反応性のチオール基もまた、１個、２個、３個、４個、またはそれ以上のシステイン残基を導入することによって（例えば、１個以上の非天然システインアミノ酸残基を含む変異形抗体を調製することによって）抗体中に導入され得る。

【０３９４】

本発明の抗体－薬物複合体はまた、アルデヒドまたはケトンカルボニル基等の抗体上の求電子基と、リンカー試薬または薬物上の求核基との間の反応によって産生されてもよい。リンカー試薬上の有用な求核基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボン酸塩、及びアリールヒドラジドが含まれるが、これらに限定されない。一実施形態において、抗体は、リンカー試薬または薬物上の求核置換基と反応可することができる求電子部分を導入するように修飾される。別の実施形態において、グリコシル化抗体の糖を、例えば、過ヨウ素酸塩酸化試薬で酸化させて、リンカー試薬または薬物部分のアミン基と反応し得るアルデヒド基またはケトン基を形成してもよい。結果として生じるイミンシッフ塩基群は、安定した結合を形成し得るか、または例えば、水素化ホウ素試薬によって還元されて、安定したアミン結合を形成し得る。一実施形態において、グリコシル化された抗体の炭水化物部分と、ガラクトースオキシダーゼまたはメタ過ヨウ素酸ナトリウムのいずれかとを反応させると、抗体において、薬物上の適切な基と反応することができるカルボニル（アルデヒド及びケトン）基がもたらされ得る（Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ）。別の実施形態において、Ｎ末端セリンまたはスレオニン残基を含有する抗体は、メタ過ヨウ素酸ナトリウムと反応し、それによって第１のアミノ酸の代わりにアルデヒドが産生され得る（Ｇｅｏｇｈｅｇａｎ　＆　Ｓｔｒｏｈ、（１９９２）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．３：１３８－１４６、米国公開特許第５３６２８５２号）。かかるアルデヒドと、薬物部分またはリンカー求核剤とを反応させることができる。

【０３９５】

薬物部分上の例示的な求核基には、（ｉ）ＮＨＳエステル、ＨＯＢｔエステル、ハロホルメート、及び酸ハロゲン化物等の活性エステル、（ｉｉ）ハロアセトアミド等のアルキル及びベンジルハロゲン化物、ならびに（ｉｉｉ）アルデヒド、ケトン、カルボキシル、及びマレイミド基を含む、リンカー部分及びリンカー試薬上の求電子基と反応して、共有結合を形成することが可能なアミン、チオール、ヒドロキシル、ヒドラジド、オキシム、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボン酸塩、及びアリールヒドラジド基が含まれるが、これらに限定されない。

【０３９６】

ＡＤＣを調製するために使用され得るクロスリンカー試薬の非限定的な例は、本明細書において、「例示的なリンカー」と題される節に記載される。かかるクロスリンカー試薬を使用して、タンパク質性部分及び化学部分を含む２つの部分を連結する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、抗体及び細胞傷害性薬剤を含む融合タンパク質は、例えば、組み換え技法またはペプチド合成によって作製されてもよい。組み換えＤＮＡ分子は、互いに隣接しているか、または複合体の所望の特性を破壊しない

リンカーペプチドをコードする領域によって隔離されている、複合体の抗体及び細胞傷害性部分をコードする領域を含んでもよい。

【０３９７】

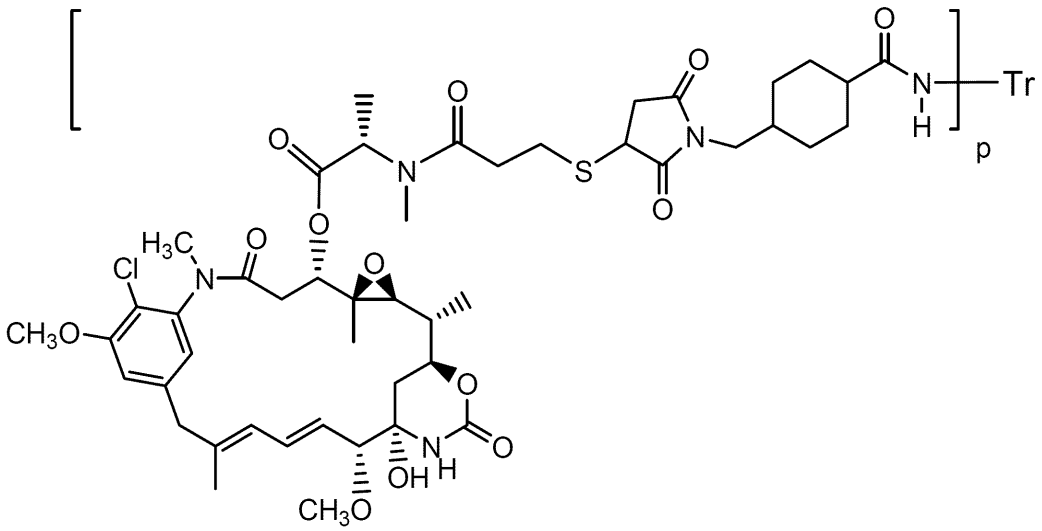
さらに別の実施形態において、抗体は、腫瘍の事前標的化（ｐｒｅ－ｔａｒｇｅｔｉｎｇ）において利用するために「受容体」（ストレプトアビジン等）にコンジュゲートされてもよく、この場合、その腫瘍の事前標的化において抗体－受容体複合体が患者に投与され、続いて除去剤を使用して血液循環から非結合複合体を除去し、次いで細胞傷害性薬剤（例えば、薬物または放射性ヌクレオチド）にコンジュゲートされている「リガンド」（例えば、アビジン）が投与される。

【０３９８】

Ｅ．トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１及びペルツズマブ

トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１）

本発明は、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１、トラスツズマブエムタンシンとも称される）、構造：



を有する抗体－薬物複合体（Ｃａｓ　Ｒｅｇ．Ｎｏ．１３９５０４－５０－０）による治療的処置を含み、式中、Ｔｒは、リンカー部分ＭＣＣを介してマイタンシノイド薬物部分ＤＭ１に結合されたトラスツズマブである（ＵＳ５２０８０２０、ＵＳ６４４１１６３）。薬物対抗体の比または薬物負荷は、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１の上記構造においてｐによって表され、１～約８の整数値の範囲である。トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１は、様々に負荷されかつ結合された抗体－薬物複合体の全ての混合物を含むが、この場合１、２、３、４、５、６、７、及び８つの薬物部分が、抗体トラスツズマブに共有結合される（ＵＳ７０９７８４０、ＵＳ８３３７８５６、ＵＳ２００５／０２７６８１２、ＵＳ２００５／０１６６９９３）。

【０３９９】

トラスツズマブは、哺乳動物細胞（チャイニーズハムスター卵巣、ＣＨＯ）懸濁培養によって産生され得る。ＨＥＲ２（またはｃ－ｅｒｂＢ２）癌原遺伝子は、上皮成長因子受容体に構造的に関連する、１８５ｋＤａの膜貫通受容体タンパク質をコードする。トラスツズマブは、マウス４Ｄ５抗体の、またはそれに由来する抗原結合残基を有する抗体である（ブダペスト条約下でＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１０４６３、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（１２３０１　Ｐａｒｋｌａｗｎ　Ｄｒｉｖｅ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍｄ．２０８５２）に１９９０年５月２４日に寄託）。例示的なヒト化４Ｄ５抗体としては、ＵＳ５８２１３３７のように、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－１、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－２、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－３、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－４、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－５、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－６、ｈｕＭＡｂ４Ｄ５－７、及びｈｕＭＡｂ４Ｄ５－８（トラスツズマブ、ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標））が挙げられる。いくつかの実施形態において

、Ｔ－ＤＭ１の抗体部分は、配列番号３０及び配列番号２９それぞれに示される軽鎖アミノ配列及び重鎖アミノ酸配列を含む。

【０４００】

トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１は、例えば、米国特許出願公開第２０１１０１６５１５５号の実施例１に従って調製されてもよい。

【０４０１】

一般命題として、１用量当たり投与されるトラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１の最初の薬学的に有効な量は、患者の体重の約０．３～１５ｍｇ／ｋｇ／日の範囲内となる。

【０４０２】

市販のＴ－ＤＭ１製剤（ＫＡＤＣＹＬＡ（登録商標）、アドートラスツズマブエムタンシン）は、単回使用バイアル中の無菌の白色～オフホワイトの保存剤を含まない結乾燥粉末である。各バイアルは、１００ｍｇまたは１６０ｍｇのアドートラスツズマブエムタンシンを含有する。再構成に続いて、各単回使用バイアルは、アドートラスツズマブエムタンシン（２０ｍｇ／ｍＬ）、ポリソルベート２０［０．０２％（ｗ／ｖ）］、コハク酸ナトリウム（１０ｍＭ）、及びスクロース［６％（ｗ／ｖ）］を含有し、ｐＨは５．０で密度は１．０２６ｇ／ｍＬである。得られる溶液は、２０ｍｇ／ｍＬのアドートラスツズマブエムタンシンを含有し、、希釈後に静脈内点滴によって投与される。いくつかの実施形態において、アドートラスツズマブエムタンシンは、３週間毎に３．６ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。いくつかの実施形態において、アドートラスツズマブエムタンシンは、毎週２．４ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。

【０４０３】

ペルツズマブ組成物

ペルツズマブ組成物は、本明細書の以上で定義される主要種ペルツズマブ抗体と、その１つ以上の変異形との混合物を含む。ペルツズマブ主要種抗体の本明細書における好ましい実施形態は、配列番号３２の軽鎖アミノ酸配列、及び配列番号３１の重鎖アミノ酸配列を含むものである（それらの配列の脱アミド化変異形及び／または酸化変異形を含む）。いくつかの実施形態において、この組成物は、主要種ペルツズマブ抗体と、アミノ末端リーダー伸長を含むそのアミノ酸配列変異形との混合物を含み、例えば、配列番号３４の軽鎖アミノ酸配列、及び配列番号３３の重鎖アミノ酸配列を含む。好ましくは、アミノ末端リーダー伸長は、抗体変異形の軽鎖上（例えば、抗体変異形の１つまたは２つの軽鎖上）にある。主要種ＨＥＲ２抗体または抗体変異形は、全長抗体または抗体断片（例えば、Ｆ（ａｂ′）２断片のＦａｂ）であり得るが、両方が全長抗体であることが好ましい。本明細書における抗体変異形は、その重鎖または軽鎖のうちの任意の１つ以上にアミノ末端リーダー伸長を含み得る。好ましくは、アミノ末端リーダー伸長は、抗体の１つまたは２つの軽鎖上にある。アミノ末端リーダー伸長は、好ましくは、ＶＨＳ－－を含むか、またはそれからなる。組成物中のアミノ末端リーダー伸長の存在は、Ｎ末端配列分析、電荷異質性についてのアッセイ（例えば、陽イオン交換クロマトグラフィーまたはキャピラリーゾーン電気泳動）、質量分析等が含まれるが、これらに限定されない様々な分析技法によって検出され得る。組成物中の抗体変異形の量は、一般に、変異形を検出するために使用される任意のアッセイ（好ましくはＮ末端配列分析）の検出限界を構成する量～主要種抗体の量未満の量の範囲である。一般に、組成物中の抗体分子の約２０％以下（例えば、約１％～約１５％、例えば、５％～約１５％）が、アミノ末端リーダー伸長を含む。かかる量のパーセンテージは、好ましくは、定量的Ｎ末端配列分析または陽イオン交換分析を使用して（好ましくは高分解能、弱陽イオン交換カラム、例えば、ＰＲＯＰＡＣ　ＷＣＸ－１０（商標）陽イオン交換カラムを使用して）決定される。アミノ末端リーダー伸長変異形とは別に、その重鎖の一方または両方にＣ末端リシン残基を含む抗体、脱アミド化抗体変異形等が含まれるが、これらに限定されない主要種抗体及び／または変異形のさらなるアミノ酸配列変化が企図される。

【０４０４】

さらに、主要種抗体または変異形は、グリコシル化変形をさらに含んでもよく、その非

限定的な例としては、そのＦｃ領域に結合されるＧ１若しくはＧ２オリゴ糖を含む抗体、その軽鎖に結合される炭水化物部分を含む抗体（例えば、抗体の１つ若しくは２つの軽鎖に結合される、例えば、１つ以上のリシン残基に結合される、１つ若しくは２つの炭水化物部分、例えば、グルコース若しくはガラクトース）、１つ若しくは２つの非グリコシル化重鎖を含む抗体、またはその１つ若しくは２つの重鎖に結合されるシアリダーゼ化オリゴ糖を含む抗体が挙げられる。

【０４０５】

組成物は、遺伝子操作された細胞株、例えば、ＨＥＲ２抗体を発現するチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株から回収され得るか、またはペプチド合成によって調製され得る。

【０４０６】

例示的なペルツズマブ組成物に関するさらなる情報については、米国特許第７，５６０，１１１号及び同第７，８７９，３２５号、ならびにＵＳ２００９／０２０２５４６Ａ１を参照されたい。

【０４０７】

ペルツズマブの市販の製剤（ＰＥＲＪＥＴＡ（登録商標））は、ＩＶ点滴用の保存剤を含まない溶液の形態のペルツズマブ４２０ｍｇ／１４ｍＬ（３０ｍｇ／ｍＬ）を含有する。いくつかの実施形態において、ペルツズマブ療法は、初期負荷用量８４０ｍｇの投与、その後の３週間毎の一定維持用量４２０ｍｇの投与を含む。

【０４０８】

Ｆ．診断及び検出のための方法及び組成物

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体のいずれも、生体試料中のＨＥＲ２の存在の検出に有用である。本明細書で使用される「検出すること」という用語は、定量または定性検出を包含する。「生体試料」は、例えば、細胞または組織（例えば、癌性であるかまたは癌性である可能性がある乳組織を含む生検材料）を含む。

【０４０９】

一実施形態において、診断または検出方法において使用するための抗ＨＥＲ２抗体が提供される。さらなる態様において、生体試料中のＨＥＲ２の存在を検出する方法が提供される。ある特定の実施形態において、本方法は、生体試料と、本明細書に記載される抗ＨＥＲ２抗体とを、ＨＥＲ２に抗ＨＥＲ２抗体が結合することを許容する条件下で接触させることと、複合体が、生体試料中で、抗ＨＥＲ２抗体とＨＥＲ２との間で形成されるかどうかを検出することと、を含む。かかる方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ方法であっても、ｉｎ　ｖｉｖｏ方法であってもよい。一実施形態において、例えば、ＨＥＲ２が患者の選択のためのバイオマーカーである場合、抗ＨＥＲ２抗体を使用して、抗ＨＥＲ２抗体での治療法に適格な対象を選択する。さらなる実施形態において、生体試料は、細胞または組織である。

【０４１０】

さらなる実施形態において、抗ＨＥＲ２抗体は、例えば、癌を診断する、癌の予後を判定する若しくは癌を病期分類する、癌の適切な治療過程を決定する、または治療法に対する癌の反応を監視する目的でｉｎ　ｖｉｖｏで使用されて、例えば、ｉｎ　ｖｉｖｏ画像法によって、対象におけるＨＥＲ２陽性癌を検出する。ｉｎ　ｖｉｖｏ検出のための当該技術分野で既知の１つの方法は、例えば、ｖａｎ　Ｄｏｎｇｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｈｅ　Ｏｎｃｏｌｏｇｉｓｔ　１２：１３７９－１３８９（２００７）及びＶｅｒｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．４４：１２７１－１２８１（２００３）に記載される、イムノ－陽電子放射断層撮影（イムノ－ＰＥＴ）である。かかる実施形態において、対象においてＨＥＲ２陽性癌を検出するための方法が提供され、本方法は、標識された抗ＨＥＲ２抗体を、ＨＥＲ２陽性癌を有するかまたはそれを有することが疑われる対象に投与することと、対象において標識された抗ＨＥＲ２抗体を検出することと、を含み、その標識された抗ＨＥＲ２抗体の検出により、対象におけるＨＥＲ２陽性癌を示す。かかる実施形態のある特定のものにおいて、標識された抗ＨＥＲ２抗体は、^{68}Ｇａ，^{18}Ｆ，^{64}

Ｃｕ，^{86}Ｙ，^{76}Ｂｒ，^{89}Ｚｒ、及び^{124}Ｉ等の陽電子放出体にコンジュゲートされる抗ＨＥＲ２抗体を含む。特定の実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【０４１１】

さらなる実施形態において、診断または検出方法は、基質に固定化された第１の抗ＨＥＲ２抗体を、ＨＥＲ２の存在について試験されるべき生体試料と接触させることと、その基質を第２の抗ＨＥＲ２抗体に曝露することと、その第２の抗ＨＥＲ２が、生体試料中で、第１の抗ＨＥＲ２抗体とＨＥＲ２との間の複合体に結合されるかどうかを検出することとを含む。基質は、任意の支持培地、例えば、ガラス、金属、セラミック、ポリマービーズ、スライド、チップ、及び他の基質であってもよい。ある特定の実施形態において、生体試料は、細胞または組織を含む。ある特定の実施形態において、第１または第２の抗ＨＥＲ２抗体は、本明細書に記載される抗体のいずれかである。

【０４１２】

以上の実施形態のいずれかにより診断または検出され得る、例示的な障害には、ＨＥＲ２陽性乳癌及びＨＥＲ２陽性胃癌等のＨＥＲ２陽性癌が含まれる。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、２＋若しくは３＋の免疫組織化学（ＩＨＣ）スコア、及び／または２．０以上のｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）増幅率を有する。

【０４１３】

ある特定の実施形態において、標識された抗ＨＥＲ２抗体が提供される。標識には、直接検出される標識（蛍光標識、発色団標識、高電子密度標識、化学発光標識、及び放射性標識等）または部分、及び例えば、酵素反応または分子相互作用によって間接的に検出される酵素またはリガンド等の部分が含まれるが、これらに限定されない。例示的な標識には、放射性同位体^{32}Ｐ，^{14}Ｃ，^{125}Ｉ，^{3}Ｈ、及び^{131}Ｉ、希土類キレートまたはフルオレセイン及びその誘導体等のフルオロフォア、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルセリフェラーゼ（ｌｕｃｅｒｉｆｅｒａｓｅｓ）、例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖質オキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース－６－リン酸塩デヒドロゲナーゼ、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化させる酵素、例えばＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ、またはマイクロペルオキシダーゼとカップリングされた、ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ等の複素環式オキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定した遊離ラジカル等が含まれるが、これらに限定されない。別の実施形態において、標識は、陽電子放出体である。陽電子放出体には、^{68}Ｇａ，^{18}Ｆ，^{64}Ｃｕ，^{86}Ｙ，^{76}Ｂｒ，^{89}Ｚｒ，及び^{124}Ｉが含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【０４１４】

Ｇ．医薬製剤

本明細書に記載されるＨＥＲ２抗体または免疫複合体の医薬製剤抗は、所望の程度の純度を有するかかる抗体または免疫複合体と、１つ以上の任意の薬学的に許容される担体（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））とを混合することによって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製される。薬学的に許容される担体は、一般に、用いられる投薬量及び濃度で、レシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸等の緩衝液、アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤、防腐剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム等、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチル、若しくはベンジルアルコール、メチル若しくはプロピルパラベン等のアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、３－ペンタノール、及びｍ－クレゾール等）、低分子量（約１０残

基未満）のポリペプチド、血清アルブミン、ゼラチン、若しくは免役グロブリン等のタンパク質、ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、若しくはリジン等のアミノ酸、単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、若しくはデキストリンを含む他の炭水化物、ＥＤＴＡ等のキレート薬剤、ショ糖、マンニトール、トレハロース、若しくはソルビトール等の糖類、ナトリウム等の塩形成対イオン、金属複合体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）、ならびに／またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）等の非イオン性界面活性剤が含まれるが、これらに限定されない。本明細書における例示的な薬学的に許容される担体には、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えば、ｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）等のヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖タンパク質等の、介在性（ｉｎｓｔｅｒｓｔｉｔｉａｌ）薬物分散剤がさらに含まれる。ｒＨｕＰＨ２０を含むある特定の例示的なｓＨＡＳＥＧＰ及び使用方法は、米国特許公開第２００５／０２６０１８６号、同第２００６／０１０４９６８号に記載される。一態様において、ｓＨＡＳＥＧＰは、コンドロイチナーゼ等の１つ以上の追加のグリコサミノグリカナーゼと組み合わされる。

【０４１５】

例示的な凍結乾燥抗体または免疫複合体製剤は、米国特許第６，２６７，９５８号に記載される。水性抗体または免疫複合体製剤には、米国特許第６，１７１，５８６号及びＷＯ２００６／０４４９０８に記載されるものが含まれ、後者の製剤はヒスチジン－酢酸緩衝液が含まれる。

【０４１６】

本明細書における製剤はまた、必要に応じて、治療されている特定の適応症に対する１つを超える活性成分、好ましくは相互に悪影響を及ぼさない相補的活性を有する成分を含有してもよい。

【０４１７】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術によって、または界面重合によって調製される、マイクロカプセル、例えば、それぞれ、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子、及びナノカプセル）中またはマクロエマルション中のヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン－マイクロカプセル及びポリ－（メチルメタクリレート（ｍｅｔｈｙｌｍｅｔｈａｃｙｌａｔｅ））マイクロカプセル中に封入されてもよい。かかる技術は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．．（１９８０）に開示される。

【０４１８】

徐放性調製物が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例としては、抗体または免疫複合体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスが挙げられ、そのマトリクスは、造形品、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。

【０４１９】

ｉｎ　ｖｉｖｏ投与のために使用されるべき製剤は、一般に滅菌されている。無菌状態は、例えば、無菌濾過膜を介する濾過によって、容易に達成され得る。

【０４２０】

Ｈ．組み換え法及び組成物

本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体のいずれも、方法、例えば、治療方法において使用され得る。

【０４２１】

一態様において、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体は、ＨＥＲ２陽性細胞の増殖を阻害する方法において使用され、本方法は、抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体が細胞の表面上のＨＥＲ２に結合することを許容する条件下で、細胞を抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体に曝露し、それによって細胞の増殖を阻害することを含む。ある特定の実施形態において、本方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ方法またはｉｎ　ｖｉｖｏ方法であ

る。さらなる実施形態において、細胞は、乳癌細胞または胃癌細胞である。

【０４２２】

ｉｎ ｖｉｔｒｏでの細胞増殖の阻害は、Ｐｒｏｍｅｇａ（Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）から市販されている、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（商標）Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ Ｃｅｌｌ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙアッセイを使用してアッセイされてもよい。そのアッセイは、代謝的に活性な細胞を示す、存在するＡＴＰの定量に基づいて、培養物中の生存細胞の数を決定する。Ｃｒｏｕｃｈ ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．１６０：８１－８８、米国特許第６６０２６７７号を参照されたい。アッセイは、自動化高処理スクリーニング（ＨＴＳ）に適した９６ウェルまたは３８４ウェル形式で行われてもよい。Ｃｒｅｅ ｅｔ ａｌ．（１９９５）ＡｎｔｉＣａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇｓ ６：３９８－４０４を参照されたい。アッセイ手順には、単一の試薬（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）試薬）を培養細胞に直接添加することを伴う。これにより、細胞溶解及びルシフェラーゼ反応によって生み出される発光シグナルの生成がもたらされる。発光シグナルは、培養物中に存在する生存細胞の数に直接比例する、存在するＡＴＰの量に比例する。データは、ルミノメーターまたはＣＣＤカメラ画像化デバイスによって記録することができる。発光出力は、相対発光量（ＲＬＵ）として表される。

【０４２３】

別の態様において、薬として使用するための抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体が提供される。さらなる態様において、治療方法において使用するための抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体が提供される。ある特定の実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌を治療することにおいて使用するための抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体が提供される。ある特定の実施形態において、本発明は、ＨＥＲ２陽性癌を有する個体を治療する方法において使用するための抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体を提供し、本方法は、個体に、有効量の抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体を投与することを含む。１つのかかる実施形態において、本方法は、個体に、例えば、以下に記載される有効量の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。

【０４２４】

さらなる態様において、本発明は、薬の製造または調製における、抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体の使用を提供する。一実施形態において、薬は、ＨＥＲ２陽性癌を治療するためのものである。さらなる実施形態において、薬は、ＨＥＲ２陽性癌を治療する方法において使用するためのものであり、本方法は、ＨＥＲ２陽性癌を有する個体に、有効量の薬を投与することを含む。１つのかかる実施形態において、本方法は、個体に、例えば、以下に記載される有効量の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。

【０４２５】

さらなる態様において、本発明は、ＨＥＲ２陽性癌を治療するための方法を提供する。一実施形態において、本方法は、かかるＨＥＲ２陽性癌を有する個体に、有効量の抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体を投与することを含む。１つのかかる実施形態において、本方法は、個体に、以下に記載されるような、有効量の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。

【０４２６】

以上の実施形態のいずれかによるＨＥＲ２陽性癌は、例えば、ＨＥＲ２陽性乳癌及びＨＥＲ２陽性胃癌であってもよい。いくつかの実施形態において、ＨＥＲ２陽性癌は、２＋若しくは３＋の免疫組織化学（ＩＨＣ）スコア、及び／または２．０以上のｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）増幅率を有する。

【０４２７】

以上の実施形態のいずれかによる「個体」、「患者」、または「対象」は、ヒトであり得る。

【０４２８】

さらなる態様において、本発明は、例えば、上記治療方法のいずれかにおいて使用するための、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体のいずれかを含む医薬製

剤を提供する。一実施形態において、医薬製剤は、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体のいずれかと、薬学的に許容される担体と、を含む。別の実施形態において、医薬製剤は、本明細書に提供される抗ＨＥＲ２抗体または免疫複合体のいずれかと、例えば、以下に記載される少なくとも１つの追加の治療剤と、を含む。

【０４２９】

本発明の抗体または免疫複合体は、治療法において、単独で、または他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本発明の抗体または免疫複合体（例えば、ｈｕ７Ｃ２．ｖ．２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ））は、少なくとも１つの追加の治療剤と共投与されてもよい。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、ＨＥＲ２に結合する抗体または免疫複合体でもある。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（ｉ）ＨＥＲ２のドメインＩＩに結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）ドメインＩＶ若しくはＨＥＲ２に結合する抗体若しくは免疫複合体である。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、（ｉ）エピトープ２Ｃ４に結合する抗体若しくは免疫複合体、及び／または（ｉｉ）エピトープ４Ｄ５に結合する抗体若しくは免疫複合体である。

【０４３０】

いくつかの実施形態において、ｈｕ７Ｃ２．ｖ．２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ）は、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、Ｔ－ＤＭ１（Ｋａｄｃｙｌａ（登録商標））、及びペルツズマブ（Ｐｅｒｊｅｔａ（登録商標））から選択される１つ以上の追加の治療剤と共投与される。いくつかの実施形態において、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣは、トラスツズマブと共投与される。いくつかの実施形態において、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣは、Ｔ－ＤＭ１と共投与される。いくつかの実施形態において、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣは、ペルツズマブと共投与される。いくつかの実施形態において、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣは、トラスツズマブ及びペルツズマブと共投与される。いくつかの実施形態において、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣは、Ｔ－ＤＭ１及びペルツズマブと共投与される。

【０４３１】

上述のかかる併用療法は、併用投与（２つ以上の治療剤が同じまたは別個の製剤中に含まれる）、及び個別投与を包含するが、この場合、本発明の抗体または免疫複合体の投与は、追加の治療剤及び／またはアジュバントの投与の前に、それと同時に、かつ／またはその後に行われ得る。本発明の抗体または免疫複合体はまた、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

【０４３２】

本発明の抗体または免疫複合体（及び任意の追加の治療剤）は、非経口投与、肺内投与、及び鼻腔内投与、ならびに局所治療で所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、任意の好適な経路によるもの、例えば、注射によるものであってよく、例えば、投与が短時間であるか慢性的であるかに部分的に応じて、静脈内または皮下注射等によるものであってよい。単回または種々の時点にわたる複数回投与、ボーラス投与、及びパルス注入を含むが、これらに限定されない、種々の投薬スケジュールが本明細書で企図される。

【０４３３】

本発明の抗体または免疫複合体は、良好な医療行為と一致した様式で、製剤化され、投薬され、かつ投与されることになる。これに関連して考慮する要因には、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床的病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、及び医療従事者に既知の他の要因が含まれる。必然的にではなく任意に、抗体または免疫複合体は、問題の障害を予防または治療するために現在使用される１つ以上の薬剤と共に製剤化される。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体または免疫複合体の量、障害または治療の種類、及び以上で考察された他の要因によって決定される。これらは、一般に、本明細書に記載されるものと同じ投薬量及び投与経路で、または本明細書に記載される投薬量の約１～９９％で、

または適切であると経験的／臨床的に決定される任意の投薬量及び任意の経路で使用される。

【０４３４】

疾患の予防または治療のために、本発明の抗体または免疫複合体の適切な投薬量は（単独でまたは１つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用されるとき）、治療対象の疾患の種類、抗体または免疫複合体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体または免疫複合体が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療法、患者の病歴、抗体または免疫複合体への反応、ならびに主治医の裁量によって決定されることになる。抗体または免疫複合体は、患者に、１回で、または一連の治療にわたって、好適に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば、１回以上の別個の投与によるものであれ、連続注入によるものであれ、約１μｇ／ｋｇ～１５ｍｇ／ｋｇ（例えば、０．１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ）の抗体または免疫複合体が、患者への投与のための初期候補投薬量であり得る。１つの典型的な１日投薬量は、上述の要因に応じて、約１μｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ以上の範囲であり得る。数日間またはそれより長い日数にわたる反復投与では、病態に応じて、治療は一般に、疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続される。抗体または免疫複合体の１つの例示的な投薬量は、約０．０５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲内となる。したがって、約０．５ｍｇ／ｋｇ、２．０ｍｇ／ｋｇ、４．０ｍｇ／ｋｇ、または１０ｍｇ／ｋｇ（またはそれらの任意の組み合わせ）の１つ以上の用量が患者に投与されてもよい。かかる用量は、断続的に、例えば、毎週または３週間毎に（例えば、約２～約２０回、または例えば、約６回用量の抗体を患者に投与するように）投与されてもよい。初回よりも高い負荷用量、続いて１回以上のより低い用量が投与されてもよい。しかしながら、他の投薬レジメンが有用な場合がある。この治療法の進行は、従来の技術及びアッセイによって容易に監視される。

【０４３５】

上記製剤または治療方法のうちのいずれも、本発明の免疫複合体及び抗ＨＥＲ２抗体の両方を使用して行われ得ることが理解される。

【０４３６】

Ｉ．製品

ｈｕ７Ｃ２．ｖ．２．２．ＬＡ抗体－薬物複合体（ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ）ならびに本明細書における治療方法に有用なトラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１、及び／またはペルツズマブを含有する製品または「キット」が提供される。いくつかの実施形態において、このキットは、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣを含む容器を含む。いくつかの実施形態において、このキットは、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１を含む容器をさらに含む。いくつかの実施形態において、このキットは、ペルツズマブを含む容器をさらに含む。いくつかの実施形態において、キットは、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１を含む容器と、ペルツズマブを含む容器と、をさらに含む。いくつかの実施形態において、このキットは、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ、トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１、及びペルツズマブのうちの２つ以上を同じ容器に含む。このキットは、容器上の、または容器と関連したラベルまたは添付文書をさらに含んでもよい。「添付文書」という用語は、かかる治療薬の適応症、使用法、投薬量、投与、禁忌症についての情報、及び／またはその使用に関する警告を含有する、治療薬の商用のパッケージに通例含まれる指示書を指すように使用される。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、ブリスターパック等が挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチック等の多様な材料から形成され得る。容器は、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ、任意にトラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１及び／若しくはペルツズマブ、または本明細書における治療方法での使用に有効なその製剤を保有し得、また無菌アクセスポートを有し得る（例えば容器は、静脈注射用溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を有するバイアルであり得る）。ラベルまたは添付文書は、組成物が本明細書に記載されて特許請求される治療方法で使用されることを表示する。製品は、薬学的に許容される緩衝剤、例えば、注入用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液を含む容器をさらに含んでもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、

針、及びシリンジを含む、商業的な観点及びユーザの観点から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。

【０４３７】

キットは、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ、ならびに任意選択でトラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１及び／またはペルツズマブの投与のための指示書をさらに含んでもよい。例えば、キットが、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣを含む第１の組成物及び第２の薬学的製剤を含む場合、キットは、第１及び第２の薬学的組成物を、それを必要とする患者に同時に、順次に、または別個に投与するための指示書をさらに含んでもよい。

【０４３８】

別の実施形態において、キットは、錠剤またはカプセル等の固体経口形態のｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ、ならびに任意選択でトラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１及び／またはペルツズマブの送達に好適である。かかるキットは好ましくは、いくつかの単位投薬量を含む。かかるキットは、それらの意図される使用の順序で配置された投薬量を有するカードを含む。かかるキットの例は、「ブリスターパック」である。ブリスターパックは、パッケージング業界において周知であり、医薬品の単位剤形のパッケージに広く使用されている。所望される場合、治療スケジュール中の投薬量が投与され得る日を指定する、例えば数字、文字、若しくは他の印の形態での、またはカレンダーインサートを用いた記憶補助機構が提供され得る。

【０４３９】

一実施形態によれば、キットは、（ａ）ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣを有する第１の容器、ならびに任意選択で（ｂ）トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１及び／またはペルツズマブを中に含む第２の容器を含んでもよい。いくつかの実施形態において、キットは、（ａ）ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣを有する第１の容器、（ｂ）トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１を中に含む第２の容器、及び（ｃ）ペルツズマブを中に含む第３の容器を含んでもよい。いくつかの実施形態において、キットは、薬学的に許容される緩衝剤、例えば、注入用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液を含む容器をさらに含んでもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的な観点及びユーザの観点から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。

【０４４０】

キットが、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣ、ならびにトラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１及び／またはペルツズマブの組成物を含む場合、そのキットは、分割されたボトルまたは分割されたホイルパケット等の、別個の組成物を含むための容器を含んでもよいが、別個の組成物はまた、単一の分割されていない容器内に含まれてもよい。典型的には、キットは、別個の構成成分の投与のための指示書を含む。キット形態は、別個の構成要素が好ましくは異なる剤形（例えば、経口及び非経口）で投与される場合、異なる投薬間隔で投与される場合、または組み合わせの個々の構成成分の滴定が処方医師によって望まれる場合に、特に有利である。

【０４４１】

本明細書における製品の一実施形態は、癌患者への投与に好適な、ｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣならびにペルツズマブ及び／またはＴ－ＤＭ１の安定な混合物を含む静脈内点滴（ＩＶ）バッグを含む。任意選択で、混合物は、例えば約０．９％ＮａＣｌまたは約０．４５％ＮａＣｌを含む、生理食塩液中に存在する。例示的なＩＶバッグは、ポリオレフィンまたは塩化ポリビニル注入バッグ、例えば２５０ｍＬのＩＶバッグである。本発明のいくつかの実施形態によれば、混合物は、約４２０ｍｇまたは約８４０ｍｇのペルツズマブ、及び約１００ｍｇ～約１６０ｍｇのＴ－ＤＭ１を含む。

【０４４２】

任意選択で、ＩＶバッグ中の混合物は、５℃または３０℃で最長２４時間安定である。混合物の安定性は、色、外観及び透明度（ＣＡＣ）、濃度及び濁度分析、微粒子分析、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、イオン交換クロマトグラフィー（ＩＥＣ）、キャピラリーゾーン電気泳動（ＣＺＥ）、イメージキャピラリー等電点電気泳動（ｉｍａｇ

ｅ ｃａｐｉｌｌａｒｙ ｉｓｏｅｌｅｃｔｒｉｃ ｆｏｃｕｓｉｎｇ）（ｉＣＩＥＦ）、ならびに効力アッセイからなる群から選択される１つ以上のアッセイによって評価することができる。

【０４４３】

ＩＩＩ．実施例

以下は、本発明の方法及び組成物の実施例である。以上に提供される一般的説明を考慮すると、種々の他の実施形態が実施され得ることが理解される。

【０４４４】

実施例１：マウス抗体７Ｃ２のヒト化

抗ＨＥＲ２マウス抗体７Ｃ２は、ＨＥＲ２のドメインＩ内のエピトープに結合する。例えば、ＰＣＴ公開第９８／１７７９７号を参照されたい。このエピトープは、ＨＥＲ２のドメインＩＶに結合するトラスツズマブによって結合されるエピトープ、及びＨＥＲ２のドメインＩＩに結合するペルツズマブによって結合されるエピトープとは異なる。図３、１６、及び１８を参照されたい。ドメインＩＶを結合することによって、トラスツズマブは、リガンド独立的ＨＥＲ２－ＨＥＲ３複合体を崩壊させ、それによって下流シグナル伝達が阻害される（例えば、ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ）。対照的に、ドメインＩＩへのペルツズマブ結合は、他のＨＥＲファミリーメンバー（例えば、ＨＥＲ３、ＨＥＲ１、またはＨＥＲ４）とのリガンド駆動ＨＥＲ２相互作用を阻止し、したがって下流シグナル伝達を阻止する。ドメインＩにＭＡｂ ７Ｃ２が結合しても、ドメインＩＶ及びＩＩそれぞれへのトラスツズマブまたはペルツズマブ結合が干渉されず、それによりＭＡｂ ７Ｃ２ ＡＤＣとトラスツズマブ、トラスツズマブエムタンシン（Ｔ－ＤＭ－１）、及び／またはペルツズマブとを合わせる能力がもたらされる。

【０４４５】

マウス抗体７Ｃ２（７Ｃ２．Ｂ９、ＰＣＴ公開第９８／１７７９７号を参照されたい）は、以下のようにヒト化された。

【０４４６】

Ａ．材料及び方法

残基番号は、Ｋａｂａｔに従う（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．，Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１））。

【０４４７】

超可変領域移植片を、アクセプターヒトコンセンサスフレームワークに誘導する。７Ｃ２のヒト化中に構成された変異形を、ＩｇＧの形態で評価した。マウス７Ｃ２のＶＬ及びＶＨドメインを、ヒトＶＬκＩＶ（VL_{KIV}）及びヒトＶＨ下位集団Ｉ（VH_{I}）コンセンサス配列と整列させた。マウス７Ｃ２（７Ｃ２．Ｂ９）抗体の超可変領域（ＨＶＲ）を、VL_{KIV}及びVH_{I}アクセプターフレームワークへと操作し、ＣＤＲ－移植片変異形を生成した。ｍｕ７Ｃ２ ＶＬドメインから、２４～３４位（Ｌ１）、５０～５６位（Ｌ２）、及び８９～９７位（Ｌ３）を、VL_{KI}に移植した。ｍｕ７Ｃ２ ＶＨドメインから、２６～３５位（Ｈ１）、５０～６５位（Ｈ２）、及び９５～１０２位（Ｈ３）を、VH_{I}に移植した（図１及び２）。ＨＶＲ定義は、それらの配列超可変性（Ｗｕ，Ｔ．Ｔ．＆Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．（１９７０））、それらの構造的位置（Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｃ．＆Ｌｅｓｋ，Ａ．Ｍ．（１９８７））、及び抗原－抗体接触におけるそれらの関与（ＭａｃＣａｌｌｕｍ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６２：７３２－７４５（１９９６））によって定義される。重要であり得るフレームワークバーニア位置を評価するために、選択されたバーニア位置を変化させてマウス配列に戻した。バーニア位置は、ＶＬにおける４位及び４９位、ならびにＶＨにおける３７位、６７位、６９位、７１位、及び７３位を含む。３つの異なるバージョンのＶＬ配列及びＶＨ配列を合成し（Ｂｌｕｅ Ｈｅｒｏｎ，Ｂｏｔｈｅｌｌ，ＷＡ）、その後、哺乳動物発現ベクターへとサブクローン化した。異なるバージョンのＬＣとＨＣとを合わせることによって、合計９個の異なるｈｕ７

Ｃ２移植片変異形（ｖ１．１、ｖ１．２、ｖ１．３、ｖ２．１、ｖ２．２、ｖ２．３、ｖ３．１、ｖ３．２、及びｖ３．３）が生成された。

【０４４８】

親和性成熟ライブラリ。単一ｐｈｏＡプロモータの制御下で２つのオープンリーディングフレームを有する一価Ｆａｂ－ｇ３ディスプレイファージミドベクターを使用した。第１のオープンリーディングフレームは、アクセプター軽鎖のＶＬ及びＣＨ１ドメインに融合されたｓｔＩＩシグナル配列からなり、第２のものは、アクセプター重鎖のＶＨ及びＣＨ１ドメインに融合され、続いてマイナーファージコートタンパク質Ｐ３に融合されたｓｔＩＩシグナル配列からなる。ＨＶＲグラフト変異形（７Ｃ２．ｖ２．１）は、各超可変領域に対して別個のオリゴヌクレオチドを使用するＫｕｎｋｅｌ突然変異誘発によって生成され、ＦａｂとしてファージＬに表示された。

【０４４９】

親和性を改善するために、各超可変領域の変化を含むファージライブラリが生成された。配列多様性は、Ｋｕｎｋｅｌ突然変異誘発を使用して、７Ｃ２．ｖ２．１の超可変領域内の各位置で別個に導入された。７Ｃ２．ｖ２．１の超可変領域内の位置はそれぞれ、ＮＮＳをコードするオリゴヌクレオチドを使用して、全ての可能な２０個のアミノ酸に対して１つ１つ完全にランダム化された。完全にランダム化された７Ｃ２の超可変領域のうちの１つに位置する単一位置を有する、それぞれ２０メンバーからなる合計６８ライブラリが作製された。同じ超可変領域内に位置を有するライブラリをプールして、合計６つのライブラリを生成した。

【０４５０】

ファージライブラリの生成以上で概説されるように、各超可変領域に多様性を導入するように設計されたオリゴヌクレオチドを、６６０ｎｇのオリゴヌクレオチド、５０ｍＭのＴｒｉｓ　ｐＨ７．５、１０ｍＭの$MgCl_2$、１ｍＭのＡＴＰ、２０ｍＭのＤＴＴ、及び５Ｕのポリヌクレオチドキナーゼを含有する２０μＬの反応液中で１時間、３７℃で別個にリン酸化した。

【０４５１】

親和性成熟ライブラリを生成するために、６８の個別のＫｕｎｋｅｌ突然変異誘発反応を、９６ウェルＰＣＲプレートで行った。リン酸化オリゴヌクレオチド反応（上記）から、２μＬを、５０ｍＭのＴｒｉｓ　ｐＨ７．５、１０ｍＭの$MgCl_2$中の５００ｎｇＫｕｎｋｅｌテンプレートに添加して最終体積を２５μＬにした。混合物を９０℃で１分間、５０℃で３分間アニールした後、氷上で冷却した。次にアニールしたテンプレートを、１０ｍＭのＡＴＰ０．５μＬ、１０ｍＭのｄＮＴＰ０．５μＬ（各１０ｍＭのｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰ、及びｄＴＴＰ）、１００ｍＭのＤＴＴ１μＬ、１０倍ＴＭ緩衝液１μＬ（０．５Ｍの$MgCl_2$）、８０ＵのＴ４リガーゼ、及び４ＵのＴ７ポリメラーゼ（合計体積３０μＬ）を２時間、室温で添加することによって充填した。次に、これらの充填及び結紮された生成物を、それぞれＸＬ１－ブルー細胞に形質転換した。同じＣＤＲ領域内に位置を含むライブラリをプールし、１０ｍＬのＳＯＣ培地中で１時間、３７℃で回収した。カルベナシリン（５０μｇ／ｍＬ）及びＭ１３／ＫＯ７ヘルパーファージ（ＭＯＩ　１０）を添加した。培養物をさらに３０分間３７℃でインキュベートし、５０μｇ／ｍＬのカルベナシリン及び５０μｇ／ｍＬのカナマイシンを含有する５００ｍＬの２ＹＴに移して、２０時間３７℃で成長させた。

【０４５２】

ファージ選択Ｈｅｒ２細胞外ドメイン（Ｈｅｒ２　ＥＣＤ）を、ＮＨＳ－ＰＥＧ４－ビオチン（Ｐｉｅｒｃｅ）を使用し、遊離アミンによってビオチニル化した。ビオチニル化反応の場合、４倍モル過剰のビオチン試薬をＰＢＳ中で使用した。反応に続いて、ＰＢＳ中で透析を行った。

【０４５３】

ファージを細胞培養物の上清から採取し、１％のＢＳＡを含有するＰＢＳ中に懸濁した。ファージライブラリを、ビオチニル化Ｈｅｒ２　ＥＣＤで室温にてインキュベートし、

次にビオチン－Ｈｅｒ２に結合されたファージを、ＭａｘｉＳｏｒｐマイクロタイタープレート（Ｎｕｎｃ）で終夜、４℃でＰＢＳ中に固定されていたｎｅｕｔｒＡｖｉｄｉｎ（１０μｇ／ｍＬ）上で５分間捕捉した。マイクロタイターウェルを、０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０（ＰＢＳＴ）を含有するＰＢＳで広範囲に洗浄し、結合されたファージは、ウェルを２０ｍＭのＨＣｌ、５００ｍＭのＫＣｌで３０分間インキュベートすることによって溶出した。溶出されたファージを、１ＭのＴｒｉｓ、ｐＨ７．５で中和し、ＸＬ１－Ｂｌｕｅ細胞及びＭ１３／ＫＯ７ヘルパーファージを使用して増殖させ、２ＹＴ、５０μｇ／ｍＬのカルベナシリン、及び５０μｇ／ｍＬのカナマイシン中、３７℃で終夜成長させた。標的含有ウェルから溶出されたファージのタイターを、非標的含有ウェルから回収されたファージのタイターと比較して、富化を評価した。選択の厳密性は、結合中のビオチニル化Ｈｅｒ２　ＥＣＤの濃度を（５ｎＭから０．２ｎＭに）低下させること、及び溶液中の１μＭの非標識Ｈｅｒ２　ＥＣＤとの競合時間を（室温で０時間から６０分に）増加させることの両方によって高められた。

【０４５４】

変異形の表面プラズモン共鳴評価７Ｃ２変異形は、２９３一過性形質転換によってＩｇＧとして発現された。ＩｇＧを、タンパク質Ｇ親和性クロマトグラフィーで精製した。Ｈｅｒ２の各７Ｃ２　ＩｇＧ変異形の親和性は、ＢＩＡｃｏｒｅＴ１００を使用する表面プラズモン共鳴によって決定した。ＢｉａｃｏｒｅシリーズＳ　ＣＭ５センサーチップを、モノクローナルマウス抗ヒトＩｇＧ（Ｆｃ）抗体で固定した（ヒト抗体捕捉キット、ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）。各７Ｃ２変異形の連続３倍希釈溶液を、３０μＬ／分の流量で注入した。各試料を、３分会合及び１０分解離で分析した。各注入後、チップを３Ｍの$MgCl_2$を使用して再生成した。結合応答は、ＲＵを、同様の密度の無関連のＩｇＧを捕捉するフローセルから控除することによって訂正した。k_{on}及びk_{off}の同時フィッティングの１：１Ｌａｎｇｕｉｒモデルを、動態分析に使用した。

【０４５５】

Ｂ．結果及び論考

７Ｃ２のヒト化。７Ｃ２のヒト化に使用されるヒトアクセプターフレームワークは、ヒトＶＬκＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）及びヒトVH_Iコンセンサスに基づく。マウス７Ｃ２のＶＬ及びＶＨドメインは、ヒトVL_{KIV}及びVH_Iドメインと整列され、超可変領域が特定され、ヒトアクセプターフレームワークに移植されて７Ｃ２．ｖ１．１を生成した。７Ｃ２．ｖ１．１の一価親和性は、ＳＰＲによって評価されるように、ｍｕ７Ｃ２．Ｂ９よりも２．５倍減少する（表２を参照されたい）。

表２：７Ｃ２　ＣＤＲ移植された抗体の親和性

		ＶＬ		
	K_D（ｎＭ）	Ｋ４	Ｋ４．Ｋ４９	Ｋ４．Ｌ４．Ｋ４９
ＶＨ	ＶＨ１	ｖ１．１（２０ｎＭ）	ｖ２．１（１６ｎＭ）	ｖ３．１（１５ｎＭ）
	ＶＨ１．Ｖ７１	ｖ１．２（１３ｎＭ）	ｖ２．２（１１ｎＭ）	ｖ３．２（１０ｎＭ）
	ＶＨ１．Ｌ３７．Ａ６７．Ｌ６９．Ｖ７１．Ｋ７３	ｖ１．３（１１ｎＭ）	ｖ２．３（１０ｎＭ）	ｖ３．３（９ｎＭ）

【０４５６】

７Ｃ２．ｖ１．１の結合親和性を改善するために、軽鎖における４位及び４９位、なら

びに重鎖における３７位、６７位、６９位、７１位、及び７３位を、ｍｕ７Ｃ２．Ｂ９におけるこれらの位置において見出される残基に変更した。これらの変更された軽鎖及び重鎖と、７Ｃ２．ｖ１．１の鎖との組み合わせを、２９３個の細胞に形質移入し、ＩｇＧとして発現させて精製して、ＳＰＲによるＨｅｒ２　ＥＣＤへの結合について評価した（表２を参照されたい）。軽鎖に２つの変更された位置を含み、かつ重鎖に５つの変更された位置を含む変異形７Ｃ２．ｖ３．３は、キメラｍｕ７Ｃ２．Ｂ９に相当する一価親和性を有していた（表２を参照されたい）。

【０４５７】

親和性成熟ライブラリは、軽鎖に最小の変更されたバーニア位置（Ｙ４９Ｋ）を含む、７Ｃ２．ｖ２．１のフレームワークを使用してさらなる改善を試みるために調査された。各超可変領域では、２０個のアミノ酸全てが、Ｋｕｎｋｌｅ突然変異誘発を使用して個別の位置に別々に導入された（合計６８ライブラリ、それぞれが２０メンバーを含み、６つの親和性成熟ライブラリにプールされる）。６つの親和性成熟ライブラリを、ビオチニル化Ｈｅｒ２　ＥＣＤを含む溶液中で４周回にわたってパンした。選択の厳密性は、ビオチン－Ｈｅｒ２　ＥＣＤの濃度を（５ｎＭから０．２ｎＭへ）低下させること、及び飽和量の非標識Ｈｅｒ２　ＥＣＤとの競合時間を（室温で０時間から１時間に）増加させることによって次第に向上した。２０００倍のファージ富化が、Ｈ２ライブラリで観察された。

【０４５８】

最後の周回から合計５８８クローンを、ＤＮＡ配列分析のために選別した。個別の配列変化は、各ＨＶＲにおいて特定した（表３を参照されたい）。最も豊富なクローンは、Ｓ５３位におけるＶＨのＭｅｔまたはＬｅｕへの変化を有していた。Ｓ５３Ｍ及びＳ５３Ｌ変異形は、ＩｇＧとして発現され、ＳＰＲ分析により、Ｓ５３Ｍ及びＳ５３ＬがＨｅｒ２に相当する親和性を有することを示される。Ｓ５３Ｌ変異形は、メチオニンが製造過程中に酸化しやすいため選択された。ＨＶＲ－Ｈ２における潜在的なイソ－アスパラギン酸形成部位は、Ｓ５５Ａ突然変異により排除された（表４を参照されたい）。

表３：親和性が改善された変異形の動態

変異形	ＨＶＲ－Ｈ１	ＨＶＲ－Ｈ２	ＨＶＲ－Ｈ３	k_a（１／Ｍｓ）	k_d（１／ｓ）	K_D（ｎＭ）
ｖ２．１	ＧＹＷＭＮ（配列番号１５）	ＭＩＨＰＳＤＳＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ（配列番号８）	ＧＴＹＤＧＧＦＥＹ（配列番号１７）	２．６Ｅ＋０５	４．１Ｅ－０３	１５．５
ｖ２．１．Ｓ５３Ｍ		ＭＩＨＰＭＤＳＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ（配列番号２０）		２．７Ｅ＋０５	６．７Ｅ－０４	２．４
ｖ２．１．Ｓ５３Ｌ		ＭＩＨＰＬＤＳＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ（配列番号２１）		２．５Ｅ＋０５	８．５Ｅ－０４	３．４
ｖ２．１．Ｅ１０１Ｋ			ＧＴＹＤＧＧＦＫＹ（配列番号２２）	２．２Ｅ＋０５	１．５Ｅ－０３	６．８

表４：ｈｕ７Ｃ２変異形親和性の要約

ｈｕ７Ｃ２変異形	K_D（ｎＭ）
ｍｕ７Ｃ２．Ｂ９	８
ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２	１１
ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ（Ｓ５３Ｌ，Ｓ５５Ａ）、配列番号１６のＨＶＲ－Ｈ２	３

【０４５９】

ヒトＶＬ$_{ＫＩＶ}$及びＶＨ$_{Ｉ}$ドメイン、ならびにｍｕ７Ｃ２．Ｂ９（「７Ｃ２」）及びｈｕ７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ（以下の実施例において「ｈｕ７Ｃ２」と称される）の重鎖及び軽鎖可変領域のアラインメントを図１及び２に示す。

【０４６０】

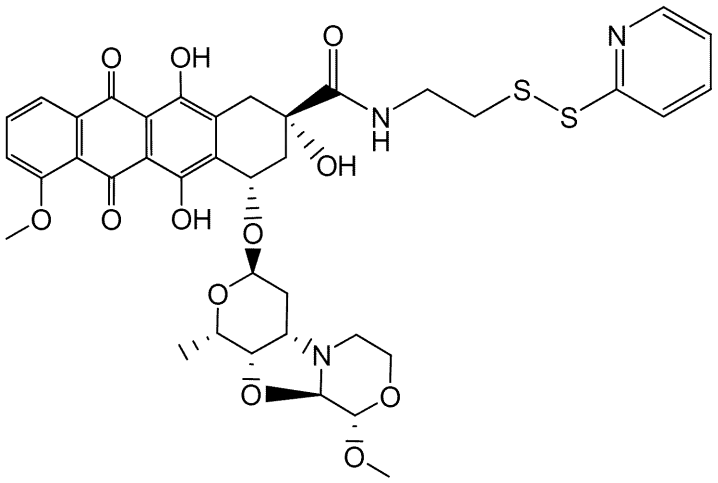
実施例２：ｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の産生

抗体を大量に産生する場合、抗体は、ＣＨＯ細胞内で産生された。重鎖及び軽鎖をコードするベクターを、ＣＨＯ細胞に形質移入し、ＩｇＧを、タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィーによって細胞培養培地から精製した。

【０４６１】

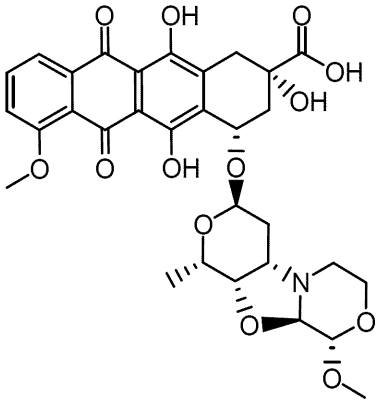
Ａ．ピリジルジスルフィドＰＮＵアミドリンカー薬物中間体の合成

以下の式：



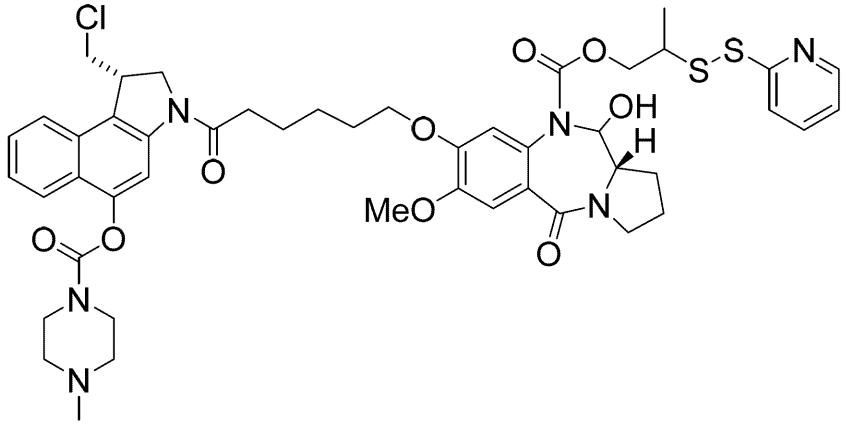
ＬＤ－５１

を有するピリジルジスルフィドＰＮＵアミドリンカー薬物中間体（（２Ｓ，４Ｓ）－４－［［（１Ｓ，３Ｒ，４ａＳ，９Ｓ，９ａＲ，１０ａＳ）－９－メトキシ－１－メチル－３，４，４ａ，６，７，９，９ａ，１０ａ－オクタヒドロ－１Ｈ－ピラノ［１，２］オキサゾロ［３，４－ｂ］［１，４］オキサジン－３－イル］オキシ］－２，５，１２－トリヒドロキシ－７－メトキシ－６，１１－ジオキソ－Ｎ－［２－（２－ピリジルジスルファニル）エチル］－３，４－ジヒドロ－１Ｈ－テトラセン－２－カルボキシアミド；「ＬＤ－５１」）は、次のように合成された。ＵＳ８３８９６９７号の実施例３に従い、ＷＯ１９９８／０２４４６、及びＵＳ８４７０９８４の実施例１に報告されるように調製されたＰＮＵ－１５９６８２（１５．３ｍｇ、０．０２０３８ｍｍｏｌ）を含む３ｍＬのメタノール及び２ｍＬのＨ$_{2}$Ｏの溶液に、ＮａＩＯ$_{4}$（５．１ｍｇ、０．０２３８ｍｍｏｌ）を含む１ｍＬのＨ$_{2}$Ｏの溶液を添加した。出発物質が検出不可能になるまで、反応混合物を室温で３時間撹拌した（ＴＬＣ及びＨＰＬＣ分析）。溶媒を減圧下で除去し、赤色の粗固体（２Ｓ，４Ｓ）－２，５，１２－トリヒドロキシ－７－メトキシ－４－｛［（１Ｓ，３Ｒ，４ａＳ，９Ｓ，９ａＲ，１０ａＳ）－９－メトキシ－１－メチルオクタヒドロ－１Ｈ－ピラノ［４′，３′：４，５］［１，３］オキサゾロ［２，３－ｃ］［１，４］オキサジン－３－イル］オキシ｝－６，１１－ジオキソ－１，２，３，４，６，１１－ヘキサヒドロテトラセン－２－カルボン酸５１ａを、さらに精製することなく次の工程で使用した。ＭＳ（ＥＳＩ）：６２８［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。



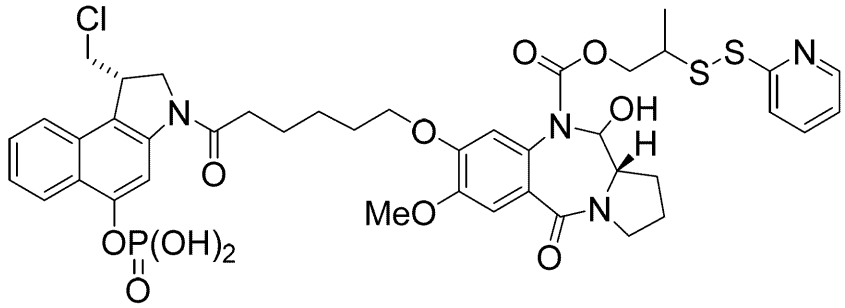
５１ａ

【０４６２】
粗中間体５１ａを含む無水ジクロロメタンの溶液に、アルゴン雰囲気下、無水トリエチルアミン、ＴＢＴＵ（Ｏ－（ベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ′，Ｎ′－テトラメチルウロニウムテトラフルオロホウ酸塩（Ｎ，Ｎ，Ｎ′，Ｎ′－テトラメチル－Ｏ－（ベンゾトリアゾール－１－イル）ウロニウムテトラフルオロホウ酸塩とも呼ばれる、ＣＡＳ番号１２５７００－６７－６、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｂ－２９０３）、及びＮ－ヒドロキシスクシンイミドを添加して、５１ａの中間体ＮＨＳエステルを形成した。代替として、ＤＣＣまたはＥＤＣ等の他のカップリング試薬が使用され得る。１時間後、２－（ピリジン－２－イルジスルファニル）エタンアミン塩酸塩（ＣＡＳ番号１０６１３９－１５－５）を添加した。出発物質が消失するまで、反応混合物を室温で３０分間撹拌した（ＨＰＬＣ－ＭＳ分析）。溶媒を真空下で蒸発させ、次に残渣をシリカゲルでフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、ＬＤ－５１を得た。ＭＳ（ＥＳＩ）：７９６．８８［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。
【０４６３】
Ｂ．ＣＢＩ－ＰＢＤリンカー薬物中間体の合成
以下の式：



、

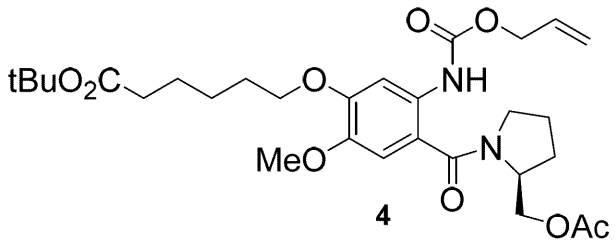
を有するＣＢＩ－ＰＢＤ二量体（ピペラジン－カルバメートプロドラッグ）－２－プロピルピリジルジスルフィドリンカー薬物中間体（２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピル３－［６－［１－（クロロメチル）－５－（４－メチルピペラジン－１－カルボニル）オキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－６－オキソ－ヘキシオキシ］－６－ヒドロキシ－２－メトキシ－１１－オキソ－６ａ，７，８，９－テトラヒドロ－６Ｈ－ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン－５－カルボキシレート、表Ａの化合物８１）、及び以下の式：



を有するＣＢＩ－ＰＢＤ二量体（リン酸塩）－２－プロピルピリジルジスルフィドリンカー薬物中間体（２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピル３－［６－［１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－６－オキソ－ヘキシオキシ］－６－ヒドロキシ－２－メトキシ－１１－オキソ－６ａ，７，８，９－テトラヒドロ－６Ｈ－ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン－５－カルボキシレート、表Ａの化合物８２）は、次のように合成された。試薬及び中間製剤を含む反応スキームについては、図９及び１０を参照されたい。この合成はまた、２－（２－ピリジルジスルファニル）プロピル３－［６－［１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－６－オキソ－ヘキシオキシ］－６－ヒドロキシ－２－メトキシ－１１－オキソ－６ａ，７，８，９－テトラヒドロ－６Ｈ－ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］ベンゾジアゼピン－５－カルボキシレート（「ＣＢＩ－ＰＢＤ－２－プロピルピリジルジスルフィド」）を産生するために好適である。

【０４６４】

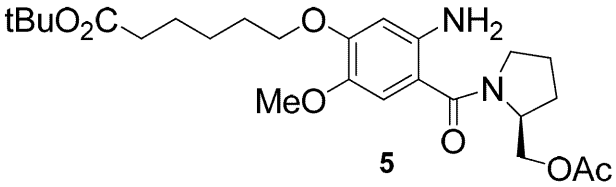
１（１．４０ｇ、４．００ｍｍｏｌ、文献Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００３，４６，２１３２－２１５１の手順に従って調製した）、２（１．３１ｇ、５．２２ｍｍｏｌ、文献ＷＯ２００４０６５４９１Ａ１号の手順に従って調製した）、及びK_2CO_3（８２９ｍｇ、６．００ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（１５ｍＬ）の混合物を、室温で４３時間撹拌した。次にその混合物を、ＥｔＯＡｃ及びH_2Oで希釈し、十分に混合して、層を分離した。有機層を、H_2O（３回）、塩水（１回）で洗浄し、乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、５０：５０～６７：３３～１００：０のＥｔＯＡｃ：Ｈｅｘを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物３（１．７４ｇ、８４％）を黄色油として得た。^{1}Ｈ ＮＭＲδ（４００ＭＨｚ、$CDCl_3$）８．７７（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、７．７９（ｓ，１Ｈ）、６．８２（ｓ，１Ｈ）、６．０２－５．９２（ｍ，１Ｈ）、５．３６（ｄｑ，Ｊ＝１７．２，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、５．２６（ｄｑ，Ｊ＝１０．４，１．２Ｈｚ，１Ｈ）、４．６９－４．６０（ｍ，２Ｈ）、４．４７－４．３９（ｍ，１Ｈ）、４．２８（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、４．０９－４．０５（ｍ，２Ｈ）、３．８３（ｓ，３Ｈ）、３．９０－３．８０（ｍ，１Ｈ）、３．７４－３．７０（ｍ，１Ｈ）、３．６５－３．５９（ｍ，１Ｈ）、３．５４－３．４７（ｍ，１Ｈ）、２．２５（ｔ，Ｊ＝７．４Ｈｚ，２Ｈ）、２．２０－２．１５（ｍ，１Ｈ）、１．９３－１．８４（ｍ，３Ｈ）、１．８１－１．７２（ｍ，１Ｈ）、１．７０－１．６３（ｍ，３Ｈ）、１．５３－１．４７（ｍ，２Ｈ）、１．４４（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ５４３．２６６６［（Ｍ＋Ｎａ）$^+$ $C_{27}H_{40}N_2NaO_8$ ５４３．２６７７］に対する計測値。



4

【０４６５】

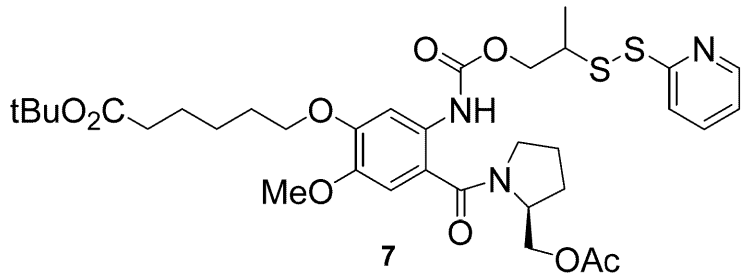
Et_3N（１．３２ｍＬ、９．４７ｍｍｏｌ）を、３（８２１ｍｇ、１．５８ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（６ｍＬ）溶液に室温で添加した。次に酢酸無水物（０．７５ｍＬ、７．９３ｍｍｏｌ）を添加し、混合物を室温で４．５時間撹拌した。反応混合物を０℃に冷却し、乾燥ＭｅＯＨ（１ｍＬ）を添加して、混合物を０℃で１５分間撹拌した。次にＥｔＯＡｃ（１２０ｍＬ）を添加し、その混合物をH_2O（２回）、塩水（１回）で洗浄し、乾燥させ（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去して化合物４（８９１ｍｇ、定量）を得て、これを、精製することなく、次の工程で使用した。^1H ＮＭＲδ（４００ＭＨｚ、$CDCl_3$）８．８８（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、７．８２（ｓ，１Ｈ）、６．８１（ｓ，１Ｈ）、６．０１－５．９１（ｍ，１Ｈ）、５．３６（ｄｑ，Ｊ＝１７．２，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、５．２５（ｄｑ，Ｊ＝１０．４，１．３Ｈｚ，１Ｈ）、４．６５－４．６２（ｍ，２Ｈ）、４．６１－４．５４（ｍ，１Ｈ）、４．３２－４．２２（ｍ，２Ｈ）、４．０９－４．０６（ｍ，２Ｈ）、３．８３（ｓ，３Ｈ）、３．５５－３．４７（ｍ，２Ｈ）、２．２６－２．２３（ｍ，２Ｈ）、２．１８－２．１２（ｍ，１Ｈ）、２．０７（ｓ，３Ｈ）、１．９７－１．７７（ｍ，５Ｈ）、１．７０－１．６３（ｍ，２Ｈ）、１．５４－１．４７（ｍ，２Ｈ）、１．４４（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ５８５．２７７４［（Ｍ＋Ｎａ）$^+$ $C_{29}H_{42}N_2NaO_9$ ５８５．２７８３］に対する計測値。



5

【０４６６】

ピロリジン（１．６ｍＬ、１９．２ｍｍｏｌ）を、４（１．０６ｇ、１．８８ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（２０ｍＬ）溶液に室温で添加した。次に$Pd(PPh_3)_4$（１０９ｍｇ、０．０９４３ｍｍｏｌ）を添加し、反応混合物を室温で４０分間撹拌した。反応混合物を０．２５ＭのＨＣｌ溶液（２×７５ｍＬ）で洗浄し、乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、５０：５０～１００：０のＥｔＯＡｃ：Ｈｅｘを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物５（７２６ｍｇ、８１％）を黄色油として得た。^1H ＮＭＲδ（４００ＭＨｚ、ＤＭＳＯ－d_6）６．６７（ｓ，１Ｈ）、６．３５（ｓ，１Ｈ）、５．０８（ｓ，２Ｈ）、４．３５－４．３０（ｍ，１Ｈ）、４．１３－４．０６（ｍ，２Ｈ）、３．８７（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ）、３．６３（ｓ，３Ｈ）、３．５０－３．４４（ｍ，１Ｈ）、３．４２－３．３５（ｍ，１Ｈ）、２．２１（ｔ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，２Ｈ）、２．０７－２．００（ｍ，１Ｈ）、２．０１（ｓ，３Ｈ）、１．８９－１．８２（ｍ，１Ｈ）、１．７７－１．６７（ｍ，４Ｈ）、１．５９－１．５１（ｍ，２Ｈ）、１．４４－１．３６（ｍ，２Ｈ）、１．３９（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ５０１．２５７３［（Ｍ＋Ｎａ）$^+$ $C_{25}H_{38}N_2NaO_7$ ５０１．２５７１］に対する計測値。

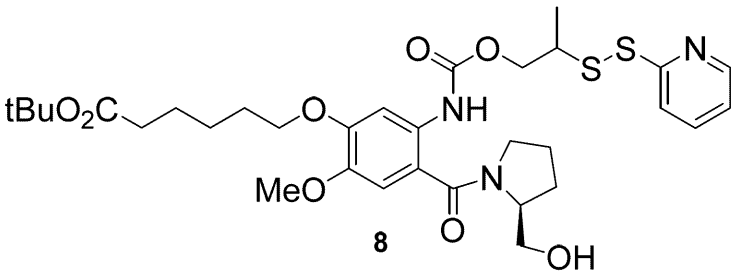


7

【０４６７】

ジホスゲン（０．２２ｍＬ、１．８２ｍｍｏｌ）を、５（７２６ｍｇ、１．５２ｍｍｏｌ）及びＤＭＡＰ（５５７ｍｇ、４．５６ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（２５ｍＬ）の混

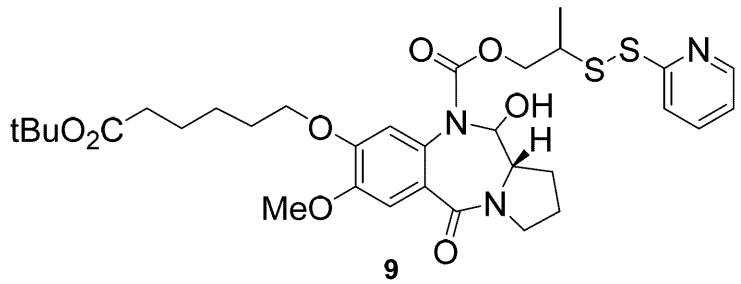
合物に、窒素下、室温で添加した。３０分後、６（２．６０ｇ、１２．９ｍｍｏｌ、上述の手順によって新たに作製された。アルコールには以前に番号が割り当てられていない）を含む乾燥ＤＣＭ（２５ｍＬ）溶液を添加し、混合物を室温で終夜撹拌した。１８時間後、反応混合物をH_2O（１回）で洗浄し、乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、過剰な６が溶出されるまで１００：０～９５：５～９４：６のＤＣＭ：ＥｔＯＡｃを使用し、次に７０：３０のＥｔＯＡｃ：Ｈｅｘを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物７（９２０ｍｇ、８６％）を薄黄色油として得た。^{1}Ｈ ＮＭＲδ（４００ＭＨｚ、ＤＭＳＯ－d_6）９．１６（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、８．４５－８．４３（ｍ，１Ｈ）、７．８３－７．７８（ｍ，２Ｈ）、７．２５－７．２１（ｍ，１Ｈ）、７．１５（ｄ，Ｊ＝２．８Ｈｚ，１Ｈ）、６．８７（ｓ，１Ｈ）、４．２９（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、４．１７－３．９９（ｍ，４Ｈ）、３．９２（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ）、３．７５（ｓ，３Ｈ）、３．４２－３．３０（ｍ，３Ｈ）、２．２０（ｔ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，２Ｈ）、２．０６－１．９５（ｍ，４Ｈ）、１．８３（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、１．７７－１．６８（ｍ，４Ｈ）、１．５８－１．４９（ｍ，２Ｈ）、１．４３－１．３６（ｍ，２Ｈ）、１．３９（ｓ，９Ｈ）、１．２９（ｄ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，３Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ７０６．２８３２［（Ｍ＋Ｈ）$^+$ $C_{34}H_{48}N_3O_9S_2$ ７０６．２８２６］に対する計測値。



8

【０４６８】

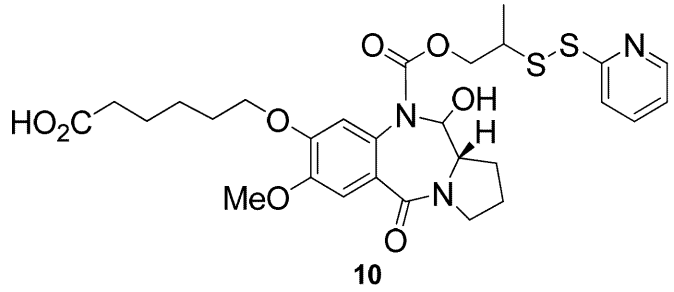
７（９４９ｍｇ、１．３４ｍｍｏｌ）及びK_2CO_3（１．８５ｇ、１３．４ｍｍｏｌ）を含むＤＣＭ－ＭｅＯＨ（３４ｍＬ／１７ｍＬ）の混合物を、室温で４５分間撹拌した。混合物をＤＣＭで希釈し、冷H_2O（２００ｍＬ）に注ぎ、十分に混合した後、層を分離した。水性層をＤＣＭ（１回）で抽出し、合わせた有機層を乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、１００：０～５０：５０のＤＣＭ：ＥｔＯＡｃを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物８（８０８ｍｇ、９１％）を薄黄色油として得た。^{1}Ｈ ＮＭＲδ（４００ＭＨｚ、ＤＭＳＯ－d_6）９．２０（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、８．４４（ｄ，Ｊ＝４．７Ｈｚ，１Ｈ）、７．８１－７．８０（ｍ，２Ｈ）、７．２５－７．２０（ｍ，２Ｈ）、６．９４（ｓ，１Ｈ）、４．７５（ｔ，Ｊ＝５．６Ｈｚ，１Ｈ）、４．１７－３．９９（ｍ，３Ｈ）、３．９２（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ）、３．７４（ｓ，３Ｈ）、３．６０－３．４６（ｍ，２Ｈ）、３．３７－３．２０（ｍ，３Ｈ）、２．２０（ｔ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，２Ｈ）、１．９３－１．７６（ｍ，３Ｈ）、１．７５－１．６８（ｍ，３Ｈ）、１．５８－１．５１（ｍ，２Ｈ）、１．４４－１．３６（ｍ，２Ｈ）、１．３９（ｓ，９Ｈ）、１．２９（ｄ，Ｊ＝６．９Ｈｚ，３Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ６６４．２７２１［（Ｍ＋Ｈ）$^+$ $C_{32}H_{46}N_3O_8S_2$ ６６４．２７２４］に対する計測値。



9

【０４６９】

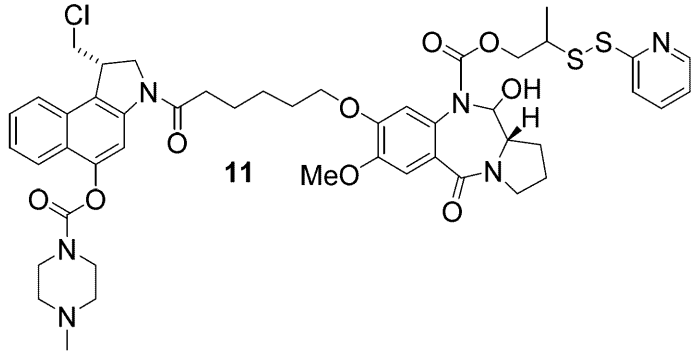
（ジアセトキシヨード）ベンゼン（２５９ｍｇ、０．８０４ｍｍｏｌ）を８（３４９ｍｇ、０．５２６ｍｍｏｌ）及びＴＥＭＰＯ（８２．２ｍｇ、０．５２６ｍｍｏｌ）を含む、乾燥ＤＣＭ（１０ｍＬ）の混合物に室温で添加し、反応混合物を終夜撹拌した。２４時間後、混合物をＤＣＭ及び飽和水性$Na_2S_2O_3$で希釈し、十分に混合した。層を分離し、有機層を飽和水性$Na_2S_2O_3$（１回）、飽和水性$NaHCO_3$（１回）で洗浄し、乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、７０：３０～１００：０のＥｔＯＡｃ：Ｈｅｘを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物９（２４８ｍｇ、７１％）を白色発泡体として得た。^1H ＮＭＲ δ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）８．４５－８．４３（ｍ，１Ｈ）、７．７９－７．６９（ｍ，１Ｈ）、７．５１－７．４８（ｍ，１Ｈ）、７．２４－７．２０（ｍ，１Ｈ）、７．１０（ｓ，１Ｈ）、６．９６及び６．９１（２ｓ，１Ｈ）、６．５５（ｔ，Ｊ＝５．９Ｈｚ，１Ｈ）、５．４６（ｄｄ，Ｊ＝８．９，６．１Ｈｚ，１Ｈ）、４．３１－４．２１（ｍ，１Ｈ）、４．０２－３．８４（ｍ，３Ｈ）、３．８０及び３．７９（２ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．４６（ｍ，１Ｈ）、３．４０－３．１８（ｍ，３Ｈ）、２．１９－２．１３（ｍ，２Ｈ）、２．０９－２．００（ｍ，１Ｈ）、１．９６－１．８５（ｍ，３Ｈ）、１．７０－１．６７（ｍ，２Ｈ）、１．５６－１．４５（ｍ，２Ｈ）、１．４０－１．３４（ｍ，２Ｈ）、１．３８及び１．３７（２ｓ，９Ｈ）、１．１５－１．１０（ｍ，３Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ６６２．２５９２［（Ｍ＋Ｈ）$^+$ $C_{32}H_{44}N_3O_8S_2$ ６６２．２５６４］に対する計測値。



10

【０４７０】

９（２５４ｍｇ、０．３８４ｍｍｏｌ）及び４Ｍ ＨＣｌを含むジオキサン（１１ｍＬ）の混合物を、室温で１時間１５分間撹拌した。溶媒を真空下、２５～３０℃で除去して化合物１０（１６２ｍｇ、７０％）を得て、これを、精製することなく、次の工程で使用した。



11

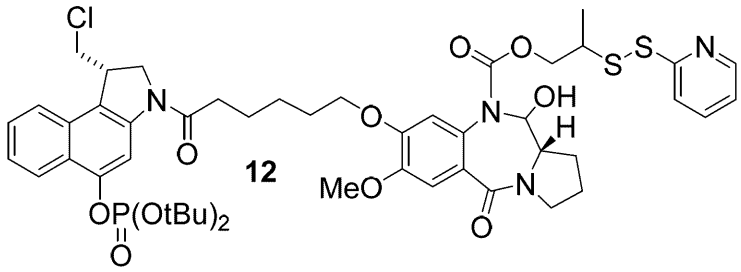
【０４７１】

１０（１６１ｍｇ、０．２６６ｍｍｏｌ）、５８ｂ（１９５ｍｇ、０．５４２ｍｍｏｌ、上述の手順によって新たに作製した）、ＥＤＣＩ．ＨＣｌ（２５３ｍｇ、１．３２ｍｍｏｌ）、及びＴｓＯＨ（１９．５ｍｇ、０．１１３ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（５ｍＬ）の混合物を、室温で終夜、窒素下で撹拌した。２３時間後、反応混合物をＥｔＯＡｃ及び飽和水性$NaHCO_3$で希釈し、十分に混合した。層を分離し、水性層をＥｔＯＡｃ（１回）で抽出した。合わせた有機層を、H_2O（１回）、塩水（１回）で洗浄し、乾燥さ

せて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、１００：０～９３：７のＤＣＭ：ＭｅＯＨを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製し、この材料を、９９：１～９４：６のＤＣＭ：ＭｅＯＨを使用してリカラムして、１１（化合物番号８１、１１８ｍｇ、４７％、ＨＰＬＣ純度：９８．０％）を薄黄色発泡体として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ　δ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）８．４３－８．４１（ｍ，１Ｈ）、８．２２（ｓ，１Ｈ）、７．９６（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．８３（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．７３－７．６６（ｍ，１Ｈ）、７．６１－７．５６（ｍ，１Ｈ）、７．５１－７．４５（ｍ，２Ｈ）、７．２２－７．１７（ｍ，１Ｈ）、７．１０（ｓ，１Ｈ）、６．９７及び６．９２（２ｓ，１Ｈ）、６．５６（ｔ，Ｊ＝６．０Ｈｚ，１Ｈ）、５．４６（ｄｄ，Ｊ＝９．１，６．２Ｈｚ，１Ｈ）、４．４２－４．２０（ｍ，４Ｈ）、４．０５－３．７６（ｍ，７Ｈ）、３．８０及び３．７９（２ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．４７（ｍ，１Ｈ）、３．３８－３．１１（ｍ，４Ｈ）、２．０９－１．９９（ｍ，１Ｈ）、１．９４－１．８８（ｍ，３Ｈ）、１．７７－１．７４（ｍ，２Ｈ）、１．６５－１．６２（ｍ，２Ｈ）、１．４８－１．４２（ｍ，２Ｈ）、１．３５－１．２３（ｍ，１Ｈ）、１．１５－１．１０（ｍ，３Ｈ）、ＤＭＳＯにより部分的に不明瞭な９Ｈ。ＨＲＭＳ　ｍ／ｚ　９６９．３０７０［（Ｍ＋Ｎａ）$^+$　$C_{47}H_{55}ClN_6NaO_9S_2$　９６９．３０５３］に対する計測値。

【０４７２】

化合物８２は、以下のように調製された。

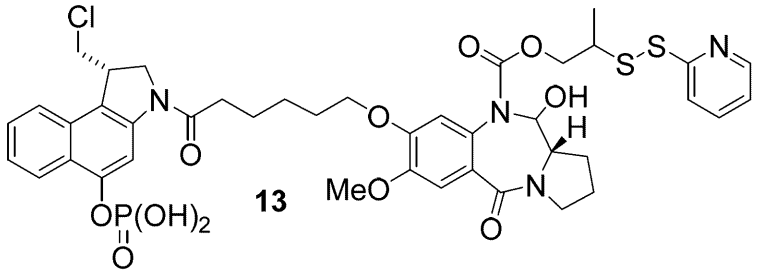


12

【０４７３】

１０（１６２ｍｇ、０．２６７ｍｍｏｌ）、６６ｄ（１７８ｍｇ、０．４１８ｍｍｏｌ、上述の手順によって新たに作製した）、ＥＤＣＩ．ＨＣｌ（１８４ｍｇ、０．９６０ｍｍｏｌ）、及びＴｓＯＨ（１１ｍｇ、０．０６３９ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（５ｍＬ）の混合物を、室温で終夜、窒素下で撹拌した。１８．５時間後、反応混合物をＥｔＯＡｃ及びH_2Oで希釈して十分に混合した。層を分離し、有機層を飽和水性$NaHCO_3$（１回）、H_2O（１回）、塩水（１回）で洗浄し、乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、１００：０～９５：５のＥｔＯＡｃ：ＭｅＯＨを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、黄色残渣を得た。これを、分取ＨＰＬＣによってさらに精製して（カラム：Ｓｙｎｅｒｇｉ－ＭＡＸ　ＲＰ　４μ、２１．２０×２５０ｍｍ、流量：１２ｍＬ／分、移動相：溶媒Ａ：H_2O／ギ酸アンモニウム緩衝液ｐＨ３．４５、溶媒Ｂ：ＭｅＣＮ／H_2O　９０：１０、方法：勾配、９０：１０～１０：９０～０：１００の溶媒Ａ：溶媒Ｂ、３０分間）、化合物１２（８９．３ｍｇ、３３％、ＨＰＬＣ純度：９９．５％）を白色発泡体として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ　δ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）８．５６（ｓ，１Ｈ）、８．４３－８．４１（ｍ，１Ｈ）、８．０４（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．９２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．７３－７．６７（ｍ，１Ｈ）、７．６０－７．５６（ｍ，１Ｈ）、７．５１－７．４５（ｍ，２Ｈ）、７．２２－７．１７（ｍ，１Ｈ）、７．１０（ｓ，１Ｈ）、６．９８及び６．９２（２ｓ，１Ｈ）、６．５５（ｔ，Ｊ＝５．６Ｈｚ，１Ｈ）、５．４７－５．４４（ｍ，１Ｈ）、４．４０－４．３６（ｍ，１Ｈ）、４．３０－４．１９（ｍ，３Ｈ）、４．０４－３．８６（ｍ，４Ｈ）、３．８６－３．７５（ｍ，１Ｈ）、３．８０及び３．７９（２ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．４６（ｍ，１Ｈ）、３．３８－３．２２（ｍ，３Ｈ）、３．２１－３．１５（ｍ，１Ｈ）、２．０９－１．９９（ｍ，１Ｈ）、１．９４－１．８

５（ｍ，３Ｈ）、１．７８－１．７４（ｍ，２Ｈ）、１．６９－１．６０（ｍ，２Ｈ）、１．５５－１．４０（ｍ，２Ｈ）、１．４７及び１．４７（２ｓ，１８Ｈ）、１．２８－１．２３（ｍ，１Ｈ）、１．１５－１．１０（ｍ，３Ｈ）。ＨＲＭＳ　ｍ／ｚ　１０３５．３１６２［（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$　$C_{49}H_{62}ClN_4NaO_{11}PS_2$　１０３５．３１７５］に対する計測値。



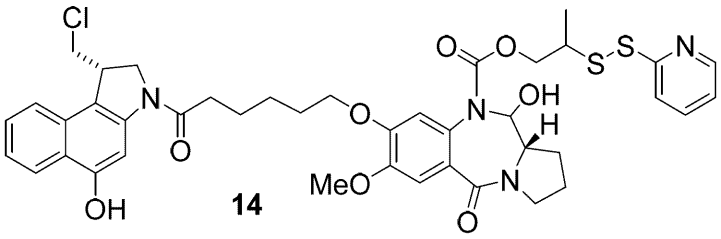
13

【０４７４】

１２（８４．０ｍｇ、０．０８２９ｍｍｏｌ）及びＴＦＡ（１ｍＬ）を含む乾燥ＤＣＭ（２ｍＬ）の混合物を、室温で４０分間撹拌した。次にその溶媒を、真空下２５℃で除去して緑色残渣を得た。残渣をＤＣＭに溶解し、溶液をＥｔＯＡｃで希釈し、ＤＣＭを真空下で除去して、白色固体を得て、残留溶媒をデカントした。このプロセスを繰り返し、結果として得られる固体をＥｔＯＡｃで粉砕し、乾燥させて１３（表Ａの化合物８２、４３．８ｍｇ、５９％、ＨＰＬＣ純度：９３．８％）を白色固体として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ　δ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）８．４７（ｓ，１Ｈ）、８．４４－８．４２（ｍ，１Ｈ）、８．０８（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．９０（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．７４－７．６８（ｍ，１Ｈ）、７．５８－７．５４（ｍ，１Ｈ）、７．５１－７．４８（ｍ，１Ｈ）、７．４７－７．４３（ｍ，１Ｈ）、７．２２－７．１８（ｍ，１Ｈ）、７．１０（ｓ，１Ｈ）、６．９８及び６．９３（２ｓ，１Ｈ）、５．４６（ｄ，Ｊ＝９．５Ｈｚ，１Ｈ）、４．３９－４．１８（ｍ，４Ｈ）、４．０４－３．９５（ｍ，３Ｈ）、３．９０－３．８５（ｍ，１Ｈ）、３．８４－３．７６（ｍ，１Ｈ）、３．８０及び３．８０（２ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．４７（ｍ，１Ｈ）、３．４０－３．２７（ｍ，３Ｈ）、３．２１－３．１５（ｍ，１Ｈ）、２．１０－２．０２（ｍ，１Ｈ）、１．９４－１．８８（ｍ，３Ｈ）、１．７８－１．７４（ｍ，２Ｈ）、１．６９－１．６０（ｍ，２Ｈ）、１．４８－１．４２（ｍ，２Ｈ）、１．３５－１．２３（ｍ，１Ｈ）、１．１６－１．１０（ｍ，３Ｈ）、３Ｈ観察されない。ＨＲＭＳ　ｍ／ｚ　９２３．１９３８［（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$　$C_{41}H_{46}ClN_4NaO_{11}PS_2$　９２３．１９２３］に対する計測値。

【０４７５】

化合物８３は、以下のように調製された。



14

【０４７６】

１０（４５．０ｍｇ、０．０７４３ｍｍｏｌ）、６７ｄ（２４．３ｍｇ、０．０８９９ｍｍｏｌ、上述の手順によって新たに作製した）、ＥＤＣＩ．ＨＣｌ（４２．７ｍｇ、０．２２３ｍｍｏｌ）、及びＴｓＯＨ（３ｍｇ、０．０１７４ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（３ｍＬ）の混合物を、室温で５時間、窒素下で撹拌した。６７ｄ（２４．３ｍｇ、０．０８９９ｍｍｏｌ）及びＥＤＣＩ．ＨＣｌ（１６．０ｍｇ、０．０８３５ｍｍｏｌ）の追加部分を混合物に添加し、反応物を室温で終夜撹拌した。２２時間後、反応混合物をＥｔ

ＯＡｃで希釈し、H_2O（２回）、塩水（１回）で洗浄し、乾燥させて（Na_2SO_4）、溶媒を真空下で除去した。粗生成物を、ＥｔＯＡｃを使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーにより精製して、緑色粉末を得た。これを、ＥｔＯＡｃを再度使用し、シリカゲルでカラムクロマトグラフィーを実行することによってさらに精製して、１４（表Ａの化合物８３、８．３ｍｇ、１３．５％、ＨＰＬＣ純度：８１．２％）をベージュ固体として得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ δ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）１０．３３（ｓ，１Ｈ）、８．４３－８．４２（ｍ，１Ｈ）、８．０７（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，１Ｈ）、７．９８（ｓ，１Ｈ）、７．７７（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．７４－７．６７（ｍ，１Ｈ）、７．５０－７．４６（ｍ，２Ｈ）、７．３３－７．２９（ｍ，１Ｈ）、７．２４－７．１８（ｍ，１Ｈ）、７．１０（ｓ，１Ｈ）、６．９８及び６．９２（２ｓ，１Ｈ）、６．５６（ｔ，Ｊ＝６．０Ｈｚ，１Ｈ）、５．４７－５．４４（ｍ，１Ｈ）、４．３３－４．２１（ｍ，２Ｈ）、４．１５－４．１３（ｍ，２Ｈ）、４．０５－３．９３（ｍ，３Ｈ）、３．９０－３．７５（ｍ，２Ｈ）、３．８０及び３．７９（２ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．４７（ｍ，１Ｈ）、３．３８－３．１３（ｍ，４Ｈ）、２．１０－１．９９（ｍ，１Ｈ）、１．９４－１．８９（ｍ，３Ｈ）、１．７７－１．７４（ｍ，２Ｈ）、１．６６－１．６２（ｍ，２Ｈ）、１．５２－１．４１（ｍ，２Ｈ）、１．３２－１．２４（ｍ，１Ｈ）、１．１５－１．１０（ｍ，３Ｈ）。ＨＲＭＳ ｍ／ｚ ８４３．２２５８［（Ｍ＋Ｎａ）$^+$ $C_{41}H_{45}ClN_4NaO_8S_2$ ８４３．２２６０］に対する計測値。

【０４７７】

化合物８５は、以下のように調製された。

【０４７８】

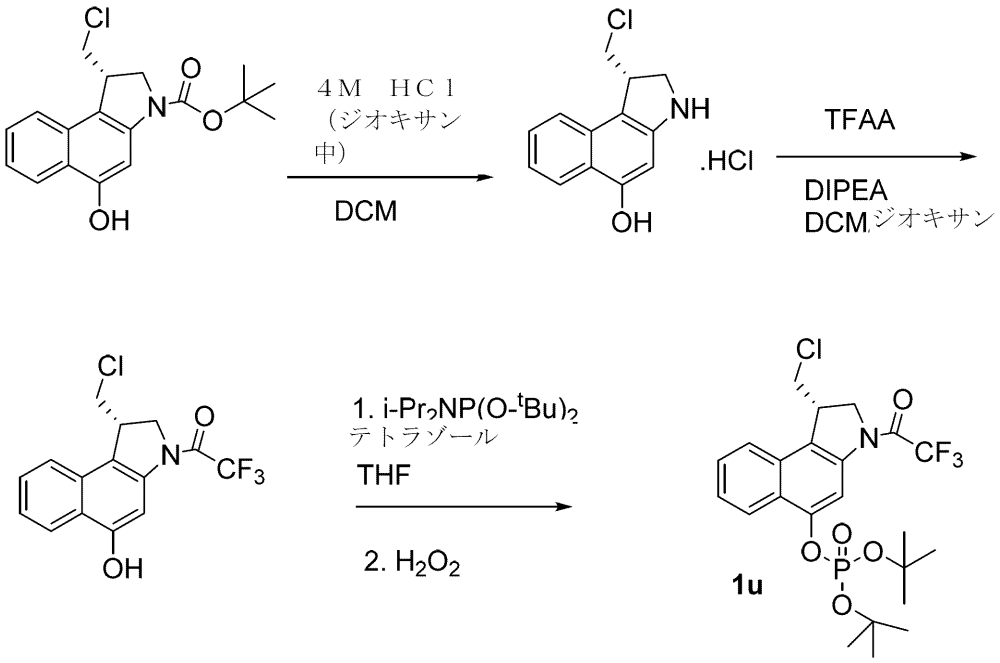
８２（１５ｍｇ、１６．６４μｍｏｌ）を含むＤＭＦ（１．０ｍＬ）溶液に、５－ニトロピリジン－２－チオール（２５．９９ｍｇ、１６６．４１μｍｏｌ）の溶液を２０℃で添加した。反応混合物を、２０℃で１時間撹拌した。反応混合物を濾過し、分取ＨＰＬＣ（ＦＡ）によって精製して２－（（５－ニトロピリジン－２－イル）ジスルファニル）プロピル（１１ａＳ）－８－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート８５（７．５ｍｇ、４７．６２％）を灰色固体として得た。ＬＣＭＳ：（１０－８０，ＣＤ＿ＮＥＧ，３．０分）、１．１６１分、ＭＳ＝９４４．２［Ｍ－１］$^-$；^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ ９．１８（ｓ，１Ｈ）、８．４１（ｂｒ，１Ｈ，Ｊ＝７．６Ｈｚ）、８．１１（ｂｒ，１Ｈ）、７．８０（ｄ，１Ｈ，Ｊ＝８．０Ｈｚ）、７．６７（ｄ，１Ｈ，Ｊ＝８．４Ｈｚ）、７．４６（ｄ，１Ｈ，Ｊ＝７．６Ｈｚ）、７．３０（ｓ，１Ｈ）、７．０７（ｓ，１Ｈ）、６．９９－６．９３（ｍ，１Ｈ）、５．５２（ｄ，１Ｈ，Ｊ＝８．４Ｈｚ）、４．２６－４．１４（ｍ，４Ｈ）、３．９８－３．８０（ｍ，４Ｈ）、３．７６（ｓ，３Ｈ）、３．４０－３．２６（ｍ，５Ｈ）、２．４０－２．２８（ｍ，２Ｈ）、２．１０－１．８０（ｍ，５Ｈ）、１．７９－１．５５（ｍ，５Ｈ）、１．４０（ｂｒ，１Ｈ）、１．１９（ｓ，１Ｈ）、１．１２（ｄ，３Ｈ，Ｊ＝８．８Ｈｚ）。

【０４７９】

化合物８６は、以下のように調製された。

【０４８０】

工程Ａ：（Ｓ）－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（１－（クロロメチル）－３－（２，２，２－トリフルオロアセチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル）リン酸塩１ｕの合成



【０４８１】

ｔｅｒｔ－ブチル（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－カルボキシレート（３．３４ｇ、１０．０ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（２５ｍＬ）の撹拌した均質溶液に、窒素雰囲気下、２０℃で４ＭのＨＣｌを含むジオキサン（１２．５ｍＬ、５０．０ｍｍｏｌ）を添加した。添加後、反応混合物を、窒素下、２０℃でさらに２０時間撹拌した。混合物を石油エーテル（２５０ｍＬ）で希釈し、窒素下、２０℃で２０分間撹拌した。溶媒をデカントし、この手順を石油エーテル（２５０ｍＬ）を用いてもう１回繰り返した。結果として得られる固体を、真空下、２５℃で１時間乾燥させて（Ｓ）－１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－オル塩酸塩（２．７ｇ、１００％）を得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ［（CD_3）$_2$ＳＯ］δ １０．８０（ｓ，１Ｈ）、８．１５（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．８７（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．５８（ｂｒ ｔ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，１Ｈ）、７．４３（ｂｒ ｔ，Ｊ＝７．４Ｈｚ，１Ｈ）、６．８１（ｓ，１Ｈ）、４．２７－４．１７（ｍ，１Ｈ）、４．０１（ｄｄ，Ｊ＝１１．０，３．２Ｈｚ，１Ｈ）、３．９３－３．７４（ｍ，３Ｈ）、２プロトンは観察されない。粗生成物を、さらに精製することなく、次の工程で使用した。

【０４８２】

（Ｓ）－１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－オル塩酸塩（２．７ｇ、１０．０ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（１０ｍＬ）及びジオキサン（３０ｍＬ）の撹拌異質混合物に、窒素雰囲気下、０℃でトリフルオロ酢酸無水物（ＴＦＡＡ）（３．４ｍＬ、２４．０ｍｍｏｌ）、続いてジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）（８．７１ｍＬ、５０．０ｍｍｏｌ）を添加した。添加後、反応混合物を、窒素下、０℃でさらに５０分間撹拌した。酢酸エチル（４００ｍＬ）を添加し、１ＮのＨＣｌ（２００ｍＬ）を０℃で添加し、混合物を窒素下で２０分間撹拌した。酢酸エチル層を分離し、１ＮのＨＣｌ（２００ｍＬ）及び水（２×２００ｍＬ）で連続的に洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下、２５℃の浴槽温度で蒸発させて、（Ｓ）－１－（１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－２，２，２－トリフルオロエタン－１－オン（３．３ｇ、１００％）を緑－灰色固体として得た。この材料を、さらに精製することなく、次の工程に使用した。

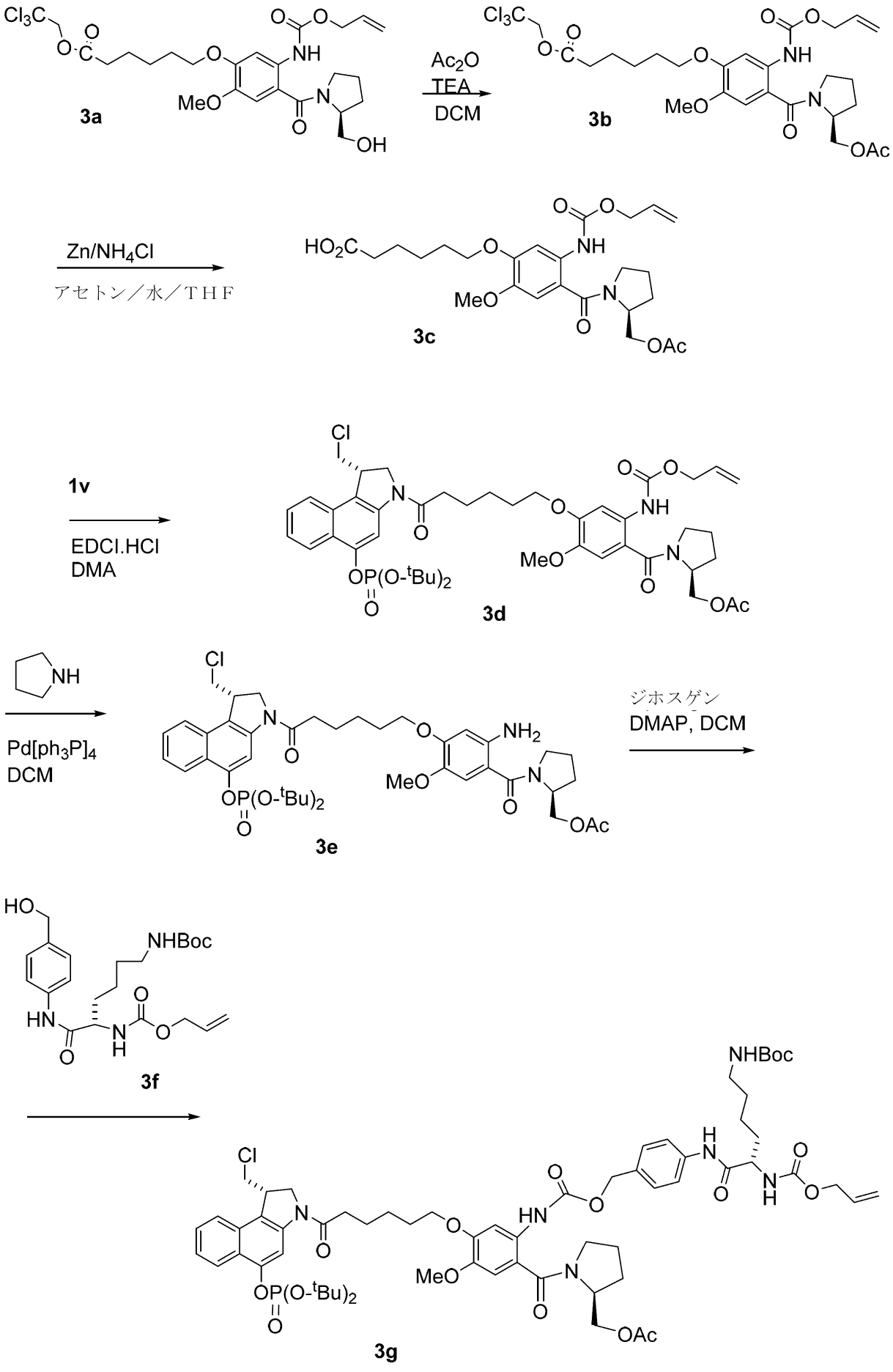
【０４８３】

（Ｓ）－１－（１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－２，２，２－トリフルオロエタン－１－オン（３．

３ｇ、１０．０ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＴＨＦ（４０ｍＬ）の撹拌した均質溶液に、窒素雰囲気下、２０℃で、ジ－ｔｅｒｔ－ブチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト（４．３１ｍＬ、１３．０ｍｍｏｌ）を添加した。添加後、反応混合物を、窒素下、２０℃で５～１０分間撹拌し、次にテトラゾール（CH_3CN中の３％溶液、３８．０ｍＬ、１３．０ｍｍｏｌ）を１７分間にわたって滴下添加した。最終反応混合物を、窒素下、２０℃で１９時間さらに撹拌した。混合物を氷浴中で冷却し、３０％のH_2O_2（１１．３ｍＬ、１００．０ｍｍｏｌ）を添加した。添加後、反応混合物を、２０℃でさらに１時間半撹拌した。混合物を、酢酸エチル（３００ｍＬ）及び１０％水性$Na_2S_2O_3$（５００ｍＬ）で希釈し、０℃で２０分間撹拌した。酢酸エチル層を分離し、水（２００ｍＬ）、飽和$NaHCO_3$（２００ｍＬ）、及び水（２００ｍＬ）で連続的に洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下、２５℃の浴槽温度で蒸発させてコハク色の油を得た。シリカゲルでのクロマトグラフィーによる精製（１：３の酢酸エチル：石油エーテルで溶出）により、１ｕ（４．７ｇ、９０％）を無色の発泡状固体として得た。ｍｐ３９－４２℃；$[\alpha]_D$ －６１．８°（ｃ１．０２、$CHCl_3$）。分析．（$C_{23}H_{28}ClF_3NO_5P$）計測値：Ｃ．，５２．９３；Ｈ，５．４１；Ｎ，２．６８．実測値：Ｃ，５３．０５；Ｈ，５．４３；Ｎ，２．８０。

【０４８４】

工程Ｂ：（（Ｓ）－１－（２－（（（（４－（（Ｓ）－２－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－６－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）ヘキサンアミド）ベンジル）オキシ）カルボニル）アミノ）－４－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－５－メトキシベンゾイル）ピロリジン－２－イル）メチル酢酸塩３ｇの合成


3a
Ac2O
TEA
DCM
3b
Zn/NH4Cl
アセトン／水／ＴＨＦ
3c
1v
EDCI.HCl
DMA
3d
Pd[ph3P]4
DCM
3e
ジホスゲン
DMAP, DCM
3f
3g

【０４８５】

２，２，２－トリクロロエチル（Ｓ）－６－（５－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－４－（２－（ヒドロキシメチル）ピロリジン－１－カルボニル）－２－メトキシフェノキシ）ヘキサノエート３ａ（４．１４ｇ、６．９５ｍｍｏｌ）（Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００３，４６，２１３２－２１５１）を含む乾燥ＤＣＭ（２５ｍＬ）の撹拌溶液に、酢酸無水物（３．３０ｍＬ、３４．８ｍｍｏｌ）及びトリエチルアミン（５．８１ｍＬ、４１．７ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を、２０℃で３時間半撹拌した。乾燥ＭｅＯＨ（４．０ｍＬ）を添加し、混合物を３０分間撹拌した。混合物を、ＥｔＯＡｃ（４００ｍＬ）と水（４００ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、水（２×２００ｍＬ）で洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、蒸発させて２，２，２－トリクロロエチル（Ｓ）－６－（４－（２－（アセトキシメチル）ピロリジン－１－カルボニル）－５－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－２－メトキシフェノキシ）ヘキサノエート３ｂ（４．２８ｇ、９６％）を油として得た。［α］$_D$－５７．４°（ｃ　０．２１，$CHCl_3$）；^{1}ＨＮＭＲ［（CD_3）$_2$ＳＯ］α９．１０（ｓ，１Ｈ）、７．１７（ｓ，１Ｈ）、６．８７（ｓ，１Ｈ）、６．０１－５．８７（ｍ，１Ｈ）、５．３２（ｄｄ，Ｊ＝１７．２、１．５Ｈｚ、１Ｈ）、５．２１（ｄｄ，Ｊ＝１０．４，１．４Ｈｚ，１Ｈ）、４．８９（ｓ，２Ｈ）、４．５４（ｄ，Ｊ＝５．４Ｈｚ，２Ｈ）、４．３９－４．２０（ｍ，３Ｈ）、３．９３（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ）、３．７５（ｓ，３Ｈ）、３．４６－３．２７（ｍ，２Ｈ）、２．１３－１．９０（ｍ，４Ｈ）、１．８９－１．６０（ｍ，７Ｈ）、１．５４－１．４０（ｍ，２Ｈ）、ＤＭＳＯピークにより不明瞭な２プロトン。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　$C_{27}H_{36}Cl_3N_2O_9$に対する計測値：６３７．１４８１、実測値：６３７．１４７５［MH^+］；$C_{27}H_{35}Cl_3N_2NaO_9$に対する計測値：６５９．１３００、実測値：６５９．１３０３［MNa^+］；$C_{27}H_{35}Cl_3KN_2O_9$に対する計測値：６７５．１０４０，実測値：６７５．１０３５［MK^+］。

【０４８６】

３ｂ（４．２７ｇ、６．６９ｍｍｏｌ）を含むアセトン（７５ｍＬ）、水（５０ｍＬ）、及びＴＨＦ（３０ｍＬ）の撹拌溶液に、亜鉛粉末（１７．５ｇ、２６８ｍｍｏｌ）及びNH_4Cl（２８．６ｇ、５３５ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を、窒素雰囲気下、２０℃で４２時間撹拌した。アセトン（１００ｍＬ）を添加し、混合物を１０分間撹拌して、上清をデカントした。この手順を２回繰り返し、合わせた上清を減圧下で蒸発させてアセトン及びＴＨＦを除去した。残渣を水（５０ｍＬ）で希釈し、水性１ＮのＨＣｌでｐＨ　ｃａ．１に酸性化した。酸性混合物を石油エーテル（２×２００ｍＬ）で洗浄し、ＥｔＯＡｃ（４００ｍＬ）で抽出した。ＥｔＯＡｃ抽出物を水（２００ｍＬ）で洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、溶媒を蒸発させて（Ｓ）－６－（４－（２－（アセトキシメチル）ピロリジン－１－カルボニル）－５－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－２－メトキシフェノキシ）ヘキサン酸３ｃ（２．７２ｇ、８０％）を油として得た。［α］$_D$－７３．５°（ｃ　１．１２，$CHCl_3$）；^{1}ＨＮＭＲ［（CD_3）$_2$ＳＯ］δ１１．９９（ｓ，D_2Oと交換可能，１Ｈ）、９．１０（ｓ，D_2Oと交換可能，１Ｈ）、７．１７（ｓ，１Ｈ）、６．８７（ｓ，１Ｈ）、６．００－５．８６（ｍ，１Ｈ）、５．３２（ｄｄ，Ｊ＝１７．２，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、５．２０（ｄｄ，Ｊ＝１０．４，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、４．５７－４．５２（ｍ，２Ｈ）、４．３７－４．０３（ｍ，３Ｈ）、３．９３（ｔ，Ｊ＝６．５Ｈｚ，２Ｈ）、３．７５（ｓ，３Ｈ）、３．４０－３．１０（ｍ，２Ｈ）、２．２３（ｔ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，２Ｈ）、２．０７－１．９３（ｍ，４Ｈ）、１．８９－１．６６（ｍ，５Ｈ）、１．６２－１．４９（ｍ，２Ｈ）、１．４７－１．３４（ｍ，２Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　$C_{25}H_{35}N_2O_9$に対する計測値：５０７．２３３７、実測値：５０７．２３４０［MH^+］；$C_{25}H_{34}KN_2O_9$に対する計測値：５４５．１８９６、実測値：５４５．１９０６［MK^+］；$C_{25}H_{34}N_2NaO_9$に対する計測値：５２９．２１５７，実測値：５２９．２１６９［MNa^+］。

【０４８７】

（Ｓ）－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（１－（クロロメチル）－３－（２，２，２－トリフルオロアセチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル）リン酸

塩１ｕ（１．３８ｇ、２．６４ｍｍｏｌ）を含むＭｅＯＨ（１０ｍＬ）の撹拌溶液に、窒素雰囲気下、０℃でCs_2CO_3（１．０３ｇ、３．１７ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を０℃で２時間半撹拌し、次にＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）と水（１５０ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、再度水（１００ｍＬ）で洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下、２５℃の浴槽温度で蒸発させて（Ｓ）－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イル）リン酸塩１ｖ（１．１７ｇ）を薄黄色発泡状固体として得て、これを３ｃ（１．２４ｇ、２．４５ｍｍｏｌ）、ＥＤＣＩ．ＨＣｌ（１．４１ｇ、７．３５ｍｍｏｌ）、及びｐ－トルエンスルホン酸（８４ｍｇ、０．４９ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（１４ｍＬ）で０～２０℃にて２２時間処理した。混合物をＥｔＯＡｃ（４００ｍＬ）と水（３００ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、水（１００ｍＬ）で再度洗浄した後、乾燥させ（$MgSO_4$）、蒸発させた。シリカゲルでのクロマトグラフィーによる精製（２：１のＥｔＯＡｃ：石油エーテルで溶出）によって、（（Ｓ）－１－（２－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－４－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－５－メトキシベンゾイル）ピロリジン－２－イル）メチル酢酸塩３ｄ（１．４９ｇ、６６％）を薄黄色の発泡状固体として得た。ｍｐ５５－５９℃；［α］$_D$－６８．０°（ｃ１．００，$CHCl_3$）；^{1}ＨＮＭＲ［$(CD_3)_2SO$］δ９．１０（ｓ，D_2Oと交換可能、１Ｈ）、８．５６（ｓ，１Ｈ）、８．０３（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，１Ｈ）、７．９２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．５７（ｔ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，１Ｈ）、７．４７（ｔ，Ｊ＝７．６Ｈｚ，１Ｈ）、７．１９（ｓ，１Ｈ）、６．８６（ｓ，１Ｈ）、５．９９－５．８６（ｍ，１Ｈ）、５．３２（ｄｄ，Ｊ＝１７．２，１．６Ｈｚ，１Ｈ）、５．２０（ｄｄ，Ｊ＝１０．４，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、４．５３（ｄ，Ｊ＝５．４Ｈｚ，２Ｈ）、４．４５－３．８４（ｍ，１０Ｈ）、３．７４（ｓ，３Ｈ）、３．４４－３．２６（ｍ，２Ｈ）、２．６８－２．４７（ｍ，２Ｈ）、２．０２（ｂｒ　ｓ，３Ｈ）、１．９３－１．４３（ｍ，１０Ｈ）、１．４７４及び１．４６９（２ｓ，１８Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　$C_{46}H_{62}CIN_3O_{12}P$に対する計測値：９１４．３７５４、実測値：９１４．３７４９［MH^+］；$C_{46}H_{61}CIKN_3O_{12}P$に対する計測値：９５２．３３１３、実測値：９５２．３３８１［MK^+］；$C_{46}H_{61}CIN_3NaO_{12}P$に対する計測値：９３６．３５７４，実測値：９３６．３５８９［MNa^+］。

【０４８８】

３ｄ（５４８ｍｇ、０．６０ｍｍｏｌ）を含むＤＣＭ（８ｍＬ）の撹拌溶液に、窒素雰囲気下、２０℃で$Pd(Ph_3P)_4$（１７．１ｍｇ、９．８％　Ｐｄ）及びピロリジン（０．４９ｍＬ、６．００ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を２０℃で３０分間撹拌し、次にＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）と水（１５０ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、水（５０ｍＬ）で再度洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下、２５℃の浴槽温度で蒸発させた。粗生成物を、シリカゲル上のクロマトグラフィーによって精製して（５０：１のＥｔＯＡｃ：ＭｅＯＨで溶出）、（（Ｓ）－１－（２－アミノ－４－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－５－メトキシベンゾイル）ピロリジン－２－イル）メチル酢酸塩３ｅ（３２３ｍｇ、６５％）を薄黄色の発泡状固体として得た。ｍｐ　４６－４９℃；［α］$_D$－８５．２°（ｃ　０．３６，$CHCl_3$）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ［$(CD_3)_2SO$］δ　８．５６（ｓ，１Ｈ）、８．０４（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．９３（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．５８（ｔ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．４７（ｔ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，１Ｈ）、６．６７（ｓ，１Ｈ）、６．３７（ｓ，１Ｈ）、５．０９（ｓ，D_2Oと交換可能、２Ｈ）、４．４６－３．８５（ｍ，１０Ｈ）、３．６３（ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．３４（ｍ，２Ｈ）、２．６９－２．５０（ｍ，２Ｈ）、２．０８－１．９４（ｍ，１Ｈ）、２．０１（ｓ，３Ｈ）、１．９１－１．６１（ｍ，７Ｈ）、１．５８－１．４４（ｍ，

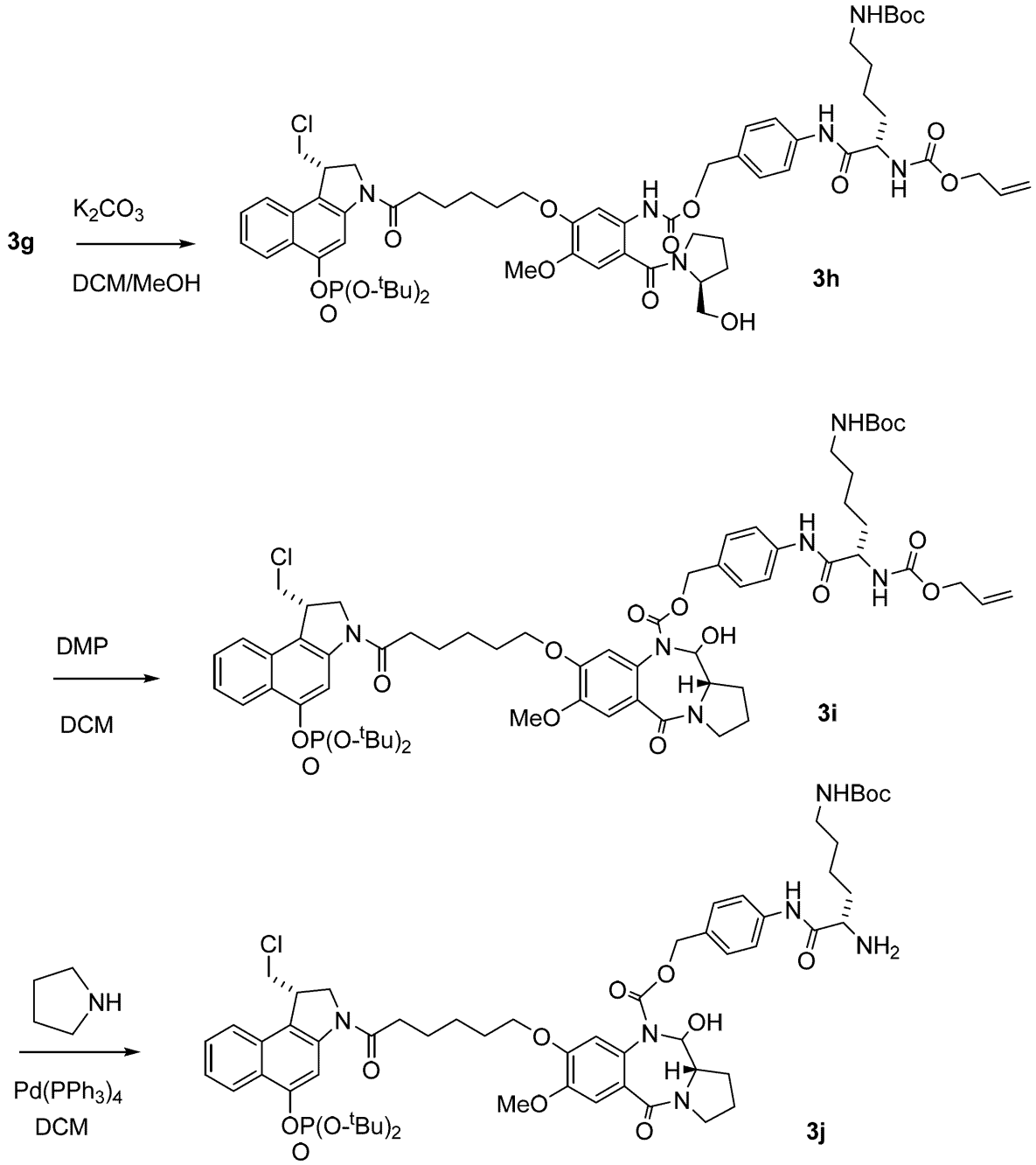
２Ｈ）、１．４７６及び１．４７０（２ｓ，１８Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　$C_{42}H_{58}ClN_3O_{10}$に対する計測値：８３０．３５２２，実測値：８３０．３５４３［MH^+］。

【０４８９】

３ｅ（２９３ｍｇ、０．３５ｍｍｏｌ）及びＤＭＡＰ（２０２ｍｇ、１．６５ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（７ｍＬ）の撹拌溶液に、窒素雰囲気下、２０℃でジホスゲンを含む乾燥ＤＣＭ（０．０５Ｍ、６．７ｍＬ、０．３３ｍｍｏｌ）溶液を添加した。混合物を２５分間撹拌し、次にアリルｔｅｒｔ－ブチル（６－（（４－（ヒドロキシメチル）フェニル）アミノ）－６－オキソヘキサン－１，５－ジイル）（Ｓ）－ジカルバメート３ｆ（１．５４ｇ、３．５４ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（２０ｍＬ）溶液を添加した。その混合物を、窒素雰囲気下、２０℃で６８時間撹拌し、次にＥｔＯＡｃ（３００ｍＬ）と水（２００ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、水（１００ｍＬ）で再度洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、３０℃の浴槽温度で蒸発させた。結果として得られる橙色油を、シリカゲルでクロマトグラフィーにより精製して（３０：０．５：１０のＥｔＯＡｃ：ＭｅＯＨ：石油エーテルで溶出）、（（Ｓ）－１－（２－（（（（４－（（Ｓ）－２－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－６－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）ヘキサンアミド）ベンジル）オキシ）カルボニル）アミノ）－４－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－５－メトキシベンゾイル）ピロリジン－２－イル）メチル酢酸塩３ｇ（３８５ｍｇ、８４％）を発泡状固体として得た。ｍｐ　７２－７５℃；［α］$_D$－５５．２°（ｃ　０．５３，$CHCl_3$）；^1H ＮＭＲ［$(CD_3)_2SO$］δ　１０．０４（ｓ，D_2Oと交換可能、１Ｈ）、９．１２（ｂｒ　ｓ，D_2Oと交換可能、１Ｈ）、８．５６（ｓ，１Ｈ）、８．０３（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．９２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．６５－７．５２（ｍ，３Ｈ、D_2O後に２Ｈに還元）、７．４６（ｔ，Ｊ＝７．８Ｈｚ，２Ｈ）、７．３１（ｄ，Ｊ＝８．５Ｈｚ，２Ｈ）、７．２０（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）、６．８６（ｓ，１Ｈ）、６．７５（不良に溶解したｔ、D_2Oと交換可能、１Ｈ）、５．９７－５．８３（ｍ，１Ｈ）、５．３０（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１７．３Ｈｚ，１Ｈ）、５．１７（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１０．６Ｈｚ，１Ｈ）、５．１８－４．９７（ｍ，２Ｈ）、４．５１－３．８５（ｍ，１３Ｈ）、３．７４（ｓ，３Ｈ）、３．４３－３．２３（ｍ，２Ｈ、水ピークにより部分的に不明瞭）、２．９４－２．８３（ｍ，２Ｈ）、２．６５－２．５０（ｍ，２Ｈ、ＤＭＳＯピークにより部分的に不明瞭）、２．０７－１．９１（ｍ，１Ｈ）、２．０１（ｂｒ　ｓ，３Ｈ）、１．８８－１．４３（ｍ，１１Ｈ）、１．４７３－１．４６８（２ｓ，１８Ｈ）、１．４３－１．２０（ｍ，４Ｈ）、１．３５（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　$C_{65}H_{89}CIN_6O_{17}P$に対する計測値：１２９１．５６６５、実測値：１２９１．５７０５［MH^+］；$C_{65}H_{88}CIKN_6O_{17}P$に対する計測値：１３２９．５２６２、実測値：１３２９．５２６４［MK^+］；$C_{65}H_{88}CIN_6NaO_{17}P$に対する計測値：１３１３．５５５４，実測値：１３１３．５５２４［MNa^+］。

【０４９０】

工程Ｃ：８６の合成



【０４９１】

３ｇ（３６６ｍｇ、０．２８ｍｍｏｌ）及びK_2CO_3（１．１４ｇ、８．２４ｍｍｏｌ）を含むＤＣＭ（９ｍＬ）及びＭｅＯＨ（９ｍＬ）の混合物を、０℃で３時間半撹拌した。混合物を、冷ＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）及び氷水（１５０ｍＬ）と共に１０分間撹拌した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、水（１００ｍＬ）で再度洗浄し、次に乾燥させ（$MgSO_4$）、２５℃の浴槽温度で蒸発させて、アリル－ｔｅｒｔ－ブチル（（Ｓ）－６－（（４－（（（（５－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－２－（（Ｓ）－２－（ヒドロキシメチル）ピロリジン－１－カルボニル）－４－メトキシフェニル）カルバモイル）オキシ）メチル）フェニル）アミノ）－６－オキソヘキサン－１，５－ジイル）ジカルバメート３ｈ（３４３ｍｇ、９７％）を無色の発泡状固体として得た。ｍｐ　７１－７５℃；［α］$_D$－５８．２°（ｃ　０．５７，$CHCl_3$）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ［（CD_3）$_2$ＳＯ］δ　１０．０４（ｓ，D_2Oと交換可能、１Ｈ）、９．１１（ｂｒ　ｓ，D_2Oと交換可能、１Ｈ）、８．

５６（ｓ，１Ｈ）、８．０３（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．９２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．６５－７．５３（ｍ，３Ｈ、$Ｄ_2Ｏ$後に２Ｈに還元）、７．４６（ｔ，Ｊ＝７．６Ｈｚ，２Ｈ）、７．３２（ｄ，Ｊ＝８．６Ｈｚ，２Ｈ）、７．２７（ｂｒ ｓ，１Ｈ）、６．９３（ｓ，１Ｈ）、６．７５（不良に溶解したｔ、$Ｄ_2Ｏ$と交換可能、１Ｈ）、５．９７－５．８２（ｍ，１Ｈ）、５．２９（ｂｒ ｄ，Ｊ＝１７．２Ｈｚ，１Ｈ）、５．１７（ｂｒ ｄ，Ｊ＝１０．５Ｈｚ，１Ｈ）、５．０３（ｂｒ ｓ，２Ｈ）、４．７３（ｔ，Ｊ＝５．８Ｈｚ、$Ｄ_2Ｏ$と交換可能、１Ｈ）、４．５０－３．８２（ｍ，１１Ｈ）、３．７４（ｓ，３Ｈ）、３．６２－３．４４（ｍ，２Ｈ）、３．４０－３．２１（ｍ，２Ｈ、水ピークにより部分的に不明瞭）、２．９５－２．８０（ｍ，２Ｈ）、２．６５－２．５０（ｍ，２Ｈ、ＤＭＳＯピークにより部分的に不明瞭）、１．９３－１．２１（ｍ，１６Ｈ）、１．４７３－１．４６８（２ｓ，１８Ｈ）、１．３５（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ $Ｃ_{63}Ｈ_{86}ＣｌＫＮ_6Ｏ_{16}Ｐ$に対する計測値：１２８７．５１５８、実測値：１２８７．５１１３［$ＭＫ^+$］；$Ｃ_{63}Ｈ_{86}ＣｌＮ_6ＮａＯ_{16}Ｐ$に対する計測値：１２７１．５４１９、実測値：１２７１．５３８１［$ＭＮａ^+$］。

【０４９２】

３ｈ（３２２ｍｇ、０．２６ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＣＭ（１４ｍＬ）の撹拌溶液に、０℃でＤｅｓｓ－Ｍａｒｔｉｎペリオジナン（ＤＭＰ）（１３１ｍｇ、０．３１ｍｍｏｌ）を少量ずつ３分間にわたって添加した。反応混合物を０℃でさらに２時間、次に２０℃で５０時間撹拌した。混合物をＤＣＭ（４０ｍＬ）及び１０％の$Ｎａ_2Ｓ_2Ｏ_3$（４０ｍＬ）で希釈し、２０℃で１０分間撹拌し、次にＤＣＭ（２００ｍＬ）と飽和$ＮａＨＣＯ_3$溶液（１５０ｍＬ）とに分割した。ＤＣＭ層を分離し、水性層をＤＣＭ（２×５０ｍＬ）でさらに抽出した。合わせたＤＣＭ抽出物を、飽和$ＮａＨＣＯ_3$溶液（２×１００ｍＬ）及び水（２×１００ｍＬ）で洗浄し、次に乾燥させ（$ＭｇＳＯ_4$）、２５℃の浴槽温度で蒸発させた。結果として得られる橙色油を、シリカゲルでクロマトグラフィーにより精製して（４０：１の$ＣＨＣｌ_3$：ＭｅＯＨで溶出）、４－（（Ｓ）－２－（（（アリルオキシ）カルボニル）アミノ）－６－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）ヘキサンアミド）ベンジル（１１ａＳ）－８－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート３ｉ（２２８ｍｇ、７１％）を薄茶色の発泡状固体として得た。ｍｐ ９８℃（分解）；$［α］_D$＋７４．５°（ｃ ０．２６，$ＣＨＣｌ_3$）；$^1Ｈ$ ＮＭＲ［$（ＣＤ_3）_2ＳＯ$］δ １０．０２（ｓ，$Ｄ_2Ｏ$と交換可能，１Ｈ）、８．５６（ｓ，１Ｈ）、８．０４（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．９２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．６５－７．４７（ｍ，５Ｈ，$Ｄ_2Ｏ$後に４Ｈに還元）、７．２５－７．１２（ｍ，２Ｈ，ｂｒ ｓ、及び$Ｄ_2Ｏ$交換上の１Ｈ）、７．０３（ｓ，１Ｈ）、６．８３－６．６４（ｍ，２Ｈ）、６．４８（ｂｒ ｓ，$Ｄ_2Ｏ$と交換可能，１Ｈ）、５．９６－５．８０（ｍ，１Ｈ）、５．５２－５．３９（ｍ，$Ｄ_2Ｏ$交換上のｄ、Ｊ＝９．６Ｈｚ，１Ｈ）、５．２７（ｂｒ ｄ，Ｊ＝１６．８Ｈｚ，１Ｈ）、５．２１－５．１０（ｍ，２Ｈ）、４．８１（ｂｒ ｄ，Ｊ＝１２．３Ｈｚ，１Ｈ）、４．５４－３．８５（ｍ，８Ｈ）、３．８３－３．７０（ｍ，５Ｈ）、３．５３－３．２１（ｍ，３Ｈ、水ピークにより部分的に不明瞭）、２．９３－２．８２（ｍ，２Ｈ）、２．６４－２．４７（ｍ，２Ｈ、ＤＭＳＯピークにより部分的に不明瞭）、２．１０－１．２０（ｍ，１６Ｈ）、１．４７０及び１．４６４（２ｓ，１８Ｈ）、１．３４（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ $Ｃ_{63}Ｈ_{84}ＣｌＫＮ_6Ｏ_{16}Ｐ$に対する計測値：１２８５．５００２、実測値：１２８５．４９３８［$ＭＫ^+$］；$Ｃ_{63}Ｈ_{84}ＣｌＮ_6ＮａＯ_{16}Ｐ$に対する計測値：１２６９．５２６２、実測値：１２６９．５２２０［$ＭＮａ^+$］。

【０４９３】

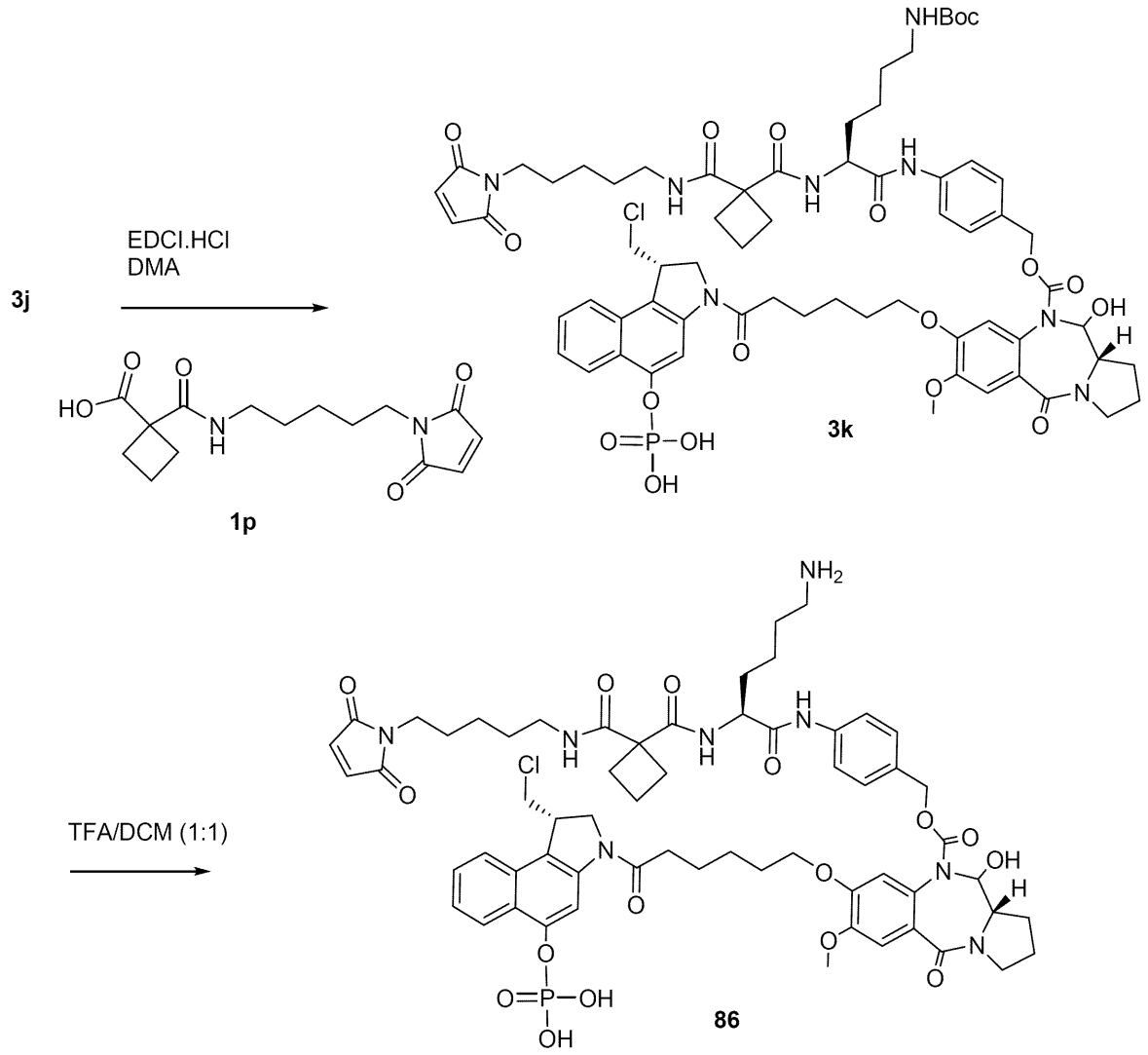
３ｉ（１２５ｍｇ、０．１０ｍｍｏｌ）を含むＤＣＭ（２ｍＬ）の撹拌溶液に、窒素雰

囲気下、２０℃でＰｄ（Ｐｈ$_3$Ｐ）$_4$（２．９ｍｇ、９．８％　Ｐｄ）及びピロリジン（０．０８ｍＬ、１．００ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を２０℃で撹拌し、ＴＬＣ（２０：１のＥｔＯＡｃ：ＭｅＯＨ）によって監視した。４０分後、さらにＰｄ（Ｐｈ$_3$Ｐ）$_4$（５．８ｍｇ、９．８％　Ｐｄ）及びピロリジン（０．１６ｍＬ、２．００ｍｍｏｌ）を添加し、混合物をさらに３時間撹拌した。混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）と水（１００ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、水（５０ｍＬ）で再度洗浄し、次に乾燥させ（ＭｇＳＯ$_4$）、２５℃の浴槽温度で蒸発させた。粗４－（（Ｓ）－２－アミノ－６－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）ヘキサンアミド）ベンジル（１１ａＳ）－８－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（（ジ－ｔｅｒｔ－ブトキシホスホリル）オキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート３ｊ（９４ｍｇ、８１％）を、さらに精製することなく、次の工程に使用した。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　Ｃ$_{59}$Ｈ$_{81}$ＣｌＮ$_6$Ｏ$_{14}$Ｐに対する計測値：１１６３．５２３１、実測値：１１６３．５１８８［ＭＨ$^+$］。

【０４９４】

３ｊ（９１ｍｇ、０．０７８ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（１．０ｍＬ）溶液を、１－（（５－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ペンチル）カルバモイル）シクロブタンカルボン酸１ｐ（３６ｍｇ、０．１２ｍｍｏｌ）、ＥＤＣＩ．ＨＣｌ（３４ｍｇ、０．１８ｍｍｏｌ）、及びＴｓＯＨ（４．０ｍｇ、０．０２３ｍｍｏｌ）を含む乾燥ＤＭＡ（０．５ｍＬ）の予備形成された（２０℃で１０分間）混合物により、窒素雰囲気下、２０℃で処理した。１０分後、ＤＩＰＥＡ（０．０１６ｍＬ、０．０７８ｍｍｏｌ）を添加し、反応混合物を２３時間撹拌した。混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）と水（１００ｍＬ）とに分割した。ＥｔＯＡｃ層を分離し、飽和ＮａＨＣＯ$_3$（５０ｍＬ）、水（５０ｍＬ）でさらに洗浄した後、乾燥させた（ＭｇＳＯ$_4$）。２５℃の浴槽温度で溶媒を蒸発させて粗生成物を得て、これをシリカゲルでクロマトグラフィーにより精製して（３０：１０：２のＣＨＣｌ$_3$：ＥｔＯＡｃ：ＭｅＯＨで溶出）、４－（（Ｓ）－６－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－２－（１－（（５－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ペンチル）カルバモイル）シクロブタン－１－カルボキシアミド）ヘキサンアミド）ベンジル（１１ａＳ）－８－（（６－（（Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－（ホスホノオキシ）－１，２－ジヒドロ－３Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３－イル）－６－オキソヘキシル）オキシ）－１１－ヒドロキシ－７－メトキシ－５－オキソ－２，３，１１，１１ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－１０（５Ｈ）－カルボキシレート３ｋ（６３ｍｇ、５６％）を薄茶色の発泡状固体として得た。ｍｐ　６７－７０℃；［α］$_D$＋２３．９°（ｃ　２．０９，ＣＨＣｌ$_3$）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ［（ＣＤ$_3$）$_2$ＳＯ］δ　１０．０５（ｓ，Ｄ$_2$Ｏと交換可能、１Ｈ）、８．５６（ｓ，１Ｈ）、８．０３（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．９２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．８４－７．７１（ｍ，２Ｈ，Ｄ$_2$Ｏと交換可能）、７．６２－７．５２（ｍ，３Ｈ）、７．４６（ｔ，Ｊ＝７．７Ｈｚ，１Ｈ）、７．２２－７．１３（ｍ，２Ｈ）、７．０３（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）、６．９６（ｓ，２Ｈ）、６．７１（ｂｒ　ｓ，２Ｈ，Ｄ$_2$Ｏ後に１Ｈに還元）、６．４９（ｂｒ　ｓ，Ｄ$_2$Ｏと交換可能、１Ｈ）、５．５１－５．４１（ｍ，但しＪ＝９．５ＨｚでＤ$_2$Ｏ上のｄを交換，１Ｈ）、５．１５（ｄ，Ｊ＝１２．２Ｈｚ，１Ｈ）、４．８２（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１２．４Ｈｚ，１Ｈ）、４．４７－３．８５（ｍ，８Ｈ）、３．７７（ｂｒ　ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．２０（ｍ，３Ｈ，水ピークにより部分的に不明瞭）、３．１２－３．２０（ｍ，但しＪ＝６．７ＨｚでＤ$_2$Ｏ上のｔを交換，２Ｈ）、２．９２－２．８０（ｍ，２Ｈ）、２．６５－２．５０（ｍ，２Ｈ，ＤＭＳＯピークにより部分的に不明瞭）、２．３９（ｔ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，２Ｈ）、２．０７－１．２４（ｍ，２８Ｈ）、１．４６９及び１．４６３（２ｓ，１８Ｈ）、１．３３（ｓ，９Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　Ｃ$_{74}$Ｈ$_{98}$ＣｌＮ$_8$ＮａＯ$_{18}$Ｐに対する計測値：１４７５．６３

１７、実測値：１４７５．６２６７［ＭＮａ$^{+}$］。



【０４９５】

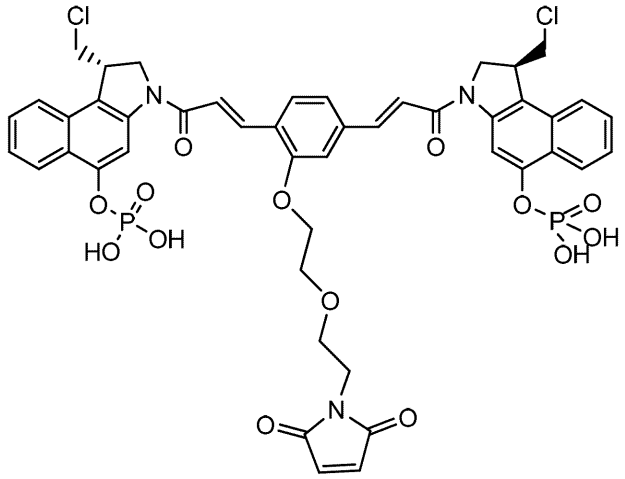
３ｋ（４５ｍｇ、０．０３１ｍｍｏｌ）を含むＤＣＭ（１．０ｍＬ）の撹拌溶液に、窒素下、２０℃でＴＦＡ（１．０ｍＬ）を添加し、混合物を１５分間撹拌した。石油エーテル（２０ｍＬ）を添加し、混合物を３０分間撹拌した。上清をデカントし、この手順をＥｔＯＡｃ：石油エーテル（１：５）（２×２０ｍＬ）を使用して繰り返した。結果として得られる固体を収集し、分取ＨＰＬＣにより精製して［Ｓｙｎｅｒｇｉ　ＰｏｌａｒＲＰカラム、CH_3CN（１０％～９８％）中の水性ＴＦＡ（ｐＨ＝２．５６；９０％～２％）／１０％水、流量１２ｍＬ／分で２３分間にわたる勾配溶出］、純粋な８６（１７．５ｍｇ、３８％）をベージュ固体として得た。純度（ＨＰＬＣ）：９９．１％；［α］$_D$＋５４．９°（ｃ　０．１８，ＭｅＯＨ）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ［（CD_3）$_2$ＳＯ］δ　１０．２０（ｓ，D_2Oと交換可能、１Ｈ）、８．５０（ｓ，１Ｈ）、８．２０－７．７８（ｍ，７Ｈ、D_2O後に１Ｈに還元）、８．１２（ｄ，Ｊ＝９．１Ｈｚ，１Ｈ）、７．７２－７．４７（ｍ，４Ｈ，D_2O後に３Ｈに還元）、７．４０（ｔ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，１Ｈ）、７．１７（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，２Ｈ）、７．０３（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）、６．９７（ｓ，２Ｈ）、６．６６（ｂｒ　ｓ，D_2Oと交換可能，１Ｈ）、５．５１（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）、５．４８（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝９．７Ｈｚ，１Ｈ）、５．３２－５．１８（ｍ，但しD_2O後にｄ，Ｊ＝１２．６Ｈｚ，１Ｈ）、４．７５（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝１２．４Ｈｚ，１Ｈ）、４．４４－３．８１（ｍ，８Ｈ）、３．７７（ｓ，３Ｈ）、３．５２－３．２１（ｍ，５Ｈ，水ピークにより部分的に不明瞭）、３．０４（ｑ，但しD_2Oのｔ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，２Ｈ）、２．８０－２．６８（ｍ，２Ｈ）、２．３９（ｔ，Ｊ＝７．７Ｈｚ，

２Ｈ）、２．１２－１．０８（ｍ，２８Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ　$C_{61}H_{75}ClN_8O_{16}P$に対する計測値：１２４１．４７２２、実測値：１２４１．４７００［MH^+］；$C_{61}H_{74}ClN_8NaO_{16}P$に対する計測値：１２６３．４５４１、実測値：１２６３．４５３１［MNa^+］。

【０４９６】

Ｃ．ＣＢＩ二量体リンカー薬物中間体の合成

以下の式：



を有するを有するＣＢＩ－ＣＢＩ二量体（［（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－３－［（Ｅ）－３－［４－［（Ｅ）－３－［（１Ｓ）－１－（クロロメチル）－５－ホスホノオキシ－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－３－イル］－３－オキソ－プロプ－１－エニル］－２－［２－［２－（２，５－ジオキソピロール－１－イル）エトキシ］エトキシ］フェニル］プロプ－２－エノイル］－１，２－ジヒドロベンゾ［ｅ］インドール－５－イル］リン酸二水素、表Ａの化合物７８）は、以下のように合成された。試薬及び中間製剤を含む反応スキームについては、図１１を参照されたい。

【０４９７】

室温で、（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－カルボキシレート５１ａ（２．００ｇ、５．９９ｍｍｏｌ）を含むＤＭＦ（５ｍＬ）溶液に、臭化ベンジル（７．１３ｍＬ、５９．９０ｍｍｏｌ）、ヨウ化カリウムＫＩ（５０ｍｇ、０．３０ｍｍｏｌ）、及び炭酸カリウムK_2CO_3（４．１４ｇ、３０．００ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を２時間撹拌し、次に酢酸エチルで希釈した。沈殿物を濾過した。濾過物を酢酸エチルと水とに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水及び塩水で洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、セライトで濾過した。溶媒を回転蒸発器によって除去し、過剰な臭化ベンジルを圧送して除いた。結果として得られる残渣を、酢酸エチルと石油エーテルとの混合物（１：１０のｖ／ｖ）を溶出剤として使用し、カラムクロマトグラフィーにより精製して（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（ベンジルオキシ）－１－（クロロメチル）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－カルボキシレート５７ａを白色固体として得た（１．９７ｇ、７８％）；ｍｐ　１８６－１８８℃。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ８．２９（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．８６（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）、７．６５（ｄ，Ｊ＝８．２９Ｈｚ，１Ｈ）、７．５５－７．４９（ｍ，３Ｈ）、７．４５－７．４１（ｍ，２Ｈ）、７．３８－７．３１（ｍ，２Ｈ）、５．２６（ｓ，２Ｈ）、４．２６（ｂｒ　ｓ，１Ｈ）、４．１３（ｔ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ，１Ｈ）、４．００－３．９２（ｍ，２Ｈ）、３．４４（ｔ，Ｊ＝１０．５Ｈｚ，１Ｈ）、１．６１（ｓ，９Ｈ）ｐｐｍ。ＬＲＭＳ（ＡＰＣＩ）実測値　ｍ／ｚ　４２４．８（Ｍ＋Ｈ）。$C_{25}H_{27}ClNO_3$は、４２４．２を必要とする。（Ｂｏｇｅｒ　Ｄ．，Ｉｓｈｉｚａｋｉｌｂ　Ｔ．，Ｋｉｔｏｓ　Ｐ．ａｎｄ　Ｓｕｎｔｏｒｎｗａｔ　Ｏ．，（１９９０）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，５５，５

８２３－５８３２．）

【０４９８】

氷浴で冷却した、（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（ベンジルオキシ）－１－（クロロメチル）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－カルボキシレート５７ａ（（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－カルボキシレート５１ａ（１．５９５ｇ、３．７６ｍｍｏｌ）から調製）を含むＤＣＭ（１５ｍＬ）の溶液に、４ＮのＨＣｌを含むジオキサン（４０ｍＬ）を添加した。混合物を室温に温め、２時間撹拌した。全ての揮発性成分を圧送して除いた。結果として得られる残渣を、酢酸エチルと冷水性５％アンモニアとに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水、続いて塩水で洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、セライトで濾過した。溶媒を除去して（Ｓ）－５－（ベンジルオキシ）－１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール５７ｂを茶色のガムとして得て、これを直接使用した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ８．０４（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．６１（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．５３（ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，２Ｈ）、７．４５－７．３４（ｍ，４Ｈ）、７．１４（ｔ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，１Ｈ）、６．６０（ｓ，１Ｈ）、５．２４（ｓ，２Ｈ）、３．９６－３．９２（ｍ，１Ｈ）、３．８４（ｄｄ，Ｊ＝３．４，１０．７Ｈｚ，１Ｈ）、３．７０（ｔ，Ｊ＝９．３Ｈｚ，１Ｈ）、３．６０（ｄｄ，Ｊ＝２．４，１０．０Ｈｚ，１Ｈ）、３．５５（ｔ，Ｊ＝１０．３Ｈｚ，１Ｈ）ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　３２４．１１５０（Ｍ＋Ｈ）。$C_{20}H_{19}ClNO$は、３２４．１１５０を必要とする。

【０４９９】

中間体５７ｂを氷浴中で冷却し、ピリジン（１５ｍＬ）、続いてトリフルオロ酢酸無水物（３．１４ｍＬ、２２．５７ｍｍｏｌ）を添加した。結果として得られる混合物を１０分間撹拌し、氷を添加した。混合物を酢酸エチルと水とに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水、続いて塩水で洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、セライトで濾過した。溶媒を除去し、結果として得られる残渣を、酢酸エチルと石油エーテルとの混合物（１：１０のｖ／ｖ）を溶出剤として使用し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、（Ｓ）－１－（５－（ベンジルオキシ）－１－（クロロメチル）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－２，２，２－トリフルオロエタノン６６ａを白色固体として得た（１．１１ｇ、７０％）。ｍｐ　１６７－１７０℃。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ８．３７（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、８．０５（ｓ，１Ｈ）、７．７２（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．６１－７．５４（ｍ，３Ｈ）、７．４９－７．４２（ｍ，３Ｈ）、７．３９－７．３５（ｍ，１Ｈ）、５．３０（ＡＢｑ，Ｊ＝１１．７，１５．７Ｈｚ，２Ｈ）、４．６３－４．５９（ｍ，１Ｈ）、４．４３－４．３８（ｍ，１Ｈ）、４．１５－４．０９（ｍ，１Ｈ）、３．９７－３．９３（ｍ，１Ｈ）、３．４９（ｄｄ，Ｊ＝９．９，１１．３Ｈｚ，１Ｈ）ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　４４２．０７９９（Ｍ＋Ｎａ）。$C_{22}H_{17}ClF_3NNaO_2$は、４４２．０７９５を必要とする。

【０５００】

－１０℃で、６６ａ（１．１０ｇ、２．６２ｍｍｏｌ）を含むＴＨＦ（２０ｍＬ）溶液に、２５％水性ギ酸アンモニウム（２０ｍＬ）、続いてＰｄ－Ｃ触媒（１０％、湿性、５５０ｍｇ）を添加した。その混合物を２時間撹拌した後、Ｐｄ－Ｃ触媒（５５０ｍｇ）をさらに添加した。結果として得られる混合物を、－１０℃で終夜撹拌し、触媒をセライトで濾過して除いた。ＴＨＦを濾過物から除去し、残渣を酢酸エチルと水とに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水、続いて塩水で洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、セライトで濾過した。溶媒を除去し、結果として得られる残渣を、酢酸エチルと石油エーテルとの混合物（１：５のｖ／ｖ）を溶出剤として使用し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、（Ｓ）－１－（１－（クロロメチル）－５－ヒドロキシ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－３（２Ｈ）－イル）－２，２，２－トリフルオロエタノン６６ｂをオフホワイト固体として得た（７５８ｍｇ、８８％）。ｍｐ

２０９－２１２℃。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．３３（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、８．１０（ｓ，１Ｈ）、７．８５（ｓ，１Ｈ）、７．６４（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．６０－７．５６（ｍ，１Ｈ）、７．５１－７．４７（ｍ，１Ｈ）、４．６０－４．５６（ｍ，１Ｈ）、４．４１－４．３６（ｍ，１Ｈ）、４．００－３．９５（ｍ，１Ｈ）、３．９３－３．９０（ｍ，１Ｈ）、３．４４（ｄｄ，Ｊ＝９．８、１１．３Ｈｚ、１Ｈ）ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　３５２．０３３１（Ｍ＋Ｎａ）。Ｃ$_{15}$Ｈ$_{11}$ＣｌＦ$_{3}$ＮＮａＯ$_{2}$は、３５２．０３２３を必要とする。

【０５０１】

６６ｂ（２５０ｍｇ、０．７６ｍｍｏｌ）を含むＴＨＦ（１５ｍＬ）溶液に、テトラゾール（アセトニトリル中３％、１３．５ｍＬ、４．５５ｍｍｏｌ）、続いてジ－ｔｅｒｔ－ブチル－Ｎ，Ｎ－ジ－イソプロピルホスホルアミダイト（１．５１ｍＬ、４．５５ｍｍｏｌ）を添加した。この混合物を室温で終夜撹拌し、次に氷浴中で冷却して、Ｈ$_{2}$Ｏ$_{2}$（３０％水性溶液、０．７８ｍＬ、７．５８ｍｍｏｌ）を滴下添加した。結果として得られる混合物を室温に温め、５時間撹拌した。反応物は、１０％水性亜硫酸ナトリウムを添加し、氷浴中で冷却しながらクエンチした。有機揮発物を回転蒸発器により除去した。結果として得られる混合物を、酢酸エチルと水とに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水、続いて塩水で洗浄し、無水Ｎａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥させ、セライトで濾過した。溶媒を除去し、結果として得られる残渣を、酢酸エチルと石油エーテルとの勾配混合物（１：６～１：３のｖ／ｖ）を溶出剤として使用し、Ｆｌｏｒｉｓｉｌ（登録商標）（ＵＳ　Ｓｉｌｉｃａ）カラムクロマトグラフィーにより精製して、（Ｓ）－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル１－（クロロメチル）－３－（２，２，２－トリフルオロアセチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルリン酸塩６６ｃを無色油として得た（３６７ｍｇ、９３％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ８．４４（ｄ，Ｊ＝１．０Ｈｚ，１Ｈ）、８．１１（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，１Ｈ）、８．０６（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．６９－７．６５（ｍ，１Ｈ）、７．６３－７．５９（ｍ，１Ｈ）、４．６１－４．５６（ｍ，１Ｈ）、４．４６－４．４１（ｍ，１Ｈ）、４．１５－４．１２（ｍ，１Ｈ）、４．０６－４．００（ｍ，１Ｈ）、１．５０（ｓ，９Ｈ）、１．４８（ｓ，９Ｈ）ｐｐｍ。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ－１５．５４ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　５４４．１２３６（Ｍ＋Ｎａ）。Ｃ$_{23}$Ｈ$_{28}$ＣｌＦ$_{3}$ＮＮａＯ$_{5}$Ｐは、５４４．１２３８を必要とする。

【０５０２】

氷浴中で冷却した、６６ｃ（２３９ｍｇ、０．４６ｍｍｏｌ）を含むＭｅＯＨ（２ｍＬ）溶液に、ＣｓＣＯ$_{3}$（２９８ｍｇ、０．９２ｍｍｏｌ）及び数滴の水を添加した。混合物を氷浴中で１時間撹拌し、次に酢酸エチルと水とに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水及び塩水で洗浄し、無水Ｎａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥させ、セライトで濾過して、溶媒を除去した。結果として得られる残渣を、酢酸エチルに溶解し、Ｆｌｏｒｉｓｉｌ（登録商標）（ＵＳ　Ｓｉｌｉｃａ）カラムクロマトグラフィーのパッドで濾過して、（Ｓ）－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル１－（クロロメチル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］インドール－５－イルリン酸塩６６ｄをオフホワイトガムとして得て（１８３ｍｇ、９４％）、これを、さらに精製することなく、次の工程に使用した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ８．０８（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ）、７．５８（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．４６－７．４２（ｍ，１Ｈ）、７．２５－７．２１（ｍ，１Ｈ）、７．１３（ｄ，Ｊ＝０．８Ｈｚ，１Ｈ）、４．００－３．９３（ｍ，１Ｈ）、３．８７－３．７８（ｍ，２Ｈ）、３．５４－３．４２（ｍ，２Ｈ）、１．５０（ｓ，９Ｈ）、１．４９（ｓ，９Ｈ）ｐｐｍ。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ－１５．５８ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　４２６．１５８７（Ｍ＋Ｈ）。Ｃ$_{21}$Ｈ$_{30}$ＣｌＮＯ$_{4}$Ｐは、４２６．１５９５を必要とする。

【０５０３】

７６ｍｇ（０．１８ｍｍｏｌ）の１（６６ｄ、上述の手順によって新たに作製した）に、２（１８ｍｇ、０．０４５ｍｍｏｌ）、ＥＤＣＩ塩酸塩（６９ｍｇ、０．３６ｍｍｏｌ

）、トルエンスルホン酸（０．８ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）、及びＤＭＡ（０．２５ｍＬ）を添加した。混合物を終夜撹拌した後、ＤＭＡの大部分を真空下で除去し、残渣を酢酸エチルと水とに再分液した。水性相を酢酸エチルで３回抽出した。合わせた有機抽出物を、水、続いて塩水で洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、セライトのパッドで濾過した。溶媒を除去し、結果として得られる残渣を最小ＤＣＭに溶解し、ヘプタンを添加することによって沈殿させて粗生成物（５４ｍｇ）を得て、これを分取ＨＰＬＣによりさらに精製して（カラム：Ｓｙｎｅｒｇｉ－Ｍａｘ　ＲＰ　４μ、２５０×２１．２０ｍｍ、移動相：Ａ／Ｂ＝２０％～１％（Ａ：ギ酸アンモニウム　ｐＨ３．４５、Ｂ：水中の９０％アセトニトリル）、流量１２ｍＬ／分、勾配方法、波長：２５４ｎｍ、３２５ｎｍ）、３（１７ｍｇ、３０％）を黄色固体として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ８．７２（ｂｒ　ｓ，２Ｈ）、８．２３（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，２Ｈ）、７．９６（ｄ，Ｊ＝１５．２Ｈｚ，１Ｈ）、７．８３（ｄ，Ｊ＝１５．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．７１（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，２Ｈ）、７．５４－７．５０（ｍ，３Ｈ）、７．４２－７．３９（ｍ，２Ｈ）、７．２６－７．１２（ｍ，３Ｈ）、６．９５－６．８８（ｍ，１Ｈ）、６．６７（ｓ，２Ｈ）、４．５７－４．５２（ｍ，２Ｈ）、４．４７－４．３８（ｍ，２Ｈ）、４．２８－４．２４（ｍ，２Ｈ）、４．１６－４．０９（ｍ，２Ｈ）、４．００－３．９４（ｍ，４Ｈ）、３．７８（見掛け上のｓ，４Ｈ）、３．５５－。３４８（ｍ，２Ｈ），１．５７（ｓ，３６Ｈ）ｐｐｍ。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ－１５．６４（ｓ）ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　１２３８．３８６２（Ｍ＋Ｎａ）。$C_{62}H_{73}Cl_2N_3NaO_{14}P_2$は、１２３８．３８３７を必要とする。

【０５０４】

氷浴中で冷却した、３（１６ｍｇ、０．０１３ｍｍｏｌ）を含むＤＣＭ（１ｍＬ）溶液に、ＴＦＡ（０．５ｍＬ、３．２４ｍｍｏｌ）を添加した。混合物を室温に温め、３時間撹拌した。揮発性成分の全てを圧送して除き、結果として得られる残渣を酢酸エチルで粉砕して、化合物７８を黄色固体として得た（１３ｍｇ、１００％ＨＰＬＣ純度１００％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ８．６０（ｓ，２Ｈ）、８．１２（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，２Ｈ）、７．９５－７．８７（ｍ，４Ｈ）、７．７２（ｄ，Ｊ＝１５．１Ｈｚ，１Ｈ）、７．６１－７．５７（ｍ，２Ｈ）、７．５３－７．４５（ｍ，４Ｈ）、７．３８－７．３２（ｍ，２Ｈ）、６．９７（ｓ，２Ｈ）、４．６０－４．４８（ｍ，４Ｈ）、４．３０－４．２８（ｍ，４Ｈ）、４．０８－３．８８（ｍ，６Ｈ）、３．６８－３．５８（ｍ，４Ｈ）。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ）δ－５．９４（ｓ）ｐｐｍ。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）実測値　ｍ／ｚ　１０１４．１３０１（Ｍ＋Ｎａ）。$C_{46}H_{41}Cl_2N_3NaO_{14}P_2$は、１０１４．１３３３を必要とする。

【０５０５】

Ｄ．リンカー－薬物部分の抗体へのコンジュゲート

Ｈｕ７Ｃ２抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、ｈｕ７Ｃ２．ｖ．２．２．ＬＡを、選択された薬物－部分に対して重鎖Ａ１１８Ｃ突然変異（チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ　Ａ１１８Ｃ）または軽鎖Ｋ１４９Ｃ突然変異（チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ）でコンジュゲートすることによって産生される。最初に単離されるため、抗体中の操作されたシステイン残基は、細胞チオール（例えば、グルタチオン）との混合ジスルフィドとして存在し、そのためコンジュゲートには使用不可能である。これらの抗体の部分還元（例えば、ＤＴＴによる）、精製、及びデヒドロアスコルビン酸（ＤＨＡＡ）での再酸化により、例えば、Ｊｕｎｕｔｕｌａ　ｅｔ　ａｌ．（２００８）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２６：９２５－９３２及びＵＳ２０１１／０３０１３３４で以前に説明されたように、コンジュゲートに使用可能な遊離システインスルフィドリル基を有する抗体がもたらされる。簡潔に述べると、抗体を薬物－リンカー部分と組み合わせて、抗体の遊離システイン残基に薬物－リンカー部分をコンジュゲートさせることができる。数時間後、ＡＤＣを精製する。各ＡＤＣの薬物負荷（１抗体当たりの薬物部分の平均数）を決定した。それは１．４～２．０の範囲内であった。

【０５０６】

結果として得られるＡＤＣ構造及び下記でそれらに使用される用語を図１２に示す。

【０５０７】

実施例３：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＣＲＬ　ｎｕ／ｎｕマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍の約２×２ｍｍ断片を移植した。腫瘍が１００～２５０ｍｍ^{3}の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を７つの群（１群当たり各８～１０匹を含む）に分けた。マウスは、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭ　Ｌ－ヒスチジン、２４０ｍＭスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、０．３ｍｇ／ｋｇ、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、０．３ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ、（６）チオ－対照Ａｂ－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ、または（７）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を１日目に受けた。試験期間中、腫瘍及び体重の測定を１週間に少なくとも１回行った。腫瘍が１０００～２０００ｍｍ^{3}に到達したとき、またはマウスがその体重の２０％以上を喪失した場合、マウスを安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５０８】

この実験の結果を表５及び図４に示す。１０日目ものであるビヒクル対照群を除いて、表５のデータは２１日目のものである。各群は、試験の開始時に８匹のマウス、及び２１日目に８匹のマウス（またはビヒクル対照群の場合、１０日目に８匹）を含んでいた。ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（腫瘍成長阻害）は、以下の式、％ＴＧＩ＝１００×（１－ＡＵＣ治療／日÷ＡＵＣビヒクル／日）を使用して算出した。ＰＲ＝部分奏功は、試験中の任意の日の、出発腫瘍体積と比較した腫瘍体積の５０％超～１００％未満の低減として定義される。どの動物も、この実験において完全奏功を示さなかった。

表５：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣの有効性

群	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	ＰＲ	Ｂ　Ｗ　変化％、最終日
（１）ビヒクル	１２５８	０（０，０）	０	１２．６５
（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、０．３ｍｇ／ｋｇ	６０４	７２（５１，８７）	０	５．３４
（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	１２７	９８（８９，１０８）	２	２．８１
（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、０．３ｍｇ／ｋｇ	２０８	８２（６７，９３）	１	３．８３
（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	７０	９９（８８，１０７）	８	１．９０
（６）チオ－対照Ａｂ－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	１３２７	６１（３５，７９）	０	６．４０
（７）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	７５７	６１（３７，７９）	０	２．８９

【０５０９】

表５に示されるように、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤは、１ｍｇ／ｋｇで８部分奏功及び０．３ｍｇ／ｋｇで１部分奏功を示した。チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤは、１ｍｇ／ｋｇで２部分奏功を示し、０．３ｍｇ／ｋｇでは部分奏功を示さなかった。

【０５１０】

実施例４：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデ

ルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＣＲＬ ｎｕ／ｎｕマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２ Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍の約２×２ｍｍ断片を移植した。腫瘍が１００～２５０ｍｍ^{3}の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を９群に分けた（各群当たり８～１０匹の動物）。マウスは、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭのＬ－ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、１ｍｇ／ｋｇ、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、３ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、６ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ、（６）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、３ｍｇ／ｋｇ、（７）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、６ｍｇ／ｋｇ、（８）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、６ｍｇ／ｋｇ、または（９）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、６ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を１日目に受けた。試験期間中、腫瘍及び体重の測定を１週間に少なくとも１回行った。腫瘍が１０００～２０００ｍｍ^{3}に到達したとき、またはマウスがその体重の２０％以上を喪失した場合、マウスを安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５１１】

この実験の結果を表６及び図５に示す。１４日目のものであるビヒクル対照群を除いて、表６のデータは２１日目のものである。各群は、試験の開始時に８匹のマウス、及び１４日目に７匹のマウスを有していたビヒクル対照群を除いて、試験の開始時に８匹のマウス、及び２１日目に８匹のマウスを含んでいた。ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（腫瘍成長阻害）及びＰＲを、前述の実施例に記載されるように決定した。ＣＲ＝完全奏功は、試験中の任意の日の、腫瘍体積の１００％低減（測定可能な腫瘍なし）として定義される。実験に使用された各抗体－薬物複合体の薬物：抗体比（ＤＡＲ）は、２列目に示される。

表６：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２ Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２ ＡＤＣの有効性

群	ＤＡＲ	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	ＰＲ	ＣＲ	ＢＷ変化％、最終日
（１）ビヒクル		１３３１	０（０，０）	０	０	１１．４１
（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、１ｍｇ／ｋｇ	２	１５１	１０１（９３，１０９）	１	０	３．７７
（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、３ｍｇ／ｋｇ	２	７２	１０９（１０３，１１９）	６	０	６．１８
（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、６ｍｇ／ｋｇ	２	３２	１１４（１０７，１２４）	５	２	０．０７
（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	１．４	１０９５	６９（４０，８６）	０	０	６．８４
（６）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、３ｍｇ／ｋｇ	１．４	３１４	９４（８３，１０２）	０	０	２．４８

（７）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、６ｍｇ／ｋｇ	１．４	１５０	１０８（１０２，１１７）	１	０	４．０１
（８）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、６ｍｇ／ｋｇ	２	２３１	９８（８７，１０６）	１	０	４．１７
（９）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、６ｍｇ／ｋｇ	１．４	１１４３	４８（８，７４）	０	０	１１．１０

【０５１２】

表６に示されるように、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体は、１ｍｇ／ｋｇで１部分奏功、３ｍｇ／ｋｇで６部分奏功、ならびに６ｍｇ／ｋｇで５部分奏功及び２完全奏功を示した。チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤは、６ｍｇ／ｋｇで１部分奏功を示した。用量を１ｍｇ／ｋｇに低減した第２の試験において、１ｍｇ／ｋｇでのチオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体は、腫瘍退縮をもたらしたが、１ｍｇ／ｋｇでのチオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体は、６０％の％ＴＧＩをもたらした。いかなる特定の理論によっても拘束されることを意図しないが、対照の活性は、非標的活性を反映すると考えられる。

【０５１３】

実施例５：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＣＲＬ　ｎｕ／ｎｕマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍の約２×２ｍｍ断片を移植した。腫瘍が１００～２５０ｍｍ^{3}の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を７つの群（１群当たり各８～１０匹を含む）に分けた。マウスは、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭのＬ－ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（６）トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１、トラスツズマブエムタンシン、アドートラスツズマブエムタンシン）、３ｍｇ／ｋｇ、または（

７）Ｔ－ＤＭ１、１０ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を１日目に受けた。試験期間中、腫瘍及び体重の測定を１週間に少なくとも１回行った。腫瘍が１０００～２０００ｍｍ^{3}に到達したとき、またはマウスがその体重の２０％以上を喪失した場合、マウスを安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５１４】

この実験の結果を表７及び図６に示す。１４日目のものであるビヒクル対照群、チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ　１ｍｇ／ｋｇ群、及びＴ－ＤＭ１　３ｍｇ／ｋｇ群を除いて、表７のデータは２０日目のものである。各群は、試験の開始時に８匹のマウス、及び最後に７匹のマウスを有していたビヒクル対照群を除いて、試験の開始時に８匹のマウス、及び最後に８匹のマウスを含んでいた。ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（腫瘍成長阻害）を、前述の実施例に記載されるように決定した。この実験において、部分奏功も完全奏功もなかった。実験に使用された各抗体－薬物複合体の薬物：抗体比（ＤＡＲ）は、２列目に示される。

表７：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣの有効性

群	ＤＡＲ	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	Ｂ　Ｗ　変化％、最終日
（１）ビヒクル		１６６３	０（０，０）	８．０８
（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ	１．９	６１６	８７（７２，９５）	０．５２
（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．９	１６２	１０４（９９，１１０）	３．１７
（４）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ	１．９	１１６０	３１（－２１，６０）	６．２６
（５）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．９	６０７	８１（６１，９２）	５．４８
（６）Ｔ－ＤＭ１、３ｍｇ／ｋｇ	３．８	１０７５	３８（－５，６４）	３．６５
（７）Ｔ－ＤＭ１、１０ｍｇ／ｋｇ	３．８	７３４	８６（７３，９５）	４．２４

【０５１５】
これらのデータから、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ（３ｍｇ／ｋｇ）が、このモデルにおいてＴ－ＤＭ１または対照免疫複合体よりも優れた有効性を有することが示唆される。
【０５１６】
実施例６：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデ

ルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＣＲＬ ｎｕ／ｎｕマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２ Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍の約２×２ｍｍ断片を移植した。腫瘍が１００～２５０ｍｍ^{3}の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を９群に分けた（各群当たり８～１０匹の動物）。マウスは、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭのＬ－ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、約１ｍｇ／ｋｇ（ＩＶ群に一致する薬物用量）、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、０．３ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（６）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（７）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、０．３ｍｇ／ｋｇ、（８）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、１ｍｇ／ｋｇ、または（９）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、１ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を１日目に受けた。試験期間中、腫瘍及び体重の測定を１週間に少なくとも１回行った。腫瘍が１０００～２０００ｍｍ^{3}に到達したとき、またはマウスがその体重の２０％以上を喪失した場合、マウスを安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５１７】

この実験の結果を表８及び図７に示す。表８のデータは、各群の試験の最終日のものであり、表の２列目に示される。各群は、試験の最後に７匹のマウスを有していた群（９）を除いて、試験の開始時に８匹のマウス、及び最後に８匹のマウスを含んでいた。ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（腫瘍成長阻害）、ＰＲ、及びＣＲを、前述の実施例に記載されるように決定した。実験に使用された各抗体－薬物複合体の薬物：抗体比（ＤＡＲ）は、２列目に示される。

表８：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２ Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２ ＡＤＣの有効性

群	ＤＡＲ	最終日	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	ＰＲ	ＣＲ	ＢＷ変化％、最終日
（１）ビヒクル		１４	１６８１	０（０，０）	０	０	９．９８
（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、約１ｍｇ／ｋｇ	１．７３	２８	１０５４	８８（６９，９９）	０	０	１０．２１
（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、０．３ｍｇ／ｋｇ	１．８	２０	１４６９	６２（２５，８２）	０	０	８．１１
（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ	１．８	３５	２８８	１０３（９４，１１１）	３	０	８．７３
（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．８	３５	８	１２１（１１２，１３７）	０	８	６．６５
（６）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．４－２	１７	１２４４	５６（７，７９）	０	０	５．４０
（７）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ	２	３５	８３３	９０（７４，１００）	０	０	９．１４

二量体、０．３ｍｇ／ｋｇ							
（８）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、１ｍｇ／ｋｇ	２	３５	６５	１００（９１，１０９）	５	０	７．１４
（９）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体、１ｍｇ／ｋｇ	２	２０	１３２８	５９（１１，８０）	０	０	９．９２

【０５１８】

表８に示されるように、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵは、１ｍｇ／ｋｇで３部分奏功及び３ｍｇ／ｋｇで８完全奏功を示した。チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体は、１ｍｇ／ｋｇで５部分奏功を示した。

【０５１９】

実施例７：ＫＰＬ４乳癌細胞株異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＳＣＩＤベージュマウス（Ｃ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤ．ｂｇ、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）では、ＨＢＳＳ／マトリゲルに懸濁した１匹当たり３００万個の細胞を、０．２ｍＬの体積で胸部乳房脂肪体に播種した。腫瘍が１００～２５０ｍｍ^{3}の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を９群に分けた（各群当たり８～１０匹の動物）。マウスは、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭのＬ－ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、０．３ｍｇ／ｋｇ、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、０．３ｍｇ／ｋｇ、（６）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ、（７）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（８）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ、（９）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を１日目に受けた。試験期間中、腫瘍及び体重の測定を１週間に少なくとも１回行った。腫瘍が１０００～２０００ｍｍ^{3}に到達したとき、またはマウスがその体重の２０％以上を喪失した場合、マウスを安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５２０】

この実験の結果を表９及び図８に示す。１８日目のものであるビヒクル対照群及びチオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ群を除いて、表９では全ての群のデータが２２日目のものである。各群は、試験の最後に７匹のマウスを有していた群（６）を除いて、試験の開始時に８匹のマウス、及び最後に８匹のマウスを含んでいた。ＡＵ

Ｃ／日％ＴＧＩ（腫瘍成長阻害）、ＰＲ、及びＣＲを、前述の実施例に記載されるように決定した。実験に使用された各抗体－薬物複合体の薬物：抗体比（ＤＡＲ）は、２列目に示される。

実施例９：ＫＰＬ４乳癌細胞株異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

群	ＤＡＲ	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	ＰＲ	ＣＲ	ＢＷ変化％、最終日
（１）ビヒクル		１０８４	０（０，０）	０	０	－３．７３
（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、０．３ｍｇ／ｋｇ	１．８	８６７	４３（－１８，７５）	０	０	－３．９８
（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ	１．８	７３６	５９（１１，８３）	０	０	０．０１
（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．８	５１	１２７（１１５，１５１）	７	１	３．６１
（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、０．３ｍｇ／ｋｇ	１．９	１２３７	２１（－５９，６５）	０	０	－４．６７
（６）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、１ｍｇ／ｋｇ	１．９	７５２	４８（－１４，７８）	０	０	－４．６５
（７）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．９	６０	１３０（１１４，１５５）	７	０	１．７７
（８）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．４－２	８３１	３０（－４８，６６）	０	０	－９．４９

（９）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ、３ｍｇ／ｋｇ	１．９	１１５２	－５（－１００，５０）	０	０	－６．４６

【０５２１】

表９に示されるように、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵは、３ｍｇ／ｋｇで１部分奏功及び１完全奏功を示した。チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵは、３ｍｇ／ｋｇで７部分奏功を示した。

【０５２２】

実施例８：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＣＲＬ　ｎｕ／ｎｕマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）に、ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍の約２×２ｍｍ断片を移植した。腫瘍が１００～２５０ｍｍ^{3}の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を７つの群（１群当たり各８～１０匹を含む）に分けた。マウスは、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭのＬ－ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、２ｍｇ／ｋｇ、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、５ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、５ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）、２ｍｇ／ｋｇ、（６）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）、５ｍｇ／ｋｇ、または（７）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）、５ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を０日目に受けた。試験期間中、腫瘍及び体重の測定を１週間に少なくとも１回行った。腫瘍が１０００～２０００ｍｍ^{3}に到達したとき、またはマウスがその体重の２０％以上を喪失した場合、マウスを安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５２３】

この実験の結果を表１０及び図１７に示す。表１０のデータは、２１日目のものである。各群は、試験の最後に５匹のマウスを有していた群（１）、及び試験の最後に６匹のマウスを有していた群（４）を除いて、試験の開始時に７匹のマウス、及び最後に７匹のマウスを含んでいた。ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（腫瘍成長阻害）及びＰＲを、前述の実施例に記載されるように決定した。どのマウスも、この実験において完全奏功を示さなかった。実験に使用された各抗体－薬物複合体の薬物：抗体比（ＤＡＲ）は、２列目に示される。

表１０：ＭＭＴＶ－Ｈｅｒ２　Ｆｏ５トランスジェニック乳房腫瘍移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２　ＡＤＣの有効性

群	ＤＡＲ	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	ＰＲ	ＢＷ変化％、最終日
（１）ビヒクル		２１０９	０（０，０）	０	５．３６
（２）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、２ｍｇ／ｋｇ	１．４	８３	１０５（１００，１１１）	２	１．０２
（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、５ｍｇ／ｋｇ	１．４	７１	１０８（１０３，１０６）	４	０．８１
（４）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、５ｍｇ／ｋｇ	１．４	６３５	７５（３５，９２）	０	０．８２
（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）、２ｍｇ／ｋｇ	１．４－２	１６１	９８（８７，１０４）	１	０．６６
（６）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）、５ｍｇ／ｋｇ	１．４－２	６１	１０８（１０４，１１６）	７	２．５５

（７）チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）、５ｍｇ／ｋｇ	１．４－２	８２６	７０（２９，８８）	０	４．６２

【０５２４】

表１０に示されるように、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤは、２ｍｇ／ｋｇで２部分奏功及び５ｍｇ／ｋｇで４部分奏功を示した。チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）は、２ｍｇ／ｋｇで１部分奏功、及び５ｍｇ／ｋｇで７部分奏功を示した。

【０５２５】

実施例９：ＨＣＣ１５６９Ｘ２移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

ＨＣＣ１５６９ヒト乳癌細胞株を、ＡＴＣＣ（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ））から入手し、下位系ＨＣＣ１５６９Ｘ２を、マウスで最適に成長させるためにＧｅｎｅｎｔｅｃｈにおいて生成した。

【０５２６】

各雌Ｃ．Ｂ－１７ ＳＣＩＤ－ベージュマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）では、ＨＢＳＳ／マトリゲル（１：１の比率）に懸濁された５００万個のＨＣＣ１５６９Ｘ２細胞を、胸部乳房体領域に播種した。異種移植片腫瘍が１００～３００ｍｍ３（０日目）の平均腫瘍体積に到達したとき、動物を１群当たり７匹のマウスを含む７群にランダム化し、その動物は、静脈内尾静脈注入を介して、以下の治療薬、（１）ビヒクル（２０ｍＭのＬ－ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のＴｗｅｅｎ－２０、ｐＨ５．５）、（２）トラスツズマブ－ＭＣＣ－ＤＭ１（Ｔ－ＤＭ１、トラスツズマブエムタンシン、アド－トラスツズマブエムタンシン）、３ｍｇ／ｋｇ、（３）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、０．５ｍｇ／ｋｇ、（４）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ、（５）チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、２ｍｇ／ｋｇ、（６）Ｔ－ＤＭ１、３ｍｇ／ｋｇ、＋チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、０．５ｍｇ／ｋｇ、または（７）Ｔ－ＤＭ１、３ｍｇ／ｋｇ、＋チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇのうちの１つの単回投与を受けた。マウスの腫瘍及び体重を、試験を通して週１～２回測定した。体重喪失がそれらの出発体重の２０％を超えたとき、マウスを安楽死させた。腫瘍が３０００ｍｍ^{3}に到達するか、または切迫した潰瘍化の兆候を示す前に、全ての動物を安楽死させた。腫瘍体積を、カリパスを使用して２次元（長さ及び幅）で測定し、その腫瘍体積を、式：腫瘍サイズ（ｍｍ^3）＝（より大きい測定値×より小さい測定値^2）×０．５を使用して算出した。

【０５２７】

この実験の結果を表１１及び図１８に示す。表１１のデータは１４日目のものであり、全ての群は７匹のマウスを有する。

実施例１１：ＨＣＣ１５６９Ｘ２移植異種移植片モデルにおけるｈｕ７Ｃ２抗体薬物複合体の有効性

群	ＤＡＲ	腫瘍体積、最終日	ＡＵＣ／日％ＴＧＩ（下、上）	Ｂ　Ｗ　変化％、最終日
０１－ビヒクル		１２００	０（０，０）	５．１５
０２－Ｔ－ＤＭ１、３ｍｇ／ｋｇ	３．８	５０６	８４（４２，１０４）	４．９１
０３－チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、０．５ｍｇ／ｋｇ	１．９	３６４	７５（２８，９５）	５．６５
０４－チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	１．９	２１２	８７（５３，１０２）	５．２１
０５－チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、２ｍｇ／ｋｇ	１．９	９４	１０６（９１，１２３）	３．８５
０６－Ｔ－ＤＭ１、３ｍｇ／ｋｇ＋チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、０．５ｍｇ／ｋｇ	３．８ １．９	１４５	１０１（８２，１１８）	４．２
０７－Ｔ－ＤＭ１、３ｍｇ／ｋｇ＋チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ、１ｍｇ／ｋｇ	３．８ １．９	３３	１２２（１１０，１４６）	４．１８

【０５２８】

この試験において、チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤは、腫瘍成長の用量依存的阻害を明示し、２ｍｇ／ｋｇ用量で腫瘍退縮が観察された

。チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤとＴ－ＤＭ１を組み合わせると、いずれかの薬剤単独の場合よりも有効性がはるかに優れ、ビヒクル群と比較して、動物の体重の最小変化に基づいて耐容性が十分なものとなる。

【０５２９】

実施例１０：ＨＥＲ２に結合された７Ｃ２　Ｆａｂの結晶構造

方法

７Ｃ２／ＨＥＲ２複合体の発現、精製、及び結晶化－７Ｃ２　Ｆａｂは、大腸菌内で発現し、タンパク質Ｇセファロース親和性樹脂（ＧＥ）、ＳＰセファロース陽イオン交換クロマトグラフィー、及びサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）を使用して精製された。ＨＥＲ２細胞外ドメイン（ＥＣＤ）は、ＣＨＯ細胞内で発現され、制御された細孔ガラスビーズに結合されたトラスツズマブ抗体を使用する親和性クロマトグラフィーに続いて、ＤＥＡＥ陽イオン交換及びサイズ排除クロマトグラフィーによって精製された。

【０５３０】

Ｆａｂ　７Ｃ２とＨＥＲ２　ＥＣＤとの間の複合体を、ＳＥＣによって精製した。この複合体を、酵素（Ｅｎｄｏ　Ｆ１、Ｆ２、Ｆ３、Ｅｎｄｏ　Ｈ、及びＰＮＧａｓｅ）の組み合わせを使用して脱グリコシル化し、続いてＳＥＣによって０．１ＭのＮａＣｌ、２０ｍＭのＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．２、及び２％のグリセロールに精製した。複合体を結晶化して、１０ｍｇ／ｍＬで等量のタンパク質及び貯留槽（３０％のｖ／ｖのＰＥＧ５５０モノメチルエーテル、０．１Ｍのクエン酸ナトリウム三塩基性二水和物ｐＨ５．０）が使用して懸滴で１週間後に厚いプレートがもたらされ、貯留槽で短時間処理した後に液体窒素に浸漬させた。

【０５３１】

２．７Å分解能まで拡張する複合体の回折データを、ＳＳＲＬビームライン１１－１で約１１０Ｋで収集した。回折画像を統合し、プログラムＨＫＬ２０００及びＣＣＰ４スイートの要素を使用してスケールした。Ｗｉｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１，Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ　Ｄ．Ｂｉｏｌ．Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ．６７：２３５－４２を参照されたい。

【０５３２】

構造は、プログラムＰｈａｓｅｒを使用する分子置換（ＭＲ）によって解析した。ＭｃＣｏｙ　ｅｔ　ａｌ．，２００５，Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ　Ｄ．Ｂｉｏｌ．Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ．６１：４５８－６４を参照されたい。ＭＲサーチモデルは、ＨＥＲ２／Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ　Ｆａｂ複合体（ＰＤＢコード：１Ｎ８Ｚ）、Ｆａｂ定常ドメイン（ＰＤＢコード：１Ｎ８Ｚ）、及びプログラムＭｏｄｅｌｌｅｒによって生成される可変ドメインの予測モデルの結晶構造に由来するＨＥＲ２　ＥＣＤドメインを含む。Ｆｉｓｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，２００３，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．，３７４：４６１－９１を参照されたい。この構造を、プログラムＲＥＦＭＡＣ５（Ｍａｒｓｈｕｄｏｖ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１，Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ　Ｄ．Ｂｉｏｌ．Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ．６７：３５５－６７）及びＰＨＥＮＩＸ．ｒｅｆｉｎｅ（Ａｄａｍｓ　ｅｔ　ａｌ．，２０１０，Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ　Ｄ．Ｂｉｏｌ．Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ．６６（ｐｔ．２）：２１３－２１）を用いて、最大尤度標的関数、異方性の個別Ｂ因子、及びＴＬＳ精密化を使用して精密化した。データ及び精密化統計値を表１２に要約する。

表１２：ｘ線回折データ収集及び構造精密化の統計（括弧内の値は、最後の分解能シェルのものである）

データ収集	ＳＳＲＬ１１－１
空間群	$C222_1$
格子パラメータ（Å）	ａ＝１３６．８，ｂ＝１７１．９，ｃ＝１６２．５
分解能（Å）	５０－２．７５（２．８５－２．７５）
Ｒｓｙｍ	０．１１２（０．６８９）
観察の数	３１９１６９
固有の反射	４９０７８
冗長性	６．５（５．５）
完全性（％）	９８．８（９２．２）
＜｜＞／＜σ｜＞	２０（２．２）
Ｖｍ（A^3／Ｄａ）	４．２
精密化	
分解能（Å）	４８．３３－２．７５
反射の数	４９０５３
Ｒ、Ｒｆｒｅｅ	０．２３，０．２５
残渣の数	１０４７
水の数	１０９
原子の数	８０３９
ＲＭＳＤ結合（Å）	０．００７
ＲＭＳＤ角（°）	１．２
平均結合ΔＢ（$Å^2$）	５．５
ラマチャンドラン分析（％）	９３／６／１
ＴＬＳ群の数	３
＜Ｂ＞^{e}（$Å^2$）７Ｃ２／ＨＥＲ２	８８

【０５３３】

結果

７Ｃ２　Ｆａｂ／ＨＥＲ２複合体の結晶構造を、２．７５Å分解能で決定した。各非対称単位細胞は、１つのＦａｂ／ＨＥＲ２複合体を含有する。構造は、７Ｃ２　ＦａｂがＨＥＲ２　ＥＣＤのドメインＩに結合することを明らかにした（図１９Ａ）。結合エピトープは、以前に特徴付けられた、それぞれドメインＩＶ及びＩＩに位置する治療抗体トラスツズマブ（Ｔｍａｂ）またはペルツズマブ（Ｐｍａｂ）のＦａｂ断片とＨＥＲ２　ＥＣＤ

との複合体のものとは異なる。例えば、Ｃｈｏ　ｅｔ　ａｌ．，２００３，Ｎａｔｕｒｅ，４２１：７５６－６０、Ｅｉｇｅｎｂｒｏｔ　ｅｔ　ａｌ．，２０１０，ＰＮＡＳ，１０７：１５０３９－４４、及びＦｒａｎｋｌｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００４，Ｃａｎｅｒ　Ｃｅｌｌ，５：１７－２８を参照されたい。実際に、７Ｃ２　Ｆａｂ／ＨＥＲ２　ＥＣＤ複合体構造と、Ｔｍａｂ／ＨＥＲ２　ＥＣＤ複合体及びＰｍａｂ／ＨＥＲ２　ＥＣＤ複合体の構造とをオーバーレイすると、３つのＦａｂが、独立した非重複エピトープを有し、互いにＨＥＲ２への結合を空間的に干渉しないことが示される（図１９Ａ）。Ｔｍａｂ／ＨＥＲ２　ＥＣＤ複合体、Ｐｍａｂ／ＨＥＲ２　ＥＣＤ複合体、及び７Ｃ２　Ｆａｂ／ＨＥＲ２　ＥＣＤ複合体内でＨＥＲ２　ＥＣＤ構造を重ね合わせることにより、最小限の構造的相違が示された（図１９Ｂ）。この観察によって、ＨＥＲ２　ＥＣＤが比較的剛性であることを示唆されたが、このことは、文献内の以前の報告と一致する。例えば、Ｃｈｏ　ｅｔ　ａｌ．，２００３，Ｎａｔｕｒｅ，４２１：７５６－６０、Ｅｉｇｅｎｂｒｏｔ　ｅｔ　ａｌ．，２０１０，ＰＮＡＳ，１０７：１５０３９－４４、及びＦｒａｎｋｌｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００４，Ｃａｎｅｒ　Ｃｅｌｌ，５：１７－２８を参照されたい。

【０５３４】

７Ｃ２　Ｆａｂは、ＨＥＲ２ドメインＩ内のループ１６３～１７５及びループ１８５～１８９に結合する（すなわち、成熟ＨＥＲ２のアミノ酸１６３～１７５及び１８５～１８９、例えば、配列番号３９。ドメインＩは、配列番号３５に示される）。この結合は、界面の各側の溶媒にアクセス可能な表面領域の約１１６０Å^{2}を占める。疎水性、水素結合、及びイオン相互作用の複雑なネットワークが存在する。結合に関与するある特定の残基は、図１９Ｃに標識される。Ｈｉｓ１７１の側鎖は、重鎖Ｈｉｓ５２及びＡｓｐ５５と接触する。ＨＥＲ２残基Ｓｅｒ１８６、Ｓｅｒ１８７、及びＧｌｕ１８８は、重鎖のＤ１０２及び軽鎖の２つのＴｙｒ残基（Ｔｙｒ３６及びＴｙｒ５４）との水素結合を形成する。

【０５３５】

７Ｃ２結合エピトープは、以前に報告された抗ＨＥＲ２抗体、ｃｈＡ２１のものと部分的に重複する（図１９Ｄ）。Ｚｈｏｕ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１，ＪＢＣ，２８６：３１６７６－８３を参照されたい。両方のエピトープは、ドメインＩ（残基１６３～１８７）にループを含む。興味深いことに、残基Ｈｉｓ１７１は、両方の抗体との相互作用で役割を果たす。しかしながら、ｃｈＡ２１結合エピトープは、約１８２０Å^{2}の溶媒アクセス可能な表面積に及び、これは７Ｃ２エピトープよりも約６６０Å^{2}大きく、２つの追加のＮ末端ループ、残基１００～１０５、及び残基１３５～１４４を含む。

【０５３６】

上述の発明は、明確な理解を目的として、例示説明及び例により、ある程度詳細に記載されたが、これらの説明及び例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書で引用される全ての特許及び科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

配列表

名称	配列	配列番号
ヒトＨｅｒ２前駆体（ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ：Ｐ０４６２６．１）、ａａ１－２２シグナル配列、ａａ　２３－１２５５成熟Ｈｅｒ２	ＭＥＬＡＡＬＣＲＷＧ　ＬＬＬＡＬＬＰＰＧＡ　ＡＳＴＱ ＶＣＴＧＴＤ　ＭＫＬＲＬＰＡＳＰＥ　ＴＨＬＤＭＬＲＨ ＬＹ　ＱＧＣＱＶＶＱＧＮＬ　ＥＬＴＹＬＰＴＮＡＳ　Ｌ ＳＦＬＱＤＩＱＥＶ　ＱＧＹＶＬＩＡＨＮＱ　ＶＲＱＶＰ ＬＱＲＬＲ　ＩＶＲＧＴＱＬＦＥＤ　ＮＹＡＬＡＶＬＤＮ Ｇ　ＤＰＬＮＮＴＴＰＶＴ　ＧＡＳＰＧＧＬＲＥＬ　ＱＬ ＲＳＬＴＥＩＬＫ　ＧＧＶＬＩＱＲＮＰＱ　ＬＣＹＱＤＴ ＩＬＷＫ　ＤＩＦＨＫＮＮＱＬＡ　ＬＴＬＩＤＴＮＲＳＲ ＡＣＨＰＣＳＰＭＣＫ　ＧＳＲＣＷＧＥＳＳＥ　ＤＣＱＳ ＬＴＲＴＶＣ　ＡＧＧＣＡＲＣＫＧＰ　ＬＰＴＤＣＣＨＥ ＱＣ　ＡＡＧＣＴＧＰＫＨＳ　ＤＣＬＡＣＬＨＦＮＨ　Ｓ ＧＩＣＥＬＨＣＰＡ　ＬＶＴＹＮＴＤＴＦＥ　ＳＭＰＮＰ ＥＧＲＹＴ　ＦＧＡＳＣＶＴＡＣＰ　ＹＮＹＬＳＴＤＶＧ Ｓ　ＣＴＬＶＣＰＬＨＮＱ　ＥＶＴＡＥＤＧＴＱＲ　ＣＥ ＫＣＳＫＰＣＡＲ　ＶＣＹＧＬＧＭＥＨＬ　ＲＥＶＲＡＶ ＴＳＡＮ　ＩＱＥＦＡＧＣＫＫＩ　ＦＧＳＬＡＦＬＰＥＳ ＦＤＧＤＰＡＳＮＴＡ　ＰＬＱＰＥＱＬＱＶＦ　ＥＴＬＥ ＥＩＴＧＹＬ　ＹＩＳＡＷＰＤＳＬＰ　ＤＬＳＶＦＱＮＬ ＱＶ　ＩＲＧＲＩＬＨＮＧＡ　ＹＳＬＴＬＱＧＬＧＩ　Ｓ ＷＬＧＬＲＳＬＲＥ　ＬＧＳＧＬＡＬＩＨＨ　ＮＴＨＬＣ ＦＶＨＴＶ　ＰＷＤＱＬＦＲＮＰＨ　ＱＡＬＬＨＴＡＮＲ Ｐ　ＥＤＥＣＶＧＥＧＬＡ　ＣＨＱＬＣＡＲＧＨＣ　ＷＧ ＰＧＰＴＱＣＶＮ　ＣＳＱＦＬＲＧＱＥＣ　ＶＥＥＣＲＶ ＬＱＧＬ　ＰＲＥＹＶＮＡＲＨＣ　ＬＰＣＨＰＥＣＱＰＱ ＮＧＳＶＴＣＦＧＰＥ　ＡＤＱＣＶＡＣＡＨＹ　ＫＤＰＰ ＦＣＶＡＲＣ　ＰＳＧＶＫＰＤＬＳＹ　ＭＰＩＷＫＦＰＤ ＥＥ　ＧＡＣＱＰＣＰＩＮＣ　ＴＨＳＣＶＤＬＤＤＫ　Ｇ ＣＰＡＥＱＲＡＳＰ　ＬＴＳＩＩＳＡＶＶＧ　ＩＬＬＶＶ ＶＬＧＶＶ　ＦＧＩＬＩＫＲＲＱＱ　ＫＩＲＫＹＴＭＲＲ Ｌ　ＬＱＥＴＥＬＶＥＰＬ　ＴＰＳＧＡＭＰＮＱＡ　ＱＭ	１

	RILKETEL RKVKVLGSGA FGTVYK GIWI PDGENVKIPV AIKVLRENTS PKANKEILDE AYVMAGVGSP YVSR LLGICL TSTVQLVTQL MPYGCLLD HV RENRGRLGSQ DLLNWCMQIA K GMSYLEDVR LVHRDLAARN VLVKS PNHVK ITDFGLARLL DIDETEYHA D GGKVPIKWMA LESILRRRFT HQ SDVWSYGV TVWELMTFGA KPYDGI PARE IPDLLEKGER LPQPPICTID VYMIMVKCWM IDSECRPRFR ELVS EFSRMA RDPQRFVVIQ NEDLGPAS PL DSTFYRSLLE DDDMGDLVDA E EYLVPQQGF FCPDPAPGAG GMVHH RHRSS STRSGGGDLT LGLEPSEEE A PRSPLAPSEG AGSDVFDGDL GM GAAKGLQS LPTHDPSPLQ RYSEDP TVPL PSETDGYVAP LTCSPQPEYV NQPDVRPQPP SPREGPLPAA RPAG ATLERP KTLSPGKNGV VKDVFAFG GA VENPEYLTPQ GGAAPQPHPP P AFSPAFDNL YYWDQDPPER GAPPS TFKGT PTAENPEYLG LDVPV	

成熟ヒトHER２	TQVCTGTD MKLRLPASPE THLDML RHLY QGCQVVQGNL ELTYLPTNAS LSFLQDIQEV QGYVLIAHNQ VRQV PLQRLR IVRGTQLFED NYALAVLD NG DPLNNTTPVT GASPGGLREL Q LRSLTEILK GGVLIQRNPQ LCYQD TILWK DIFHKNNQLA LTLIDTNRS R ACHPCSPMCK GSRCWGESSE DC QSLTRTVC AGGCARCKGP LPTDCC HEQC AAGCTGPKHS DCLACLHFNH SGICELHCPA LVTYNTDTFE SMPN PEGRYT FGASCVTACP YNYLSTDV GS CTLVCPLHNQ EVTAEDGTQR C EKCSKPCAR VCYGLGMEHL REVRA VTSAN IQEFAGCKKI FGSLAFLPE S FDGDPASNTA PLQPEQLQVF ET LEEITGYL YISAWPDSLP DLSVFQ NLQV IRGRILHNGA YSLTLQGLGI SWLGLRSLRE LGSGLALIHH NTHL CFVHTV PWDQLFRNPH QALLHTAN RP EDECVGEGLA CHQLCARGHC W GPGPTQCVN CSQFLRGQEC VEECR VLQGL PREYVNARHC LPCHPECQP Q NGSVTCFGPE ADQCVACAHY KD PPFCVARC PSGVKPDLSY MPIWKF PDEE GACQPCPINC THSCVDLDDK GCPAEQRASP LTSIISAVVG ILLV VVLGVV FGILIKRRQQ KIRKYTMR RL LQETELVEPL TPSGAMPNQA Q MRILKETEL RKVKVLGSGA FGTVY KGIWI PDGENVKIPV AIKVLRENT S PKANKEILDE AYVMAGVGSP YV SRLLGICL TSTVQLVTQL MPYGCL	３９

10

20

30

40

	LDHV RENRGRLGSQ DLLNWCMQIA KGMSYLEDVR LVHRDLAARN VLVK SPNHVK ITDFGLARLL DIDETEYH AD GGKVPIKWMA LESILRRRFT H QSDVWSYGV TVWELMTFGA KPYDG IPARE IPDLLEKGER LPQPPICTI D VYMIMVKCWM IDSECRPRFR EL VSEFSRMA RDPQRFVVIQ NEDLGP ASPL DSTFYRSLLE DDDMGDLVDA EEYLVPQQGF FCPDPAPGAG GMVH HRHRSS STRSGGGDLT LGLEPSEE EA PRSPLAPSEG AGSDVFDGDL G MGAAKGLQS LPTHDPSPLQ RYSED PTVPL PSETDGYVAP LTCSPQPEY V NQPDVRPQPP SPREGPLPAA RP AGATLERP KTLSPGKNGV VKDVFA FGGA VENPEYLTPQ GGAAPQPHPP PAFSPAFDNL YYWDQDPPER GAPP STFKGT PTAENPEYLG LDVPV	
マウス７Ｃ２．Ｂ９（ｍｕ７Ｃ２）軽鎖可変領域	DIVLTQSPAS LVVSLGQRAT ISCR ASQSVS GSRFTYMHWY QQKPGQPP KL LIKYASILES GVPARFSGGG S GTDFTLNIH PVEEDDTATY YCQHS WEIPP WTFGGGTKLE IK	2
Ｍｕ７Ｃ２重鎖可変領域	QVQLQQPGAE LVRPGASVKL SCKA SGYSFT GYWMNWLKQR PGQGLEWI GM IHPSDSEIRA NQKFRDKATL T VDKSSTTAY MQLSSPTSED SAVYY CARGT YDGGFEYWGQ GTTLTVSS	3
Ｍｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｌ１	RASQSVSGSRFTYMH	4
Ｍｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｌ２	YASILES	5

Ｍｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｌ３	ＱＨＳＷＥＩＰＰＷＴ	６
Ｍｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｈ１	ＧＹＷＭＮ	７
Ｍｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｈ２	ＭＩＨＰＳＤＳＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ	８
Ｍｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｈ３	ＧＴＹＤＧＧＦＥＹ	９
ヒト化７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ（「ｈｕ７Ｃ２」）軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳＱＳＶＳ ＧＳＲＦＴＹＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ ＬＩＫＹＡＳＩＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＨＳＷＥＩＰＰ ＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥ ＩＫ	１０
Ｈｕ７Ｃ２重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧＹＳＦＴ ＧＹＷＭＮＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＭ ＩＨＰＬＤＡＥＩＲＡ ＮＱＫＦＲＤＲＶＴＩ ＴＶＤＴＳＴＳＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＴ ＹＤＧＧＦＥＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ	１１
Ｈｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｌ１	ＲＡＳＱＳＶＳＧＳＲＦＴＹＭＨ	１２
Ｈｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｌ２	ＹＡＳＩＬＥＳ	１３
Ｈｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｌ３	ＱＨＳＷＥＩＰＰＷＴ	１４
Ｈｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｈ１	ＧＹＷＭＮ	１５
Ｈｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｈ２（Ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．１．Ｓ５３Ｌ，Ｓ５５Ａ	ＭＩＨＰＬＤＡＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ	１６

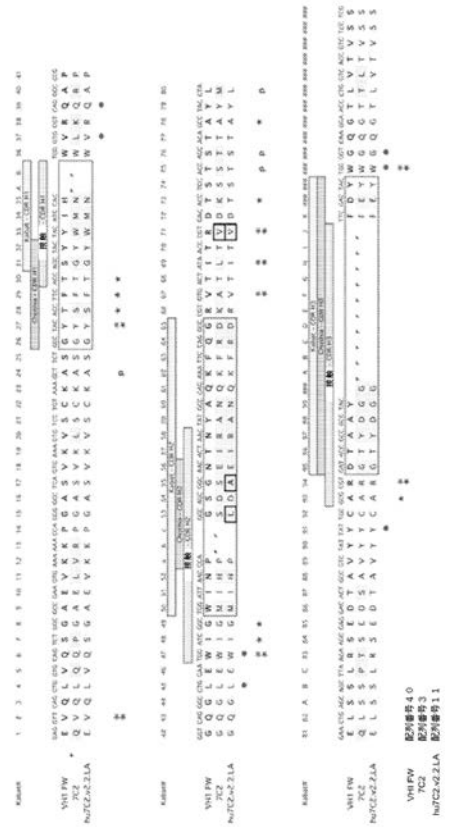
ＨＶＲ－Ｈ２）		
Ｈｕ７Ｃ２ＨＶＲ－Ｈ３	ＧＴＹＤＧＧＦＥＹ	１７
ヒト化７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ（ｈｕ７Ｃ２）κ軽鎖	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲ ＡＳＱＳＶＳ ＧＳＲＦＴＹＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰ ＫＬ ＬＩＫＹＡＳＩＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ Ｓ ＧＴＤＦＴＬＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＨＳ ＷＥＩＰＰ ＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥ ＩＫＲＴＶＡＡＰＳ Ｖ ＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬ ＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬ ＬＮ ＮＦＹＰＲＥＡＫ ＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱ ＳＧＮＳＱＥ ＳＶＴＥ ＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬ ＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤ ＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥ ＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶ ＴＫＳＦ ＮＲＧＥＣ	１８
Ｈｕ７Ｃ２ＩｇＧ１重鎖	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡ ＳＧＹＳＦＴ ＧＹＷＭＮＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩ ＧＭ ＩＨＰＬＤＡＥＩＲＡ ＮＱＫＦＲＤＲＶＴＩ Ｔ ＶＤＴＳＴＳＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹ ＣＡＲＧＴ ＹＤＧＧＦＥＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳＡ Ｓ ＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡ ＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴ ＡＡ ＬＧＣＬＶＫＤＹ ＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮ ＳＧＡＬＴＳ ＧＶＨＴ ＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬ ＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰ ＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩ ＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴ ＫＶＤＫ ＫＶＥＰＫＳ ＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣ ＰＡＰＥＬＬＧＧ ＰＳ ＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤ ＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶ Ｔ ＣＶＶＶＤＶＳＨＥ ＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶ ＤＧＶＥＶ ＨＮＡＫＴ ＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴ ＹＲＶＶＳＶＬＴＶ Ｌ ＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰ ＡＰ ＩＥＫＴＩＳＫＡ ＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹ ＴＬＰＰＳＲ ＥＥＭＴ ＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶ ＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶ ＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮ ＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤ ＳＤＧＳ ＦＦＬＹＳＫ ＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱ ＧＮＶＦＳＣＳＶ ＭＨ ＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫ ＳＬＳＬＳＰＧＫ	１９

Ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．１．Ｓ５３Ｍ ＨＶＲ－Ｈ２	ＭＩＨＰＭＤＳＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ	２０
Ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．１．Ｓ５３Ｌ ＨＶＲ－Ｈ２	ＭＩＨＰＬＤＳＥＩＲＡＮＱＫＦＲＤ	２１
Ｈｕ７Ｃ２．ｖ２．１．Ｅ１０１Ｋ ＨＶＲ－Ｈ３	ＧＴＹＤＧＧＦＫＹ	２２
ヒト化７Ｃ２．ｖ２．２．ＬＡ（ｈｕ７Ｃ２）Ｋ１４９Ｃ κ軽鎖	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲ ＡＳＱＳＶＳ ＧＳＲＦＴＹＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰ ＫＬ ＬＩＫＹＡＳＩＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ Ｓ ＧＴＤＦＴＬＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＨＳ ＷＥＩＰＰ ＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥ ＩＫＲＴＶＡＡＰＳ Ｖ ＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬ ＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬ ＬＮ ＮＦＹＰＲＥＡＫ ＶＱＷＣＶＤＮＡＬＱ ＳＧＮＳＱＥ ＳＶＴＥ ＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬ ＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤ ＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥ ＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶ ＴＫＳＦ ＮＲＧＥＣ	２３
Ｈｕ７Ｃ２Ａ１１８Ｃ ＩｇＧ１重鎖	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡ ＳＧＹＳＦＴ ＧＹＷＭＮＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩ ＧＭ ＩＨＰＬＤＡＥＩＲＡ ＮＱＫＦＲＤＲＶＴＩ Ｔ ＶＤＴＳＴＳＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹ ＣＡＲＧＴ ＹＤＧＧＦＥＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳＣ Ｓ ＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡ ＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴ ＡＡ ＬＧＣＬＶＫＤＹ ＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮ ＳＧＡＬＴＳ ＧＶＨＴ ＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬ ＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰ ＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩ ＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴ ＫＶＤＫ ＫＶＥＰＫＳ ＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣ ＰＡＰＥＬＬＧＧ ＰＳ ＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤ ＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶ Ｔ	２４

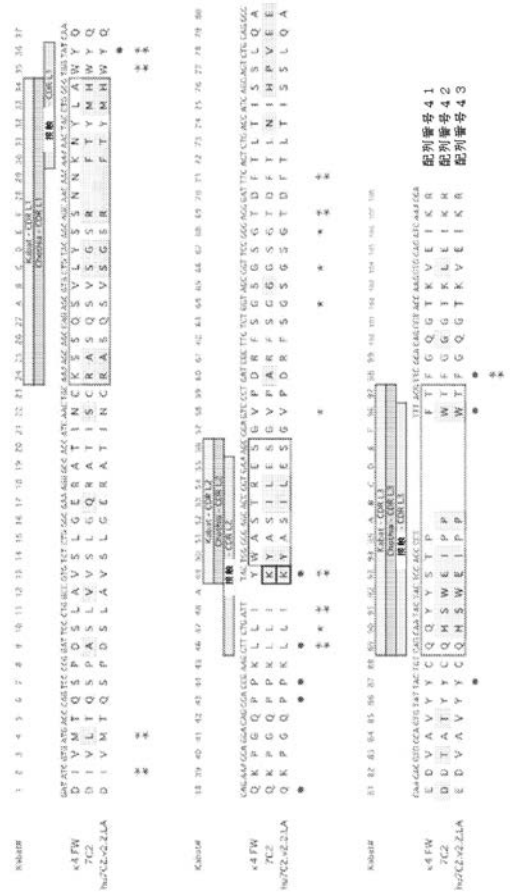
	CVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEV HNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTV L HQDWLNGKEY KCKVSNKALP AP IEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSR EEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGS FFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSV MH EALHNHYTQK SLSLSPGK	
V205Cシステイン操作された軽鎖定常領域（Igκ）	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASV VCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQS GN SQESVTEQDS KDSTYSLSST L TLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSS PCTKS FNRGEC	25
A118Cシステイン操作された重鎖定常領域（IgG1）	CSTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAA LGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTS GV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT V PSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVD KKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLG G PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EV TCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVE VHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAP IEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSR EE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI A VEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDG SFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCS V MHEALHNHYT QKSLSLSPGK	26
K149Cシステイン操作された軽鎖定常領域（Igκ）	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASV VCLLNN FYPREAKVQW CVDNALQS GN SQESVTEQDS KDSTYSLSST L TLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSS PVTKS FNRGEC	27

S４００Cシステイン操作された重鎖定常領域（ＩｇＧ１）	ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰ ＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧ ＧＴＡＡ ＬＧＣＬＶＫ ＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ ＷＮＳＧＡＬＴＳ ＧＶ ＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳ ＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴ Ｖ ＰＳＳＳＬＧＴＱＴ ＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳ ＮＴＫＶＤ ＫＫＶＥＰ ＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰ ＰＣＰＡＰＥＬＬＧ Ｇ ＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰ ＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰ ＥＶ ＴＣＶＶＶＤＶＳ ＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷ ＹＶＤＧＶＥ ＶＨＮＡ ＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮ ＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴ ＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫ ＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡ ＬＰＡＰ ＩＥＫＴＩＳ ＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱ ＶＹＴＬＰＰＳＲ ＥＥ ＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣ ＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩ Ａ ＶＥＷＥＳＮＧＱＰ ＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶ ＬＤＣＤＧ ＳＦＦＬＹ ＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷ ＱＱＧＮＶＦＳＣＳ Ｖ ＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴ ＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ	２８

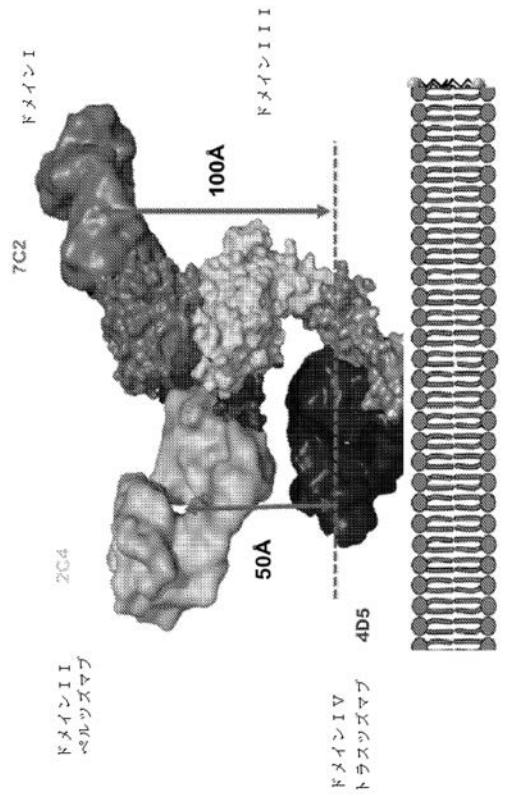
【図１】



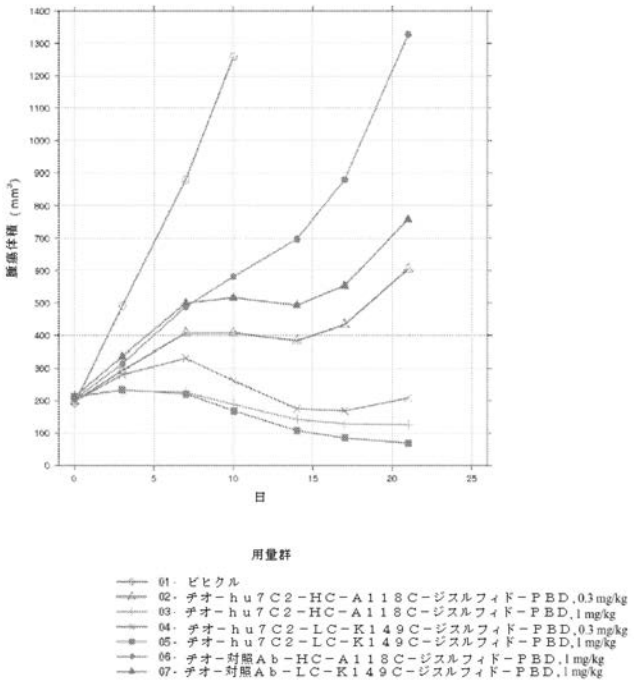
【図２】



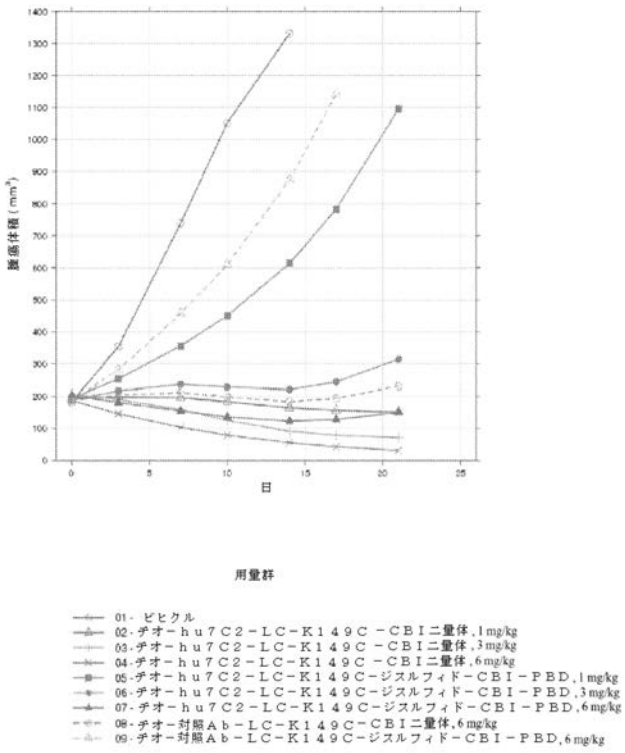
【図３】


ドメインＩ
ドメインＩＩＩ
100A
7C2
2C4
50A
4D5
ドメインＩＩ
ベルツズマブ
ドメインＩＶ
トラスツズマブ

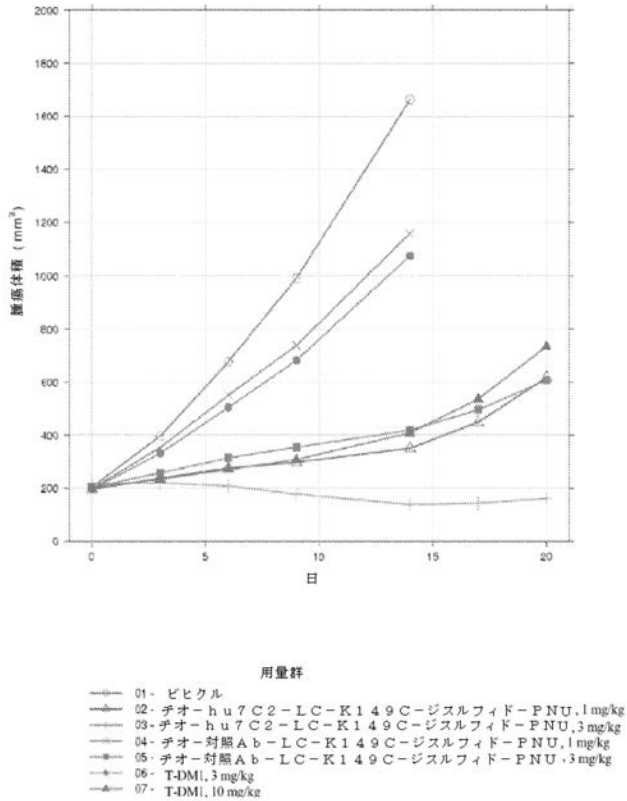
【図４】


腫瘍体積（mm³）
日
用量群
01・ビヒクル
02・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ，0.3 mg/kg
03・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ，1 mg/kg
04・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ，0.3 mg/kg
05・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ，1 mg/kg
06・チオ－対照Ａｂ－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ，1 mg/kg
07・チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ，1 mg/kg

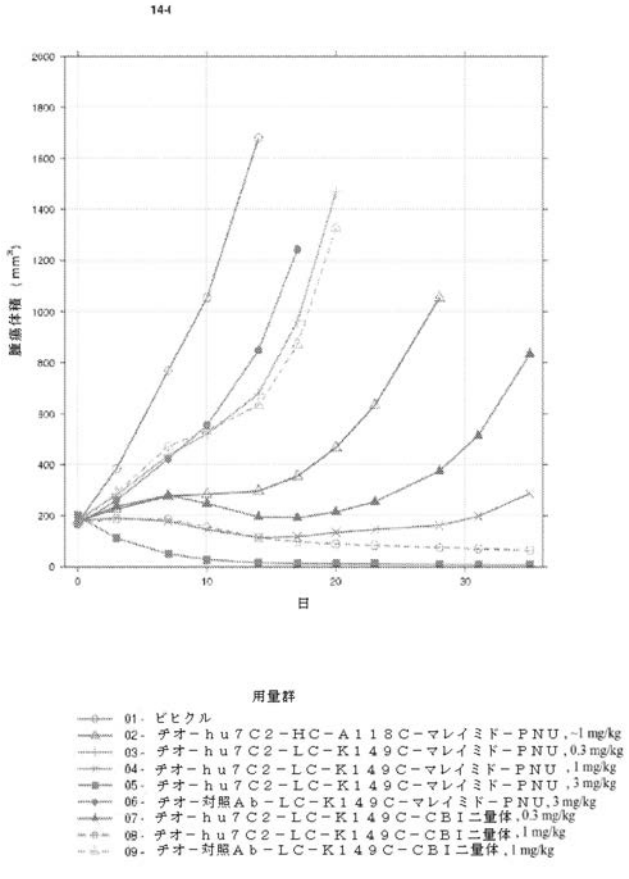
【図５】


腫瘍体積（mm³）
日
用量群
01・ビヒクル
02・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，1 mg/kg
03・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，3 mg/kg
04・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，6 mg/kg
05・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ，1 mg/kg
06・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ，3 mg/kg
07・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ，6 mg/kg
08・チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，6 mg/kg
09・チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ，6 mg/kg

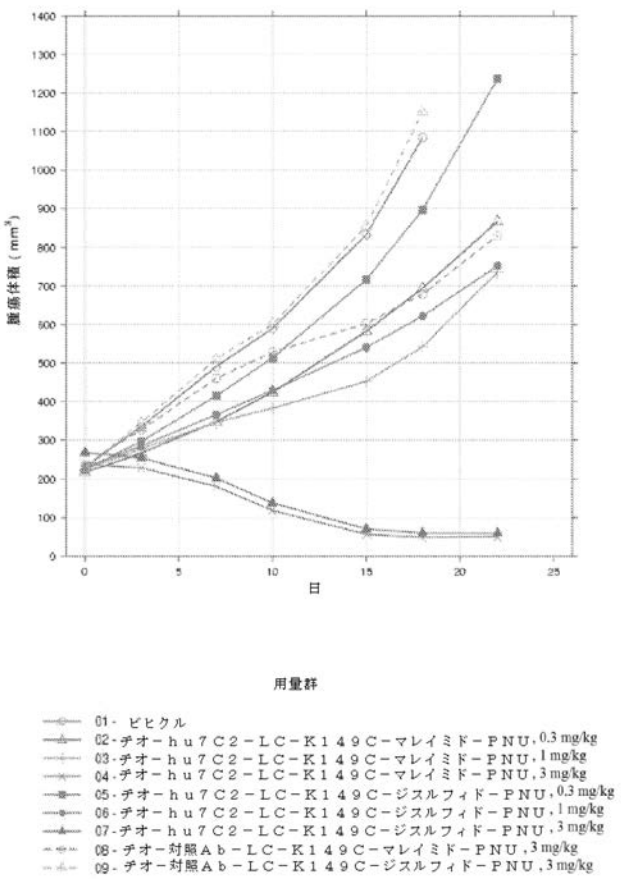
【図６】


腫瘍体積（mm³）
日
用量群
01・ビヒクル
02・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，1 mg/kg
03・チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，3 mg/kg
04・チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，1 mg/kg
05・チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，3 mg/kg
06・T-DM1，3 mg/kg
07・T-DM1，10 mg/kg

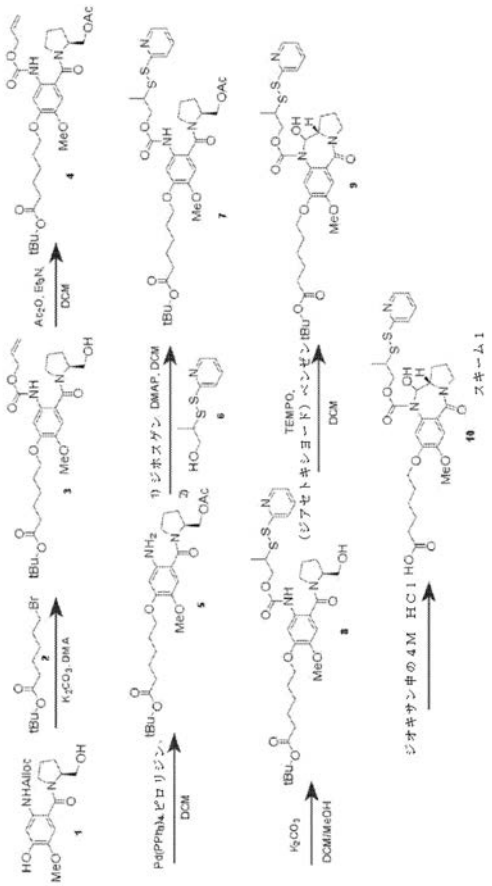
【図７】


腫瘍体積（mm³）
日
用量群
01- ビヒクル
02- チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，~1 mg/kg
03- チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，0.3 mg/kg
04- チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，1 mg/kg
05- チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，3 mg/kg
06- チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，3 mg/kg
07- チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，0.3 mg/kg
08- チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，1 mg/kg
09- チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体，1 mg/kg

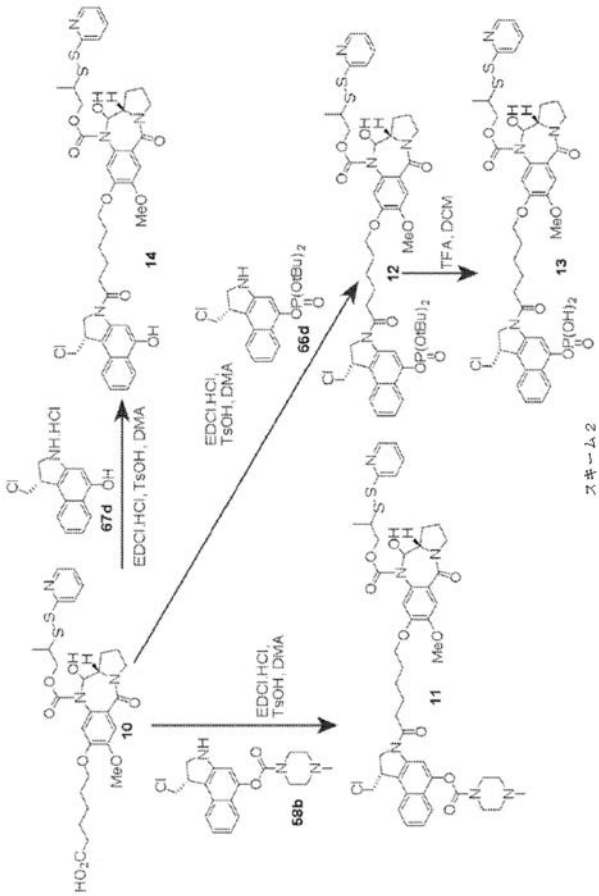
【図８】


腫瘍体積（mm³）
日
用量群
01- ビヒクル
02-チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，0.3 mg/kg
03-チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，1 mg/kg
04-チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，3 mg/kg
05-チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，0.3 mg/kg
06-チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，1 mg/kg
07-チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，3 mg/kg
08-チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ，3 mg/kg
09-チオ－対照Ａｂ－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ，3 mg/kg

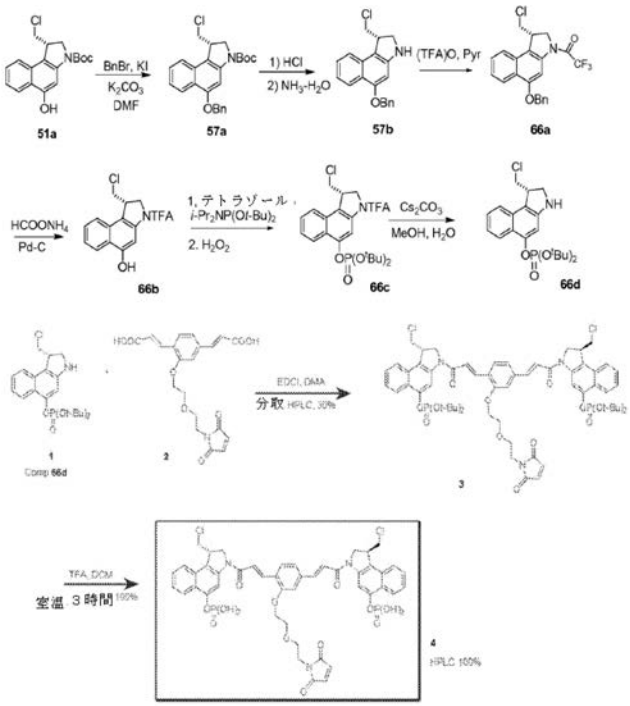
【図９】


Ac2O, Et3N
DCM
K2CO3, DMA
リジボスゲン, DMAP, DCM
Pd(PPh3)4, ピロリジン
DCM
TEMPO, (ジアセトキシヨード) ベンゼン
DCM
K2CO3
DCM/MeOH
ジオキサン中の4M HCl
スキーム1

【図１０】

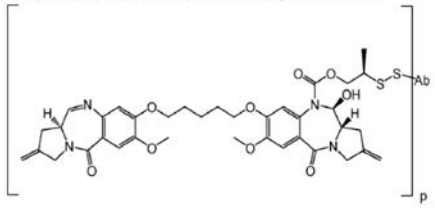

EDCI.HCl, TsOH, DMA
TFA, DCM
スキーム2

【図１１】



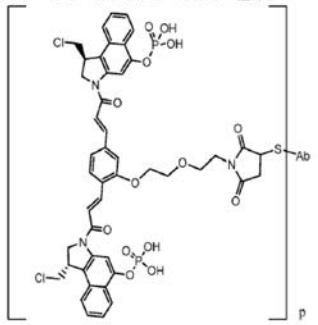
【図１２Ａ】

チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ及びチオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＢＤ



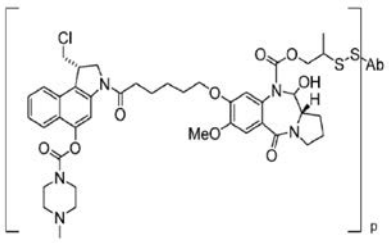
【図１２Ｂ】

チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ＣＢＩ二量体



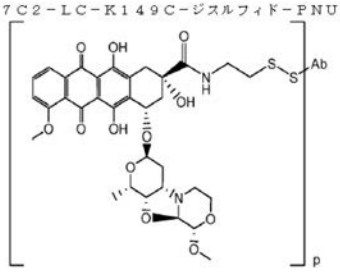
【図１２Ｃ】

チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ



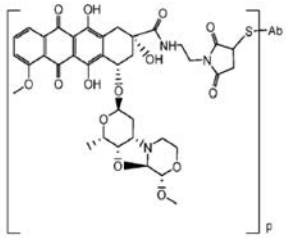
【図１２Ｄ】

チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＰＮＵ



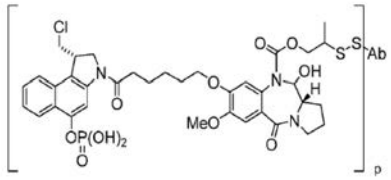
【図１２Ｅ】

チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＨＣ－Ａ１１８Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ及びチオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－マレイミド－ＰＮＵ

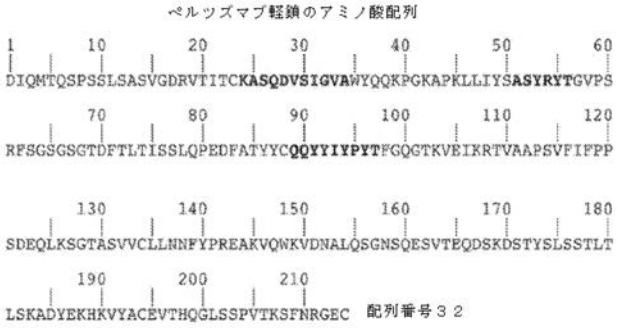


【図１２Ｆ】

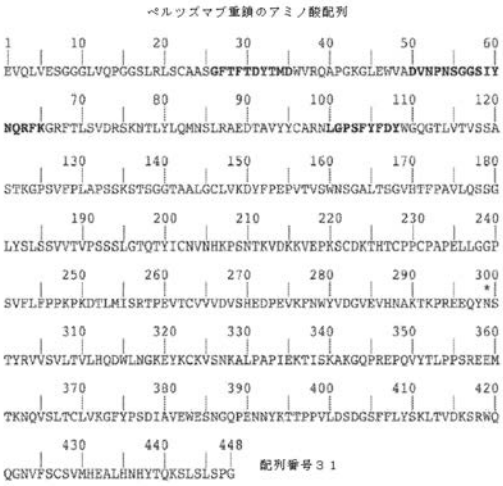
チオ－ｈｕ７Ｃ２－ＬＣ－Ｋ１４９Ｃ－ジスルフィド－ＣＢＩ－ＰＢＤ（リン酸塩）



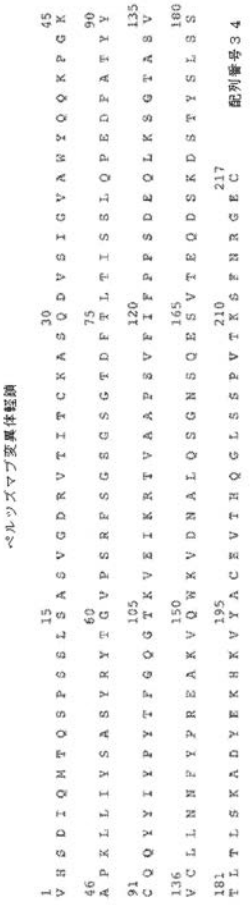
【図１３Ａ】



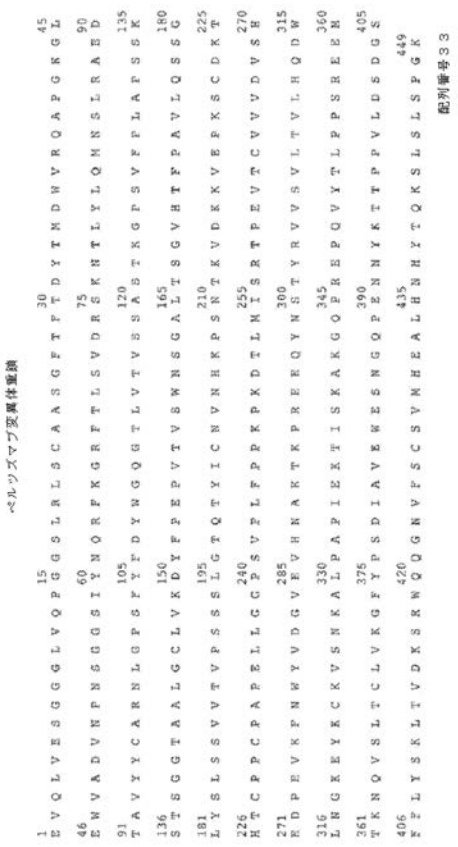
【図１３Ｂ】



【図１４Ａ】

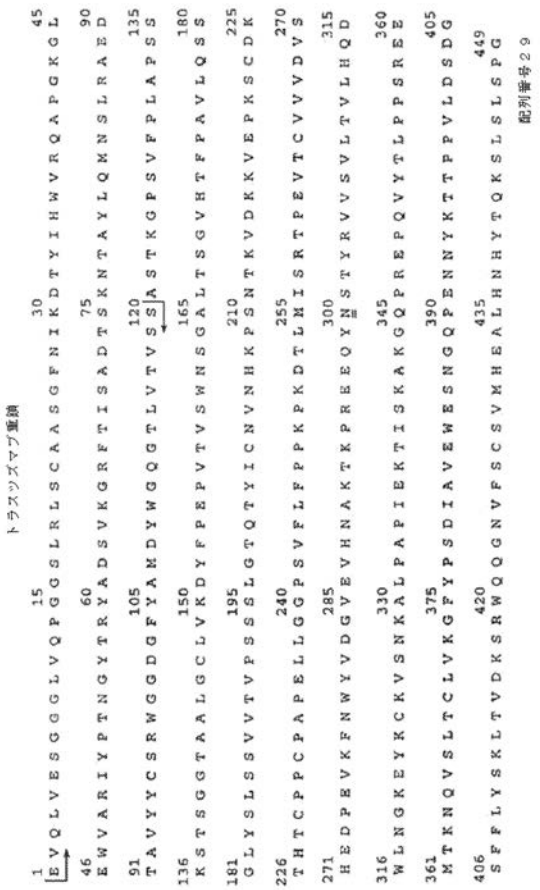


【図１４Ｂ】



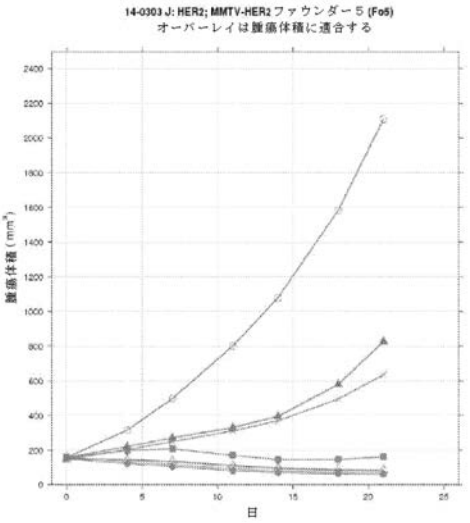
【図１５Ａ】

【図１５Ｂ】

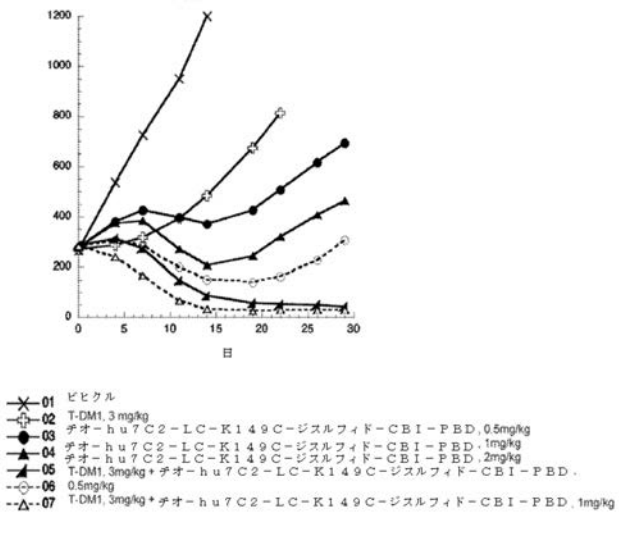


【図１６】

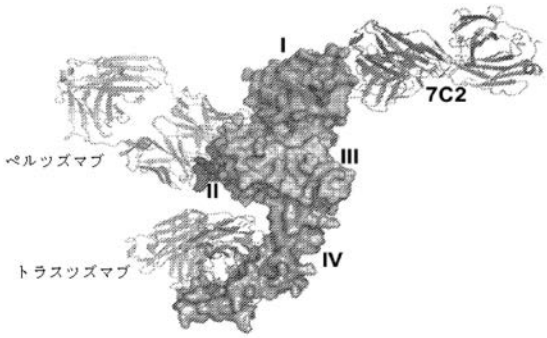
【図１７】



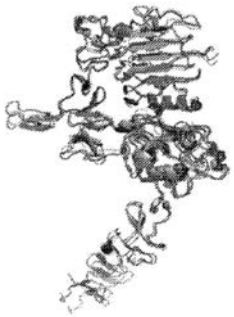
【図１８】



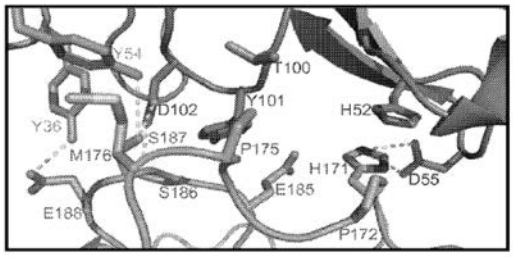
【図１９Ａ】



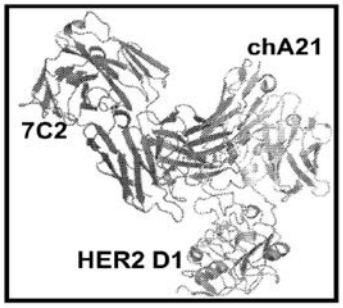
【図１９Ｂ】



【図１９Ｃ】



【図１９Ｄ】



【配列表】
2017534253000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/049549

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/48 C07K16/32 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013/195845 A1 (FENDLY BRIAN M [US] ET AL) 1 August 2013 (2013-08-01) paragraph [0134] - paragraph [0138] paragraphs [0231], [0251], [0276]; claims 42-51; examples 4,1	1-76
X	WO 98/17797 A1 (GENENTECH INC [US]; UNIV TEXAS [US]) 30 April 1998 (1998-04-30) page 37, line 30; examples 1,4 page 24, line 21 - page 25, paragraph 13 page 39, line 26 - line 29	1-76
X	US 2005/208043 A1 (ADAMS CAMELLIA W [US] ET AL) 22 September 2005 (2005-09-22) paragraph [0342]; examples 5-10; table 3	1-76

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
7 December 2015	16/12/2015

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Siaterli, Maria

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/049549

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 540 745 A1 (SHANGHAI BIOMABS PHARMACEUTICALS CO LTD [CN]) 2 January 2013 (2013-01-02) paragraphs [0005], [0026], [0028]	1-76

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2015/049549

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2013195845 A1	01-08-2013	US 7371376 B1	13-05-2008
		US 2008112957 A1	15-05-2008
		US 2011033460 A1	10-02-2011
		US 2013195845 A1	01-08-2013
		US 2015252113 A1	10-09-2015
WO 9817797 A1	30-04-1998	AU 4982097 A	15-05-1998
		BR 9712410 A	19-10-1999
		CA 2269204 A1	30-04-1998
		CN 1234072 A	03-11-1999
		CN 101412758 A	22-04-2009
		EP 0931147 A1	28-07-1999
		EP 1106183 A2	13-06-2001
		EP 1695986 A2	30-08-2006
		IL 129354 A	15-06-2009
		JP 2001302540 A	31-10-2001
		JP 2001504326 A	03-04-2001
		JP 2008188013 A	21-08-2008
		JP 2009095339 A	07-05-2009
		JP 2009189371 A	27-08-2009
		JP 2010222375 A	07-10-2010
		KR 20000049261 A	25-07-2000
		KR 20060079258 A	05-07-2006
		NZ 509480 A	27-05-2005
		NZ 519191 A	29-04-2005
		TR 9901615 T2	22-11-1999
		WO 9817797 A1	30-04-1998
		ZA 9709185 A	14-04-1999
US 2005208043 A1	22-09-2005	US 6949245 B1	27-09-2005
		US 2005208043 A1	22-09-2005
		US 2005238640 A1	27-10-2005
		US 2006034842 A1	16-02-2006
		US 2006073143 A1	06-04-2006
		US 2006193854 A1	31-08-2006
		US 2006198843 A1	07-09-2006
		US 2006216285 A1	28-09-2006
		US 2011129464 A1	02-06-2011
EP 2540745 A1	02-01-2013	CA 2790007 A1	01-09-2011
		CN 102167742 A	31-08-2011
		EP 2540745 A1	02-01-2013
		JP 5690356 B2	25-03-2015
		JP 2013520180 A	06-06-2013
		US 2012309942 A1	06-12-2012
		WO 2011103700 A1	01-09-2011

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*35/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/04		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｋ	*38/05*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/05		
Ａ６１Ｋ	*31/537*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/537		
Ａ６１Ｋ	*31/7036*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7036		
Ａ６１Ｋ	*31/5517*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/5517		
Ａ６１Ｋ	*31/706*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/706		
Ａ６１Ｋ	*31/661*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/661		
Ａ６１Ｋ	*39/395*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｃ	
Ａ６１Ｋ	*47/68*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｌ	
Ａ６１Ｋ	*31/404*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｅ	
Ｇ０１Ｎ	*33/53*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ	
Ｇ０１Ｎ	*33/534*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/68		
Ｇ０１Ｎ	*33/574*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/404		
			Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｄ	
			Ｇ０１Ｎ	33/534		
			Ｇ０１Ｎ	33/574	Ａ	

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＵＮＩＸ

(72)発明者 ジャヌトゥラ, ジャガス レディ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 フィリップス, ゲイル ルイス
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 ピロー, トーマス ハーデン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 スリウコフスキー, マーク, エックス.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １

Ｆターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 CE12 DA01 DA14
4C076 AA95 CC27 EE41 EE59 FF68
4C084 AA01 AA02 AA19 BA01 BA10 BA14 BA23 CA59 DA27 MA02
NA05 NA13 ZB261 ZB262 ZC751
4C085 AA13 AA14 AA16 AA26 BB36 CC22 CC23 EE01 EE03

4C086 AA01 AA02 BC10 CB11 CB22 DA38 EA08 EA11 MA01 MA02
MA04 NA05 NA13 ZB26 ZC75
4H045 AA11 AA20 AA30 BA71 BA72 CA40 DA76 EA20 EA51 FA74
GA26

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2017534253A5	公开(公告)日	2018-10-25
申请号	JP2017513637	申请日	2015-09-11
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	チェンシャオチョン デニスマーク ジャヌトゥラジャガスレディ フィリップスゲイルルイス ピロートーマスハーデン スリウコフスキーマークエックス		
发明人	チェン, シャオチョン デニス, マーク ジャヌトゥラ, ジャガス レディ フィリップス, ゲイル ルイス ピロー, トーマス ハーデン スリウコフスキー, マーク, エックス.		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/30 C07K16/28 C12P21/08 A61P35/00 A61P35/04 A61P43/00 A61K45/00 A61K38/05 A61K31/537 A61K31/7036 A61K31/5517 A61K31/706 A61K31/661 A61K39/395 A61K47/68 A61K31/404 G01N33/53 G01N33/534 G01N33/574		
CPC分类号	A61K39/3955 C07K16/2863 C07K16/32 C07K2317/24 C07K2317/34 C07K2317/51 C07K2317/515 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/73 C07K2317/92 G01N33/57415 G01N33/57446 G01N2333/82 A61K31/5517 A61K31/675 A61K31/704 A61K47/68 A61K47/6809 A61K47/6849 A61K47/6855 A61K47/6863 A61K49/00 C07K16/3015 G01N33/57492		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/30 C07K16/28 C12P21/08 A61P35/00 A61P35/04 A61P43/00.121 A61K45/00 A61K38/05 A61K31/537 A61K31/7036 A61K31/5517 A61K31/706 A61K31/661 A61K39/395.C A61K39/395.L A61K39/395.E A61K39/395.T A61K47/68 A61K31/404 G01N33/53.D G01N33/534 G01N33/574.A		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA14 4C076/AA95 4C076/CC27 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF68 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/BA01 4C084/BA10 4C084/BA14 4C084/BA23 4C084/CA59 4C084/DA27 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA13 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZC751 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/AA26 4C085/BB36 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE03 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC10 4C086/CB11 4C086/CB22 4C086/DA38 4C086/EA08 4C086/EA11 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA13 4C086/ZB26 4C086/ZC75 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA71 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA51 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	62/049594 2014-09-12 US		
其他公开文献	JP2017534253A		

摘要(译)

本公开内容提供了抗HER2抗体和免疫缀合物，及其使用方法。 点域