(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4619651号
(P4619651)

(45)発行日　平成23年1月26日(2011.1.26)　(24)登録日　平成22年11月5日(2010.11.5)

(51)Int.Cl.		F I		
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	ZNA
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08	
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	L
A61K 51/00	(2006.01)	A61K	39/395	T

請求項の数 52　(全 181 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2003-502017 (P2003-502017)
(86)(22)出願日	平成14年5月30日 (2002.5.30)
(65)公表番号	特表2004-532639 (P2004-532639A)
(43)公表日	平成16年10月28日 (2004.10.28)
(86)国際出願番号	PCT/US2002/017068
(87)国際公開番号	WO2002/098897
(87)国際公開日	平成14年12月12日 (2002.12.12)
審査請求日	平成17年5月24日 (2005.5.24)
(31)優先権主張番号	60/295,214
(32)優先日	平成13年6月1日 (2001.6.1)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	60/323,585
(32)優先日	平成13年9月20日 (2001.9.20)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　592035453
コーネル・リサーチ・ファンデーション・インコーポレイテッド
CORNELL RESEARCH FOUNDATION, INCORPORATED
アメリカ合衆国 ニューヨーク 14850, イサカ, パイン ツリー ロード 395, スイート 310
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100089705
弁理士　社本　一夫
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰

最終頁に続く

(54)【発明の名称】前立腺特異的膜抗原に対する修飾抗体およびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

配列番号：２２として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部及び

配列番号：２１として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部

を含む、抗前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２】

抗体又はその抗原結合断片が２個の重鎖及び２個の軽鎖を含む、請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３】

抗体がさらに、ヒトアイソタイプＩｇＧ１の重鎖定常部を含む、請求項１または２に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項４】

抗体又はその抗原結合断片が細胞傷害性部分にカップリングする、請求項１～３のいずれかに記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項５】

抗体又はその抗原結合部分が、キレート化剤又はリンカーによって細胞傷害性部分にカップリングする、請求項１～４のいずれかに記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項６】

該キレート化剤が１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）である、請求項５記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項７】
該リンカーがＮ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルジチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）である、請求項５記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項８】
該細胞傷害性部分が、放射線を放射する化合物、植物由来、真菌由来若しくは細菌由来の分子、及び生物学的タンパク質からなる群から選択される、請求項４～７のいずれかに記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９】
該細胞傷害性部分が細菌由来の分子である、請求項８記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１０】
放射線を放射する該化合物が、α－放射体、β－放射体、γ－放射体、又はβ－及びγ－放射体である、請求項８記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１１】
放射線を放射する該化合物が、ヨウ素（^{131}Ｉ）、ヨウ素（^{125}Ｉ）、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、プラセオジミウム、ビスマス（^{212}Ｂｉ）、ビスマス（^{213}Ｂｉ）、アスタチン（^{211}Ａｔ）、レニウム（^{186}Ｒｅ）、及びロジウム（^{188}Ｒｈ）から成る群から選択される、請求項８記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１２】
放射線を放射する該化合物が、イットリウム（^{90}Ｙ）又はルテチウム（^{177}Ｌｕ）である、請求項８記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１３】
該細胞傷害性部分がメイタンシノイドである、請求項８記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１４】
該メイタンシノイドがメイタンシノール又はメイタンシノール類似体である、請求項１３記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１５】
該メイタンシノイドがＤＭ１である、請求項１３記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１６】
該細胞傷害性部分が、イットリウム（^{90}Ｙ）及びルテチウム（^{177}Ｌｕ）から成る群から選択される放射性同位体である、請求項６記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１７】
該細胞傷害性部分がメイタンシノイドである、請求項７記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１８】
該メイタンシノイドがメイタンシノール又はメイタンシノール類似体である、請求項１７記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１９】
該メイタンシノイドがＤＭ１である、請求項１７記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２０】
該細胞傷害性部分が、細胞毒素、治療剤又は放射性同位体である、請求項４～７のいずれかに記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２１】
該放射性同位体がα－放射体、β－放射体、γ－放射体、又はβ－及びγ－放射体である、請求項２０記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２２】
請求項１～２１のいずれかに記載の抗ＰＳＭＡ抗体又はその抗原結合断片をコードするヌクレオチド配列を有する核酸。

【請求項２３】
抗ＰＳＭＡ抗体又はその抗原結合断片の製造方法であって、
配列番号：２５の核酸残基２６１～５８１として示されるヌクレオチド配列
を含む第１核酸を用意する工程；
配列番号：２３の核酸残基２６１～６０５として示されるヌクレオチド配列
を含む第２核酸を用意する工程；並びに
請求項１に記載の軽鎖可変部及び重鎖可変部の発現及びアッセンブリーを可能にする条件下で、前記第１核酸及び第２核酸を宿主細胞中に導入する工程
を含む方法。
【請求項２４】
第１核酸及び第２核酸が連結される、請求項２３記載の方法。
【請求項２５】
第１核酸及び第２核酸が連結されない、請求項２３記載の方法。
【請求項２６】
該宿主細胞が真核細胞又は原核細胞である、請求項２３記載の方法。
【請求項２７】
該宿主細胞が哺乳動物細胞である、請求項２３記載の方法。
【請求項２８】
該哺乳動物細胞がＣＨＯ細胞である、請求項２３記載の方法。
【請求項２９】
対象における前立腺癌を治療するための薬剤組成物であって、
請求項１～２１のいずれかに記載の抗前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）抗体又はその抗原結合断片の、前立腺癌が治療されるような有効量を含む薬剤組成物。
【請求項３０】
１種類以上の免疫調節剤と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項２９に記載の薬剤組成物。
【請求項３１】
該免疫調節剤が、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１２、インターフェロンα、インターフェロンγ、ＧＭ－ＣＳＦ及びＧＣＳＦから成る群から選択される、請求項３０記載の薬剤組成物。
【請求項３２】
１種類以上の付加的な治療様式と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項２９に記載の薬剤組成物。
【請求項３３】
該付加的な治療様式が、組織の部分的若しくは根治的除去、放射線療法、ホルモン療法、アンドロゲン除去療法及び細胞傷害性化学療法の１種類以上である、請求項３２記載の薬剤組成物。
【請求項３４】
該対象が、１種類以上の既存治療様式によって治療されている、請求項２９に記載の薬剤組成物。
【請求項３５】
該既存治療様式が、組織の部分的若しくは根治的除去、放射線療法、ホルモン療法、アンドロゲン除去療法及び細胞傷害性化学療法の１種類以上である、請求項３４記載の薬剤組成物。
【請求項３６】
細胞傷害性剤と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項２９に記載の薬剤組成物。
【請求項３７】
該細胞傷害性剤が、代謝拮抗剤、アルキル化剤、アントラサイクリン及び細胞分裂抑制剤から成る群から選択される、請求項３６記載の薬剤組成物。

【請求項３８】
該細胞傷害性剤が、タキソール、サイトカラシンＢ、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルチシン、テノポシド、メイタンシノイド、マイトマイシン、エトポシド、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、シスプラチン及びアクチノマイシンＤ、シクロホスファミド、ブスルファン、１－デヒドロテストステロン、ストレプトゾトシン、ジブロモマンニトール、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、プロマイシン、グラミシジンＤ、エチジウムブロミド、エメチン並びにジヒドロキシアントラシンジオンから成る群から選択される、請求項３６記載の薬剤組成物。
【請求項３９】
該細胞傷害性剤が、ビンブラスチン、ミトキサントロン及びエストラムスチンから成る群から選択される、請求項３６記載の薬剤組成物。
【請求項４０】
前立腺癌を有する又は前立腺癌と診断された対象によって経験される痛覚の治療用薬剤組成物であって、請求項１～２１のいずれかに記載の抗ＰＳＭＡ抗体又はその抗原結合断片を、前立腺癌に関連した痛覚を治療するために充分な量で含む薬剤組成物。
【請求項４１】
ＰＳＭＡ発現腫瘍のｉｎ　ｖｉｖｏイメージング用薬剤組成物であって、該イメージングが：（ｉ）検出可能に標識した形で、請求項１～３のいずれかに記載した抗ＰＳＭＡ抗体又はその抗原結合断片を、抗ＰＳＭＡ抗体又はその抗原結合断片とＰＳＭＡタンパク質との相互作用が生じるのを可能にする条件下で対象に投与する工程；及び（ｉｉ）抗ＰＳＭＡ抗体又はその断片とＰＳＭＡとの間の複合体の形成を検出する工程を含み、基準に比べて、該対象における該複合体形成の統計的に有意な変化が、ＰＳＭＡの存在を示す薬剤組成物。
【請求項４２】
該標識が、放射線を放射する化合物である、請求項４１記載の薬剤組成物。
【請求項４３】
放射線を放射する該化合物が、α－放射体、β－放射体、γ－放射体、又はβ－及びγ－放射体である、請求項４２記載の薬剤組成物。
【請求項４４】
放射線を放射する該化合物が、ヨウ素（^{131}Ｉ）、ヨウ素（^{125}Ｉ）、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、プラセオジミウム、ビスマス（^{212}Ｂｉ）、ビスマス（^{213}Ｂｉ）、アスタチン（^{211}Ａｔ）、レニウム（^{186}Ｒｅ）、ロジウム（^{188}Ｒｈ）、インジウム（^{111}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}ｍＴｃ）、リン（^{32}Ｐ）、炭素（^{14}Ｃ）及びトリチウム（^{3}Ｈ）から成る群から選択される、請求項４２記載の薬剤組成物。
【請求項４５】
放射線を放射する該化合物が、イットリウム（^{90}Ｙ）又はルテチウム（^{177}Ｌｕ）である、請求項４２記載の薬剤組成物。
【請求項４６】
放射線を放射する該化合物が、インジウム（^{111}Ｉｎ）である、請求項４２記載の薬剤組成物。
【請求項４７】
該抗ＰＳＭＡ抗体又はその断片が、キレート化剤によって該標識にカップリングされる、請求項４１～４６のいずれかに記載の薬剤組成物。
【請求項４８】
該キレート化剤が、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）である、請求項４７記載の薬剤組成物。
【請求項４９】
該標識が、イットリウム（^{90}Ｙ）又はルテチウム（^{177}Ｌｕ）である、請求項４８

記載の薬剤組成物。
【請求項５０】
前立腺癌の診断用薬剤組成物であって、該診断が：（ｉ）該癌を有する、又は該癌を有する危険がある対象を同定する段階；（ｉｉ）該癌に罹患した組織又は細胞のサンプルを入手する段階；（ｉｉｉ）前記サンプル又は対照サンプルを、請求項１～３のいずれかに記載した抗ＰＳＭＡ抗体又はその抗原結合断片と、抗ＰＳＭＡ抗体又はその断片とＰＳＭＡタンパク質との相互作用が生じるのを可能にする条件下で接触させる段階；及び（ｉｖ）複合体の形成を検出する段階を含み、該対照サンプルに比べて、抗ＰＳＭＡ抗体又はその断片の複合体形成の統計的に有意な増加が該癌を示す薬剤組成物。
【請求項５１】
請求項１～２１のいずれかに記載の抗ＰＳＭＡ抗体又はその断片、及び使用説明書を含むキット。
【請求項５２】
請求項１～２１のいずれかに記載の抗ＰＳＭＡ抗体を含む、前立腺癌治療用薬剤組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（関連出願）
本出願は、米国仮出願第６０／２９５，２１４号、２００１年６月１日出願、第６０／３２３，５８５号、２００１年９月２０日出願、および第６０／３６２，８１０号、２００２年３月８日出願に優先権を請求し、これらのすべての内容が本明細書に援用される。本発明は、米国防総省助成金番号ＤＡＭＤ１７－９８－１－８５９４のもとに、米国政府と共に行った。米国政府は、本発明に特定の権利を有する。
【０００２】
（発明の分野）
本発明は、ヒト前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）の細胞外ドメインに対する抗体、例えば修飾抗体、例えば脱免疫（ｄｅｉｍｍｕｎｉｚｅｄ）抗体に関し、そして前立腺障害および癌を治療し、防止し、そして診断する際のその使用に関する。
【０００３】
（発明の背景）
前立腺癌は、米国男性において、癌での最も一般的な死因の１つである。１９９９年、およそ１８５，０００の新たな症例が診断され、そしてこの疾患で３７，５００人が死亡した（ＮＣＩ　ＳＥＥＲデータ）。これは、男性で診断される癌すべての約４０％を占める。１９９０年に米国に生まれた男性が、生涯で、臨床的に明らかな前立腺癌と診断される可能性は、およそ８分の１である。発生が近年増加する前であっても、前立腺癌は、男性において、最も蔓延している癌であった（Ｆｅｌｄｍａｎ，　Ａ．Ｒ．ら　（１９８６）　ＮＥＪＭ　３１５：１３９４－７）。
【０００４】
現在、前立腺癌がひとたび転移したならば（前立腺を超えて広がったならば）、該癌には、非常に限定された治療しかない。現在、全身療法は、多様な型のアンドロゲン（男性ホルモン）枯渇に限定される。大部分の患者は、初期には臨床的改善を示すであろうが、実質的に必ず、アンドロゲン独立細胞が発展する。したがって、内分泌療法は、姑息的であり、そして治癒的ではない。イメージング（例えば骨スキャンまたはＣＴスキャン）で検出可能な転移性疾患を持つ１３８７人の患者の研究において、ホルモン療法開始後の対象疾患進行（生化学的／ＰＳＡ進行を除く）（すなわちアンドロゲン独立性の発展）までの中央値時間は、１６～４８ヶ月であった（Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇｅｒ　Ｍ．Ａ．ら　（１９９８）　ＮＥＪＭ　３３９：１０３６－４２）。これらの患者におけるすべての生存の中央値は、ホルモン治療開始から２８～５２ヶ月であった（Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇｅｒ　Ｍ．Ａ．ら　（１９９８）　上記）。アンドロゲン独立性の発展に続く、有効な標準的療法

はなく、そして生存の中央値期間は、９～１２ヶ月である（Ｖｏｌｌｍｅｒ，Ｒ．Ｔ．ら（１９９９）Ｃｌｉｎ Ｃａｎ Ｒｅｓ ５：８３１－７；Ｈｕｄｅｓ Ｇ．ら，（１９９７）Ｐｒｏｃ Ａｍ Ｓｏｃ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ １６：３１６ａ（概要）；Ｐｉｅｎｔａ Ｋ．Ｊ．ら（１９９４）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ １２（１０）：２００５－１２；Ｐｉｅｎｔａ Ｋ．Ｊ．ら（１９９７）Ｕｒｏｌｏｇｙ ５０：４０１－７；Ｔａｎｎｏｃｋ Ｉ．Ｆ．ら，（１９９６）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ １４：１７５６－６５；Ｋａｎｔｏｆｆ Ｐ．Ｗ．ら，（１９９６）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．１５（Ｓｕｐｐｌ）：２５：１１０－２５）。細胞傷害性化学療法は、この年齢群では許容性が劣っており、そして一般的に、無効であり、そして／または実用的でないとみなされる。さらに、前立腺癌は、細胞傷害性剤に比較的耐性である。したがって、化学療法措置は、この患者群において、有意な生存上の利益があると立証されていない。

【０００５】

良性過形成の部分的前立腺切除時に、低程度で低段階の前立腺癌が発見された場合、１０年未満の余命の男性では、注意深く見守るのが適切である（Ｗ．Ｊ．Ｃａｔａｌｏｎａ，（１９９４）Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．，３３１（１５）：９９６－１００４）。こうした癌は、検出後、最初の５年間は、まれにしか進行しない。一方、より若い男性では、治癒的治療がしばしばより適切である。

【０００６】

前立腺癌が局在しており、そして患者の余命が１０年以上である場合、根治的前立腺切除術が、疾患の根絶に対して最も優れた可能性を提供する。歴史的に、この処置の欠点は、癌が検出された時には、大部分の癌が手術の境界を超えて広がってしまっていることである。しかし、前立腺特異的抗原試験の使用によって、前立腺癌のより早期の検出が可能になってきている。その結果、手術はより広範囲でなくなり、合併症がより少なくなる。大きい、高程度の腫瘍を持つ患者では、根治的前立腺切除術による治療が成功する可能性がより低い。

【０００７】

手術後、血清前立腺特異的抗原濃度が検出可能であるならば、癌が持続していることが示される。多くの場合、前立腺特異的抗原濃度は、放射線治療によって減少させることが可能である。しかし、この濃度はしばしば、２年以内に再度増加する。

【０００８】

放射線療法はまた、根治的前立腺切除術の代替法としても広く使用されてきている。一般的に、放射線療法で治療される患者は、より高齢で、そしてより健康でなく、そしてより高い程度で、より臨床的に進行した腫瘍を持つ患者である。特に好ましい処置は、放射領域が、治療する組織の容量に対して適合する（ｃｏｎｆｏｒｍ）ように設計される、三次元の原体照射法を伴う、外部光線療法；超音波誘導を用いて、放射性化合物の種を移植する、組織内照射療法；並びに外部光線療法および組織内照射療法の併用である。

【０００９】

局所的に進行した疾患を持つ患者の治療には、根治的前立腺切除術または放射線療法前のまたはその後のホルモン療法が利用されてきている。ホルモン療法は、前立腺癌が散在してしまった男性を治療する主な型である。睾丸摘除術は血清テストステロン濃度を減少させ、一方、エストロゲン治療が同様に有益である。エストロゲンに由来するジエチルスチルベストロールが別の有用なホルモン療法であるが、これは、心臓血管傷害性を引き起こす点が不都合である。ロイプロリド、ブセレリン、またはゴセレリンなどのＬＨＲＨアゴニスト、あるいはアバレリクスなどの性腺刺激ホルモン放出ホルモンアンタゴニストいずれかを投与すると、テストステロン濃度が最終的に減少する。フルタミドおよび他の非ステロイド性抗アンドロゲン剤は、テストステロンがその細胞内受容体に結合するのを遮断する。その結果、これは、テストステロンの影響を遮断しながら、血清テストステロン濃度を増加させ、そして患者の性的能力を保持するのを可能にする－性的能力は、根治的前立腺切除術および放射線治療後の重要な問題である。

【００１０】
現存する療法の欠点を考慮すると、前立腺癌などの癌を防止し、そして治療する、改善された様式に対する必要性が存在する。
【００１１】
（発明の概要）
本発明は、とりわけ、ヒト前立腺特異的膜抗原（ｐｒｏｓｔａｔｅ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｍｅｍｂｒａｎｅ ａｎｔｉｇｅｎ）（ＰＳＭＡ）の細胞外ドメインに結合する、抗体、および特に修飾抗体、またはその抗原結合断片を提供する。修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片は、既定の種、例えばヒトに対するその非修飾対応物と比較して、より低い免疫原性を与える。修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその断片は、高い親和性および特異性でヒトＰＳＭＡに結合し、そしてしたがって、ｉｎ ｖｉｖｏおよびｉｎ ｖｉｔｒｏで、診断剤、予防剤、または療法剤として使用可能である。したがって、本発明は、抗体、および特に修飾抗ＰＳＭＡ抗体、抗体断片、およびその薬剤組成物と共に、こうした抗体および断片を作成するための核酸、組換え発現ベクターおよび宿主細胞を提供する。ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏいずれかで、ＰＳＭＡを検出するために、あるいはＰＳＭＡ発現細胞、例えばＰＳＭＡ発現癌細胞、前立腺細胞または血管細胞を除去するかまたは殺すために、本発明の抗体を使用する方法もまた、本発明に含まれる。好ましくは、修飾抗体は、Ｊ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＥ９９抗体由来の１以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を有するものである。本明細書に論じるように、修飾抗体は、ＣＤＲ移植抗体、ヒト化抗体、脱免疫抗体、またはより一般的には、非ヒト抗体、例えばマウスＪ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＥ９９抗体由来のＣＤＲ、およびヒトにおいて、より免疫原性でない、例えばマウスＣＤＲが天然に存在するマウスフレームワークより抗原性でないとして選択されるフレームワークを有する抗体であることが可能である。
【００１２】
本発明の抗体、例えば修飾抗体は、高い親和性および特異性で、ＰＳＭＡ、好ましくはヒトＰＳＭＡと相互作用し、例えばＰＳＭＡに結合する。例えば、抗体は、少なくとも$10^{7}M^{-1}$、好ましくは$10^{8}M^{-1}$～$10^{10}M^{-1}$の間、または約$10^{9}M^{-1}$の親和性定数でヒトＰＳＭＡに結合する。好ましくは、抗体は、ＰＳＭＡの細胞外ドメイン、そして最も好ましくはヒトＰＳＭＡの細胞外ドメイン（例えばヒトＰＳＭＡのアミノ酸４４～７５０）と相互作用し、例えば該ドメインに結合する。
【００１３】
いくつかの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、本明細書に記載する抗体、例えばＪ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、およびＪ５３３抗体が結合するエピトープのすべてまたは一部と結合する。抗ＰＳＭＡ抗体は、ヒトＰＳＭＡに対する、本明細書に記載する抗体、例えばＪ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、およびＪ５３３抗体の結合を阻害可能であり、例えば競合的に阻害可能である。抗ＰＳＭＡ抗体は、エピトープ、例えばコンホメーション性エピトープまたは直鎖エピトープに結合可能であり、このエピトープは結合されると、本明細書に記載する抗体、例えばＪ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、およびＪ５３３抗体の結合を妨げる。該エピトープは、Ｊ５９１，Ｅ９９，Ｊ４１５、またはＪ５３３抗体に認識されるエピトープに、空間的に近接しているかまたは機能的に関連していることが可能であり、例えば直鎖配列またはコンホメーション性空間において、重複するエピトープまたは隣接するエピトープであることが可能である。
【００１４】
いくつかの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、ヒトＰＳＭＡのほぼアミノ酸１２０～５００、好ましくは１３０～４５０、より好ましくは１３４～４３７、または１５３～３４７の領域内に完全にまたは部分的に位置するエピトープに結合する。好ましくは、該エピトープには、少なくとも１つのグリコシル化部位、例えば少なくとも１つのＮ連結グリコシル化部位（例えばヒトＰＳＭＡのほぼアミノ酸１９０～２００、好ましくはほぼアミノ酸１９５に位置するアスパラギン残基）が含まれる。
【００１５】

ヒトＰＳＭＡは、正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞と共に、癌性細胞、例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、膵臓（例えば膵管）、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫の癌性細胞に近接した血管内皮細胞の表面上に発現される。ヒトＰＳＭＡの発現は、膜貫通ドメインを含むＮ末端ドメインの一部が欠けているスプライシング変異体、ＰＳＭ’がより豊富である、非悪性前立腺細胞上で実質的により低い。膜貫通ドメインを含有するＮ末端領域が欠けているため、ＰＳＭ’は、主に細胞質内にあり、そして細胞膜上に位置していない。本発明の抗体、例えば修飾抗体は、ＰＳＭＡを発現する細胞の細胞表面に結合する。ＰＳＭＡは、通常、細胞膜から細胞にリサイクルされる。したがって、本発明の抗体は、ＰＳＭＡ再循環過程を通じて、ＰＳＭＡと共に内部に入り、それによって、抗体にコンジュゲート化した剤、例えば標識剤、細胞傷害性剤、またはウイルス粒子（例えば細胞傷害性剤、例えばアポトーシス促進因子をコードする遺伝子を含有するウイルス粒子）の搬送を可能にする。したがって、本明細書に記載する抗体、例えば修飾抗体を用いて、生存する正常、良性過形成および癌性の前立腺上皮細胞と共に、癌性細胞に近接する血管内皮細胞をターゲッティングすることが可能である。

【００１６】

抗体、例えば修飾抗体は、好ましくは、単一特異性、例えばモノクローナル抗体、またはその抗原結合断片である。抗体、例えば修飾抗体は、全長であることが可能であり（例えばＩｇＧ（例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、ＩｇＭ、ＩｇＡ（例えばＩｇＡ１、ＩｇＡ２）、ＩｇＤ、およびＩｇＥ、しかし好ましくはＩｇＧ）、または抗原結合断片のみを含むことが可能である（例えばＦａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$またはｓｃＦｖ断片、あるいは１以上のＣＤＲ）。抗体、またはその抗原結合断片は、２つの重鎖免疫グロブリンおよび２つの軽鎖免疫グロブリンを含むことが可能であるし、または一本鎖抗体であることが可能である。抗体は、場合によって、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロンまたはミュー定常部遺伝子から選択される定常部を含むことが可能である。好ましい抗ＰＳＭＡ抗体には、実質的にヒト抗体、例えばヒトＩｇＧ１定常部由来の重鎖および軽鎖の定常部、その一部、またはコンセンサス配列が含まれる。

【００１７】

好ましい態様において、抗体（またはその断片）は、例えばキメラ抗体、ヒト化抗体、脱免疫抗体、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏ生成抗体から選択される組換えまたは修飾抗ＰＳＭＡ抗体である。他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、ヒト抗体である。１つの態様において、本発明の修飾抗体は、脱免疫抗ＰＳＭＡ抗体、例えばＥ９９、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＪ５９１の脱免疫型（例えば、それぞれ、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０１、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７、およびＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の脱免疫型）である。好ましくは、修飾抗体は、Ｊ５９１またはＪ４１５の脱免疫型（本明細書において、それぞれ、「ｄｅＪ５９１」または「ｄｅＪ４１５」と称される）である。最も好ましくは、抗体はＪ５９１の脱免疫型である。

【００１８】

抗ＰＳＭＡ抗体のいかなる組み合わせも本発明の範囲内であり、例えばＰＳＭＡの異なる領域に結合する２以上の抗体、例えばＰＳＭＡの細胞外ドメイン上の２つの異なるエピトープに結合する抗体がある。

【００１９】

いくつかの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片には、少なくとも１つの軽鎖または重鎖の免疫グロブリン（または好ましくは、少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリンおよび少なくとも１つの重鎖免疫グロブリン）が含まれる。好ましくは、各免疫グロブリンには、それぞれ、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖または重鎖の可変部由来のＣＤＲに実質的に同一の、少なくとも１つ、２つ、そして好ましくは３つのＣＤＲを有する、軽鎖または重鎖の可変部が含まれる。例えば、抗体またはその抗原結合断片は：マウスＪ５９１の重鎖可変部（図１Ａに示す配列番号１、２、および３を参

照されたい）；マウスＪ５９１の軽鎖可変部（図１Ｂに示す配列番号４、５、および６を参照されたい）；マウスＪ４１５の重鎖可変部（図５に示す配列番号２９、３０、および３１を参照されたい）；マウスＪ４１５の軽鎖可変部（図６に示す配列番号３２、３３、および３４を参照されたい）；マウスＪ５３３の重鎖可変部（図９Ａに示す配列番号９３、９４、および９５を参照されたい）；マウスＪ５３３の軽鎖可変部（図１０Ａに示す配列番号９６、９７、および９８を参照されたい）；マウスＥ９９の重鎖可変部（図１１Ａに示す配列番号９９、１００、および１０１を参照されたい）；またはマウスＥ９９の軽鎖可変部（図１２Ａに示す配列番号１０２、１０３、および１０４を参照されたい）に由来する、少なくとも１つ、２つ、そして好ましくは３つのＣＤＲを有することが可能である。他の態様において、修飾抗体またはその抗原結合断片は、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有する細胞株に産生される抗体、またＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９を有する細胞株に産生される脱免疫Ｊ５９１抗体の軽鎖または重鎖の可変部由来の、少なくとも１つ、２つ、そして好ましくは３つのＣＤＲを有することが可能である。他の態様において、修飾抗体またはその抗原結合断片は、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有する細胞株に産生される抗体、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される脱免疫Ｊ４１５抗体の軽鎖または重鎖の可変部由来の、少なくとも１つ、２つ、そして好ましくは３つのＣＤＲを有することが可能である。さらに他の態様において、修飾抗体またはその抗原結合断片は、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２７を有する細胞株に産生される抗体、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０１を有する細胞株に産生される抗体の軽鎖または重鎖の可変部由来の、少なくとも１つ、２つ、そして好ましくは３つのＣＤＲを有することが可能である。

【００２０】

１つの好ましい態様において、修飾抗体またはその抗原結合断片には、同一の非ヒト抗ＰＳＭＡ抗体、例えばマウスＪ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＥ９９抗体由来の６つのＣＤＲすべてが含まれる。いくつかの態様において、ＣＤＲは、配列番号１、２、３、４、５および６（マウスＪ５９１重鎖および軽鎖のＣＤＲに対応する）のアミノ酸配列、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有する細胞株に産生される抗体のＣＤＲのアミノ酸配列、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９を有する細胞株に産生される脱免疫Ｊ５９１抗体のＣＤＲのアミノ酸配列、あるいはそれに実質的に同一の配列を有する。他の態様において、ＣＤＲは、配列番号２９、３０、３１、３２、３３、および３４（マウスＪ４１５重鎖および軽鎖のＣＤＲに対応する）のアミノ酸配列、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有する細胞株に産生される抗体のＣＤＲのアミノ酸配列、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される脱免疫Ｊ４１５抗体のＣＤＲのアミノ酸配列、あるいはそれに実質的に同一の配列を有する。他の態様において、ＣＤＲは、配列番号９３、９４、９５、９６、９７、および９８（マウスＪ５３３重鎖および軽鎖のＣＤＲに対応する）のアミノ酸配列、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２７を有する細胞株に産生される抗体のＣＤＲのアミノ酸配列、またはそれに実質的に同一の配列を有する。さらに他の態様において、ＣＤＲは、配列番号９９、１００、１０１、１０２、１０３、および１０４（マウスＥ９９重鎖および軽鎖のＣＤＲに対応する）のアミノ酸配列、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０１を有する細胞株に産生される抗体のＣＤＲのアミノ酸配列、またはそれに実質的に同一の配列を有する。

【００２１】

抗体Ｊ５９１、Ｊ４１５，Ｊ５３３およびＥ９９のＣＤＲのアミノ酸配列を以下の表１に提供する。

表１：ＣＤＲ配列

【００２２】

【表１Ａ】

名称	生物	図	配列番号	配列
V_H CDR1 J591	マウス (Mus musculus)	図1A	1	GYTFTEYTIH
V_H CDR2 J591	マウス	図1A	2	NINPNNGGTTYNQKFED
V_H CDR3 J591	マウス	図1A	3	GWNFDY
V_L CDR1 J591	マウス	図1B	4	KASQDVGTAVD
V_L CDR2 J591	マウス	図1B	5	WASTRHT
V_L CDR3 J591	マウス	図1B	6	QQYNSYPLT
V_H CDR1 J415	マウス	図5	29	GFTFSNYWMN
V_H CDR2 J415	マウス	図5	30	EIRSQSNNFATHYAESVKG
V_H CDR3 J415	マウス	図5	31	RWNNF
V_L CDR1 J415	マウス	図6	32	KASENVGTYVS
V_L CDR2 J415	マウス	図6	33	GASNRFT
V_L CDR3 J415	マウス	図6	34	GQSYTFPYT
V_H CDR1 J533	マウス	図9A	93	GYTFTGYVMH
V_H CDR2 J533	マウス	図9A	94	YINPYNDVTRYNGKFKG
V_H CDR3 J533	マウス	図9A	95	GENWYYFDS
V_L CDR1 J533	マウス	図10A	96	RASESIDSYDNTFMH
V_L CDR2 J533	マウス	図10A	97	RASILES

【００２３】

【表１Ｂ】

V_L CDR3 J533	マウス	図10A	98	HQSIEDPYT
V_H CDR1 E99	マウス	図11A	99	GFSLTAYGIN
V_H CDR2 E99	マウス	図11A	100	VIWPDGNTDYNSTLKS
V_H CDR3 E99	マウス	図11A	101	DSYGNFKRGWFDF
V_L CDR1 E99	マウス	図12A	102	KASQNVGSDVA
V_L CDR2 E99	マウス	図12A	103	STSYRYS
V_L CDR3 E99	マウス	図12A	104	QQYNSYPLT

【００２４】

修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片の軽鎖または重鎖の免疫グロブリンは、ヒトまたは非ヒト、例えばげっ歯類の抗体に存在する軽鎖または重鎖の可変フレームワーク（例えばマウスＪ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＥ９９抗体重鎖または軽鎖の可変フレームワーク）に由来する軽鎖または重鎖の可変フレームワーク配列をさらに含むことが可能である。いくつかの態様において、軽鎖または重鎖の可変フレームワークは以下から選択可能である：

ｉ．ヒト軽鎖または重鎖の可変フレームワーク由来の、少なくとも５、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、または８０アミノ酸残基、例えば成熟ヒト抗体、ヒト生殖系列抗体配列、またはヒトコンセンサス抗体配列由来の軽鎖または重鎖の可変フレームワーク残基を含む、軽鎖または重鎖の可変フレームワーク；

ｉｉ．ヒト軽鎖または重鎖の可変フレームワーク由来の、少なくとも５であるが３０未満のアミノ酸残基、例えば成熟ヒト抗体、ヒト生殖系列抗体配列、またはヒトコンセンサス抗体配列由来の軽鎖または重鎖の可変フレームワーク残基を含む、軽鎖または重鎖の可変フレームワーク；

ｉｉｉ．非ヒト抗体、例えばマウス抗体（例えば、配列番号７または８（それぞれ、マウスＪ５９１の重鎖および軽鎖由来；図１Ａおよび１Ｂを参照されたい）、配列番号３５または３６（それぞれ、マウスＪ４１５の重鎖および軽鎖由来；図５および６を参照されたい）、配列番号１０９または１１４（それぞれ、マウスＪ５３３の重鎖および軽鎖由来；図９Ａおよび１０Ａを参照されたい）、あるいは配列番号１１９または１２４（それぞれ、マウスＥ９９の重鎖および軽鎖由来；図１１Ａおよび１２Ａを参照されたい）に示すフレームワーク・アミノ酸配列を有する抗ＰＳＭＡ抗体）由来の軽鎖または重鎖の可変フレームワーク、あるいは本明細書に記載するマウス抗体（例えば、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７またはＨＢ－１２１０１を有するハイブリドーマ細胞株に産生される、マウスＪ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３、またはＥ９９抗体）のフレームワーク由来の、少なくとも５、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７５、またはそれ以上のアミノ酸残基を含む、軽鎖または重鎖の可変フレームワーク；

ｉｖ．非ヒト抗体、例えばマウス抗体（例えば、配列番号７または８（それぞれ、マウスＪ５９１の重鎖および軽鎖由来；図１Ａおよび１Ｂを参照されたい）、配列番号３５または３６（それぞれ、マウスＪ４１５の重鎖および軽鎖由来；図５および６を参照されたい）、配列番号１０９または１１４（それぞれ、マウスＪ５３３の重鎖および軽鎖由来；

図９Ａおよび１０Ａを参照されたい）、あるいは配列番号１１９または１２４（それぞれマウスＥ９９の重鎖および軽鎖由来；図１１Ａおよび１２Ａを参照されたい）に示すフレームワーク・アミノ酸配列を有する抗ＰＳＭＡ抗体）の軽鎖または重鎖の可変部のフレームワークの配列、あるいは本明細書に記載するマウス抗体（例えば、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７またはＨＢ－１２１０１を有するハイブリドーマ細胞株に産生される、マウス抗体）のフレームワークと、少なくとも６０％、６５％、７０％、７２％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するか、あるいは、少なくとも１、２、５またはそれ以上の残基、但し１０、２０、３０または４０未満の残基が異なるアミノ酸配列を有する、軽鎖または重鎖の可変フレームワーク；あるいは

ｖ．少なくとも５つのアミノ酸置換を有する、非ヒト、例えばマウス、例えばＪ５９１またはＪ４１５軽鎖または重鎖の可変部フレームワーク。

【００２５】

いくつかの態様において、非ヒト抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片の軽鎖可変部は、配列番号１３、１４、１５、および１６（脱免疫Ｊ５９１軽鎖ＦＲ１～４に対応する；図２Ｂを参照されたい）または配列番号４１、４２、４３、および４４（脱免疫Ｊ４１５軽鎖（Ｊ４１５ＤＩＶＫ５）ＦＲ１～４に対応する；図６を参照されたい）から選択される、少なくとも１、２、３、そして好ましくは４アミノ酸配列、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体由来の、少なくとも１つ、２つ、３つ、そして好ましくは４つの軽鎖フレームワーク領域を有する。他の態様において、非ヒト抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合部分の重鎖可変部は、配列番号９、１０、１１、および１２（脱免疫Ｊ５９１重鎖ＦＲ１～４に対応する；図２Ａを参照されたい）または配列番号３７、３８、３９、および４０（脱免疫Ｊ４１５重鎖（Ｊ４１５ＤＩＶＨ４）ＦＲ１～４に対応する；図５を参照されたい）から選択される、少なくとも１、２、３、そして好ましくは４アミノ酸配列、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の、少なくとも１つ、２つ、３つ、そして好ましくは４つの重鎖フレームワーク領域を有する。他の態様において、重鎖または軽鎖のフレームワークは、それぞれ、配列番号１７または配列番号１８（脱免疫Ｊ５９１フレームワーク配列に対応する；図２Ａ～２Ｂを参照されたい）、それぞれ、配列番号４５または配列番号４６（脱免疫Ｊ４１５フレームワーク配列Ｊ４１５ＤＩＶＨ４およびＪ４１５ＤＩＶＫ５に対応する；図５または６を参照されたい）、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の重鎖または軽鎖のフレームワーク配列と、少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する。さらに他の態様において、重鎖または軽鎖のフレームワークは、それぞれ配列番号１７または配列番号１８、それぞれ配列番号４５または配列番号４６のアミノ酸配列、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の重鎖または軽鎖のフレームワーク配列と、少なくとも１、２、５、またはそれ以上の残基、但し１０、２０、３０、または４０未満の残基が異なるアミノ酸配列を有する。好ましくは、重鎖または軽鎖のフレームワーク領域には、それぞれ配列番号１７または配列番号１８、それぞれ配列番号４５または配列番号４６に示すアミノ酸配列、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の重鎖または軽鎖のフレームワーク配列が含まれる。

【００２６】

他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖または軽鎖の可変部は、それぞれ、配列番号２１または配列番号２２（脱免疫Ｊ５９１の重鎖および軽鎖の可変部に対応する；図２Ａ～２Ｂを参照されたい）、それぞれ、配列番号４９または配列番号５０（脱免疫Ｊ４１５の重鎖および軽鎖の可変部、Ｊ４１５ＤＩＶＨ４およびＪ４１５ＤＩＶＫ５に対応する；図５または６を参照されたい）、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の重鎖または軽鎖の可変部配列と、少

なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する。他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖または軽鎖の可変部は、それぞれ配列番号２１または配列番号２２、それぞれ配列番号４９または配列番号５０のアミノ酸配列、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の重鎖または軽鎖の可変部配列と、少なくとも１、２、５、またはそれ以上の残基、但し１０、２０、３０、または４０未満の残基が異なるアミノ酸配列を有する。好ましくは、軽鎖または重鎖の可変部には、それぞれ配列番号２１または配列番号２２、それぞれ配列番号４９または配列番号５０に示すアミノ酸配列、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の重鎖または軽鎖の可変部配列が含まれる。

【００２７】

好ましい修飾抗ＰＳＭＡ抗体には、それぞれ、配列番号２１および配列番号２２（脱免疫Ｊ５９１の重鎖および軽鎖の可変部に対応する；図２Ａ～２Ｂを参照されたい）、それぞれ、配列番号４９および配列番号５０（脱免疫Ｊ４１５の重鎖および軽鎖の可変部、Ｊ４１５ＤＩＶＨ４およびＪ４１５ＤＩＶＫ５に対応する；図５および６を参照されたい）に示すアミノ酸配列を有する、少なくとも１つ、好ましくは２つの軽鎖可変部、および少なくとも１つ、好ましくは２つの重鎖可変部が含まれ、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９またはＰＴＡ－４１７４を有する細胞株に産生される抗体の、少なくとも１つ、好ましくは２つの修飾軽鎖可変部配列および少なくとも１つ、好ましくは２つの重鎖可変部配列が含まれる。

【００２８】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖または重鎖の可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、ヒト軽鎖または重鎖の可変フレームワーク、例えば成熟ヒト抗体、ヒト生殖系列抗体配列、またはコンセンサス抗体配列由来の軽鎖または重鎖の可変フレームワーク残基由来の、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、１６、または１７アミノ酸残基が含まれる。

【００２９】

いくつかの態様において、ヒト軽鎖可変フレームワーク由来のアミノ酸残基は、ヒト生殖系列抗体配列の同一の位に見られる残基と同一である。好ましくは、ヒト軽鎖可変フレームワーク由来のアミノ酸残基は、ヒト生殖系列抗体配列の同一の位での最も一般的な残基である。好ましくは、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基８、９、１０、１１、２０、２２、６０、６３、７６、７７、７８、８０、８３、８７、１０３、１０４および１０６（表２に示すようなＫａｂａｔ番号付け）からなる群より選択される位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えばマウスＪ５９１軽鎖可変部）のフレームワークと異なるか、またはヒト軽鎖可変フレームワーク（例えばヒト生殖系列、成熟、またはコンセンサス・フレームワーク配列）に由来する、少なくとも１、２、３、５、７、１０アミノ酸残基を有する。好ましくは、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基８（プロリン）、９（セリン）、１０（セリン）、１１（ロイシン）、２０（スレオニン）、２２（スレオニン）、６０（セリン）、６３（セリン）、７６（セリン）、７７（セリン）、７８（ロイシン）、８０（プロリン）、８３（フェニルアラニン）、８７（チロシン）、１０３（リジン）、１０４（バリン）および１０６（イソロイシン）（表２に示すようなＫａｂａｔ番号付け）からなる群より選択されるヒト軽鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも１、２、３、５、７、または１０アミノ酸残基を有する。

【００３０】

脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部中のアミノ酸置換を、以下の表２に提供する。左のパネルは、Ｋａｂａｔ，　Ｅ．Ａ．ら（１９９１）上記にしたがったアミノ酸番号を示し；中央のパネルは、マウス配列中の残基の置換および対応するマウス残基を示し；そして右のパネルは、ヒト生殖系列における対応する位で、最も一般的な残基を示す。

【００３１】

表２

【００３２】

【表２】

位 Kabat 番号	マウス配列の 置換	ヒト生殖系列で 最も一般的な 残基
3	V→Q	V
8	H→P	P
9	K→S	S
10	F→S	S
11	M→L	L
20	S→T	T
21	I→L	I
22	I→T	T
42	Q→P	K
58	V→I	V
60	D→S	S
63	T→S	S
76	T→S	S
77	T→S	S
78	V→L	L
80	S→P	P
83	L→F	F
87	F→Y	Y
100	A→P	Q
103	M→K	K
104	L→V	V
106	L→I	I

【００３３】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基１３、１５、１９、４１、６３、６８、および８０（図６に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えばマウスＪ４１５軽鎖可変部）のフレームワークと異なるか、またはヒト軽鎖可変フレームワーク（例えばヒト生殖系列、成熟、またはコンセンサス・フレームワーク）に由来する、少なくとも１、２、３、５、または７アミノ酸残基を有する。好ましくは、修飾抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基１３（アラニン）、１５（アラニン）、１９（メチオニン）、４１（スレオニン）、６３（セリン）、６８（グリシン）、および８０（アラニン）（図６に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択されるヒトコンセンサス軽鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも１、２、３、５、または７アミノ酸残基を有する。

【００３４】

脱免疫Ｊ４１５軽鎖可変部中のアミノ酸置換を、以下の表３に提供する。左のパネルは

、直鎖番号付けを用いたアミノ酸番号を示し；中央のパネルは、マウス配列中の残基の置換および対応するマウス残基を示し；そして右のパネルは、ヒト生殖系列における対応する位で、最も一般的な残基を示す。

【００３５】

表３

【００３６】

【表３】

位 直鎖番号	マウス配列の 置換	ヒト生殖系列で 最も一般的な 残基
13	I→A	A
15	V→A	A
19	V→M	M
41	E→T	T
63	T→S	S
68	A→G	G
80	T→A	A

【００３７】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、配列番号８（マウスＪ５９１由来；図１Ｂを参照されたい）、配列番号３６（マウスＪ４１５由来；図６を参照されたい）、配列番号１１４（マウスＪ５３３由来；図１０Ａを参照されたい）、または配列番号１２４（マウスＥ９９由来；図１２Ａを参照されたい）に示す軽鎖可変フレームワーク、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７またはＨＢ－１２１０１を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも５であるが、８０を超えないアミノ酸残基が含まれる。好ましくは、軽鎖可変フレームワークは、非ヒト軽鎖可変フレームワーク、例えば、それぞれ配列番号８または配列番号３６に示すマウスＪ５９１またはＪ４１５軽鎖可変フレームワーク、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６またはＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変フレームワークと、少なくとも６０％、６５％、７０％、７２％、７５％、８０％、８５％、９０％、または９４％の同一性を有するか、あるいは少なくとも５、７、１０、２０、または３０アミノ酸残基、但し１０、２０、３０、または４０未満のアミノ酸残基が異なる。他の態様において、軽鎖可変フレームワークは、マウスＪ５９１抗体（配列番号８；図１Ｂを参照されたい）由来、マウスＪ４１５抗体（配列番号３６；図６を参照されたい）由来、マウスＪ５３３抗体（配列番号１１４；図１０Ａを参照されたい）由来、またはマウスＥ９９抗体（配列番号１２４；図１２Ａを参照されたい）由来であるか、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７またはＨＢ－１２１０１を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変フレームワークである。

【００３８】

さらに他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、少なくとも５、１０、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、または２３アミノ酸置換を有する、非ヒト（例えばマウス）軽鎖可変フレームワーク（例えば配列番号８に示すようなマウスＪ５９１軽鎖可変フレームワーク、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変フレームワーク）が含まれる。１つの態様において、非ヒト軽鎖可変フレームワークには：

少なくとも５、６、７、または８の置換を有する、フレームワーク領域１；

少なくとも１つの置換を有する、フレームワーク領域２；

少なくとも５、６、７、８、または９の置換を有する、フレームワーク領域３；あるいは
少なくとも２、３または４の置換を有する、フレームワーク領域４
の１以上が含まれる。
【００３９】
さらに他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、または１０アミノ酸置換を有する、非ヒト（例えばマウス）軽鎖可変フレームワーク（例えば配列番号３６に示すようなマウスＪ４１５軽鎖可変フレームワーク、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変フレームワーク）が含まれる。いくつかの態様において、非ヒト軽鎖可変フレームワークには：
少なくとも１、２または３の置換を有する、フレームワーク領域１；
少なくとも１つの置換を有する、フレームワーク領域２；あるいは
少なくとも１、２または３の置換を有する、フレームワーク領域３
の１以上が含まれる。
【００４０】
置換は：非ヒト残基の保存的置換、あるいは同一の位で、ヒト生殖系列、成熟またはコンセンサス・フレームワーク配列に見られる残基、例えば同一の位のヒト生殖系列配列における最も一般的な残基から選択可能である。いくつかの態様において、軽鎖可変フレームワークは、少なくとも３、４、そして好ましくは５の保存的置換を有する。他の態様において、軽鎖可変フレームワークは、少なくとも５、７、１０、１５、１６、または１７アミノ酸残基置換を有し、ここで、置換アミノ酸残基は、同一の位のヒト生殖系列フレームワーク配列における、最も一般的な残基である。
【００４１】
いくつかの態様において、非ヒト軽鎖可変フレームワークは：残基３、８、９、１０、１１、２０、２１、２２、４２、５８、６０、６３、７６、７７、７８、８０、８３、８７、１００、１０３、１０４および１０６（表２に示すようなＫａｂａｔ番号付け）からなる群より選択される位で、少なくとも１、２、３、５、７、１０、１１、１５、１６、１７、１９、２０、２１または２２アミノ酸置換を有する。置換は：残基３（グルタミン）、８（プロリン）、９（セリン）、１０（セリン）１１（ロイシン）、２０（スレオニン）、２１（ロイシン）、２２（スレオニン）、４２（プロリン）、５８（イソロイシン）、６０（セリン）、６３（セリン）、７６（セリン）、７７（セリン）、７８（ロイシン）、８０（プロリン）、８３（フェニルアラニン）、８７（チロシン）、１００（プロリン）、１０３（リジン）、１０４（バリン）および１０６（イソロイシン）（表２に示すようなＫａｂａｔ番号付け）の１以上から選択可能である。
【００４２】
他の態様において、非ヒト軽鎖可変フレームワークは：残基１３、１５、１９、４１、６３、６８および８０（表３に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される位で、少なくとも１、２、３、５、または７アミノ酸置換を有する。好ましくは、修飾抗体の軽鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基１３（アラニン）、１５（アラニン）、１９（メチオニン）、４１（スレオニン）、６３（セリン）、６８（グリシン）および８０（アラニン）（表３に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、ヒトコンセンサス軽鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも１、２、３、５、７アミノ酸残基を有する。
【００４３】
好ましくは、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基５、４０、４１、４４、８２ａ、８３、８７、および１０８（表４に示すようなＫａｂａｔ番号付け）からなる群より選択される位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えばマウスＪ５９１重鎖可変部）と異なるか、またはヒト重鎖可変フレームワーク（例えばヒト生殖系列フレームワーク）に由来する、少なくとも１、２、３、５、７、または８

アミノ酸残基を有する。好ましくは、組換え抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基５（バリン）、４０（アラニン）、４１（プロリン）、４４（グリシン）、８２ａ（セリン）、８３（アルギニン）、８７（スレオニン）、または１０８（ロイシン）（表４に示すようなＫａｂａｔ番号付け）からなる群より選択されるヒト重鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも１アミノ酸残基を有する。

【００４４】

脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部中のアミノ酸置換を、以下の表４に提供する。左のパネルは、Ｋａｂａｔ，　Ｅ．Ａ．ら（１９９１）上記にしたがったアミノ酸番号を示し；中央のパネルは、マウス配列中の残基の置換および対応するマウス残基を示し；そして右のパネルは、ヒト生殖系列における対応する位で、最も一般的な残基を示す。

【００４５】

表４

【００４６】

【表４】

位 Kabat 番号	マウス配列の 置換	ヒト生殖系列で最も一般的な 残基
5	Q→V	V
11	L→V	L
12	V→K	V
16	T→A	G
17	S→T	S
19	R→K	R
40	S→A	A
41	H→P	P
44	S→G	G
75	S→T	K
76	S→D	N
82a	R→S	S
83	T→R	R
87	S→T	T
108	T→L	L

【００４７】

他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基２０、８７、９４、９５、および１１２（表５に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えばマウスＪ４１５重鎖可変部）と異なるか、またはヒト重鎖可変フレームワーク（例えばヒト成熟、コンセンサス、または生殖系列フレームワーク）に由来する、少なくとも１、２、３、４、５アミノ酸残基を有する。好ましくは、組換え抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片は：残基２０（イソロイシン）、８７（セリン）、９４（アラニン）、９５（バリン）、および１１２（バリン）（表５に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択されるヒト重鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも１、２、３、４、５アミノ酸残基を有する。

【００４８】

脱免疫Ｊ４１５重鎖可変部中のアミノ酸置換を、以下の表５に提供する。左のパネルは、直鎖アミノ酸番号を示し；中央のパネルは、マウス配列中の残基の置換および対応するマウス残基を示し；そして右のパネルは、ヒト生殖系列における対応する位で、最も一般的な残基を示す。

【００４９】

表５

【００５０】

【表５】

位 Kabat 番号	マウス配列の 置換	ヒト生殖系列で 最も一般的な 残基
20	L→I	I
87	N→S	S
94	G→A	A
95	I→V	V
112	L→V	V

【００５１】

他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、配列番号７（マウスＪ５９１由来；図１Ａを参照されたい）、配列番号３５（マウスＪ４１５由来；図５を参照されたい）、配列番号１０９（マウスＪ５３３由来；図９Ａを参照されたい）、または配列番号１１９（マウスＥ９９由来；図１１Ａを参照されたい）に示す重鎖可変フレームワーク、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７またはＨＢ－１２１０１を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワーク由来の、少なくとも５であるが、７５または８２を超えないアミノ酸残基が含まれる。好ましくは、重鎖可変フレームワークは、非ヒト重鎖可変フレームワーク、例えば、それぞれ配列番号７または配列番号３５に示すマウスＪ５９１またはＪ４１５重鎖可変フレームワーク、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６またはＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワークと、少なくとも６０％、６５％、７０％、８０％、８２％、８５％、９０％、または９４％の同一性を有するか、あるいは少なくとも５、１０、２０、または３０残基、但し１０、２０、３０、または４０未満の残基が異なる。他の態様において、非ヒト重鎖可変フレームワークは、マウスＪ５９１抗体（配列番号７；図１Ａを参照されたい）由来、マウスＪ４１５抗体（配列番号３５；図５を参照されたい）由来、マウスＪ５３３抗体（配列番号１０９；図９Ａを参照されたい）由来、またはマウスＥ９９抗体（配列番号１１９；図１１Ａを参照されたい）由来であるか、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７またはＨＢ－１２１０１を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワークである。

【００５２】

さらに他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、少なくとも３、５、１０、１５、１６、１７、１８、または１９アミノ酸置換を有する、非ヒト（例えばマウス）重鎖可変フレームワーク（例えばマウスＪ５９１重鎖可変フレームワーク（図１Ａに示すような配列番号７）、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワーク）が含まれる。１つの態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の非ヒト重鎖可変フレームワークには：

少なくとも４、５、または６の置換を有する、フレームワーク領域１；
少なくとも１、２、または３の置換を有する、フレームワーク領域２；
少なくとも３、４、または５の置換を有する、フレームワーク領域３；あるいは
少なくとも１つの置換を有する、フレームワーク領域４

の１以上が含まれる。

【００５３】

さらに他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖可変フレームワーク、またはその抗原結合断片には、少なくとも１、２、３、４、または５アミノ酸置換を有する、非ヒト（例えばマウス）重鎖可変フレームワーク（例えばマウスＪ４１５重鎖可変フレームワーク（図５に示すような配列番号３５）、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワーク）が含まれる。１つの態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の非ヒト重鎖可変フレームワークには：

少なくとも１つの置換を有する、フレームワーク領域１；

少なくとも１、２、または３の置換を有する、フレームワーク領域３；あるいは

少なくとも１つの置換を有する、フレームワーク領域４

の１以上が含まれる。

【００５４】

置換は：非ヒト残基の保存的置換、あるいは同一の位で、ヒト生殖系列、成熟またはコンセンサス配列に見られる残基、例えば同一の位のヒト生殖系列における最も一般的な残基から選択可能である。１つの態様において、重鎖可変フレームワークは、少なくとも３、４、５、６、そして好ましくは７の保存的置換を有する。好ましくは、重鎖可変フレームワークは、同一の位で、ヒト生殖系列において、最も一般的な残基による、少なくとも５、６、７、そして好ましくは８の置換を有する。

【００５５】

いくつかの態様において、非ヒト重鎖可変フレームワークは：残基５、１１、１２、１６、１７、１９、４０、４１、４４、７５、７６、８２ａ、８３、８７、および１０８（表３に示すようなＫａｂａｔ番号付け）からなる群より選択される位での、少なくとも１アミノ酸置換を有する。置換は：５（バリン）、１１（バリン）、１２（リジン）、１６（アラニン）、１７（スレオニン）、１９（リジン）、４０（アラニン）、４１（プロリン）、４４（グリシン）、７５（スレオニン）、７６（アスパラギン酸）、８２ａ（セリン）、８３（アルギニン）、８７（スレオニン）、および１０８（ロイシン）（表４に示すようなＫａｂａｔ番号付け）の１以上から選択可能である。

【００５６】

他の態様において、非ヒト重鎖可変フレームワークは：残基２０、８７、９４、９５および１１２（表５に示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される位での、少なくとも１アミノ酸置換を有する。置換は：残基２０（イソロイシン）、８７（セリン）、９４（アラニン）、９５（バリン）、および１１２（バリン）（表５に示すような直鎖番号付け）の１以上から選択可能である。

【００５７】

抗体Ｊ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３およびＥ９９の軽鎖および重鎖領域のフレームワーク領域のアミノ酸配列を、以下の表６に提供する。

表６：フレームワーク配列

【００５８】

【表６Ａ】

名称	生物	図	配列番号	配列
V_H FR1-FR4 J591	マウス	図 1A	7	EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTSWVKQS HGKSLEWIGKATLTVDKSSSTAYMELRSLT SEDSAVYYCAAWGQGTTLTVSS
V_L FR1-FR4 J591	マウス	図 1B	8	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICWYQQKPG QSPKLLIYGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNV QSEDLADYFCFGAGTMLDLK
V_H FR1 (脱免疫) J591	人工的脱免疫重鎖 J591	図 2A	9	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTS
V_H FR2 (脱免疫) J591	人工的脱免疫重鎖 J591	図 2A	10	WVKQAPGKGLEWIG
V_H FR3 (脱免疫) J591	人工的脱免疫重鎖 J591	図 2A	11	KATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYC AA
V_H FR4 (脱免疫) J591	人工的脱免疫重鎖 J591	図 2A	12	WGQGTLLTVSS
V_L FR1 (脱免疫) J591	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 2B	13	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTC
V_L FR2 (脱免疫) J591	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 2B	14	WYQQKPGPSPKLLIY
V_L FR3 (脱免疫) J591	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 2B	15	GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YC
V_L FR4 (脱免疫) J591	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 2B	16	FGPGTKVDIK
V_H FR1-FR4 (脱免疫) J591	人工的脱免疫重鎖 J591	図 2A	17	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSWVKQA PGKGLEWIGKATLTVDKSTDTAYMELSSLR SEDTAVYYCAAWGQGTLLTVSS
V_L FR1-FR4 (脱免疫) J591	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 2B	18	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCWYQQKPG PSPKLLIYGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFADYYCFGPGTKVDIK
V_H FR1-FR4 J415	マウス	図 5	35	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASWVRQS PEKGLEWVARVIISRDDSKSSVYLQMNNLR AEDTGIYYCTRWGQGTTLTVSS
V_L FR1-FR4 J415	マウス	図 6	36	NIVMTQFPKSMSISVGERVTLTCWYQQKPE QSPKMLIYGVPDRFTGSGSATDFILTISSV QTEDLVDYYCFGGGTKLEMK

【００５９】

【表６Ｂ】

V_H FR1（脱免疫）J415-4	人工的脱免疫重鎖 J415-4	図 5	37	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVAS
V_H FR2（脱免疫）J415-4	人工的脱免疫重鎖 J415-4	図 5	38	WVRQSPEKGLEWVA
V_H FR3（脱免疫）J415-4	人工的脱免疫重鎖 J415-4	図 5	39	RVIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTR
V_H FR4（脱免疫）J415-4	人工的脱免疫重鎖 J415-4	図 5	40	WGQGTTVTVSS
V_L FR1（脱免疫）J415-5	人工的脱免疫軽鎖 J415-5	図 6	41	NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTC
V_L FR2（脱免疫）J415-5	人工的脱免疫軽鎖 J415-5	図 6	42	WYQQKPTQSPKMLIY
V_L FR3（脱免疫）J415-5	人工的脱免疫軽鎖 J415-5	図 6	43	GVPDRFSGSGSGTDFILTISSVQAEDLVDYYC
V_L FR4（脱免疫）J415-5	人工的脱免疫軽鎖 J415-5	図 6	44	FGGGTKLEMK
V_H FR1-FR4（脱免疫）J415-4	人工的脱免疫重鎖 J415-4	図 5	45	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASWVRQSPEKGLEWVARVIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWGQGTTVTVSS
V_L FR1-FR4（脱免疫）J415-5	人工的脱免疫軽鎖 J415-5	図 6	46	NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTCWYQQKPTQSPKMLIYGVPDRFSGSGSGTDFILTISSVQAEDLVDYYCFGGGTKLEMK
V_H FR1 J533	マウス	図 9A	105	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS
V_H FR2 J533	マウス	図 9A	106	WVKQKPGQVLEWIG
V_H FR3 J533	マウス	図 9A	107	KATLTSDKYSSTAYMELSGLTSEDSAVYYCAR
V_H FR4 J533	マウス	図 9A	108	WGRGATLTVSS
V_H FR1-FR4 J533	マウス	図 9A	109	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASWVKQKPGQVLEWIGKATLTSDKYSSTAYMELSGLTSEDSAVYYCARWGRGATLTVSS
V_L FR1 J533	マウス	図 10A	110	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC
V_L FR2 J533	マウス	図 10A	111	WYQQKPGQPPNLLIF

【００６０】

【表６Ｃ】

V_L FR3 J533	マウス	図10A	112	GIPARFSGSGSGTDFTLTIYPVEADDVATY YC
V_L FR4 J533	マウス	図10A	113	FGGGTKLEIK
V_L FR1-FR4 J533	マウス	図10A	114	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCWYQQKPG QPPNLLIFGIPARFSGSGSGTDFTLTIYPV EADDVATYYCFGGGTKLEIK
V_H FR1 E99	マウス	図11A	115	QVQLKESGPGLVASSQSLSITCTVS
V_H FR2 E99	マウス	図11A	116	WVRQPPGKGLEWLG
V_H FR3 E99	マウス	図11A	117	RLNIFKDNSKNQVFLKMSSFQTDDTARYFC AR
V_H FR4 E99	マウス	図11A	118	WGQGTTLTVSS
V_H FR1-FR4 E99	マウス	図11A	119	QVQLKESGPGLVASSQSLSITCTVSWVRQP PGKGLEWLGRLNIFKDNSKNQVFLKMSSFQ TDDTARYFCARWGQGTTLTVSS
V_L FR1 E99	マウス	図12A	120	NIVMTQSQKFMSTSPGDRVRVTC
V_L FR2 E99	マウス	図12A	121	WYQAKPGQSPRILIY
V_L FR3 E99	マウス	図12A	122	GVPDRFTAYGSGTDFTLTITNVQSEDLTEY FC
V_L FR4 E99	マウス	図12A	123	FGAGTKLELK
V_L FR1-FR4 E99	マウス	図12A	124	NIVMTQSQKFMSTSPGDRVRVTCWYQAKPG QSPRILIYGVPDRFTAYGSGTDFTLTITNV QSEDLTEYFCFGAGTKLELK

【００６１】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片には、少なくとも１つの軽鎖または重鎖の免疫グロブリン、あるいは好ましくは、少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリンおよび少なくとも１つの重鎖免疫グロブリンが含まれる。好ましくは、軽鎖免疫グロブリンには、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えば、それぞれ配列番号２０（図１Ｂを参照されたい）または配列番号４８（図６を参照されたい）に示すマウスＪ５９１またはＪ４１５軽鎖可変部、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６または１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに：残基３、８、９、１０、１１、２０、２１、２２、４２、５８、６０、６３、７６、７７、７８、８０、８３、８７、１００、１０３、１０４および１０６（表２におけるようなＫａｂａｔ番号付け）、または残基１３、１５、１９、４１、６３、６８、および８０（表３におけるような直鎖番号付け）からなる群より選択される、１、２、３、４、５、６、７またはそれ以上の位で、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ軽鎖

フレームワーク（例えば、それぞれ配列番号８（図１Ｂを参照されたい）または配列番号３６（図６を参照されたい）に示すマウスＪ５９１またはＪ４１５軽鎖フレームワーク、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６または１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変フレームワーク）と異なる軽鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト軽鎖可変部が含まれる。

【００６２】

他の好ましい態様において、重鎖免疫グロブリンには、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば、それぞれ配列番号１９（図１Ａを参照されたい）または配列番号４７（図５を参照されたい）に示すマウスＪ５９１またはＪ４１５重鎖可変部、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６またはＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変部）由来の３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）、並びに：残基５、１１、１２、１６、１７、１９、４０、４１、４４、７５、７６、８２ａ、８３、８７、および１０８（表４におけるようなＫａｂａｔ番号付け）、または残基２０、８７、９４、９５および１１２（表５におけるような直鎖番号付け）からなる群より選択される、１、２、３、４、５またはそれ以上の位で、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ重鎖フレームワーク（例えば、それぞれ配列番号７（図１Ａを参照されたい）または配列番号３５（図５を参照されたい）に示すマウスＪ５９１またはＪ４１５重鎖可変部、あるいはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６または１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワーク）と異なる修飾重鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト重鎖可変部が含まれる。

【００６３】

さらに他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片には、少なくとも１つの軽鎖または重鎖の免疫グロブリン、あるいはより好ましくは、少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリンおよび少なくとも１つの重鎖免疫グロブリンが含まれる。好ましくは、軽鎖免疫グロブリンには、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えば配列番号２０（図１Ｂを参照されたい）に示すマウスＪ５９１軽鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに：

残基１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２または１３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１～１３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９または２０の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基８～２０の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８または２９の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１７～２９の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８または３９の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基２７～３９の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２または４３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基３０～４３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、または５７の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基４５～５７の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、または６８の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基５６～６８の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；

残基７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、ま

たは８３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７１～８３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；
残基７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４または８５の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７３～８５の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）；および
残基９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、１０１、１０２、１０３、１０４、１０５、または１０６の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基９４～１０６の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ｂにおけるような番号付け）
からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個の位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部、例えばマウスＪ５９１軽鎖可変部（配列番号２０またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）のフレームワークとは異なる修飾軽鎖フレームワークを含んでなる、修飾非ヒト軽鎖可変部が含まれる。

【００６４】

さらに他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片には、少なくとも１つの軽鎖または重鎖の免疫グロブリン、あるいはより好ましくは、少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリンおよび少なくとも１つの修飾重鎖免疫グロブリンが含まれる。好ましくは、軽鎖免疫グロブリンには、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えば配列番号４８（図３７）に示すマウスＪ４１５軽鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに：
残基５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基５～１８の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、または２４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１１～２４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、または２６の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１３～２６の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、または３０の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１７～３０の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、または４０の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基２７～４０の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、または４４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基３１～４４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、または６９の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基５６～６９の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、または７３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基６０～７３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、または８３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７０～８３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３または８４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７１～８４の１以上

を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５または８６の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７３～８６の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；
残基７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、または９２の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７６～９２の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）；および
残基８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、または９４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基８１～９４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図６におけるような直鎖番号付け）
からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７個の位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部、例えばマウスＪ４１５軽鎖可変部（配列番号４８またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）のフレームワークとは異なる軽鎖フレームワークを含んでなる、修飾非ヒト軽鎖可変部が含まれる。

【００６５】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば配列番号１９（図１Ａを参照されたい）に示すマウスＪ５９１重鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに：
残基２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、または１４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基２～１４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、または２２の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１０～２２の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、または２８の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１６～２８の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、または４２の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基３０～４２の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、または４４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基３２～４４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、または５５の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基４３～５５の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、または５８の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基４６～５８の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、または７０の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基５８～７０の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３または７４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基６２～７４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０または８１

の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基７０～８１の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、または９３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基８１～９３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９５、または９６の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基８４～９６の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；
残基９１、９２、９３、９５、９６、９７、９８、９９、１００、１０１、１０２、または１０３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基９１～１０３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）；および
残基１００、１０１、１０２、１０３、１０４、１０５、１０６、１０７、１０８、１０９、１１０、１１１、または１１２の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１００～１１２の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図３Ａにおけるような番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、５、７、１０個の位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば配列番号１９のマウスＪ５９１重鎖可変部またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワーク）のフレームワークとは異なる重鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト重鎖可変部が含まれる。

【００６６】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば配列番号４７（図５を参照されたい）に示すマウスＪ４１５重鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに：
残基１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２または２３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１０～２３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、または２９の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１６～２９の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、または３４の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基２１～３４の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、または４３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基３０～４３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、または４８の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基３５～４８の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、または５６の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基４３～５６の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８または５９の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基４６～５９の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、または６２の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基４９～６２の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７

６、または７７の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基６４～７７の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、または９３の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基８０～９３の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；
残基８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、または９９の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基８６～９９の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）；および
残基１０４、１０５、１０６、１０７、１０８、１０９、１１０、１１１、１１２、１１３、１１４、１１５、１１６、または１１７の１つ以上の、範囲内または隣接する位、あるいは残基１０４～１１７の１以上を含むＴ細胞エピトープ（図５におけるような番号付け）
からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５個の位で、非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば配列番号４７のマウスＪ５９１重鎖可変部またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変フレームワーク）のフレームワークとは異なる重鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト重鎖可変部が含まれる。

【００６７】

さらに他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片には、少なくとも１つの軽鎖または重鎖の免疫グロブリン、あるいはより好ましくは、少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリンおよび少なくとも１つの重鎖免疫グロブリンが含まれる。好ましくは、軽鎖免疫グロブリンには、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えば配列番号２０（図１Ｂ）に示すマウスＪ５９１軽鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部、例えばマウスＪ５９１軽鎖可変部のフレームワークと、少なくとも１つの位で異なるが、１、２、４～７、１２～１９、２３、３１～４１、４３～４９、５７、５９、６１、６２、６４～７５、７９、８２、８３、８５～８７、８９、９８、９９、１０１、１０２、１０５、および１０６（図３Ｂにおけるような番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、５、７、１０、１５、または２０残基で、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部由来の残基を有する、軽鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト軽鎖可変部が含まれる。軽鎖フレームワークは、３、８、９、１０、１１、２０、２１、２２、４２、５８、６０、６３、７６、７７、７８、８０、８３、８７、１００、１０３、および１０４（図３Ｂにおけるような番号付け）からなる群より選択される、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１９、２０またはそれ以上の残基から選択される位で、異なることが可能である。

【００６８】

さらに他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片には、少なくとも１つの軽鎖または重鎖の免疫グロブリン、あるいはより好ましくは、少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリンおよび少なくとも１つの重鎖免疫グロブリンが含まれる。好ましくは、修飾軽鎖免疫グロブリンには、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部（例えば配列番号４８（図６）に示すマウスＪ４１５軽鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部、例えばマウスＪ４１５軽鎖可変部のフレームワークと、少なくとも１つの位で異なるが、１～１２、１４、１６～１８、２０～４０、４２～６２、６４～６７、６９～７９、および８１～１０７（図６におけるような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、５、７、１０、１５、または２０残基で、非ヒト抗ＰＳＭＡ軽鎖可変部由来の残基を有する、軽鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト軽鎖可変部が含まれる。修飾軽鎖フレームワークは、１３、１５、１９、４１、６３、６８および８０（図６におけるような直鎖番号付け）からなる群より選

択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、または７位で、異なることが可能である。

【００６９】

他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば配列番号１９（図１Ａ）に示すマウスＪ５９１重鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部のフレームワークと、少なくとも１つの位で異なるが、１～４、６～１０、１３～１５、１８、２０～２５、３６～３９、４２、４３、４５～４９、６７～７５、７８～８３、８５、８６、８８～９０、９２～９８、１０５～１０９、および１１１～１１５（図３Ａにおけるような番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、または１４残基で、非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部由来の残基を有する、修飾重鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト重鎖可変部が含まれる。修飾重鎖フレームワークは、５、１１～１２、１６～１７、１９、２６～３５、４０～４１、４４、５０～６６、７６～７７、８４、８７、９１、９９～１０４、および１１０（図３Ａにおけるような番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、または１４位で、異なることが可能である。

【００７０】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には、非ヒト、例えばマウス、抗ＰＳＭＡ重鎖可変部（例えば配列番号４７（図５）に示すマウスＪ４１５重鎖可変部、またはＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０９を有するハイブリドーマ細胞株に産生される抗体の重鎖可変部）由来の３つのＣＤＲ、並びに非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部のフレームワークと、少なくとも１つの位で異なるが、１～１９、２１～８６、８８～９３、９６～１１１、および１１３～１１６（図５におけるような番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、または５残基で、非ヒト抗ＰＳＭＡ重鎖可変部由来の残基を有する、重鎖フレームワークを含んでなる、非ヒト重鎖可変部が含まれる。重鎖フレームワークは、２０、８７、９４、９５および１１２（図５に示すような番号付け）からなる群より選択される位で、異なることが可能である。

【００７１】

さらに別の側面において、抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には下記残基：残基１（グルタミン酸）、２（バリン）、４（ロイシン）、７（セリン）、８（グリシン）、１１（ロイシン）、１４（プロリン）、１５（グリシン）、１９（リジン）、２０（イソロイシン）、２１（セリン）、２２（システイン）、２５（セリン）、２６（グリシン）、２８（スレオニン）、２９（フェニルアラニン）、３２（チロシン）、３６（トリプトファン）、３７（バリン）、３８（アルギニン／リジン）、３９（グルタミン）、４１（プロリン）、４３（リジン）、４４（グリシン）、４５（ロイシン）、４６（グルタミン酸）、４７（トリプトファン）、５１（イソロイシン）、６７（アルギニン／リジン）、７３（アスパラギン酸）、７５（セリン）、８０（チロシン）、８５（セリン）、８６（ロイシン）、８７（アルギニン）、８９（グルタミン酸）、９０（アスパラギン酸）、９１（スレオニン）、９２（アラニン）、９３（バリン）、９４（チロシン）、９５（チロシン）９６（システイン）、１００（トリプトファン）、１０１（アスパラギン）、１０５（トリプトファン）、１０６（グリシン）、１０７（グルタミン）、１０８（グリシン）、１０９（スレオニン）、１１２（スレオニン）、１１３（バリン）、１１４（セリン）、または１１５（セリン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）の１以上より選択され、そして該残基の１以上より選択される位に位置する、少なくとも、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、２５、３０、３５、４０、４５、または５０アミノ酸残基を含んでなる、重鎖可変部が含まれる。

【００７２】

１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片

には：
残基１（グルタミン酸）、２（バリン）、４（ロイシン）、７（セリン）、８（グリシン）、１１（ロイシン）、１４（プロリン）、１５（グリシン）、１９（リジン）、２０（イソロイシン）、２１（セリン）、２２（システイン）、および２５（セリン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３アミノ酸を有する、フレームワーク領域１；
残基２６（グリシン）、２８（スレオニン）、２９（フェニルアラニン）、および３２（チロシン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４アミノ酸を有する、ＣＤＲ１；
残基３６（トリプトファン）、３７（バリン）、３８（アルギニン／リジン）、３９（グルタミン）、４１（プロリン）、４３（リジン）、４４（グリシン）、４５（ロイシン）、４６（グルタミン酸）、および４７（トリプトファン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０アミノ酸を有する、フレームワーク領域２；
５１位（図３Ａに示すような直鎖番号付け）での少なくとも１つのイソロイシンを有する、ＣＤＲ２；
残基６７（アルギニン／リジン）、７３（アスパラギン酸）、７５（セリン）、８０（チロシン）、８５（セリン）、８６（ロイシン）、８７（アルギニン）、８９（グルタミン酸）、９０（アスパラギン酸）、９１（スレオニン）、９２（アラニン）、９３（バリン）、９４（チロシン）、９５（チロシン）、および９６（システイン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４アミノ酸を有する、フレームワーク領域３；

残基１００（トリプトファン）および１０１（アスパラギン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２アミノ酸を有する、ＣＤＲ３；または
残基１０５（トリプトファン）、１０６（グリシン）、１０７（グルタミン）、１０８（グリシン）、１０９（スレオニン）、１１２（スレオニン）、１１３（バリン）、１１４（セリン）、および１１５（セリン）（図３Ａに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９アミノ酸を有する、フレームワーク領域４
の１以上が含まれる。

【００７３】
さらに別の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には下記残基：残基２（イソロイシン）、４（メチオニン）、５（スレオニン）、６（グルタミン）、８（プロリン）、１０（セリン）、１２（セリン）、１４（セリン）、１６（グリシン）、１７（グルタミン酸／アスパラギン酸）、１８（アルギニン）、２０（スレオニン）、２１（ロイシン）、２２（スレオニン）、２３（システイン）、２４（リジン）、２５（アラニン）、２６（セリン）、２９（バリン）、３０（グリシン）、３１（スレオニン）、３３（バリン）、３５（トリプトファン）、３６（チロシン）、３７（グルタミン）、３８（グルタミン）、３９（リジン）、４０（プロリン）、４３（セリン）、４４（プロリン）、４５（リジン）、４７（ロイシン）、４８（イソロイシン）、４９（チロシン）、５１（アラニン）、５２（セリン）、５４（アルギニン）、５６（スレオニン）、５７（グリシン）、５９（プロリン）、６１（アルギニン）、６２（フェニルアラニン）、６３（セリン）、６４（グリシン）、６５（セリン）、６６（グリシン）、６７（セリン）、６８（グリシン）、６９（スレオニン）、７０（アスパラギン酸）、７１（フェニルアラニン）、７３（ロイシン）、７４（スレオニン）、７５（スレオニン）、７６（セリン）、７７（セリン）、７９（グルタミン）、８１（グルタミン酸）、８２（アスパラギン酸）、８５（アスパラギン酸）、８６（チロシン）、８７（チロシ

ン）、８８（システイン）、９０（グルタミン）、９５（プロリン）、９７（スレオニン）、９８（フェニルアラニン）、９９（グリシン）、１０１（グリシン）、１０２（スレオニン）、１０３（リジン）、１０５（グルタミン酸／アスパラギン酸）または１０７（リジン）（図３Ｂにおけるような直鎖番号付け）の１以上より選択され、そして該残基の１以上より選択される位に位置する、少なくとも、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、２０、３０、４０、５０、６０、または７０アミノ酸を含んでなる、軽鎖可変部が含まれる。

【００７４】

１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖免疫グロブリン、またはその抗原結合断片には：

残基２（イソロイシン）、４（メチオニン）、５（スレオニン）、６（グルタミン）、８（プロリン）、１０（セリン）、１２（セリン）、１４（セリン）、１６（グリシン）、１７（グルタミン酸／アスパラギン酸）、１８（アルギニン）、２０（スレオニン）、２１（ロイシン）、２２（スレオニン）、および２３（システイン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１４、１５アミノ酸を有する、フレームワーク領域１；

残基２４（リジン）、２５（アラニン）、２６（セリン）、２９（バリン）、３０（グリシン）、３１（スレオニン）、および３３（バリン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７アミノ酸を有する、ＣＤＲ１；

残基３５（トリプトファン）、３６（チロシン）、３７（グルタミン）、３８（グルタミン）、３９（リジン）、４０（プロリン）、４３（セリン）、４４（プロリン）、４５（リジン）、４７（ロイシン）、４８（イソロイシン）、および４９（チロシン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２アミノ酸を有する、フレームワーク領域２；

残基５１（アラニン）、５２（セリン）、５４（アルギニン）、および５６（スレオニン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４アミノ酸を有する、ＣＤＲ２；

残基５９（プロリン）、６１（アルギニン）、６２（フェニルアラニン）、６３（セリン）、６４（グリシン）、６５（セリン）、６６（グリシン）、６７（セリン）、６８（グリシン）、６９（スレオニン）、７０（アスパラギン酸）、７１（フェニルアラニン）、７３（ロイシン）、７４（スレオニン）、７５（スレオニン）、７６（セリン）、７７（セリン）、７９（グルタミン）、８１（グルタミン酸）、８２（アスパラギン酸）、８５（アスパラギン酸）、８６（チロシン）、８７（チロシン）、および８８（システイン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、２０、２１、２２、２３、２４アミノ酸を有する、フレームワーク領域３；

残基９０（グルタミン）、９５（プロリン）、９７（スレオニン）、および９８（フェニルアラニン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４アミノ酸を有する、ＣＤＲ３；または

残基９９（グリシン）、１０１（グリシン）、１０２（スレオニン）、１０３（リジン）、１０５（グルタミン酸／アスパラギン酸）、および１０７（リジン）（図３Ｂに示すような直鎖番号付け）からなる群より選択される、少なくとも１、２、３、４、５、６アミノ酸を有する、フレームワーク領域４

の１以上が含まれる。

【００７５】

本明細書に記載する抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片は、単独で使用可能であり、例えば、非誘導体型または非コンジュゲート型で、被験者に投与可能であるし、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで使用可能である。他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、誘導体化するか、または別の分子実体、典

型的には標識もしくは療法（例えば細胞傷害性または細胞分裂抑制性）剤に連結することが可能である。分子実体は、例えば別のペプチド、タンパク質（例えば組換えウイルス粒子の例えばウイルスコートタンパク質を含む）、非ペプチド化学的化合物、同位体などであることが可能である。抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、例えば化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合、または別の方式で、１以上の他の分子実体に、機能可能であるように連結することが可能である。例えば、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、蛍光標識、生物学的活性酵素標識、放射性同位体（例えば放射性イオン）、核磁気共鳴活性標識、発光標識、または発色団などの標識にカップリングすることが可能である。他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、療法剤、例えば細胞傷害性部分、例えば療法薬剤、放射性同位体、植物、真菌、もしくは細菌起源の分子、または生物学的タンパク質（例えばタンパク質毒素）もしくは粒子（例えばウイルスコートタンパク質を介して、例えば組換えウイルス粒子に）、あるいはそれらの混合物にカップリングすることが可能である。療法剤は、細胞内で活性である薬剤または他の剤、例えば本明細書に記載するような、短距離高エネルギーα放射体（エミッター）を含む、短距離放射能放射体であることが可能である。いくつかの好ましい態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、植物または細菌起源の分子（またはその誘導体）、例えばメイタンシノイド（例えばメイタンシノールまたはＤＭ１メイタンシノイド、図１５を参照されたい）、タキサン、またはカリケアマイシンにカップリングすることが可能である。放射性同位体は、α、β、またはγ放射体、あるいはβおよびγ放射体であることが可能である。療法剤として有用な放射性同位体には、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、プラセオジム、アスタチン（^{211}Ａｔ）、レニウム（^{186}Ｒｅ）、ビスマス（^{212}ＢｉまたはＢｉ）、およびロジウム（^{188}Ｒｈ）が含まれる。例えば診断剤で使用するための、標識として有用な放射性同位体には、ヨウ素（^{131}ＩまたはＩ）、インジウム（^{111}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}ｍＴｃ）、リン（^{32}Ｐ）、炭素（^{14}Ｃ）、およびトリチウム（^{3}Ｈ）、または上に列挙される療法的同位体の１つが含まれる。また抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、別の抗体に連結して、例えば二特異性または多特異性抗体を形成することが可能である。

【００７６】

別の側面において、本発明は、例えば共有結合によって、プロテオソーム阻害剤またはトポイソメラーゼ阻害剤にカップリングした抗ＰＳＭＡ抗体、例えば本明細書に記載する抗体を特徴とする。［（１Ｒ）－３－メチル－１－［［（２Ｓ）－１－オキソ－３－フェニル－２－［（３－メルカプトアセチル）アミノ］プロピル］アミノ］ブチル］ボロン酸が適切なプロテオソーム阻害剤である。Ｎ，Ｎ’－ビス［２－（９－メチルフェナジン－１－カルボキサミド）エチル］－１，２－エタンジアミンが適切なトポイソメラーゼ阻害剤である。

【００７７】

別の側面において、本発明は、薬剤的に許容しうるキャリアー、賦形剤または安定化剤、および少なくとも１つの抗ＰＳＭＡ抗体、例えば本明細書に記載する修飾抗ＰＳＭＡ抗体（またはその断片）を含む、組成物、例えば薬剤組成物を提供する。好ましい態様において、抗体を標識または療法剤にコンジュゲート化する。１つの態様において、組成物、例えば薬剤組成物は、前述の抗ＰＳＭＡ抗体の２以上の組み合わせを含んでなる。例えば、組成物、例えば薬剤組成物は、例えば、別の抗ＰＳＭＡ抗体、または別の腫瘍細胞関連抗原、例えばＥＧＦ受容体、Ｈｅｒ－２／ｎｅｕなどに対する抗体と組み合わせた、脱免疫Ｊ５９１抗体を含んでなる。抗ＰＳＭＡ抗体および薬剤、例えば療法剤（例えば細胞傷害性薬剤または細胞分裂抑制性薬剤、例えば、ＤＭ１、カリケアマイシン、またはタキサン、トポイソメラーゼ阻害剤、または免疫調節剤、例えばＩＬ－１、２、４、６、または１２、インターフェロン・アルファまたはガンマ、あるいはＧＭ－ＣＳＦなどの免疫細胞増殖因子）の組み合わせもまた、本発明の範囲内である。

【００７８】

本発明はまた、本明細書に記載する重鎖および軽鎖の免疫グロブリンをコードする核酸配列も特徴とする。例えば、本発明は、本明細書に記載するような修飾抗ＰＳＭＡ抗体分子の、それぞれ、修飾重鎖および軽鎖の可変部をコードする、第一の核酸および第二の核酸を特徴とする。別の側面において、本発明は、本発明の核酸を含有する宿主細胞およびベクターを特徴とする。

【００７９】

別の側面において、本発明は、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を産生する方法を特徴とする。該方法は：

重鎖可変部、例えば本明細書に記載するような修飾重鎖可変部をコードする第一の核酸を提供し；

軽鎖可変部、例えば本明細書に記載するような修飾軽鎖可変部をコードする第二の核酸を提供し；そして

前記の第一の核酸および第二の核酸を、前記軽鎖および重鎖の可変部の発現および組み立てを可能にする条件下で、宿主細胞に導入する

ことを含む。

【００８０】

第一の核酸および第二の核酸は、連結されることも、またはされないことも可能であり、例えば、それぞれ、同一のまたは異なるベクター上に発現されることが可能である。

宿主細胞は、真核細胞、例えば哺乳動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞、または原核細胞、例えば大腸菌（Ｅ．　ｃｏｌｉ）であることが可能である。例えば、哺乳動物細胞は、培養細胞または細胞株であることが可能である。典型的な哺乳動物細胞には、リンパ球細胞株（例えばＮＳ０）、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）、ＣＯＳ細胞、卵母細胞、およびトランスジェニック動物由来の細胞、例えば乳腺上皮細胞が含まれる。例えば、本明細書に記載する修飾抗体をコードする核酸を、トランスジェニック動物において発現することが可能である。１つの態様において、核酸は、組織特異的プロモーター（例えば乳腺特異的プロモーター）の制御下に置かれ、そしてトランスジェニック動物において、抗体が産生される。例えば、抗体分子は、トランスジェニックウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギまたはげっ歯類などのトランスジェニック動物のミルク中に分泌される。

【００８１】

本発明はまた、細胞、例えば前立腺細胞（例えば癌性または非癌性前立腺細胞、例えば正常、良性または過形成性前立腺上皮細胞）、または悪性非前立腺細胞、例えばＰＳＭＡを発現する血管系、軟組織腫瘍、もしくは転移性病変を有する非前立腺固形腫瘍に見られる細胞（例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、結腸、直腸、肺、乳房または肝臓の癌および／またはその転移に見られる細胞）を除去するかまたは殺す方法も特徴とする。本発明の方法には、該細胞、または近くの細胞、例えば該細胞に近接する血管内皮細胞を、該細胞を除去するかまたは殺すのに十分な量の、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体と接触させることが含まれる。あるいは、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体、好ましくは修飾抗ＰＳＭＡ抗体断片を、ウイルス粒子、例えばウイルス粒子のコートタンパク質にコンジュゲート化することが可能である。抗ＰＳＭＡ／ウイルス粒子コンジュゲートを用いて、細胞に感染し、そして例えばアポトーシス促進性遺伝子を発現させる遺伝子操作ウイルス粒子で、前立腺細胞、例えば癌性前立腺細胞をターゲッティングし、それによって、該細胞を殺すか、または細胞増殖を阻害することが可能である。

【００８２】

該方法は、例えばｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏで、培養中の細胞に使用可能である。例えば、前立腺細胞（例えば悪性または正常、良性または過形成性前立腺上皮細胞）または非前立腺癌性細胞または転移性細胞（例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、膵臓（例えば膵管）、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫の癌性細胞）を、培地中、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養することが可能であり

、そして接触工程は、修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を培地に添加することによって、達成可能である。該方法は、ｉｎ　ｖｉｖｏ（例えば療法または予防）プロトコルの一部として、被験者に存在する細胞（例えば前立腺細胞または非前立腺癌性細胞または転移性細胞）に対して行うことが可能である。

【００８３】

本発明の方法を用いて、障害、例えば前立腺障害（例えば癌性または非癌性前立腺障害、例えば良性または過形成性前立腺障害）、または非前立腺障害（例えば癌、例えば悪性癌）を治療するかまたは防止するのに有効な量で、被験者に、本明細書に記載する抗体、好ましくは修飾ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を投与することによって、こうした障害を例えば治療するかまたは防止することが可能である。特に好ましい抗体には、Ｊ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＥ９９のいずれか由来のＣＤＲを有する修飾抗体、そして特に、これらの抗体の脱免疫型、特にｄｅＪ５９１またはｄｅＪ４１５が含まれる。治療または防止可能な前立腺障害の例には、限定されるわけではないが、前立腺炎におけるような尿生殖器炎症（例えば平滑筋細胞の炎症）；良性腫脹、例えば結節過形成（良性前立腺肥大または過形成）；並びに前立腺および／または精巣腫瘍の癌、例えば腺癌または癌腫が含まれる。本明細書に開示する方法および組成物は、前立腺癌に関連する転移性病変を治療するのに特に有用である。いくつかの態様において、患者は、１以上の前立腺切除術、化学療法、または他の抗腫瘍療法を経験しているだろうし、そして主な標的または単一の標的は、転移性病変、例えば骨髄またはリンパ節の転移であろう。非前立腺癌性障害の例には、限定されるわけではないが、固形腫瘍、軟組織腫瘍、および特に転移性病変が含まれる。固形腫瘍の例には、肺、乳房、リンパ系、胃腸（例えば結腸）、生殖器および尿生殖路（例えば腎細胞、尿路上皮細胞、膀胱細胞）、咽頭、ＣＮＳ（例えば神経細胞またはグリア細胞）、皮膚（例えば黒色腫）、および膵臓に影響を及ぼすものなどの多様な器官系の悪性腫瘍、例えば肉腫、腺腫、および癌腫と共に、大部分の結腸癌、直腸癌、腎細胞癌腫、肝臓癌、肺非小細胞癌、小腸の癌および食道の癌などの悪性腫瘍を含む、腺癌が含まれる。本明細書に開示される方法および組成物は、前述の癌に関連する転移性病変を治療するのに特に有用である。いくつかの態様において、患者は、組織の外科的除去、化学療法、または他の抗癌療法の１以上を経験しているだろうし、そして主な標的または単一の標的は、転移性病変、例えば骨髄またはリンパ節の転移であろう。

【００８４】

好ましい態様において、被験者を治療して、障害、例えば前立腺障害を防止する。被験者は、障害のリスクがあるもの、例えば障害に罹患した親類を有する被験者、例えば、該障害を有するかまたは有した、祖父母、親、おじまたはおば、兄弟姉妹、または子どもを持つ被験者、あるいは該障害のリスクと関連付けられる遺伝的特質を有する被験者であることが可能である。好ましい態様において、障害は前立腺障害（例えば癌性または非癌性前立腺障害、例えば良性または過形成性前立腺障害）または非前立腺障害（例えば癌、例えば悪性癌）であり、そして被験者は、該障害を有するかまたは有した、祖父、父、おじ、兄弟、または息子の１以上を有するか、あるいは該障害のリスクと関連付けられる遺伝的特質を有する。

【００８５】

被験者は、哺乳動物、例えば霊長類、好ましくはより高次の霊長類、例えばヒト（例えば本明細書に記載する障害、例えば前立腺または癌障害を有するかまたはそのリスクがある患者）であることが可能である。１つの態様において、被験者は、前立腺癌を有する患者（例えば再発性または転移性前立腺癌を患う患者）である。

【００８６】

修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片、例えば本明細書に記載するような修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を、被験者に全身投与（例えば経口、非経口、皮下、静脈内、直腸、筋内、腹腔内、鼻内、経皮投与、または吸入もしくは腔内設置によって）、局所投与、あるいは鼻、咽頭および気管支などの粘膜に適用することによって投与することが可能である。

【００８７】
本発明の方法、例えば治療法または防止法は：腫瘍サイズ；前立腺癌患者の癌マーカーのレベル、例えばＰＳＡ、アルカリホスファターゼ、または血清ヘモグロビンのレベル；例えば骨スキャンにおける新たな病変の出現率；新たな疾患関連症状の出現；例えば減少したかまたは安定した、軟組織塊のサイズ；生活の質、例えば疾患に関連する痛み、例えば骨の痛みの量；または臨床的結果に関連する他のパラメーターいずれかの１以上の、例えば変化（例えば増加または減少）に関して、被験者を監視する工程をさらに含むことが可能である。被験者を、以下の期間：治療開始前；治療中；または治療の１以上の要素が投与された後の１以上に、監視することが可能である。監視を用いて、同一の修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片でのさらなる治療の必要性を、あるいはさらなる剤でのさらなる治療の必要性を、評価することが可能である。一般的に、上述の１以上のパラメーターの減少は、被験者の状態が改善していることの指標となるが、血清ヘモグロビンレベルでは、増加が、被験者の状態の改善と関連する可能性がある。

【００８８】
本発明の方法は、被験者由来の核酸またはタンパク質を解析する、例えば被験者の遺伝子型を解析する工程をさらに含むことが可能である。１つの態様において、ヒトＰＳＭＡおよび／またはヒトＰＳＭＡシグナル伝達の上流または下流構成要素（単数又は複数）、例えばヒトＰＳＭＡの細胞外または細胞内活性化因子または阻害剤をコードする核酸を解析する。該解析を用いて、例えば代替治療間、例えば特定の投薬量、搬送様式、搬送時間、補助療法の包含、例えば第二の剤と併用した投与の適切性を評価するか、または選択し、あるいは一般的に、被験者のありうる薬剤応答表現型または遺伝子型を決定することが可能である。核酸またはタンパク質は、治療のいかなる段階でも解析可能であるが、好ましくは修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片の投与前に解析して、それによって修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片の、被験者の予防的または療法的治療に適した投薬量（単数又は複数）および治療措置（単数又は複数）（例えば治療あたりの量または治療頻度）を決定することが可能である。

【００８９】
修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を、単独で、非コンジュゲート化型で用いて、それによって、例えば補体仲介細胞溶解および／またはエフェクター細胞仲介殺細胞など、抗体に依存する殺細胞機構によって、ＰＳＭＡ発現前立腺細胞または癌性細胞を除去するかまたは殺すことが可能である。他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を、物質、例えば細胞傷害性剤または部分、例えば療法薬剤、放射能放射化合物、植物、真菌、もしくは細菌起源の分子、または生物学的タンパク質（例えばタンパク質毒素）もしくは粒子（例えばウイルスコートタンパク質を介して、例えば組換えウイルス粒子に）に結合させることが可能である。例えば、修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、α、β、またはγ放射体、あるいはβおよびγ放射体などの放射性同位体にカップリングすることが可能である。放射性同位体の例には、ヨウ素（^{131}Ｉまたは^{125}Ｉ）、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、プラセオジム、またはビスマス（^{212}Ｂｉまたは^{213}Ｂｉ）が含まれる。あるいは、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、生物学的タンパク質、植物または細菌起源の分子（またはその誘導体）、例えばメイタンシノイド（例えばメイタンシノールまたはＤＭ１）と共にタキサン（例えばタキソールまたはタキソテール）、またはカリケアマイシンにカップリングすることが可能である。メイタンシノイドは、例えば、メイタンシノールまたはメイタンシノール類似体であることが可能である。メイタンシノール類似体の例には、修飾芳香族環を有するもの（例えばＣ－１９－デクロロ（ｄｅｃｌｏｒｏ）、Ｃ－２０－デメトキシ、Ｃ－２０－アシルオキシ）、および他の位に修飾を有するもの（例えばＣ－９－ＣＨ、Ｃ－１４－アルコキシメチル、Ｃ－１４－ヒドロキシメチルまたはアセロキシ（ａｃｅｌｏｘｙ）メチル、Ｃ－１５－ヒドロキシ／アシルオキシ、Ｃ－１５－メトキシ、Ｃ－１８－Ｎ－デメチル、４，５－デオキシ）が含まれる。メイタンシノールおよびメイタンシノール類似体は、例えば、米国特許第６，３３３，４１０号に記載され、

該特許の内容は、本明細書に援用される。カリケアマイシンは、例えば、ブロモ複合体カリケアマイシン（例えばアルファ、ベータまたはガンマブロモ複合体）、ヨード複合体カリケアマイシン（例えばアルファ、ベータまたはガンマヨード複合体）、またはその類似体および模倣体（ｍｉｍｉｃｓ）であることが可能である。ブロモ複合体カリケアマイシンには、α_1－ＢＲ、α_2－ＢＲ、α_3－ＢＲ、α_4－ＢＲ、β_1－ＢＲ、β_2－ＢＲおよびγ_1－ＢＲが含まれる。ヨード複合体カリケアマイシンには、α_1－Ｉ、α_2－Ｉ、α_3－Ｉ、β_1－Ｉ、β_2－Ｉ、δ_1－Ｉおよびγ_1－ＢＲが含まれる。カリケアマイシン、並びにその突然変異体、類似体および模倣体は、例えば米国特許第４，９７０，１９８号、１９９０年１１月１３日発行、第５，２６４，５８６号、１９９３年１１月２３日発行、第５，５５０，２４６号、１９９６年８月２７日発行、第５，７１２，３７４号、１９９８年１月２７日発行、および第５，７１４，５８６号、１９９８年２月３日発行に記載され、これらの内容は本明細書に援用される。メイタンシノールを、例えばＮ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルジチオ）ペンタノエートまたはＳＰＰとしても知られる）、４－スクシンイミジル－オキシカルボニル－ａ－（２－ピリジルジチオ）－トルエン（ＳＭＰＴ）、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）ブチレート（ＳＤＰＢ）、２－イミノチオレーン、またはＳ－アセチル無水コハク酸を用いて、抗体にカップリングさせることが可能である。

【００９０】

本発明の方法および組成物は、他の療法様式と併用可能である。１つの態様において、本発明の方法には、被験者に、修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片、例えば本明細書に記載するような修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を、細胞傷害性剤と併用して、前記障害を治療するかまたは防止するのに有効な量で投与することが含まれる。抗体および細胞傷害性剤は、同時にまたは連続して投与可能である。他の態様において、本発明の方法および組成物は、外科的方法および／または放射線方法と併用する。さらに他の態様において、該方法は、免疫調節剤、例えばＩＬ－１、２、４、６、または１２、あるいはインターフェロン・アルファまたはガンマ、あるいはＧＭ－ＣＳＦなどの免疫細胞増殖因子と併用可能である。

【００９１】

抗ＰＳＭＡ抗体と併用投与可能な典型的な細胞傷害性剤には、微小管阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤、代謝拮抗剤、有糸分裂阻害剤、アルキル化剤、挿入（ｉｎｔｅｒｃａｌａｔｉｎｇ）剤、シグナル伝達経路に干渉可能な剤、アポトーシスを促進する剤および放射線が含まれる。

【００９２】

前立腺障害、例えば前立腺癌の療法において、抗ＰＳＭＡ抗体は、現存する療法様式、例えば前立腺切除術（部分的または根治的）、放射線療法、ホルモン療法、アンドロゲン除去療法、および細胞傷害性化学療法と併用可能である。典型的には、ホルモン療法は、患者におけるアンドロゲンレベルを減少させるように働き、そして黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）類似体またはアゴニスト（例えばリュープロン、ゾラデックス、ロイプロリド、ブセレリン、またはゴセレリン）と共にアンタゴニスト（例えばアバレリクス）を投与することを伴うことが可能である。非ステロイド性抗アンドロゲン、例えばフルタミド、ビカルタミド（ｂｉｃａｌｔｉｍａｄｅ）、またはニルタミドもまた、ホルモン療法に使用可能であり、これと共に、ステロイド性抗アンドロゲン（例えば酢酸シプロテロンまたは酢酸メゲストロール（ｍｅｇａｓｔｒｏｌ））、エストロゲン（例えばジエチルスチルベストロール）、外科的去勢、ＰＲＯＳＣＡＲ^{TM}、二次または三次ホルモン操作（例えばコルチコステロイド（例えばヒドロコルチゾン、プレドニゾン、またはデキサメタゾン）、ケトコナゾール、および／またはアミノグルテチミドを伴う）、５ａ－レダクターゼ阻害剤（例えばフィナステリド（ｆｉｎｉｓｔｅｒｉｄｅ））、ハーブ剤（例えばＰＣ－ＳＰＥＳ）、下垂体摘出術、および副腎摘出術もまた使用可能である。さらに、ホルモン療法は、断続的に、または上記治療のいずれかとの併用を用いて、例えばロイ

プロリドおよびフルタミドを併用して、行うことが可能である。

【００９３】

修飾抗ＰＳＭＡおよび他の療法様式のいかなる併用および順序も使用可能である。修飾抗ＰＳＭＡおよび他の療法様式を、活性な障害の期間中に、あるいは寛解またはより低活性な疾患の期間中に、投与することが可能である。修飾抗ＰＳＭＡおよび他の療法様式は、治療前、治療と同時、治療後、または障害の寛解中に、投与可能である。

【００９４】

別の側面において、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、試料（例えば生物学的試料、例えば血清、精液または尿、あるいは組織生検、例えば前立腺病変または癌性病変由来の組織生検）におけるＰＳＭＡタンパク質の存在を検出する方法を特徴とする。本方法を用いて、本明細書に記載する障害、例えば前立腺障害または癌性障害を評価する、例えば該障害を診断するかまたは病期決定することが可能である。該方法には：（ｉ）試料（および場合によって、参照、例えば対照試料）を、本明細書に記載するような修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその断片と、抗ＰＳＭＡ抗体およびＰＳＭＡタンパク質の相互作用が生じるのを可能にする条件下で接触させ；そして（ｉｉ）抗ＰＳＭＡ抗体、および試料（および場合によって、参照、例えば対照試料）の間の複合体の形成を検出することが含まれる。複合体の形成は、ＰＳＭＡタンパク質の存在の指標となり、そして本明細書に記載する治療の適切性または該治療に対する必要性の指標となることが可能である。例えば、参照試料、例えば対照試料に比較した、試料中の複合体形成の統計的に有意な変化は、試料中のＰＳＭＡの存在の指標となる。いくつかの態様において、該方法は、１より多い抗ＰＳＭＡ抗体、例えばＰＳＭＡ上の異なるエピトープに結合する２つの抗ＰＳＭＡ抗体の使用を含むことが可能である。例えば、該方法は、例えば実施例１９に記載するように、ＥＬＩＳＡアッセイを伴うことが可能である。

【００９５】

さらに別の側面において、本発明は、ｉｎ　ｖｉｖｏで（例えば被験者においてｉｎ　ｖｉｖｏイメージングで）ＰＳＭＡの存在を検出する方法を提供する。該方法を用いて、被験者、例えば哺乳動物、例えば霊長類、例えばヒトの、本明細書に記載する障害、例えば前立腺障害または癌性障害を評価する、例えば該障害を診断するかまたは病期決定することが可能である。該方法には：（ｉ）被験者に、修飾抗ＰＳＭＡ抗体（またはその抗原結合断片）を、修飾抗ＰＳＭＡ抗体（またはその断片）およびＰＳＭＡタンパク質の相互作用が生じるのを可能にする条件下で投与し；そして（ｉｉ）抗体または断片およびＰＳＭＡ間の複合体の形成を検出することが含まれる。参照、例えば対照被験者または被験者のベースラインに比較した、被験者における複合体形成の統計的に有意な変化は、ＰＳＭＡ存在の指標となる。

【００９６】

他の態様において、本明細書に記載するような障害（例えば前立腺障害または癌性障害）を診断するかまたは病期決定する方法を提供する。該方法には：（ｉ）障害を有するかまたは障害を有するリスクがある被験者を同定し；（ｉｉ）障害に罹患した組織または細胞の試料を得て；（ｉｉｉ）前記試料または対照試料と、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体または断片を、結合剤およびＰＳＭＡタンパク質の相互作用が生じるのを可能にする条件下で接触させ；そして（ｉｖ）複合体の形成を検出することが含まれる。参照試料、例えば対照試料に比較した、抗体（またはその断片）間の複合体形成の統計的に有意な増加は、障害の指標となるかまたは障害の病期の指標となる。

【００９７】

好ましくは、ｉｎ　ｖｉｖｏおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏ診断法で用いる、修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片は、検出可能な物質で、直接または間接的に標識されて、結合している結合剤または結合していない結合剤の検出を容易にする。適切な検出可能物質には、多様な生物学的活性酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、常磁性（例えば核磁気共鳴活性）物質、および放射性物質が含まれる。いくつかの態様において、修飾ＰＳＭＡ抗体ま

たはその断片を放射性イオン、例えばインジウム（^{111}Ｉｎ）、ヨウ素（^{131}Ｉまたは^{125}Ｉ）、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、ビスマス（^{212}Ｂｉまたは^{213}Ｂｉ）、イオウ（^{35}Ｓ）、炭素（^{14}Ｃ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、ロジウム（^{188}Ｒｈ）、テクネチウム（^{99}ｍＴｃ）、プラセオジム、またはリン（^{32}Ｐ）とカップリングする。

【００９８】

別の側面において、本発明は、被験者、例えばヒト被験者に、放射性同位体にコンジュゲート化した抗ＰＳＭＡ抗体を投与する際に、異なる組織が曝露される用量、例えば放射線量を決定する方法を提供する。該方法には：（ｉ）放射性同位体、例えば^{111}Ｉｎで標識された、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体を、被験者に投与し；（ｉｉ）大部分の、例えば５０％、８０％、９０％、９５％またはそれ以上の放射性同位体が被験者の体から除去されるまでの多様な時点で、異なる組織、例えば前立腺、肝臓、腎臓、または血液に位置する放射性同位体の量を測定し；そして（ｉｉｉ）解析した各組織が受け取った放射線の総線量を計算することが含まれる。いくつかの態様において、測定は、被験者への放射性標識抗ＰＳＭＡ抗体投与（第０日）後、スケジュールされた時点、例えば第１日、第２日、第３日、第５日、第７日、および第１２日に行う。いくつかの態様において、１つの放射性同位体、例えばガンマ放射体、例えば^{111}Ｉｎに関して、組織が受け取る放射線量を用いて、同一組織が、異なる放射性同位体、例えばベータ放射体、例えば^{90}Ｙから受け取るであろう、期待される線量を計算することが可能である。

【００９９】

別の側面において、本発明は、前立腺疾患、例えば良性前立腺過形成もしくは前立腺癌、または非前立腺癌、例えばＰＳＭＡを発現する血管系を有する癌（例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、または膵臓（例えば膵管）の癌、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫）を有するか、または該疾患と診断された被験者が経験する痛みを治療する、例えば痛みを減少させる方法を特徴とする。該方法には、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体を、前立腺疾患または非前立腺癌と関連する痛みを治療する、例えば減少させるのに十分な量で、被験者に投与することが含まれる。いくつかの態様において、被験者は、例えば血清ＰＳＡレベルの上昇および痛みの感覚以外には、前立腺疾患または非前立腺癌の徴候を持たない可能性がある。痛みは、骨の痛みと共に、腫脹する前立腺のための閉塞性排尿症状、例えば排尿躊躇または尿流減少、頻尿または夜間多尿に関連する痛みであることが可能である。本発明の修飾抗ＰＳＭＡ抗体を用いた痛みの治療は、鎮痛薬、例えば麻薬の必要性を減少させるか、または劇的に低下させるか、または除去することさえ可能である。さらに、痛みを減少させることによって、治療法は、動きに関連する痛みの結果、機能不全となっていた、例えば肢の移動度を回復することが可能である。

【０１００】

いくつかの態様において、前立腺疾患または非前立腺癌と関連する痛みを治療する、例えば減少させるのに十分な量で、非コンジュゲート型で、修飾抗ＰＳＭＡ抗体を投与する。他の態様において、修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、本明細書に記載するように、誘導体型で、例えば別の機能する分子と連結させて、投与する。

【０１０１】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および請求項から、より明らかになるであろう。

【０１０２】

（発明の詳細な説明）

本発明は、とりわけ、ヒト前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）の細胞外ドメインに対する抗体、例えば修飾抗体、またはその抗原結合断片を提供する。修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片は、既定の種、例えばヒトに対するその非修飾対応物と比較して、よ

り低い免疫原性を与えられている。ヒトＰＳＭＡは、正常、良性過形成性上皮細胞（例えば良性前立腺分泌腺房上皮）、および癌性前立腺上皮細胞（例えば前立腺上皮内異常増殖および前立腺腺癌）と共に、癌性細胞、例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、膵臓（例えば膵管）、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫の癌性細胞に近接した血管内皮細胞の表面上に発現される。本発明の抗体、例えば修飾抗体は、ＰＳＭＡを発現する細胞の細胞表面に結合する。ＰＳＭＡは、通常、細胞膜から細胞にリサイクルされる。したがって、本発明の抗体は、ＰＳＭＡ再循環過程を通じて、ＰＳＭＡと共に内部に入り、それによって、抗体にコンジュゲート化した剤、例えば標識剤、細胞傷害性剤、またはウイルス粒子（例えば細胞傷害性剤、例えばアポトーシス促進因子をコードする遺伝子を含有するウイルス粒子）の搬送(delivery)を可能にする。

【０１０３】

本発明をより容易に理解可能にするため、まず特定の用語を定義する。詳細な説明を通じて、さらなる定義を示す。

本明細書において、「ＰＳＭＡ」または「前立腺特異的膜抗原」タンパク質は、哺乳動物ＰＳＭＡ、好ましくはヒトＰＳＭＡタンパク質を指す。ヒトＰＳＭＡには、その内容が本明細書に援用される、Ｉｓｒａｅｌｉら（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：２２７－２３０；Ｓｕら（１９９５）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５５：１４４１－１４４３；ＵＳ ５，５３８，８６６、ＵＳ ５，９３５，８１８、およびＷＯ ９７／３５６１６に開示されるＰＳＭＡ ｃＤＮＡの２つの選択的スプライシングｍＲＮＡ変異体（それぞれ約２，６５３ヌクレオチドおよび約２，３８７ヌクレオチドを含有する）にコードされる２つのタンパク質産物、ＰＳＭＡおよびＰＳＭ’が含まれる。ＰＳＭＡの長い転写物は、トランスフェリン受容体と配列相同性を有し、そしてＮＡＡＬＡＤアーゼ活性を有する、ＩＩ型膜貫通受容体として性質決定される、約１００～１２０ｋＤａ分子量のタンパク質産物をコードする（Ｃａｒｔｅｒら（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：７４９－７５３）。したがって、用語「ヒトＰＳＭＡ」は、Ｉｓｒａｅｌｉら（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：２２７－２３０；Ｓｕら（１９９５）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５５：１４４１－１４４３；ＵＳ ５，５３８，８６６、ＵＳ ５，９３５，８１８、およびＷＯ ９７／３５６１６に示されるようなアミノ酸配列を有するかまたは該アミノ酸配列に相同である（例えば少なくとも約８５％、９０％、９５％同一である）か；あるいは（ａ）天然存在（自然発生）ヒトＰＳＭＡ核酸配列（例えばＩｓｒａｅｌｉら（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：２２７－２３０またはＵＳ ５，５３８，８６６）；（ｂ）天然存在ヒトＰＳＭＡ配列に縮重した核酸配列；（ｃ）天然存在ヒトＰＳＭＡ核酸配列に相同な（例えば少なくとも約８５％、９０％、９５％同一の）核酸配列；または（ｄ）ストリンジェントな条件下、例えば非常にストリンジェントな条件下で、前述の核酸配列の１つにハイブリダイズする核酸配列にコードされる、少なくとも２つのタンパク質産物、ヒトＰＳＭＡおよびＰＳＭ’を指す。

【０１０４】

「抗ＰＳＭＡ抗体」は、ＰＳＭＡ、好ましくはヒトＰＳＭＡタンパク質と相互作用する（例えば結合する）抗体である。好ましくは、抗ＰＳＭＡ抗体は、ＰＳＭＡの細胞外ドメイン、例えばヒトＰＳＭＡのほぼアミノ酸４４～７５０（アミノ酸残基は、ＵＳ ５，５３８，８６６に開示されるヒトＰＳＭＡ配列に対応する）に位置するヒトＰＳＭＡの細胞外ドメインと相互作用し、例えば結合する。１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、本明細書に記載する抗体、例えばＪ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、およびＪ５３３のエピトープのすべてまたは一部と結合する。抗ＰＳＭＡ抗体は、ヒトＰＳＭＡに対する、本明細書に記載する抗体、例えばＪ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、およびＪ５３３の結合を阻害する、例えば競合的に阻害することが可能である。抗ＰＳＭＡ抗体は、エピトープ、例えばコンホメーション性または直鎖エピトープに結合することが可能であり、これらのエピトープは結合されると、本明細書に記載する抗体、Ｊ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、およびＪ５

３３の結合を妨げる。該エピトープは、Ｊ５９１、Ｅ９９、Ｊ４１５、またはＪ５３３抗体に認識されるエピトープに対して、空間的にごく近接していることが可能であるし、または機能的に関連することが可能であり、例えば、直鎖配列中で、またはコンホメーション的に重複するエピトープまたは隣接するエピトープであることが可能である。１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、ヒトＰＳＭＡのほぼアミノ酸１２０～５００、好ましくは１３０～４５０、より好ましくは１３４～４３７、または１５３～３４７の領域内に完全にまたは部分的に位置するエピトープに結合する（アミノ酸残基は、ＵＳ　５，５３８，８６６に開示されるヒトＰＳＭＡ配列に対応する）。好ましくは、該エピトープには、少なくとも１つのグリコシル化部位、例えば少なくとも１つのＮ連結グリコシル化部位（例えばヒトＰＳＭＡのほぼアミノ酸１９０～２００、好ましくはほぼアミノ酸１９５に位置するアスパラギン残基；アミノ酸残基は、ＵＳ　５，５３８，８６６に開示されるヒトＰＳＭＡ配列に対応する）が含まれる。

【０１０５】

本明細書に記載する抗ＰＳＭＡ抗体、例えばマウスおよび修飾抗ＰＳＭＡ抗体を産生する細胞株が、ＡＴＣＣに寄託されている。抗ＰＳＭＡ抗体各々を産生する細胞株のＡＴＣＣ命名を表７に列挙する。

【０１０６】

表７

【０１０７】

【表７】

抗 PSMA 抗体	ATCC 命名
E99	HB-12101
J415	HB-12109
J533	HB-12127
J591	HB-12126
deJ591	PTA-3709
deJ415	PTA-4174

【０１０８】

好ましい態様において、相互作用、例えば結合は、高い親和性（例えば少なくとも$10^{7}M^{-1}$、好ましくは$10^{8}M^{-1}$～$10^{10}M^{-1}$の間、または約$10^{9}M^{-1}$の親和性定数）および特異性で生じる。好ましくは、抗ＰＳＭＡ抗体は、細胞、例えばＰＳＭＡ発現細胞（例えば前立腺細胞または癌性細胞）を処理し、例えば除去するかまたは殺す。抗ＰＳＭＡ抗体が細胞を処理する、例えば除去するかまたは殺す機構は、本発明の実施に重要でない。１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、該細胞および／または該細胞に近接する血管内皮細胞において発現されるＰＳＭＡに結合し、そしてＰＳＭＡと共に内部移行することが可能である。これらの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体を用いて、第二の部分、例えば標識剤、標識剤、またはウイルス性剤を該細胞にターゲッティングすることが可能である。他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体は、ＰＳＭＡの細胞外ドメインへの結合に際して、該細胞および／または該細胞に近接する血管内皮細胞の、宿主が仲介する殺傷、例えば補体またはＡＤＣＣが仲介する殺傷を仲介可能である。該細胞は、抗ＰＳＭＡ抗体が該細胞または該細胞に近接する血管内皮細胞に直接結合することによって、該抗体に直接殺されることが可能である。あるいは、抗ＰＳＭＡ抗体は、近接する細胞への血流が減少し、それによって該細胞が殺されるかまたは除去されるように、抗ＰＳＭＡ抗体が結合

する血管内皮細胞を処理して、例えば殺すかまたは除去して、あるいは別の方式で、該血管内皮細胞の特性を変化させることが可能である。抗ＰＳＭＡ抗体の例には、例えば単一特異性抗体、モノクローナル（例えばヒト）抗体、組換え抗体または修飾抗体、例えばキメラ抗体、ＣＤＲ移植抗体、ヒト化抗体、脱免疫抗体、およびｉｎ　ｖｉｔｒｏ生成抗ＰＳＭＡ抗体が含まれる。

【０１０９】

本明細書において、用語「処理する」または「処理」は、被験者、例えば患者への抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片の適用または投与、あるいは被験者、例えば患者由来の、患者に戻される、単離組織または細胞への適用または投与と定義される。抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片は、単独で、または第二の剤と併用して投与可能である。被験者は、障害（例えば本明細書に記載するような障害）、障害の症状または障害に対する素因を有する患者であることが可能である。治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）は、障害、障害の症状または障害に対する素因を治癒（ｃｕｒｅ）、回復（ｈｅａｌ）、軽減（ａｌｌｅｖｉａｔｅ）、免荷（ｒｅｌｉｅｖｅ）、改変（ａｌｔｅｒ）、修復（ｒｅｍｅｄｙ）、改良（ａｍｅｌｉｏｒａｔｅ）、緩和（ｐａｌｌｉａｔｅ）、改善（ｉｍｐｒｏｖｅ）するかまたはこれらに影響を及ぼすことでありうる。理論に縛られることを望むのではなく、治療は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏで、細胞の阻害、除去、または殺傷を引き起こすか、あるいは別の方式で、細胞、例えば異常な細胞が、障害、例えば本明細書に記載する障害（例えば癌または前立腺障害）を仲介する能力を減少させると考えられる。

【０１１０】

本明細書において、障害を治療するのに有効な抗ＰＳＭＡ抗体の量、または「療法的有効量」は、被験者への単回用量または多数回用量投与に際して、細胞、例えば前立腺細胞または癌細胞（例えばＰＳＭＡ発現前立腺細胞または癌細胞、あるいはそれに近接する血管細胞）を治療するのに有効な、あるいはこうした治療の非存在下で期待されるものを超えて、本明細書に記載するような障害を持つ被験者の治癒、軽減、免荷または改善を延長するのに有効な、抗体の量を指す。本明細書において、腫瘍の「増殖を阻害する」は、その増殖および転移を遅延するか、中断するか、抑止するかまたは停止することを指し、そして必ずしも、腫瘍性増殖の完全な除去を示さない。

【０１１１】

本明細書において、障害を防止するのに有効な抗ＰＳＭＡ抗体の量、または抗体の「予防的有効量」は、被験者への単回用量または多数回用量投与に際して、障害、例えば本明細書に記載するような癌または前立腺障害の開始または再発の発生を防止するかまたは遅延させるのに有効な、あるいはその症状を治療するのに有効な、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体の量を指す。

【０１１２】

用語「誘導する」、「阻害する」、「増強する」、「上昇させる」、「増加させる」、「減少させる」または例えば２つの状態間の定量的な相違を示す同様のものは、２つの状態間の相違、例えば統計的にまたは臨床的に有意な相違を指す。例えば、「ＰＳＭＡを発現する過剰増殖細胞の増殖を阻害するのに有効な量」は、細胞の増殖速度が、未処理細胞とは異なる、例えば統計的に異なるであろうことを意味する。

【０１１３】

本明細書において、「特異的結合」は、抗体が：（１）ＰＳＭＡ、例えばヒトＰＳＭＡタンパク質に、少なくとも$1 \times 10^{7} M^{-1}$の親和性で結合する特性、および（２）ＰＳＭＡ、例えばヒトＰＳＭＡタンパク質に、ＰＳＭＡ以外の非特異的抗原（例えばＢＳＡ、カゼイン）に結合する親和性より、少なくとも２倍、５０倍、１００倍、１０００倍、またはそれ以上の親和性で優先的に結合する特性を指す。

【０１１４】

本明細書において、用語「抗体」は、少なくとも１つ、そして好ましくは２つの重（Ｈ）鎖可変部（本明細書においてＶＨという形に省略する）、および少なくとも１つ、そし

て好ましくは２つの軽（Ｌ）鎖可変部（本明細書においてＶＬという形に省略する）を含んでなるタンパク質を指す。ＶＨおよびＶＬ領域は、さらに、「フレームワーク領域」（ＦＲ）と称される、より保存された領域が点在する、「相補性決定領域」（「ＣＤＲ」）と称される超可変部に細分されることが可能である。フレームワーク領域およびＣＤＲの範囲は正確に定義されている（本明細書に援用される、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，第５版，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２、およびＣｈｏｔｈｉａ，Ｃ．ら（１９８７）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７を参照されたい）。好ましくは、各ＶＨおよびＶＬは、以下の順序：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で、アミノ末端からカルボキシ末端に配置される、３つのＣＤＲおよび４つのＦＲで構成される。

【０１１５】

抗体のＶＨまたはＶＬ鎖には、重鎖または軽鎖の定常部のすべてまたは一部がさらに含まれることが可能である。１つの態様において、抗体は、２つの重鎖免疫グロブリンおよび２つの軽鎖免疫グロブリンの４量体であり、ここで重鎖および軽鎖の免疫グロブリンは、例えばジスルフィド結合によって、相互連結されている。重鎖定常部は、３つのドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３で構成される。軽鎖定常部は、１つのドメイン、ＣＬで構成される。重鎖および軽鎖の可変部は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常部は、典型的には、免疫系の多様な細胞（例えばエフェクター細胞）および古典的補体系の第一の構成要素（Ｃｌｑ）を含む、宿主組織または因子への抗体の結合を仲介する。用語「抗体」には、ＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＤ、ＩｇＭ型（と共にそのサブタイプ）の損なわれていない（ｉｎｔａｃｔ）免疫グロブリンが含まれ、該免疫グロブリンの軽鎖は、カッパまたはラムダ型のものであることが可能である。

【０１１６】

本明細書において、用語「免疫グロブリン」は、免疫グロブリン遺伝子に実質的にコードされる、１以上のポリペプチドからなるタンパク質を指す。認識されるヒト免疫グロブリン遺伝子には、カッパ、ラムダ、アルファ（ＩｇＡ１およびＩｇＡ２）、ガンマ（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、デルタ、イプシロンおよびミュー定常部遺伝子と共に、無数の免疫グロブリン可変部遺伝子が含まれる。全長免疫グロブリン「軽鎖」（約２５ｋＤまたは２１４アミノ酸）は、ＮＨ２末端の可変部遺伝子（約１１０アミノ酸）およびＣＯＯＨ末端のカッパまたはラムダ定常部遺伝子にコードされる。全長免疫グロブリン「重鎖」（約５０ｋＤまたは４４６アミノ酸）は、同様に、可変部遺伝子（約１１６アミノ酸）および他の前述の定常部遺伝子の１つ、例えばガンマ（約３３０アミノ酸をコードする）にコードされる。用語「免疫グロブリン」には：非ヒト供給源由来、例えば非ヒト抗体由来、例えばマウス免疫グロブリンまたは別の非ヒト免疫グロブリン由来、コンセンサス配列由来、あるいはファージディスプレーまたは多様性を生成する他の方法いずれかに生成される配列由来のＣＤＲを有し；そして非ヒトフレームワークより、ヒトにおいて、より抗原性でない、例えば非ヒト免疫グロブリン由来のＣＤＲの場合、該非ヒトＣＤＲを得た非ヒトフレームワークより抗原性でないフレームワークを有する、免疫グロブリンが含まれる。免疫グロブリンのフレームワークは、ヒトフレームワーク、ヒトにおいて抗原性を減少させるよう修飾したヒト化非ヒトフレームワーク、例えばマウスフレームワーク、または合成フレームワーク、例えばコンセンサス配列であることが可能である。これらは、本明細書において、ときに、修飾免疫グロブリンと称される。修飾抗体、またはその抗原結合断片には、少なくとも１、２、３または４の修飾免疫グロブリン鎖、例えば少なくとも１または２の修飾免疫グロブリン軽鎖および／または少なくとも１または２の修飾重鎖が含まれる。１つの態様において、修飾抗体は、２つの修飾重鎖免疫グロブリンおよび２つの修飾軽鎖免疫グロブリンの４量体である。

【０１１７】

本明細書において、「アイソタイプ」は、重鎖定常部遺伝子にコードされる抗体の種類（例えばＩｇＭまたはＩｇＧ１）を指す。

用語、抗体の「抗原結合断片」（または単に「抗体部分」または「断片」）は、本明細書において、ＰＳＭＡ（例えばヒトＰＳＭＡ）に特異的に結合する抗体部分、例えば１以上の免疫グロブリン鎖が全長でないが、ＰＳＭＡ（例えばヒトＰＳＭＡタンパク質）に特異的に結合する分子を指す。用語、抗体の「抗原結合断片」内に含まれる結合断片の例には（ｉ）Ｆａｂ断片、ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、ヒンジ領域でのジスルフィド架橋によって連結される２つのＦａｂ断片を含んでなる二価断片；（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；（ｉｖ）抗体の単一のアームのＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄら，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）；および（ｖｉ）特異的に結合するのに十分なフレームワークを有する、単離相補性決定領域（ＣＤＲ）、例えば可変部の抗原結合部分が含まれる。軽鎖可変部の抗原結合部分および重鎖可変部の抗原結合部分、例えばＦｖ断片の２つのドメイン、ＶＬおよびＶＨを、組換え法を用いて、単一タンパク質鎖として作成可能にする合成リンカーによって、連結することが可能であり、ここで、ＶＬおよびＶＨ領域は対形成して、一価分子を形成する（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる；例えばＢｉｒｄら（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎら（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照されたい）。こうした一本鎖抗体もまた、用語、抗体の「抗原結合断片」内に含まれると意図される。当業者に知られる慣用的技術を用いて、これらの抗体断片を得て、そして損なわれていない抗体と同一の方式で、有用性に関して、該断片をスクリーニングする。

【０１１８】

用語「単一特異性抗体」は、特定の標的、例えばエピトープに単一の結合特異性および親和性を示す抗体を指す。この用語には、「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」が含まれ、これらは、本明細書において、単一の分子組成の抗体またはその断片の調製物を指す。

【０１１９】

用語「組換え」抗体は、本明細書において、例えば、宿主細胞にトランスフェクションされた組換え発現ベクターを用いて発現される抗体、組換えコンビナトリアル抗体ライブラリーから単離される抗体、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニックである動物（例えばマウス）から単離される抗体、あるいはヒト免疫グロブリン遺伝子配列を他のＤＮＡ配列にスプライシングすることを伴う、他の手段いずれかによって調製されるか、発現されるか、生成されるか、または単離される抗体のような、組換え手段によって、調製されるか、発現されるか、生成されるか、または単離される抗体を指す。こうした組換え抗体には、ヒト化抗体、ＣＤＲ移植抗体、キメラ抗体、脱免疫抗体、ｉｎ ｖｉｔｒｏ生成（例えばファージディスプレーによる）抗体が含まれ、そして場合によって、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する定常部が含まれることが可能である。

【０１２０】

本明細書において、用語「実質的に同一」（または「実質的に相同」）は、第一および第二のアミノ酸またはヌクレオチド配列が、類似の活性を有するように、第二のアミノ酸またはヌクレオチド配列に対して、十分な数の同一または同等の（例えば類似の側鎖、例えば保存的アミノ酸置換によって）アミノ酸残基またはヌクレオチドを含有する、第一のアミノ酸またはヌクレオチド配列を指す。抗体の場合、第二の抗体は、第一の抗体と同一の特異性を有し、そして第一の抗体の少なくとも５０％の親和性を有する。

【０１２１】

２つの配列間の「相同性」の計算は、以下のように行うことが可能である。最適比較目的で、配列を並列させる（例えば最適並列のため、第一および第二のアミノ酸または核酸配列の一方または両方にギャップを導入可能であり、そして比較目的のため、非相同配列

を無視することが可能である）。好ましい態様において、比較目的のために並列される参照配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも３０％、好ましくは少なくとも４０％、より好ましくは少なくとも５０％、さらにより好ましくは少なくとも６０％、そしてさらにより好ましくは少なくとも７０％、８０％、９０％、１００％である。その後、対応するアミノ酸位またはヌクレオチド位でのアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第一の配列の位が、第二の配列において対応する位と同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められている場合、該分子はその位で同一である（本明細書において、アミノ酸または核酸「同一性」は、アミノ酸または核酸「相同性」と同等である）。２つの配列間の同一性パーセントは、２つの配列の最適な並列のために導入する必要がある、ギャップの数および各ギャップの長さを考慮した、配列によって共有される同一の位の数の関数である。

【０１２２】

配列の比較および２つの配列間の相同性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成可能である。好ましい態様において、２つのアミノ酸配列間の相同性パーセントは、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２マトリックスまたはＰＡＭ２５０マトリックスのいずれか、および１６、１４、１２、１０、８、６、または４のギャップ荷重および１、２、３、４、５、または６の長さ荷重を用いて、ＧＣＧソフトウェアパッケージ中のＧＡＰプログラムに取り込まれている、ＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈ（１９７０），Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４４－４５３のアルゴリズムを用いて決定される。さらに別の好ましい態様において、２つのヌクレオチド配列間の相同性パーセントは、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰマトリックスおよび４０、５０、６０、７０、または８０のギャップ荷重、および１、２、３、４、５、または６の長さ加重を用いて、ＧＣＧソフトウェアパッケージ中のＧＡＰプログラムを用いて決定される。パラメーターの特に好ましい組（および分子が本発明の相同性限界内にあるかどうか決定するのに、どのパラメーターを適用すべきか、実施者がはっきりと知らない場合に使用すべきもの）は、１２のギャップペナルティおよび４のギャップ伸長ペナルティ、および５のフレームシフトギャップペナルティを伴うＢｌｏｓｓｕｍ６２スコアリングマトリックスである。

【０１２３】

本明細書において、用語「低ストリンジェンシー、中程度のストリンジェンシー、高ストリンジェンシー、または非常に高いストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする」は、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件を記載する。ハイブリダイゼーション反応を行う手引きは、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８９），６．３．１－６．３．６に見出すことが可能であり、該文献は本明細書に援用される。水性および非水性法がこの参考文献に記載され、そしてどちらも使用可能である。本明細書で称する特異的ハイブリダイゼーション条件は以下のとおりである：１）約４５℃の６ｘ塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中、その後、少なくとも５０℃の０．２ｘＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ中の２回の洗浄（洗浄温度は、低ストリンジェンシー条件では、５５℃に増加させることが可能である）の低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件；２）約４５℃の６ｘＳＳＣ中、その後、６０℃の０．２ｘＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ中の１回以上の洗浄の中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件；３）約４５℃の６ｘＳＳＣ中、その後、６５℃の０．２ｘＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ中の１回以上の洗浄の高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件；および好ましくは４）非常に高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件は、約６５℃の０．５Ｍリン酸ナトリウム、７％ＳＤＳ、その後、６５℃の０．２ｘＳＳＣ、１％ＳＤＳ中の１回以上の洗浄である。非常に高いストリンジェンシーの条件（４）が好ましい条件であり、そして別に明記されない限り、使用すべき条件である。

【０１２４】

本発明の抗体およびその抗原結合断片が、ポリペプチド機能に実質的な影響を持たない、さらなる保存的または非本質的アミノ酸置換を有することが可能であると理解される。

特定の置換が許容されうるかどうか、すなわち結合活性などの望ましい生物学的特性に不都合に影響を及ぼさないかどうかは、Ｂｏｗｉｅ，　ＪＵら　（１９９０）　Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４７：１３０６－１３１０に記載されるように決定可能である。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基と交換されるものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該技術分野において定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えばリジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えばアスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えばアスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えばグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ分岐側鎖を有するアミノ酸（例えばスレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えばチロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。

【０１２５】

「非本質的」アミノ酸残基は、生物学的活性を無効にすることなく、またはより好ましくは該活性を実質的に改変することなく、結合剤、例えば抗体の野生型配列から改変可能な残基であり、一方、「本質的」アミノ酸残基は、このような変化を生じる。

【０１２６】

抗ＰＳＭＡ抗体

多くの種類の抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片が本発明の方法で有用である。抗体は、ＩｇＧ（例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＤ、またはＩｇＥを含む、多様なアイソタイプであることが可能である。好ましくは、抗体は、ＩｇＧアイソタイプ、例えばＩｇＧ１である。抗体分子は全長であることが可能である（例えばＩｇＧ１またはＩｇＧ４抗体）し、または抗原結合断片のみを含むことが可能である（例えばＦａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖまたは一本鎖Ｆｖ断片）。これらには、モノクローナル抗体、組換え抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、脱免疫抗体、およびヒト抗体と共に、前述のものの抗原結合断片が含まれる。

【０１２７】

モノクローナル抗ＰＳＭＡ抗体を本発明の方法で使用することが可能である。好ましくは、モノクローナル抗体は、ＰＳＭＡの細胞外ドメイン（すなわち細胞外に位置するＰＳＭＡエピトープ）に結合する。ヒトＰＳＭＡに対する好ましいマウスモノクローナル抗体の例には、限定されるわけではないが、それぞれ、ＡＴＣＣ寄託番号ＨＢ－１２１０１、ＨＢ－１２１０９、ＨＢ－１２１２７、およびＨＢ－１２１２６を有するハイブリドーマ細胞株に産生される、Ｅ９９、Ｊ４１５、Ｊ５３３およびＪ５９１が含まれ、これらはすべてＵＳ　６，１０７，０９０およびＵＳ　６，１３６，３１１に開示され、該特許の内容は、明確に本明細書に援用される。最も好ましくは、マウスモノクローナル抗体は、ＨＢ－１２１２６に産生されるＪ５９１である。

【０１２８】

ＰＳＭＡに対するさらなるモノクローナル抗体は、当該技術分野に知られる技術を用いて生成可能である。モノクローナル抗体は、慣用的なモノクローナル抗体方法論、例えばＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ，　Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５　（１９７５）の標準的体細胞ハイブリダイゼーション技術を含む、多様な技術によって、産生可能である。一般的には、Ｈａｒｌｏｗ，　Ｅ．およびＬａｎｅ，　Ｄ．　（１９８８）　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，　Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，　ニューヨーク州コールドスプリングハーバーを参照されたい。

【０１２９】

本発明の目的のために有用な免疫原には、ＰＳＭＡ（例えばヒトＰＳＭＡ）を所持する細胞（例えば前立腺腫瘍細胞株、例えばＬＮＣａｐ細胞、あるいは新鮮または凍結前立腺腫瘍細胞）；ＰＳＭＡ発現細胞（例えば前立腺腫瘍細胞株、例えばＬＮＣａｐ細胞、ある

いは新鮮または凍結前立腺腫瘍細胞）の膜分画；単離または精製ＰＳＭＡ、例えばヒトＰＳＭＡタンパク質（例えば生化学的に単離したＰＳＭＡ，またはその一部、例えばＰＳＭＡの細胞外ドメイン）が含まれる。ＰＳＭＡに対する抗体を生成する技術がＵＳ　６，１０７，０９０、ＵＳ　６，１３６，３１１に記載され、該特許すべての内容は、明確に本明細書に援用される。

【０１３０】

ヒトタンパク質に対して向けられるヒトモノクローナル抗体（ｍＡｂ）は、マウス系でなくヒト免疫グロブリン遺伝子を持つトランスジェニックマウスを用いて生成可能である。目的の抗原で免疫した、これらのトランスジェニックマウス由来の脾臓細胞を用いて、ヒトタンパク質由来のエピトープに特異的親和性を持つヒトｍＡｂを分泌するハイブリドーマを産生する（例えばＷｏｏｄら、国際特許出願ＷＯ　９１／００９０６、Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉら、ＰＣＴ公告ＷＯ　９１／１０７４１；Ｌｏｎｂｅｒｇら、国際特許出願ＷＯ　９２／０３９１８；Ｋａｙら、国際特許出願９２／０３９１７；Ｌｏｎｂｅｒｇ，　Ｎ．ら　１９９４　Ｎａｔｕｒｅ　３６８：８５６－８５９；Ｇｒｅｅｎ，　Ｌ．Ｌ．ら　１９９４　Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔ．　７：１３－２１；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，　Ｓ．Ｌ．ら　１９９４　Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ　８１：６８５１－６８５５；Ｂｒｕｇｇｅｍａｎら　１９９３　Ｙｅａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　７：３３－４０；Ｔｕａｉｌｌｏｎら　１９９３　ＰＮＡＳ　９０：３７２０－３７２４；Ｂｒｕｇｇｅｍａｎら　１９９１　Ｅｕｒ　Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　２１：１３２３－１３２６を参照されたい）。

【０１３１】

本発明で有用な抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片はまた、望ましい抗体の免疫グロブリン軽鎖および重鎖をコードするＤＮＡで形質転換した宿主細胞に産生される組換え抗体であることも可能である。組換え抗体は、既知の遺伝子操作技術によって産生可能である。例えば、組換え抗体は、望ましい抗体の免疫グロブリン軽鎖および重鎖をコードするヌクレオチド配列、例えばｃＤＮＡまたはゲノムＤＮＡをクローニングすることによって、産生可能である。その後、両方の遺伝子が、それ自体の転写および翻訳発現調節配列に、機能可能であるように連結されるように、これらのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を発現ベクターに挿入する。発現ベクターおよび発現調節配列は、用いる発現宿主細胞に適合するように選択する。典型的には、両方の遺伝子を同一発現ベクターに挿入する。原核または真核宿主細胞が使用可能である。

【０１３２】

真核細胞は、原核細胞より、適切にフォールディングされ、そして免疫学的に活性である抗体を組み立て、そして分泌する可能性がより高いため、真核宿主細胞における発現が好ましい。しかし、不適切なフォールディングのために不活性である産生抗体はいずれも、周知の方法（ＫｉｍおよびＢａｌｄｗｉｎ，“Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　Ｉｎｔｅｒｍｅｄｉａｔｅｓ　ｉｎ　ｔｈｅ　Ｆｏｌｄｉｎｇ　Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ　ｏｆ　Ｓｍａｌｌ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ａｎｄ　ｔｈｅ　Ｍｅｃｈａｎｉｓｍ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｆｏｌｄｉｎｇ”，　Ａｎｎ．　Ｒｅｖ．　Ｂｉｏｃｈｅｍ．　５１，　ｐｐ．４５９－８９（１９８２））にしたがって再生可能である可能性がある。本発明によればやはり抗体相同体である、軽鎖二量体または重鎖二量体などの、損なわれていない抗体の一部を、宿主細胞が産生することが可能である。

【０１３３】

上記方法に対する変動が本発明で有用であることが理解されるであろう。例えば、抗体の軽鎖または重鎖いずれか（しかし両方ではない）をコードするＤＮＡで宿主細胞を形質転換することが望ましい可能性がある。また、組換えＤＮＡ技術を用いて、ＰＳＭＡ結合に必要でない、軽鎖および重鎖いずれかまたは両方をコードするＤＮＡのいくつかまたはすべてを除去することも可能であり、例えば特定のアミノ酸を欠失させることによって、定常部を修飾することが可能である。こうした一部切除（ｔｒｕｎｃａｔｅｄ）ＤＮＡ分子から発現される分子が、本発明の方法において有用である。さらに、１つの重鎖および

１つの軽鎖が抗ＰＳＭＡ抗体であり、そして他の重鎖および軽鎖が、ＰＳＭＡ以外の抗原、またはＰＳＭＡの別のエピトープに特異的である、二官能性抗体を産生可能である。

【０１３４】

当該技術分野に知られる組換えＤＮＡ技術によって、キメラ抗体を産生可能である。例えば、マウス（または他の種）モノクローナル抗体分子のＦｃ定常部をコードする遺伝子を制限酵素で消化して、マウスＦｃをコードする領域を除去して、そしてヒトＦｃ定常部をコードする遺伝子の同等の部分で置換する（Ｒｏｂｉｎｓｏｎら、国際特許出願ＰＣＴ／ＵＳ８６／０２２６９；Ａｋｉｒａら、欧州特許出願１８４，１８７；Ｔａｎｉｇｕｃｈｉ，Ｍ.、欧州特許出願１７１，４９６；Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、欧州特許出願１７３，４９４；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒら、国際特許出願ＷＯ ８６／０１５３３；Ｃａｂｉｌｌｙら、米国特許第４，８１６，５６７号；Ｃａｂｉｌｌｙら、欧州特許出願１２５，０２３；Ｂｅｔｔｅｒら（１９８８ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０４１－１０４３）；Ｌｉｕら（１９８７） ＰＮＡＳ ８４：３４３９－３４４３；Ｌｉｕら，１９８７，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３９：３５２１－３５２６；Ｓｕｎら（１９８７） ＰＮＡＳ ８４：２１４－２１８；Ｎｉｓｈｉｍｕｒａら，１９８７，Ｃａｎｃ．Ｒｅｓ．４７：９９９－１００５；Ｗｏｏｄら（１９８５） Ｎａｔｕｒｅ ３１４：４４６－４４９；およびＳｈａｗら，１９８８，Ｊ．Ｎａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．８０：１５５３－１５５９を参照されたい）。

【０１３５】

当該技術分野に知られる方法によって、抗体または免疫グロブリン鎖をヒト化することが可能である。ひとたびマウス抗体を得たら、可変部を配列決定することが可能である。ＣＤＲおよびフレームワーク残基の位置を決定することが可能である（本明細書に援用される、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら（１９９１） Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，第５版，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２、およびＣｈｏｔｈｉａ，Ｃ．ら（１９８７） Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７を参照されたい）。軽鎖および重鎖の可変部は、場合によって、対応する定常部に連結することが可能である。

【０１３６】

当該技術分野に認識される技術を用いて、マウス抗ＰＳＭＡ抗体を配列決定することが可能である。例えば、１０％ウシ胎児血清を補ったＲＰＭＩ１６４０培地中で、培養中、マウスハイブリドーマＪ５３３、Ｊ４１５およびＥ９９を発現するハイブリドーマを増殖させた。分泌される抗体のアイソタイプは、それぞれ、ＩｇＧ１κ、ＩｇＧ１κ、およびＩｇＧ３κと確認された。これらのモノクローナル抗体は、Ｊ５９１同様、前立腺特異的膜抗原の外部ドメインに結合する。Ｊ５９１、Ｊ５３３およびＥ９９は、同一エピトープを認識し、一方、Ｊ４１５は独立のエピトープを認識する。10^7ハイブリドーマ細胞から、各モノクローナル抗体の総ＲＮＡを調製した。逆転写酵素、並びにマウスκ定常部プライマーおよびマウスＩｇＧ定常部プライマーを用いて、V_HおよびV_K ｃＤＮＡを調製した。多様なマウスシグナル配列プライマー（V_Hでは６、そしてV_Kでは７）を用いたＰＣＲによって、第一鎖ｃＤＮＡを増幅した。増幅ＤＮＡをゲル精製し、そしてベクターｐＴ７Ｂｌｕｅにクローニングした。ＰＣＲによって、正しい挿入物に関して、得たV_HおよびV_Kクローンをスクリーニングし、そしてジデオキシ鎖終結法によって、選択したクローンのＤＮＡ配列を決定した（表７を参照されたい）。

【０１３７】

Ｊ４１５に由来する重鎖および軽鎖の可変部のＤＮＡおよびアミノ酸配列を得て、そして図７Ｂ（V_H）および８Ｂ（V_K）に示す（表５も参照されたい）。ＣＤＲの位置を示す。Ｊ４１５ V_Hは、マウス重鎖サブグループＩＩＩＣ（Ｋａｂａｔ ＥＡら、前記）に割り当て可能である。このサブグループのコンセンサス配列に比較したＪ４１５ V_Hの配列を図７Ｃに示す。Ｊ４１５ V_Kは、マウス・カッパ鎖サブグループＩ（Ｋａｂａ

ｔ　ＥＡら、前記）に割り当て可能である。このサブグループのコンセンサス配列に比較したＪ４１５　V_Kの配列を図８Ｃに示す。

【０１３８】

重鎖および軽鎖の可変部のＪ５３３をコードするＤＮＡおよびアミノ酸配列を得て、そして図９Ａ（V_H）および１０Ａ（V_K）に示す（表５もまた参照されたい）。ＣＤＲの位置を各図に示す。Ｊ５３３　V_Hは、マウス重鎖サブグループＩＩＡ（Ｋａｂａｔ　ＥＡら，　Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，　ＵＳ　Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，　１９９１）に割り当て可能である。このサブグループのコンセンサス配列に比較したＪ５３３　V_Hの配列を図９Ｂに示す。Ｊ５３３　V_Kは、マウス・カッパ鎖サブグループＩＩＩ（Ｋａｂａｔ　ＥＡら、前記）に割り当て可能である。このサブグループのコンセンサス配列に比較したＪ５３３　V_Kの配列を図１０Ｂに示す。

【０１３９】

重鎖および軽鎖の可変部のＥ９９のＤＮＡおよびアミノ酸配列を得て、そして図１１Ａ（V_H）および１２Ａ（V_K）に示す（表５もまた参照されたい）。ＣＤＲの位置を示す。Ｅ９９　V_Hは、マウス重鎖サブグループＩＢ（Ｋａｂａｔ　ＥＡら、前記）に割り当て可能である。このサブグループのコンセンサス配列に比較したＥ９９　V_Hの配列を図１１Ｂに示す。Ｅ９９　V_Kは、マウス・カッパ鎖サブグループＩ（Ｋａｂａｔ　ＥＡら、前記）に割り当て可能である。このサブグループのコンセンサス配列に比較したＥ９９　V_Kの配列を図１２Ｂに示す。

【０１４０】

抗体Ｊ４１５、ｄｅＪ４１５、Ｊ５９１、ｄｅＪ５９１、Ｊ５３３およびＥ９９の可変部をコードするアミノ酸配列およびヌクレオチド配列を、以下の表８に提供する。

表８：抗体可変鎖配列

【０１４１】

【表８Ａ】

名称	生物	図	配列番号	配列
V_H J415	マウス	図 7B	125	Gaagtgaagcttgaggagtctggaggaggcttggtgcaacctggaggatccatgaaactctcctgtgttgcctctggattcactttcagtaattactggatgaactgggtccgccagtctccagagaaggggcttgagtgggttgctgaaattagatcgcaatctaataatttgcaacacattatgcggagtctgtgaaagggagggtcatcatctcaagagatgattccaagagtagtgtctacctgcaaatgaacaacttgagagctgaagacactggcatttattactgtaccaggcgatggaataatttctggggccaaggcaccactctcacagtctcctca
V_H 可変部 J591	マウス	図 1A	19	EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTSGYTFTEYTIHWVKQSHGKSLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCAAGWNFDYWGQGTTLTVSS
V_H J415 (配列番号 125 の相補鎖)	マウス	図 7B	126	tgaggagactgtgagagtggtgccttggccccagaaatattccatcgcctggtacagtaataaatgccagtgtctcagctctcaagttgttcatttgcaggtagacactacttcttggaatcatctcttgagatgatgaccctccctttcacagactccgcataatgtgttgcaaaattattagattgcgatctaatttcagcaacccactcaagccccttctctggagactggcggacccagttcatccagtaattactgaaagtgaatccagaggcaacacaggagagtttcatggatcctccaggttgcaccaagcctcctccagactcctcaagcttcacttc
V_L J415	マウス	図 8B	127	aacattgtaatgacccaatttcccaaatccatgtccatttcagtaggagagagggtcaccttgacctgcaaggccagtgagaatgtgggtacttatgtgtcctggtatcaacagaaaccagaacagtctcctaagatgttgatatacggggcatccaaccggttcactggggtccccgatcgcttcacaggcagtggatctgcaacagatttcattctgaccatcagcagtgtgcagactgaagaccttgtagattattactgtggacagagttacacctttccgtacacgttcggagggggggaccaagctggaaatgaag
V_L 可変部 J591	マウス	図 1B	20	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVGTAVDWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFCQQYNSYPLTFGAGTMLDLK

【０１４２】

【表８Ｂ】

V_L J415 (配列番号127 の相補鎖)	マウス	図8B	128	cttcatttccagcttggtccccctccgaacgtgtacg gaaaggtgtaactctgtccacagtaataatctacaagg tcttcagtctgcacactgctgatggtcagaatgaaatc tgttgcagatccactgcctgtgaagcgatcggggaccc cagtgaaccggttggatgccccgtatatcaacatctta ggagactgttctggtttctgttgataccaggacacata agtacccacattctcactggccttgcaggtcaaggtga ccctctctcctactgaaatggacatggatttgggaaat tgggtcattacaatgtt
V_H可変部 (脱免疫) J591	人工的脱免疫重鎖J591	図2A	21	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVK QAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKST DTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVS S
V_L可変部 (脱免疫) J591	人工的脱免疫軽鎖J591	図2B	22	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQ KPGPSPKLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK
V_H脱免疫 J591 CDS (122-166) & CDS (249-605)	人工的脱免疫重鎖J591	図4A	23	aagcttatgaatatgcaaatcctctgaatctacatggt aaatataggtttgtctataccacaaacagaaaaacatg agatcacagttctctctacagttactgagcacacagga cctcaccatgggatggagctgtatcatcctcttcttgg tagcaacagctacaggtaaggggctcacagtagcaggc ttgaggtctggacatatatatgggtgacaatgacatcc actttgcctttctctccacaggtgtccactccgaggtc caactggtacagtctggacctgaagtgaagaagcctgg ggctacagtgaagatatcctgcaagacttctggataca cattcactgaatataccatacactgggtgaagcaggcc cctggaaagggccttgagtggattggaaacatcaatcc taacaatggtggtaccacctacaatcagaagttcgagg acaaggccacactaactgtagacaagtccaccgataca gcctacatggagctcagcagcctaagatctgaggatac tgcagtctattattgtgcagctggttggaactttgact actggggccaagggaccctgctcaccgtctcctcaggt gagtccttacaacctctctcttctattcagcttaaata gattttactgcatttgttgggggggaaatgtgtgtatc tgaatttcaggtcatgaaggactagggacaccttggga gtcagaaagggtcattgggagcccgggctgatgcagac agacatcctcagctcccagacttcatggccagagattt ataggatcc

【０１４３】

【表８Ｃ】

V_H脱免疫(配列番号23の相補鎖)J591	人工的脱免疫重鎖J591	図4A	24	ggatcctataaatctctggccatgaagtctgggagctg aggatgtctgtctgcatcagcccgggctcccaatgacc ctttctgactcccaaggtgtccctagtccttcatgacc tgaaattcagatacacacatttccccccccaacaaatgc agtaaaatctatttaagctgaatagaagagagaggttg taaggactcacctgaggagacggtgagcagggtccctt ggccccagtagtcaaagttccaaccagctgcacaataa tagactgcagtatcctcagatcttaggctgctgagctc catgtaggctgtatcggtggacttgtctacagttagtg tggccttgtcctcgaacttctgattgtaggtggtacca ccattgttaggattgatgtttccaatccactcaaggcc ctttccaggggcctgcttcacccagtgtatggtatatt cagtgaatgtgtatccagaagtcttgcaggatatcttc actgtagccccaggcttcttcacttcaggtccagactg taccagttggacctcggagtggacacctgtggagagaa aggcaaagtggatgtcattgtcacccatatatatgtcc agacctcaagcctgctactgtgagcccccttacctgtag ctgttgctaccaagaagaggatgatacagctccatccc atggtgaggtcctgtgtgctcagtaactgtagagagaa ctgtgatctcatgttttttctgtttgtggtatagacaaa cctatatttaccatgtagattcagaggatttgcatatt cataagctt

【０１４４】

【表８Ｄ】

V_L脱免疫 J591 CDS (122-166) & CDS (249-581)	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 4B	25	aagcttatgaatatgcaaatcctctgaatctacatggt aaatataggtttgtctataccacaaacagaaaaacatg agatcacagttctctctacagttactgagcacacagga cctcaccatgggatggagctgtatcatcctcttcttgg tagcaacagctacaggtaaggggctcacagtagcaggc ttgaggtctggacatatatatgggtgacaatgacatcc actttgcctttctctccacaggtgtccactccgacatc cagatgacccagtctccctcatccctgtccacatcagt aggagacagggtcaccctcacctgtaaggccagtcaag atgtgggtactgctgtagactggtatcaacagaaacca ggaccatctcctaaactactgatttattgggcatccac tcggcacactggaatccctagtcgcttctcaggcagtg gatctgggacagacttcactctcaccatttctagtctt cagcctgaagactttgcagattattactgtcagcaata taacagctatcctctcacgttcggtcctgggaccaagg tggacatcaaacgtgagtagaatttaaactttgcttcc tcagttggatcc
V_L脱免疫 (配列番号 25 の相補鎖) J591	人工的脱免疫軽鎖 J591	図 4B	26	ggatccaactgaggaagcaaagtttaaattctactcac gtttgatgtccaccttggtcccaggaccgaacgtgaga ggatagctgttatattgctgacagtaataatctgcaaa gtcttcaggctgaagactagaaatggtgagagtgaagt ctgtcccagatccactgcctgagaagcgactagggatt ccagtgtgccgagtggatgcccaataaatcagtagttt aggagatggtcctggtttctgttgataccagtctacag cagtacccacatcttgactggccttacaggtgagggtg accctgtctcctactgatgtggacagggatgagggaga ctgggtcatctggatgtcggagtggacacctgtggaga gaaaggcaaagtggatgtcattgtcacccatatatatg tccagacctcaagcctgctactgtgagcccctt acctg tagctgttgctaccaagaagaggatgatacagctccat cccatggtgaggtcctgtgtgctcagtaactgtagaga gaactgtgatctcatgttttctgtttgtggtatagac aaacctatatttaccatgtagattcagaggatttgcat attcataagctt

【０１４５】

【表８Ｅ】

V_H脱免疫 (配列番号23 の予測される アミノ酸) J591	人工的脱免 疫重鎖J591	図4A	27	MGWSCIILFLVATATGVHSEVQLVQSGPEVKKPGATVK ISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGG TTYNQKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYY CAAGWNFDYWGQGTLLTVSS
V_L脱免疫 (配列番号25 の予測される アミノ酸) J591	人工的脱免 疫軽鎖J591	図4B	28	MGWSCIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSTSVGDRV TLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYCASTRHTG IPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYP LTFGPGTKVDIK
V_H可変部 J415	マウス	図5	47	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVR QSPEKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGRVIISRDD SKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYCTRRWNNFWGQGTTLTV SS
V_L可変部 J415	マウス	図6	48	NIVMTQFPKSMSISVGERVTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPEQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFTGSGSATDFILTIS SVQTEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
V_H可変部 (脱免疫) J415-4	人工的脱免 疫重鎖 J415-4	図5	49	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVR QSPEKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGRVIISRDD SKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTV SS
V_L可変部 (脱免疫) J415-5	人工的脱免 疫軽鎖 J415-5	図6	50	NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTIS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
V_H脱免疫 J415-4	人工的脱免 疫重鎖 J415-4		51	gaagtgaaacttgaggagtctggaggaggcttggtgca acctggagggtccatgaaaatctcctgtgttgcctctg gattcactttcagtaattactggatgaactgggtccgc cagtctccagagaaggggcttgagtgggttgctgaaat tagatcgcaatctaataatttgcaacacattatgcgg agtctgtgaaagggagggtcatcatctcaagagatgat tccaagagtagtgtctacctgcaaatgaacagtttgag agctgaagacactgccgtttattactgtaccaggcgat ggaataatttctggggccaaggcaccactgtcacagtc tcctca

【０１４６】

【表８Ｆ】

V_L脱免疫 J415-5	人工的脱免疫軽鎖 J415-5		52	aacattgtaatgacccaatttcccaaatccatgtccgc ctcagcaggagaggatgaccttgacctgcaaggcca gtgagaatgtgggtacttatgtgtcctggtatcaacag aaaccaacacagtctcctaagatgttgatatacggggc atccaaccggttcactggggtcccagatcgcttctccg gcagtggatctggaacagatttcattctgaccatcagc agtgtgcaggcagaagaccttgtagattattactgtgg acagagttacacctttccgtacacgttcggaggggggga ccaagctggaaatgaag
V_H脱免疫 J415-1 CDS (122-160) & CDS (249-608) 成熟(18-133)	人工的脱免疫重鎖 J415-1	図 7A	53	aagcttatgaatatgcaaatcctctgaatctacatggt aaatataggtttgtctataccacaaacagaaaaacatg agatcacagttctctctacagttactgagcacacagga cctcacc**atg**ggatggagctgtatcatcctcttcttgg tagca**aca**gctacaggtaaggggctcacagtagcaggc ttgaggtctggacatatatatgggtgacaatgacatcc actttgcctttctctccaca**ggt**gtccactccgaagtg aaacttgaggagtctggaggaggcttggtgcaacctgg agggtccatgaaaatctcctgtaaagcctctggattca ctttcagtaattactggatgaactgggtccgccagact ccagagaaggggcttgagtgggttgctcttattagatc gcaatctaataattttgcaacacattatgcggagtctg tgaaagggagggtcatcatctcaagagatgattccaag agtagtgtctacctgcaaatgaacagtttgagagctga agacactgccgtttattactgtaccaggcgatggaata atttctggggccaaggcaccactgtcacagtctcc**tca** ggtgagtccttacaacctctctcttctattcagcttaa atagattttactgcatttgttgggggggaaatgtgtgt atctgaatttcaggtcatgaaggactagggacaccttg ggagtcagaaagggtcattgggagcccgggctgatgca gacagacatcctcagctcccagacttcatggccagaga tttataggatcc

【０１４７】

【表８Ｇ】

V_H脱免疫（配列番号53の予測されるアミノ酸）J415-1	人工的脱免疫重鎖 J415-1	図 7A	54	MGWSCIILFLVATGVHSEVKLEESGGGLVQPGGSMKISCKASGFTFSNYWMNWVRQTPEKGLEWVALIRSQSNNFATHYAESVKGRVIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS
V_H脱免疫（配列番号53の相補鎖）J415-1	人工的脱免疫重鎖 J415-1	図 7A	55	ggatcctataaatctctggccatgaagtctgggagctgaggatgtctgtctgcatcagcccgggctcccaatgaccctttctgactcccaaggtgtccctagtccttcatgaccctgaaattcagatacacacatttccccccccaacaaatgcagtaaaatctatttaagctgaatagaagagaggttgtaaggactcacctgaggagactgtgacagtggtgccttggccccagaaattattccatcgcctggtacagtaataaacggcagtgtcttcagctctcaaactgttcatttgcaggtagacactactcttggaatcatctcttgagatgatgaccctccctttcacagactccgcataatgtgttgcaaaattattagattgcgatctaataagagcaacccactcaagccccttctctggagtctggcggacccagttcatccagtaattactgaaagtgaatccagaggctttacaggagatttttcatggaccctccaggttgcaccaagcctcctccagactcctcaagtttcacttcggagtggacacctgtggagagaaaaggcaaagtggatgtcattgtcacccatatatatgtccagacctcaagcctgctactgtgagcccctttacctgtagctgttgctaccaagaagaggatgatacagctccatcccatggtgaggtcctgtgtgctcagtaactgtagagagaactgtgatctcatgttttttctgtttgtggtatagacaaacctatatttaccatgtagattcagaggatttgcatattcataagctt

【０１４８】

【表８Ｈ】

V_L脱免疫 J415-1 CDS (122-160) & CDS (249-581)	人工的脱免疫軽鎖 J415-1	図 8A	56	aagcttatgaatatgcaaatcctctgaatctacatggt aaatataggtttgtctataccacaaacagaaaaacatg agatcacagttctctctacagttactgagcacacagga cctcaccatgggatggagctgtatcatcctcttcttgg tagcaacagctacaggtaaggggctcacagtagcaggc ttgaggtctggacatatatatgggtgacaatgacatcc actttgcctttctctccacaggtgtccactccaacatt gtaatgacccaatcccccaaatccatgtccgcctcagc aggagagaggatgaccttgacctgcaaggccagtgaga attccggtacttatgtgtcctggtatcaacagaaacca acacagtctcctaagatgttgatatacggggcatccaa ccggttcactggggtcccagatcgcttctccggcagtg gatctggaacagatttcattctgaccgccagcagtgtg caggcagaagaccctgtagattattactgtggacagag ttacacctttccgtacacgttcggaggggggaccaagc tggaaatgaagcgtgagtagaatttaaactttgcttcc tcagttggatcc
V_L脱免疫 (配列番号 56 の予測される アミノ酸) J415-1	人工的脱免疫軽鎖 J415-1	図 8A	57	MGWSCIILFLVATGVHSNIVMTQSPKSMSASAGERMTL TCKASENSGTYVSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVP DRFSGSGSGTDFILTASSVQAEDPVDYYCGQSYTFPYT FGGGTKLEMK

【０１４９】

【表８Ｉ】

V_L脱免疫 (配列番号56 の相補鎖) J415-1	人工的脱免疫軽鎖 J415-1	図8A	58	ggatccaactgaggaagcaaagtttaaattctactcac gcttcatttccagcttggtccccctccgaacgtgtac ggaaaggtgtaactctgtccacagtaataatctacagg gtcttctgcctgcacactgctggcggtcagaatgaaat ctgttccagatccactgccggagaagcgatctgggacc ccagtgaaccggttggatgccccgtatatcaacatctt aggagactgtgttggtttctgttgataccaggacacat aagtaccggaattctcactggccttgcaggtcaaggtc atcctctctcctgctgaggcggacatggatttgggggga ttgggtcattacaatgttggagtggacacctgtggaga gaaaggcaaagtggatgtcattgtcacccatatatatg tccagacctcaagcctgctactgtgagcccctt acctg tagctgttgctaccaagaagaggatgatacagctccat cccatggtgaggtcctgtgtgctcagtaactgtagaga gaactgtgatctcatgttttctgtttgtggtatagac aaacctatatttaccatgtagattcagaggatttgcat attcataagctt
V_H脱免疫 J415-2	人工的脱免疫重鎖 J415-2	図5	59	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVR QTPEKGLEWVALIRSQSNNFATHYAESVKGRVIISRDD SKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTV SS
V_H脱免疫 J415-3	人工的脱免疫重鎖 J415-3	図5	60	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVR QTPEKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGRVIISRDD SKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTV SS
J415 V_H (DI) 大多数の配列	人工的 大多数の配列	図5	61	EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVR QTPEKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGRVIISRDD SKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTV SS
V_L脱免疫 J415-2	人工的脱免疫軽鎖 J415-2	図6	62	NIVMTQSPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTAS SVQAEDPVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
V_L脱免疫 J415-3	人工的脱免疫軽鎖 J415-3	図6	63	NIVMTQSPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTAS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK

【０１５０】

【表８Ｊ】

V_L脱免疫 J415-4	人工的脱免疫軽鎖 J415-4	図 6	64	NIVMTQSPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTIS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
V_L脱免疫 J415-6	人工的脱免疫軽鎖 J415-6	図 6	65	NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPEQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTIS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
V_L脱免疫 J415-7	人工的脱免疫軽鎖 J415-7	図 6	66	NIVMTQFPKSMSASAGERVTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTIS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
V_L脱免疫 J415-8	人工的脱免疫軽鎖 J415-8	図 6	67	NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTCKASENSGTYVSWYQQ KPEQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTIS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
J415 V_L (DI) 大多数の配列	人工的 大多数の 配列	図 6	68	NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQ KPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGTDFILTIS SVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
MuV_HIIIC	マウス	図 7C	69	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVR QSPEKGLEWVAEIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDD SKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYCTTGGYGGRRSWFAYWG QGTLVTVSS
J415V_H/MuV_H IIIC 大多数の配列	人工的 大多数の 配列	図 7C	70	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVR QSPEKGLEWVAEIRLQSDNFATHYAESVKGRVIISRDD SKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYCTTGGYGGRRSWNAFWG QGTLVTVSS
MuV_L1	マウス	図 8C	71	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNY LAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTD FTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLELK
J415V_L/MuV_L1 大多数の配列	人工的 大多数の 配列	図 8C	72	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTLSCKASESLLNVGNQKTY VAWYQQKPGQSPKLLIYGASTRESGVPDRFTGSGSGTD FILTISSVQAEDLAVYYCGNSYSFPLTFGGGTKLELK

【０１５１】

【表８Ｋ】

J533 V_H CDS (1-354)	マウス	図 9A	73	gaggtccagctgcagcagtctggacctgagctggttaa gcctggggcttcagtgaagatgtcctgcaaggcttctg gatacacattcactggctatgttatgcactgggtgaag cagaagcctggacaggtccttgagtggattggatatat taatccttacaatgatgttactaggtataatgggaagt tcaaaggcaaggccacactgacctcagacaaatattcc agcacagcctacatggagctcagcggcctgacctctga ggactctgcggtctattactgtgcaagaggggagaact ggtactactttgactcctggggccgaggcgccactctc acagtctcctca
J533 V_H (配列番号 73 の予測される アミノ酸　)	マウス	図 9A	74	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVK QKPGQVLEWIGYINPYNDVTRYNGKFKGKATLTSDKYS STAYMELSGLTSEDSAVYYCARGENWYYFDSWGRGATL TVSS
J533 V_H (配列番号 73 の相補鎖)	マウス	図 9A	75	tgaggagactgtgagagtggcgcctcggccccaggagt caaagtagtaccagttctcccctcttgcacagtaatag accgcagagtcctcagaggtcaggccgctgagctccat gtaggctgtgctggaatatttgtctgaggtcagtgtgg ccttgcctttgaacttcccattatacctagtaacatca ttgtaaggattaatatatccaatccactcaaggacctg tccaggcttctgcttcacccagtgcataacatagccag tgaatgtgtatccagaagccttgcaggacatcttcact gaagccccaggcttaaccagctcaggtccagactgctg cagctggacctc
J533 V_L CDS (1-333)	マウス	図 10A	76	gacattgtgctgacccaatctccagcttctttggctgt gtctctaggacagagggccaccatatcctgcagagcca gtgaaagtattgatagttatgacaatacttttatgcac tggtaccagcagaaaccaggacagccacccaacctcct catctttcgtgcatccatcctagaatctgggatccctg ccaggttcagtggcagtgggtctgggacagacttcacc ctcaccatttatcctgtggaggctgatgatgttgcaac ctattactgtcaccaaagtattgaggatccgtacacgt tcggaggggggaccaagctggaaataaaa
J533 V_L (配列番号 76 の予測される アミノ酸)	マウス	図 10A	77	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESIDSYDNTFMH WYQQKPGQPPNLLIFRASILESGIPARFSGSGSGTDFT LTIYPVEADDVATYYCHQSIEDPYTFGGGTKLEIK

【０１５２】

【表８Ｌ】

J533 V_L (配列番号 76 の相補鎖)	マウス	図 10A	78	ttttatttccagcttggtccccctccgaacgtgtacg gatcctcaatactttggtgacagtaataggttgcaaca tcatcagcctccacaggataaatggtgagggtgaagtc tgtcccagacccactgccactgaacctggcagggatcc cagattctaggatggatgcacgaaagatgaggaggttg ggtggctgtcctggtttctgctggtaccagtgcataaa agtattgtcataactatcaatactttcactggctctgc aggatatggtggccctctgtcctagagacacagccaaa gaagctggagattgggtcagcacaatgtc
MuV_HII	マウス	図 9B	79	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNNWV KQSPGKSLEWIGDINPGNGGTSYNQKFKGKATLTVDKS SSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGYYSSSYMAYYAFDY WGQGTTVTVSS
$J533V_H/MuV_HII$ 大部分の配列	人工的 大部分の 配列	図 9B	80	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTGYVMNNWV KQSPGQVLEWIGDINPGNGGTSYNGKFKGKATLTVDKS SSTAYMELSGLTSEDSAVYYCARGENSSSYMAYYAFDS WGQGATVTVSS
MuV_L-3	マウス	図 10B	81	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMH WYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFT LNIHPVEEDDAATYYCQQSNEDPPWTFGGGTKLEIK
$J533V_L/ MuV_L-3$ 大部分の配列	人工的 大部分の 配列	図 10B	82	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMH WYQQKPGQPPNLLIFAASILESGVPARFSGSGSGTDFT LTIHPVEADDAATYYCQQSIEDPPYTFGGGTKLEIK
E99 V_H CDS (1-363)	マウス	図 11A	83	caggtgcagctaaaggagtcaggacctggcctggtggc gtcctcacagagcctgtccatcacatgcaccgtctcag gattctcattaaccgcctatggtattaactgggttcgc cagcctccaggaaagggtctggagtggctgggagtgat atggcctgatggaaacacagactataattcaactctca aatccagactgaacatcttcaaggacaactccaagaac caagtttcttaaaaatgagcagtttccaaactgatga cacagccagatacttctgtgccagagattcgtatggta acttcaagaggggttggtttgacttctggggccagggc accactctcacagtctcctca
E99 V_H (配列番号 83 の予測される アミノ酸)	マウス	図 11A	84	QVQLKESGPGLVASSQSLSITCTVSGFSLTAYGINWVR QPPGKGLEWLGVIWPDGNTDYNSTLKSRLNIFKDNSKN QVFLKMSSFQTDDTARYFCARDSYGNFKRGWFDFWGQG TTLTVSS

【０１５３】

【表８Ｍ】

E99 V_H (配列番号 83 の相補鎖)	マウス	図 11A	85	tgaggagactgtgagagtggtgccctggccccagaagt caaaccaacccctcttgaagttaccatacgaatctctg gcacagaagtatctggctgtgtcatcagtttggaaact gctcatttttaagaaaacttggttcttggagttgtcct tgaagatgttcagtctggatttgagagttgaattatag tctgtgtttccatcaggccatatcactcccagccactc cagacccttcctggaggctggcgaacccagttaatac cataggcggttaatgagaatcctgagacggtgcatgtg atggacaggctctgtgaggacgccaccaggccaggtcc tgactcctttagctgcacctg
E99 V_L CDS (1-321)	マウス	図 12A	86	aacattgtgatgacccagtctcaaaaattcatgtccac atcaccaggagacagggtcagggtcacctgcaaggcca gtcagaatgtgggttctgatgtagcctggtatcaagcg aaaccaggacaatctcctagaatactgatttactcgac atcctaccgttacagtggggtccctgatcgcttcacag cctatggatctgggacagatttcactctcaccattacc aatgtgcagtctgaagacttgacagagtatttctgtca gcaatataatagctatcctctcacgttcggtgctggga ccaagctggagctgaaa
E99 V_L (配列番号 86 の予測されるアミノ酸)	マウス	図 12A	87	NIVMTQSQKFMSTSPGDRVRVTCKASQNVGSDVAWYQA KPGQSPRILIYSTSYRYSGVPDRFTAYGSGTDFTLTIT NVQSEDLTEYFCQQYNSYPLTFGAGTKLELK
E99 V_L (配列番号 86 の相補鎖)	マウス	図 12A	88	tttcagctccagcttggtcccagcaccgaacgtgagag gatagctattatattgctgacagaaatactctgtcaag tcttcagactgcacattggtaatggtgagagtgaaatc tgtcccagatccataggctgtgaagcgatcagggaccc cactgtaacggtaggatgtcgagtaaatcagtattcta ggagattgtcctggtttcgcttgataccaggctacatc agaacccacattctgactggccttgcaggtgaccctga ccctgtctcctggtgatgtggacatgaatttttgagac tgggtcatcacaatgtt
MuV_HIB	マウス	図 11B	89	QVQLKESGPGLVASSQSLSITCTVSGFSLTAYGINWVR QPPGKGLEWLGVIWPDGNTDYNSTLKSRLNIFKDNSKN QVFLKMSSFQTDDTARYFCARDSYGNFKRGWFDFWGQG TTLTVSS

【０１５４】

【表８Ｎ】

$E99V_H/MuV_HIB$ 大部分の配列	人工的 大部分の 配列	図 11B	90	QVQLKESGPGLVASSQSLSITCTVSGFSLTAYGINWVR QPPGKGLEWLGVIWPDGNTDYNSTLKSRLNIFKDNSKN QVFLKMSSFQTDDTARYFCARDSYGNFKRGWFDFWGQG TTLTVSS
MuV_L-1	マウス	図 12B	91	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNY LAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTD FTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLELK
$E99V_L/MuV_L$-1 大部分の配列	人工的 大部分の 配列	図 12B	92	DIVMTQSQSSLAVSAGDKVTVSCKASQSLLNVGSDKNY VAWYQAKPGQSPKLLIYSASTRESGVPDRFTGSGSGTD FTLTISSVQAEDLAVYFCQNDNSYPLTFGAGTKLELKR A

【０１５５】

ヒト化抗体分子またはＣＤＲ移植抗体分子または免疫グロブリンは、ＣＤＲ移植またはＣＤＲ置換によって産生可能であり、ここで、免疫グロブリン鎖の１、２、またはすべてのＣＤＲを交換可能である。例えば、そのすべての内容が明確に本明細書に援用される、米国特許５，２２５，５３９；Ｊｏｎｅｓら １９８６ Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５５２－５２５；Ｖｅｒｈｏｅｙａｎら １９８８ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４；Ｂｅｉｄｌｅｒら １９８８ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４１：４０５３－４０６０；Ｗｉｎｔｅｒ、ＵＳ ５，２２５，５３９を参照されたい。

【０１５６】

Ｗｉｎｔｅｒは、本発明のヒト化抗体を調製するのに使用可能なＣＤＲ移植法を記載しており（ＵＫ特許出願ＧＢ ２１８８６３８Ａ、１９８７年３月２６日出願；Ｗｉｎｔｅｒ、ＵＳ ５，２２５，５３９）、この内容は、明確に本明細書に援用される。特定のヒト抗体のＣＤＲすべてを、非ヒトＣＤＲの少なくとも一部と交換することが可能であるし、またはＣＤＲのいくつかのみを、非ヒトＣＤＲと交換することが可能である。あらかじめ決定した抗原に対するヒト化抗体の結合に必要な数のＣＤＲを交換する必要があるのみである。

【０１５７】

抗原結合に直接関与しないＦｖ可変部の配列を、ヒトＦｖ可変部由来の同等の配列と交換することによって、ヒト化抗体を生成可能である。ヒト化抗体を生成するための一般的な方法が、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓ．Ｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２－１２０７、Ｏｉら，１９８６，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４、並びにＱｕｅｅｎら、ＵＳ ５，５８５，０８９、ＵＳ ５，６９３，７６１およびＵＳ ５，６９３，７６２に提供され、これらのすべての内容が本明細書に援用される。これらの方法には、重鎖または軽鎖の少なくとも１つから、免疫グロブリンＦｖ可変部のすべてまたは一部をコードする核酸配列を単離し、操作し、そして発現することが含まれる。こうした核酸の供給源は、当業者に周知であり、そして例えば、上述のように、あらかじめ決定した標的に対する抗体を産生するハイブリドーマから得ることが可能である。その後、ヒト化抗体またはその断片をコードする組換えＤＮＡを、適切な発現ベクターにクローニングすることが可能である。

【０１５８】

また、本発明の範囲内には、特定のアミノ酸が置換されるか、欠失されるか、または付加されているヒト化抗体がある。特に、好ましいヒト化抗体は、抗原への結合を改善するような、フレームワーク領域におけるアミノ酸置換を有する。例えば、ヒト化免疫グロブリン鎖の、選択される少数のアクセプターフレームワーク残基を、対応するドナーアミノ

酸と交換することが可能である。置換の好ましい位置には、ＣＤＲに隣接するかまたはＣＤＲと相互作用可能なアミノ酸残基が含まれる（例えばＵＳ　５，５８５，０８９を参照されたい）。ドナーからアミノ酸を選択する規準が、ＵＳ　５，５８５，０８９、例えばＵＳ　５，５８５，０８９の１２～１６欄に記載され、この内容は本明細書に援用される。アクセプターフレームワークは、成熟ヒト抗体フレームワーク配列またはコンセンサス配列であることが可能である。

【０１５９】

本明細書において、用語「コンセンサス配列」は、関連配列ファミリーにおいて、最も頻繁に存在するアミノ酸（またはヌクレオチド）から形成される配列を指す（例えばＷｉｎｎａｋｅｒ，　Ｆｒｏｍ　Ｇｅｎｅｓ　ｔｏ　Ｃｌｏｎｅｓ（Ｖｅｒｌａｇｓｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ，　ドイツ・ワインハイム　１９８７）を参照されたい）。タンパク質ファミリーにおいて、コンセンサス配列中の各位は、ファミリーにおいて、その位に最も頻繁に存在するアミノ酸によって占められる。２つのアミノ酸が、同等に頻繁に存在する場合、どちらがコンセンサス配列に含まれることも可能である。「コンセンサス・フレームワーク」は、コンセンサス免疫グロブリン配列におけるフレームワーク領域を指す。

【０１６０】

抗体をヒト化する他の技術が、Ｐａｄｌａｎら　ＥＰ　５１９５９６　Ａ１、１９９２年１２月２３日公開に記載される。

抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原断片はまた、その内容が特に本明細書に援用される、ＷＯ　９８／５２９７６およびＷＯ　００／３４３１７に開示される方法によって、ヒトＴ細胞エピトープの特異的欠失または「脱免疫化」によって修飾可能である。簡潔には、抗ＰＳＭＡ抗体のマウス重鎖および軽鎖の可変部を、ＭＨＣクラスＩＩに結合するペプチドに関して解析可能であり；これらのペプチドは、潜在的なＴ細胞エピトープに相当する（ＷＯ　９８／５２９７６およびＷＯ　００／３４３１７に定義されるとおり）。潜在的なＴ細胞エピトープを検出するため、「ペプチドスレッディング」と称されるコンピュータモデリングアプローチが適用可能であり、そしてさらに、ＷＯ　９８／５２９７６およびＷＯ　００／３４３１７に記載されるように、マウスV_HおよびV_L配列に存在するモチーフに関して、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベースを検索することが可能である。これらのモチーフは、１８の主要なＭＨＣクラスＩＩ　ＤＲアロタイプのいずれかに結合し、そしてしたがって、潜在的なＴ細胞エピトープを構成する。検出される潜在的なＴ細胞エピトープは、可変部において、少数のアミノ酸残基を置換することによって、または好ましくは単一アミノ酸置換によって、除去可能である。ありうる保存的置換を作成する限り、排他的にではないが、しばしば、ヒト生殖系列抗体配列中のこの位に一般的なアミノ酸を使用することが可能である。ヒト生殖系列配列は、ＴｏｍｌｉＮＳ０ｎ，　Ｉ．Ａ．ら　（１９９２）　Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．　２２７：７７６－７９８；Ｃｏｏｋ，　Ｇ．Ｐ．ら　（１９９５）　Ｉｍｍｕｎｏｌ．　Ｔｏｄａｙ　Ｖｏｌ．１６（５）：２３７－２４２；Ｃｈｏｔｈｉａ，　Ｄ．ら　（１９９２）　Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏ．　２２７：７９９－８１７に開示される。Ｖ　ＢＡＳＥディレクトリは、ヒト免疫グロブリン可変部配列の包括的なディレクトリを提供する（ＴｏｍｌｉＮＳ０ｎ，　Ｉ．Ａ．ら　ＭＲＣ　Ｃｅｎｔｒｅ　ｆｏｒ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，　英国ケンブリッジによって編集）。マウスのV_HおよびV_L遺伝子の突然変異誘発によって、抗ＰＳＭＡ抗体の脱免疫V_HおよびV_Lを構築した後、突然変異誘発した可変配列を、場合によって、ヒト定常部、例えばヒトＩｇＧ１またはκ定常部に融合させることが可能である。

【０１６１】

いくつかの場合、潜在的なＴ細胞エピトープには、抗体機能に重要であることが知られるかまたは重要であると予測される残基が含まれるであろう。例えば、潜在的なＴ細胞エピトープは、通常、ＣＤＲに偏る。さらに、潜在的なＴ細胞エピトープは、抗体構造および結合に重要なフレームワーク残基に存在することが可能である。これらの潜在的なエピトープを除去する変化は、いくつかの場合、例えば該変化を含む鎖および含まない鎖を作

成して、そして試験することによる、さらなる吟味を必要とするであろう。可能な場合、ＣＤＲと重複する、潜在的なＴ細胞エピトープを、ＣＤＲ外部の置換によって除去した。いくつかの場合、ＣＤＲ内の改変が唯一のオプションであり、そしてしたがってこの置換を含む変異体および含まない変異体を試験すべきである。他の場合、潜在的なＴ細胞エピトープを除去するのに必要な置換は、抗体結合に重要である可能性があるフレームワーク内の残基位でのものである。これらの場合、この置換を含む変異体および含まない変異体を試験すべきである。したがって、いくつかの場合、いくつかの変異体の脱免疫重鎖および軽鎖の可変部を設計し、そして最適な脱免疫抗体を同定するため、多様な重鎖／軽鎖の組み合わせを試験した。その後、異なる変異体の結合親和性と、脱免疫の度合い、すなわち可変部に残る潜在的なＴ細胞エピトープの数を組み合わせて考慮することによって、最終脱免疫抗体を選択することが可能である。

【０１６２】

発現のため、適切な宿主細胞、例えばＮＳ０またはＣＨＯ細胞に組換え脱免疫抗体をトランスフェクションして、完全な組換え抗体を産生することが可能である。

１つの態様において、マウスのV_HおよびV_L遺伝子の突然変異誘発によって、マウスＪ５９１領域の脱免疫V_HおよびV_Lを構築した。マウスＪ５９１可変部配列を図１Ａ～１Ｂに示す。マウスＪ５９１重鎖および軽鎖の可変部における潜在的なエピトープ（ペプチドスレッディングプログラムを用いて同定）を、それぞれ、図３Ａおよび３Ｂに示す。ＭＨＣクラスＩＩに結合すると予測される１３量体ペプチドを下線で示し、ＣＤＲは図３Ａの残基２６～３５、５０～６６、および９９～１０４、並びに図３Ｂの残基２４～３４、５０～５６、および８９～９７に位置し、そして脱免疫重鎖および軽鎖の可変部において改変された残基はボックスに入れる。可能な場合、アミノ酸置換は、ヒト生殖系列重鎖および軽鎖の可変部に一般的に用いられるものである。ペプチドスレッディングソフトウェアを用いた、ｉｎ　ｓｉｌｉｃｏ解析に加えて、マウスＪ５９１配列に存在するモチーフに関して、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベースを検索した。

【０１６３】

マウスＪ５９１重鎖可変部の以下の１３量体（１３量体の最初の直鎖残基番号によって標示）は、ＭＨＣクラスＩＩに結合すると予測され、そしてこれらは、２、１０、１６、３０、３２、３５、４３、４６、５８、６２、７０、８１、８４、９１、および１００であった（図３Ａ）。マウスＪ５９１重鎖可変部において残基に行う変化の根底にある原理の説明を以下に示す（改変された残基が、Ｋａｂａｔ番号付け系に基づいて同定されていることに注目されたい）：

５Ｑ(R)Ｖは、残基２の潜在的なエピトープを除去し；

１１，１２ＬＶ(R)ＶＫは、残基１０の潜在的なエピトープを除去し；

１２Ｖ(R)Ｋもまた、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベース由来のモチーフを除去するよう変化し；

１６，１７ＴＳ(R)ＡＴ、および１９Ｒ(R)Ｋは、残基１６の潜在的なエピトープを除去し；

残基３０のエピトープはＣＤＲ１に渡り、そしてしたがって改変せず；

４０，４１ＳＨ(R)ＡＰは、残基３２および３５の潜在的なエピトープを除去し；

４４Ｓ(R)Ｇは、４３のエピトープに関する結合スコアを減少させ、この１３量体はＣＤＲ２に渡り；

残基４６、５８および６２のエピトープはＣＤＲ２に渡り、そしてしたがって改変せず；

７５，７６ＳＳ(R)ＴＤは、残基７０の潜在的なエピトープを除去し；

８２ａＲ(R)Ｓ、８３Ｔ(R)Ｒは、残基８１および８４の潜在的なエピトープを除去し；

８７Ｓ(R)Ｔ、この変化は、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベース由来のモチーフを除去するよう作成され；

残基９１のエピトープはＣＤＲ３に渡り、そしてしたがって改変せず；そして

１０８Ｔ(R)Ｌは、残基１００の潜在的なエピトープを除去する。

【０１６４】
ＭＨＣクラスＩＩ分子に結合すると予測される、マウスＪ５９１軽鎖可変部の次の１３量体(mer)（１３量体の最初の直鎖残基番号によって標示）は、１、８、１７、２７、３０、３１、３５、４５、４７、５６、６０、７１、７３、８１、９４であった（図３Ｂ）。マウスＪ５９１軽鎖可変部において残基に行う変化の根底にある原理の説明を以下に示す（改変された残基が、Ｋａｂａｔ番号付け系に基づいて同定されていることに注目されたい）：
３Ｖ(R)Ｑは、残基１の潜在的なエピトープを除去し；
８－１１ＨＫＦＭ(R)ＰＳＳＬは、残基８（１３）の潜在的なエピトープを除去し；
２０－２２ＳＩＩ(R)ＴＬＴは、残基１７および２０の潜在的なエピトープを除去し；
２１Ｉ(R)Ｌもまた、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベース由来のモチーフを除去するよう変化し；
残基２７のエピトープはＣＤＲ１に渡り、そしてしたがって改変せず；
４２Ｑ(R)Ｐは、残基３１のエピトープに関する結合スコアを減少させ；
残基４４および４７のエピトープはＣＤＲ２に渡り、そしてしたがって改変せず；
５８Ｖ(R)Ｉは、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベース由来のモチーフを除去するよう変化し；
６０Ｄ(R)Ｓ、６２Ｔ(R)Ｓは、残基５６および６０のエピトープを除去し；
７６－７８ＴＮＶ(R)ＳＳＬ、８０Ｓ(R)Ｐ、８３Ｌ(R)Ｆは、残基７１、７３、７６および８１のエピトープを除去し；
８７Ｆ(R)ＹＩは、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベース由来のモチーフを除去するよう変化し；
１００Ａ(R)Ｐおよび１０３Ｍ(R)Ｋは、残基９４のエピトープを除去し；そして
１０４Ｌ(R)Ｖおよび１０６Ｌ(R)Ｉは、ヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベース由来のモチーフを除去するよう変化する。
【０１６５】
脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のアミノ酸およびヌクレオチド配列を、それぞれ、図２Ａ～２Ｂおよび４Ａ～４Ｂに示す（表８も参照されたい）。
ヒトＩｇＧ１またはκ定常部を付加して、そして複合遺伝子をＮＳ０細胞にトランスフェクションして、完全な組換え抗ＰＳＭＡ抗体を産生した。これらの抗体は、元来のマウス抗体と同程度に効率的にＰＳＭＡ（ＬＮＣａｐ細胞上）に結合し、そしてヒトにおいて、減少した免疫原性を有するか、またはまったく免疫原性を持たない。
【０１６６】
脱免疫Ｊ４１５の設計は、脱免疫Ｊ５９１抗体の作成と類似であった。重鎖および軽鎖配列を、ＨＢ－１２１０９と称するハイブリドーマからクローニングした。これらの配列を、対照抗体として使用するため、キメラ抗体としてクローニングし、配列決定し、そして発現させた。マウスＶ領域配列をペプチドスレッディングに供して、１８の異なるヒトＭＨＣクラスＩＩアロタイプへの結合の解析を通じて、潜在的なＴ細胞エピトープを同定した。マウス配列に関するペプチドスレッディング解析の結果を表９に示す。
【０１６７】
表９：マウスＪ４１５配列における潜在的なＴ細胞エピトープ
【０１６８】

【表９】

配列	潜在的Ｔ細胞の数	潜在的なエピトープの位置[+]（試験した１８群のうち、潜在的なMHC結合因子の数）
ネズミ J415 V_H	12	10(17), 16(13), 21(9), 30(6), 35(16), 43(8), 46(6), 49(8), 64(6), 80(15), 86(15), 104(6)
ネズミ J415 V_K	13	5(5), 11(18), 13(11), 17(5), 27(8), 31(7), 56(15), 60(12), 70(5), 71(11), 73(17), 76(7), 81(17)

【０１６９】

[+]V_HおよびV_Kに関して、それぞれ、ＥまたはＮ、アミノ酸番号１から、ＳまたはＫ、アミノ酸番号１０７および１１６と番号付けされる、潜在的なエピトープの第一のアミノ酸。

【０１７０】

一次脱免疫V_HおよびV_L配列を定義した（Ｊ４１５Ｄ１ＶＨ１、Ｊ４１５Ｄ１ＶＫ１）。一次脱免疫配列の生成が、最終脱免疫分子の結合に影響を及ぼす可能性がある、少数のアミノ酸置換を必要とするため、３つの他の変異体V_HＳおよび７つの他のV_LＳを設計した（図５および６を参照されたい）。一次脱免疫V_HおよびV_L領域のヌクレオチド配列を、それぞれ、図７Ａおよび８Ａに示す。Ｊ４１５のマウスおよび脱免疫Ｖ領域のアミノ酸配列の比較を、V_Hに関しては図５に、そしてV_Lに関しては図６に示す。

【０１７１】

マウスＪ４１５重鎖可変部において残基に行ういくつかの変化の根底にある原理の説明を以下に示す（改変された残基が、図５に示す直鎖番号付けにしたがって同定されていることに注目されたい）：

２０Ｌ(R)Ｉは、残基１０および１６の潜在的なエピトープを除去し；

８７Ｎ(R)Ｓは、残基８０および８６の潜在的なエピトープを除去し；

９４、９５ＧＩ(R)ＡＶは、残基８６の潜在的なエピトープを除去し；そして

１１２Ｌ(R)Ｖは、残基１０４の潜在的なエピトープを除去する。

【０１７２】

マウスＪ４１５軽鎖可変部において残基に行ういくつかの変化の根底にある原理の説明を以下に示す（改変された残基が、図６に示す直鎖番号付けにしたがって同定されていることに注目されたい）：

１３Ｉ　Ａは、残基５、１１および１３の潜在的なエピトープを除去し；

１５Ｖ　Ａは、残基５、１１および１３の潜在的なエピトープを除去し；

１９Ｖ－Ｍは、残基１１、１３および１７の潜在的なエピトープを除去し；

４１Ｅ－Ｔは、残基３１の潜在的なエピトープを除去し；

６３Ｔ－Ｓは、残基５６および６０の潜在的なエピトープを除去し；

６８Ａ－Ｇは、残基５６および６０の潜在的なエピトープを除去し；そして

８０Ｔ－Ａは、残基７０、７１、７３、および７６の潜在的なエピトープを除去する。

【０１７３】

Ｊ４１５の脱免疫可変部を、重複ＰＣＲ組換え法によって、構築した。クローニングしたマウスV_HおよびV_K遺伝子を、必要な脱免疫配列へのフレームワーク領域の突然変異誘発のためのテンプレートとして用いた。改変しようとする領域を含む、突然変異誘発プライマー対の組を合成した。ベクターＶＨ－ＰＣＲ１およびＶＫ－ＰＣＲ１（Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら（１９８８）Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－７）をテンプレートとして用いて、リーダーシグナルペプチド、リーダーイントロンおよびマウス免疫グロブリンプロモーターを含む５’隣接配列、並びにスプライシング部位およびイントロン配列を含む３’隣接配列を導入した。生じた脱免疫Ｖ領域をｐＵＣ１９にクローニングし、そして各脱免疫V_HおよびV_Lに関して、全ＤＮＡ配列が正しいことを確認した。

【０１７４】
脱免疫重鎖および軽鎖Ｖ領域遺伝子を、ＨｉｎｄＩＩＩからＢａｍＨＩ断片としてｐＵＣ１９から切除し、この断片には、マウス重鎖免疫グロブリンプロモーター、リーダーシグナルペプチド、リーダーイントロン、$Ｖ_{Ｈ}$または$Ｖ_{Ｌ}$配列およびスプライシング部位が含まれる。これらを、それぞれヒトＩｇＧ１またはκ定常部、および哺乳動物細胞における選択のためのマーカーを含む発現ベクター、ｐＳＶｇｐｔおよびｐＳＶｈｙｇに移した。発現ベクターにおいて、脱免疫$Ｖ_{Ｈ}$および$Ｖ_{Ｌ}$に関して、ＤＮＡ配列が正しいことを確認した。

【０１７５】
ＮＳ０（動物細胞培養欧州コレクション、英国ポートンから得た、非免疫グロブリン産生マウス骨髄腫（ＥＣＡＣＣ番号８５１１０５０３））細胞への発現ベクターｐＳＶｇｐｔＪ４１５ＶＨＨｕＩｇＧ１およびｐＳＶｈｙｇＪ４１５ＶＫＨｕＣＫのトランスフェクションのため、それぞれ、３および６μｇのプラスミドＤＮＡを調製し、そしてその後、トランスフェクション効率を改善するため、Ｐｖｕ１で直線化した。その後、エタノール沈殿させたＤＮＡを、遠心分離によって採取し、そして０．４ｃｍジーンパルサーキュベットにおいて、０．５ｍｌの非選択ダルベッコの修飾イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｉｎｃ．）に再懸濁した半集密（ｓｅｍｉ－ｃｏｎｆｌｕｅｎｔ）フラスコのＮＳ０細胞と混合した。細胞およびＤＮＡを氷上で５分間冷却した後、１７０Ｖ、９６０μＦのパルスを適用した。キュベットをさらに２０分間氷上に戻し、その後、２０ｍｌの非選択ＤＭＥＭを含有する７５$ｃｍ^{2}$フラスコに移して、２４時間回復させた。その後、細胞を採取し、そして選択ＤＭＥＭに再懸濁し、そして４ｘ９６ウェルプレートに、２００μｌ／ウェルで蒔いた。ＮＳ０細胞へのｄｅＪ５９１抗体重鎖および軽鎖のサブユニットをコードする発現ベクターのトランスフェクションのため、同様のプロトコルにしたがった。

【０１７６】
ＮＳ０細胞株を培養し、選択し、そして拡大するため、３７℃、５％$ＣＯ_{２}$および１０％ＦＢＳで、細胞を増殖させる。ＮＳ０細胞の日常的な培養用の非選択培地を調製するため、培地は、ＵＳＡ起源の１０％ウシ胎児血清（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ウシ胎児血清、カタログ番号：１６０００）、抗生物質／抗真菌剤溶液（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：１５２４０）、ゲンタマイシン（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：１５７１０）、ピルビン酸ナトリウム（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：１１３６０－０３９）を補ったダルベッコの修飾イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：３１９６５－０２３）である。抗体産生のため、ＮＳ０細胞を飽和まで増殖させる際、キサンチンおよびミコフェノール酸を添加せず、そしてＦＢＳを５％に減少させる。

【０１７７】
ＮＳ０トランスフェクトーマ（ｔｒａｎｓｆｅｃｔｏｍａ）の培養用の選択培地を調製するため、培地は、ＵＳＡ起源の１０％ウシ胎児血清（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ウシ胎児血清、カタログ番号：１６０００）、抗生物質／抗真菌剤溶液（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：１５２４０）、ゲンタマイシン（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：１５７１０）、ピルビン酸ナトリウム（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：１１３６０－０３９）、２５０μｇ／ｍｌキサンチン（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｘ－３６２７、０．５Ｍ　ＮａＯＨ中、２５ｍｇ／ｍｌで、ストックを作成）、および０．８μｇ／ｍｌミコフェノール酸（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｍ－３５３６、１００％エタノール中、２．５ｍｇ／ｍｌで、ストックを作成）を補ったダルベッコの修飾イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号：３１９６５－０２３）である。

【０１７８】
およそ１０日後、ｇｐｔ遺伝子を発現する細胞コロニーが裸眼で可視であった。その後、ヒトＩｇＧ１／κスクリーニングＥＬＩＳＡのため、以下のプロトコルを用いて、抗体

産生に関してプレートをスクリーニングした。０．７より高い、高ＯＤを持つウェルから、６つの単一のコロニーを選別して、２４ウェル細胞培養プレートに移した。５～６日以内に、細胞を、２５ｃｍ^{2}フラスコに拡大した。２４ウェルおよび２５ｃｍ^{2}フラスコ中の飽和培養から、ヒトＩｇＧ１／κ　ＥＬＩＳＡのための以下のプロトコルを用いて、選択したクローンの抗体産生性をアッセイした。

【０１７９】

プロトコルの詳細は以下のとおりである。ＥＬＩＳＡプレート（Ｄｙｎａｔｅｃｈ　Ｉｍｍｕｌｏｎ　２）を、炭酸塩／炭酸水素塩コーティング緩衝液ｐＨ９．６（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｃ－３０４１）中、１：１０００に希釈したヒツジαヒトκ抗体（Ｔｈｅ　Ｂｉｎｄｉｎｇ　Ｓｉｔｅカタログ番号：ＡＵ０１５）を用いて、ウェルあたり１００μｌでコーティングする。コーティングしたプレートを４℃で一晩または３７℃で１時間インキュベーションする。その後、プレートをＰＢＳＴ（０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ）で３回洗浄する。ウェルあたり１００μｌ、２４ウェルプレートから２５μｌ＋７５μｌのＰＢＳＴで、９６ウェルプレートに試料を添加する。ブランクウェルをＰＢＳＴのみで処理する。反応混合物を室温で１時間インキュベーションする。その後、プレートをＰＢＳＴ（０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ）で３回洗浄する。二次抗体、ペルオキシダーゼをコンジュゲートしたヒツジαヒトＩｇＧγ鎖特異的抗体（Ｔｈｅ　Ｂｉｎｄｉｎｇ　Ｓｉｔｅカタログ番号：ＡＰＯ０４）を、ＰＢＳＴ中１：１０００の比で、ウェルあたり１００μｌ、添加する。混合物を室温で１時間インキュベーションする。その後、混合物をＰＢＳＴ（０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ）で３回洗浄する。

【０１８０】

基質を作成するため、５ｍｌの１０ｘペルオキシダーゼ緩衝液（Ｓｉｇｍａリン酸クエン酸緩衝液錠剤ｐＨ５．０、Ｐ－４８０９を用いて、１０ｘペルオキシダーゼ緩衝液を作成する）を加えた４５ｍｌのH_2Oに、ＯＰＤ（ｏ－フェニレンジアミン）（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｐ－７２８８）の錠剤を１つ（２０ｍｇ）溶解し、使用直前に１０μｌの３０％（ｗ／ｗ）過酸化水素（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｈ１１０９）を添加する。その後、ウェルあたり１００μｌの基質を添加し、そして室温で５分間または必要に応じてインキュベーションする。発色したら、２５μｌの１２．５％H_2SO_4を添加することによって反応を停止することが可能である。結果を４９２ｎｍで読み取る。

【０１８１】

Ｊ５９１およびＪ４１５脱免疫抗体の発現および拡大

最高の産生性を持つクローンを、７５ｃｍ^{2}フラスコ中に拡大し、そしてその後、２ｘ１７５ｃｍ^{2}フラスコ中に拡大した。１７５ｃｍ^{2}フラスコの１つ由来の細胞を用いて、５％ＦＢＳを含有する非選択ＤＭＥＭを含有する４ｘ三重層フラスコ（５００ｃｍ^2、Ｎａｌｇｅ　Ｎｕｎｃ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ）に接種し、他由来の細胞を、以下に詳述するＮＳ０細胞を凍結するプロトコルに詳述されるように凍結した。

【０１８２】

哺乳動物細胞を凍結保護し、そして液体窒素から細胞を復活させるため、以下の材料：ウシ胎児血清（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓカタログ番号：１６０００）、ＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｄ４５４０）、２ｍｌ凍結試験管（ＮｕｎｃまたはＧｒｅｉｎｅｒ）、および壁の厚みが１～２ｃｍのポリスチレンボックスが必要である。簡潔には、活発に増殖している細胞を遠心分離（１０００ｒｐｍ、５分間）によって採取し、そして１０％ＤＭＳＯ／９０％ＦＢＳ中、約10^7細胞／ｍｌで再懸濁する。おおまかな指針として、半集密まで増殖させた細胞を、７５ｃｍ^{2}フラスコの場合は１ｍｌに、または１７５ｃｍ^{2}フラスコの場合は２．５ｍｌに再懸濁すべきである。必要な数の試験管を氷上で冷却し、そして標識する。１ｍｌの部分を標識凍結試験管にアリコートする。凍結試験管を－７０℃で、少なくとも４時間、または一晩、ポリスチレンボックスに入れておく。バイアルをケーン(cane)に移し、そして液体窒素中に入れる。保管記録は、キャニスターインデックスおよび中央細胞株インデックス系両方で行うべきである。

【０１８３】

液体窒素から細胞を融解するため、液体窒素からバイアルを取り除き、そして水浴中で内容物を回転させながら、３７℃でインキュベーションすることによって、迅速に融解する。バイアルの外側を７０％メタノール変性アルコール(methylated spirits)で清浄化する。懸濁物を一般的な容器に移す。細胞株を増殖させるのに使用しようとする培地を１０ｍｌ、滴加し、回転させて混合する。遠心分離（１０００ｒｐｍ、５分間）によって細胞を採取する。上清を廃棄する。細胞を２０ｍｌ増殖培地に再懸濁し、そして７５ｃｍ^{2}フラスコに移す。生存度が低いと推測される場合、増殖培地に、２０％まで過剰な血清を添加して、５ｍｌのみを用いて、そして２５ｃｍ^{2}フラスコに移す。

【０１８４】

１０～１４日後、５００ｍｌ～１リットルの静置飽和培養を採取した。抗体精製のための以下のプロトコルを用いて、ＰｒｏＳｅｐＡ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｌｔｄ．）アフィニティークロマトグラフィーによって、抗体を精製した。ろ過によって精製抗体調製物を滅菌し、そして４℃で保管した。

【０１８５】

抗体精製プロトコルは以下のとおりである：抗体を産生するＮＳ０トランスフェクトーマ細胞株を、Ｎｕｎｃ三重層フラスコにおいて、ＤＭＥＭ　５％ＦＣＳ中、フラスコあたり２５０ｍｌ（総体積１ｌ）で、１０～１４日間、飽和近くまで増殖させる。馴化培地を収集し、そしてベンチ遠心分離装置5minsで、３０００ｒｐｍで５分間回転させて、細胞を除去する。その後、１／１０体積の１Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ　ｐＨ８（Ｓｉｇｍａカタログ番号：Ｔ３０３８）を細胞上清に添加して、これを０．１Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ　ｐＨ８．０にする。０．５～１ｍｌのＰｒｏｓｅｐ　Ａ（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅカタログ番号：１１３　１１１８２４）を添加し、そして室温で一晩攪拌する。３０００ｒｐｍで５分間回転させることによって、Ｐｒｏｓｅｐ　Ａを収集し、その後、Ｂｉｏｒａｄ　Ｐｏｌｙ－Ｐｒｅｐカラム（カタログ番号：７３　１－１５５０）に充填する。カラムを１０ｍｌＰＢＳで洗浄し、その後、０．１Ｍグリシンｐ３．０で１ｍｌ分画に溶出する。１００μｌの１Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ　ｐＨ８（Ｓｉｇｍａ、上述のとおり）を含有する試験管に各分画を収集する。各分画の吸光度を２８０ｎｍで測定する。抗体を含有する分画をプールし、そしてＰＢＳに対して、室温で一晩透析する。０．２ミクロン・シリンジフィルターを通じたろ過によって、調製物を滅菌し、そして各分画の吸光度を２８０ｎｍで測定する。ヒトＩｇＧに関するＥＬＩＳＡによって、抗体濃度を測定する。

【０１８６】

精製抗体は、上述のヒトＩｇＧ１／κ　ＥＬＩＳＡのプロトコルを用いて、定量可能である。

【０１８７】

Ｊ４１５脱免疫抗体の試験

上に詳述するようなプロトコルにしたがって、ＬＮＣａｐ膜調製への結合に関する、ＥＬＩＳＡにおいて、Ｊ４１５脱免疫抗体（脱免疫軽鎖サブユニットおよび脱免疫重鎖サブユニットの多様な組み合わせを含む）を試験した。ＥＬＩＳＡプレートをＬＮＣａｐ膜調製物でコーティングし、そしてリン酸緩衝生理食塩水中の５％ＢＳＡを用いてブロッキングした。Ｊ４１５キメラ抗体（それぞれ、ヒト重鎖および軽鎖の定常部に融合させたマウス重鎖および軽鎖の可変部）および脱免疫抗体の２倍希釈を適用した。検出には、キメラ抗体およびマウス抗体それぞれに関して、西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲートしたヤギ抗ヒトＩｇＧおよびロバ抗マウスを用いた。ｏ－フェニレンジアミン基質を用いて発色させた。

【０１８８】

脱免疫Ｊ４１５軽鎖バージョン５と組み合わせた脱免疫Ｊ４１５重鎖バージョン４で構成される抗体は、キメラ抗体に比較した際、ＬＮＣａｐ細胞に同等の結合を示す。また、ＤＩＶＫ５を重鎖バージョン１および２と組み合わせた際、ＬＮＣａｐ細胞への結合は、組織培養上清を解析した際、キメラ抗体のものと同等である。これらのデータは、精製抗体で確認可能である。軽鎖１、２、３をＪ４１５重鎖バージョン１、２、３、および４の

いずれかと組み合わせた際、抗体はまったく産生されなかった。脱免疫Ｊ４１５軽鎖バージョン１、２、および３は、構造的グラウンド上で、不全である可能性がある。より高い親和性および減少した免疫原性のための最適な鎖の組み合わせは、ＤＩＶＨ４／ＤＩＶＫ５である。

【０１８９】

脱免疫軽鎖バージョン５と組み合わせた脱免疫重鎖バージョン４で構成される抗体は、キメラ抗体に比較して、ＬＮＣａｐに対して同等の結合を示した。また、ＤＩＶＫ５を重鎖バージョン１および２と組み合わせた際、ＬＮＣａｐ細胞への結合は、精製抗体を解析した際、キメラ抗体のものより２倍低い。

【０１９０】

モノクローナル抗ＰＳＭＡ抗体はまた、組換えＤＮＡ技術の当業者に知られる他の方法によっても生成可能である。

損なわれていない抗体でない抗ＰＳＭＡ抗体もまた、本発明で有用である。こうした抗体は、上述の抗体のいずれに由来することも可能である。例えば、抗原結合断片と共に、上述の抗体由来の全長単量体、二量体または三量体ポリペプチド自体が有用である。この種の有用な抗体相同体には（ｉ）Ｆａｂ断片、ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、ヒンジ領域でのジスルフィド架橋によって連結される２つのＦａｂ断片を含んでなる二価断片；（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；（ｉｖ）抗体の単一のアームのＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄら，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）；および（ｖｉ）単離相補性決定領域（ＣＤＲ）、例えば抗原結合断片を提供するのに十分なフレームワークを伴う、１以上の単離ＣＤＲが含まれる。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメイン、ＶＬおよびＶＨは別個の遺伝子にコードされているが、組換え法を用いて、単一タンパク質鎖として作成可能にする合成リンカーによって、これらを連結することが可能であり、ここで、ＶＬおよびＶＨ領域は対形成して、一価分子を形成する（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる；例えばＢｉｒｄら（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎら（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照されたい）。こうした一本鎖抗体もまた、用語、抗体の「抗原結合断片」内に含まれると意図される。当業者に知られる慣用的技術を用いて、これらの抗体断片を得て、そして損なわれていない抗体と同一の方式で、有用性に関して、該断片をスクリーニングする。

【０１９１】

抗体断片はまた、化学的方法によって、例えば損なわれていない抗体を、ペプシンまたはパパインなどのプロテアーゼで切断し、そして場合によって切断産物を還元剤で処理することによっても産生可能である。あるいは、有用な断片は、一部切除重鎖遺伝子および／または軽鎖遺伝子で形質転換した宿主細胞を用いることによって、産生可能である。

【０１９２】

抗体の他の部分、例えば定常部を欠失させるか、付加するか、または置換することによって修飾されているモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、脱免疫抗体もまた、本発明の範囲内である。例えば、抗体は以下のように修飾可能である：（ｉ）定常部を欠失させることによって；（ｉｉ）定常部を別の定常部、例えば抗体の半減期、安定性、もしくは親和性を増加させることを意味する定常部、または別の種もしくは別の抗体クラス由来の定常部と交換することによって；あるいは（ｉｉｉ）定常部における１以上のアミノ酸を修飾して、例えばとりわけグリコシル化部位の数、エフェクター細胞機能、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合、補体固定を改変することによって。

【０１９３】

１つの態様において、抗体の定常部は、例えば異なる種由来の、別の定常部によって交換可能である。この交換は、分子生物学技術を用いて実行可能である。例えば、ＶＨまたはＶＬをコードする核酸を、軽鎖または重鎖の定常部をコードする別の核酸に、機能可能

であるように連結することによって、抗体のＶＬまたはＶＨ領域をコードする核酸を、それぞれ、全長軽鎖遺伝子または全長重鎖遺伝子に変換することが可能である。ヒト軽鎖および重鎖の定常部遺伝子の配列は当該技術分野に知られる。好ましくは、定常部はヒトであるが、他の種、例えばげっ歯類（例えばマウスまたはラット）、霊長類、ラクダ、ウサギ由来の定常部もまた使用可能である。これらの種由来の定常部が当該技術分野に知られる（例えばＫａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ら（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，第５版，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）。

【０１９４】

抗体定常部を改変する方法が当該技術分野に知られる。改変された機能、例えば細胞上のＦｃＲ、または補体のＣ１構成要素などのエフェクターリガンドに対する改変された親和性を持つ抗体は、抗体の定常部分の少なくとも１つのアミノ酸残基を異なる残基と交換することによって、産生可能である（例えば、その内容がすべて本明細書に援用される、ＥＰ ３８８，１５１ Ａ１、ＵＳ ５，６２４，８２１およびＵＳ ５，６４８，２６０を参照されたい）。マウスまたは他の種の免疫グロブリンに適用した際、これらの機能を減少させるかまたは除去する、同様の種類の改変が記載可能である。

【０１９５】

抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を誘導体化するか、または別の機能分子（例えば別のペプチドまたはタンパク質）に連結することが可能である。したがって、本発明の抗体および抗体部分は、免疫接着分子を含む、本明細書に記載する抗体の誘導体型および別の方式で修飾した型を含むと意図される。例えば、本発明の抗体または抗体部分は、別の抗体（例えば二特異性抗体または二重特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｙ））、検出可能剤、細胞傷害性剤、薬剤、および／または抗体または抗体部分と別の分子の会合を仲介可能なタンパク質またはペプチド（ストレプトアビジン・コア領域またはポリヒスチジン・タグなど）などの、１以上の他の分子実体に機能的に連結する（化学的カップリング、遺伝子融合、非共有会合または別の方式によって）ことが可能である。

【０１９６】

誘導体化抗体の１つの種類は、２以上の抗体（同一種類または異なる種類の、例えば二特異性抗体を生成するため）を架橋することによって産生する。適切な架橋剤には、適切なスペーサーによって分離される２つの異なる反応性基を有するヘテロ二官能性のもの（例えばｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）、またはホモ二官能性のもの（例えばスベリン酸ジスクシンイミジル）が含まれる。こうしたリンカーは、Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ、イリノイ州ロックフォードから入手可能である。

【０１９７】

本発明の抗体または抗体部分を誘導体化（または標識）可能な、有用な検出可能剤には、蛍光化合物、多様な酵素、補欠分子族、発光物質、生物発光物質、蛍光放出金属原子、例えばユーロピウム（Ｅｕ）、および他のアンタニド類（ａｎｔｈａｎｉｄｅｓ）、および放射性物質（以下に記載）が含まれる。典型的な蛍光検出可能剤には、フルオレセイン、フルオレセイン・イソチオシアネート、ローダミン、５－ジメチルアミン－１－ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリトリン等が含まれる。抗体はまた、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、グルコースオキシダーゼ等の検出可能酵素で誘導体化することも可能である。抗体を検出可能酵素で誘導体化する場合、これは、酵素が使用して検出可能な反応産物を産生する、さらなる試薬を添加することによって、検出される。例えば、検出可能剤、西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加は、検出可能な発色反応産物を導く。また、補欠分子族（例えばストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチン）で抗体を誘導体化することも可能である。例えば、抗体をビオチンで誘導体化して、そしてアビジンまたはストレプトアビジン結合の間接的測定

を通じて、検出することが可能である。適切な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセイン・イソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン・フルオレセイン、塩化ダンシルまたはフィコエリトリンが含まれ；発光物質の例には、ルミノールが含まれ；そして生物発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが含まれる。

【０１９８】

標識抗体は、例えば：（ｉ）アフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈降などの標準的技術によって、あらかじめ決定した抗原を単離すること；（ｉｉ）タンパク質の存在量および発現パターンを評価するため、あらかじめ決定した抗原を検出すること（例えば細胞溶解物または細胞上清において）；（ｉｉｉ）例えば既定の治療措置の有効性を決定するため、臨床的試験法の一部として、組織中のタンパク質レベルを監視することを含む、いくつかの背景において、診断的および／または実験的に使用可能である。

【０１９９】

抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片は、別の分子実体、典型的には標識または療法（例えば細胞傷害性または細胞分裂抑制性）剤または部分にコンジュゲート化することが可能である。

【０２００】

放射性同位体は、診断適用または療法適用で使用可能である。抗ＰＳＭＡ抗体にカップリング可能な放射性同位体には、限定されるわけではないが、α、β、またはγ放射体、あるいはβおよびγ放射体が含まれる。こうした放射性同位体には、限定されるわけではないが、ヨウ素（^{131}Ｉまたは^{125}Ｉ）、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、プラセオジム、アスタチン（^{211}Ａｔ）、レニウム（^{186}Ｒｅ）、ビスマス（^{212}Ｂｉまたは^{213}Ｂｉ）、インジウム（^{111}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}ｍＴｃ）、リン（^{32}Ｐ）、ロジウム（^{188}Ｒｈ）、イオウ（^{35}Ｓ）、炭素（^{14}Ｃ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、クロム（^{51}Ｃｒ）、塩素（^{36}Ｃｌ）、コバルト（^{57}Ｃｏまたは^{58}Ｃｏ）、鉄（^{59}Ｆｅ）、セレン（^{75}Ｓｅ）、またはガリウム（^{67}Ｇａ）が含まれる。療法剤として有用な放射性同位体には、イットリウム（^{90}Ｙ）、ルテチウム（^{177}Ｌｕ）、アクチニウム（^{225}Ａｃ）、プラセオジム、アスタチン（^{211}Ａｔ）、レニウム（^{186}Ｒｅ）、ビスマス（^{212}Ｂｉまたは^{213}Ｂｉ）、およびロジウム（^{188}Ｒｈ）が含まれる。例えば診断剤で使用するための標識として有用な放射性同位体には、ヨウ素（^{131}Ｉまたは^{125}Ｉ）、インジウム（^{111}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}ｍＴｃ）、リン（^{32}Ｐ）、炭素（^{14}Ｃ）、およびトリチウム（^{3}Ｈ）、または上に列挙される療法的同位体の１以上が含まれる。

【０２０１】

本発明は、放射標識抗ＰＳＭＡ抗体および該抗体を標識する方法を提供する。１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体を標識する方法を開示する。該方法には、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば本明細書に記載する抗ＰＳＭＡ抗体を、キレート剤、例えば１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）と接触させ、それによってコンジュゲート化抗体を産生することが含まれる。コンジュゲート化抗体を放射性同位体、例えば^{111}インジウム、^{90}イットリウムおよび^{177}ルテチウムで放射標識し、それによって標識抗ＰＳＭＡ抗体を産生する。抗ＰＳＭＡ抗体を放射標識する詳細な方法は、以下のセクションおよび付随する実施例に、より詳細に記載される。例えば、抗ＰＳＭＡ抗体は、その内容が本明細書に完全に援用される、ＵＳＳＮ　６０／２９５，２１４、２００１年６月１日出願に記載されるように、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）とカップリングさせることによって、^{111}インジウム、^{90}イットリウム、または^{177}ルテチウムで放射標識することが可能である。抗ＰＳＭＡ抗体をキレートするための詳細な実験プロトコルが、ＵＳＳＮ　６０／２９５，２１４の実施例１６に記載され、これは、本出願に特に援用され、そして以下の実施例１で再現される。

【０２０２】

上に論じるように、抗体を療法剤とコンジュゲート化することが可能である。療法的に活性である放射性同位体にはすでに言及した。他の療法剤の例には、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、エチジウムブロミド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド類、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、メイタンシノイド類、例えばメイタンシノール（米国特許第５，２０８，０２０号を参照されたい）、ＣＣ－１０６５（米国特許第５，４７５，０９２号、第５，５８５，４９９号、第５，８４６，５４５号を参照されたい）およびその類似体または相同体が含まれる。療法剤には、限定されるわけではないが、代謝拮抗剤（例えばメトトレキセート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルダカルバジン（ｄｅｃａｒｂａｚｉｎｅ））、アルキル化剤（例えばメクロレタミン、チオエパ（ｔｈｉｏｅｐａ）クロラムブシル、ＣＣ－１０６５、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）およびロムスチン（ＣＣＮＵ）、シクロホスファミド（ｃｙｃｌｏｔｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、およびシス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン）、アントラサイクリン類（例えばダウノルビシン（以前のダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えばダクチノマイシン（以前のアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（ＡＭＣ））、および抗有糸分裂剤（例えばビンクリスチン、ビンブラスチン、タキソールおよびメイタンシノイド類）が含まれる。

【０２０３】

本発明のコンジュゲートは、既定の生物学的反応を修飾するのに使用可能である。療法剤は、古典的な化学的療法剤に限定されると解釈してはならない。例えば、療法剤は、望ましい生物学的活性を所持するタンパク質またはポリペプチドであることが可能である。こうしたタンパク質には、例えばアブリン、リシンＡ、シュードモナス外毒素、ジフテリア毒素、またはその構成要素（例えばシュードモナス外毒素の構成要素はＰＥ３８である）などの毒素；腫瘍壊死因子、インターフェロン、神経増殖因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノーゲンアクチベーターなどのタンパク質；または例えばリンホカイン類、インターロイキン－１（「ＩＬ－１」）、インターロイキン－２（「ＩＬ－２」）、インターロイキン－６（「ＩＬ－６」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「ＧＭ－ＣＳＦ」）、顆粒球コロニー刺激因子（「Ｇ－ＣＳＦ」）、または他の増殖因子などの生物学的反応修飾因子が含まれることが可能である。同様に、療法剤は、本発明の抗ＰＳＭＡ抗体にコンジュゲート化される（例えば化学的リンカーを介して）か、または融合される（例えばウイルスコートタンパク質を介して）ウイルス粒子、例えば組換えウイルス粒子であることが可能である。ウイルス核酸分子、例えば組換えウイルス核酸分子の、ＰＳＭＡを発現する細胞、例えば前立腺癌細胞または腫瘍に関連する血管内皮細胞への導入は、抗ＰＳＭＡ抗体／ウイルス粒子コンジュゲートまたは融合体の結合およびエンドサイトーシスに続いて、起こることが可能である。

【０２０４】

核酸、ベクターおよび宿主細胞

本発明の別の側面は、本発明の修飾抗体および抗原結合断片の組換え発現に使用可能な、単離核酸、ベクターおよび宿主細胞組成物に関する。１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体（例えば脱免疫Ｊ５９１またはＪ４１５抗ＰＳＭＡ抗体）、またはその抗原結合断片の、それぞれ、重鎖および軽鎖の可変部をコードするヌクレオチド配列を含んでなる、第一の単離核酸および第二の単離核酸を提供する。

【０２０５】

修飾（脱免疫）抗ＰＳＭＡ　Ｊ５９１免疫グロブリン軽鎖可変部のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を図４Ｂに示す（それぞれ配列番号２５および２２）。非コード相補ヌクレオチド配列もまた、図４Ｂに示す（配列番号２６）。Ｊ５９１脱免疫抗ＰＳＭＡ抗体

軽鎖可変部は、以下の領域を含有する：配列番号２５のほぼヌクレオチド２６１～３２９にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基１～２３（直鎖番号付け；配列番号１３もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ１ドメイン；配列番号２５のほぼヌクレオチド３３０～３６２にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基２４～３４（直鎖番号付け；配列番号４もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ１ドメイン；配列番号２５のほぼヌクレオチド３６３～４０７にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基３５～４９（直鎖番号付け；配列番号１４もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ２ドメイン；配列番号２５のほぼヌクレオチド４０８～４２８にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基５０～５６（直鎖番号付け；配列番号５もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ２ドメイン；配列番号２５のほぼヌクレオチド４２９～５２４にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基５７～８８（直鎖番号付け；配列番号１５もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ３ドメイン；配列番号２５のほぼヌクレオチド５２５～５５１にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基８９～９７（直鎖番号付け；配列番号６もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ３ドメイン；および配列番号２５のほぼヌクレオチド５５２～５８１にコードされる、配列番号２２のほぼアミノ酸残基９８～１０７（直鎖番号付け；配列番号１６もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ４ドメイン。

【０２０６】

修飾（脱免疫）抗ＰＳＭＡ　Ｊ５９１免疫グロブリン重鎖可変部のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を図４Ａに示す（それぞれ配列番号２３および２１）。非コード相補配列もまた、図４Ａに示す（配列番号２４）。Ｊ５９１脱免疫抗ＰＳＭＡ抗体重鎖可変部は、以下の領域を含有する：配列番号２３のほぼヌクレオチド２６１～３３５にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基１～２５（直鎖番号付け；配列番号９もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ１ドメイン；配列番号２３のほぼヌクレオチド３３６～３６５にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基２６～３５（直鎖番号付け；配列番号１もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ１ドメイン；配列番号２３のほぼヌクレオチド３６６～４０７にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基３６～４９（直鎖番号付け；配列番号１０もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ２ドメイン；配列番号２３のほぼヌクレオチド４０８～４５８にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基５０～６６（直鎖番号付け；配列番号２もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ２ドメイン；配列番号２３のほぼヌクレオチド４５９～５５４にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基６７～９８（直鎖番号付け；配列番号１１もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ３ドメイン；配列番号２３のほぼヌクレオチド５５５～５７２にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基９９～１０４（直鎖番号付け；配列番号３もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ３ドメイン；および配列番号２３のほぼヌクレオチド５７３～６０５にコードされる、配列番号２１のほぼアミノ酸残基１０５～１１５（直鎖番号付け；配列番号９もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ４ドメイン。

【０２０７】

修飾（脱免疫）抗ＰＳＭＡ　Ｊ４１５免疫グロブリン軽鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＫ１）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を図８Ａに示す（それぞれ配列番号５６および５７）。Ｊ４１５ＤＩＶＫ１の非コード相補ヌクレオチド配列もまた、図８Ａに示す（配列番号５８）。Ｊ４１５脱免疫抗ＰＳＭＡ抗体軽鎖可変部は、以下の領域を含有する：配列番号５６のほぼヌクレオチド２６１～３２９にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基１～２３（直鎖番号付け；配列番号４１もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ１ドメイン；配列番号５６のほぼヌクレオチド３３０～３６２にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基２４～３４（直鎖番号付け；配列番号３２もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ１ドメイン；配列番号５６のほぼヌクレオチド３６３～４０７にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基３５～４９（直鎖番号付け；配列番号４２もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ２ドメイン；配列番号５６のほぼヌクレオチド４０８～４２８にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基５０～５６（直鎖番号付け；配列番号３３もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ２ドメイン；配列番号５６のほ

ぼヌクレオチド４２９～５２４にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基５７～８８（直鎖番号付け；配列番号４３もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ３ドメイン；配列番号５６のほぼヌクレオチド５２５～５５１にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基８９～９７（直鎖番号付け；配列番号３４もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ３ドメイン；および配列番号５６のほぼヌクレオチド５５２～５８１にコードされる、配列番号５７のほぼアミノ酸残基９８～１０７（直鎖番号付け；配列番号４４もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ４ドメイン。好ましい修飾（脱免疫）抗ＰＳＭＡ　Ｊ４１５免疫グロブリン軽鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＫ５）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、それぞれ、配列番号５０および５２に示し；Ｊ４１５ＤＩＶＫ５は、Ｊ４１５ＤＩＶＫ１に関して上に示すのと同一の方式で、その構成要素配列に分割することが可能である。

【０２０８】

修飾（脱免疫）抗ＰＳＭＡ　Ｊ４１５免疫グロブリン重鎖可変部のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を図７Ａに示す（それぞれ配列番号５３および５４）。非コード相補配列もまた、図７Ａに示す（配列番号５５）。Ｊ４１５脱免疫抗ＰＳＭＡ抗体重鎖可変部は、以下の領域を含有する：配列番号５３のほぼヌクレオチド２６１～３３５にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基１～２５（直鎖番号付け；配列番号３７もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ１ドメイン；配列番号５３のほぼヌクレオチド３３６～３６５にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基２６～３５（直鎖番号付け；配列番号２９もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ１ドメイン；配列番号５３のほぼヌクレオチド３６６～４０７にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基３６～４９（直鎖番号付け；配列番号３８もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ２ドメイン；配列番号５３のほぼヌクレオチド４０８～４６４にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基５０～６８（直鎖番号付け；配列番号３０もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ２ドメイン；配列番号５３のほぼヌクレオチド４６５～５６０にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基６９～１００（直鎖番号付け；配列番号３９もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ３ドメイン；配列番号５３のほぼヌクレオチド５６１～５７５にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基１０１～１０５（直鎖番号付け；配列番号３１もまた参照されたい）に対応する、ＣＤＲ３ドメイン；および配列番号５３のほぼヌクレオチド５７６～６０８にコードされる、配列番号５４のほぼアミノ酸残基１０６～１１６（直鎖番号付け；配列番号４０もまた参照されたい）に対応する、ＦＲ４ドメイン。好ましい修飾（脱免疫）抗ＰＳＭＡ　Ｊ４１５免疫グロブリン重鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＨ４）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を、それぞれ、配列番号５１および４９に示し；Ｊ４１５ＤＩＶＨ４は、Ｊ４１５ＤＩＶＨ１に関して上に示すのと同一の方式で、その構成要素配列に分割することが可能である。

【０２０９】

当業者は、抗ＰＳＭＡ修飾抗体（例えばＦＲドメイン、例えばＦＲ１～４）をコードするヌクレオチド配列は、遺伝暗号および標準的分子生物学技術を用いて、本出願に記載されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列から得ることが可能であると認識するであろう。

【０２１０】

１つの態様において、単離核酸は、図４Ａ（配列番号２３）、図７Ａ（配列番号５３）もしくは配列番号５１（Ｊ４１５ＤＩＶＨ４）に示すようなヌクレオチド配列もしくはその相補体（例えば配列番号２４または配列番号５５）、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の重鎖可変部のヌクレオチド配列もしくはその相補体；それに少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上の同一性を有する配列；あるいは図４Ａ（配列番号２３）、図７Ａ（配列番号５３）、配列番号５１に示すヌクレオチド配列、もしくはその相補体（例えば配列番号２４または配列番号５５）、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の重鎖可変部のヌクレオチド配列、もし

くはその相補体に、本明細書に記載するストリンジェントな条件（例えば非常にストリンジェントな条件）下でハイブリダイズ可能な配列を有する、抗ＰＳＭＡ修飾抗体重鎖可変部ヌクレオチド配列を含んでなる。

【０２１１】

別の態様において、単離核酸は、図２Ａ（配列番号２１）もしくは図５（例えば配列番号４９）に示すようなアミノ酸配列、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の重鎖可変部のアミノ酸配列；それに少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上同一である配列；あるいは図２Ａ（配列番号２１）、図５（例えば配列番号４９）に示すようなアミノ酸配列、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の重鎖可変部のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列に、本明細書に記載するストリンジェントな条件（例えば非常にストリンジェントな条件）下でハイブリダイズ可能な配列を有する、抗ＰＳＭＡ修飾抗体重鎖可変部アミノ酸配列をコードする。

【０２１２】

別の態様において、単離核酸は、配列番号１、２、および３、または２９、３０および３１、または９３、９４、および９５、または９９、１００および１０１のアミノ酸配列、あるいは本明細書に記載する配列と１または２アミノ酸が異なるＣＤＲ配列から選択される抗ＰＳＭＡ抗体の重鎖可変部のＣＤＲを、少なくとも１つ、好ましくは２つ、そして最も好ましくは３つコードする、ヌクレオチド配列を含んでなる。さらに別の態様において、単離核酸は、図４Ａ（配列番号２３）、配列番号５１、図７Ｂ（配列番号１２５）、図９Ａ（配列番号７３）、もしくは図１１Ａ（配列番号８３）に示すＣＤＲ１、２、もしくは３をコードするヌクレオチド配列、またはその相補体、あるいは本明細書に記載する配列と１または２アミノ酸が異なるＣＤＲをコードする配列を含んでなる。

【０２１３】

別の態様において、単離核酸は、配列番号９、１０、１１および１２、または３７、３８、３９および４０、あるいはそれに少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上同一である配列から選択される抗ＰＳＭＡ修飾抗体の重鎖可変フレームワーク領域由来のアミノ酸配列を、少なくとも１つ、好ましくは２つ、３つ、そして最も好ましくは４つコードする、ヌクレオチド配列を含んでなる。

【０２１４】

さらに別の態様において、単離核酸は、図４Ｂ（配列番号２５）、図８Ａ（配列番号５６）、もしくは配列番号５２に示すような配列、もしくはその相補体（例えば配列番号２６または配列番号５８）、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部のヌクレオチド配列；それに少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上同一である配列；あるいは図４Ｂ（配列番号２５）、図８Ａ（配列番号５６）、配列番号５２に示すようなヌクレオチド配列、もしくはその相補体（例えば配列番号２６または５８）、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部のヌクレオチド配列、もしくはその相補体に、本明細書に記載するストリンジェントな条件（例えば非常にストリンジェントな条件）下でハイブリダイズ可能な配列を有する、抗ＰＳＭＡ修飾抗体軽鎖可変部ヌクレオチド配列を含んでなる。別の態様において、単離核酸は、図２Ｂ（配列番号２２）もしくは図６（例えば配列番号５０）に示すような配列、ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部のアミノ酸配列；それに少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上の同一性を有する配列；あるいは図２Ｂ（配列番号２２）もしくは図６（配列番号５０）に示すようなアミノ酸配列、またはＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３７０９もしくはＰＴＡ－４１７４を有するＮＳ０細胞株に産生される抗体の軽鎖可変部のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列に、本明細書に記載するストリンジェントな条件（例えば非常にストリンジェントな条件）下でハイブリダイズ可能な配列を

有する、抗ＰＳＭＡ修飾抗体軽鎖可変部アミノ酸をコードする。

【０２１５】

別の態様において、単離核酸は、配列番号４、５、および６、または３２、３３および３４、または９６、９７、および９８、または１０２、１０３および１０４のアミノ酸配列から選択される抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖可変部のＣＤＲを、少なくとも１つ、好ましくは２つ、そして最も好ましくは３つコードするヌクレオチド配列、あるいは本明細書に記載する配列と１または２アミノ酸が異なるＣＤＲをコードする配列を含んでなる。

【０２１６】

さらに別の態様において、単離核酸は、配列番号２５に示す軽鎖可変ヌクレオチド配列のＣＤＲ１～３をコードする配列、あるいは本明細書に記載する配列と１または２アミノ酸が異なるＣＤＲをコードする配列から選択されるヌクレオチド配列を含んでなる。別の態様において、単離核酸は、配列番号１３、１４、１５および１６、または４１、４２、４３および４４から選択される抗ＰＳＭＡ修飾抗体の軽鎖可変フレームワーク領域由来のアミノ酸配列、あるいはそれに少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上同一である配列を、少なくとも１つ、好ましくは２つ、３つ、そして最も好ましくは４つコードする、ヌクレオチド配列を含んでなる。

【０２１７】

好ましい態様において、抗ＰＳＭＡ抗体の軽鎖および重鎖の可変部をコードするヌクレオチド配列を有する、単離された第一の核酸および第二の核酸があり、各単離核酸は、配列番号１、２、３、４、５、および６、または２９、３０、３１、３２、３３および３４、または９３、９４、９５、９６、９７、および９８、または９９、１００、１０１、１０２、１０３、および１０４のアミノ酸配列から選択される、少なくとも１、２、３、４、５、そして好ましくはすべてのＣＤＲ、あるいは本明細書に記載する配列と１または２アミノ酸が異なるＣＤＲをコードする配列を有する。

【０２１８】

核酸は、軽鎖または重鎖の可変部のみをコードすることが可能であるし、または、対応する可変部に機能可能であるように連結した、抗体軽鎖または重鎖の定常部もまたコードすることが可能である。１つの態様において、軽鎖可変部を、カッパまたはラムダ定常部から選択される定常部に連結する。好ましくは、軽鎖定常部はラムダ型（例えばヒト・ラムダ型）に由来する。別の態様において、重鎖可変部を、ＩｇＧ（例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＤ、およびＩｇＥからなる群より選択される抗体アイソタイプの重鎖定常部に連結する。好ましくは、重鎖定常部は、ＩｇＧ（例えばＩｇＧ１）アイソタイプ、例えばヒトＩｇＧ１由来である。

【０２１９】

本発明の核酸は、特定の発現系に好ましい、または好ましくないコドンを有するように選択することが可能である。例えば、核酸は、配列が大腸菌、酵母、ヒト、昆虫、ＮＳ０、またはＣＨＯ細胞での発現に最適化されるように、少なくとも１つのコドンで、好ましくは少なくとも１０％または２０％のコドンが改変されているものであることが可能である。

【０２２０】

好ましい態様において、核酸は提供される配列のものと、例えば以下のように：少なくとも１つであるが、１０、２０、３０、または４０ヌクレオチド未満；少なくとも１つであるが、対象の核酸のヌクレオチドの１％、５％、１０％または２０％未満、異なる（例えば置換、挿入、または欠失によって異なる）。この解析に必要であれば、最大相同性のため、配列を並列すべきである。欠失または挿入、あるいはミスマッチ由来の「ループ」アウトされた配列を相違とみなす。相違は、好ましくは、非必須残基（単数又は複数）または保存的置換（単数又は複数）をコードするヌクレオチドでの相違または変化である。

【０２２１】

１つの態様において、第一の核酸および第二の核酸は連結され、例えば同一ベクター中に含有される。他の態様において、第一の核酸および第二の核酸は連結されておらず、例

えば異なるベクター中に含有される。

【０２２２】

別の側面において、本発明は、本発明の核酸、例えば第一の核酸および第二の核酸を含有する、宿主細胞およびベクター（例えば組換え発現ベクター）を特徴とする。

原核または真核宿主細胞が使用可能である。用語「宿主細胞」および「組換え宿主細胞」は、本明細書において、交換可能に用いられる。こうした用語は、特定の対象細胞のみでなく、こうした細胞の子孫または潜在的子孫も指す。突然変異または環境の影響によって、続く世代に特定の修飾が起こる可能性があるため、こうした子孫は、実際、親細胞に同一でない可能性があるが、それでも、本明細書で用いるような、用語の範囲内に含まれる。宿主細胞は、原核細胞、例えば大腸菌などの細菌細胞、または真核細胞、例えば昆虫細胞、酵母、または好ましくは哺乳動物細胞（例えば培養細胞または細胞株）いずれであることも可能である。他の適切な宿主細胞が当業者に既知である。

【０２２３】

抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を発現させるのに好ましい哺乳動物宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ細胞）（例えばＲ．Ｊ．　Ｋａｕｆｍａｎおよび Ｐ．Ａ．　Ｓｈａｒｐ　（１９８２）　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．　１５９：６０１－６２１に記載されるような、ＤＨＦＲ選択可能マーカーと共に用いる、Ｕｒｌａｕｂおよび Ｃｈａｓｉｎ，　（１９８０）　Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ　７７：４２１６－４２２０に記載されるｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む）、リンパ球細胞株、例えばＮＳ０骨髄腫細胞およびＳＰ２細胞、ＣＯＳ細胞、およびトランスジェニック動物由来の細胞、例えば乳腺上皮細胞が含まれる。

【０２２４】

別の側面において、本発明は、ベクター、例えば組換え発現ベクターを特徴とする。本発明の組換え発現ベクターは、原核細胞または真核細胞における、修飾抗体、またはその抗原結合断片の発現のために、設計することが可能である。例えば、本発明のポリペプチドを、大腸菌、昆虫細胞（例えばバキュロウイルス発現ベクターを用いる）、酵母細胞または哺乳動物細胞で発現させることが可能である。適切な宿主細胞は、Ｇｏｅｄｄｅｌ，　（１９９０）　Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　１８５，　Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，　カリフォルニア州サンディエゴにさらに論じられる。あるいは、例えばＴ７プロモーター制御配列およびＴ７ポリメラーゼを用いて、組換え発現ベクターを、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで転写し、そして翻訳することが可能である。

【０２２５】

原核生物におけるタンパク質の発現は、融合または非融合タンパク質の発現を指示する構成的または誘導性プロモーターを含有するベクターを用いて、大腸菌で最も頻繁に行われる。融合ベクターは、コードされる抗体、通常、組換え抗体の定常部に、多くのアミノ酸を付加する。

【０２２６】

抗体鎖遺伝子に加え、本発明の組換え発現ベクターは、機能可能であるように連結され、そして宿主細胞において、抗体鎖遺伝子の発現を調節する制御配列を所持する。

本発明の修飾抗体、またはその抗原結合部分の組換え発現のための典型的な系において、抗体重鎖および抗体軽鎖両方をコードする組換え発現ベクターを、リン酸カルシウム仲介トランスフェクションによって、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞に導入する。組換え発現ベクター内で、抗体重鎖遺伝子および軽鎖遺伝子は、各々、遺伝子の高レベルの転写を駆動する、エンハンサー／プロモーター制御要素（例えばＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター制御要素またはＳＶ４０エンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター制御要素など、ＳＶ４０、ＣＭＶ、アデノウイルスなどに由来するもの）に機能可能であるように連結されている。組換え発現ベクターはまた、メトトレキセート選択／増幅を用いて、該ベクターでトランスフェクションされているＣＨＯ細胞の選択を可能にする、ＤＨＦＲ遺伝子も所持する。選択される形質転換宿主細胞を培養して、抗体重鎖および軽鎖の発現を可能にし

て、そして損なわれていない抗体を培地から回収する。標準的な分子生物学技術を用いて、組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞にトランスフェクションし、形質転換細胞を選択し、該宿主細胞を培養し、そして培地から抗体を回収する。

【０２２７】

薬剤組成物

別の側面において、本発明は、組成物、例えば薬剤的に許容しうるキャリアーと共に配合した、本明細書に記載する修飾抗体分子が含まれる、薬剤的に許容しうる組成物を提供する。

【０２２８】

本明細書において、「薬剤的に許容しうるキャリアー」には、生理学的に適合する、ありとあらゆる溶媒、分散媒体、等張剤および吸収遅延剤等が含まれる。キャリアーは、静脈内、筋内、皮下、非経口、直腸、脊髄または表皮投与（例えば注射または注入による）に適している可能性がある。

【０２２９】

本発明の組成物は、多様な型であることが可能である。これらには、例えば、液体溶液（例えば注射可能および注入可能溶液）、分散物または懸濁物、リポソームおよび座薬などの液体、半固形および固形投薬型が含まれる。好ましい型は、意図される投与様式および療法的適用に応じる。典型的な好ましい組成物は、注射可能または注入可能溶液の型である。好ましい投与様式は、非経口（例えば静脈内、皮下、腹腔内、筋内）である。好ましい態様において、抗体は、静脈内注入または注射によって投与される。別の好ましい態様において、抗体は、筋内または皮下注射によって投与される。

【０２３０】

句「非経口投与」および「非経口的に投与される」は、本明細書において、通常、注射による、腸溶性および局所投与以外の投与様式を意味し、そして該句には、限定なしに、静脈内、筋内、動脈内、鞘内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および注入が含まれる。

【０２３１】

療法組成物は、典型的には、製造および保管条件下で、無菌であり、そして安定であるべきである。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、分散物、リポソーム、または高濃度の抗体に適した、他の整理された構造として、配合することが可能である。無菌注射可能溶液は、必要に応じて、上に列挙される成分の１つまたはそれらの組み合わせを含む適切な溶媒中に、必要な量の活性化合物（すなわち抗体または抗体部分）を取り込み、その後、ろ過滅菌することによって、調製可能である。一般的に、分散物は、基本的な分散媒体および上に列挙されるもの由来の必要な他の成分を含有する無菌ビヒクル中に、活性化合物を取り込むことによって、調製される。無菌注射可能溶液の調製のための無菌粉末の場合、好ましい調製法は、活性成分に加えて、先の無菌ろ過溶液由来のさらなる望ましい成分いずれかの粉末を生じる、真空乾燥および凍結乾燥である。溶液の適切な流動性は、例えばレシチンなどのコーティングの使用によって、分散物の場合、必要な粒子サイズの維持によって、そして界面活性剤の使用によって、維持することが可能である。注射可能組成物の吸収の延長は、組成物中に、吸収を遅延させる剤、例えばモノステアリン酸塩およびゼラチンを含むことによって、達成可能である。

【０２３２】

本発明の修飾抗体および抗体断片は、当該技術分野に知られる多様な方法によって、投与することが可能であるが、多くの療法適用に関して、好ましい投与経路／投与様式は、静脈内注射または注入である。以下の実施例に記載するように、抗ＰＳＭＡ抗体は、１０ｍｇ／分未満、好ましくは５ｍｇ／分以下の速度の静脈内注入によって投与され、約１～１００ｍｇ／ｍ^2、好ましくは約５～５０ｍｇ／ｍ^2、約７～２５ｍｇ／ｍ^2、そしてより好ましくは、約１０ｍｇ／ｍ^{2}の用量に達することが可能である。当業者に理解されるであろうように、投与経路および／または投与様式は、望ましい結果に応じて多様であろ

う。特定の態様において、活性化合物は、移植物、経皮パッチおよびマイクロカプセルに入れた搬送系を含む、徐放配合物など、迅速な放出に対して化合物を保護するであろうキャリアーと共に調製可能である。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル類、およびポリ乳酸などの、生物分解性、生体適合性ポリマーが使用可能である。こうした配合を調製するための多くの方法が特許されるかまたは当業者に一般的に知られる。例えばＳｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．ＲｏｂｉＮＳ０ｎ監修，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，ニューヨーク，１９７８を参照されたい。

【０２３３】

特定の態様において、本発明の抗体または抗体部分は、例えば不活性希釈剤または吸収可能食用キャリアーと共に、経口投与することが可能である。該化合物（および望ましい場合、他の成分）はまた、硬または軟シェル・ゼラチンカプセルに封入するか、錠剤に圧縮するか、または被験者の食餌に直接取り込むことも可能である。経口療法的投与のため、化合物は賦形剤と共に取り込んで、そして摂取可能錠剤、頬側錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル剤、懸濁物、シロップ、ウエーハ等の型で用いることが可能である。非経口投与以外で本発明の化合物を投与するため、化合物をその不活性化を防止する物質でコーティングするか、または化合物を該物質と共に投与することが必要である可能性がある。

【０２３４】

療法組成物は、当該技術分野に知られる医学的装置を用いて投与することが可能である。

投薬措置を調整して、最適な望ましい反応（例えば療法反応）を提供する。例えば、単一の多量用量（ｂｏｌｕｓ）を投与することが可能であるし、いくつかの分割用量を時間に渡って(over time)投与することが可能であるし、あるいは療法状況の要求に示されるように、比例して用量を減少させるかまたは増加させることが可能である。投与を容易にし、そして投薬量を均一にするため、非経口組成物を投薬単位型で配合することが、特に好適である。本明細書において、投薬単位型は、治療しようとする被験者の単位投薬量として適している、物理的に別個の単位を指し；各単位は、必要な薬剤的キャリアーと会合した、望ましい療法効果を生じると計算される、あらかじめ決定された量の活性化合物を含有する。本発明の投薬単位型の仕様は、（ａ）活性化合物の特有の特性および達成しようとする特定の療法効果、並びに（ｂ）こうした活性化合物を治療のために化合する当該技術分野に生得的な、個体における感度の限界によって指定され、そしてこれらに直接応じる。

【０２３５】

本発明の抗体または抗体部分の療法的または予防的有効量の典型的な限定されない範囲は、０．１～２０ｍｇ／ｋｇ、より好ましくは１～１０ｍｇ／ｋｇである。実施例１０および１２に記載されるように、抗ＰＳＭＡ抗体は、１０ｍｇ／分未満、好ましくは５ｍｇ／分以下の速度の静脈内注入によって投与され、約１～１００ｍｇ／ｍ^2、好ましくは約５～５０ｍｇ／ｍ^2、約７～２５ｍｇ／ｍ^2、そしてより好ましくは、約１０ｍｇ／ｍ^{2}の用量に達することが可能である。投薬量値は、軽減しようとする異常の種類および重症度によって、多様である可能性があることに注目すべきである。特定の被験者いずれかに関して、個体の必要性、並びに該組成物を投与するか、またはその投与を監視する人物の専門的な判断にしたがって、時間に渡って、特定の投薬措置を調整すべきであり、そして本明細書に示す投薬量範囲は、例示のためのみであり、そして請求する組成物の範囲または実施を限定することを意図しないことが、さらに理解されるべきである。

【０２３６】

本発明の薬剤組成物には、本発明の抗体または抗体部分の「療法的有効量」または「予防的有効量」が含まれることが可能である。「療法的有効量」は、望ましい療法的結果を達成するために必要な投薬量および期間の、有効な量を指す。修飾抗体または抗体断片の

療法的に有効な量は、個体の疾患状態、年齢、性別、および体重などの要因、並びに抗体または抗体部分が、個体において望ましい反応を引き出す能力に応じて多様である可能性がある。療法的に有効な量はまた、修飾抗体または抗体断片のいかなる有毒または有害な影響も、療法的に有益な効果に圧倒されるものである。「療法的に有効な投薬量」は、好ましくは、未処理被験者に比較して、測定可能なパラメーター、例えば腫瘍増殖率を、少なくとも約２０％、より好ましくは少なくとも約４０％、さらにより好ましくは少なくとも約６０％、そしてさらにより好ましくは少なくとも約８０％、阻害する。化合物が測定可能なパラメーター、例えば癌を阻害する能力は、ヒト腫瘍における有効性を予測する、動物モデル系で評価することが可能である。あるいは、組成物のこの特性は、化合物が阻害する能力を調べることによって、ｉｎ　ｖｉｔｒｏの阻害の場合、当業者に知られるアッセイによって、評価することが可能である。

【０２３７】

「予防的に有効な量」は、望ましい予防的結果を達成するために必要な投薬量および期間の、有効な量を指す。典型的には、予防的用量は、疾患前または疾患のより早い段階で、被験者において用いられるため、予防的に有効な量は、療法的に有効な量より少ないであろう。

【０２３８】

やはり本発明の範囲内にあるのは、抗ＰＳＭＡ抗体、好ましくは修飾抗体、またはその抗原結合断片を含んでなるキットである。該キットには：使用説明書；他の試薬、例えば標識、療法剤、あるいは抗体を標識もしくは療法剤にキレートするか、または別の方式でカップリングするのに有用な剤、あるいは放射線防護組成物；投与用抗体を調製するための装置または他の材料；薬剤的に許容しうるキャリアー；および被験者に投与するための装置または他の材料を含む、１以上の他の要素が含まれることが可能である。使用説明書には、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、例えば試料、例えば癌または前立腺障害を有する患者由来の生検または細胞において、あるいはｉｎ　ｖｉｖｏにおいて、ＰＳＭＡを検出する抗ＰＳＭＡ抗体（またはその抗原結合断片）の診断的適用のための指示が含まれることが可能である。指示には、例えば癌または前立腺障害を持つ患者における、示唆される投薬量および／または投与様式を含む、療法的適用の指示が含まれることが可能である。他の指示には、抗体をキレート剤、標識または療法剤にカップリングすることに関する指示、あるいは例えば未反応コンジュゲーション構成要素から、コンジュゲート化抗体を精製するための指示が含まれることが可能である。上に論じるように、キットには、標識、例えば本明細書に記載する標識いずれかが含まれることも可能である。上に論じるように、キットには、療法剤、例えば本明細書に記載する療法剤が含まれることも可能である。キットには、抗体を標識もしくは療法剤にキレートするか、または別の方式でカップリングするのに有用な試薬、例えば本明細書に論じる試薬が含まれることも可能である。例えば、巨大環状キレート剤、好ましくは１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）を含むことも可能である。ＤＯＴＡは、別個の構成要素として供給することも可能であるし、またはすでに抗体にカップリングさせたＤＯＴＡ（あるいは他のキレート剤またはコンジュゲート化剤）を供給することも可能である。キレート剤、例えばＤＯＴＡを抗体にカップリングさせるために、さらなるカップリング剤、例えばＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）などの剤を供給することが可能である。いくつかの適用において、抗体は、他の構成要素、例えばキレート剤または標識または療法剤、例えば放射性同位体、例えばイットリウムまたはルテチウムと反応するであろう。こうした場合、キットには、反応を実行する、１以上の反応容器、あるいは出発材料または反応中間体から最終産物を分離するのに使用するための分離装置、例えばクロマトグラフィーカラムが含まれることが可能である。

【０２３９】

キットはさらに、１以上の別個の薬剤中に、適切なように配合した、診断剤または療法剤、例えば本明細書に記載するような診断剤または療法剤などの、少なくとも１つのさらなる試薬および／または１以上のさらなる抗ＰＳＭＡ抗体（またはその断片）を含有する

ことが可能である。

【０２４０】

キットはさらに、放射線防護剤を含有することが可能である。同位体、例えば^{90}イットリウム（^{90}Ｙ）の放射線分解性が知られる。この放射線分解を克服するため、放射線防護剤が良性である限り、すなわち例えば^{90}Ｙなどの同位体の抗体への標識反応を阻害しないか、または別の方式で該反応に不都合に影響を及ぼさない限り、例えば反応緩衝液において、放射線防護剤が含まれることも可能である。

【０２４１】

本発明の配合緩衝液には、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）またはアスコルベートなどの放射線防護剤が含まれることが可能であり、これらの剤は、イットリウムまたは他の強い放射性核種のための放射線分解を最小限にする。他の放射線防護剤、すなわちフリーラジカル・スカベンジャー（フェノール、スルフィット(suffites)、グルタチオン、システイン、ゲンチシン酸、ニコチン酸、パルミチン酸アスコルビル、ＨＯＰ（：Ｏ）$Ｈ_2$Ｉグリセロール、ホルムアルデヒド・スルホキシル酸ナトリウム、$Ｎａ_2Ｓ_2Ｏ$、$Ｎａ_2Ｓ_2Ｏ_3$、および$ＳＯ_2$など）が当該技術分野に知られ、そして本発明の配合緩衝液中にも使用可能である。

【０２４２】

好ましいキットは、患者に投与するため、キレート剤コンジュゲート化タンパク質またはペプチドを、療法的放射性同位体で放射標識するのに有用なものである。該キットには（ｉ）キレート剤コンジュゲート化抗体を含有するバイアル、（ｉｉ）放射標識抗体を安定化し、そして患者に投与するための配合緩衝剤を含有するバイアル、および（ｉｉｉ）放射標識法を行うための指示が含まれる。該キットは、例えば指示に推奨されるような、穏やかな（ａｍｉａｂｌｅ）条件下で、十分な時間、キレート剤コンジュゲート化抗体を放射性同位体またはその塩に曝露することを提供する。十分な純度、比活性および結合特異性を有する放射標識抗体を産生する。放射標識抗体を適切な濃度に、例えば配合緩衝液中で希釈して、そしてさらなる精製を伴いまたは伴わずに、患者に直接投与することが可能である。キレート剤コンジュゲート化抗体は凍結乾燥型で供給可能である。

【０２４３】

発明の使用

修飾抗体は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏで、診断的、療法的および予防的有用性を有する。例えば、これらの抗体を、培養中の細胞に、例えばｉｎ　ｖｉｔｒｏでまたはｅｘ　ｖｉｖｏで投与するか、あるいは被験者に、例えばｉｎ　ｖｉｖｏで投与して、癌（前立腺癌および非前立腺癌）と共に、非癌性前立腺状態（例えば良性過形成性前立腺障害）などの、多様な障害を治療し、防止し、そして／または診断することが可能である。

【０２４４】

本明細書において、用語「被験者」は、ヒトおよび非ヒト動物を含むと意図される。好ましいヒト動物には、ＰＳＭＡ発現細胞、例えば癌細胞または前立腺細胞の異常な機能に特徴付けられる障害を有するヒト患者が含まれる。本発明の用語「非ヒト動物」には、すべての脊椎動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などの、哺乳動物および非哺乳動物が含まれる。

【０２４５】

１つの態様において、被験者はヒト被験者である。あるいは、被験者は、本発明の修飾抗体が交差反応するＰＳＭＡ様抗原を発現する哺乳動物であることが可能である。本発明の修飾抗体分子を、療法目的のため、ヒト被験者に投与することが可能である（以下にさらに論じる）。さらに、修飾抗ＰＳＭＡ抗体（またはその断片）を、獣医学的目的のため、またはヒト疾患の動物モデルとして、修飾抗体が交差反応するＰＳＭＡ様抗原を発現する非ヒト哺乳動物（例えば霊長類、ブタまたはマウス）に投与することが可能である。後者に関して、こうした動物モデルは、本発明の抗体の療法的有効性を評価するのに有用である可能性がある（例えば投薬量および投与の時間経過を試験する）。

【０２４６】
療法的使用
１つの態様において、本発明は、細胞、例えば前立腺細胞（例えば癌性または非癌性の前立腺細胞、例えば正常、良性または過形成性の前立腺上皮細胞）、または悪性非前立腺細胞、例えば非前立腺固形腫瘍、軟組織腫瘍、または転移性病変に見られる細胞（例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、膵臓（例えば膵管）の癌および／または転移、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫に見られる細胞）を処理する、例えば除去するかまたは殺す方法を提供する。本発明の方法には、該細胞、または近くの細胞、例えば該細胞に近接する血管内皮細胞を、該細胞を処理する、例えば除去するかまたは殺すのに十分な量の、修飾抗ＰＳＭＡ抗体、例えば本明細書に記載するような修飾抗ＰＳＭＡ抗体と接触させる工程が含まれる。
【０２４７】
本方法を、培養中の細胞に、例えばｉｎ　ｖｉｔｒｏでまたはｅｘ　ｖｉｖｏで用いることが可能である。例えば、前立腺細胞（例えば悪性または正常、良性または過形成性の前立腺上皮細胞）あるいは非前立腺癌性細胞または転移性細胞（例えば腎臓、尿路上皮、結腸、直腸、肺、乳房または肝臓の癌性細胞または転移性細胞）を、培地中、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養して、そして修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を培地に添加することによって、接触工程を達成することが可能である。該方法は、ｉｎ　ｖｉｖｏ（例えば療法または予防）プロトコルの一部として、被験者に存在する細胞（例えば前立腺細胞または非前立腺癌性細胞または転移性細胞）に対して行うことが可能である。ｉｎ　ｖｉｖｏ態様では、接触工程は被験者において達成され、そして該工程には、修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片が、該細胞、または該細胞に近接する血管内皮細胞に結合し、そして該細胞を処理する、例えば殺すかまたは除去するのを両方とも可能にするのに有効な条件下で、被験者に、修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片を投与することが含まれる。
【０２４８】
治療または防止可能な前立腺障害の例には、限定されるわけではないが、前立腺炎におけるような尿生殖器炎症（例えば平滑筋細胞の炎症）；良性肥大、例えば結節過形成（良性前立腺肥大または過形成）；および前立腺および／または精巣腫瘍の癌、例えば腺癌または癌腫が含まれる。
【０２４９】
本明細書において、用語「癌」には、組織病理学的な種類または侵襲性の段階にかかわりなく、癌性増殖または発癌過程のすべての種類、転移性組織あるいは悪性に形質転換された細胞、組織、または臓器が含まれると意図される。
【０２５０】
非前立腺癌性障害の例には、限定されるわけではないが、固形腫瘍、軟組織腫瘍、および転移性病変が含まれる。固形腫瘍の例には、肺、乳房、リンパ系、胃腸（例えば結腸）、および尿生殖路（例えば腎細胞、尿路上皮細胞）、咽頭に影響を及ぼすものなどの多様な器官系の悪性腫瘍、例えば肉腫、腺腫、および癌腫が含まれる。腺癌には、大部分の結腸癌、直腸癌、腎細胞癌腫、肝臓癌、肺非小細胞癌、小腸の癌および食道の癌などの悪性腫瘍が含まれる。前述の癌の転移性病変もまた、本発明の方法および組成物を用いて、治療するかまたは防止することが可能である。
【０２５１】
本方法は、肺、乳房、リンパ系、胃腸（例えば結腸）、膀胱、尿生殖路（例えば前立腺）、咽頭に影響を及ぼすものなどの多様な器官系の悪性腫瘍と共に、大部分の結腸癌、腎細胞癌腫、前立腺癌および／または精巣腫瘍、肺非小細胞癌、小腸の癌および食道の癌などの悪性腫瘍を含む腺癌を治療するのに有用である可能性がある。
【０２５２】
他の態様において、本発明の抗体を、痛みを経験しているか、または痛みに関連する障害を患う被験者の診断および治療に使用することが可能である。好ましくは、被験者はヒ

ト、例えば本明細書に開示する痛みまたは痛みに関連する障害を持つ患者である。例えば被験者は、前立腺疾患、例えば良性前立腺過形成または前立腺癌、あるいは非前立腺癌、例えばＰＳＭＡを発現する血管系を有する癌（例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、または膵臓（例えば膵管）の癌、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫）を有する可能性がある。痛みは、骨の痛みと共に、腫脹する前立腺のための閉塞性排尿症状、例えば排尿躊躇または尿流減少、頻尿または夜間多尿に関連する痛みであることが可能である。本発明の修飾抗ＰＳＭＡ抗体を用いた痛みの治療は、鎮痛薬、例えば麻薬の必要性を減少させるか、または劇的に低下させるか、または除去することさえ可能である。さらに、痛みを減少させることによって、治療法は、動きに関連する痛みの結果、機能不全となっていた、例えば肢の移動度を回復することが可能である。

【０２５３】

修飾抗体分子を投与する方法を上述する。使用する分子の適切な投薬量は、被験者の年齢および体重、並びに使用する特定の薬剤に応じるであろう。修飾抗体分子は、リガンド結合に関する競合剤として使用して、望ましくない相互作用を阻害し、減少させることが可能である。

【０２５４】

１つの態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合断片を用いて、ｉｎ　ｖｉｖｏで、癌性細胞および正常、良性過形成性、および癌性の前立腺上皮細胞を殺すかまたは除去することが可能である。例えば、抗ＰＳＭＡ抗体を用いて、本明細書に記載する障害を治療するかまたは防止することが可能である。抗体、例えば修飾抗体（またはその断片）自体を用いるか、あるいは第二の剤、例えば細胞傷害性薬剤、放射性同位体、またはタンパク質、例えばタンパク質毒素またはウイルスタンパク質にコンジュゲート化することが可能である。この方法には：修飾抗体を単独で、または細胞傷害性薬剤とコンジュゲート化して、こうした治療が必要な被験者に投与することが含まれる。

【０２５５】

抗ＰＳＭＡ抗体（またはその断片）は、正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞を認識するため、修飾抗体が結合する細胞はいずれも破壊される。こうした投与は正常前立腺上皮細胞を破壊する可能性があるが、前立腺は生命または生存に必要でないため、これは問題ではない。前立腺は、受精能に間接的に寄与する可能性があるが、本発明の治療を受ける患者にとって、これが現実的な検討材料となる可能性は低い。癌性組織の場合、修飾抗体は、癌性細胞に近接する血管内皮細胞を認識するため、これらの血管内皮細胞への修飾抗体／細胞傷害性薬剤複合体の結合が該血管内皮細胞を破壊し、それによって近接する癌性細胞への血流を遮断し、そしてこうしてこれらの癌性細胞を殺すかまたは除去する。あるいは、修飾抗体は、癌性細胞に近接する血管内皮細胞への結合によって、癌性細胞に近接して局在化する。したがって、適切な修飾抗体（無差別的に、しかし短い範囲に渡ってのみ、細胞を殺すのに有効な物質を含有するものを含む）を使用することによって、癌性組織中の細胞（癌性細胞を含む）を選択的に殺すかまたは除去することが可能である。

【０２５６】

本発明の抗体を用いて、多様な療法剤、例えば細胞傷害性部分、例えば療法薬剤、放射性同位体、植物、真菌、もしくは細菌起源の分子、または生物学的タンパク質（例えばタンパク質毒素）もしくは粒子（例えばウイルスコートタンパク質を介して、例えば組換えウイルス粒子）、あるいはそれらの混合物を搬送することが可能である。療法剤は、例えば本明細書に記載するような、短距離高エネルギーα放射体を含む、短距離放射能放射体などの、細胞内で活性である薬剤または他の剤であることが可能である。いくつかの好ましい態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、植物または細菌起源の分子（またはその誘導体）、例えばメイタンシノイド（例えばメイタンシノールまたはＤ

Ｍ１メイタンシノイド、図１５を参照されたい）にカップリングすることが可能である。ＤＭ１は、メイタンシンのスルフィドリル含有誘導体であり、ジスルフィドリンカーを介して、これを抗体に連結することが可能であり、該リンカーは、標的細胞内部で、ＤＭ１を放出する。ジスルフィドリンカーは、他のリンカーより、保管中、および血清中、より高い安定性を示す。メイタンシンは、微小管の形成および現存する微小管の脱重合を妨げることによって、細胞殺傷を達成する細胞傷害性剤である。メイタンシンは、現在臨床的に使用されているドキソルビシン、メトトレキセート、およびビンカ・アルカロイドなどの抗癌剤より、１００～１０００倍、より細胞傷害性である。あるいは、抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片をタキサン、カリケアマイシン、プロテオソーム阻害剤、またはトポイソメラーゼ阻害剤にカップリングすることが可能である。［（１Ｒ）－３－メチル－１－［［（２Ｓ）－１－オキソ－３－フェニル－２－［（３－メルカプトアセチル）アミノ］プロピル］アミノ］ブチル］ボロン酸が適切なプロテオソーム阻害剤である。Ｎ，Ｎ’－ビス［２－（９－メチルフェナジン－１－カルボキサミド）エチル］－１，２－エタンジアミンが適切なトポイソメラーゼ阻害剤である。

【０２５７】

酵素的に活性である毒素およびその断片は、ジフテリア毒素Ａ断片、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ（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－サクリン（ｓａｃｒｉｎ）、特定のシナアブラギリ（Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ　ｆｏｒｄｉｉ）タンパク質、特定のジアンシン（Ｄｉａｎｔｈｉｎ）タンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Ｐｈｙｔｏｌａｃｃａ　ａｍｅｒｉｃａｎａ）タンパク質（ＰＡＰ、ＰＡＰＩＩおよびＰＡＰ－Ｓ）、モロディカ・チャランティア（Ｍｏｒｏｄｉｃａ　ｃｈａｒａｎｔｉａ）阻害剤、クルシン（ｃｕｒｃｉｎ）、クロチン、サボンソウ（Ｓａｐｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン、ミトギリン（ｍｉｔｏｇｉｌｌｉｎ）、レストリクトシン（ｒｅｓｔｒｉｃｔｏｓｉｎ）、フェノマイシン（ｐｈｅｎｏｍｙｃｉｎ）、およびエノマイシン（ｅｎｏｍｙｃｉｎ）に例示される。好ましい態様において、抗ＰＳＭＡ抗体をメイタンシノイド、例えばメイタンシノール（米国特許第５，２０８，０２０号を参照されたい）、ＣＣ－１０６５（米国特許第５，４７５，０９２号、第５，５８５，４９９号、第５，８４６，５４５号を参照されたい）にコンジュゲート化する。免疫毒素の酵素的に活性であるポリペプチドを調製するための方法が、本明細書に援用されるＷＯ８４／０３５０８およびＷＯ８５／０３５０８、並びに以下の付随する実施例に記載される。抗体にコンジュゲート化することが可能な細胞傷害性部分の例には、アドリアマイシン、クロラムブシル、ダウノマイシン、メトトレキセート、ネオカルジノスタチン、および白金が含まれる。

【０２５８】

正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞を殺すかまたは除去するため、第一の抗体、例えば修飾抗体を、プロドラッグ活性化因子と近接した際にのみ活性化されるプロドラッグにコンジュゲート化することが可能である。プロドラッグ活性化因子を、第二の抗体、例えば本発明にしたがった第二の修飾抗体、好ましくは前立腺特異的膜抗原分子の非競合部位に結合するものとコンジュゲート化する。２つの修飾抗体が競合的結合部位または非競合的結合部位のいずれに結合するかは、慣用的な競合的結合アッセイによって決定可能である。例えば、モノクローナル抗体Ｊ５９１、Ｊ５３３、およびＥ９９は、前立腺特異的膜抗原分子の競合的結合部位に結合する。一方、モノクローナル抗体Ｊ４１５は、Ｊ５９１、Ｊ５３３、およびＥ９９が結合する部位と非競合性である結合部位に結合する。したがって、例えば、第一の修飾抗体がＪ５９１、Ｊ５３３、およびＥ９９の１つであることが可能であり、そして第二の修飾抗体がＪ４１５であることが可能である。あるいは、第一の修飾抗体がＪ４１５であることが可能であり、そして第二の修飾抗体がＪ５９１、Ｊ５３３、およびＥ９９の１つであることが可能である。本発明の実施に使用するのに適した薬剤－プロドラッグ対が、Ｂｌａｋｅｌｙら，“ＺＤ２７６７，ａｎ　Ｉｍｐｒｏｖｅｄ　Ｓｙｓｔｅｍ　ｆｏｒ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ　Ｅｎｚｙｍｅ　Ｐｒｏｄｒｕｇ　Ｔｈｅｒａｐｙ　Ｔｈａｔ　Ｒｅｓｕｌｔｓ　ｉｎ　Ｔｕｍｏ

ｒ Ｒｅｇｒｅｓｓｉｏｎｓ ｉｎ Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ Ｔｕｍｏｒ Ｘｅｎｏｇｒａｆｔｓ，”（１９９６） Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，５６：３２８７－３２９２に記載されており、該文献は本明細書に援用される。

【０２５９】

あるいは、抗体、例えば修飾抗体を、腫瘍部位に局在した場合、数細胞直径の殺傷を生じる、高エネルギー放射能放射体、例えばγ放射体である^{131}Ｉなどの放射性同位体にカップリングすることが可能である。例えば、本明細書に援用される、Ｓ．Ｅ． Ｏｒｄｅｒ，“Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ ｏｆ ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｒ．Ｗ． Ｂａｌｄｗｉｎら（監修），ｐｐ ３０３－３１６（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５）を参照されたい。他の適切な放射性同位体には、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、および^{211}Ａｔなどのα放射体、並びに^{186}Ｒｅおよび^{90}Ｙなどのβ放射体が含まれる。前立腺上皮細胞および癌内部の血管内皮細胞は比較的放射感受性であるため、放射療法が特に有効であると予期される。さらに、Ｌｕ^{177}もまた、イメージング剤および細胞傷害性剤両方として、使用可能である。

【０２６０】

^{131}Ｉ、^{90}Ｙ、および^{177}Ｌｕで標識した抗体を用いた放射免疫療法（ＲＩＴ）が、集中的な臨床試験下にある。これら３つの核種の物理的特徴には、有意な相違があり、そしてその結果、腫瘍に対して最大放射線量を搬送するため、放射性核種の選択が重要である可能性がある。^{90}Ｙのより高いベータエネルギー粒子は、大きい腫瘍に適している可能性があるが、小さい腫瘍、および特に骨転移（例えば前立腺癌に一般的であるもの）には必要でない可能性がある。^{131}Ｉの比較的低エネルギーのベータ粒子が理想的であるが、放射ヨウ素標識した分子のｉｎ ｖｉｖｏ脱ハロゲン化が、抗体を内部に入れるのに不都合な主な点である。対照的に^{177}Ｌｕは、わずか０．２～０．３ｍｍの範囲の低エネルギーベータ粒子を有し、そして^{90}Ｙに比較して、骨髄にはるかにより低い放射線量を搬送する。さらに、より長い物理的半減期（^{90}Ｙに比較して）のため、腫瘍居留時間はより長い。その結果、より高い活性（より多いｍＣｉ量）の^{177}Ｌｕ標識剤を、比較的少ない放射線量で、骨髄に投与することが可能である。多様な癌の治療において、^{177}Ｌｕ標識抗体の使用を調べる、いくつかの臨床的研究があった（Ｍｕｌｌｉｇａｎ Ｔら （１９９５） Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ． １：１４４７－１４５４；Ｍｅｒｅｄｉｔｈ ＲＦら （１９９６） Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ ３７：１４９１－１４９６；Ａｌｖａｒｅｚ ＲＤら （１９９７） Ｇｙｎｅｃｏｌｏｇｉｃ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ６５：９４－１０１）。

【０２６１】

本発明の抗体はまた、ウイルス粒子上に存在するウイルス表面タンパク質にコンジュゲート化するか、または融合させることも可能である。例えば、本発明の一本鎖抗ＰＳＭＡ抗体を、ウイルス表面タンパク質に融合させる（例えば融合タンパク質を形成する）ことが可能である。あるいは、本発明の全抗ＰＳＭＡ抗体、またはその断片を、ウイルス表面タンパク質に化学的にコンジュゲート化する（例えば化学的リンカーを介して）ことが可能である。好ましくは、ウイルスが抗ＰＳＭＡ抗体と共に内部に入り、そしてそれによってＰＳＭＡ発現細胞が感染するように、ウイルスは、エンドサイトーシス膜と融合するもの、例えばインフルエンザウイルスである。ウイルスは、細胞性毒素として遺伝子操作することが可能である。例えば、ウイルスは、細胞に毒性である遺伝子、例えば細胞死促進遺伝子を発現するか、またはこうした遺伝子の発現を誘導することが可能である。好ましくは、こうしたウイルスは、ウイルス複製不能であろう。

【０２６２】

抗体、例えば本発明の修飾抗体を用いて、天然補体または抗体依存細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を介して、ｉｎ ｖｉｖｏで、抗原発現細胞を直接除去することが可能である。補体

に結合するＩｇＧ１、２、または３あるいはＩｇＭ由来の部分などの補体結合部位を有する、本発明の修飾抗体分子もまた、補体の存在下で使用可能である。１つの態様において、標的細胞を含んでなる細胞集団を、本発明の結合剤および適切なエフェクター細胞でｅｘ　ｖｉｖｏ処理するのを、補体または補体を含有する血清を添加することによって、補うことが可能である。本発明の修飾抗体またはその断片でコーティングした標的細胞の食作用は、補体タンパク質の結合によって改善可能である。別の態様において、修飾抗体またはその断片でコーティングした標的細胞もまた、補体によって溶解可能である。

【０２６３】

特定の標識を検出するため、本発明の抗体、例えば修飾抗体を用いて、そして装置と共に、キットとして販売することが可能である。

本発明にやはり含まれるのは、ＰＳＭＡ関連障害を防止するため、本明細書に記載する抗体、例えば修飾抗体を用いることを伴う、細胞を殺すかまたは除去する方法である。例えば、これらの物質を用いて、前立腺癌または他の癌の発展または進行を防止するかまたは遅延させることが可能である。

【０２６４】

前立腺癌および他の癌を治療するための本発明の療法の使用は、いくつかの利点を有する。本発明にしたがった修飾抗体は、癌性細胞（血管内皮細胞を含有する癌性組織の細胞など）および前立腺上皮細胞のみを標的とするため、他の組織には危害を加えない。その結果、こうした修飾抗体での治療は、特に年配の患者には、より安全である。本発明にしたがった治療は、抗体またはその結合部分などの高レベルの修飾抗体、プローブ、またはリガンドを、前立腺癌転移および他の多くの癌の転移が優位を占める骨髄およびリンパ節に導くため、特に有効であると予期される。さらに、前立腺癌の腫瘍部位は、大きさが小さい傾向があり、そしてしたがって細胞傷害性剤で容易に破壊されるため、本発明の方法は、前立腺癌を治療するのに特によく適している。本発明にしたがった治療は、前立腺癌の場合、血清前立腺特異的抗原、および／または病期、グリーソン・スコア、嚢外、精液、小胞または神経周囲浸潤、陽性辺縁（ｐｏｓｉｔｉｖｅ　ｍａｒｇｉｎ）、リンパ節関与、疾患に関連する痛み、例えば骨の痛みなどを含む、患者の癌の病理学的特徴などの臨床的パラメーターで効率的に監視することが可能である。あるいは、これらのパラメーターを用いて、こうした治療を使用すべき場合を示すことが可能である。

【０２６５】

本発明はまた、前立腺疾患、例えば良性前立腺過形成または前立腺癌、あるいは非前立腺癌、例えばＰＳＭＡを発現する血管系を有する癌（例えば腎臓、尿路上皮（例えば膀胱）、精巣、結腸、直腸、肺（例えば非小細胞肺癌）、乳房、肝臓、神経（例えば神経内分泌）、グリア（例えばグリア芽腫）、または膵臓（例えば膵管）の癌、黒色腫（例えば悪性黒色腫）、または軟組織肉腫）を有するか、または該疾患と診断された被験者が経験する痛みを治療する、例えば痛みを減少させる方法も特徴とする。該方法には、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体を、前立腺疾患または非前立腺癌と関連する痛みを治療する、例えば減少させるのに十分な量で、被験者に投与することが含まれる。被験者は、例えば血清ＰＳＡレベルの上昇および痛みの感覚以外には、前立腺疾患または非前立腺癌の徴候を持たない可能性がある。前立腺癌患者は、しばしば、骨の痛みと共に、腫脹する前立腺のための閉塞性排尿症状、例えば排尿躊躇または尿流減少、頻尿または夜間多尿に関連する痛みを経験する。本発明の修飾抗ＰＳＭＡ抗体を用いた痛みの治療は、鎮痛薬、例えば麻薬の必要性を減少させるか、または劇的に低下させるか、または除去することさえ可能である。痛みを減少させることによって、治療法は、動きに関連する痛みの結果、機能不全となっていた、例えば肢の移動度を回復することが可能である。

【０２６６】

本発明の抗体、例えば修飾抗体が、生存前立腺細胞に結合するため、これらの修飾抗体を用いて前立腺癌を治療する療法は、溶解した前立腺細胞の存在に依存しない。同じ理由で、生存正常、良性過形成、または癌性の前立腺上皮細胞（それと共に、癌内部の血管内

皮細胞）の位置を決定する診断法およびイメージング法は、本発明の修飾抗体を使用することによって、非常に改善される。さらに、生存および死亡前立腺細胞を区別する能力は、特定の治療措置の有効性を監視するのに特に好都合である可能性がある。

【０２６７】

本発明の抗体、例えば修飾抗体、またはその抗原結合部分は、正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞と共に、癌性細胞に近接する血管内皮細胞中の前立腺特異的膜抗原またはその部分の細胞外ドメインに結合する。その結果、正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞と共に、癌性細胞に近接する血管内皮細胞を殺すか、除去するか、または検出するために、本発明の方法を実施する際には、抗体、例えば修飾抗体が、固定細胞または細胞内抗原ドメインが別の方式で細胞外環境に曝露されている細胞だけでなく、こうした細胞すべてに結合する。その結果、抗体、例えば修飾抗体の結合は、これらの細胞が固定されているかまたはいないか、生存しているかまたは壊死しているかにかかわらず、前立腺上皮細胞が存在する領域に濃縮される。さらに、またはあるいは、これらの抗体、例えばこれらの修飾抗体、またはその結合部分は、正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞中の前立腺特異的膜抗原またはその部分に結合し、そして該抗原と共に内部に入る。

【０２６８】

併用療法

本明細書に記載する抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体、またはその抗原結合断片を、他の療法と併用することが可能である。例えば、併用療法には、１以上のさらなる療法剤、例えば１以上の抗癌剤、細胞傷害性剤または細胞分裂抑制性剤、ホルモン治療、ワクチン、および／または他の免疫療法と同時配合され、そして／または同時投与される本発明の組成物が含まれることが可能である。他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体を、手術、放射線療法、凍結手術、および／または熱療法を含む、他の療法治療様式と併用投与する。こうした併用療法は、より低い投薬量で投与される療法剤を好適に利用して、したがって多様な単一療法に関連する、ありうる毒性または合併症を回避することが可能である。

【０２６９】

「併用」投与する、は、本明細書において、２つ（またはそれ以上）の異なる治療を、被験者が該障害に苦しんでいる経過中に被験者に搬送すること、例えば２以上の治療を、被験者が該障害と診断された後で、そして該障害が治癒するかまたは除去される前に、搬送することを意味する。いくつかの態様において、治療が重複するように、１つの治療の搬送は、第二の搬送が始まる際になお行われている。これはときに、本明細書において、「同時」または「同時搬送」と称される。他の態様において、１つの治療の搬送は、他の治療の搬送が始まる前に終了する。どちらの場合でもいくつかの態様において、治療は、併用投与のため、より有効である。例えば、第一の治療の非存在下で第二の治療を投与した場合に見られるであろうより、第二の治療がより有効であり、例えばより少ない量の第二の治療で同等の効果が見られるか、または第二の治療がより高い度合いまで症状を減少させるし、あるいは第一の治療で同様の状況が見られる。いくつかの態様において、搬送は、症状の減少、または障害に関連する他のパラメーターの減少が、他の治療の非存在下で搬送された際に一方の治療で観察されるであろうより、大きいようなものである。２つの治療の効果は、部分的に相加的であるか、完全に相加的であるか、または相加的よりも高い可能性がある。搬送は、搬送される第一の治療の効果が、第二の治療が搬送される際に、なお検出可能であるようなものであることが可能である。

【０２７０】

本発明の抗ＰＳＭＡ抗体は、限定されるわけではないが：手術（例えば根治的前立腺切除術）；放射線療法（例えば放射領域が、治療する組織の容量に対して適合するように設計される、三次元の原体照射法を伴う、外部光線療法；超音波誘導を用いて、放射性化合物の種を移植する、組織内照射療法；並びに外部光線療法および組織内照射療法の併用）；根治的前立腺切除術または放射線療法の前にまたはそれらの後に投与することが可能な

、ホルモン療法（例えば血清テストステロン濃度を減少させるか、またはテストステロン活性を阻害する治療、例えば黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）類似体またはアゴニスト（例えばリュープロン、ゾラデックス、ロイプロリド、ブセレリン、またはゴセレリン）またはアンタゴニスト（例えばアバレリクス）の投与）を含む、前立腺癌を治療するための現存する様式の１以上と併用投与可能である。非ステロイド性抗アンドロゲン、例えばフルタミド、ビカルチマド、またはニルタミドもまた、ホルモン療法に使用可能であり、これと共に、ステロイド性抗アンドロゲン（例えば酢酸シプロテロンまたは酢酸メゲストロール）、エストロゲン（例えばジエチルスチルベストロール）、ＰＲＯＳＣＡＲ^{TM}、二次または三次ホルモン操作（例えばコルチコステロイド（例えばヒドロコルチゾン、プレドニゾン、またはデキサメタゾン）、ケトコナゾール、および／またはアミノグルテチミドを伴う）、５ａ－レダクターゼ阻害剤（例えばフィナステリド）、ハーブ剤（例えばＰＣ－ＳＰＥＳ）、下垂体摘出術、および副腎摘出術も使用可能である。さらに、ホルモン療法は、断続的に、または上記治療のいずれかと併用して、例えばロイプロリドおよびフルタミドを併用して、行うことが可能である。

【０２７１】

他の態様において、抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体を、免疫調節剤、例えばＩＬ－１、２４、６、または１２、あるいはインターフェロン・アルファまたはガンマと併用投与する。以下の実施例１４に記載するように、ヒト定常部を有する抗体およびＩＬ－２の併用は、潜在的に、モノクローナル抗体の効力を増進すると予期される。ＩＬ－２は、ＮＫ細胞およびマクロファージに対するその影響によって、細網内皮系が抗原－抗体複合体を認識するのを増大させるよう機能するであろう。したがって、ＮＫ細胞がＩＦＮ、ＧＭ－ＣＳＦ、およびＴＮＦを放出するよう刺激することによって、これらのサイトカインは、Ｆｃ受容体の細胞表面密度と共に、これらの細胞の食作用能力を増加させるであろう。したがって、体液性アームおよび細胞性アーム両方のエフェクターアームが、人工的に増進されるであろう。正味の効果は、最大反応が得られることが可能であるように、モノクローナル抗体療法の効率を改善することであろう。少数の臨床試験が、ＩＬ－２とモノクローナル抗体を併用している（Ａｌｂｅｒｔｉｎｉら（１９９７）Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ３：１２７７－１２８８；Ｆｒｏｓｔら（１９９７）Ｃａｎｃｅｒ ８０：３１７－３３３；Ｋｏｓｓｍａｎら（１９９９）Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５：２７４８－２７５５）。ＩＬ－２は、多量用量または連続注入いずれかで投与することが可能である。したがって、本発明の抗体は、ＩＬ－２と併用投与して、その療法能力を最大にすることが可能である。

【０２７２】

診断的使用

１つの側面において、本発明は、ＰＳＭＡタンパク質の存在をｉｎ ｖｉｔｒｏで（例えば癌性組織または前立腺組織由来の組織生検などの生物学的試料において）またはｉｎ ｖｉｖｏで（例えば被験者におけるｉｎ ｖｉｖｏイメージングにおいて）検出する診断法を提供する。該方法には：（ｉ）修飾抗ＰＳＭＡ抗体またはその断片と試料を接触させ、または被験者に修飾抗ＰＳＭＡ抗体を投与し；（場合によって）（ｉｉ）参照試料、例えば対照試料（例えば血漿、組織、生検などの対照生物学的試料、あるいは対照被験者）を接触させ；そして（ｉｉｉ）抗ＰＳＭＡ抗体、および試料または被験者、あるいは対照試料または被験者間の複合体の形成を検出することが含まれ、ここで、対照試料または対照被験者に比較した、試料または被験者における複合体形成の変化、例えば統計的に有意な変化が、試料中にＰＳＭＡが存在する指標となる。

【０２７３】

好ましくは、抗ＰＳＭＡ抗体（またはその断片）を、検出可能物質で直接または間接的に標識して、結合または非結合抗体の検出を容易にする。適切な検出可能物質には、上述のような、そして以下により詳細に記載されるような、多様な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質および放射性物質が含まれる。

【０２７４】

抗ＰＳＭＡ抗体およびＰＳＭＡ間の複合体形成は、ＰＳＭＡ抗原に結合する抗体（または抗体断片）または非結合抗体（または抗体断片）いずれかを測定するかまたは視覚化することによって、検出可能である。慣用的な検出アッセイ、例えば酵素連結免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）または組織免疫組織化学を使用することが可能である。抗ＰＳＭＡ抗体を標識する代わりに、検出可能物質で標識された標準および非標識抗ＰＳＭＡ抗体を利用する競合的免疫アッセイによって、試料中のＰＳＭＡの存在をアッセイすることが可能である。このアッセイでは、生物学的試料、標識標準およびＰＳＭＡ結合剤を組み合わせて、そして非標識抗体に結合した標識標準の量を決定する。試料中のＰＳＭＡ量は、ＰＳＭＡ結合剤に結合した標識標準量に反比例する。

【０２７５】

さらに別の態様において、本発明は、ＰＳＭＡ発現癌性組織（特にその中の血管内皮細胞）および正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞の存在をｉｎ ｖｉｖｏで検出する方法を提供する。該方法には、（ｉ）被験者（例えば癌または前立腺障害を有する患者）に、検出可能マーカーにコンジュゲート化した抗ＰＳＭＡ抗体、好ましくは修飾抗体を投与し；（ｉｉ）ＰＳＭＡ発現組織または細胞に対する前記検出可能マーカーを検出する手段に、被験者を曝露することが含まれる。特に好ましい抗体には、Ｊ５９１、Ｊ４１５、Ｊ５３３またはＥ９９のいずれか由来のＣＤＲを有する修飾抗体、および特にこれらの抗体の脱免疫型、特にｄｅＪ５９１またはｄｅＪ４１５が含まれる。

【０２７６】

本発明にしたがった診断イメージングに有用な標識の例は、^{131}Ｉ、^{111}Ｉｎ、^{123}Ｉ、^{99m}Ｔｃ、^{32}Ｐ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、および^{188}Ｒｈなどの放射標識、フルオレセインおよびローダミンなどの蛍光標識、核磁気共鳴活性標識、陽電子放出断層撮影（「ＰＥＴ」）スキャナーによって検出可能な陽電子放出同位体、ルシフェリンなどの化学発光物質、並びにペルオキシダーゼまたはホスファターゼなどの酵素マーカーである。経直腸プローブなどの短距離検出装置プローブによって検出可能な同位体などの、短距離放射能放射体もまた、使用可能である。これらの同位体および経直腸検出装置プローブは、併用した場合、前立腺窩再発および骨盤結節疾患を検出するのに特に有用である。当該技術分野に知られる技術を用いて、修飾抗体をこうした試薬で標識することが可能である。例えば、抗体を放射標識するのに関連する技術に関して、本明細書に援用される、ＷｅｎｓｅｌおよびＭｅａｒｅｓ （１９８３） Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｉｍａｇｉｎｇ ａｎｄ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ, Ｅｌｓｅｖｉｅｒ, ニューヨークを参照されたい。また、本明細書に援用される、Ｄ. Ｃｏｌｃｈｅｒら （１９８６） Ｍｅｔｈ. Ｅｎｚｙｍｏｌ. １２１：８０２－８１６もまた参照されたい。

【０２７７】

放射標識修飾抗体の場合、修飾抗体を患者に投与し、修飾抗体が反応する抗原を所持する腫瘍に局在させ、そして例えばガンマカメラまたは放出断層撮影を用いた放射核スキャニングなどの既知の技術を用いて、ｉｎ ｖｉｖｏで検出するかまたは「イメージング」する。例えば、本明細書に援用される、Ａ. Ｒ. Ｂｒａｄｗｅｌｌら, “Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｉｎ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｍａｇｉｎｇ”, Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ, Ｒ. Ｗ. Ｂａｌｄｗｉｎら（監修）, ｐｐ ６５－８５（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５）を参照されたい。あるいは、放射標識が陽電子を放出する場合（例えば^{11}Ｃ、^{18}Ｆ、^{15}Ｏ、および^{13}Ｎ）、Ｂｒｏｏｋｈａｖｅｎ Ｎａｔｉｏｎａｌ ＬａｂｏｒａｔｏｒｙにあるＰｅｔ ＶＩと称するものなどの、陽電子放出横断軸（ｔｒａｎｓａｘｉａｌ）断層撮影スキャナーを用いることが可能である。

【０２７８】

当該技術分野に知られる標準的部分から、蛍光体および発色団で標識した修飾抗体を調製することが可能である。抗体および他のタンパク質は、約３１０ｎｍまでの波長を有する光を吸収するため、蛍光部分は、３１０ｎｍより高く、そして好ましくは４００ｎｍよ

り高い波長で実質的な吸収を有するよう、選択すべきである。多様な適切な蛍光化合物および発色団が、本明細書に援用される、Ｓｔｒｙｅｒ（１９６８）Ｓｃｉｅｎｃｅ，１６２：５２６およびＢｒａｎｄ，Ｌ．ら（１９７２）Ａｎｎｕａｌ Ｒｅｖｉｅｗ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，４１：８４３－８６８に記載される。本明細書に援用される、米国特許第３，９４０，４７５号、第４，２８９，７４７号、および第４，３７６，１１０号に開示されるものなどの慣用法によって、蛍光発色団基で修飾抗体を標識することが可能である。

【０２７９】

上記の、多くの望ましい特性を有する蛍光物質の１つの群は、キサンテン色素であり、これらには、３，６－ジヒドロキシ－９－フェニルキサントヒドロール由来のフルオレセインおよびレサミン（ｒｅｓａｍｉｎｅ）および３，６－ジアミノ－９－フェニルキサントヒドロール由来のローダミンおよびリサニム（ｌｉｓｓａｎｉｍｅ）ローダミンＢが含まれる。９－ｏ－カルボキシフェニルキサントヒドロールのローダミンおよびフルオレセイン誘導体は、９－ｏ－カルボキシフェニル基を有する。フルオレセインイソチオシアネートおよびフルオレスカミンなどの、アミノ基およびイソチオシアネート基などの反応性カップリング基を有するフルオレセイン化合物が容易に入手可能である。蛍光化合物の別の群は、αまたはβ位にアミノ基を有するナフチルアミン類である。

【０２８０】

生存および死亡前立腺上皮細胞を含有する領域間を区別するか、または生存および死亡前立腺上皮細胞を区別することが重要である場合、上述のように標識した本発明の抗体（または本発明の他の修飾抗体）を、対象の抗体を標識するのに用いた標識と区別可能な標識で標識した、生存前立腺上皮細胞のみまたは死亡前立腺上皮細胞のみを認識する、抗体または他の修飾抗体と共に、同時投与することが可能である。多様な位置または時間で２つの標識の濃度を監視することによって、生存および死亡の正常、良性過形成、および癌性の前立腺上皮細胞の空間的および時間的濃度変動を確かめることが可能である。特に、この方法は、生存および死亡の上皮前立腺細胞を両方認識する、本発明の標識抗体、並びに死亡上皮前立腺細胞のみを認識する標識７Ｅ１１抗体（Ｈｏｒｏｓｚｅｗｉｃｚら（１９８７）Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ７：９２７－９３６）を用いて、行うことが可能である。

【０２８１】

他の態様において、本発明は、被験者、例えばヒト被験者に、放射性同位体にコンジュゲート化した抗ＰＳＭＡ抗体を投与した際に、異なる組織が曝露される線量、例えば放射線量を決定する方法を提供する。該方法には：（ｉ）放射性同位体で標識された、本明細書に記載するような抗ＰＳＭＡ抗体、例えば修飾抗ＰＳＭＡ抗体を、被験者に投与し；（ｉｉ）放射性同位体のある程度またはすべてが被験者の体から除去されるまでの多様な時点で、異なる組織、例えば前立腺、肝臓、腎臓、または血液に位置する放射性同位体の量を測定し；そして（ｉｉｉ）解析した各組織が受け取った放射線の総線量を計算することが含まれる。測定は、被験者への放射性標識抗ＰＳＭＡ抗体投与（第０日）後、スケジュールされた時点、例えば第１日、第２日、第３日、第５日、第７日および第１２日に行うことが可能である。既定の組織に存在し、時間に渡って集積され、そして該放射性同位体の比活性を乗じた放射性同位体濃度を用いて、既定の組織が受け取った線量を計算することが可能である。１つの放射性同位体、例えばガンマー放射体、例えば^{111}Ｉｎで標識された抗ＰＳＭＡ抗体を用いて生成された薬理学的情報を用いて、同じ組織が、容易には測定不能である、異なる放射性同位体、例えばベーター放射体、例えば^{90}Ｙから受け取るであろう、予期される線量を計算することが可能である。

【０２８２】

薬理ゲノミクス

予防的および療法的治療法両方に関して、こうした治療は、薬理ゲノミクスの分野から得られる知識に基づいて、特別に調整するかまたは修飾することが可能である。「薬理ゲノミクス」は、本明細書において、臨床的開発中の薬剤、および市場にある薬剤に対する

、遺伝子配列決定、統計遺伝学、および遺伝子発現解析などのゲノミクス技術の適用を指す。例えば、Ｅｉｃｈｅｌｂａｕｍ，Ｍ．ら（１９９６）Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．２３：９８３－９８５およびＬｉｎｄｅｒ，Ｍ．Ｗ．ら（１９９７）Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．４３：２５４－２６６を参照されたい。療法剤の代謝の相違は、薬理学的に活性である薬剤の用量および血中濃度間の関係を改変することによって、重度の毒性または療法的失敗を導く可能性がある。一般的に、２つの種類の薬理遺伝学的状態が区別可能である。薬剤が体に作用する方式を改変する（薬剤作用改変）単一の要因として伝達される遺伝的状態、または体が薬剤に作用する方式を改変する（薬剤代謝改変）単一の要因として伝達される遺伝的状態である。これらの薬理遺伝学的状態は、まれな遺伝子欠陥として、または天然存在多型として、いずれかで生じうる。より具体的には、該用語は、患者の遺伝子が薬剤に対する反応をどのように決定するか（例えば患者の「薬剤反応表現型」または「薬剤反応遺伝子型」）の研究を指す。したがって、本発明の別の側面は、個体の薬剤反応遺伝子型にしたがって、個体の予防的または療法的治療を調整する方法を提供する。

【０２８３】

薬理ゲノミクス研究から生じる情報を用いて、個体の予防的または療法的治療の適切な投薬量および治療措置を決定可能である。この知識は、用量決定または薬剤選択に適用した際、不都合な反応または療法的失敗を回避することが可能であり、そしてしたがって療法組成物、例えば１以上の抗ＰＳＭＡ抗体またはその誘導体型（単数又は複数種類）からなる組成物を、障害、例えば本明細書に記載するような癌または前立腺障害を治療する手段として、患者に投与した際に、療法的または予防的効率を増進することが可能である。

【０２８４】

１つの態様において、医師または臨床家は、薬剤組成物、例えば１以上の抗ＰＳＭＡ抗体、その誘導体型（単数又は複数種類）、および場合によって第二の剤からなる組成物を、被験者に投与するかどうかを決定する際に、適切な薬理ゲノミクス研究で得た知識の適用を考慮することが可能である。別の態様において、医師または臨床家は、患者に投与される薬剤組成物、例えば本明細書に記載するような薬剤組成物の投薬量、例えば治療あたりの量または治療頻度を決定する際に、こうした知識を適用することを考慮することが可能である。

【０２８５】

さらに別の態様において、医師または臨床家は、臨床試験に参加した被験者群の、１以上の遺伝子座の遺伝子型を決定することが可能であり、ここで、被験者は障害、例えば本明細書に記載するような癌または前立腺障害を示し、そして臨床試験は、薬剤組成物、例えば１以上の抗ＰＳＭＡ抗体、および場合によって第二の剤からなる組成物の効力を試験するように設計され、そして医師または臨床家は、薬剤組成物への反応と、被験者の遺伝子型を相関させることを試みる。

【０２８６】

寄託

ハイブリドーマＥ９９、Ｊ４１５、Ｊ５３３、およびＪ５９１は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の要件にしたがい、そしてこれを満足して、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（“Ａ．Ｔ．Ｃ．Ｃ．”），１０８０１ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ ２０１１０－２２０９に寄託されている。ハイブリドーマＥ９９は、１９９６年５月２日に寄託され、そしてＡ．Ｔ．Ｃ．Ｃ．寄託番号ＨＢ－１２１０１を得た。ハイブリドーマＪ４１５は、１９９６年５月３０日に寄託され、そしてＡ．Ｔ．Ｃ．Ｃ．寄託番号ＨＢ－１２１０９を得た。ハイブリドーマＪ５３３およびＪ５９１は、１９９６年６月６日に寄託され、そしてそれぞれ、Ａ．Ｔ．Ｃ．Ｃ．寄託番号ＨＢ－１２１２７およびＨＢ－１２１２６を得た。

【０２８７】

脱免疫Ｊ５９１を産生するＮＳ０細胞株は、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレク

ション（ＡＴＣＣ），１０８０１ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ ２０１１０－２２０９に、２００１年９月１８日に寄託され、そして寄託番号ＰＴＡ－３７０９を割り当てられた。脱免疫Ｊ４１５を産生するＮＳ０細胞株は、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ＡＴＣＣ），１０８０１ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ ２０１１０－２２０９に、２００２年３月２１日に寄託され、そして寄託番号ＰＴＡ－４１７４を割り当てられた。これらの寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の条件下で維持されるであろう。この寄託は、当業者の便宜としてのみ行われ、そして寄託が３５Ｕ．Ｓ．Ｃ．§１１２下で必要であることの是認ではない。

【０２８８】

以下の発明は、以下の実施例によってさらに例示されるが、該実施例はさらなる限定と解釈してはならない。本出願全体で引用されるすべての参考文献、係属特許出願および公開特許の内容は、明らかに本明細書に援用される。

【０２８９】

実施例

実施例１．^{111}インジウム、^{90}イットリウム及び^{177}ルテチウムに対する抗PSMA抗体のキレート化

修飾抗PSMAモノクローナル抗体を、^{111}インジウム、^{90}イットリウム又は^{177}ルテチウムで、該抗体の表面に存在する第１級アミンにキレーター1,4,7,10－テトラアザシクロドデカン－N,N',N",N"'－４酢酸（DOTA）の４カルボン酸基の１つを直接カップリングさせることによって放射能標識することができる。次に、DOTAコンジュゲートした抗体(DOTA conjugated antibody)を精製し、滅菌濾過し、バイアルに入れる。使用前に、該精製抗体を、DOTAに結合する望ましい放射能標識と混合することができる。

【０２９０】

キレート化方法

モノクローナル抗体deJ591を1,4,7,10－テトラアザシクロドデカン－N,N',N",N"'－４酢酸（DOTA）とコンジュゲートさせ、続いて、^{111}インジウム、^{90}イットリウム及び^{177}ルテチウムで放射能標識した。放射能標識及び品質管理試験を、臨床等級mAb deJ591の３つの個別のバイアルで行なった。

【０２９１】

deJ591のコンジュゲーション及び精製に用いたすべての試薬は、発熱物質を含まない水から製造した。NH_4OAC緩衝液及びリン酸ナトリウム緩衝液の特定の場合には、これらの溶液を、如何なる金属イオンをも除去するために、Chelex 100 (Bio-Rad, CA)で精製した。

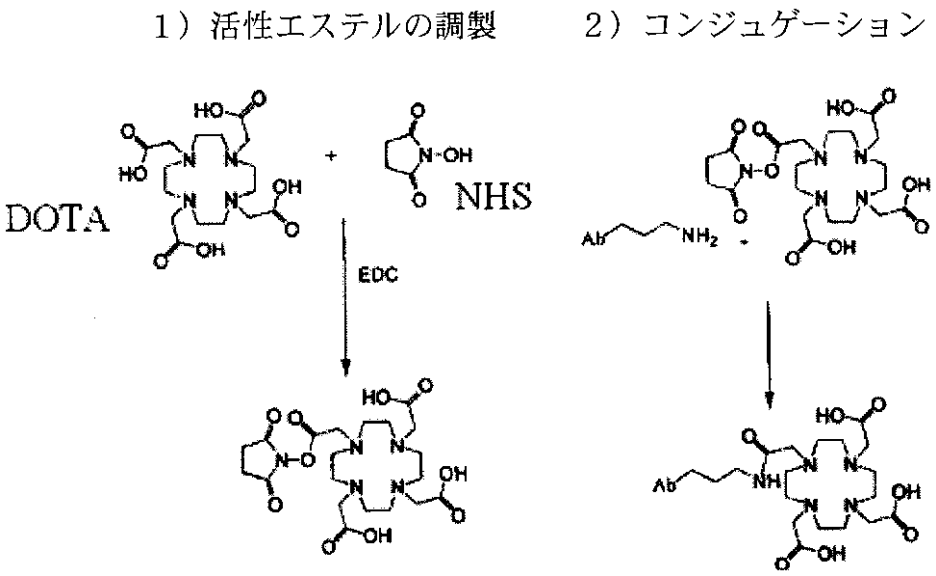
【０２９２】

抗体と、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N’,N",N"'-４酢酸(DOTA)とのコンジュゲーション

モノクローナル抗体deJ591を、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N’,N”,N"'-４酢酸(DOTA)によって次のように修飾した。簡単に説明すると、deJ591 ２５mgを、２４時間の期間にわたって、30 kDa microsep遠心分離濃縮器(Pall Filtron,MA)中で濃縮し、1% DTPA (pH 5.0)５ｘ４mlで洗浄した。次に、抗体緩衝液を、同じ遠心分離手法を用いて、0.1Mリン酸塩(pH7.0)に変えた。水２ml中にDOTA（０．３６１mmole)１４６mgとN-ヒドロキシスクシンイミド(０．３１３mmole)３６mgとを溶解して、NaOHでpHを７．３に調節してから、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド１０mgを加えることによって、DOTAの活性エステルを調製した（下記参照）。

【０２９３】

【化１】



【０２９４】

この反応混合物を氷上で１時間冷却してから、deJ591溶液に加えた。得られたDOTA-deJ591を、０．３M NH_4OAc(２０ｘ４ml)による反復洗浄及び遠心分離濃縮によって、過剰なDOTA及び他の反応物質から分離した。精製コンジュゲートを次に０．２２μmフィルターに通しての濾過によって滅菌して、滅菌ポリプロピレン・バイアルに入れて、4°Cで貯蔵した。

【０２９５】

DOTA-deJ591コンジュゲートの濃度を、２８０nmにおけるUV吸収を測定することによって分析し、２つの５０μlアリコートに、トレーサー量の^{111}Inをスパイクした $InCl_3$(０．０１M HCl)の１．３０mM溶液２０又は３０μlを混合した。混合物を３７℃で１６時間インキュベートしてから、シリカゲル含浸ガラス繊維１０cmストリップ(ITLC-SG, Gelman, prod.# 61885)及び１%DTPA(pH６．０)の溶離剤を用いて、ITLCによって分析した。抗体結合活性(antibody bound activity)は最初の状態に(at the origin)留まり、遊離^{111}Inは^{111}In-DTPA複合体として溶媒と共に前方に移動する。^{111}In及び^{111}In -DOTA-J591の相対的量を、０．５のRfでITLCストリップを切断し、２つの半体をNa(Tl)I検出器でカウントすることによって測定した。^{111}InとDOTA-deJ591との間のモル反応比率及び、検出された^{111}Inと^{111}In-DOTA-J591との実測比率を考察することによって、結合部位の数を算出する。典型的に、５．１モルのDOTAがdeJ591にコンジュゲートする。表１０は、deJ591の２つのコンジュゲーションからの結果を示す。

【０２９６】

【表１０】

表１０：deJ591 にコンジュゲートした DOTA 分子の平均数の算出

試験番号	既知 ^{111}In/DOTA-J591	実測 ^{111}In/DOTA-J591	DOTA モル平均数 ／mAb
	反応比率	ＴＬＣ比率	
A	１１．７６	１．３３８	５．０３
B	１７．６４	２．４６９	５．０９

【０２９７】

放射能比率

下記放射能標識手段は、^{111}Inに関して述べるが、例えば^{90}Y は^{177}Luのような他の放射

能標識によっても用いることができる。酢酸アンモニウム緩衝化DOTA-deJ591に^{111}In(希HCl中)を加えることによって、放射能標識を達成した。該抗体に対するオートラジオリシスの影響を避けるために、反応時間を最小にし、投与の前に、反応混合物をサイズ排除カラムによって精製した。簡単には、$^{111}InCl_3$(８mCi,０．０１M HCl）２０μl、DOTA-deJ591（４mg/ml,０．３M NH_4OAc, pH ７)４００μlから成る混合物を３７℃で２０分間反応させた。次に、反応混合物をPBS中無菌１％HSA ４ｘ１０ml（HSAはUS認可アルブミンの規格を満たす；Central Laboratory Blood Transfusion Service Swiss Red Cross, Bern, Switzerland,License No. 647製造）で平衡化した１６ml Biogel-P6DG カラム(Bio-Rad, CA)上で分離した。反応混合物を該カラムに負荷させた後直ちに、これをさらに２mlの１％HSA PBSで洗浄してから、主要^{111}In-DOTA-deJ591フラクションを５mlの１％HSA PBSで溶出した。次に、精製^{111}In-DOTA-deJ591を滅菌濾過して、滅菌真空バイアルに入れた。この方法を用いて、７．６mCi ^{111}In/mg DOTA-deJ591の比活性を得た。

【０２９８】

^{111}Inに関する代替放射能標識手段

下記放射能標識手段は、臨床研究及び安定性研究のための^{111}In-DOTA-J591のルーチン調製に用いることができる。DOTA-J591溶液(８mg/ml,０．３M 酢酸アンモニウム, pH７)に、^{111}In塩化物及び酢酸アンモニウム緩衝液(1 M)を添加することによって、放射能標識を達成する。該抗体に対するオートラジオリシスの影響を避けるために、反応時間は最小にされている。標識^{111}In-DOTA-J591を、サイズ排除カラムを用いて精製し、０．２mミリポア膜フィルターを用いて滅菌濾過してから、患者に投与する。

【０２９９】

簡単には、酢酸アンモニウム(^{111}Inの各mCiに対して１０μl）を、^{111}In-塩化物溶液を含有する反応バイアルに加える。続いて、DOTA-J591溶液(^{111}Inの各mCiに対して３０ml又は０．２４mg)を反応バイアルに加え、混合物を穏やかに混合し、３７℃において２０～３０分間インキュベートし、該混合物のアリコートを、ITLC (SG及び５mM DTPA,pH５)を用いて、標識効率を測定するために試験する。結合が最適であるならば(＞７０％)、１０～４０mlの５mM DTPAの添加によって、反応を停止させる。

【０３００】

遊離^{111}Inから^{111}In-DOTA-J591を分離又は精製するために、１％ヒト血清アルブミン（US認可アルブミンの規格を満たす；Central Laboratory Blood Transfusion Service Swiss Red Cross,Bern,Switzerlandによって製造、License No.647）を含有するPBS４ｘ１０mlで予め洗浄したBiogel-P6DGカラム(Bio-Rad, CA)に、反応混合物を加える。このカラムから１％HSAを有するPBSを用いて^{111}In-DOTA-J591を溶出し、標識抗体を含有するフラクション(典型的に５～８ml)を滅菌容器中に回収する。ITLC(前記と同じ)を用いて放射化学純度を測定した後に、標識効率が>95%である場合には、０．２mフィルターを用いて標識複合体を滅菌バイアル中に濾過する。最終比活性は典型的に３～５mCi/抗体mgである。

【０３０１】

^{90}Yによる放射能標識

手段は、^{111}Inに関して上述した手段と、インキュベーション時間が１０～１５分間であることを除いて、同様である。^{90}Y-DOTA-J591の放射化学純度は＞９７％でなければならない。

【０３０２】

^{177}Luによる放射能標識

手段は、２つの変更を除いて、上記手段と同様である。酢酸アンモニウムの添加量は減少し（^{177}Luの各mCiに対して３～５ml)、インキュベーション時間は僅か５分間である。^{177}Lu-DOTA-J591の放射化学純度は＞９７％であるべきである。

【０３０３】

放射化学純度

放射能標識DOTA-deJ591調製物中の遊離^{111}In量を、シリカゲル含浸ガラス繊維サポートと１％DTPA (pH 5.5)の移動相とによるインスタント薄層クロマトグラフィー方法を用い

て評価した。簡単には、放射能標識DOTA-deJ591の一部を10 cm ITLC-SGストリップ (Gelman, prod. # 61885)上にスポットし、1% DTPA (pH 5.5)中で展開した。溶媒の先端が該ストリップの末端に達した直後に、該ストリップを溶媒から取り出し、０．５のR_fで切断した。２部分を放射能に関して分析し、次式を用いて、放射化学純度を測定した：

放射化学純度＝(R_f ０～０．５中の放射能(activity))/(ストリップ中の総放射能)

免疫反応性

^{111}In-DOTA-deJ591調製物の免疫反応性を、Lindmo方法(Lindmo T. et al. (1994) J. Immunol. Methods, 72:77-89, 1994)に従って評価した、この方法は、無限に過剰な抗原への放射能標識抗体の結合を推定する。簡単には、２５０μｌの総試験量の０．２％BSA １０mM HEPES中に１０，０００cpmの^{111}In-DOTA-deJ591及び種々な量のLNCaP細胞を含有する５種類の試験溶液を調製した（２通りに）。これらの溶液を４℃において６０分間インキュベートしてから、単離し（遠心分離によって）、氷冷PBSで洗浄した。次に、膜をガンマーカウンターで、添加した総放射能を示す基準と共にカウントした。データを次に、Lindmo法を用いて、結合した割合の逆数(reciprocal of the fraction bound) (y-軸)に対する基質濃度の逆数(reciprocal of the substrate concentration)(x-軸)としてプロットした。データを最小二乗線形回帰法（least squares linear regression method）(Sigma Plot)に従ってフィットさせて、yインターセプトを免疫反応性の逆数(reciprocal of the immunoreactivity)と見なした。LNCaP細胞に由来する膜を用いる同様な方法と、その後の該膜の遠心分離単離は、同様な結果を与えた。これらの結果は、７２％の平均免疫反応性を与えた（表１１参照）。

【０３０４】

免疫組織化学

DOTAコンジュゲートし、部分精製されたバルク中間体deJ591に対して免疫組織化学を行なった。結果は、該調製物が前立腺組織に特異的であり、反応性が、裸の（naked）deJ591抗体と同じであることを示した。

【０３０５】

増殖不能性（sterility）

^{111}In-DOTA-deJ591調製物の増殖不能性を、USP 24/NF 19の方法に従ってチオグリコラート培地を用いて測定した。簡単には、^{111}In-DOTA-deJ591調製物の４通りの０．１mlサンプルを１５mlの流体チオグリコラート培地に移して、混合物を３５℃で１４日間インキュベートした。この培地を、４日目、７日目及び１４日目に増殖の何らかの徴候に関して目視検査した。３調製物のすべては、増殖を示さなかった（表１１参照）。

【０３０６】

内毒素

^{111}In-DOTA-deJ591調製物の内毒素を、USP 24/NF 19に従ってLimulus amebocyte溶解物(lysate)アッセイを用いて測定した。簡単には、Limulus amebocyte溶解物キット(Bio Whittaker lot # 7L3790,感度０．１２５EU/ml)を、試験サンプル０．２５mlによって再構成した。４通りの試験サンプル、人為的陽性試験サンプル、陰性対照及び陽性対照を３７℃において６０分間インキュベートした。陽性結果は、１８０°反転によって影響されなかった粘性ゲルの形成によって代表された。１つの調製物は、５EU/ml未満の値を示した。このアッセイは、投与直前まで患者投与量に対して繰り返すことができる（及び繰り返されるであろう）。

【０３０７】

【表１１】

表１１：放射能標識 ^{111}In-DOTA-deJ591 の分析結果

試験	結果
放射能標識収率	８５％
放射化学純度	＞９９％
免疫反応性	７２％
内毒素	＜５Ｅｕ／ｍｌ
増殖不能性	不能

deJ591 の Lot＃：BIOV９８３．２－２

【０３０８】

大規模製造／方法

DOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体の大規模製造を下記パラグラフで述べる。上記方法論との主要な相違は、該抗体を濃縮し、ダイアフィルトレーションするためのmicrosep遠心分離濃縮器の代わりの撹拌セル(stirred cell)の使用と、該DOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体から未反応のDOTA及び他の試薬を除去するためのSephadex G-25カラムの使用であった。これらの変更は、規模の増大によって必要になった。公称１０００mg規模に関する出発物質の比率を表１２に記載する。この方法は、出発物質の同様な比率を用いて、スケールアップすることができる。

【０３０９】

【表１２】

表１２：出発物質の単位比率

出発物質	単位比率
deJ591 抗体	Ｘｍｇ
1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N',N",N"'-4 酢酸（ＤＯＴＡ）	１．２５Ｘｍｇ
Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）	０．２７５Ｘｍｇ
1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド（ＥＤＣ）	０．３Ｘｍｇ

【０３１０】

汚染を最小にするために、無菌操作（aseptic practices)を観察し、製造中に定期的間隔で環境モニターリングを行なった。DOTA-deJ591抗体のコンジュゲーション及び精製に用いるすべての溶液、緩衝液及び試薬は、Water For Injection (WFI)によって製造された。DOTA部分による如何なる遊離金属残渣のキレート化をも避けるために、方法を通して、金属を含まない成分を製造に用いた。酢酸アンモニウム緩衝液及びリン酸ナトリウム緩衝液の特定の場合には、溶液をChelex 100で精製して、如何なる金属イオンをも除去した。滅菌した、発熱物質を含まない及び金属を含まない容器を用いて、反応物質を混合した。Class 100 規格を満たす範囲(area)で、最終バルク滅菌濾過を行なった。

【０３１１】

Chelex 100 (BioRad 又は同等物)カラム上で金属を含まない０．１Ｍリン酸ナトリウム pH 7.1中に該抗体を緩衝液交換することによって、deJ591を調製した。次に、30kDカットオフ膜を備えたStirred Cell Unit(Millipore又は同等物)を用いて、抗体を約１０mg/mlに濃縮した。濃縮済み抗体を次に、０．２２μmフィルターに通して滅菌濾過した。

【０３１２】

抗体1gをコンジュゲートするために、金属を含まないリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．１）中の０．８７Ｍ　Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド２．７mlに、金属を含まないリン酸ナトリウム緩衝液（pH７．１）中の０．４９M DOTA　６．３mlを加えることによって、DOTAの活性エステルを調製した。この混合物に、０．１N水酸化ナトリウムを、DOTAが完全に溶解するまで加えた（０．１M水酸化ナトリウムの、DOTA／NHS溶液に対する比率約１：１）。ｐＨは６．９～７．２であった。溶液を２～８℃で３０分間以上冷却した。DOTA/NHS溶液に、リン酸ナトリウム緩衝液(pH７．１)中１．０M　EDC　１．５mlを加えて、２～８℃で１時間以上冷却させた。

【０３１３】

抗体１gに活性DOTA エステルを加えて、２～８℃において一晩（１２～１４時間）インキュベートした。DOTAコンジュゲートした抗体を、金属を含まない０．３M酢酸アンモニウム緩衝液（pH７．２）中のSephadex G-25カラム(Pharmacia 又は同等物)上で精製した。DOTAコンジュゲートした抗体を含有する溶出液フラクションを、３０kDカットオフ膜を備えたStirred Cellを用いて、約１０mg／mlに濃縮した。DOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体を次に、０．３M酢酸アンモニウム（pH７．２）中でディアフィルトレーションして、過剰な試薬を除去し、８．０mg／mlの最終濃度にまで希釈してから、０．２２μmフィルターに通して滅菌濾過した。

【０３１４】

DOTAコンジュゲートしたdeJ591を、濃度、免疫反応性、コンジュゲーション、内毒素及び増殖不能性に関して試験した。内毒素範囲は、１～５mgの範囲である、必要な放射能標識DOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体の低い臨床投与量に基づく。バッチサイズが小さいために増殖不能性の代わりに、バルク精製済みDOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体に対して生物負荷(bioburden)試験を行なった。増殖不能性(21 CFR 610)は、最終的なバイアル入り薬物生成物に対して行なわれる。免疫反応性の目標及びDOTAモル数／抗体は、以前の臨床経験に基づく。７２％程度の低い免疫反応性値を有するDOTAコンジュゲートした抗体が、クリニックで上首尾に用いられている。DOTAモル数／抗体は、以前の臨床的ロットからの結果に基づく。

【０３１５】

タンパク質濃度

DOTA-deJ591のサンプルを、２８０nmの波長において分光光度計での光学密度によって分析した。これらの算出に用いた吸光係数はA_{280}，$E^{0.1\%}_{1cm}$＝１．４であった。この分析の作用範囲（０．２OD単位～１．２OD単位、直線、CV２％未満）内の吸光度読取りを与えるように、試験サンプルを適当に希釈した。タンパク質濃度の受容される範囲は、８．０mg/ml±０．５mg/mlである。

【０３１６】

内毒素

DOTA-deJ591のサンプルを、確証済みLimulus Amebocyte Lysate試験(LAL) Gel Clot Assay (BioWhittaker又は同等物)を用いて、発熱性物質に関して試験した。０．０６EU/ml感受性溶解物を用いて、ゲル・クロットアッセイに対するある種の化学物質の阻害レベルを克服するために、分析のための内毒素を含まない水中でサンプルを１：１０又は１：２５のいずれかで希釈した。加工(processing)中の各緩衝液又は中間体サンプルに関して２通りの測定を行なった、サンプル値は、該緩衝液に対して設定された希釈レベルで得られた値以下である必要があった。すべてのサンプルと共に、陽性及び陰性対照並びに阻害対照を実施した。提案された受容される範囲は、DOTA-deJ591　１mgにつき５EU以下であった。

【０３１７】

生物負荷

DOTA-deJ591のアリコートを、流体チオグラート及び大豆－カゼイン・ブロスに直接接種した。１４日間のインキュベーション後に、これらの培地を検査した。必然的に、両方の培地は１４日間後に増殖を示さなかった。

【０３１８】
免疫反応性
DOTA-deJ591調製物の免疫反応性を、過剰な抗原の無限量に対する放射能標識抗体の結合を推定するLindmo方法 (Lindmo T. et al.(1994) J. Immunol. Methods 72:77-89)に従って評価した。簡単には、0.2 % BSA 10 mM HEPESの総試験量２５０μｌ中に１０，０００ｃｐｍの^{111}インジウム標識DOTA-deJ591及び種々な量のLNCaP細胞又は細胞膜を含有する５種類の試験溶液を調製した（２通り）。これらの溶液を４℃で６０分間インキュベートしてから、単離し（遠心分離による）、氷冷PBSで洗浄した。次に、これらの膜をガンマーカウンターで、添加した総放射能を示す基準と共にカウントした。データを次に、Lindmo法を用いて、結合した割合の逆数(y-軸)に対する基質濃度の逆数(x-軸)としてプロットした。データを最小二乗線形回帰法(Sigma Plot)に従ってフィットさせて、yインターセプトを免疫反応性の逆数と見なした。免疫反応性の目標は７５％以上であった。
【０３１９】
DOTAモル数／抗体
結合DOTA数／抗体を、インジウムの自然発生同位体及び^{111}インジウムによる飽和結合方法を用いて測定した。DOTA-deJ591の複数アリコート（少なくとも２つ）に、１０～３０μｌの範囲内の種々の量の、トレーサー量の^{111}Inをスパイクした $InCl_3$(0.01 M HCl)の３．０mM溶液を混合した。混合物を３７℃で１６時間インキュベートしてから、シリカゲル含浸ガラス繊維１０cmストリップ(ITLC-SG, Gelman,又は同等物)及び1% DTPA (pH 6.0)の溶離剤を用いて、ITLCによって分析した。抗体結合放射能は最初の状態に留まり、遊離^{111}Inは^{111}In-DTPA複合体として溶媒と共に前方に移動する。^{111}In及び^{111}In -DOTA-J591の相対的量を、0.5のRfでITLCストリップを切断し、２つの半体をNa(Tl)I検出器でカウントすることによって測定した。^{111}InとDOTA-deJ591との間のモル反応比率及び、検出された^{111}Inと^{111}In-DOTA-J591との実測比率を考察することによって、結合部位の数を算出した。DOTA分子／抗体の目標数は４～６であった。DOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体のサンプルロットの分析結果を以下の表１３に示す。
【０３２０】
【表１３】
表１３

試験	提案受容範囲	結果
外観	透明無色溶液	透明無色溶液
濃度	8.0mg/ml±0.5mg/ml	8.4mg/ml
内毒素	ＮＭＴ５EU/mg	<1.2EU/mg
生物負荷	増殖なし	増殖なし
免疫反応性	情報のみのため（目標ＮＬＴ７５％）	９５％
DOTAモル数／抗体	情報のみのため（目標４～６ＤＯＴＡ／抗体）	6

【０３２１】
DOTAコンジュゲートしたdeJ591抗体の以前のロット(Biov983.2-2)及び現在のLot243101に関するDOTAコンジュゲーション数を表１４に示す。Lot Biov983.2-2に関するDOTAモル／抗体の平均数は５．０６であり、Lot 243101に関しては５．９６であった。抗体当りにコンジュゲートしたDOTAモルの数は、Lot 243101に関する方がやや高く、免疫反応性は、表１５に示すように、影響されなかった。実際に、Lot 243101の免疫反応性は、比較ロットの免疫反応性よりも高く、このことは有利である。他の小規模臨床的ロットが９０％より大きい免疫反応性値を有することは、注目すべきである（データ示さず）。
【０３２２】

【表１４】

表１４：deJ591抗体にコンジュゲートしたDOTA分子の平均数の比較

ロット番号	既知 ^{111}In/DOTA-deJ591	実測 ^{111}In/DOTA-deJ591	ＤＯＴＡモル平均数／ｍＡｂ
BIOV983.2-2	反応比率	ＴＬＣ比率	
Ａ	１１．７６	１．３３８	５．０３
Ｂ	１７．６４	２．４６９	５．０９
平均			５．０６
ロット243101	反応比率	ＴＬＣ比率	
Ａ	１０．９８	０．８６０８	５．９０
Ｂ	１６．４６	１．７３０１	６．０３
Ｃ	２１．９５	２．８２２６	５．７４
Ｄ	３２．９３	４．３４９８	６．１５
平均			５．９６

Ａ＝Ｉｎ－自然／^{111}Ｉｎ溶液１０μｌ、Ｂ＝Ｉｎ－自然／^{111}Ｉｎ溶液１５μｌ、

Ｃ＝Ｉｎ－自然／^{111}Ｉｎ溶液２０μｌ、Ｄ＝Ｉｎ－自然／^{111}Ｉｎ溶液３０μｌ、

表１５：DOTA-deJ591の免疫反応性の比較

試験	ロットBIOV983.2-2	ロット243101
免疫反応性	７２％	９５％

【０３２３】

代替手段

DOTA-J591イムノコンジュゲート（immunoconjugate）の代替合成は、次の通りである：deJ591　９５６．５mgを６回ディアフィルトレーションした。該抗体を３０kDa microsep遠心分離濃縮器(Pall Filtron, MA)で、約１５mg／mlまで濃縮し、金属を含まない０．１Mリン酸ナトリウム（pH７．１）で１２．５倍に希釈した。この手段は６回行なった。０．１Mの金属を含まないリン酸塩緩衝液５．９５ml中のDOTA５９８mg（１．４８mmol）と、０．１Mの金属を含まないリン酸塩緩衝液２．７ml中のＮ－ヒドロキシスクシンイミド１３２mg（１．１５mmol）とを混合することによって、DOTAの活性エステルを調製した。NaOHによって、pHを６．９～７．２に調節してから、０．１Mの金属を含まないリン酸塩緩衝液１．４５ml中の１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド１４４mg（０．７５mmol）を添加した。この反応混合物を０．２ミクロン滅菌フィルターに通して濾過して、氷上で１時間冷却してから、deJ591溶液に加えて、２～８℃で１４～１８時間一晩インキュベートした。得られたDOTA-deJ591を、０．３Mの金属を含まない酢酸アンモニウム中で平衡化させたG-25カラムに通して精製することによって、過剰なDOTA及び他の反応物質から分離した。精製コンジュゲートを撹拌セルユニットで１０mg／mlにまで濃縮し、０．３M酢酸アンモニウムで洗浄してから、０．２２μmフィルターに通しての濾過によって滅菌して、滅菌ポリプロピレンバイアルに入れて２～８℃において貯蔵

した。

【０３２４】

さらに他の代替手段は、コンジュゲーション工程に用いるDOTA-NHSモノ－活性エステルの量及び純度の良好な制御を達成するため、並びにDOTAがin-situ活性化されるときに生じる、予想外の化学的副反応を制限するために、純粋なDOTA-NHSモノ－活性エステル（Macrocyclicsから商業的に入手可能）を必要とするコンジュゲート工程を用いることである。in-situ活性化DOTA（即ち、抗体に加える前に精製されない活性化DOTA)の使用に付随する問題は、DOTA-NHSの可変な生成によるDOTA抗体の取り込み比率の変動；コンジュゲートした抗体から洗浄除去される必要があり、放射性同位体への結合に関して競合しうる、非常に過剰なDOTAの使用を包含する；未反応EDACは、リシンと、タンパク質上のグルタミン酸残基又はアスパラギン酸残基との架橋、したがって好ましくないタンパク質アグリゲートを生じうる；そして、タンパク質が架橋することを可能にし、金属配位のために必要である付加的なカルボキシレート基を用いる、活性化DOTA分子の有意な割合上に、２つ以上の活性エステルが形成される可能性がある。

【０３２５】

DOTAへのそのコンジュゲーションに由来する、抗体結合活性の損失を最少にするために、抗体分子当りに約２～１０、好ましくは約５～７個のDOTA分子を取り込むことが望ましい。DOTA-NHSモノ活性化エステル、抗体に比べて３～３０倍過剰なDOTA-NHSが、この好ましいレベルのDOTA取り込みを生じる。DOTA-NHSの抗体に対する投入比率(input ratio)７：１、９：１、１１：１，１５：１、２０：１及び３０：１を用いて、研究が現在行なわれている。

【０３２６】

プロトコールは、次の通りである。出発物質：リン酸ナトリウム緩衝液（０．１M、pH７．１）中のJ591抗体１０．５mg／ml、Chelex 100 樹脂（抗体１０mg当り樹脂１ml）で処理；０．３M酢酸アンモニウム緩衝液（pH７．０）、Chelex 100 樹脂（緩衝液１L当り樹脂２０ml）で処理；DOTA-NHS.PF6 (FW 646.4)、Macrocyclics、Dallas、TX。実験方法：３個のポリプロピレン・バイアルに別々に，J591抗体（１０．５mg／ml、１４３mmol）２．０mlを装入して、氷上で３０分間の期間にわたって冷却した。DOTA-NHS３．３mgを、金属を含まない水（Chelex 100樹脂で処理、氷上で３０分間予め冷却）０．３５６ml中に溶解して、１４．３nmol／μlの濃度にした。該３抗体溶液に、この新たに調製されたDOTA-NHS溶液７０、９０及び１１０μlを別々に加えた。反応混合物を室温において４時間の期間にわたって磁気撹拌バーでゆっくり撹拌し、次に緩衝液交換のために、CentriCon-30中で０．３M酢酸アンモニウム緩衝液（pH７．０、Chelex 100処理）によって、１５mlに希釈した。次に、濃縮物（約１．５ml）を再び１５mlに希釈してから、１．５mlに濃縮した。これらの濃縮物を次に０．２ミクロンフィルターに通して濾過した。CentriCon管及びフィルターを少量の酢酸アンモニウム緩衝液で洗浄して、最終生成物中に濾過して加えた（それぞれ、総量２ml）。

【０３２７】

DOTA-NHSの、抗体に対する投入比率７：１、９：１及び１１：１を用いてDOTAにコンジュゲートした抗体は、^{90}Y結合安定性及びタンパク質アグリゲート形成に関して分析されている。３種類のコンジュゲートのすべては、^{111}In又は^{90}Yによる標識の２～３日間後に、PBS、DTPAキレートチャレンジャー、血清及びトランスフェリンの存在下で高い割合(high percentage)の安定性を示した。さらに、３種類のコンジュゲートのすべては、工程に関連したアグリゲート形成を殆ど又は全く示さなかった。DOTA-NHSの抗体に対するより高い投入比率を用いて製造された、残りの３コンジュゲートが現在分析されている。

【０３２８】

抗体に対するDOTAのコンジュゲーションは、NHS活性化DOTAに限定されない。DOTA-NHSの代わりに、DOTA-HOBT活性エステルも、例えば、エチルクロロホルメート又はイソブチルクロロホルメート、ｐ－ニトロフェニルエステルの混合無水物の使用のような、当該技術分野で知られた他の活性化方法と同様に、用いることができる。

【０３２９】
実施例２．LNCaPヒト前立腺腫瘍を有するヌードマウスにおける^{131}I－及び^{111}In－標識deJ591及びマウスJ415の薬物動態及び生体内分布
PSMA陽性ヒトLNCaP腫瘍を有するヌードマウスにおいて、^{131}I又は^{111}Inで放射能標識されたモノクローナルdeJ591及びマウスJ415抗体の薬物動態、生体内分布及び腫瘍取り込みを分析した。放射能標識MAbsの腫瘍内分配を確認するために、オートラジオグラフィー分析を行なった。
【０３３０】
deJ591及びJ415を、ヨードゲン方法(iodogen method)（Franker and Speck (1978), Biochem Biophys Res Commun 80:849-57参照)を用いて、400MBq/mg(21,23)の比活性に^{131}Iによって放射能標識した。^{111}Inの放射能標識に関しては、J415及びdeJ591抗体を最初に1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N',N",N"'-４酢酸(DOTA)とコンジュゲートさせ、次に^{111}Inで標識して、２００MBq/mgの比活性を生じた。
【０３３１】
前立腺癌細胞系LNCaP、DU145及びPC3(American Type Culture Collection, Rockville, MD)を、１０％ウシ胎仔血清を補充したRPMI 1640中、３７℃、５％CO_2含有雰囲気中で増殖させた。使用前に、細胞をトリプシン処理し、カウントし、Matrigel (Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA)中に懸濁させた。生後８～１０週間のNu/Nu Balb C マウスの右及び左側腹部にMatrigel (BD Biosciences, Bedford MA)中の５ｘ１０^{6}LNCaP細胞の懸濁液を接種した。１４～１８日間後に、腫瘍（１０～３００mg）が発生した。PSMA陰性DU145 及びPC3細胞をヌードマウスに同じ方法で移植した。
【０３３２】
PSMA陽性及びPSMA陰性腫瘍を有するマウスに、尾静脈から、PBS(pH 7.4、0.2% BSA)２００μl中の80KBqのヨウ素化MAb(400 MBq/mg)を注入した。２、４又は６日間後に動物群（３～８／群）を殺した。主要な器官及び腫瘍を回収した。組織サンプルを秤量し、自動NaI(Tl)カウンター中で適切な基準と共にカウントした。これらの測定相対的活性(measured relative activity)データ（cpm）をバックグラウンド補正して、注入量％／ｇ(%ID/g)として表現する。これらのデータに最小二乗回帰分析(Microcal Origin, Northampton, MA)をも適応して、種々な作用剤の生物学的クリアランスを測定した。J415, J591及び7E11を^{111}In(100MBq/mg)で標識した。80KBqの^{111}In標識MAbを動物群に注入した。種々な器官及び腫瘍組織中の%ID/gを、注入後２～６日目に、^{131}Ｉ標識MAbに関して述べたと同様な方法で測定した。
【０３３３】
イメージング研究のために、動物に2MBqの^{111}In-DOTA-J591を注入した。注入後１、２、３、４及び６日目に、マウスをケタミン／キシラジン１００mg／kg／１０mg／kgＩＰによって鎮静させた。マウスを、ピンホール・コリメーターを装備したガンマ・カメラ(Transcam, ADAC Laboratories, Milpitas, CA)で造影した。^{111}Inの２４５KeV光電ピークの２０％ウインドウを用いて、２５６ｘ２５６マトリックスで１０００秒間イメージを得た。
【０３３４】
数匹（ｎ＝２０）に関して、回収した腫瘍サンプルを直ちに液体窒素中で冷却して、包埋剤(O.C.T. 4583, Sakura Finetec, Torrance CA)中で凍結させた。２０ミクロン切片を切断して、腫瘍切片をアセトンで固定して、１枚の写真用フィルム(Biomax, Kodak, Rochester, NY)と直接接触させたか、又はフィルムへの暴露前にヘマトキシン／エオシンで染色した。対照動物から腫瘍を収集して、１０μm切片に切断した。これらの切片をtris緩衝液(１７０mM,pH７．４、２mM $CaCl_2$及び５mM KCl含有)中に１５分間浸漬し、tris緩衝液(１７０mM、pH ７．４)で洗浄し、^{131}I-J591 MAbと共に４℃で１時間インキュベートした。１００nM J591 MAbの存在下で非特異的結合を測定した。これらの切片を次に、PBS(０．２% BSA含有)で３回、Tris緩衝液で１回洗浄してから、アセトンで固定し、次に写真用フィルムに暴露した。

【０３３５】

^{131}Ｉ標識MAbの生体内分布

LNCaP腫瘍を有するヌードマウスにおいて、^{131}Ｉ標識されたdeJ591及びJ415の生体内分布及び腫瘍取り込みを^{131}I-7E11の生体内分布及び腫瘍取り込みと比較した。注入後２日目に、deJ591、J415及び7E11は同じ腫瘍取り込み及び血液プール活性を有した。６日目に、J415の腫瘍取り込み(１５．４±１．１)は、deJ591の腫瘍取り込み(９．５８±１．１)に比べて有意に高かった。deJ591及びJ415の両方の血液活性は、7E11の血液活性に比べて有意に低かった。^{131}Ｉ標識MAbに関して、腫瘍／血液比率及び腫瘍／筋肉比率は、J415ではJ591又は7E11によるよりも有意に高かった。

【０３３６】

PSMA陽性LNCaP腫瘍における放射能標識MAb局在化の特異性を評価するために、選択された器官における^{131}Ｉ標識deJ591及びJ415の取り込みを、関連性がないIgG抗体の取り込みに比較した。注入後１日目に、J415（１２．２±３．２４)及びdeJ591（８．５５±１．２９)の両方の腫瘍取り込み（注入量％／g）は、無関係抗体の取り込み(４．４１±０．４０)に比べて有意に高かった。肺、腎臓、筋肉における取り込みは、３種類の抗体のすべてで同じであった。第２対照研究では、^{131}Ｉ-deJ591の腫瘍取り込みを、PSMA陰性前立腺腫瘍(PC3及びDU145)を有するヌードマウスにおいて測定した。注入後４日目に、^{131}I-deJ591の腫瘍取り込みは、PC3腫瘍（ｎ＝１０）ではわずか０．６６±０．０７% ID/gであり、DU145腫瘍（ｎ＝６）では０．５５±０．０３%ID/gであった。これとは対照的に、^{131}I-J591の腫瘍取り込みは、PSMA陽性LNCaP腫瘍では１１．４±１．４９% ID/gであり、これはPSMA陰性腫瘍におけるよりも有意に高かった($p<0.01$)。

【０３３７】

^{111}Ｉｎ標識MAbの生体内分布

^{111}Inに関しては、deJ591及びJ415の腫瘍取り込みは、経時的に徐々に上昇し、7E11の腫瘍取り込みと全く同じであった。J415及びJ591の両方の血液クリアランスの動力学は、7E11に比べてより迅速である。注入後６日目に、J415（２．６３±０．２３)及びdeJ591(２．５２±０．１６)の血液活性は、7E11(４．１６±０．２１)の血液活性の約５０％である。その結果として、J415及びdeJ591による腫瘍／血液比率は、7E11の腫瘍／血液比率に比べて有意に高い。肝臓、脾臓及び腎臓におけるこれら３種類の抗体の取り込みには、軽微な差が存在するに過ぎなかった。

【０３３８】

ヌードマウスの連続ガンマ・カメラ画像は、^{111}In-DOTA-deJ591の強度な腫瘍蓄積を明確に示す。１日目には、右後４分体(right hind quarter)、血液プール及び肝臓上の単一腫瘍（約２５０mg）が良好に眼に見えるようになる。しかし、その後の画像では、血液プールから活性(activity)が除去されているが、腫瘍蓄積は、肝臓活性（liver activity）の蓄積に比べて、徐々により強度になる。

【０３３９】

オートラジオグラフィー

静脈内注入後４～６日目に、腫瘍試験片（ｎ＝２０）をヘマトキシリン（Ｈ）及びエオシン（Ｅ）染色及びオートラジオグラフィーのために回収して、^{131}Ｉ標識MAbの腫瘍内生体内分布を研究した。Ｈ及びＥ染色は、研究した試験片のすべてにおいて横断面積の平均５０％になる、かなりの量の壊死を明らかにする。オートラジオグラフは、３種類の抗体のすべてに関して焦点的な、幾らか不均質な分布図を明らかにする。興味深いことには、$PSMA_{int}$及び$PSMA_{ext}$に対するMAbによる生体内分布図は、殆ど逆のパターン(reciprocal pattern)を示す。即ち、7E11(anti-$PSMA_{int}$)は、明白に、壊死部位への局在を好むが、J415及びJ591(anti-$PSMA_{ext}$)は、生存腫瘍部位内の明白な選択的蓄積を示す。^{131}I-J591を組織切片上で直接インキュベートした場合のex vivoオートラジオグラフィーは、均質な結合パターンを示した。

【０３４０】

結論

PSMA陽性LNCaP腫瘍における放射能標識J591及びJ415の局在は、非常に特異的である。これらの結果は、例えばdeJ591及びdeJ415のようなPSMA特異的インターナリジング抗体(internalizing antibodies)が、PSMA陽性腫瘍の治療のためにβ放射する放射性核種(^{131}I, ^{90}Y, ^{177}Lu) のデリバリーを目標とする新規な治療法の開発のための理想的なMAbでありうることを、明確に実証する。

【０３４１】

$PSMA_{ext}$に対するMAbは、7E11に対しては逆のパターンを有し、局在は生存腫瘍部位に集中した。7E11が充分に血管化した生存腫瘍部位を標的とすることができないことは、恐らく、ProstaScint（登録商標）が骨転移を造影することができないことを説明し、並びにRITトライアルでのその不成功を説明すると思われる。生存腫瘍を標的にすることによって、deJ591及びdeJ415のような、$PSMA_{ext}$に対するmAbは、より良好な治療効果を有する。さらに、それらが生存細胞を標的にすることができることは、骨髄中の充分に血管化された部位を局在化する(localize)、より充分な可能性を与える。

【０３４２】

実施例３．^{90}Y-DOTA-deJ591を用いる動物研究

in vitro及びin vivo動物モデルで、^{90}Y-DOTA-deJ591は実質的な抗腫瘍活性を実証している。これらの研究では、免疫不全“ヌード”マウスにPSMA発現ヒト前立腺癌細胞(LNCaP)を筋肉内移植した。幾つかの研究では、同じ動物の反対側の大腿部にPSMA不在ヒト前立腺癌系(PC3)を同時移植した。癌を約２週間の期間にわたって“定着”させ、この期間に、癌は血液供給を発達させて、さらなる増殖を可能にする。治療開始時に、癌移植片は平均すると直径１．０cm（又は動物体重の約５％）になる。

【０３４３】

４群のマウスに、１．３、３．７、５．５５又は７．４MBqの^{90}Y-DOTA-deJ591を単回注入した。１．３MBq投与量レベルでは、腫瘍増殖速度の最小の低下を含む混合反応が存在した。しかし、３．７～７．４MBqの投与量では、明白な抗腫瘍投与量－反応関係が見られた。３．７、５．５５及び７．４MBq投与量レベルでは、それぞれ、平均腫瘍容積の３０，５５及び９０％減少と、腫瘍再増殖の１０、３５及び６０日間の進行性投与量関連遅延が存在した。３．７～５．５５MBqを受容したマウスの７０％より多くが対照よりも有意に長く生存し、平均生存時間（MST)は、対照の４０日間に比べて、８０～１００日間まで増加した。

【０３４４】

３群のマウスは１．１１、２．２２又は３．３３MBqの^{90}Y-DOTA-huJ591を２８日間毎に３回投与で受容した。１．１１MBq投与量レベルでは、７５～８０日間に最小の腫瘍増殖が生じた。２．２２及び３．３３MBq投与量レベルでは、６０日目に平均腫瘍サイズの５０～７０％減少が生じ、その後、腫瘍サイズは徐々に増加した。１．１１及び２．２２MBq投与量レベルでは、対照群に比べてMSTが約２００％増加した（１２０日間対４０日間）。

【０３４５】

これらの研究は、^{90}Y-DOTA-deJ591治療動物の生残の有意な改良を確認する。PSMA不在癌は治療に反応せず、該治療の特異性を実証する。

【０３４６】

実施例４．^{177}Lu-DOTA-deJ591を用いる動物研究

^{177}Lu-DOTA-deJ591で治療された、LNCaP腫瘍を有するヌードマウスは、^{90}Y-DOTA-deJ591治療マウスと同様な反応を示した。この研究では、LNCaP腫瘍を有するマウス（３００～４００ｍｇ）を３群に分割した。対照群は治療を受けなかった。群２は２００μCiの^{177}Lu-DOTA-deJ591を受容し、群３は３００μCiの^{177}Lu-DOTA-deJ591を受容した。^{177}Lu-DOTA-deJ591は、投与量に依存した形式で、平均腫瘍質量を、この２種類の投与量レベルで８０～９７％減ずることができた。対照群は、腫瘍サイズの漸進的増加を示した、これは着実な体重損失を伴なった、該マウスは、低い体質量(body mass)のために５３日間までに殺した。２００μCiの^{177}Lu-DOTA-deJ591で治療されたマウスは、注入後２０日間までに

腫瘍収縮を示したが、その後に、幾つかの動物では腫瘍再増殖が見られた。同じ群はまた、注入後２０日目に、約９０％（基準重量の）の体質量最低を有し、その後、出発質量の１００～１０５％までの平均体重の着実な上昇を有した。９０日目に、１１匹のマウスのうちの４匹は触知可能な腫瘍を有さなかった。３００μCiの^{177}Lu-DOTA-deJ591で治療されたマウスは、注入後４０日間までに腫瘍収縮を有し、その後、幾つかの動物では腫瘍再増殖が見られた。同じ群はまた、注入後２０日目に、約９０％の体質量最低を有し、その後、出発質量の１０５～１１０％までの平均体重の着実な上昇を有した。９０日目に、１１匹のマウスのうちの５匹は触知可能な腫瘍を有さなかった。

【０３４７】

実施例５．^{131}I-J591（マウス）によるヒト試験；ホルモン非依存性患者における、モノクローナル抗体(mAb)に前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメイン($PSMA_{ext}$)を標的とさせるＩ相臨床試験

上昇するPSAレベルと、許容される血液学的機能、肝機能及び腎機能を有するホルモン非依存性患者は、マウスmAbJ591の単回投与量を受容した。投与量は、３～６患者の群において段階的に増加した（０．５～３００mg）。各投与量は、“冷(cold)”mAbにプラスして、トレーサーとして１０mCi^{131}Iヨウ素で標識されたJ591１．０mg以下を包含した。投与量レベルは、次のように０．５～３００．０mgの範囲であった：０．５mg、１．０mg、２．０mg、５．０mg、１０mg、２５mg、５０mg、１００mg、１２５mg、１５０mg、２００mg、２５０mg及び３００mg。血液及び尿を回収して、薬物動態、毒性及びヒト抗マウス抗体(HAMA)反応をモニターした。患者を注入日（０日）並びに２、４及び６日に造影して、mAbターゲッティングをフォローした。

【０３４８】

ホルモン非依存性前立腺癌を有する３３患者が、トレース標識^{131}I-J591のＩ相生体内分布試験に参加した。これらの患者は、各場合に10mCi^{131}Iとコンジュゲートした、０．５～３００．０mgの範囲内の投与量を受容した。疾病部位を慣用的研究（CT/MRI及び／又は骨スキャン）で造影された患者の約８０％において、前立腺癌転移の既知部位を造影することができる。軟組織及び骨部位の両方をmAbスキャンで可視化することができた。ターゲッティングは前立腺癌に特異的であり、非癌部位への明らかな局在化はなかった。^{131}I-mJ591の平均有効血清滞留時間は、４４．０時間（メジアン４７．４時間）であると測定された。評価可能な１６患者のうちの８人は、ヒト抗マウス抗体（HAMA)反応を発達させた。即ち、それらの免疫系は、マウス由来抗体の異物性を認識した。１患者のみが、マウス抗体に関連した不利なイベントを有した。この患者は、マウスmAbに対する重度なアレルギー（アナフィラキシー）反応を有し、これは、患者がそれで以前に治療された他の実験薬物の精製に用いられた、マウス抗体への以前（不明）の暴露によるものであると後に判明した。要約すると、３３患者をターゲッティングに関して評価した：３３患者のうちの２７人は陽性の骨スキャンを有し、２７人のうちの２４人（約９０％）は陽性のモノクローン抗体スキャンを有した；３３患者のうちの９人は陽性の軟組織（CTスキャン）を有し、これらの９人のうちの８人（約９０％）は陽性のモノクローン抗体スキャンを有した。

【０３４９】

マウス抗体を受容する大抵の免疫適合(immunocompetent)患者に生じるHAMA反応の発達は、異種由来抗体(foreign species-derived antibody)による反復治療を不可能にする。複数回治療を可能にするために、マウス抗体分子を、異種（マウス）アミノ酸配列を除去して、それらを遺伝学的に既知同種ヒト配列と置換する分子設計手法を用いて、“脱免疫化(de-immunized)”することができる。上述したように、マウスJ591は脱免疫化を受けて、“deJ591”を生じている。

【０３５０】

結論として、$PSMA_{ext}$に対するmAbは、骨及び軟組織の両方の播種性前立腺癌部位をin vivoで特異的に標的とし、有意な“不利”局在化及び有意な毒性を示さなかった。

【０３５１】

実施例６．^{90}Y-DOTA-deJ591を用いる単一ヒト患者研究

単一患者をmAb deJ591で治療した。この患者は、大きい低分化型前立腺癌を有し、多重コースの外部ビーム・ラジオグラフィー並びに多重形式のホルモン及び非ホルモン化学療法に失敗していた。該患者は個人患者用INDで治療され、５か月間のコースにわたって、１０mg～２００mgの範囲内のdeJ591投与量を全体で１２回受容していた。４回投与量（#１、３、６及び１１）を、薬物動態測定及び生体内分布のために^{131}ヨウ素及び^{111}インジウムのいずれかでトレース－放射能標識した。^{131}I-deJ591の平均有効血清滞留時間は、投与量に依存して、３１．９～５１．３時間の範囲であった。既知腫瘍部位への腫瘍局在化は、該５か月間にわたる放射能標識投与量の各々の後に良好であった。投与量１２回分(dose twelve)を、血液に１５０rad未満の線量をデリバリーするように算出した治療量の^{90}イットリウム（１９mCi)で放射能標識した。この線量は、FDAと相談して決定されたものであり、外部ビームによって及び^{131}ヨウ素によってデリバリーされる事前の放射能療法を考慮に入れたものであった。この患者では、検出可能なヒト抗脱免疫化(anti-deimmunized)抗体（免疫）応答は発生しなかった。該患者の血小板数は、^{90}Y－DOTA-deJ591投与後５週間目に６４，０００に低下し（正常：１５０，０００～３００，０００）（骨髄への照射(radiation)の予想結果として）、その後、正常レベルに自然に回復した。他の血液学的又は非血液学的毒性は生じなかった。該患者は副作用を経験しなかった。該患者のPSAは、deJ591-DOTA-^{90}Y投与時の６３から３６に減退した。腫瘍数又はサイズの測定可能な減少は生じなかった。この患者は、^{90}Y-DOTA-deJ591による治療開始後１１か月半で、彼の転移前立腺癌のために死亡した。

【０３５２】

実施例７．^{111}In-DOTA-deJ591によるヒト試験－前立腺特異的膜抗原／細胞外ドメイン(PSMAext)に対する^{111}インジウム標識脱免疫化モノクローナル抗体(mAb)deJ591のＩ相試験

この実施例は、この遺伝子操作されたmAbのmAbターゲッティング、毒性、薬物動態(PK)及び免疫原性（ヒト抗脱免疫化Ab)を評価するためのdeJ591の臨床試験の結果を述べる。deJ591は、抗体依存性細胞傷害性（ADCC)の強力な仲介体である。PSMAは腫瘍中に、但し、すべての癌の正常でない血管内皮に発現されるので、deJ591の診断的及び治療的有用性は前立腺癌を超えて他の癌にも及びうる。

【０３５３】

再発進行性前立腺癌を有する患者は、^{111}In-DOTA-deJ591の１週間毎に４回の投与を受けた。投与量は３患者ずつの群で段階的に増加し、６２．５～５００mg／m^2（総量）の範囲内であった。投与量レベルを表１６に示す。各投与量は、mAb-DOTAキレートを介して０．１～５mCi^{111}Inでトレース標識されたdeJ591　０．０２～１．０mgを包含し、投与量の残部は非標識deJ591から成った。初回投与後に、患者を注入日（０日目）、１、２、４及び７日目に造影した。

【０３５４】

【表１５】

表１６：^{111}In-DOTA-deJ591 投与量

投与量レベル	負荷投与量 (mg/m^2)	維持投与量 (mg/m^2)	総投与量 (mg/m^2)
1	２５	１２．５	６２．５
2	５０	２５	１２５
3	１００	５０	２５０
4	２００	１００	５００

^{111}In-DOTA-deJ591　１～２mg(０．２～１０mCi)、投与量の残部、“冷”deJ591として。

【０３５５】

血清PK、免疫反応及び毒性を、少なくとも１２週間にわたって、各投与後に評価した。

最初に１５患者がこの試験に参加した。１３患者は４回の計画投与量のすべてを受容した；２患者は１回以下の投与量を受容した。１患者は、迅速な注入速度のために、彼の初回注入の５分間中に低血圧になった。治療を完了しなかった第２患者は、もはや彼を試験適格者にしなかった、迅速な疾患進行のために１週間後に研究から離脱した。この後者の患者も残りの１３人の患者も、如何なる毒性及び副作用を経験しなかった。１３患者のうちの１０人は、陽性の骨スキャンを示し、１０人すべてが骨部位への優れたmAbターゲッティングを実証した。３患者は、CTスキャンによって測定されるような軟組織疾患を有し、２人はこれらの部位へのmAbターゲッティングを実証したが、^{111}In-DOTA-deJ591陰性であった第３患者は、１８か月間内にサイズを変化させなかった照射済み骨盤腫瘤(pelvic mass)を有した。非前立腺癌部位へのmAbターゲッティングは認められなかった。患者のいずれも該抗体に対する免疫応答を発生させなかった。deJ591の血漿半減期は投与量によって変化した。

【０３５６】

結論として、deJ591は非免疫原性であり、敏感にかつ特異的に骨及び軟組織を標的にする。

【０３５７】

実施例８．^{111}In-DOTA-deJ591によるヒト試験;ホルモン不応性(hormone refractory)前立腺癌のターゲッティング

この実施例は、ホルモン不応性前立腺癌を有する患者における、mAbターゲッティング、生体内分布及び薬物動態を評価し、このmAbによる放射免疫療法の抗体投与量を最適化するためのdeJ591の臨床試験の結果を述べる。

【０３５８】

ホルモン不応性前立腺癌を有する２６患者に、１８５MBqの^{111}In-DOTAで標識されたdeJ591　２０mgから成る^{111}In-DOTA-deJ591の単回投与量を注入した。すべての患者は^{111}In-DOTA-deJ591注射の０日（注射日）、３及び６日目に全身及びSPECTイメージングを受けた。^{111}In-DOTA-deJ591イメージング結果を、CT、MRI及び骨スキャンと比較した。すべての患者は３回の連続測定で上昇するPSAレベルを示した。

【０３５９】

２６患者のうちの２２人は、ルーチンのイメージング理学療法で造影可能な疾患を有し、４患者は造影可能な疾患を有さなかった。イメージング・データは、造影可能な疾患を有した２２人の患者のうちの１６人（７２．７％）における^{111}In-DOTA-deJ591腫瘍ターゲッティングを明らかにした。ターゲッティングは３日目に最も良く見られた。SPECTイメージングで、付加的な（未知）部位は検出されなかった。標的転移部位は、１２患者では骨又は骨髄中に、２患者では軟組織中に、２患者では骨及び軟組織の両方に存在した。

【０３６０】
^{111}In-DOTA-deJ591イメージングは、造影可能な疾患を有した２２患者のうちの４人（１８％）では偽陰性であった。非標的転移部位は、３患者では軟組織中に、１患者では骨及び軟組織の両方に存在した。
【０３６１】
前立腺中の^{111}In-DOTA-deJ591の蓄積は、無傷であるが照射された前立腺を有する患者では一般に最少であった。生理的部位のなかで、最高の取り込みは肝臓中で観察され、６日目に取り込みは２７±１．７％であった。肝臓によって吸収された線量は、^{111}Inでは２．８±０．２５rad/mCiであり、^{90}Yでは２０．１±２．１rad/mCiであった。^{111}In-DOTA-deJ591 の血漿クリアランス(T１／２）は、３４±５時間であった。
【０３６２】
^{111}In-DOTA-deJ591は、ホルモン不応性前立腺腫瘍を特異的に標的とし、放射線又はサイトトキシンによってホルモン不応性進行前立腺癌を標的とするための効果的なビヒクルである。
【０３６３】
実施例９．^{111}In-DOTA-deJ591又は^{177}Lu-DOTA-deJ591によるホルモン不応性前立腺癌のターゲッティング
^{111}In-DOTA-deJ591に関して実施例８で述べたような、^{177}Lu-DOTA-deJ591によるイメージング研究は、同様な結果を生じている。次の概要は、^{177}Lu及び^{111}Inに関して得られた結果の組み合わせを表す。
【０３６４】
ホルモン不応性前立腺癌を有する３９患者は、これまでに、deJ591を用いた幾つかの臨床試験のいずれかに参加していた。^{111}In標識deJ591又は^{177}Lu標識deJ591のいずれかによる核イメージングを、各試験の初期段階として行なった。γエミッターである^{111}Inを、“裸の”mAbのトレーサーとして、又は^{90}Y(放射性核種スキャンで造影しない、純粋なβエミッター）の投与前の代理イメージング剤として用いた。^{177}Luはγ及びβ粒子の両方を放出し、直接のイメージングを可能にするので、^{177}Luをイメージング剤及び治療剤の両方として用いることができる。抗体スキャンを、各患者に対して得られた標準イメージング研究（骨、CT又はMRスキャン）と比較して、転移部位へのdeJ591ターゲッティングの基礎的感度、特異性及び精度を評価した。骨転移及び軟組織転移を独立的に評価した。
【０３６５】
骨転移に関しては２３患者で、軟組織転移に関しては２５患者で結果が得られている。１５患者が骨スキャンで骨転移を有し、該骨転移は１２患者（８０％）においてdeJ591によって正確に標的とされた。これらの１２患者において、骨スキャンで見られたすべての癌病巣は、deJ591スキャンで確認された。陰性骨スキャンを有する７患者のすべてが、deJ591スキャンで陰性であった（１００％特異性）。軟組織転移に関しては、慣用的なイメージングで軟組織腫瘤(soft tissue masses)を有する９患者のうちの８人が、deJ591を用いた正確なターゲッティングを実証した（８９％）。１人の偽陰性患者は、mAbスキャンで見られなかった、８mmと測定された後腹膜アデノパシーを有したが、その骨病巣はすべて標的とされた。立証された軟組織転移を有さない１５患者は、陰性のmAbスキャンを有した（１００％）。mAbスキャンで確認された病巣以外に初期標準イメージングで軟組織転移を有さない１患者は、その後に、標準イメージングで陽性であると判明した。全体的に見て、軟組織転移及び骨転移に関して標準イメージングとmAbスキャンとの間には９１％一致が存在した。
【０３６６】
deJ591は、大多数の患者において、既知骨転移又は軟組織転移を正確に標的とした。さらに、これまでは未検出の１転移部位が、mAbスキャンで実証され、後に、CTイメージングで確認された。deJ591は、転移前立腺癌病巣に対する、非常に敏感で、特異的な作用剤である。
【０３６７】

実施例１０．^{90}Y-DOTA-deJ591によるヒト試験;再発した前立腺癌を有する患者における脱免疫化mAb deJ591-DOTA-^{90}YttriumのＩ相試験

再発性／再発した前立腺癌を有する患者の^{90}Y-DOTA-deJ591療法の投与量段階的上昇のＩ相試験を行なった。投与量は５mCi/m^{2}から開始し、３～６患者の群に対して＋２．５～５mCi/m^{2}の増分で段階的に上昇させた。この研究の設計は次のように要約される：^{111}In-DOTA-deJ591の生体内分布を測定し、関連した用量決定を行なうために、該抗体を患者に投与し、７～１０日後に、^{90}Y-DOTA-deJ591を５．０、１０、１５、１７．５及び２０mCi/m^{2}で投与した。すべての投与は、約５mg/分の速度で静脈内注入で行なった。deJ591-DOTAを、^{90}Yの所定投与量に達するために３～５mCi-^{90}Y/mg抗体の比活性で標識し、残部は“冷”deJ591で総deJ591　２０mgにした。投与量は、投与量レベルの間に６～８週間を置いて投与した。^{90}Y-DOTA-deJ591のその後の投与が考慮された。

【０３６８】

この試験のための対象は、最終的療法（例えば、手術及び／又は照射）後に再発した前立腺癌を有し、彼らのために治療的標準療法は存在しない。

この試験の目的は、（１）再発性及び／又は転移性前立腺癌を有する患者における脱免疫化モノクローナル抗体(mAb)、deJ591-DOTA-^{90}イットリウム(^{90}Y)の反復（分割）投与量の毒性及び最大耐量(maximum tolerated dose)(MTD)を明確にすること；（２）deJ591-DOTA-^{90}Yの薬物動態を明確にすること；（３）deJ591-DOTA-^{90}Yに対するヒト抗脱免疫化抗体免疫応答を明確にすること；及び（４）deJ591-DOTA-^{90}Yの反復（分割）投与量の予備効力(preliminary efficacy)（反応率）を明確にすることである。

【０３６９】

治療プロトコール

^{90}Y-DOTA-deJ591の結果として２度以上のアレルギー反応を発生させた患者は、もはやDOTA-deJ591を受容せず、毒性に関してフォローされることになる。

【０３７０】

患者をdeJ591-DOTA-^{90}Y投与後少なくとも１２週間フォローした。患者の疾患が彼の最後の投与後１２週間目に安定であった又は反応した場合には、患者を悪化するまでフォローした。

【０３７１】

フォローアップ研究は、以下の表１７に示した、指定時間における情報を集めることから成るものであった。

【０３７２】

【表１６Ａ】

表１７：フォローアップ分析

医療歴	治療日、１、２、４、６、８及び１２週間目、その後、悪化まで１２週間毎
身体検査（集中的）	治療日、１、２、４、６、８及び１２週間目、その後、悪化まで１２週間毎
動作状態(performance status)	治療日、１、２、４、６、８及び１２週間目、その後、悪化まで１２週間毎
PSA、PAP、アルカリホスファターゼ	治療日、１、２、４、６、８及び１２週間目、その後、悪化まで１２週間毎
テストステロン	４週間目、その後、悪化まで６か月間毎
ヒト抗脱免疫化Ａｂ	治療日、２、４、８及び１２週間目
CBC、示差(differential)、血小板カウント	治療日、１、２、２．５、３、３．５、４、４．５、５、５．５、６及び８週間目、その後、安定まで４週間毎、次に、悪化まで１２週間毎。ANC＜１０００及び／又は血小板＜５０，０００の場合には、日毎に(qod)モニターする。
電解質、BUN、クレアチニン	治療日、１、２、４及び８週間目、次に、安定まで４週間毎、次に、悪化まで１２週間毎。
総タンパク質、アルブミン、ビリルビン、GGTP、AST、ALT、LDH	治療日、１、２、４及び８週間目、次に、安定まで４週間毎、次に、悪化まで１２週間毎。
尿検査	治療日、１、２、及び４週間目、次に、正常又はベースラインでないかぎり、４週間毎。
CT 又は MRI	１２週間目、次に１２週間毎（参加時に測定可能若しくは評価可能な疾患が存在する場合及び／又は患者が“反応者”として分類される場合）。
骨スキャン	１２週間目、次に１２週間毎（参加時に評価可能な疾患が存在する場合及び／又は患者が“反応者”として分類される場合）。

【０３７３】

【表１６Ｂ】

CXR	１２週間目、次に１２週間毎（参加時に疾患が存在する場合）
重量	治療日、１、２、４、８及び１２週間目、次に、悪化まで１２週間毎
食欲	治療日、１、２、４、８及び１２週間目、次に、悪化まで１２週間毎
骨痛覚	治療日、１、２、４、８及び１２週間目、次に、悪化まで１２週間毎
鎮痛薬摂取	治療日、１、２、４、８及び１２週間目、次に、悪化まで１２週間毎

【０３７４】

薬物動態：

^{111}In -DOTA-deJ591の注射後、１０分間、１、２、４、２４時間並びに２、３、４及び７日目に血液サンプルを得た。血液アリコートを既知^{111}In標準と共に測定することによって、血液中注入量％（%I.D.)を算出した。^{90}Y- DOTA-deJ591後に、同じ間隔を置いて、同様な血液サンプルを採取した。血液アリコートを既知^{111}In又は^{90}Y標準と共に測定することによって、血液中の%I.D.を算出した。

【０３７５】

毒性

NCI CTEP Common Toxicity Criteria (CTC),version2 (April, 1999)を用いた。CTEPはCTCを標準化しているので、NCIは、この資料にCTCを含めることを必要としない。すべての治療領域は、CTC version 2.0のコピーにアクセスすることができる。コピーをCTEPウェブサイトからダウンロードすることもできる。

【０３７６】

投与量限定毒性(dose limiting toxicity)(DLT)の定義

血液学的毒性：４度顆粒球減少症［ANC＜５００/mm^2］；４度血小板減少症［血小板数＜１０，０００／mm^2]；又はCTCによって定義されるような、熱性好中球減少症若しくは好中球減少性感染症。他の毒性：^{90}Y-DOTA-deJ591に帰因する３度以上の非血液学的毒性。

【０３７７】

最大耐量(MTD)の定義

０／６又は１／６患者がDLTを経験し、次に高い投与量レベルを有する２患者以上がDLTを経験する投与量レベルとしてMTDが定義される。MTDにひと度達したならば、その投与量で少なくとも６患者を評価して、投与計画の毒性及び^{90}Y-DOTA-deJ591の薬物動態をより良好に決定すべきである。

【０３７８】

アレルギー・イベントは次のように管理される：発疹、心因性掻痒症、蕁麻疹及び喘鳴は、臨床的な必要に応じて、ベナドリル及び／又はステロイドで治療される。アナフィラキシー又はアナフィラキシー様徴候若しくは症状は、臨床的な適応に応じて、ステロイド及び／又はエピネフリンによって治療することができる。

【０３７９】

研究のためのみの特異的介入(specific interventions)

mAbの薬物動態及び生体内分布を明確にするためのdeJ591の実際の投与及び関連研究の他に、行なわれた他の介入(実験(labs)、イメージング研究、事務所訪問）は標準的手段である。実験室試験の幾つかは、通常、前立腺癌のセッティング(setting)（例えば、免疫反応レベル）では行なわれない。他の実験室及びラジオグラフィー手段は、前立腺癌を有する患者の管理では標準的であるが、通常よりも大きな頻度で行なうことができる。

【０３８０】

治療反応の基準

前立腺癌の進行は、PSAレベルの上昇、骨スキャンでの新しい病巣、新しい疾患関連症状、及び頻度は低いが、測定可能な軟組織腫瘤サイズの増大によって明らかになる。反応は一般に、生化学的に（PSA変化）又は測定可能な病巣（単数又は複数）のサイズ変化によって評価される。

【０３８１】

生化学的(PSA)反応は、治療後の最低(nadir)PSAレベルを、治療開始直前に測定されたベースライン治療前PSAと比較することによって判定することができる。＞５０％の減少が多くの研究者によって実証されており(Petrylak, D.P. et al. (1992) Cancer 70:2870-78; Kelly W.K., et al. (1999) J Clin Oncol 11:607-15; Kantoff P.W., et al. (1999) J Clin Oncol 17:2506-13, 1999; Smith, D.C., et al. (1998) J Clin Oncol16:1835-43)、改良された生残と関連づけられている。さらに、Scher等(Scher H.I., et al. (1999) JNCI 91:244-51)は、治療開始後８週間又は１２週間目に低下する又はベースラインからの増加を示さないPSAが、治療にも拘わらずそのPSAが上昇する患者に比べて、改良された生残と相関することを実証している。

【０３８２】

測定可能な疾患を有する患者では：完全な反応は、物理的検査又はイメージング研究による、すべての測定可能な病巣の完全な消失と、２か月間以上新たな病巣が出現しないこととして定義される。部分的反応：すべての測定可能な病巣の最長垂線直径の積の合計の５０％以上の減少として定義される。新たな病巣は生じえない。安定な疾患：部分反応の基準を満たさず、２か月間以上進行性疾患の徴候を示さない患者。進行性疾患は、インジケータ病巣の最長垂線直径の積の合計の２５％を超える増加、新たな病巣の出現又は治療前ベースラインを超える前立腺特異的抗原の上昇として定義される。

【０３８３】

反応の持続期間：典型的に、悪化(progression)の最初の徴候は、血清PSAの上昇である。この試験では、反応の持続期間は、治療開始(^{90}Y-DOTA-deJ591)から、PSAの確認された上昇、測定可能な病巣（単数又は複数）の拡大、又はイメージング研究での新たな病巣のいずれかによって悪化が実証されるまでの時間間隔である。PSA上昇は、第２のPSA連続上昇によって確認されなければならず、持続期間は、治療開始から、最初のPSA上昇のときまでとして定義される。

【０３８４】

結果：

２０患者がこのプロトコールによって治療されており、この２０人のうちの１９人を現在評価することができる。２０患者のすべてが１つ以上の形式のホルモン療法に失敗しており、２０患者のうちの１１人は少なくとも１つの化学療法計画に失敗していた。その上、患者のすべてが上昇するPSAレベル及び１５０，０００の最小血小板数を有した。

【０３８５】

血液化学、血液学及びPSAレベルを１２週間以上モニターした。血液化学、又は肝臓若しくは腎臓機能に顕著な変化は見られなかった。血小板及び白血球レベルに血液学的変化は、すべての投与量レベルで見られなかった。毒性は用量依存性であり、可逆的な骨髄抑制（本来の血小板減少症）に限定された。３～４度の血小板減少症が１５～２０mCi/m^{2}で見られた。最大耐量は、２０mCi/m^{2}以下であると推定された。^{111}In-deJ591イメージング研究に基づいた^{90}Y-deJ591線量測定推定値は、肝臓、腎臓、脾臓及び骨髄への器官線量が、それぞれ、２０、１９，１８及び１．７rad/mCiであることを示唆する。如何なる患

者も免疫反応を発生させなかった。

【０３８６】

用量依存性の抗腫瘍効果が認められた。最初の２線量レベル（５mCi/m^2及び１０mCi/m^2)では、１１患者のうちの５人（４５％）は、治療にも拘わらず、上昇し続けるPSA値を有したが、１１患者のうちの６人（５５％）はPSAレベルの平均２３％低下に達した。１５mCi/m^2では、４患者のうちの１人（２５％）が悪化したが、４患者のうちの３人（７５％）はPSAレベルの平均２５％低下に達した。２０mCi/m^2では、４患者のすべてがPSAレベルの平均４２％低下に達した。これらの４患者のうちの２人は、図１３Ａ及びＢに示すように、３か月を越えて続く７０～８５％のPSA低下を示す。PSA最低に達するまでの平均時間は治療後７週間（範囲：２～１３週間）であった。これらの患者には、測定可能な反応も見られている。PSAレベルが８５％低下した患者は、多発性軟組織転移の９０％収縮を有した。PSAが７０％低下した患者は、４０％という軟組織疾患の測定可能な軽減を有した。

【０３８７】

結論：

^{90}Y-DOTA-deJ591は、非免疫原性であり（これは反復治療を可能にする）、毒性は用量依存性の可逆的骨髄抑制に限定されている。重要なことには、^{90}Y-DOTA-deJ591は、進行した前立腺癌を有する患者において用量依存性の抗腫瘍効果を有した。Ｉ相データは、^{90}Y-DOTA-deJ591の単回投与(２０mCi/m^2以下）が、前立腺癌の治療のための最適の線量計測法によって安全であることを示唆している。さらに、線量計測法推定値は、多重投与も安全であることを示している。

【０３８８】

実施例１１．^{90}Y-deJ591を受容した前立腺癌患者におけるPSA反応の徴候

^{90}Y-DOTA-deJ591を受容した２患者は、放射能標識J591による治療前に上昇するPSAレベルを有した(図１３Ａ及び１３Ｂ参照）。プロット上のX軸は時間（日数）を表す。この軸上の負数は、J591治療前の日数を示す。“０”時点で、患者は治療のための^{90}Y-J591を受容した。グラフは、治療前の急激に上昇するPSAが数週間の治療内に鋭敏なターンをして、その後の長期間（少なくとも１０週間）安定になることを実証する。PSAレベルの安定性は、進行性疾患が進行を停止したことを示唆する。高線量の放射能標識J591は、疾患負担の軽減及び／又は腫瘍増殖速度の停止の延長をもたらすことができる。さらに、反復投与も、腫瘍負担の絶対的減少並びに腫瘍増殖速度の停止の実質的延長をもたらすことができる。

【０３８９】

実施例１２．^{177}Lu-DOTA-deJ591によるヒト試験；再発前立腺癌を有する患者における脱免疫化mAb deJ591-DOTA-^{177}ルテチウムのＩ相試験

この実施例は、最終的療法（例えば、手術及び／又は照射）後に再発した前立腺癌を有する及び／又はホルモン非依存性であり、彼らのために標準療法が存在しない対象の臨床研究を述べる。これらの患者のための治療的療法は現在存在しない。その上、この実施例は^{177}Lu標識deJ591を主として扱う。^{177} Luは、β－エミッター及びγ－エミッターの両方である。このようなものとして、^{177}Luは放射線療法及びイメージングの両方に用いることができる。

【０３９０】

この試験の目的は、（１）再発性及び／又は転移性前立腺癌(Pca)を有する前立腺癌患者における脱免疫化モノクローナル抗体(mAb)、deJ591-DOTA-^{177}ルテチウム(^{177}Lu)の毒性及び最大耐量(MTD)を明確にすること；（２）deJ591-DOTA-^{177}Luの薬物動態を明確にすること；（３）deJ591-DOTA-^{177}Luの生体内分布及び線量測定を明確にすること；（４）deJ591-DOTA-^{177}Luに対するヒト抗脱免疫化抗体（免疫）応答を明確にすること；及び（５）deJ591-DOTA-^{177}Luの予備効力（反応率）を明確にすることである。

【０３９１】

治療プロトコール：

患者は、５mg/分以下の注入速度で投与されるdeJ591-DOTA-^{177}Luの投与量を受容した。deJ591の総投与量は、依然として１０mg/m^{2}に固定されたままであった。^{177}Lu線量(mCi/m^2)は、各線量レベルに関して３～６患者の群で段階的に上昇した（以下の表１５参照）。DeJ591-DOTA-^{177}Luは、所定の線量の^{177}Luに達するように３～１０mCi/mg抗体の比活性で標識したものであり、残部は“冷”deJ591で１０mg/m^{2}総deJ591までにした。線量の段階的上昇(escalation)は、現行の線量レベルで少なくとも３患者が重篤な血液学的毒性なく６週間以上フォローされるまで、保留された。１つの線量レベルで最初の３患者のいずれかが６週間までに１度又は２度の血液学的毒性を経験する場合には、回復が始まるまで、又は８週間のさらなるモニターリングと毒性評価が行なわれるまで、段階的上昇は保留された。いずれかの患者が３度又は４度の血液学的毒性を経験する場合には、少なくとも６患者を該線量レベルで参加させて、段階的上昇の前に、少なくとも８週間又は回復が始まるまでフォローする必要があった。いかなる時にも、２例の線量限定毒性(dose-limiting toxicity)が特定の線量レベルで見られた場合には、該線量レベルでのさらなる参加は停止される。このような場合には、MTDの決定を助けるために、先行線量レベルに少なくとも６患者を参加させるべきである（以下の“毒性”項参照）。

【０３９２】

^{177}Lu -DOTA-deJ591の受容中に２度以上のアレルギー反応を発生させた患者は、もはやdeJ591を受容せず、毒性に関してフォローされた。

【０３９３】

【表１７】

表１８：

線量レベル	総 deJ591★	^{177}Lu 線量
1	１０mg/m^2	１０mCi/m^2
2	１０mg/m^2	１５mCi/m^2
3	１０mg/m^2	３０mCi/m^2
4	１０mg/m^2	４５mCi/m^2
5	１０mg/m^2	６０mCi/m^2
6	１０mg/m^2	７５mCi/m^2
7	１０mg/m^2	９０mCi/m^2
8	１０mg/m^2	１０５mCi/m^2

★３～１０mCi/mg の比活性での deJ591-DOTA-^{177}Lu と、“冷” deJ591 による、総１０mg/m^2 までの残部とから成る。

【０３９４】

deJ591-DOTA-^{177}Lu投与後、患者を少なくとも１２週間フォローした。この治療後１２週間目に患者の疾患が安定であるか又は反応している場合には、悪化するまで患者をフォローした。

【０３９５】

表１６に記載したものを除いて、フォローアップは表１４に上述した通りであった。

【０３９６】

【表１８】
表１６

ヒト抗脱免疫化Ａｂ	deJ591-DOTA-^{177}Lu 治療日、治療後１、２、４、８及び１２週間目、次に、悪化まで１２週間毎。
Chem-7（電解質、BUN、クレアチニン、グルコース包含）	deJ591-DOTA-^{177}Lu 治療日、治療後１、２、４及び８週間目、次に、安定まで４週間毎、次に悪化まで１２週間毎。
肝臓パネル(アルブミン、ビリルビン(tot & dir)、AST、ALT、アルカリホスファターゼ包含)	deJ591-DOTA-^{177}Lu 治療日、治療後１、２、４及び８週間目、次に、安定まで４週間毎、次に悪化まで１２週間毎。
LDH	deJ591-DOTA-^{177}Lu 治療日、治療後１、２、３及び８週間目、次に、安定まで４週間毎、次に悪化まで１２週間毎。

【０３９７】
^{177}Lu-deJ591イメージング：
注入後１時間以内（０日目）及びその後２週間内の付加的な少なくとも５時点（例えば、１、３、５、１０及び１５日目）で、全身画像を得た。適当なコリメーターを装備したデュアル・ヘッドＡＤＡＣガンマカメラを用いて、ガンマカメラ画像を得た。主要器官（心臓、肝臓、脾臓、腎臓、骨髄、ＧＩ管及び膀胱）中の注入線量％（％I.D.)を、問題の領域(regions of interest)(ROI)を描画して(drawing)、各器官の相対的カウント及び各器官からのウォッシュアウトの動力学(kinetics of wash out)を測定することによって算出した。時には、ＳＰＥＣＴ研究を腹、骨盤及び／又は転移病巣が疑われる領域に対して行なった。可能な場合には、^{177}Luの既知標準を用いて、腫瘍塊１g当りの注入線量％を算出した。
【０３９８】
毒性：
NCI CTEP Common Toxicity Criteria (CTC), version 2 (April, 1999)を用いた。CTEPはCTCを標準化しているので、NCIは、この資料内にCTCを含めることを必要としない。 すべての治療領域をCTC version 2.0のコピーにアクセスさせる。コピーをCTEPウェブサイトからダウンロードすることもできる。
【０３９９】
３～６人の患者が各線量レベルに参加した（又は参加することになる）。投与量の段階的上昇は、現行レベルで少なくとも３患者が血液学的毒性なく６週間フォローされるまで、抑制された。ある一定投与量レベルで初期３患者のいずれかが６週間までに１度又は２度の血液学的毒性を経験する場合には、さらに毒性を評価するまで、８週間まで段階的上昇を抑制する。いずれかの患者が３度又は４度の血液学的毒性を経験する場合には、少なくとも６患者が該投与量レベルで参加して、段階的上昇の前に、少なくとも８週間フォローされなければならなかった。いずれにせよ、３度又は４度の毒性の２例が特定の投与量レベルで観察された場合には、該投与量レベルでのさらなる参加は停止されることになる。
【０４００】
投与量限定毒性(DLT)の定義：

血液学的毒性：７日間を超える４度の顆粒球減少症（ANC＜５００μｌ）又は４度の血小板減少症（血小板＜１０，０００）。他の毒性：^{177}Lu-DOTA-deJ591に帰因する、３度以上の非血液学的毒性。

【０４０１】

不利なイベントの定義：

不利なイベントとは、原因作用に関係なく、臨床試験中又は治療後４週間に被検患者(research partient)における不都合な医学的発生として定義される。これは、臨床的若しくは実験室的所見、併発性疾患又は、参加の時点（ベースライン）で存在する疾患若しくは状態の憎悪若しくは悪化を包含する。不利なイベントは、重篤な基準（以下参照）のいずれをも満たさない場合には、重篤ではない。

【０４０２】

原因作用／帰因

すべての臨床的不利なイベント及び異常な実験的値を、実験的作用因子に対する可能な関係に関して評価した。原因作用／帰因の下記カテゴリー：明確、推定、可能、見込みなし、及び無関係を用いる。

【０４０３】

ベースラインにおいて存在し、実験的療法中に重症度及び頻度において変化しなかった、及び／又は基礎的疾患に妥当に帰因することができる、臨床的に重要である、異常な臨床検査室値を治験担当医師(investigator)が評価し、“無関係”カテゴリーに記録した。それ故、このようなイベントを、この作用剤の安全性の評価に考慮しなかった。

【０４０４】

先在状態：

この試験では、先在状態（即ち、不利なイベントを報告する期間が始まる前に存在する障害）は、状態が悪化しない限り又は不利なイベントを報告する期間中にエピソードの頻度が増加しない限り、不利なイベントとして報告しない。

【０４０５】

不利なイベントの定義：

各不利なイベントは、重篤な又は非重篤な、及び予測された又は予測されないとして分類した。不利なイベントは、それが死亡を生じた；それが生命をあやふくした（即ち、対象を死の直接の危険にさらした、遭遇された不利なイベント；より重症になった場合に、仮説的に死を生じたと思われる不利なイベントには該当しない）；それが入院(in-patient hospitalization)を必要とした又は延長した；それが持続の又は重大な障害又は無能を生じた；及びそれが先天的な異常／先天性欠損を生じた場合には、重篤として分類された。

【０４０６】

等級(grading)

毒性には、Common Toxicity Criteriaスケール又は下記を用いた、０～４のスケールで等級を付けた：

（１）０＝非毒性。

（２）１＝弱毒性、通常一過性、特別な治療を必要とせず、一般に患者の活動を妨害しない。

（３）２＝簡単な治療手段によって改良することができる、中程度の毒性；通常の活動を損なう。

（４）３＝治療の介入を必要とし、通常の活動を妨害する、重度の毒性；入院を必要とすることもしないこともある。

（５）４＝入院を必要とする、生命をあやふくする毒性。

（６）５＝致命的毒性。

【０４０７】

治療反応の基準：

前立腺癌は、PSAレベルの上昇、骨スキャンでの新しい病巣、新しい疾患関連症状及び

頻度は低いものの、測定可能な軟組織腫瘤サイズの増大によって明らかになる。反応は、一般に、生化学的に（PSA変化）又は測定可能な病巣（単数又は複数）のサイズの変化によって評価される。

【０４０８】

生化学的(PSA)反応は、上述したように評価した。測定可能な疾患を有する患者において：完全な反応は、物理的な検査又はイメージング研究による、すべての測定可能な病巣の完全な消失と、２か月間を越えて新しい病巣の出現のないこととして定義される。部分的反応は、すべての測定可能な病巣の最長垂線直径の積の合計の５０％以上の減少として定義される。新しい病巣は存在しえない。安定な疾患：部分的反応の基準を満たさず、２か月間を越えて進行性疾患の徴候のない患者。進行性疾患は、測定不能な(immeasurable)病巣の最長垂線直径の積の合計の２５％を超える増加、新しい病巣の出現又は治療前ベースラインを超える前立腺特異的抗原の増加として定義される。

【０４０９】

反応の持続期間：　通常、悪化の第１徴候は、血清PSAの上昇である。この試験では、反応の持続期間は、治療開始から悪化がPSAの上昇、測定可能な病巣（単数又は複数）の拡大又は骨スキャンでの新しい病巣（単数又は複数）によって立証されるまでの時間間隔である。PSA上昇は、PSAの第２連続上昇によって確認されなければならず、持続期間は治療開始からPSAの最初の上昇までの時間として定義される。

【０４１０】

結果：

CT/Boneスキャンで立証された前立腺癌病巣とPSAレベル上昇とを有するホルモン不応性患者を、Ｉ相線量段階的上昇(１０～７５mCi/m^2)研究に参加させた。すべての患者が１種類以上のホルモン療法に失敗していた。

【０４１１】

現在まで、１９患者（３群の患者、３～６人／群）が^{177}Lu-DOTA-deJ591 (10 mg/m^2)を受容した。各群が異なる線量の^{177}Lu-DOTA-deJ591:１０、１５、３０、４５又は６０mCi/m^2(それぞれ、０．３７、０．７４、１．１１、１．４８又は１．８５GBq)を受容した。血液サンプルを２週間採取し、同じ２週間に５回イメージング研究を行なった。血液化学、血液学及びPSAレベルを３か月間以上モニターした。

【０４１２】

イメージング研究は、^{177}Lu-DOTA-deJ591の特異的腫瘍局在化を示した。４患者が、^{177}Lu-DOTA-deJ591イメージングで実証され、その後に慣用的なイメージングによって確認された、以前には未認識の転移巣を有した。線量測定推定値は、肝臓が７．６±３．３rad/mCiを受容した決定的な器官であることを示す。血液放射能(blood activity)に基づく骨髄への線量は０．７rad/mCiである。^{177}Lu-DOTA-deJ591の血漿 T1/2は、４３±１１時間であった。血液化学、肝機能及び腎機能に有意な変化は見られなかった。種々な線量レベルで血液学的変化が観察されたが、６０mCi/m^2 線量レベルにおいてさえも、重大な毒性は見られなかった。

【０４１３】

研究に参加した、最初の９患者は、^{177}Lu-DOTA-deJ591の線量を１０mCi/m^2(３患者)、１５mCi/m^2(３患者)及び３０mCi/m^2(３患者)のレベルで受容した。すべての患者が１種類以上のホルモン療法に失敗しており、１患者（１７％）は少なくとも１つの化学療法計画に失敗していた。毒性は最低であり、２度又は３度の不利なイベントを有する患者はなく、毒性は、可逆的な骨髄抑制、本来の血小板減少症に限定された。いずれの患者も^{177}Lu-DOTA-J591に対して免疫反応を発生させなかった。

【０４１４】

これらの最初の９患者には、線量関連抗腫瘍効果が認められた。１０mCi/m^2 線量レベルでの治療後に、２患者は、治療にも拘わらず上昇し続けるPSAレベルを有し、残りの患者はPSAレベルの安定化を示した。１５mCi/m^2では、２患者がPSAレベルの３５％の平均低下を有し、１患者のPSAレベルは治療にも拘わらず進行した。PSAの最低値に達するまでの

平均時間は、治療後４週間であった（範囲：２～６週間）。PSAレベルの低下を示し、測定可能な疾患を有さなかった３患者のうちの１人は、治療後１８週間目にもPSAレベルの５０％低下を有し続けた（図１４参照）。これらの患者の一部は、現在、再治療されており、^{177}Lu-DOTA-deJ591の少なくとも３回投与を受けている。

【０４１５】

結論：

^{177}Lu-J591は非免疫原性（これは、反復治療を可能にすると考えられる）であり、これまで用いられた投与量において低毒性を有する。^{177}Lu-J591は、進行した前立腺癌を有する患者において用量関連抗腫瘍効果を有する。約２０mCi/m^{2}であると推定される最大耐量を有する^{90}Y-DOTA-deJ591とは対照的に、^{177}Lu-DOTA-deJ591は３０mCi/m^{2}線量レベルにおいても安全である。^{177}Lu-DOTA-deJ591は、^{131}I-DOTA-deJ591(in vivoで脱ハロゲン化され、取り込まれるmAbのためには理想的ではない）及び^{90}Y-DOTA-deJ591の両方に関連した欠点を除去するように思われる。腫瘍組織中の^{177}Lu-DOTA-deJ591の長い滞留時間も、抗腫瘍反応を増強することができる。

【０４１６】

実施例１３．非前立腺癌のイメージング

免疫組織化学的研究は、前立腺上皮細胞の他に、無数の充実性腫瘍の血管内皮細胞によってもPSMAが発現されるが、良性組織における正常な血管内皮によっては発現されないことを示す。上述したように、PSMAのこの発現パターンは、実際にあらゆる充実性腫瘍において生じる。

【０４１７】

血管傷害性療法のための治療剤としての^{111}In-DOTA-deJ591の価値を評価し、^{111}In-DOTA-deJ591の毒性及び最大耐量を特徴付け、^{111}In-DOTA-deJ591の薬物動態及び生体内分布を測定し、免疫原性に関して評価するために、^{111}In-DOTA-deJ591のIRB認可Ｉ相用量段階的上昇試験を開始した。適格な患者は、その腫瘍タイプが新生脈管構造(neovasculate)上にPSMAを発現することが知られている難治性充実性腫瘍悪性度(refractory solid tumor malignancies)を有する患者である。

【０４１８】

１５患者が５mg（３患者）、１０mg（６患者）又は２０mg（６患者）の^{111}In-DOTA-deJ591を受容し、１４日間後に第２回投与量を受容した。

該研究に参加した患者は、８人の腎細胞癌患者、４人の膀胱癌患者、２人の結腸癌患者、及び１人の膵臓癌患者を包含した。すべての患者が、^{111}In-DOTA-deJ591注入から０日目（注入日）、２、５及び７日目に全身及びSPECTイメージングを受けた。^{111}In-DOTA-deJ591イメージング結果をCTスキャン及び骨スキャンと比較した。

【０４１９】

イメージングデータは、１５患者のうちの１０人（腎細胞癌７人、膀胱癌２人、及び結腸癌１人）における^{111}In-DOTA-deJ591腫瘍ターゲッティングを明らかにした。ターゲッティングは２日目及び５日目に最も良く観察され、デリバリーされた抗体質量(anbody mass)に無関係であった。SPECTで付加的部位は検出されなかった。標的転移部位は、肺、大腿部、腹膜後、及び頚部リンパ節を包含した。１患者（腎細胞癌を有する）における脳転移が、^{111}In-DOTA-deJ591イメージングによって最初に検出され、後にMRIによって確認された。^{111}In-DOTA-deJ591イメージングは、１５患者のうちの５人（膀胱癌２人、結腸癌１人、膵臓癌１人及び腎細胞癌１人）では偽陰性であった。非標的転移部位は、肝臓、腎臓床(renal bed)、膵臓、肺、及び腹腔リンパ節を包含した。検出されなかった肺病巣は、１cm未満のサイズであった。

【０４２０】

客観的反応は生じなかったが、結腸癌患者はCEAの５０％低下を有し、２患者は、癌痛覚及び動作状態(performance status)の改良を有した。肺、リンパ節及び／又は骨に伸展した疾患を有する、２人の異なる転移腎臓癌患者に、^{111}インジウムで標識されたdeJ591を注入した。注入の２日間以内に撮影された患者の画像は、これらの異なる組織及び器官

における既知腫瘍部位への該抗体の顕著な取り込みを実証した。抗体の該取り込みの程度は、実質的であり、かつ迅速である。

【０４２１】

生理学的部位のなかで、最高の取り込みは肝臓で観察された。血漿クリアランス及び肝臓取り込みは、抗体質量に依存し；低い質量は迅速な血漿クリアランス及び高い肝臓取り込み（取り込み％として）を生じた。deJ591５mg、１０mg及び２０mgに対するの血漿クリアランス（Ｔ１／２）は、それぞれ、２１±１１時間、２４±６時間及び３７±８時間であった。同じ投与量レベルの肝臓取り込みは、それぞれ、２８％±１４％、１７±７％及び１３％±５％であった。

【０４２２】

これらのデータに基づいて、プロトコールを６連続週間投与するように修正し(１０、２０、４０及び８０mg/週間投与量レベル）、患者が安定した疾患又は反応する疾患を有する場合には、８週間サイクルでの再治療をオプションとした。これまでに、９患者がこのスケデュールでの治療を現在受けている。

【０４２３】

^{111}In-DOTA-deJ591は、充実性腫瘍の血管内皮を特異的に標的とする。これらの試験は、deJ591が、放射能又はサイトトキシンによる充実性腫瘍血管内皮のターゲッティングのために有効なアプローチであることを実証する。

【０４２４】

実施例１４．再発性前立腺癌を有する患者における低用量皮下インターロイキン－２と組み合わせたmAb deJ591のＩＩ相試験

この試験のための対象は、最終的療法（例えば、手術及び／又は放射線）後に再発した前立腺癌を有する、及び／又はホルモン非依存性であり、かれらのために標準療法が存在しない対象である。これらの患者のために現在、治療的療法は存在しない。

【０４２５】

この試験の目的は、（１）再発性及び／又は転移性前立腺癌を有する患者における１日低用量皮下IL-2と組み合わせたmAb deJ591の予備的効力(preliminary efficacy)（反応率）を明確にすること；（２）１日低用量皮下IL-2と組み合わせたmAb deJ591の毒性を研究すること；及び（３）免疫反応に対するIL-2の効果をin vitro測定することである。

【０４２６】

低用量IL-2療法

IL-2は、T細胞、B細胞及びナチュラルキラー(NK)細胞を含めた、あらゆる主要な種類のリンパ球の増殖を促進し、分泌能力を強化する(Smith K.A. (1988) Science 240:169)。抗原選択性T細胞及びB細胞クローンのIL-2刺激膨張が、抗原特異的免疫反応の大きさを決定するが、反応の性質は、付加的なサイトカイン、細胞溶解性分子及び抗体のIL-2促進分泌によって決定される(Smith K.A (1993) Blood 81:1414-1423)。さらに、IL-2は、NK細胞に対するその効果を通して、NK細胞と単球との相互作用を包含する抗原非特異的宿主反応を刺激する。これらの機能の結果として、IL-2は、当然、特に癌の免疫療法における免疫刺激剤として有益であることになる。しかし、IL-2の治療的使用は、IL-2の主要な効果の１つがIL-2反応性細胞による二次的サイトカイン(secondary cytokine)分泌の刺激から成るので、困難である。IL-2の可能な有益な効果の多くは、これらの二次的サイトカインに帰因することができ、これらの二次的サイトカインは、総合的免疫／炎症反応に寄与する、付加的な細胞種類、特に単球を強化し、活性化する。しかし、これらの同じ二次的サイトカインは、あまりに多量に産生されると、重度な毒性をも生じる可能性がある。IL-2は最初、１５０百万単位(MU)のChiron Corporation IL-2に相当する、非常に高用量で癌の治療に用いられた(Rosenberg S.A (1990) Sci. Am 262:62-69)。この高用量は、化学療法の用量段階的上昇及び用量増大原理を用いて決定され、重大な３又は４度の毒性を付随する。高用量のIL-2は、発熱、悪寒、倦怠、筋肉痛、悪心／嘔吐、低血圧、及びことによると死亡を含めた、重大な副作用を惹起することが知られている。

【０４２７】

１９９０年代に、研究者たちは、連続低用量IL-2の免疫調節効果及び毒性を試験し始めた(Smith K.A (1993) Blood81:1414-1423; Caligiuri et al. (1991) J Clin Oncol 9:2110-2119; Caligiuri et al. (1993) J Clin Invest 91:123-132; Bernstein et al. (1995) Blood 86:3287-3294)。これらの研究は、１日に１．２MU程度の低い量のIL-2が最小の毒性でNK細胞の特異的膨張を生じることを実証した。Bernstein et al. (1995) Blood 86:3287-3294; Lalezari et al. (2000) HIV Clin Trials)。可能な副作用は、注入部位反応（通常は、注入部位における発赤）、無力症、インフルエンザ様症候群、悪心、下痢、及び好酸球増加症を包含する。低用量IL-2中のヒト$CD3^-$、$CD56^+$NK細胞の選択的膨張は、療法の２週間以内に開始し、治療の４～６週間後にプラトー状態に達する(Smith K.A (1993) Blood 81:1414-1423; Fehniger et al. (2000) J Clin Invest106:117-124)。NK細胞は１か月間の療法後にPBMCsの６０～８０％程度の多くを占めることができる(Smith K.A (1993) supra)。最近の研究は、NK細胞数の増加が、IL-2依存性NK細胞死の遅延と共に、骨髄プロジェニター(progenitors)からのNK細胞分化の強化に原因することを示唆している(Fehniger et al. (2000) supra)。低用量IL-2投与計画は、毒性を完全に回避するように特に設計されている。

【０４２８】

モノクローナル抗体とIL-2との複合療法：

モノクローナル抗体とIL-2との組み合わせは、恐らく、モノクローナル抗体の効力を強化する筈である。IL-2は、細網内皮系を増強して、NK細胞及びマクロファージに対するその効果によって抗原抗体複合体を認識するように機能する。したがって、NK細胞を刺激して、IFN、GM-CSF及びTNFを放出させることによって、これらのサイトカインはFc受容体の細胞表面密度並びにこれらの細胞の食細胞能力を高める。それ故、体液性アーム及び細胞アームの両方のエフェクター・アームは人為的に高められる。正味の効果は、最大の反応を得ることができるように、モノクローナル抗体療法の効率を改良することである。少数の臨床試験が、IL-2をモノクローナル抗体と組み合わせている(Albertini et al. (1997) Clin Cancer Res 3:1277-1288; Frost et al. (1997) Cancer 80:317-333; Kossman et al. (1999) Clin Cancer Res 5:2748-2755)。このような研究では、IL-2をボラス又は連続注入のいずれかによって静脈内投与した。高用量のIL-2は毒性が付随した。

【０４２９】

前立腺癌におけるIL-2療法:

多様な研究が、in vitro及び前立腺癌動物モデルにおいて、前立腺癌細胞に対するIL-2の効果を試験している、Moody et al。インターロイキン－２トランスフェクトされた(interleukin-2 transfected)前立腺癌細胞は、in vivoで局所抗腫瘍効果を生じる(Prostate, 24: 244-251, 1994; Sokoloff et al. (1996) Cancer, 77: 1862-1872; Triest et al. (1998) Clin Cancer Res, 4: 2009-2014; Hautmann et al. (1999) Anticancer Res, 19: 2661-2663; Hillman et al. (1999) Cancer Detect.Prev. 23: 333-342)、とはいえ、進行した前立腺癌を有する患者におけるIL-2の臨床試験は殆ど存在しない。Hillman et al. (1999) supra; Maffezzini et al. (1996) Prostate, 28: 282-286; Morris et al. (2000) Cancer, 89: 1329-1348)。ホルモン不応性前立腺癌を有する患者においてI.V.中用量IL-2（１日に１０～１５MUｘ４の範囲の用量）のII相試験を行なった。１０患者のうちの６人において、PSAレベルの一時的な低下が観察された。このことが抗腫瘍活性からであるのかどうか、又はLNCaP細胞を用いたin vitro研究が報告しているように(Sokoloff et al.(1996) supra)、IL-2がPSA発現に影響したのかどうかは、不明である。いずれの患者においても、測定可能な疾患の退行(regression)は観察されなかった。進行性前立腺癌を有する患者における１日皮下低用量IL-2の効果は試験されていない。

【０４３０】

特定の目的：

（１）再発性及び／又は転移性前立腺癌を有する患者における１日低用量皮下IL-2と組み合わせたmAbdeJ591の予備的効力（反応率）を明確にすること。

【０４３１】

（２）１日低用量皮下IL-2と組み合わせたmAbdeJ591の毒性を研究すること。
（３）末梢血単核細胞(PBMC)集団に対するIL-2の効果を測定すること。
（４）mAb deJ591によってADCCを誘発させる、このプロトコールへの患者からのIL-2活性化NK細胞の効果をin vitro測定すること。

【０４３２】

治療プロトコール：

患者は、１日目から５６日目まで１日低用量皮下rIL-2（１．２ｘ１０^{6}IU/m^{2}/日）を受容する。３週間のIL-2投与後に、患者はdeJ591をI.V.（２５mg/m^{2})によって１週間１回、３連続週間（２２日目、２９日目及び３６日目）受容する。IL-2投与はこの期間中、その後さらに２週間続ける。この８週間計画は、治療の１サイクルを構成する。この１サイクルの終了時に、反応に関して、患者を評価する。治療に反応したか又は安定した疾患を有する患者が、追加の治療サイクルに適格である。少なくとも２週間離れた、PSAの少なくとも２つの連続上昇が存在する場合には、追加のサイクルが開始される。IL-2による３週間の入り(lead in)は、NK細胞集団を顕著に増加させるために充分である筈である。deJ591の用量は、I相^{111}In標識deJ591試験からの予備的薬物動態データに基づくものである。抗体の用量は、この方法で治療された患者の追加のデータ分析に基づいて調節される。

【０４３３】

単一サイクルの治療が開始されている。１サイクル後にＸ線立証によって進行している患者は、研究から除外する。Ｘ線立証によって反応したか、又はPSA値の＞５０％低下を有し、イメージングで安定した疾患を有するか、又は安定したPSAレベルを有し、イメージングで安定した疾患を有する患者は、３～４週間毎に検査される。反応する又は安定した患者は、少なくとも２週間の間隔を置いた、PSAの２連続上昇後の再治療（第２の８週間サイクル）に、実験責任者の裁量及び患者のオプションで適格である。上昇したPSA（治療前の値の＞２５％）を有し、イメージングで安定した疾患を有する患者は、３～４週間毎に検査される。再治療は、実験責任者の裁量である。再治療を受けるためには、患者は、＜１／１００の免疫反応タイターを有さなければならず、すべての初期適格及び排除基準(initial Eligibility and Exclusion criteria)を満たさなければならない。再治療は、患者に与えられた初期用量と同じ用量処方で行なわれる。

【０４３４】

患者選択：

試験は、deJ591と組み合わせた低用量IL-2が前立腺癌に活性を有するかどうか確認するためのパイロット研究である。低用量IL-2が前立腺癌患者に活性を有する可能性がある。しかし、deJ591とIL-2との複合効果を研究することは興味深いので、患者をIL-2単独で治療しないこと、又は低用量IL-2での治療の３週間後にPSAが低下した場合に、抗体療法を遅延させないことが決定されている。顕著な活性が観察される場合には、その後にIL-2単独対IL-2とdeJ591の無作為化試験を行なう。前立腺癌患者の如何なる期がこのアプローチから利益を得ることができるかは、不明である。それ故、少なくとも１０人の患者をそれぞれ次のサブグループで治療する：（１）生化学的再発、ホルモン・ナイーブ：根治的前立腺切除術又は放射線療法後のPSA上昇、転移性疾患の証拠なし；（２）生化学的再発、ホルモン不応性：先行の化学療法なしのホルモン療法後にPSA上昇（これらの患者はＸ線で立証された転移性疾患を有することも有さないこともありうる）；及び（３）先行化学療法を受けており、ホルモン不応性。約３０～４０人の患者がこの試験に参加する。

【０４３５】

毒性：

毒性は、Cancer Therapy Evaluation Program Common Toxicity Criteria, Version 2.0 (April 1999)を用いてスコアを付ける。

【０４３６】

IL-2用量修正：

IL-2は、血液学的毒性（これは、EPO又はG-CSF又は輸血によって改善することができる）以外の薬物関連４度毒性があった場合には、如何なる研究のためにも永久的に中断する

。研究中の如何なる時点でも、ALTが正常の上限の２０倍以上である場合には、該患者におけるIL-2療法及びmAb療法の両方を永久的に中断する。容易に改善することができる電解質異常は、永久的な薬物中断を必要としない。

【０４３７】

このプロトコールは、２５％から０．９mU/M^2までのIL-2の１回用量レベル減少を可能にする。IL-2を受容する対象は、かれらのIL-2を１度以上の毒性のために２４～４８時間中断させることができる。IL-2を一時的に中断させうる毒性は、次のとおりである：

迅速に改善することができない１度以上の電解質異常；１度以上の呼吸毒性；３度の局所反応又は、潰瘍を含む、如何なる局部反応も；＞３８℃の発熱、又は耐え難いインフルエンザ様症候群若しくは硬直；IL-2に関連した又は関連しない、他の３度以上の毒性；オポチュニスティック感染に関連していると疑われる発熱；１度の疲労；及びEPO、G-CSF又は輸血によって改善されうる、２度の血液学的毒性。

【０４３８】

かれらのIL-2を中断させる対象は、IL-2を、薬物停止後２４～４８時間以内に同じ用量で又は１回用量レベルを減少して再開させることができる。該対象に対するIL-2用量は、後に、該対象及び現地実験者(local investigator)の裁量で、初期用量まで高めることができる。

【０４３９】

mAb deJ591:

アレルギー・イベントは、次のように管理する：発疹、心因性掻痒症、蕁麻疹及び喘鳴は、臨床的必要に応じて、ベナドリル及び／又はステロイドで治療する。アナフィラキシー又はアナフィラキシー様徴候若しくは症状は、臨床的な適応に応じて、ステロイド及び／又はエピネフリンによって治療される。患者は、心肺蘇生術の装備をした総合治験センター(general clinical research center)で治療される。

【０４４０】

mAbを投与する３週間中に３又は４度の毒性を経験する患者では、両方の薬物を中断する。毒性が１度以下に戻った後に、mAb deJ591の用量を２５％低下して、mAbによる治療を再開する。弱めた用量で３度又は４度の毒性が再発した場合には、mAb治療を中断する。IL-2治療は、８週間サイクルを完了させるために続ける。

【０４４１】

治療反応の基準：

反応は、生化学的(PSA変化）及び／又は測定可能な病巣（単数又は複数）のサイズの変化のいずれかによって、前立腺癌に関する標準的反応基準を用いて評価する(Dawson N.A. (1999) Semin Oncol 26:174-184; Bubley, G.J., et al. (1999) J Clin Oncol, 17:3461-3467)。

【０４４２】

生化学的(PSA)反応は、上述したように評価する。該疾患を測定する基準は、次のとおりである：完全な反応は、物理的検査又はイメージング研究による、すべての測定可能な病巣の完全な消失と、２か月間以上新たな病巣が出現しないこととして定義される。部分的反応：すべての測定可能な病巣の最長垂線直径の積(the products of the lomgest perpendicular diameters)の合計の５０％以上の減少として定義される。新たな病巣は生じえない。安定な疾患：部分反応の基準を満たさず、２か月間を超えて進行性疾患の徴候を示さない患者。進行性疾患は、インジケータ病巣の最長垂線直径の積の合計の２５％を超える増加、新たな病巣の出現又は治療前ベースラインを超える前立腺特異的抗原の上昇として定義される。

【０４４３】

相関的研究：

免疫学的表現型検査(immunologic phenotyping)：免疫蛍光検査及び表現型検査を、フローサイトメトリーを用いて行なって、PBMC集団を測定し、リンパ球サブセット（T細胞ではCD3、NK細胞ではCD56及び単球ではCD14）の発現を、既述されたように(Bernstein Z.

P., et al. (1995) Blood 86:3287-3294; Lalezari J.P., et al. (2000) HIV Clin Trials)、定量する。

【０４４４】

NK/Lak細胞による細胞溶解に関する^{51}Cr放出アッセイ： 標準的クロム放出アッセイを用いて、PBMCs由来NK細胞の、PSMA発現標的細胞を溶解する(lyse)能力を測定する(Cox J.H., et al. (2000) Mol Biotechnol 15:147-154)。既述されたように(Cox J.H. (2000) supra)、Tリンパ球及び残留単球並びにB細胞を除去するために、Ficoll-Hypaque密度勾配、ナイロンウールカラム及びイムノマグネティック・ビーズによる負の選択を用いる一連の精製を用いて、PBMCsからNK細胞を単離する。細胞傷害性アッセイの日に、生存LNCaP細胞（標的細胞）を１００μCi以上の^{51}Crで、３７℃において１時間標識し、洗浄し、RPMI中に５ｘ１０^{4}細胞／mlの濃度で再懸濁させる、０．２～１．５cpm／細胞を目標とする。

【０４４５】

付加的アッセイ：

例えばIL-2、TNF及びIFNのようなサイトカインの細胞内蓄積の発現を測定するためのアッセイは、Pala P. et al. (2000) J Immunol Methods 234:107-124に記載されている。治療前及び中の患者PBMCs内のこれらのサイトカインの発現を測定することができる。

【０４４６】

統計的方法：

種々な時点で行なわれる測定による、あらゆる転帰変数(outcome variable)に関して、変動の反復測定分析(Repeated Measures Analysis of Variance)（ＲＭＡＮＯＶＡ）を行なって、如何なるパターンの変化をも長期間にわたって(over time)測定する。有意な時間効果を見出した後に、Bonferroni調整ペインワイズ・コントラスト(painwise contrasts)を算出して、どの時点が他の時点とは異なるのかを判断する。多重時点で得られたデータの分析を簡単化するために、長期間にわたって採取した測定値を“統合する(aggregate)”ことを選択することができる。PSAレベルの曲線下面積(AUC)分析を行なうことができる。或いは、“傾斜分析(slope analysis)”を行なうことができる。

【０４４７】

結果の現状：

６患者が参加して、３人が８週間治療を完了しており；２患者はPSA安定化に基づいて再治療されている。３番目の患者は客観的な疾患悪化を有した。毒性は予想されており、マイナーな毒性は、疲労、注入部位反応及び無症候性甲状腺機能異常を包含する。IL-2媒介免疫調節を末梢血に対するフローサイトメトリーによって評価して、mAb治療の前後のリンパ球サブセットの発現を定量する。

【０４４８】

実施例１５：メイタンシノイド・サイトトキシンDM1へのdeJ591のコンジュゲーション

この実施例は、deJ591-DM1イムノコンジュゲートの作製方法を述べる。この方法は、当該技術分野で知られた標準方法に基づくものであるので、例えばdeJ415のような、本発明の他の抗体を含めた、他の抗体に一般化することができる。

【０４４９】

コンジュゲーション方法は、deJ591出発物質(Lot １５５２－６０S)５gを用いて行なう１実験と、deJ591出発物質(Lots １５５２－１６８、１５５２－１０４及び１６１０－０３６)６．７g～７．３gを用いる３実験を含む、幾つかの小規模実験に基づく。

【０４５０】

コンジュゲーション方法に関与する工程は次のとおりである：

（１）deJ591抗体５g～７．５gを接線方向流濾過(tangential flow filtration)(10kD NMWCO膜)によって２５～３０mg/mlにまで濃縮して、５倍量の５０mMリン酸カリウム、２mM EDTA、pH６．０に対してディアフィルトレーションする。収率は典型的に９８％～１００％である。

【０４５１】

（２）濃縮抗体を、乳白光を発する場合には、０．２μフィルターに通して濾過し、次にN-スキシンイミジル４－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート(SPP)によって、２０～２２mg/ml抗体及び抗体１分子に付きSPP７分子の濃度で修飾する。この修飾は50mM リン酸カリウム、２mM EDTA、５％エタノール、pH６．０中で２．５±０．５時間行なわれる。修飾器(modification vessel)は５００ml丸底フラスコである。

【０４５２】

（３）修飾抗体を工程（２）の反応混合物から、ゲル濾過クロマトグラフィー及びSephadex G-25^{TM}カラムを用いて分離する。該カラム負荷はカラム体積の約２５％を表し、該クロマトグラフィーは 50mM リン酸カリウム、２mM EDTA、pH６．０中で、５０cm/時の流速度で行なわれる。修飾抗体は、カラム体積の３８～７５％で溶離する。典型的に、この工程の収率は９５％～１００％であり、SPPの、抗体に対する比率は、約５．４～５．９SPP分子／抗体である。

【０４５３】

（４）約１０mg/mlの濃度で、修飾抗体をDM1と、２０±４時間コンジュゲートさせる（抗体にコンジュゲートしたSPP　１分子につきDM1　１．７分子を用いる）。典型的に、反応時間は１６．２５～１７．７時間であり、反応は、電磁気撹拌バーを備えた1L丸底ガラスフラスコ中で行なわれる。該コンジュゲーション反応は、３％DMA、１０％スクロース（反応１mlにつきスクロース１００mg)中で行なわれる。反応の終了時に、コンジュゲートした抗体を２．０μフィルターに通して濾過して、分光光度計読取りを行なう。

【０４５４】

（５）コンジュゲートした抗体を未反応DM1から、Sephadex G-25^{TM}カラムを用いるゲル濾過クロマトグラフィーによって分離する。カラム負荷はカラム体積の２２～２３％を表し、流速度は約５０cm／時である。該カラムを２０mMスクシネート、５％スクロース（５０mg/ml)、pH５．５中で平衡化させ、操作する。該抗体コンジュゲートは、カラム体積の約３１％～６５％で溶離し、ピーク溶出の開始からピーク後縁の開始までを単一フラクションとして回収し、続いて、１５ｘ２％カラム体積フラクション中の残留ピーク物質を分画する。すべてのフラクションを、適当量の５０％スクロースの添加によって、１００mg/mlのスクロース（１０％スクロース）に調節する。２％カラム体積フラクションを、分析サイジング(analytical sizing)(TSK 3000SWL)によって、分析して、選択したフラクション（フラクション１及び２）を主要ピークと共にプールする。フラクションを分析サイジングを用いて分析する、プーリング基準は、２４分間ピークが総ピーク面積の＜２０％を表すことである。典型的に、この工程の収率は、反応混合物及び／又は精製混合物中にスクロースが存在しないラン１５５２－１０４を除いて、６０％～６５％である。溶出した抗体濃度は３．８～４．２mg/mlの範囲であり、DM1/抗体の比率は３．６～３．９の範囲である。

【０４５５】

（６）次に、１０kD NMWCO接線方向流濾過膜を用いて、抗体コンジュゲートを７～１０mg/mlに濃縮し、５倍量の５０mMスクシネート、１０％スクロース、pH５．５に対してディアフィルトレーションする（入口圧力＜１０psi)。ディアフィルトレーション後に、抗体コンジュゲートを5mg/mlに調節する。この工程の典型的な収率は９２％～１００％であり、最終タンパク質濃度は４．８５～５．１mg/mlである。

【０４５６】

（７）最後に、該抗体コンジュゲートを０．２mフィルターに通して濾過して、指定量に等分する。工程収率は９０％～１００％であり、最終DM1－抗体比率は３．５～３．８である。

【０４５７】

得られたdeJ591-DM1コンジュゲートを外観、濃度、DM1／抗体比率、内毒素、非特異的細胞傷害性、アセトン抽出可能なDM1、分析サイジング、還元及び非還元(reduced and non-reduced)SDS-PAGE、pH、生物負荷、比細胞傷害性(specific cytotoxicity)及びIEFに基づいて分析した。ロット１５５２－１６８、１５５２－１０４及び１５５２－０３６に関

する選択した分析結果を、以下の表１９に示す。

【０４５８】

【表１９】

表１９

ロット番号	回収量	濃度（mg/ml)	ＤＭ１／抗体	工程回収率（％）
１５５２－１６８	３．８５	５．１	３．７	５７．２
１５５２－１０４	２．７５	４．８５	３．５	３７．８★
１６１０－０３６	３．４１	５．０５	３．８	４７．２
平均値	３．３４	５．００	３．６７	４７．４
標準偏差	０．５５	０．１３	０．１５	９．７
％ｃ．ｖ．	１６．６	２．６	４．２	２０．５

★低い回収率は、一部は、コンジュゲーション反応及び第２Ｇ－２５ゲル濾過ランにおいてスクロースが存在しない(the lack of sucrose)こと、及び一部は、生成物ピークの先端がチャート・レコーダの故障のために回収されなかったという事実による。

【０４５９】

実施例１６．前立腺癌細胞への細胞傷害性薬物の標的デリバリーのためのmAbの使用

抗PSMA抗体を、例えばメイタンシノイド・クラスの薬物のような、高い細胞傷害能力を有する物質にコンジュゲートさせることができる。メイタンシノイド類は、微小管の形成及び安定化を妨害することによって、それらの細胞傷害性効果を発揮する。メイタンシノイド類は、通常の化学療法剤（例えば、ドキソルビシン、メトトレキセート及びビンカアルカロイド）よりも１００倍～１０００倍大きい細胞傷害能力を有する(Chari, R.V.J. et al. (1992) Cancer Res. 52: 127)。

【０４６０】

マウス抗体及び脱免疫化J591抗体の両方(both murine and deimmunized J591 antibodies)は、立体障害(hindered)ジスルフィド結合を介して、メイタンシノイド、DM1にコンジュゲートされている。この結合は細胞内で切断されて、薬物放出を可能にする。該抗体の一定領域内の１つ以上のリシン残基を、ピリジルジチオ基を含有するリンカーにコンジュゲートさせた、次に、このピリジルジチオ基がメイタンシノイド毒素に結合した。IgG１モル当りメイタンシノイド　３～４モルの比率が好ましい。

【０４６１】

DM1結合J591抗体の製造方法は、J591をピリジルチオ基とN-ヒドロキシスクシンイミド脱離基との両方を含有するリンカーと反応させることによって開始する。この場合に、該リンカーはN－スクシンイミジル　４－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（又はSPP)であったが、他のリンカーを用いることもできる。該反応の生成物は、表面露出(surface exposed)リシン基に結合する１つ以上のリンカー基（４－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート）を含有する修飾J591抗体を包含し、該リンカー基はピリジルジチオ反応基と、N－ヒドロキシスクシンイミド脱離基を保持する。次に、J591抗体を反応混合物及びN－ヒドロキシスクシンイミドから、例えばセファデックスG25を用いるゲル濾過によって、分離する。該修飾J591抗体を、該修飾抗体の表面上に今や存在するピリジルジチオ基と反応するチオール基を含有するDM1と反応させ、それによって、J591-DM1イムノコンジュゲート及びチオピリジンを製造する。J591-DM1イムノコンジュゲートを、反応混合物及びチオピリジンから、例えばセファクリルS300カラムを用いるサイズ排除クロマトグラフィー

によって単離する。メイタンシノイド・コンジュゲートの製造方法は、米国特許第５，２０８，０２０号；第５，４７５，０９２号；第５，５８５，４９９号；第５，８４６，５４５号及び第６，３３３，４１０号に記載されており、これらの内容は本明細書に援用される。

【０４６２】

in vivoで前立腺癌細胞の治療におけるマウスJ591-DM1イムノコンジュゲートの効力、毒性及び抗原選択性を評価する研究を以下で述べる。

実験１：in vivoでの効力、毒性及び用量－反応曲線の確立

LNCaP細胞の腫瘍異種移植片をBALB/cマウスの右側腹部に定着させた（５ｘ１０^{6}細胞皮下注入）。腫瘍が目に見えるようになる(７～１０mm）まで動物を観察した。次に、動物をPBS、非コンジュゲート化mAbJ591、非コンジュゲート化DM1、mAbJ591とDM1との両方（但し、非コンジュゲート化）、及びJ591-DM1イムノコンジュゲート（１００、２００、３００及び４００mcg／日、腹腔内、毎日ｘ５日間）で治療した。mAbJ591を修飾して、ジチオピリジル基を導入して、次に、上述したように、立体障害ジスルフィド結合を介してDM1にコンジュゲートさせた。非コンジュゲート化mAbJ591及びDM1は、等モル濃度で供給した。

【０４６３】

実験２：PSMA陽性腫瘍に対する選択性

LNCaP細胞（５ｘ１０^{6}細胞、右側腹部に皮下注入）及びPC3細胞（３ｘ１０^{6}細胞、左側腹部に皮下注入）の両方の腫瘍異種移植片をBALB/cマウスに定着させた。LNCaP腫瘍が目に見えるようになるまで動物を観察した(PC3腫瘍も存在したが、非常に小さい）。動物をJ591-DM1イムノコンジュゲート：３００mcg／日、腹腔内、毎日ｘ５日間で処置した。

【０４６４】

実験３：該イムノコンジュゲートの最適投与スケジュールの決定

LNCaP細胞の腫瘍異種移植片をBALB/cマウスの右側腹部に皮下定着させた。腫瘍が目に見えるようになったときに、動物をPBS、非コンジュゲート化mAbJ591、J591-DM1イムノコンジュゲート（３００mcg／日、静脈内、毎日ｘ５日間；１コース投与）、J591-DM1イムノコンジュゲート（４００mcg／日、静脈内、隔日、１０日間に５回量；１コース投与）、及びJ591-DM1イムノコンジュゲート（３００mcg／日、静脈内、毎日ｘ５日間；合計で１０回量のために２コース投与）で治療した。２コースのJ591-DM1イムノコンジュゲートを受容した動物に関して、第２の５日間コースは腫瘍容積最低（典型的に、第１コースの完了後２１～２４日目に見られる）のときに投与された。

【０４６５】

すべての動物を治療の前後に写真撮影して、同定のためにタグを付けた。腫瘍容積を測定し（長さｘ幅ｘ深さ）、密接にフォローした。動物の体重を毒性の尺度としてフォローした。

【０４６６】

結果：実験１：

非コンジュゲート化DM1（単独、又は非コンジュゲート化mAbJ591と一緒にした）で治療した、すべてのマウスは、治療の完了後４８時間以内に死亡した。４００mcg／日の用量でのイムノコンジュゲートは、マウスの５０％にとって致死的であった。

３００mcg／日の用量では、腫瘍容積の顕著な減少が、幾つかの完全な反応及び最低の毒性を伴って認められた。しかし、これらの完全な反応は持続的ではなく、その後に、腫瘍容積が最低になった後２～２０日間に腫瘍サイズの増加が認められた。

【０４６７】

結果：実験２：

LNCaP腫瘍とPC3腫瘍との両方を有するマウスでは、J591-DM1イムノコンジュゲートによる治療後にLNCaP腫瘍容積は実質的に減少した。これらの動物では完全な反応は達成されなかったが、腫瘍容積最低は平均０．０８cm^{3}であった。治療後のPC3腫瘍容積の着実な増加によって認識されるように、PC3腫瘍増殖はJ591-DM1イムノコンジュゲートによって影

響されなかった。

【０４６８】

実験３：

投与経路は異なった（腹腔内に対して静脈内）が、１コースのJ591-DM1イムノコンジュゲートによる治療は、実験１から得られた結果に匹敵した。完全な反応が達成された（２１～２４日目に）が、これらの結果は持続的ではなかった。４００mcgの隔日投与で治療された動物では、毒性が実証された（体重損失＞総体重の１０％）が、すべての動物が最終的には生残した。腫瘍容積はすべての動物で減少したが、完全な反応は達成されなかった。２コースのJ591-DM1イムノコンジュゲートで治療されたすべての動物は、少なくとも６６日目まで持続した完全な反応を達成した。

【０４６９】

結論：

マウスJ591抗PSMA抗体は、メイタンシノイド・クラスの薬物（例えば、DM1)に効果的にコンジュゲートさせることができる。これらのJ591-DM1イムノコンジュゲートは、in vivoで、PSMA陽性前立腺癌細胞への、この細胞傷害性薬物の非常に選択的な、抗原特異的標的デリバリーを生じる。３００mcg／日の用量で、最少の毒性による最大の腫瘍容積減少が注目された。最適投与スケジュールは、第２回コースを腫瘍容積最低時（２１～２４日目）に投与する、２回の５日間コースのJ591-DM1イムノコンジュゲートであるように思われる。

【０４７０】

実施例１７．deJ591-DM1イムノコンジュゲートの薬物動態及び効力

実施例１６に記載した実験と並行して、付加的実験をdeJ591-DM1イムノコンジュゲートによって行なった。これらの実験と、それから得られた結果を以下に述べる。

【０４７１】

deJ591-DM1及びDM1のin vitro薬物動態：

実験：LNCaP細胞を９６穴プレートに、増殖アッセイのために１０００細胞／穴の初期密度で植え付けた。deJ591-DM1又はDM1をある濃度範囲（０．０１nM～１００nM)にわたって穴に加え、一定の時間（０．５、２、８、２４、７２及び１４４時間）にわたって細胞と接触させておいた。該期間の終了時に、薬物含有培地を取り出し、実験の開始から全体で１４４時間が経過するまで、培地を薬物を含まない培地と交換した。次に、増殖に対する薬物暴露の得られた結果を測定した。

【０４７２】

結果：Kalns et al. (1995) (Cancer Research 55:5315-5322、この内容は本明細書に援用される）によって開発された方法論を用いた薬物動態分析は、変数（１）暴露時間及び（２）濃度から、観察された効果に対する相対的重要性を考慮するときに、該暴露時間は、DM1に比べてdeJ591-DM1に関してより重要であり、濃度の方がより重要な変数であることを実証する。

【０４７３】

単回IV投与後のマウスにおけるdeJ591-DM1の血清レベル

実験：マウスに、 deJ591-DM1の静脈内１４．５mg/kg用量を投与し、ヒト抗体に関するELISAアッセイを用いる試験物体(test article)の分析のために血清サンプルを回収した。サンプルは、３マウスの群から、６、２４、４８、７２及び１６８時間目に回収した。データを二指数方程式(bi-exponential equation)に当てはめて、薬物動態パラメータを算出した。これらのパラメータを用いて、複数回投与後の血清レベルをシミュレートした。

【０４７４】

結果：薬物動態データの分析は、ELISAアッセイで測定した、マウスにおけるdeJ591-DM1の血清半減期が１３０時間であることを実証した。

CWR22前立腺異種移植片に対する効力への投与間隔の効果

実験：雄SCIDマウスにCWR22前立腺腫瘍異種移植片の連続継代によって移植した。これ

らの腫瘍が２００～２５０mm^{3}サイズ（外側キャリパー測定から推定）に達したときに、マウスを８匹ずつの処置群に無作為に分けて、ビヒクルのみ（７日間毎）を、又はdeJ591-DM1を、下記スケジュール（７、１４、２１若しくは２８日間毎）のいずれかで投与された１４．５mg/kg抗体コンジュゲート（２４０μg/kg DM1に相当）の用量で受容させた。すべての処置は静脈内投与した。腫瘍増殖及び動物健康を、研究を通じて、連続的にモニターし、腫瘍増殖を３日間毎に測定した。

【０４７５】

結果：投与スケジュールの相違は、SCIDマウスにおけるCWR22異種移植片の観察された腫瘍増殖に明白な効果を及ぼす。腫瘍増殖は、それらが本出願人らのIACUCレギュレーション下で容認される最大サイズに達するまで、２１又は２８日間間隔のスケジュールでは緩慢な増殖として特徴付けることができる。７又は１４日間投与間隔では、腫瘍増殖の見掛け上の遮断が生じ、最後の投与後約３０日目に通常の増殖動力学(growth kinetics)が再開した。これらの結果は、薬物動態シミュレーションで考察した場合に、暴露期間と最低有効濃度の維持との間の相関関係を示唆する。

【０４７６】

非コンジュゲート化抗体(deJ591)又は非コンジュゲート化腫瘍阻害剤(DM1)と比較したdeJ591-DM1の効力

実験：雄SCIDマウスにCWR22前立腺腫瘍異種移植片の連続継代によって移植した。これらの腫瘍が２００～２５０mm^{3}サイズ（外側キャリパー測定から推定）に達したときに、マウスを８匹ずつの処置群に無作為に分けて、ビヒクルのみ、１４．５mg/kg抗体コンジュゲート（２４０μg/kg DM1に相当）の用量でのdeJ591-DM1、deJ591-DM1と同じ用量でのdeJ591、又は２４０μg/kgの用量で投与されたDM1を受容させた。すべての処置は静脈内に、５回投与のために３日間毎のスケジュールで投与した。腫瘍増殖及び動物健康を、研究を通じて、連続的にモニターし、腫瘍増殖を３日間毎に測定した。

【０４７７】

結果：非コンジュゲート化抗PSMA抗体(deJ591)は、CWR22異種移植片腫瘍増殖の速度及び程度の減少に有意な効果を及ぼさなかった。遊離薬物として投与されたDM1は、若干の腫瘍増殖遅延を生じたが、これは、同じモル当量の活性DM1による同じスケジュールで投与されたdeJ591-DM1に比べて、マイナーな反応であった。deJ591-DM1は、用量の最後の投与後約２０日間にわたって、腫瘍増殖を抑制した。

【０４７８】

異なる用量でのdeJ591-DM1の効力

実験：雄SCIDマウスにCWR22前立腺腫瘍異種移植片の連続継代によって移植した。これらの腫瘍が２００～２５０mm^{3}サイズ（外側キャリパー測定から推定）に達したときに、マウスを８匹ずつの処置群に無作為に分けて、ビヒクルのみ、１４．５mg/kg抗体コンジュゲート（２４０μg/kg DM1に相当）の用量又は７．２５mg/kgの低用量でのdeJ591-DM1を受容させた。すべての処置は静脈内に、５回投与のために７日間毎のスケジュールで投与した。腫瘍増殖及び動物健康を、研究を通じて、連続的にモニターし、腫瘍増殖を３日間毎に測定した。

【０４７９】

結果：deJ591-DM1によるCWR22異種移植片腫瘍増殖阻害に関して、用量－反応関係は明白である。このことは、２種類の異なる用量のdeJ591-DM1に関する７日間の投与間隔研究で実証される。高い用量では、腫瘍増殖が抑制され、初期腫瘍容積が若干減少する。低い用量では、該高い用量に比べて、初期腫瘍容積から同じ減少は存在せず、用量の最後の投与後約１０日目に、通常の増殖動力学に迅速に復帰する。

【０４８０】

実施例１８．骨髄バイオプシーで実証された、進行性前立腺癌患者における骨髄関与

進行性前立腺癌への骨髄関与は、ルーチンには、検査されない。本出願人らは、進行したホルモン不応性前立腺癌患者に行なった骨髄バイオプシーの結果に関して報告する。

【０４８１】

ホルモン不応性前立腺癌患者に、スクリーニング診断研究を行なって、２つのＩ相放射免疫療法(radioimmunotherapy)臨床試験に対する適格性を調べた。研究は、血清検査、骨スキャン、頭部、胸部、腹部及び骨盤のCTスキャン、並びに腸骨稜から採取した骨髄バイオプシーを包含した。これまでに、全体で３９人の患者をスクリーニングした。

【０４８２】

すべての患者は、イメージングでの骨若しくは軟組織転移及び／又は血清PSAレベルの３回連続上昇によって判断されて、進行した疾患を有した。すべての患者は、先行ホルモン療法を受けており、大部分は、根治的前立腺切除術（Ｎ＝１５）、放射線療法（Ｎ＝１９）及び／又は化学療法（Ｎ＝１９）を含めた、局所療法を受けていた。１６患者（４１％）は、骨髄バイオプシーで転移性前立腺癌の組織学的証拠を有した。スクリーニングされた３９患者のうちの、１３人（３３％）は顕著な骨髄関与（＞１０％関与）を有し、このことは、かれらをこれらの臨床試験への参加に不適格にした。

【０４８３】

骨髄関与を有する患者は、有意に高い血清アルカリホスファターゼ(ALP)レベル（メジアン３７４U/L対９６U/L、p<０．００１）及び有意に低い血清ヘモグロビン（メジアン１１．６g/dl対１２．７g/dl、p＝０．０２）を有した。先行化学療法及び／又は先行放射線療法を受けた患者間には、血清ヘモグロビンの差異は存在しなかった。ALPが正常（＜１２０U/L)又は高い（＞１２０U/L)場合には、それぞれ、０％及び７５％の患者が、骨髄バイオプシーで転移性前立腺癌を有した（p＜０．０００１）。骨スキャンが３つ以上の異なる解剖学的部位（脊椎、胸郭、骨盤、四肢又は頭蓋冠）に骨転移を示した患者は、２つ以下の部位に比べて、骨髄関与を有する可能性が大きい（５４％対９％、p＝０．０１）。年齢、初期Gleason合計(initial Gleason sum)、血清PSA、PSA倍加時間、軟組織転移の存在、先行局所治療若しくは化学療法、又は他の血液学的パラメータ（WBC、血小板カウント）は、２群間で有意に異ならなかった。

【０４８４】

進行した前立腺癌患者における骨髄関与は、ルーチンには検査されないが、非常に少数の症例で存在する。現在の臨床病期研究は骨髄関与を有意に過少評価するが、アルカリホスファターゼの上昇又は血清ヘモグロビンの抑圧が相関関係にある可能性がある。この状況は、臨床試験において、可能な血液学的毒性を有すると見なすべきである。

【０４８５】

実施例１９．前立腺特異的膜抗原の定量のための新規なサンドイッチ固相酵素免疫検定法(Enzyme-Linked Immunoassay)（ELISA)

理想的には、血清PSMAは、簡単で、迅速な、再現可能及び定量的ELISAアッセイによって検出可能であるべきである。本出願人らの目的は、血清PSMAを測定するためのELISAアッセイを確立することであった。

【０４８６】

９６穴プレートに抗PSMA抗体を“キャプチャー(capture)”抗体として塗布した。次に、組換えPSMA(rPSMA)、精液、LNCaP溶解物、並びに基準（rPSMA範囲１．６～１６００ng/ml）を“スパイクされた(spiked)”雄及び雌からの血清の希釈物をこれらの穴に加えた。非競合性ビオチニル化抗PSMA抗体（PSMA上の異なるエピトープを認識する）を“検出(detection)”抗体として加えた。アビジン・ホスファターゼ、続いてp-ニトロフェニルホスフェート（基質）を加えた。次に、光学的密度を測定した。

【０４８７】

該アッセイのための標準曲線は、５～１６００ng/mlの範囲を通じて直線であった（相関係数＞０．９９）。このアッセイを用いて、PSMAがLNCaP溶解物、精液及び“スパイクされた”血清中に検出された。

【０４８８】

同等物

当業者は、ルーチンに過ぎない実験を用いて、本明細書に記載した本発明の特定の実施態様の多くの同等物を認識する、又は確認することができるであろう。このような同等物

は、特許請求の範囲によって包含されるように意図される。

【図面の簡単な説明】

【０４８９】

【図１】図１Ａ～１Ｂは、それぞれ、マウスＪ５９１重鎖および軽鎖の可変部のアミノ酸配列を示す。ＣＤＲの位置を図中に示し；アミノ酸番号付けはＫａｂａｔの番号付けにしたがう（Ｋａｂａｔ，　Ｅ．Ａ．ら（１９９１）　Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，　第５版，　Ｕ．Ｓ．　Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，　ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）。ＣＤＲがＣｈｏｔｈｉａループおよびＫａｂａｔ超可変部を共に含むとみなされ、そして配列はこれにしたがって注釈付けされていることに注目されたい。重鎖：ＣＤＲ１を配列番号１に示し；ＣＤＲ２を配列番号２に示し；ＣＤＲ３を配列番号３に示し；ＣＤＲ領域を除くフレームワークを配列番号７に示し；そしてＣＤＲ領域を含むフレームワークを配列番号１９に示す。軽鎖：ＣＤＲ１を配列番号４に示し；ＣＤＲ２を配列番号５に示し；ＣＤＲ３を配列番号６に示し；ＣＤＲ領域を除くフレームワークを配列番号８に示し；そしてＣＤＲ領域を含むフレームワークを配列番号２０に示す。

【図２】図２Ａ～２Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のアミノ酸配列を示す。ＣＤＲの位置を図中に示し；アミノ酸番号付けはＫａｂａｔの番号付けにしたがう（Ｋａｂａｔ，　Ｅ．Ａ．ら（１９９１）上記）。ＣＤＲがＣｈｏｔｈｉａループおよびＫａｂａｔ超可変部を共に含むとみなされ、そして配列はこれにしたがって注釈付けされていることに注目されたい。重鎖：ＣＤＲ１を配列番号１に示し；ＣＤＲ２を配列番号２に示し；ＣＤＲ３を配列番号３に示し；フレームワーク１を配列番号９に示し；フレームワーク２を配列番号１０に示し；フレームワーク３を配列番号１１に示し；フレームワーク４を配列番号１２に示し；ＣＤＲ領域を除くフレームワークを配列番号１７に示し；そしてＣＤＲ領域を含むフレームワークを配列番号２１に示す。軽鎖：ＣＤＲ１を配列番号４に示し；ＣＤＲ２を配列番号５に示し；ＣＤＲ３を配列番号６に示し；フレームワーク１を配列番号１３に示し；フレームワーク２を配列番号１４に示し；フレームワーク３を配列番号１５に示し；フレームワーク４を配列番号１６に示し；ＣＤＲ領域を除くフレームワークを配列番号１８に示し；そしてＣＤＲ領域を含むフレームワークを配列番号２２に示す。

【図３Ａ】図３Ａ～３Ｂに、マウスＪ５９１および脱免疫の重鎖可変部（３Ａ；それぞれ配列番号１９および２１）並びに軽鎖可変部（３Ｂ；それぞれ配列番号２０および２２）の並列を示す。マウスＪ５９１　ＶＨおよびＶＫの潜在的Ｔ細胞エピトープ（ペプチドスレッディングプログラムを用いて同定）を、それぞれ図３Ａ～３Ｂに示す。ＭＨＣクラスＩＩに結合すると予測される１３量体ペプチドを下線によって示し；ＣＤＲは、図３Ａの残基２６～３５、５０～６６、および９９～１０４、並びに図３Ｂの残基２４～３４、５０～５６、および８９～９７に位置し；そして脱免疫重鎖および軽鎖の可変部で改変されている残基はボックスに入れる。可能な場合、アミノ酸置換は、ヒト生殖系列ＶＨ領域に一般的に用いられるものである。アミノ酸番号付けは直鎖であり、Ｋａｂａｔにしたがったものではない。

【図３Ｂ】図３Ａ～３Ｂに、マウスＪ５９１および脱免疫の重鎖可変部（３Ａ；それぞれ配列番号１９および２１）並びに軽鎖可変部（３Ｂ；それぞれ配列番号２０および２２）の並列を示す。マウスＪ５９１　ＶＨおよびＶＫの潜在的Ｔ細胞エピトープ（ペプチドスレッディングプログラムを用いて同定）を、それぞれ図３Ａ～３Ｂに示す。ＭＨＣクラスＩＩに結合すると予測される１３量体ペプチドを下線によって示し；ＣＤＲは、図３Ａの残基２６～３５、５０～６６、および９９～１０４、並びに図３Ｂの残基２４～３４、５０～５６、および８９～９７に位置し；そして脱免疫重鎖および軽鎖の可変部で改変されている残基はボックスに入れる。可能な場合、アミノ酸置換は、ヒト生殖系列ＶＨ領域に一般的に用いられるものである。アミノ酸番号付けは直鎖であり、Ｋａｂａｔにしたがったものではない。

【図４Ａ－１】図４Ａ～４Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のヌクレオチド配列を示す。図４Ａは、脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２３および２４）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２７）を示す。図４Ｂは、脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２５および２６）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２８）を示す。シグナルペプチドの位置およびＣＤＲ１～３を、各並列に示す。

【図４Ａ－２】図４Ａ～４Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のヌクレオチド配列を示す。図４Ａは、脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２３および２４）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２７）を示す。図４Ｂは、脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２５および２６）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２８）を示す。シグナルペプチドの位置およびＣＤＲ１～３を、各並列に示す。

【図４Ａ－３】図４Ａ～４Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のヌクレオチド配列を示す。図４Ａは、脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２３および２４）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２７）を示す。図４Ｂは、脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２５および２６）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２８）を示す。シグナルペプチドの位置およびＣＤＲ１～３を、各並列に示す。

【図４Ｂ－１】図４Ａ～４Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のヌクレオチド配列を示す。図４Ａは、脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２３および２４）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２７）を示す。図４Ｂは、脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２５および２６）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２８）を示す。シグナルペプチドの位置およびＣＤＲ１～３を、各並列に示す。

【図４Ｂ－２】図４Ａ～４Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のヌクレオチド配列を示す。図４Ａは、脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２３および２４）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２７）を示す。図４Ｂは、脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２５および２６）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２８）を示す。シグナルペプチドの位置およびＣＤＲ１～３を、各並列に示す。

【図４Ｂ－３】図４Ａ～４Ｂは、それぞれ、脱免疫Ｊ５９１重鎖および軽鎖の可変部のヌクレオチド配列を示す。図４Ａは、脱免疫Ｊ５９１重鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２３および２４）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２７）を示す。図４Ｂは、脱免疫Ｊ５９１軽鎖可変部のコードおよび非コードヌクレオチド鎖（それぞれ配列番号２５および２６）の並列と共に、対応するアミノ酸配列（配列番号２８）を示す。シグナルペプチドの位置およびＣＤＲ１～３を、各並列に示す。

【図５】図５は、Ｊ４１５抗体のマウス重鎖可変部およびいくつかの脱免疫重鎖可変部のアミノ酸配列の並列を示す。マウスアミノ酸配列を、Ｊ４１５ＶＨ（配列番号４７）と示し；脱免疫配列を、Ｊ４１５ＤＩＶＨ１（配列番号５４のアミノ酸残基１８～１３３）、Ｊ４１５ＤＩＶＨ２（配列番号５９）、Ｊ４１５ＤＩＶＨ３（配列番号６０）、およびＪ４１５ＤＩＶＨ４（配列番号４９）と示す。好ましい配列はＪ４１５ＤＩＶＨ４（配列番号４９）である。アミノ酸置換を、囲んだ残基で示す。コンセンサス配列は「大多数」と示す（配列番号６１）。

【図６】図６は、Ｊ４１５抗体のマウス軽鎖可変部およびいくつかの脱免疫軽鎖可変部の

アミノ酸配列の並列を示す。マウスアミノ酸配列を、Ｊ４１５ＶＫ（配列番号４８）と示し；脱免疫配列を、Ｊ４１５ＤＩＶＫ１（配列番号５７のアミノ酸残基１８～１２４）、Ｊ４１５ＤＩＶＫ２（配列番号６２）、Ｊ４１５ＤＩＶＫ３（配列番号６３）、Ｊ４１５ＤＩＶＫ４（配列番号６４）、Ｊ４１５ＤＩＶＫ５（配列番号５０）、Ｊ４１５ＤＩＶＫ６（配列番号６５）、Ｊ４１５ＤＩＶＫ７（配列番号６６）、およびＪ４１５ＤＩＶＫ８（配列番号６７）と示す。好ましい配列はＪ４１５ＤＩＶＫ５（配列番号５０）である。アミノ酸置換を、囲んだ残基で示す。コンセンサス配列は「大多数」と示す（配列番号６８）。

【図７Ａ－１】図７Ａは、脱免疫Ｊ４１５重鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＨ１）の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号５３～５５）を示す。シグナル配列、イントロンおよびＪ４１５ＤＩＶＨ１アミノ酸配列の相対的な位置と共に、いくつかの制限部位を示す。

【図７Ａ－２】図７Ａは、脱免疫Ｊ４１５重鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＨ１）の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号５３～５５）を示す。シグナル配列、イントロンおよびＪ４１５ＤＩＶＨ１アミノ酸配列の相対的な位置と共に、いくつかの制限部位を示す。

【図７Ａ－３】図７Ａは、脱免疫Ｊ４１５重鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＨ１）の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号５３～５５）を示す。シグナル配列、イントロンおよびＪ４１５ＤＩＶＨ１アミノ酸配列の相対的な位置と共に、いくつかの制限部位を示す。

【図７Ｂ】図７Ｂは、マウスＪ４１５重鎖可変部の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号１２５、４７、および１２６）を示す。ＣＤＲの相対的な位置およびいくつかの制限部位を示す。

【図７Ｃ】図７Ｃは、マウスＪ４１５重鎖可変部のアミノ酸配列（配列番号４７）およびＫａｂａｔサブグループ、マウスＶＨＩＩＩＣのコンセンサス配列（ＭＵＶＨＩＩＩ、配列番号６９）の並列を示す。並列に基づく、コンセンサスの大多数の配列もまた示す（配列番号７０）。

【図８Ａ－１】図８Ａは、脱免疫Ｊ４１５軽鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＫ１）の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号５６～５８）を示す。シグナル配列、イントロンおよびＪ４１５ＤＩＶＫ１アミノ酸配列の相対的な位置と共に、いくつかの制限部位を示す。

【図８Ａ－２】図８Ａは、脱免疫Ｊ４１５軽鎖可変部（Ｊ４１５ＤＩＶＫ１）の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号５６～５８）を示す。シグナル配列、イントロンおよびＪ４１５ＤＩＶＫ１アミノ酸配列の相対的な位置と共に、いくつかの制限部位を示す。

【図８Ｂ】図８Ｂは、マウスＪ４１５軽鎖可変部の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号１２７、４８、および１２８）を示す。ＣＤＲの相対的な位置およびいくつかの制限部位もまた示す。

【図８Ｃ】図８Ｃは、マウスＪ４１５軽鎖可変部のアミノ酸配列（配列番号４８）およびＫａｂａｔサブグループ、マウス可変軽鎖のコンセンサス配列（ＭｕＶＫＩ、配列番号７１）の並列を示す。並列に基づく、コンセンサスの大多数の配列もまた示す（配列番号７２）。

【図９Ａ】図９Ａは、マウスＪ５３３重鎖可変部の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号７３～７５）を示す。ＣＤＲの相対的な位置および制限部位を示す。

【図９Ｂ】図９Ｂは、マウスＪ５３３重鎖可変部のアミノ酸配列（配列番号７４）およびＫａｂａｔサブグループ、マウス可変重鎖のコンセンサス配列（ＭｕＶＨＩＩＡ、配列番号７９）の並列を示す。並列に基づく、コンセンサスの大多数の配列もまた示す（配列番号８０）。

【図１０Ａ】図１０Ａは、マウスＪ５３３軽鎖可変部の核酸コード配列、アミノ酸配列、

および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号７６～７８）を示す。ＣＤＲの相対的な位置およびいくつかの制限部位を示す。

【図１０Ｂ】図１０Ｂは、マウスＪ５３３軽鎖可変部のアミノ酸配列（配列番号７７）およびＫａｂａｔサブグループ、マウスＭｕＶＫＩＩＩのコンセンサス配列（配列番号８１）の並列を示す。並列に基づく、コンセンサスの大多数の配列もまた示す（配列番号８２）。

【図１１Ａ】図１１Ａは、マウスＥ９９重鎖可変部の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号８３～８５）を示す。ＣＤＲの相対的な位置およびいくつかの制限部位を示す。

【図１１Ｂ】図１１Ｂは、マウスＥ９９重鎖可変部のアミノ酸配列（配列番号８４）およびＫａｂａｔサブグループ、マウス可変重鎖のコンセンサス配列（ＭｕＶＨＩＢ、配列番号８９）の並列を示す。並列に基づく、コンセンサスの大多数の配列もまた示す（配列番号９０）。

【図１２Ａ】図１２Ａは、マウスＥ９９軽鎖可変部の核酸コード配列、アミノ酸配列、および核酸逆相補配列（それぞれ配列番号８６～８８）を示す。ＣＤＲの相対的な位置およびいくつかの制限部位を示す。

【図１２Ｂ】図１２Ｂは、マウスＥ９９軽鎖可変部のアミノ酸配列（配列番号８７）およびＫａｂａｔサブグループ、マウス可変軽鎖のコンセンサス配列（ＭｕＶＫＩ、配列番号９１）の並列を示す。並列に基づく、コンセンサスの大多数の配列もまた示す（配列番号９２）。

【図１３Ａ】図１３Ａは、^{90}Y-DOTA-deJ591の単回用量で治療された２患者に関する時間の関数としての血清PSAレベルを示す。０日目は、^{90}Y-DOTA-deJ591を投与した日に相当する。

【図１３Ｂ】図１３Ｂは、^{90}Y-DOTA-deJ591の単回用量で治療された２患者に関する時間の関数としての血清PSAレベルを示す。０日目は、^{90}Y-DOTA-deJ591を投与した日に相当する。

【図１４】図１４は、^{177}Lu-DOTA-deJ591の単回用量で治療された患者に関する時間の関数としての血清PSAレベルを示す。０日目は、^{177}Lu-DOTA-deJ591を投与した日に相当する。

【図１５】図１５は、DM1及びメイタンシン、DM1を抗体にコンジュゲートさせるために用いられるDM1のチオール反応基を有さない関連分子の化学構造を示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Cornell Research Foundation, Inc.

<120> MODIFIED ANTIBODIES TO PROSTATE-SPECIFIC
MEMBRANE ANTIGEN AND USES THEREOF

<130> 10448-163WO1

<150> 60/323,585
<151> 2001-09-20

<150> 60/362,810
<151> 2002-03-08

<150> 60/295,214
<151> 2001-06-01

<160> 128

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 1
Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His
1 5 10

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 2
Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15
Asp

<210> 3
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 3
Gly Trp Asn Phe Asp Tyr
1 5

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 4
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 5
Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 6
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 7
<211> 82
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 7
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Thr Ser Trp Val Lys Gln Ser His Gly
20 25 30
Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser
35 40 45
Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser
50 55 60
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
65 70 75 80
Ser Ser

<210> 8
<211> 80
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 8
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
20 25 30
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly
35 40 45
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Glu Asp
50 55 60
Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Phe Gly Ala Gly Thr Met Leu Asp Leu Lys
65 70 75 80

<210> 9
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser
20 25

<210> 10
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 10
Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 11
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 11
Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
20 25 30

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 12
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 13
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 13
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Leu Thr Cys
20

<210> 14
<211> 15

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 14
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Pro Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 15
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 15
Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 16
Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
1 5 10

<210> 17
<211> 82
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 17
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly
20 25 30
Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser
35 40 45
Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
50 55 60
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Leu Thr Val
65 70 75 80
Ser Ser

<210> 18
<211> 80
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 18
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Leu Thr Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Pro Ser
            20   25   30
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
        35   40   45
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
    50   55   60
Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
65   70   75   80

<210> 19
<211> 115
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 19
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Thr
 1   5   10   15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
            20   25   30
Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
    50   55   60
Glu Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
            100   105   110
Val Ser Ser
        115

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 20
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
            20   25   30
Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
        35   40   45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
65   70   75   80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
                85   90   95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Met Leu Asp Leu Lys
            100   105

<210> 21
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 21
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30
Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Glu Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Leu Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 22
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Pro Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 807
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> CDS
<222> (122)...(166)

<221> CDS
<222> (249)...(605)

<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 23
aagcttatga atatgcaaat cctctgaatc tacatggtaa atataggttt gtctatacca 60
caaacagaaa aacatgagat cacagttctc tctacagtta ctgagcacac aggacctcac 120
c atg gga tgg agc tgt atc atc ctc ttc ttg gta gca aca gct aca 166
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
1 5 10 15

ggtaaggggc tcacagtagc aggcttgagg tctggacata tatatgggtg acaatgacat 226
ccactttgcc tttctctcca ca ggt gtc cac tcc gag gtc caa ctg gta cag 278
Gly Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Gln
20 25

tct gga cct gaa gtg aag aag cct ggg gct aca gtg aag ata tcc tgc 326
Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser Cys
30 35 40

aag act tct gga tac aca ttc act gaa tat acc ata cac tgg gtg aag 374
Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys
45 50 55

cag gcc cct gga aag ggc ctt gag tgg att gga aac atc aat cct aac 422
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn
60 65 70

aat ggt ggt acc acc tac aat cag aag ttc gag gac aag gcc aca cta 470
Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Lys Ala Thr Leu
75 80 85

act gta gac aag tcc acc gat aca gcc tac atg gag ctc agc agc cta 518
Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
90 95 100 105

aga tct gag gat act gca gtc tat tat tgt gca gct ggt tgg aac ttt 566
Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe
110 115 120

gac tac tgg ggc caa ggg acc ctg ctc acc gtc tcc tca ggtgagtcct 615
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Leu Thr Val Ser Ser
125 130

tacaacctct ctcttctatt cagcttaaat agattttact gcatttgttg gggggaaat 675
gtgtgtatct gaatttcagg tcatgaagga ctagggacac cttgggagtc agaaagggtc 735
attgggagcc cgggctgatg cagacagaca tcctcagctc ccagacttca tggccagaga 795
tttataggat cc 807

<210> 24
<211> 807
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 24
ggatcctata aatctctggc catgaagtct gggagctgag gatgtctgtc tgcatcagcc 60
cgggctccca atgacccttt ctgactccca aggtgtccct agtccttcat gacctgaaat 120
tcagatacac acatttcccc cccaacaaat gcagtaaaat ctatttaagc tgaatagaag 180
agagaggttg taaggactca cctgaggaga cggtgagcag ggtcccttgg ccccagtagt 240

caaagttcca accagctgca caataataga ctgcagtatc ctcagatctt aggctgctga 300
gctccatgta ggctgtatcg gtggacttgt ctacagttag tgtggccttg tcctcgaact 360
tctgattgta ggtggtacca ccattgttag gattgatgtt tccaatccac tcaaggccct 420
ttccaggggc ctgcttcacc cagtgtatgg tatattcagt gaatgtgtat ccagaagtct 480
tgcaggatat cttcactgta gccccaggct tcttcacttc aggtccagac tgtaccagtt 540
ggacctcgga gtggacacct gtggagagaa aggcaaagtg gatgtcattg tcacccatat 600
atatgtccag acctcaagcc tgctactgtg agccccttac ctgtagctgt tgctaccaag 660
aagaggatga tacagctcca tcccatggtg aggtcctgtg tgctcagtaa ctgtagagag 720
aactgtgatc tcatgttttt ctgtttgtgg tatagacaaa cctatattta ccatgtagat 780
tcagaggatt tgcatattca taagctt 807

<210> 25
<211> 620
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> CDS
<222> (122)...(166)

<221> CDS
<222> (249)...(581)

<223> deimmunized light chain J591

<400> 25
aagcttatga atatgcaaat cctctgaatc tacatggtaa atataggttt gtctatacca 60
caaacagaaa aacatgagat cacagttctc tctacagtta ctgagcacac aggacctcac 120
c atg gga tgg agc tgt atc atc ctc ttc ttg gta gca aca gct aca 166
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
1 5 10 15

ggtaaggggc tcacagtagc aggcttgagg tctggacata tatatgggtg acaatgacat 226
ccactttgcc tttctctcca ca ggt gtc cac tcc gac atc cag atg acc cag 278
Gly Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
20 25

tct ccc tca tcc ctg tcc aca tca gta gga gac agg gtc acc ctc acc 326
Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Leu Thr
30 35 40

tgt aag gcc agt caa gat gtg ggt act gct gta gac tgg tat caa cag 374
Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln
45 50 55

aaa cca gga cca tct cct aaa cta ctg att tat tgg gca tcc act cgg 422
Lys Pro Gly Pro Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
60 65 70

cac act gga atc cct agt cgc ttc tca ggc agt gga tct ggg aca gac 470
His Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
75 80 85

ttc act ctc acc att tct agt ctt cag cct gaa gac ttt gca gat tat 518
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr
90 95 100 105

tac tgt cag caa tat aac agc tat cct ctc acg ttc ggt cct ggg acc 566
Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr
110 115 120

```
aag gtg gac atc aaa cgtgagtaga atttaaactt tgcttcctca gttggatcc       620
Lys Val Asp Ile Lys
            125


<210> 26
<211> 620
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591

<400> 26
ggatccaact gaggaagcaa agtttaaatt ctactcacgt ttgatgtcca ccttggtccc      60
aggaccgaac gtgagaggat agctgttata ttgctgacag taataatctg caaagtcttc     120
aggctgaaga ctagaaatgg tgagagtgaa gtctgtccca gatccactgc ctgagaagcg     180
actagggatt ccagtgtgcc gagtggatgc ccaataaatc agtagtttag gagatggtcc     240
tggtttctgt tgataccagt ctacagcagt acccacatct tgactggcct tacaggtgag     300
ggtgaccctg tctcctactg atgtggacag ggatgaggga gactgggtca tctggatgtc     360
ggagtggaca cctgtggaga gaaaggcaaa gtggatgtca ttgtcaccca tatatatgtc     420
cagacctcaa gcctgctact gtgagccccc tacctgtagc tgttgctacc aagaagagga     480
tgatacagct ccatcccatg gtgaggtcct gtgtgctcag taactgtaga gagaactgtg     540
atctcatgtt tttctgtttg tggtatagac aaacctatat ttaccatgta gattcagagg     600
atttgcatat tcataagctt                                                620

<210> 27
<211> 134
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J591

<400> 27
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1               5                  10                  15
Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys
            20                  25                  30
Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe
        35                  40                  45
Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60
Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn
65                  70                  75                  80
Gln Lys Phe Glu Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp
                85                  90                  95
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
            100                 105                 110
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        115                 120                 125
Leu Leu Thr Val Ser Ser
    130

<210> 28
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J591
```

<400> 28
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1   5   10   15
Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr
            20   25   30
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val
        35   40   45
Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Pro Ser Pro Lys
    50   55   60
Leu Leu Ile Tyr Cys Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Ile Pro Ser Arg
65   70   75   80
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
                85   90   95
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser
            100   105   110
Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
        115   120   125

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 29
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn
 1   5   10

<210> 30
<211> 19
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 30
Glu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
 1   5   10   15
Val Lys Gly

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 31
Arg Trp Asn Asn Phe
 1   5

<210> 32
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 32
Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr Val Ser
 1   5   10

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 33
Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 34
Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 35
<211> 82
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 35
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu
20 25 30
Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser
35 40 45
Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr
50 55 60
Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
65 70 75 80
Ser Ser

<210> 36
<211> 80
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 36
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser
20 25 30
Pro Lys Met Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly
35 40 45
Ser Ala Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp
50 55 60
Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
65 70 75 80

<210> 37
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 37
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 38
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 38
Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 39
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 39
Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
20 25 30

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 40
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 41
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 41
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys
20

<210> 42
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 42
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 43
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 43
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 44
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
1 5 10

<210> 45
<211> 82
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 45
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu
20 25 30
Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser
35 40 45
Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
50 55 60
Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
65 70 75 80
Ser Ser

<210> 46
<211> 80
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 46
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser
20 25 30
Pro Lys Met Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
35 40 45
Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp
50 55 60
Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
65 70 75 80

<210> 47
<211> 116
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 47
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 48
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 48
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
20 25 30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Thr
65 70 75 80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 49
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 49
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Met Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20   25   30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Glu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50   55   60
Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65   70   75   80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85   90   95
Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
            100   105   110
Thr Val Ser Ser
        115

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 50
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
            20   25   30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
        35   40   45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65   70   75   80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
                85   90   95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
            100   105

<210> 51
<211> 348
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-4

<400> 51
gaagtgaaac ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggagggtc catgaaaatc 60
tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt aattactgga tgaactgggt ccgccagtct 120
ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagatcgc aatctaataa ttttgcaaca 180
cattatgcgg agtctgtgaa agggagggtc atcatctcaa gagatgattc caagagtagt 240
gtctacctgc aaatgaacag tttgagagct gaagacactg ccgtttatta ctgtaccagg 300
cgatggaata atttctgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctca 348

<210> 52
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-5

<400> 52
aacattgtaa tgacccaatt tcccaaatcc atgtccgcct cagcaggaga gaggatgacc 60
ttgacctgca aggccagtga gaatgtgggt acttatgtgt cctggtatca acagaaacca 120
acacagtctc ctaagatgtt gatatacggg gcatccaacc ggttcactgg ggtcccagat 180
cgcttctccg gcagtggatc tggaacagat ttcattctga ccatcagcag tgtgcaggca 240
gaagaccttg tagattatta ctgtggacag agttacacct ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaatgaa g 321

<210> 53
<211> 810
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-1

<221> CDS
<222> (122)...(160)

<221> CDS
<222> (249)...(608)

<400> 53
aagcttatga atatgcaaat cctctgaatc tacatggtaa atataggttt gtctatacca 60
caaacagaaa aacatgagat cacagttctc tctacagtta ctgagcacac aggacctcac 120
c atg gga tgg agc tgt atc atc ctc ttc ttg gta gca aca gctacaggta 170
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr
1 5 10

aggggctcac agtagcaggc ttgaggtctg gacatatata tgggtgacaa tgacatccac 230
tttgcctttc tctccaca ggt gtc cac tcc gaa gtg aaa ctt gag gag tct 281
Gly Val His Ser Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser
15 20

gga gga ggc ttg gtg caa cct gga ggg tcc atg aaa atc tcc tgt aaa 329
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys
25 30 35 40

gcc tct gga ttc act ttc agt aat tac tgg atg aac tgg gtc cgc cag 377
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln
45 50 55

act cca gag aag ggg ctt gag tgg gtt gct ctt att aga tcg caa tct 425
Thr Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Arg Ser Gln Ser
60 65 70

aat aat ttt gca aca cat tat gcg gag tct gtg aaa ggg agg gtc atc 473
Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Val Ile
75 80 85

atc tca aga gat gat tcc aag agt agt gtc tac ctg caa atg aac agt 521
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser

```
     90                  95                 100

ttg aga gct gaa gac act gcc gtt tat tac tgt acc agg cga tgg aat      569
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn
105                 110                 115                 120

aat ttc tgg ggc caa ggc acc act gtc aca gtc tcc tca ggtgagtcct       618
Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
                125                 130

tacaacctct ctcttctatt cagcttaaat agattttact gcatttgttg gggggaaat     678
gtgtgtatct gaatttcagg tcatgaagga ctagggacac cttgggagtc agaaagggtc    738
attgggagcc cgggctgatg cagacagaca tcctcagctc ccagacttca tggccagaga    798
tttataggat cc                                                       810
```

<210> 54
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-1

```
<400> 54
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Gly Val His
 1               5                  10                  15
Ser Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
        35                  40                  45
Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp
    50                  55                  60
Val Ala Leu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala
65                  70                  75                  80
Glu Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser
                85                  90                  95
Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
            100                 105                 110
Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr
        115                 120                 125
Val Thr Val Ser Ser
    130
```

<210> 55
<211> 810
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-1

```
<400> 55
ggatcctata aatctctggc catgaagtct gggagctgag gatgtctgtc tgcatcagcc      60
cgggctccca atgacccttt ctgactccca aggtgtccct agtccttcat gacctgaaat     120
tcagatacac acatttcccc cccaacaaat gcagtaaaat ctatttaagc tgaatagaag     180
agagaggttg taaggactca cctgaggaga ctgtgacagt ggtgccttgg ccccagaaat     240
tattccatcg cctggtacag taataaacgg cagtgtcttc agctctcaaa ctgttcattt     300
gcaggtagac actactcttg gaatcatctc ttgagatgat gaccctccct ttcacagact     360
ccgcataatg tgttgcaaaa ttattagatt gcgatctaat aagagcaacc cactcaagcc     420
ccttctctgg agtctggcgg acccagttca tccagtaatt actgaaagtg aatccagagg     480
ctttacagga gattttcatg gaccctccag gttgcaccaa gcctcctcca gactcctcaa     540
```

```
gtttcacttc ggagtggaca cctgtggaga gaaaggcaaa gtggatgtca ttgtcaccca     600
tatatatgtc cagacctcaa gcctgctact gtgagcccct tacctgtagc tgttgctacc     660
aagaagagga tgatacagct ccatcccatg gtgaggtcct gtgtgctcag taactgtaga     720
gagaactgtg atctcatgtt tttctgtttg tggtatagac aaacctatat ttaccatgta     780
gattcagagg atttgcatat tcataagctt                                      810

<210> 56
<211> 620
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-1

<221> CDS
<222> (122)...(160)

<221> CDS
<222> (249)...(581)

<400> 56
aagcttatga atatgcaaat cctctgaatc tacatggtaa atataggttt gtctatacca      60
caaacagaaa aacatgagat cacagttctc tctacagtta ctgagcacac aggacctcac     120
c atg gga tgg agc tgt atc atc ctc ttc ttg gta gca aca gctacaggta      170
  Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr
   1               5                  10

aggggctcac agtagcaggc ttgaggtctg gacatatata tgggtgacaa tgacatccac     230
tttgcctttc tctccaca ggt gtc cac tcc aac att gta atg acc caa tcc        281
                    Gly Val His Ser Asn Ile Val Met Thr Gln Ser
                         15                  20

ccc aaa tcc atg tcc gcc tca gca gga gag agg atg acc ttg acc tgc       329
Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys
 25                  30                  35                  40

aag gcc agt gag aat tcc ggt act tat gtg tcc tgg tat caa cag aaa       377
Lys Ala Ser Glu Asn Ser Gly Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys
                 45                  50                  55

cca aca cag tct cct aag atg ttg ata tac ggg gca tcc aac cgg ttc       425
Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe
             60                  65                  70

act ggg gtc cca gat cgc ttc tcc ggc agt gga tct gga aca gat ttc       473
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
         75                  80                  85

att ctg acc gcc agc agt gtg cag gca gaa gac cct gta gat tat tac       521
Ile Leu Thr Ala Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Pro Val Asp Tyr Tyr
     90                  95                  100

tgt gga cag agt tac acc ttt ccg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag       569
Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
105                 110                 115                 120

ctg gaa atg aag cgtgagtaga atttaaactt tgcttcctca gttggatcc           620
Leu Glu Met Lys
```

<210> 57
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-1

<400> 57
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Gly Val His
 1   5   10   15
Ser Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala
            20   25   30
Gly Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Ser Gly Thr
        35   40   45
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu
    50   55   60
Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
65   70   75   80
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ala Ser Ser Val Gln
                85   90   95
Ala Glu Asp Pro Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro
            100   105   110
Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
        115   120

<210> 58
<211> 620
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-1

<400> 58
ggatccaact gaggaagcaa agtttaaatt ctactcacgc ttcatttcca gcttggtccc 60
ccctccgaac gtgtacggaa aggtgtaact ctgtccacag taataatcta cagggtcttc 120
tgcctgcaca ctgctggcgg tcagaatgaa atctgttcca gatccactgc cggagaagcg 180
atctgggacc ccagtgaacc ggttggatgc cccgtatatc aacatcttag gagactgtgt 240
tggtttctgt tgataccagg acacataagt accggaattc tcactggcct tgcaggtcaa 300
ggtcatcctc tctcctgctg aggcggacat ggatttgggg gattgggtca ttacaatgtt 360
ggagtggaca cctgtggaga gaaaggcaaa gtggatgtca ttgtcaccca tatatatgtc 420
cagacctcaa gcctgctact gtgagccccc tacctgtagc tgttgctacc aagaagagga 480
tgatacagct ccatcccatg gtgaggtcct gtgtgctcag taactgtaga gagaactgtg 540
atctcatgtt tttctgtttg tggtatagac aaacctatat ttaccatgta gattcagagg 600
atttgcatat tcataagctt 620

<210> 59
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-2

<400> 59
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Met Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20   25   30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

```
        35                  40                  45
Ala Leu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50                  55                  60
Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65                  70                  75                  80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 60
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized heavy chain J415-3

<400> 60

```
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Met Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Glu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50                  55                  60
Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65                  70                  75                  80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 61
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 61

```
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Met Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Glu Ile Arg Ser Gln Ser Asn Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50                  55                  60
Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65                  70                  75                  80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Thr Arg Arg Trp Asn Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
            100                 105                 110
```

Thr Val Ser Ser
115

<210> 62
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-2

<400> 62
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
20 25 30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ala Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Pro Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 63
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-3

<400> 63
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
20 25 30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ala Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 64
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-4

<400> 64
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly

```
 1               5                  10                  15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
            20                  25                  30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65                  70                  75                  80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
            100                 105
```

<210> 65
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-6

<400> 65

```
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
            20                  25                  30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65                  70                  75                  80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
            100                 105
```

<210> 66
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-7

<400> 66

```
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
            20                  25                  30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65                  70                  75                  80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
            100                 105
```

<210> 67
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> deimmunized light chain J415-8

<400> 67
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Ser Gly Thr Tyr
            20   25   30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
        35   40   45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65   70   75   80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
                85   90   95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
            100   105

<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 68
Asn Ile Val Met Thr Gln Phe Pro Lys Ser Met Ser Ala Ser Ala Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Met Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr
            20   25   30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Thr Gln Ser Pro Lys Met Leu Ile
        35   40   45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65   70   75   80
Glu Asp Leu Val Asp Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Thr Phe Pro Tyr
                85   90   95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
            100   105

<210> 69
<211> 123
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 69
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20   25   30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45

```
Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50                  55                  60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65                  70                  75                  80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Tyr Gly Gly Arg Arg Ser Trp Phe Ala Tyr
            100                 105                 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 70
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 70

```
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Glu Ile Arg Leu Gln Ser Asp Asn Phe Ala Thr His Tyr Ala Glu
    50                  55                  60
Ser Val Lys Gly Arg Val Ile Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65                  70                  75                  80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Tyr Gly Gly Arg Arg Ser Trp Asn Ala Phe
            100                 105                 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 71
<211> 113
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 71

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1               5                  10                  15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
            20                  25                  30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95
Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
            100                 105                 110
Lys
```

<210> 72

<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 72
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1   5   10   15
Glu Lys Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Ser Leu Leu Asn Val
            20   25   30
Gly Asn Gln Lys Thr Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35   40   45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50   55   60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr
65   70   75   80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Asn
                85   90   95
Ser Tyr Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu
            100   105   110
Lys

<210> 73
<211> 354
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(354)

<400> 73
gag gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag ctg gtt aag cct ggg gct 48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15

tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct gga tac aca ttc act ggc tat 96
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
            20   25   30

gtt atg cac tgg gtg aag cag aag cct gga cag gtc ctt gag tgg att 144
Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile
        35   40   45

gga tat att aat cct tac aat gat gtt act agg tat aat ggg aag ttc 192
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Arg Tyr Asn Gly Lys Phe
    50   55   60

aaa ggc aag gcc aca ctg acc tca gac aaa tat tcc agc aca gcc tac 240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Tyr Ser Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80

atg gag ctc agc ggc ctg acc tct gag gac tct gcg gtc tat tac tgt 288
Met Glu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95

gca aga ggg gag aac tgg tac tac ttt gac tcc tgg ggc cga ggc gcc 336
Ala Arg Gly Glu Asn Trp Tyr Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Arg Gly Ala

```
            100                 105                 110

act ctc aca gtc tcc tca                                          354
Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115


<210> 74
<211> 118
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 74
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
            20                  25                  30
Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Arg Tyr Asn Gly Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Tyr Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Glu Asn Trp Tyr Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Arg Gly Ala
            100                 105                 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115

<210> 75
<211> 354
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 75
tgaggagact gtgagagtgg cgcctcggcc ccaggagtca aagtagtacc agttctcccc      60
tcttgcacag taatagaccg cagagtcctc agaggtcagg ccgctgagct ccatgtaggc     120
tgtgctggaa tatttgtctg aggtcagtgt ggccttgcct ttgaacttcc cattatacct     180
agtaacatca ttgtaaggat taatatatcc aatccactca aggacctgtc caggcttctg     240
cttcacccag tgcataacat agccagtgaa tgtgtatcca gaagccttgc aggacatctt     300
cactgaagcc ccaggcttaa ccagctcagg tccagactgc tgcagctgga cctc           354

<210> 76
<211> 333
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(333)

<400> 76
gac att gtg ctg acc caa tct cca gct tct ttg gct gtg tct cta gga       48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15

cag agg gcc acc ata tcc tgc aga gcc agt gaa agt att gat agt tat       96
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Ile Asp Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
gac aat act ttt atg cac tgg tac cag cag aaa cca gga cag cca ccc      144
Asp Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
         35                  40                  45

aac ctc ctc atc ttt cgt gca tcc atc cta gaa tct ggg atc cct gcc      192
Asn Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Ile Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
     50                  55                  60

agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc acc ctc acc att tat      240
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Tyr
 65                  70                  75                  80

cct gtg gag gct gat gat gtt gca acc tat tac tgt cac caa agt att      288
Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ile
                 85                  90                  95

gag gat ccg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa          333
Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 77
<211> 111
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 77

```
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Ile Asp Ser Tyr
            20                  25                  30
Asp Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Asn Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Ile Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Tyr
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ile
                85                  90                  95
Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 78
<211> 333
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 78

```
ttttatttcc agcttggtcc cccctccgaa cgtgtacgga tcctcaatac tttggtgaca      60
gtaataggtt gcaacatcat cagcctccac aggataaatg gtgagggtga agtctgtccc     120
agacccactg ccactgaacc tggcagggat cccagattct aggatggatg cacgaaagat     180
gaggaggttg ggtggctgtc ctggtttctg ctggtaccag tgcataaaag tattgtcata     240
actatcaata ctttcactgg ctctgcagga tatggtggcc ctctgtccta gagacacagc     300
caaagaagct ggagattggg tcagcacaat gtc                                  333
```

<210> 79
<211> 125
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 79

```
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Asn Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp
        35                  40                  45
Ile Gly Asp Ile Asn Pro Gly Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys
    50                  55                  60
Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
65                  70                  75                  80
Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95
Cys Ala Arg Gly Tyr Tyr Ser Ser Ser Tyr Met Ala Tyr Tyr Ala Phe
            100                 105                 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 80
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 80

```
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
            20                  25                  30
Val Met Asn Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp
        35                  40                  45
Ile Gly Asp Ile Asn Pro Gly Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gly Lys
    50                  55                  60
Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
65                  70                  75                  80
Tyr Met Glu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95
Cys Ala Arg Gly Glu Asn Ser Ser Ser Tyr Met Ala Tyr Tyr Ala Phe
            100                 105                 110
Asp Ser Trp Gly Gln Gly Ala Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 81
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 81

```
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Glu Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
                85                  90                  95
```

```
Glu Asp Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110

<210> 82
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 82
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Asn Leu Leu Ile Phe Ala Ala Ser Ile Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile
                85                  90                  95
Glu Asp Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110

<210> 83
<211> 363
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(363)

<400> 83
cag gtg cag cta aag gag tca gga cct ggc ctg gtg gcg tcc tca cag      48
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Ser Ser Gln
 1               5                  10                  15

agc ctg tcc atc aca tgc acc gtc tca gga ttc tca tta acc gcc tat      96
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ala Tyr
            20                  25                  30

ggt att aac tgg gtt cgc cag cct cca gga aag ggt ctg gag tgg ctg     144
Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45

gga gtg ata tgg cct gat gga aac aca gac tat aat tca act ctc aaa     192
Gly Val Ile Trp Pro Asp Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Lys
    50                  55                  60

tcc aga ctg aac atc ttc aag gac aac tcc aag aac caa gtt ttc tta     240
Ser Arg Leu Asn Ile Phe Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
65                  70                  75                  80

aaa atg agc agt ttc caa act gat gac aca gcc aga tac ttc tgt gcc     288
Lys Met Ser Ser Phe Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95
```

```
aga gat tcg tat ggt aac ttc aag agg ggt tgg ttt gac ttc tgg ggc      336
Arg Asp Ser Tyr Gly Asn Phe Lys Arg Gly Trp Phe Asp Phe Trp Gly
            100                 105                 110

cag ggc acc act ctc aca gtc tcc tca                                  363
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115                 120


<210> 84
<211> 121
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 84
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Ser Ser Gln
 1               5                  10                  15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ala Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Gly Val Ile Trp Pro Asp Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Lys
    50                  55                  60
Ser Arg Leu Asn Ile Phe Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
65                  70                  75                  80
Lys Met Ser Ser Phe Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95
Arg Asp Ser Tyr Gly Asn Phe Lys Arg Gly Trp Phe Asp Phe Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115                 120

<210> 85
<211> 363
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 85
tgaggagact gtgagagtgg tgccctggcc ccagaagtca aaccaacccc tcttgaagtt      60
accatacgaa tctctggcac agaagtatct ggctgtgtca tcagtttgga aactgctcat     120
ttttaagaaa acttggttct tggagttgtc cttgaagatg ttcagtctgg atttgagagt     180
tgaattatag tctgtgtttc catcaggcca tatcactccc agccactcca gacccttccc     240
tggaggctgg cgaacccagt taataccata ggcggttaat gagaatcctg agacggtgca     300
tgtgatggac aggctctgtg aggacgccac caggccaggt cctgactcct ttagctgcac     360
ctg                                                                  363

<210> 86
<211> 321
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(321)

<400> 86
aac att gtg atg acc cag tct caa aaa ttc atg tcc aca tca cca gga       48
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15

gac agg gtc agg gtc acc tgc aag gcc agt cag aat gtg ggt tct gat       96
```

```
Asp Arg Val Arg Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asp
            20                  25                  30

gta gcc tgg tat caa gcg aaa cca gga caa tct cct aga ata ctg att      144
Val Ala Trp Tyr Gln Ala Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Ile Leu Ile
         35                  40                  45

tac tcg aca tcc tac cgt tac agt ggg gtc cct gat cgc ttc aca gcc      192
Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Ala
     50                  55                  60

tat gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc att acc aat gtg cag tct      240
Tyr Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
 65                  70                  75                  80

gaa gac ttg aca gag tat ttc tgt cag caa tat aat agc tat cct ctc      288
Glu Asp Leu Thr Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
                 85                  90                  95

acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg aaa                          321
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
            100                 105


<210> 87
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 87
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Arg Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asp
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Ala Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Ile Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Ala
    50                  55                  60
Tyr Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
65                  70                  75                  80
Glu Asp Leu Thr Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
            100                 105


<210> 88
<211> 321
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 88
tttcagctcc agcttggtcc cagcaccgaa cgtgagagga tagctattat attgctgaca      60
gaaatactct gtcaagtctt cagactgcac attggtaatg gtgagagtga aatctgtccc     120
agatccatag gctgtgaagc gatcagggac cccactgtaa cggtaggatg tcgagtaaat     180
cagtattcta ggagattgtc ctggtttcgc ttgataccag gctacatcag aacccacatt     240
ctgactggcc ttgcaggtga ccctgaccct gtctcctggt gatgtggaca tgaatttttg     300
agactgggtc atcacaatgt t                                               321

<210> 89
<211> 121
<212> PRT
```

<213> Mus musculus

<400> 89

```
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Ser Ser Gln
 1               5                  10                  15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ala Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Gly Val Ile Trp Pro Asp Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Lys
    50                  55                  60
Ser Arg Leu Asn Ile Phe Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
65                  70                  75                  80
Lys Met Ser Ser Phe Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95
Arg Asp Ser Tyr Gly Asn Phe Lys Arg Gly Trp Phe Asp Phe Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 90
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 90

```
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Ser Ser Gln
 1               5                  10                  15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ala Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Gly Val Ile Trp Pro Asp Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Lys
    50                  55                  60
Ser Arg Leu Asn Ile Phe Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
65                  70                  75                  80
Lys Met Ser Ser Phe Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95
Arg Asp Ser Tyr Gly Asn Phe Lys Arg Gly Trp Phe Asp Phe Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 91
<211> 113
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 91

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1               5                  10                  15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
            20                  25                  30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
```

65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys

<210> 92
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> majority sequence

<400> 92
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Asp Lys Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Leu Leu Asn Val
20 25 30
Gly Ser Asp Lys Asn Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Ala Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys Arg Ala
115

<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 93
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Val Met His
1 5 10

<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 94
Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Arg Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 95
Gly Glu Asn Trp Tyr Tyr Phe Asp Ser

1 5

<210> 96
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 96
Arg Ala Ser Glu Ser Ile Asp Ser Tyr Asp Asn Thr Phe Met His
1 5 10 15

<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus Musculus

<400> 97
Arg Ala Ser Ile Leu Glu Ser
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 98
His Gln Ser Ile Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 99
Gly Phe Ser Leu Thr Ala Tyr Gly Ile Asn
1 5 10

<210> 100
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 100
Val Ile Trp Pro Asp Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 101
<211> 13
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 101
Asp Ser Tyr Gly Asn Phe Lys Arg Gly Trp Phe Asp Phe
1 5 10

<210> 102
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 102
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asp Val Ala
1 5 10

<210> 103
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 103
Ser Thr Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 104
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 105
<211> 25
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 105
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 106
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 106
Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Val Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 107
<211> 32
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 107
Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Tyr Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 108
Trp Gly Arg Gly Ala Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 109
<211> 82
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 109
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly
20 25 30
Gln Val Leu Glu Trp Ile Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Tyr
35 40 45
Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser
50 55 60
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Arg Gly Ala Thr Leu Thr Val
65 70 75 80
Ser Ser

<210> 110
<211> 23
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 110
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys
20

<210> 111
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 111
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Asn Leu Leu Ile Phe
1 5 10 15

<210> 112
<211> 32
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 112
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Tyr Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 113
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 113
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 114

<211> 80
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 114
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
20 25 30
Pro Asn Leu Leu Ile Phe Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
35 40 45
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Tyr Pro Val Glu Ala Asp Asp
50 55 60
Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
65 70 75 80

<210> 115
<211> 25
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 115
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Ser Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser
20 25

<210> 116
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 116
Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 117
<211> 32
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 117
Arg Leu Asn Ile Phe Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys
1 5 10 15
Met Ser Ser Phe Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 118
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 118
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 119
<211> 82
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 119
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Ser Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly
20 25 30
Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Arg Leu Asn Ile Phe Lys Asp Asn Ser
35 40 45
Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys Met Ser Ser Phe Gln Thr Asp Asp Thr
50 55 60
Ala Arg Tyr Phe Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
65 70 75 80
Ser Ser

<210> 120
<211> 23
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 120
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Pro Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Arg Val Thr Cys
20

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 121
Trp Tyr Gln Ala Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Ile Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 122
<211> 32
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 122
Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Ala Tyr Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Thr Glu Tyr Phe Cys
20 25 30

<210> 123
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 123
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 124
<211> 80
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 124
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Pro Gly

```
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Arg Val Thr Cys Trp Tyr Gln Ala Lys Pro Gly Gln Ser
            20                  25                  30
Pro Arg Ile Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Ala Tyr Gly
        35                  40                  45
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Glu Asp
    50                  55                  60
Leu Thr Glu Tyr Phe Cys Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
65                  70                  75                  80
```

<210> 125
<211> 348
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 125
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt aattactgga tgaactgggt ccgccagtct 120
ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagatcgc aatctaataa ttttgcaaca 180
cattatgcgg agtctgtgaa agggagggtc atcatctcaa gagatgattc caagagtagt 240
gtctacctgc aaatgaacaa cttgagagct gaagacactg gcatttatta ctgtaccagg 300
cgatggaata atttctgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctca 348

<210> 126
<211> 348
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 126
tgaggagact gtgagagtgg tgccttggcc ccagaaatta ttccatcgcc tggtacagta 60
ataaatgcca gtgtcttcag ctctcaagtt gttcatttgc aggtagacac tactcttgga 120
atcatctctt gagatgatga ccctcccttt cacagactcc gcataatgtg ttgcaaaatt 180
attagattgc gatctaattt cagcaaccca ctcaagcccc ttctctggag actggcggac 240
ccagttcatc cagtaattac tgaaagtgaa tccagaggca acacaggaga gtttcatgga 300
tcctccaggt tgcaccaagc ctcctccaga ctcctcaagc ttcacttc 348

<210> 127
<211> 321
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 127
aacattgtaa tgacccaatt tcccaaatcc atgtccattt cagtaggaga gagggtcacc 60
ttgacctgca aggccagtga gaatgtgggt acttatgtgt cctggtatca acagaaacca 120
gaacagtctc ctaagatgtt gatatacggg gcatccaacc ggttcactgg ggtccccgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgcaacagat ttcattctga ccatcagcag tgtgcagact 240
gaagaccttg tagattatta ctgtggacag agttacacct ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaatgaa g 321

<210> 128
<211> 321
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 128
cttcatttcc agcttggtcc cccctccgaa cgtgtacgga aaggtgtaac tctgtccaca 60
gtaataatct acaaggtctt cagtctgcac actgctgatg gtcagaatga aatctgttgc 120
agatccactg cctgtgaagc gatcggggac cccagtgaac cggttggatg ccccgtatat 180
caacatctta ggagactgtt ctggtttctg ttgataccag gacacataag tacccacatt 240
ctcactggcc ttgcaggtca aggtgaccct ctctcctact gaaatggaca tggatttggg 300
aaattgggtc attacaatgt t 321

【図１】

マウスJ591重鎖のアミノ酸配列（CDRを示す、番号付けはKabat同様）

```
EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTS|GYTFTEYTIH|WVKQSHGKS
1         10         20         30         40
                                CDR1

LEWIG|NINPNNGGTTYNQKFED|KATLTVDKSSSTAYMELRSLTS
      50         60         70         80
           CDR2

EDSAVYYCAA|GWNFDY|WGQGTTLTVSS
     90        100        110
          CDR3
```

FIG. 1A

マウスJ591軽鎖のアミノ酸配列（CDRを示す、番号付けはKabat同様）

```
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIIC|KASQDVGTAVD|WYQQKPGQSP
1         10         20         30         40
                          CDR1

KLLIY|WASTRHT|GVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFC
      50         60         70         80
         CDR2

|QQYNSYPLT|FGAGTMLDLK
 90        100
   CDR3
```

FIG. 1B

【図２】

脱免疫J591重鎖のアミノ酸配列（CDRを示す、番号付けはKabat同様）

```
EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTS|GYTFTEYTIH|WVKQAPGKG
1         10         20         30         40
                                CDR1

LEWIG|NINPNNGGTTYNQKFED|KATLTVDKSTDTAYMELSSLRS
      50         60         70         80
           CDR2

EDTAVYYCAA|GWNFDY|WGQGTLLTVSS
     90        100        110
          CDR3
```

FIG. 2A

脱免疫J591軽鎖のアミノ酸配列（CDRを示す、番号付けはKabat同様）

```
DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTC|KASQDVGTAVD|WYQQKPGPSP
1         10         20         30         40
                          CDR1

KLLIY|WASTRHT|GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYC
      50         60         70         80
         CDR2

|QQYNSYPLT|FGPGTKVDIK
 90        100
   CDR3
```

FIG. 2B

【図３Ａ】

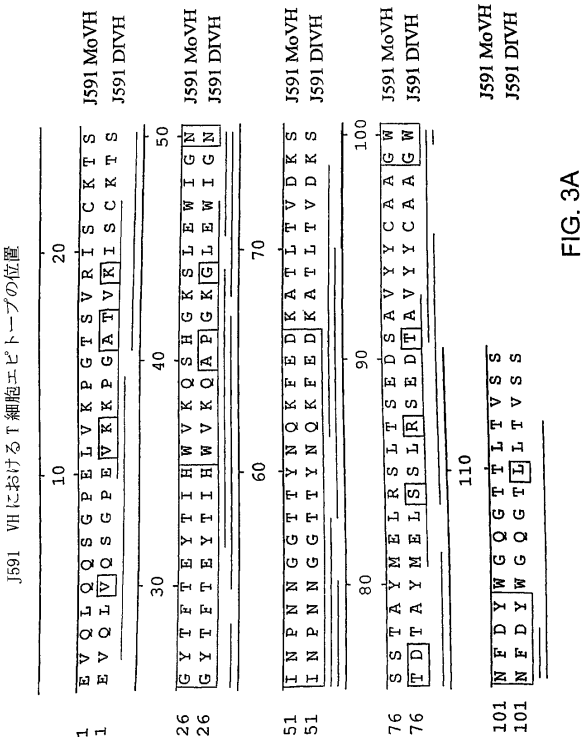


FIG. 3A

【図３Ｂ】

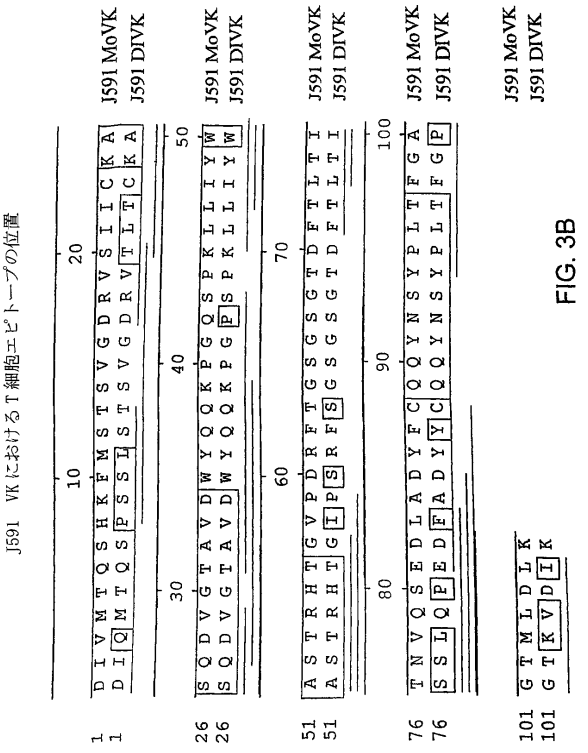


FIG. 3B

【図４Ａ－１】

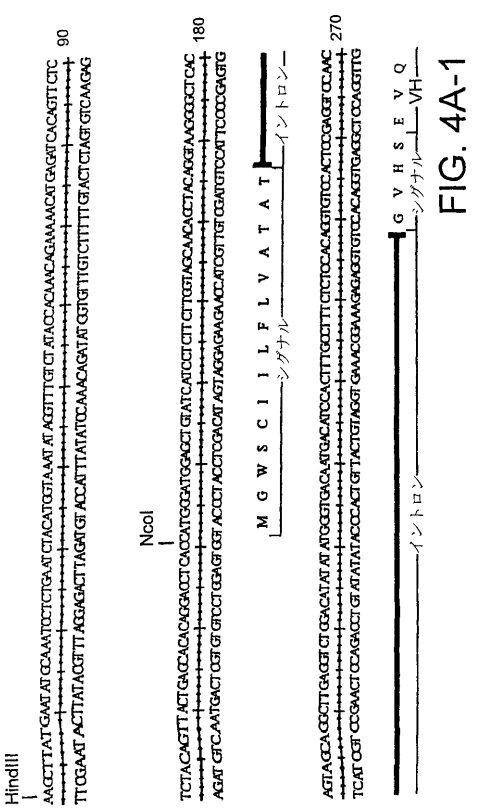


FIG. 4A-1

【図４Ａ－２】

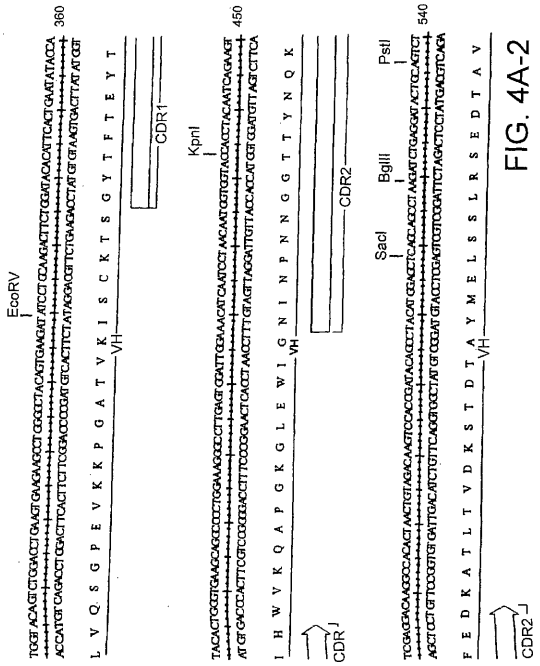


FIG. 4A-2

【図４Ａ－３】

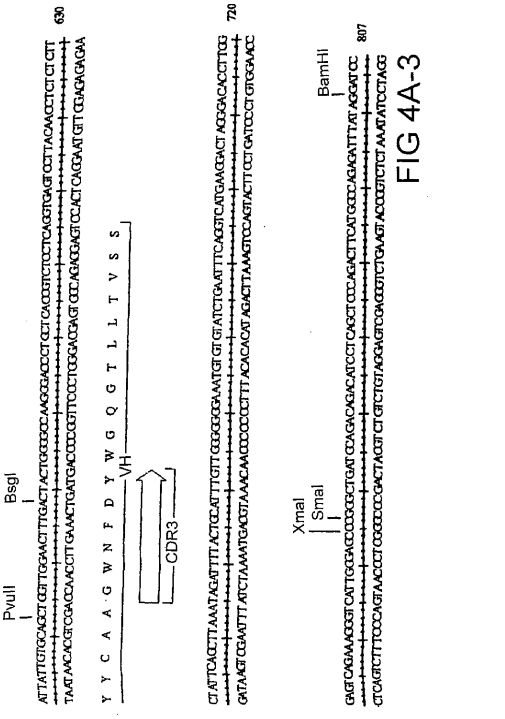


FIG 4A-3

【図４Ｂ－１】

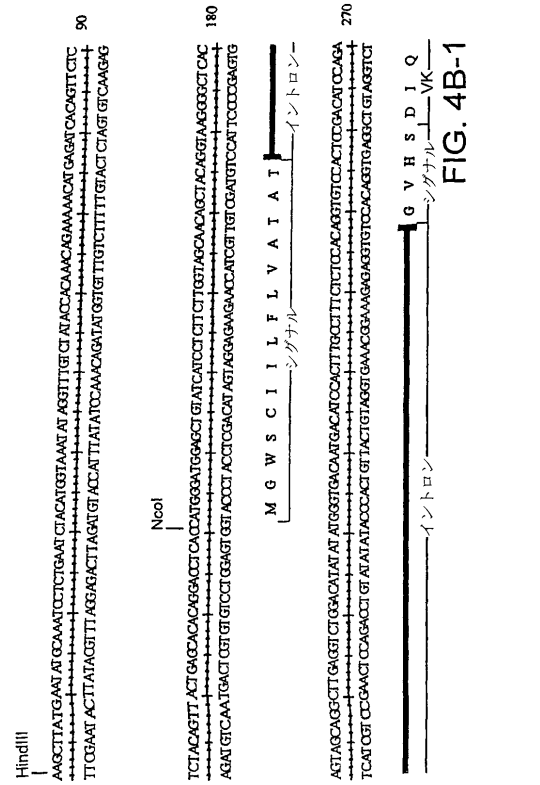
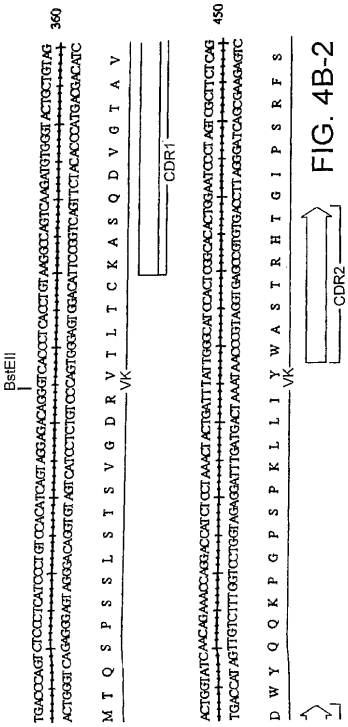
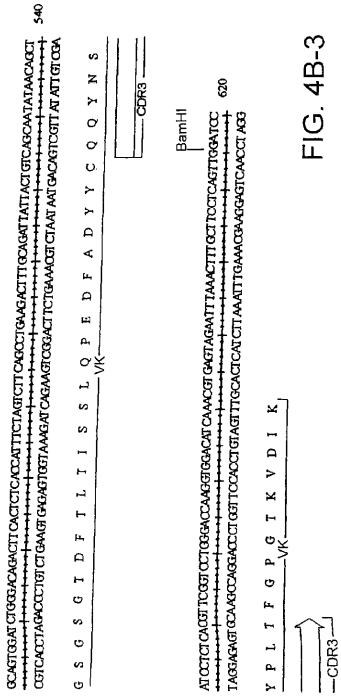


FIG. 4B-1

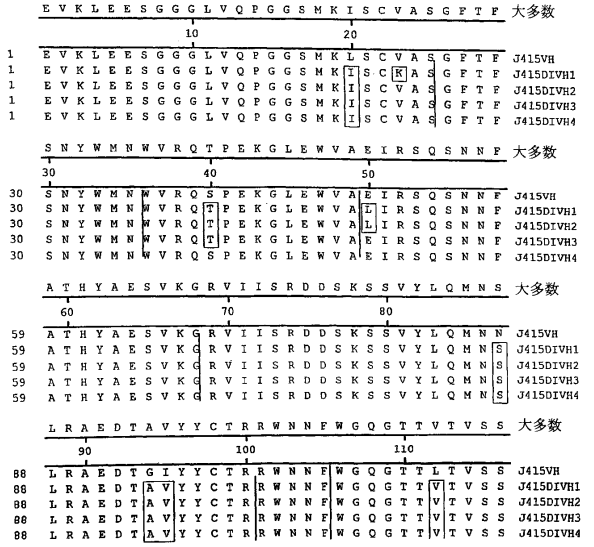
【図４Ｂ－２】



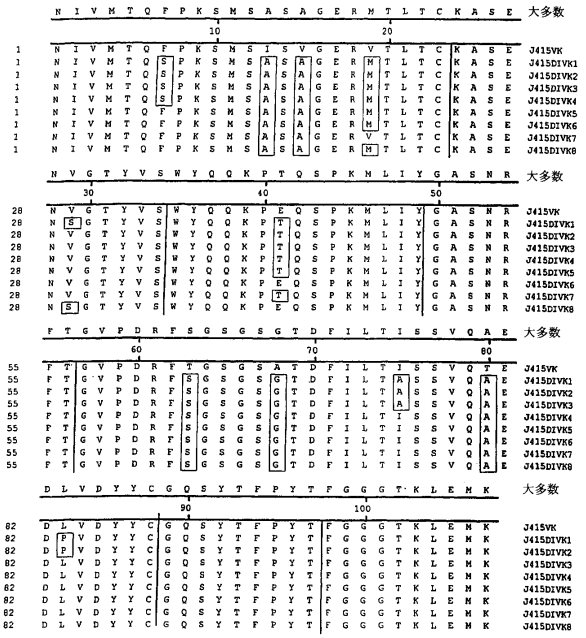
【図４Ｂ－３】



【図５】



【図６】



【図７Ａ－１】

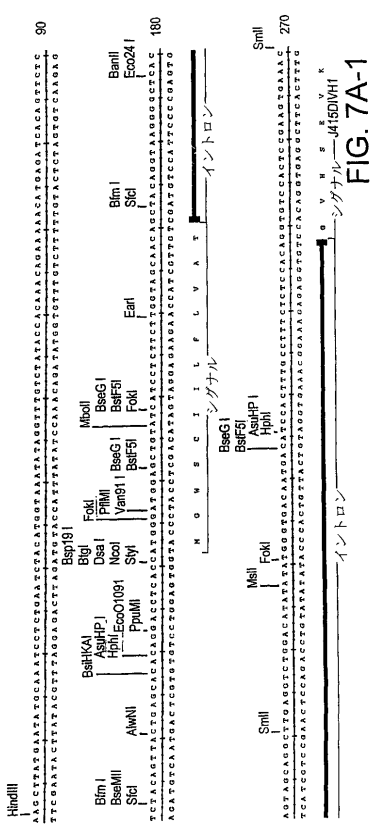


FIG. 7A-1

【図７Ａ－２】

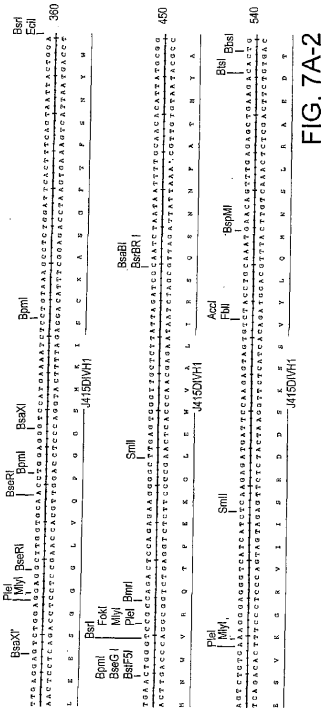


FIG. 7A-2

【図７Ａ－３】

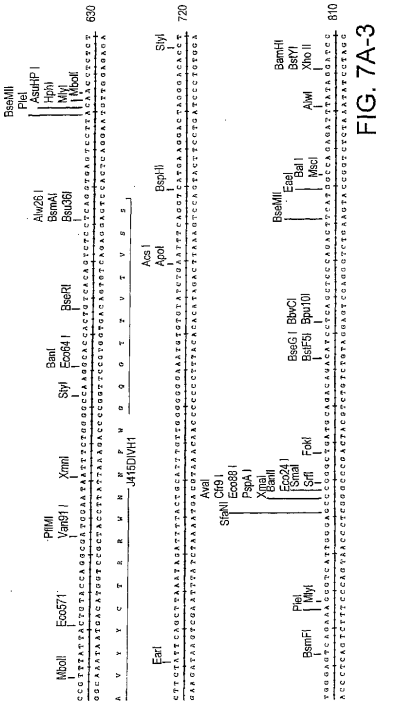


FIG. 7A-3

【図７Ｂ】

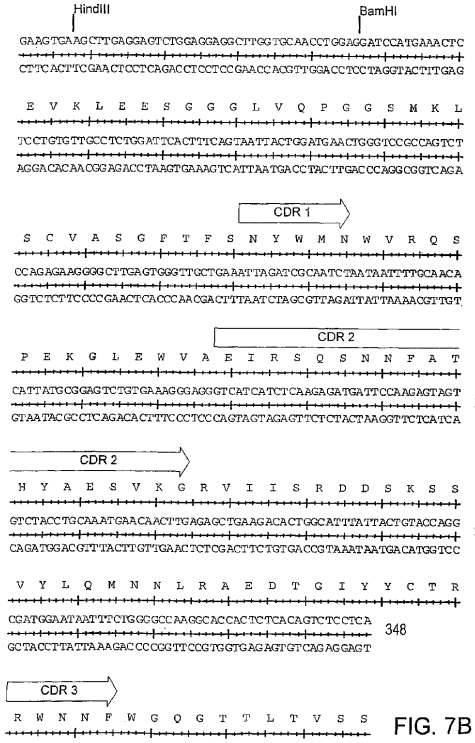


FIG. 7B

【図７Ｃ】

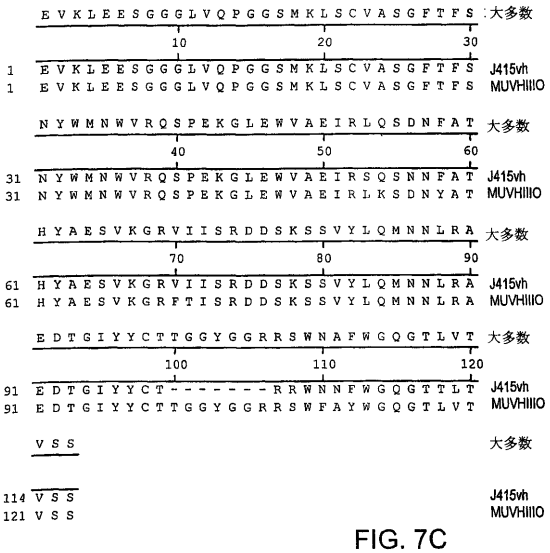


FIG. 7C

【図８Ａ－１】

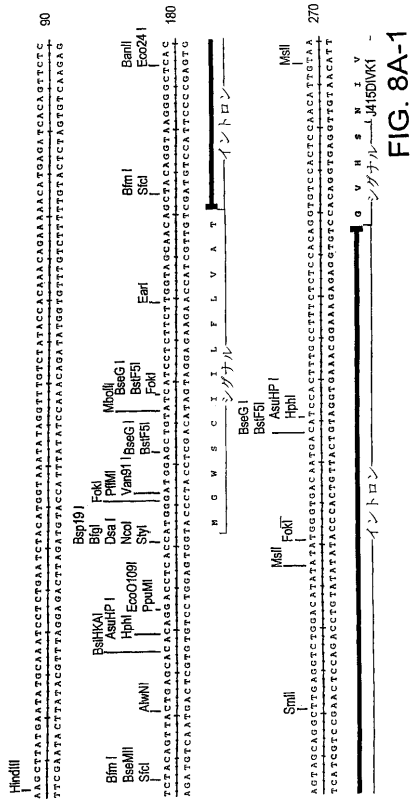


FIG. 8A-1

【図８Ａ－２】

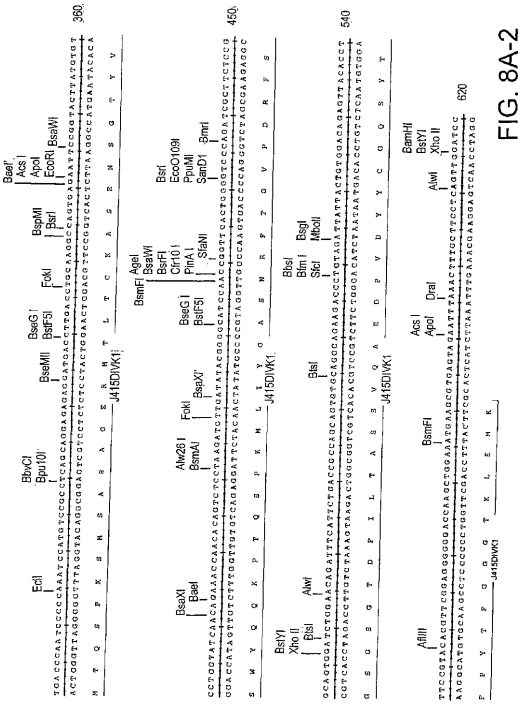


FIG. 8A-2

【図８Ｂ】

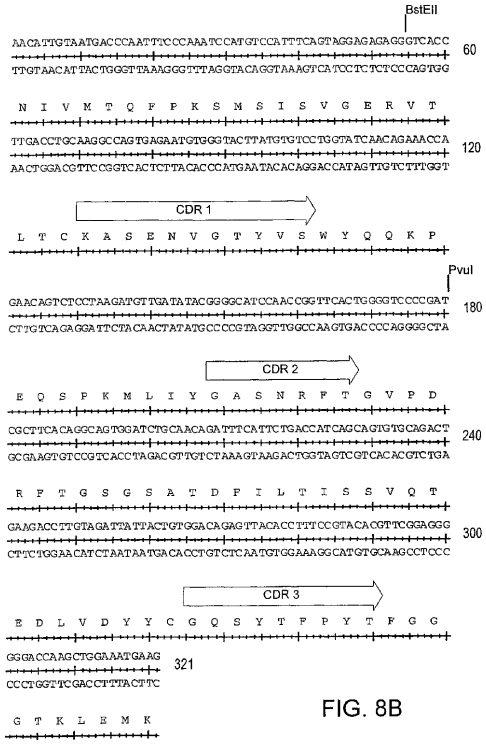


FIG. 8B

【図８Ｃ】

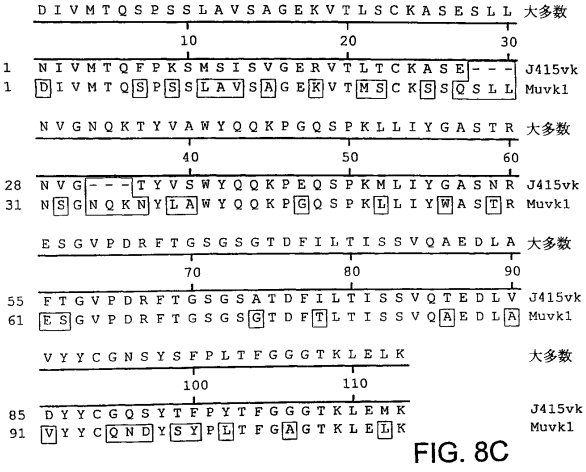


FIG. 8C

【図９Ａ】

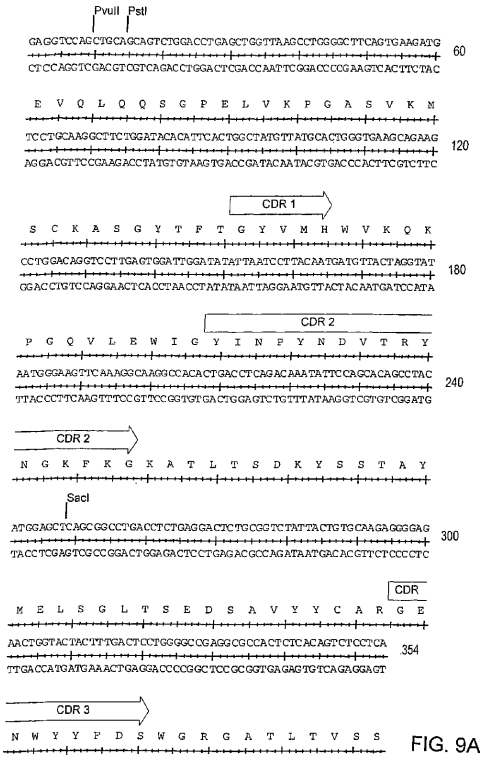


FIG. 9A

【図９Ｂ】

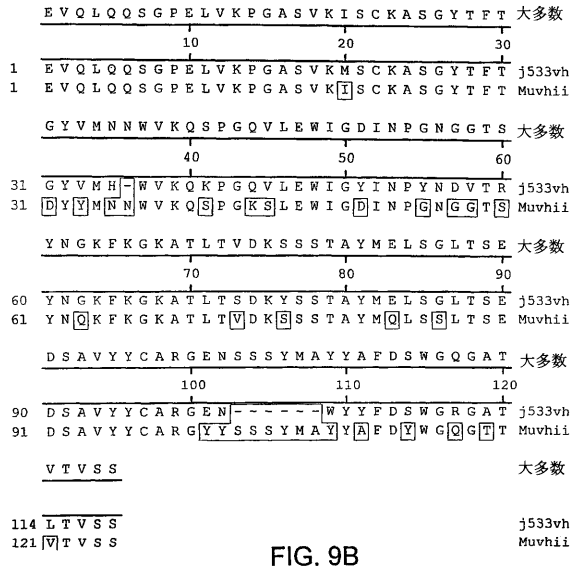


FIG. 9B

【図１０Ａ】

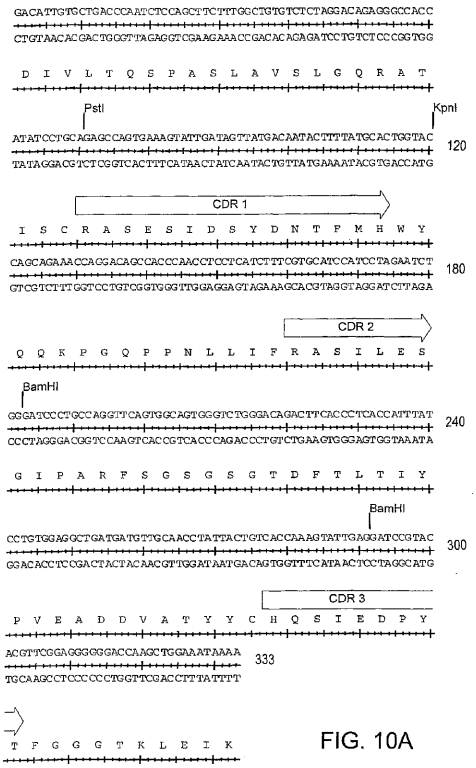


FIG. 10A

【図１０Ｂ】

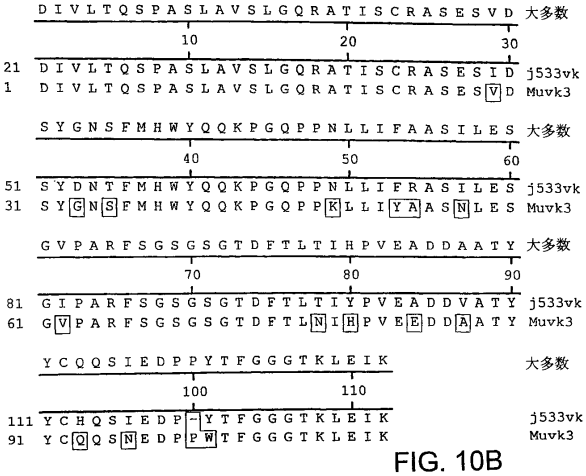


FIG. 10B

【図１１Ａ】

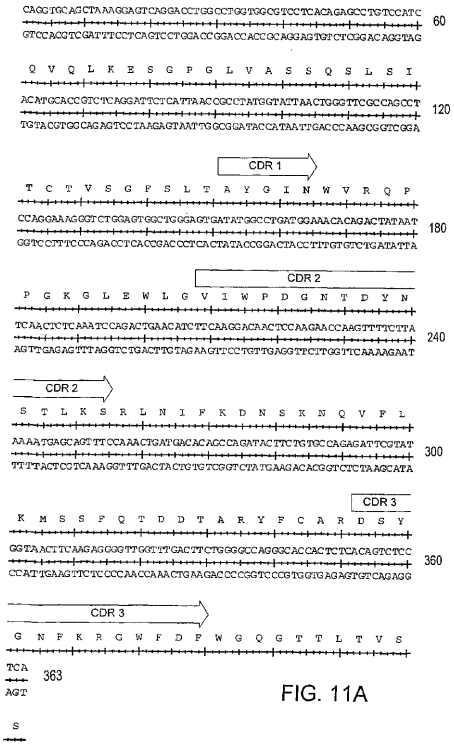


FIG. 11A

【図１１Ｂ】

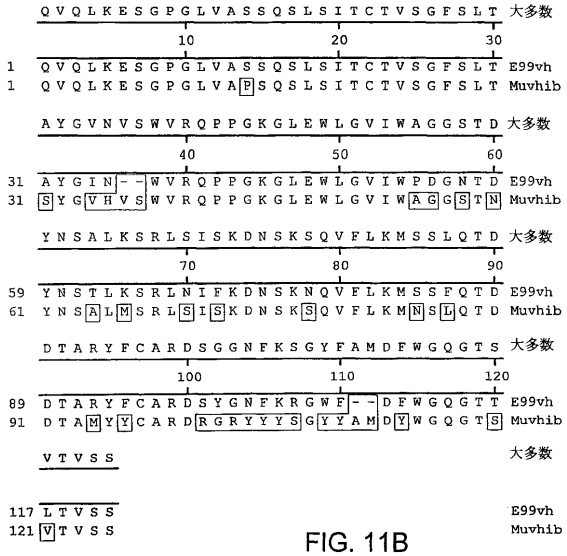


FIG. 11B

【図１２Ａ】

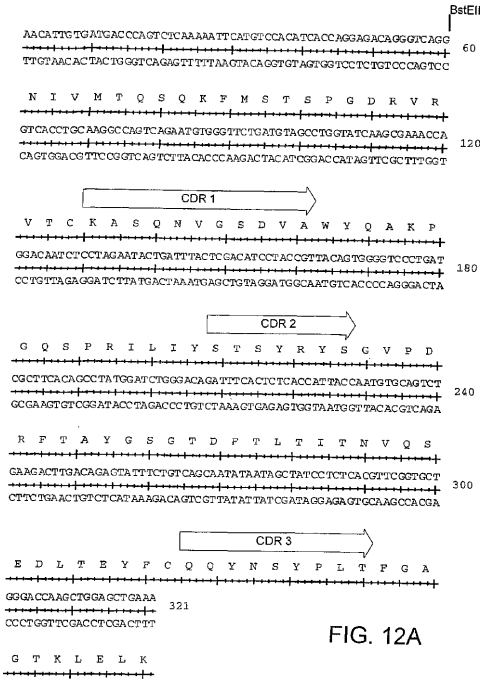


FIG. 12A

【図１２Ｂ】

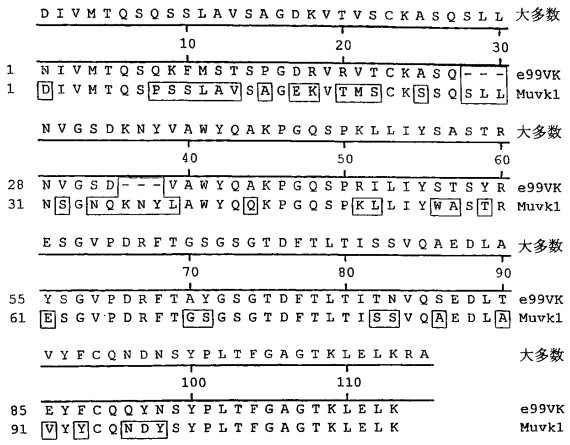


FIG. 12B

【図１３Ａ】

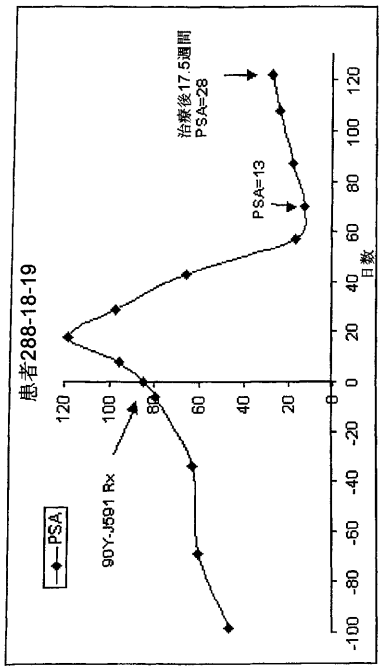


FIG. 13A

【図１３Ｂ】

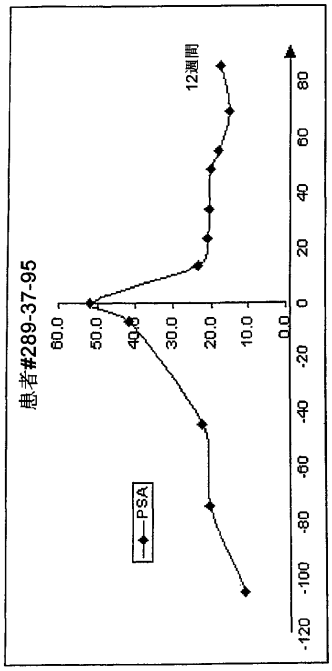
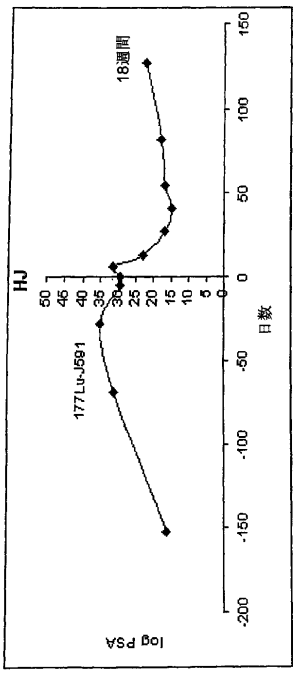
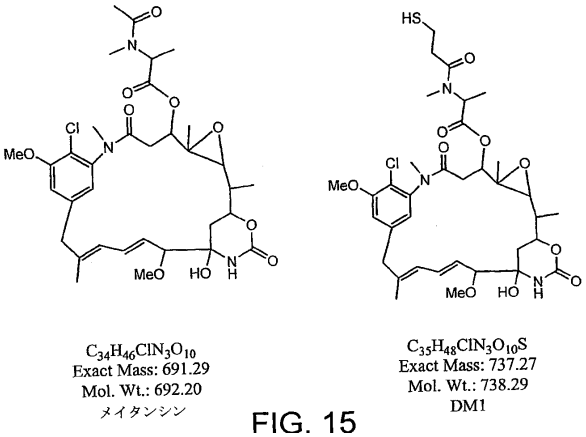


FIG. 13B

【図１４】



【図１５】



$C_{34}H_{46}ClN_3O_{10}$
Exact Mass: 691.29
Mol. Wt.: 692.20
メイタンシン

$C_{35}H_{48}ClN_3O_{10}S$
Exact Mass: 737.27
Mol. Wt.: 738.29
DM1

FIG. 15

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61K	43/00	
G01N 33/53	*(2006.01)*	A61P	35/00	
G01N 33/574	*(2006.01)*	G01N	33/53	D
		G01N	33/574	A

(31)優先権主張番号 60/362,810
(32)優先日 平成14年3月8日(2002.3.8)
(33)優先権主張国 米国(US)

微生物の受託番号 ATCC HB-12101
微生物の受託番号 ATCC HB-12109
微生物の受託番号 ATCC PTA-4174
微生物の受託番号 ATCC HB-12128
微生物の受託番号 ATCC HB-12127
微生物の受託番号 ATCC PTA-3709

前置審査

(74)代理人 100080137
弁理士 千葉 昭男
(74)代理人 100096013
弁理士 富田 博行
(74)代理人 100106080
弁理士 山口 晶子
(72)発明者 バンダー，ニール
アメリカ合衆国ニューヨーク州１００２１，ニューヨーク，イースト・シックスティーエイツストリート ５２５，ボックス２３，スイート イー３００
(72)発明者 カール，フランシス・ジェイ
イギリス国アバディーン エイビー２３ ８エックスビー，ザ・ホールディングス・バルメディー，バーチリー
(72)発明者 ハミルトン，アニータ
イギリス国アバディーン エイビー１５ ４イーキュー，キングスゲイト １３０

審査官 伊達 利奈

(56)参考文献 国際公開第９８／００３８７３（WO，Ａ１）
Cancer Research, 1999, Vol.59, pp.3192-3198
Cancer Research, 1998, Vol.58, pp.4055-4060
Proceedings of the Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, 1998, Vol.39, p440, #2997
The Journal of Urology, 2000, Vol.163, No.4 Supplement, p.160, #712

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C07K 16/00-46
C12N 15/00-15/90
PubMed
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

专利名称(译)	针对前列腺特异性膜抗原的修饰抗体及其用途		
公开(公告)号	JP4619651B2	公开(公告)日	2011-01-26
申请号	JP2003502017	申请日	2002-05-30
[标]申请(专利权)人(译)	康乃尔研究基金会有限公司		
申请(专利权)人(译)	康奈尔大学研究基金会有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	康奈尔大学研究基金会有限公司		
[标]发明人	バンダーニール カールフランシスジェイ ハミルトンアニータ		
发明人	バンダー,ニール カール,フランシス·ジェイ ハミルトン,アニータ		
IPC分类号	C07K16/18 C12N15/09 C12P21/08 A61K39/395 A61K51/00 A61P35/00 G01N33/53 G01N33/574 A61K47/48 A61K51/10 A61P13/08 C07K16/30		
CPC分类号	A61K47/6869 A61K51/1072 A61K2039/505 A61P13/08 A61P25/04 C07K16/3069 C07K2317/56		
FI分类号	C07K16/18.ZNA C12N15/00.A C12P21/08 A61K39/395.L A61K39/395.T A61K43/00 A61P35/00 G01N33/53.D G01N33/574.A		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫 山口明子		
优先权	60/295214 2001-06-01 US 60/323585 2001-09-20 US 60/362810 2002-03-08 US		
其他公开文献	JP2004532639A JP2004532639A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了修饰的抗体或其抗原结合片段至人前列腺特异性膜抗原（PSMA）的细胞外结构域。与其对给定物种（例如人）的未修饰的对应物相比，经修饰的抗PSMA抗体或其抗原结合片段具有较低的免疫原性。还公开了包含上述抗体，核酸，重组表达载体和用于制备此类抗体和片段的宿主细胞的药物组合物。还提供了使用本发明的抗体在体外或体内检测人PSMA，或消融或杀死表达PSMA的细胞，例如表达PSMA的癌症或前列腺细胞的方法。

名称	生物	図	配列番号	配列
V_H CDR1 J591	マウス (Mus musculus)	図 1A	1	GYTFTEYTIH
V_H CDR2 J691	マウス	図 1A	2	NINPNNGGTTYNQKFED
V_H CDR3 J591	マウス	図 1A	3	GWNFDY
V_L CDR1 J591	マウス	図 1B	4	KASQDVGTAVD
V_L CDR2 J591	マウス	図 1B	5	WASTRHT
V_L CDR3 J591	マウス	図 1B	6	QQYNSYPLT
V_H CDR1 J415	マウス	図 5	29	GFTFSNYWMN
V_H CDR2 J415	マウス	図 5	30	EIRSQSNNFATHYAESVKG
V_H CDR3 J415	マウス	図 5	31	RWNNF
V_L CDR1 J415	マウス	図 6	32	KASENVGTYVS
V_L CDR2 J415	マウス	図 6	33	GASNRFT
V_L CDR3 J415	マウス	図 6	34	GQSYTFPYT
V_H CDR1 J533	マウス	図 9A	93	GYTFTGYVMH
V_H CDR2 J533	マウス	図 9A	94	YINPYNDVTRYNGKFKG
V_H CDR3 J533	マウス	図 9A	95	GENWYYFDS
V_L CDR1 J533	マウス	図 10A	96	RASESIDSYDNTFMH
V_L CDR2 J533	マウス	図 10A	97	RASILES

【００２３】