

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-526654

(P2017-526654A)

(43) 公表日 平成29年9月14日(2017.9.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/30 (2006.01)	C O 7 K 16/30 Z N A	4 C O 7 6
C07K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	4 C O 8 4
C07K 14/52 (2006.01)	C O 7 K 14/52	4 C O 8 5
C07K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00	4 H O 4 5
A61K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 41 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-504376 (P2017-504376)
 (86) (22) 出願日 平成27年7月28日 (2015. 7. 28)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年3月10日 (2017. 3. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/067309
 (87) 国際公開番号 W02016/016265
 (87) 国際公開日 平成28年2月4日 (2016. 2. 4)
 (31) 優先権主張番号 1413357.3
 (32) 優先日 平成26年7月28日 (2014. 7. 28)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 510120311
 フィロゲン エスピーエー
 イタリア国 53100 シエナ, ラリ
 ツァ 7
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100122389
 弁理士 新井 栄一
 (74) 代理人 100111741
 弁理士 田中 夏夫
 (74) 代理人 100169971
 弁理士 菊田 尚子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療及び診断のための抗体

(57) 【要約】

本発明は、癌及び炎症性疾患を含む疾患の診断及び治療に関する。本発明は、i) フィブロネクチンのIIICSアイソフォーム、ii) マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)、ii i) ペリオスチン又はiv) テネイシンWに結合する抗体を提供し、その使用を含む。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

フィブロネクチンのIIICSアイソフォームに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号5のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号5のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項 2】

LCDR3が配列番号8のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号8のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載の抗体分子。

10

【請求項 3】

HCDR1が配列番号3のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号3のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号4のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号4のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号6のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号6のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号7のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号7のアミノ酸配列を有する請求項1又は2に記載の抗体分子。

20

【請求項 4】

VHドメインが配列番号1のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号2のアミノ酸配列を有する、請求項3に記載の抗体分子。

【請求項 5】

フィブロネクチンのIIICSアイソフォームに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号13のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号13のアミノ酸配列を有する抗体分子。

30

【請求項 6】

LCDR3が配列番号16のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号16のアミノ酸配列を有する、請求項5に記載の抗体分子。

【請求項 7】

HCDR1が配列番号11のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号11のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号12のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号12のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号14のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号14のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号15のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号15のアミノ酸配列を有する請求項5又は6に記載の抗体分子。

40

【請求項 8】

VHドメインが配列番号9のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号10のアミノ酸配列を有する、請求項7に記載の抗体分子。

【請求項 9】

マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)に結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

50

HCDR3が配列番号21のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号21のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項10】

LCDR3が配列番号24のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号24のアミノ酸配列を有する、請求項9に記載の抗体分子。

【請求項11】

HCDR1が配列番号19のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号19のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号20のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号20のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号22のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号22のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号23のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号23のアミノ酸配列を有する請求項9又は10に記載の抗体分子。

【請求項12】

VHドメインが配列番号17のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号18のアミノ酸配列を有する、請求項11に記載の抗体分子。

【請求項13】

ペリオスチンに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号29のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号29のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項14】

LCDR3が配列番号32のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号32のアミノ酸配列を有する、請求項13に記載の抗体分子。

【請求項15】

HCDR1が配列番号27のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号27のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号28のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号28のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号30のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号30のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号31のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号31のアミノ酸配列を有する請求項13又は14に記載の抗体分子。

【請求項16】

VHドメインが配列番号25のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号26のアミノ酸配列を有する、請求項15に記載の抗体分子。

【請求項17】

ペリオスチンに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号37のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号37のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項18】

LCDR3が配列番号40のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号40のアミノ酸配列を有する、請求項17に記載の抗体分子。

【請求項19】

HCDR1が配列番号35のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号35のアミノ酸配列を有し、

10

20

30

40

50

HCDR2が配列番号36のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号36のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号38のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号38のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号39のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号39のアミノ酸配列を有する請求項17又は18に記載の抗体分子。

【請求項20】

VHドメインが配列番号33のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号34のアミノ酸配列を有する、請求項19に記載の抗体分子。

【請求項21】

ペリオスチンに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号45のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号45のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項22】

LCDR3が配列番号48のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号48のアミノ酸配列を有する、請求項21に記載の抗体分子。

【請求項23】

HCDR1が配列番号43のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号43のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号44のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号44のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号46のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号46のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号47のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号47のアミノ酸配列を有する請求項21又は22に記載の抗体分子。

【請求項24】

VHドメインが配列番号41のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号42のアミノ酸配列を有する、請求項23に記載の抗体分子。

【請求項25】

ペリオスチンに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号53のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号53のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項26】

LCDR3が配列番号56のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号56のアミノ酸配列を有する、請求項25に記載の抗体分子。

【請求項27】

HCDR1が配列番号51のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号51のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号52のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号52のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号54のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号54のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号55のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号55のアミノ酸配列を有する請求項25又は26に記載の抗体分子。

【請求項28】

VHドメインが配列番号49のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号50の

10

20

30

40

50

アミノ酸配列を有する、請求項27に記載の抗体分子。

【請求項 29】

テネインWに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号61のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号61のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項 30】

LCDR3が配列番号64のアミノ酸配列又は3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号64のアミノ酸配列を有する、請求項29に記載の抗体分子。

10

【請求項 31】

HCDR1が配列番号59のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号59のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号60のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号60のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号62のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号62のアミノ酸配列を有し、及び/又は

LCDR2が配列番号63のアミノ酸配列若しくは3個以下のアミノ酸置換を有する配列番号63のアミノ酸配列を有する請求項29又は30に記載の抗体分子。

【請求項 32】

20

VHドメインが配列番号57のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号58のアミノ酸配列を有する、請求項31に記載の抗体分子。

【請求項 33】

1本鎖Fv(scFv)であるか若しくはscFvを含むか、小免疫タンパク質(SIP)であるか、2特異性抗体であるか、又はIgG分子である、請求項1から32のいずれか一項に記載の抗体分子。

【請求項 34】

請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子及び殺生物分子、細胞傷害性分子又は放射性同位元素を含むコンジュゲート。

【請求項 35】

30

請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子及び抗炎症薬を含むコンジュゲート。

【請求項 36】

殺生物分子、細胞傷害性分子又は抗炎症薬がサイトカインである、請求項34又は35に記載のコンジュゲート。

【請求項 37】

抗体分子及び殺生物分子、細胞傷害性分子、抗炎症薬又はサイトカインを含む融合タンパク質である、請求項34から36のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 38】

請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子及び検出可能な標識を含むコンジュゲート。

40

【請求項 39】

ヒト又は動物の体を療法により治療するための方法における使用のための請求項1から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項 40】

患者における炎症性疾患を治療する方法における使用のための請求項1から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項 41】

患者に請求項1から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを含む治療有効量の医薬品を投与することを含む、患者における炎症性疾患を治療する方法。

【請求項 42】

50

患者における血管形成を阻害する方法における使用のための請求項1から34又は36から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項43】

患者に請求項1から34又は36から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを含む治療有効量の医薬品を投与することを含む、患者における血管形成を阻害する方法。

【請求項44】

患者における癌を治療する方法における使用のための請求項1から34又は36から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項45】

患者に請求項1から34又は36から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを含む治療有効量の医薬品を投与することを含む、患者における癌を治療する方法。

【請求項46】

患者における自己免疫疾患を治療する方法における使用のための請求項1から33又は35から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項47】

患者に請求項1から33又は35から37のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを含む治療有効量の医薬品を投与することを含む、患者における自己免疫疾患を治療する方法。

【請求項48】

患者における炎症性疾患の部位に分子を送達する方法における使用のための請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子。

【請求項49】

患者に請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子を投与することを含み、前記抗体分子が分子にコンジュゲートされている、患者における炎症性疾患の部位に分子を送達する方法。

【請求項50】

前記分子が、殺生物分子、細胞傷害性分子、放射性同位元素又は抗炎症薬である、請求項48に記載の使用のための抗体分子又は請求項49に記載の方法。

【請求項51】

患者における血管形成の結果である新生血管の部位に分子を送達する方法における使用のための請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子。

【請求項52】

患者に請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子を投与することを含み、前記抗体分子が分子にコンジュゲートされている、患者において、血管形成の結果である新生血管の部位に分子を送達する方法。

【請求項53】

患者における癌の部位に分子を送達する方法における使用のための請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子。

【請求項54】

患者に請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子を投与することを含み、前記抗体分子が分子にコンジュゲートされている、患者における癌の部位に分子を送達する方法。

【請求項55】

前記分子が、殺生物分子、細胞傷害性分子又は放射性同位元素である、請求項51又は53に記載の使用のための抗体分子又は請求項52又は54に記載の方法。

【請求項56】

患者における自己免疫疾患の部位に分子を送達する方法における使用のための請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子。

【請求項57】

10

20

30

40

50

患者に請求項1から33のいずれか一項に記載の抗体分子を投与することを含み、前記抗体分子が分子にコンジュゲートされている、患者における自己免疫疾患の部位に分子を送達する方法。

【請求項58】

前記分子が抗炎症薬である、請求項56に記載の使用のための抗体分子又は請求項57に記載の方法。

【請求項59】

患者における炎症性疾患のイメージング、検出又は診断方法における使用のための請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項60】

患者に請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを投与することを含む、患者における炎症性疾患のイメージング、検出又は診断方法。

【請求項61】

患者における血管形成のイメージング、検出又は診断方法における使用のための請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項62】

患者に請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを投与することを含む、患者における血管形成のイメージング、検出又は診断の方法。

【請求項63】

患者における癌のイメージング、検出又は診断方法における使用のための請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項64】

患者に請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを投与することを含む、患者における癌のイメージング、検出又は診断方法。

【請求項65】

患者における自己免疫疾患のイメージング、検出又は診断方法における使用のための請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲート。

【請求項66】

患者に請求項1から33又は38のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを投与することを含む、患者における自己免疫疾患のイメージング、検出又は診断の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌及び炎症性疾患を含む疾患の診断及び治療に関する。本発明は、i)フィブロネクチンのIIIICSアイソフォーム、ii)マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)、iii)ペリオスチン又はiv)テネイシンWに結合する抗体を提供し、その使用を含む。

【背景技術】

【0002】

癌及び炎症性疾患などの重篤な障害を治療するために現在使用されている最もありふれた医薬品は、疾患の部位に選択的に蓄積しない(Bosslet等、58、1195~1201 Cancer Res. (1998))。例えば、静脈内に投与された薬物は、疾患の部位に選択的に蓄積するのではなく、体の様々な器官及び組織内に均等に分配される。

【0003】

従来薬理学的療法の欠点を解決するための1つのアプローチは、病理学的に関連するマーカーに特異的な結合分子によって疾患部位に生物活性剤を優先的に送達することを含む(Neri & Bicknell(2005)Nature Rev. Cancer、4、436~446)。疾患組織への薬物の選択的標的化は最終的に作用部位での局所的濃度の増加を引き起こし、薬理学的な利益をもたらすために使用した生物活性剤(例えば、成長因子、酵素、ホルモン、抗炎症薬、細胞傷害性薬物、サイトカイン、放射性核種、光感受性物質)の望ましくない影響を正常な器官に与えないようにする。ほとんどの場合、これによって、送達した医薬品の治療指数の改

善、すなわち、最小限の副作用で高い有効性がもたらされる。実際に、部位特異的治療の良好な毒性プロファイルは、血管形成関連疾患の療法に新たな道を開く可能性があり、現在最適以下の用量で投与しているか、又は未修飾形態で適用したときの許容できない副作用のために今まで臨床適用が遅れている非常に強力な有望な薬剤の全身投与を可能にする。

【0004】

リガンドをベースにした薬理的送達戦略は、疾患組織と健康な器官とを明確に区別することができる優れた品質の病理マーカーの同定に基本的に依存している。モノクローナル抗体及びそれらの断片は、薬理的送達適用のための好ましい薬剤となっているが(Ryb ak等、2、22~40 Chem. Med. Chem (2007); Shrama等、5、147~159 Nat. Rev. Drug Disc overy (2006))、球状タンパク質変異体(Binz及びPluckthun、23、1257~1268 Nature Bio technology (2005))、ペプチド(Sergeeva等、58、1622~1654、Adv. Drug. Deliv. Rev. (2006))及びさらに小さな有機リガンド(Low等、41、120~129、Acc. Chem. Res. (2008))も次第に使用されている。

10

【0005】

癌治療の治療戦略として、血管形成の部位への生物活性薬剤の抗体をベースにした標的化送達が記載されている。炎症性疾患の場合、抗体をベースにした標的化送達はあまり研究されていない。本出願人は以前に、血管形成の2つのマーカー、フィブロネクチンのED-Aドメイン及びフィブロネクチンのED-Bドメインがコラーゲンで誘導した関節リウマチマウスモデルの関節炎の足において発現していることを示した。放射活性技術及び蛍光技術の両方を使用して、ED-Aに特異的なヒトモノクローナル抗体F8及びED-Bに特異的なヒトモノクローナル抗体L19が、静脈内投与後、インビボにおいて炎症の部位に選択的に局在していることを見いだした。このような抗体を抗炎症性サイトカインインターロイキン-10に融合させると、コンジュゲートの強力な治療活性も示された(国際出願PCT/EP2007/004044、国際出願PCT/EP2008/009070)。それにも関わらず、本分野では依然として、癌及び炎症性疾患などの疾患の治療及び診断のためのリガンドをベースにした薬理的送達適用において使用することができるさらなる抗体が必要とされている。

20

【0006】

フィブロネクチンのIIIICSアイソフォーム

フィブロネクチン(FN)は、細胞外マトリックス及び体液の両方の多機能高分子糖タンパク質構成物である。これらは、正常な細胞形態の確立及び維持、細胞移動、止血及び血栓症、創傷治癒並びに癌化(Alitalo等、(1982) Adv Cancer Res、37 111~158; Yamada(1983) Curr Opin Cell Biol、1、956~963; Hynes(1985) Annu Rev Cell Biol、1、67~90; Ruos lahti等、(1988) Annu Rev Biochem、57、375~413; Owens等、(1986) Oxf Surv Eukaryot Gene、3、141~160)などの多くの様々な生物学的プロセスに関与する。FNの構造的多様性は、1次FN転写物の3つの領域(ED-A、ED-B及びIIIICS)の選択的スプライシングによってもたらされ(Hynes、R.、(1985) Annu Rev Cell Biol、1、67~90; Zardi等、(1987) EMBO J、6、2337~2342)、少なくとも20個の様々なアイソフォームが生成し、そのいくつかは腫瘍及び正常組織において異なった発現をする。例えば、フィブロネクチンのヒトIIIICSアイソフォームの5個の異なるスプライシングアイソフォームについて記載されている。組織特異的に、及び発達段階特異的に調節されていることに加え、FN-プレ-mRNAのスプライシングパターンが形質転換した細胞及び悪性腫瘍では調節解除されていることも知られている(Castellani等、(1986) J Cell Biol、103、1671~1677; Borsi等、(1987) J Cell Biol、104、595~600; Vartio等、(1987) J Cell Sci 88、419~430、Zardi等、(1987) EMBO J、6、2337~2342; Barone等、(1989) EMBO J、8、1079~1085; Carnemolla等、(1989) FEBS Letter 215、269~273; Oyama等、(1989) Biochemistry、28、1428~1433; Borsi等、(1992) Exp Cell Res 199、98~105)。ED-A、ED-B及びIIIICS配列を含有するFNアイソフォームは、正常細胞よりも形質転換した細胞及び悪性腫瘍細胞においてより多く発現する。

30

40

【0007】

健康組織及び疾患組織におけるフィブロネクチンのIIIICSアイソフォームの発現に関連

50

した情報のほとんどは、mRNA研究又はモノクローナル抗体(抗体FDC-6及びX18A4)による研究のいずれかから得られている。これらの抗体は、フィブロネクチンによる免疫化及びシクロホスファミドによる免疫抑制後のハイブリドーマ技術によって生成した。抗体FDC-6は、フィブロネクチンIII型連結セグメント(IIICS)内の特異的なO結合N-アセチルガラクトサミン化したヘキサペプチドエピトープに結合する(Matsuura等、(1985)PNAS、82、6517~6521;Matsuura等、(1988)J Biol Chem、263、3314~3322)。しかし、この抗体はエピトープを認識するためにペプチド骨格及び炭水化物部分の両方を必要とするので、特に種間の交差反応が必要なときの標的化適用には適していない。抗体X18A4は、FDC-6とは異なるIIICS領域を認識するが、結合するエピトープは完全には特徴付けられておらず(Feinberg R.等、(1995)Am J Obstet Gynecol、172、1526~1536)、抗体X18A4の主な適用は、早期分娩を予測するために妊婦の子宮頸部における癌胎児性フィブロネクチンの検出に関連したものである。IIICS発現が関節リウマチ及び変形性関節症において調節されている証拠があり、特に、アイソフォーム89V(CS1)は炎症において上方制御されているようである(Kriegsmann J等、(2004)Rheumatol Int、24、25~33;Ellices MJ等、(1994)J Clin Invest、93、405~416)。

10

【0008】

マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)

マトリックスメタロプロテイナーゼ3(ストロメライシン1としても知られている)は、組織リモデリングにおいて重要な役割を担う20種を超える亜鉛依存性細胞外酵素のファミリーのメンバーである(Nagase及びWoessner、(1999)J Biol Chem、274、21491~21494;Martin及びMatrisian、(2007)Cancer Metastasis Rev、26、717~724;Vartak及びGemeinhart、(2007)J Drug Target 15(1)1~20)。様々なMMPタンパク質の異常発現は、癌の進行を含む種々の疾患型において、及び関節リウマチなどの炎症症状において役割を担うことが示された(Martin及びMatrisian、(2007)Cancer Metastasis Rev、26、717~724;Brinckerhoff及びMatrisian、(2002)Nat Rev Mol Cell Biol、3、207~214;Overall及びKleinfeld、(2006)Nat Rev Cancer、6、227~239)。MMP3の触媒ドメインは、マウス、ラット及びヒトの間で比較的よく保存されていることが知られている。

20

【0009】

ペリオスチン

ペリオスチン又は骨芽細胞特異的因子2(OSF-2)は、1999年にA.Kudoのグループによって、骨芽細胞及び骨芽細胞様細胞株によって分泌される90kDaの二量体タンパク質として初めて記載された。ペリオスチンは主に、骨膜の細胞外マトリックスに局在し、その主要な機能は、前骨芽細胞の細胞接着分子として作用し骨芽細胞付着及び延展を誘導することである(Horiuchi K等、(1999)J Bone Miner Res、14、1239~1249)。

30

【0010】

ペリオスチンN末端領域は4個のファシクリン様ドメイン(FAS1-4)並びにいくつかのグリコシル化部位を含有する。ペリオスチンの6個の異なるスプライシングアイソフォームが報告されているが、そのうちの4個のみが配列決定されアノテーションされている:これらのスプライシングアイソフォームはタンパク質のC末端におけるカセットエキソン17から21の有無によって特徴付けられる(Castronovo等、(2006)Mol Cell Proteomics、5、2083~2091;Litvin等、(2004)J Cell Biochem、95、1044~1061;Kim等、(2008)Int J Oncol、32、161~169)。

40

【0011】

Tai及び共同研究者等は、ハイブリドーマ技術によって抗ペリオスチンモノクローナル抗体を作製し、ウェスタンブロッティングによってヒトペリオスチンタンパク質の副腎、肺、甲状腺、子宮、膣、卵巣、精巣、前立腺及び胃腸管における発現、並びに胃及び結腸直腸における優先的発現を検出したが、小腸及び食道においては低レベルが認められた(Tai等、Carcinogenesis、26、908~15、2005)。ペリオスチンがいくつかの障害に関連しているという所見が認められた。例えば、Morra及びMoch(Virchows Archives、(2011)459、465~475)は、腫瘍微小環境及び腫瘍の進行におけるペリオスチンの役割について記載し

50

た。N末端ドメインがFASドメインと共にインテグリンに結合し、Akt/PKB及びFAK媒介シグナル伝達経路を活性化し、したがって腫瘍の侵襲及び転移を導く。タンパク質のC末端はECM分子に結合し、ECMの組織化に影響を及ぼす。異なるスプライシングアイソフォームが腫瘍侵襲におけるECM修飾において異なる役割を担うのかどうかまだ明らかにされていない。

【 0 0 1 2 】

3匹の肝臓転移マウスモデルの末端灌流 (terminal perfusion) に基づいたインビボにおける化学的なプロテオミクス分析において、ペリオスチンは同定された最も豊富な利用可能な抗原の1つであった (Borgia等、(2010) *Cancer Res*, 70, 309~318)。免疫蛍光分析によって、プロテオミクスによる発見が確認され、ペリオスチンが広範なモデリングを受けている組織の新生血管 (neovascular) において発現し得ることが示された。

10

【 0 0 1 3 】

テネイシンW

テネイシンWは、テネイシン遺伝子ファミリーの最も近年発見されたメンバーである。ヒトテネイシンWは、N末端7アミノ酸反復、3.5EGF様反復、9 FN IIIドメイン及びC末端フィブリノーゲン関連ドメインを含む、他の全てのテネイシン (すなわち、テネイシン-C、-R及び-Xそれぞれ) に共通のモジュラー構造からなる。他のテネイシンファミリーのメンバーとは対照的に、テネイシンWスプライシングアイソフォームの存在は、今まで報告されたことはない (Chiquet-Ehrismann等、(2011) *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3 (5), doi: 10.1101/cshperspect.a004960)。

20

【 0 0 1 4 】

胚発生の間に、テネイシンWは骨膜骨の細胞外マトリックスにおいて優先的に、平滑筋、腱及び靭帯においてより少ない程度発現する (Weber等、(1998) *J Neurobiol*, 35, 1~16; Scherberich等、(2004) *J Cell Sci*, 117, 571~581; Meloty-Kapella等、(2006) *Dev Dyn*, 235, 1532~1542)。健康な成人において、テネイシンWの発現は強く抑制されており、腎臓、心臓弁、角膜縁及び骨膜に限定される (Scherberich等、(2004) *J Cell Sci*, 117, 571~581)。テネイシンW発現は、軟骨内骨化及び骨折修復中に軟骨膜/骨膜において検出され (Kimura等、(2007) *Biochem Biophys Res Commun*, 356, 935~941)、骨形成に関連することが示唆された (Martina等、(2010) *Int J Biochem Cell Biol*, 42, 1412~1415)。

30

【 0 0 1 5 】

テネイシンWは腫瘍関連抗原であり、その発現は様々な癌におけるテネイシン-Cと部分的に重複する。今日までに、テネイシンW発現は、乳癌 (Degen等、(2007) *Cancer Res*, 67, 9169~9179) 及び結腸直腸癌 [Degen等、(2008) *Int J Cancer*, 122, 2454~2461]、神経膠腫 (Martina等、(2010) *FASEB J*, 24, 778~787)、メラノーマ、並びに膵臓癌、腎臓癌及び肺癌 (Brellier等、(2012) *BMC Clin Pathol*, 4, 12~14) の間質において検出されている。テネイシンWは、対応する健康な組織では検出することはできなかった。興味深いことに、ほとんどの腫瘍型において、テネイシンWは新たに形成された血管の血管周囲の領域において検出された (Brellier等、(2012) *BMC Clin Pathol*, 4, 12~14, Martina等、(2010) *FASEB J*, 24, 778~787)。

40

【 0 0 1 6 】

テネイシンWのアミノ酸配列は、ヒト、マウス及びラットの間で強く保存されている。しかし、2つの大きな差が存在する。第1に、3つのテネイシンWオルソログではFNIIIドメインの数が異なっており、マウス及びラットの変種は3つのさらなるFNIIIドメインを含有している。第2に、マウス及びラットのテネイシンW遺伝子は、第2のFNIIIドメインに位置する推定インテグリン結合RGDモチーフを含有し、これはヒトオルソログには存在しない。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 1 7 】

【 特許文献 1 】 国際出願PCT/EP2007/004044

50

- 【特許文献2】国際出願PCT/EP2008/009070
- 【非特許文献】
- 【0018】
- 【非特許文献1】Bosslet等、58、1195～1201 *Cancer Res.*(1998)
- 【非特許文献2】Neri & Bicknell(2005)*Nature Rev. Cancer*、4、436～446
- 【非特許文献3】Rybak等、2、22～40 *Chem. Med. Chem* (2007)
- 【非特許文献4】Shrama等、5、147～159 *Nat. Rev. Drug Discovery* (2006))
- 【非特許文献5】Binz及びPluckthun、23、1257～1268 *Nature Biotechnology* (2005)
- 【非特許文献6】Sergeeva等、58、1622～1654、*Adv. Drug. Deliv. Rev.* (2006)
- 【非特許文献7】Low等、41、120～129、*Acc. Chem. Res.* (2008) 10
- 【非特許文献8】Alitalo等、(1982) *Adv Cancer Res*、37 111～158
- 【非特許文献9】Yamada(1983)*Curr Opin Cell Biol*、1、956～963
- 【非特許文献10】Hynes(1985) *Annu Rev Cell Biol*、1、67～90
- 【非特許文献11】Ruoslahti等、(1988) *Annu Rev Biochem*、57、375～413
- 【非特許文献12】Owens等、(1986) *Oxf Surv Eukaryot Gene*、3、141～160
- 【非特許文献13】Zardi等、(1987) *EMBO J*、6、2337～2342
- 【非特許文献14】Castellani等、(1986)*J Cell Biol*、103、1671～1677
- 【非特許文献15】Borsi等、(1987)*J Cell Biol*、104、595～600
- 【非特許文献16】Vartio等、(1987)*J Cell Sci* 88、419～430
- 【非特許文献17】Barone等、(1989)*EMBO J*、8、1079～1085 20
- 【非特許文献18】Carnemolla等、(1989)*FEBS Letter* 215、269～273
- 【非特許文献19】Oyama等、(1989)*Biochemistry*、28、1428～1433
- 【非特許文献20】Borsi等、(1992)*Exp Cell Res* 199、98～105
- 【非特許文献21】Matsuura等、(1985)*PNAS*、82、6517～6521
- 【非特許文献22】Matsuura等、(1988)*J Biol Chem*、263、3314～3322
- 【非特許文献23】Feinberg R.等、(1995)*Am J Obstet Gynecol*、172、1526～1536
- 【非特許文献24】Kriegsmann J等、(2004)*Rheumatol Int*、24、25～33
- 【非特許文献25】Elices MJ等、(1994)*J Clin Invest*、93、405～416
- 【非特許文献26】Nagase及びWoessner、(1999)*J Biol Chem*、274、21491～21494
- 【非特許文献27】Martin及びMatrisian、(2007)*Cancer Metastasis Rev*、26、717～724 30
- 【非特許文献28】Vartak及びGemeinhart、(2007)*J Drug Target* 15(1)1～20
- 【非特許文献29】Martin及びMatrisian、(2007)*Cancer Metastasis Rev*、26、717～724
- 【非特許文献30】Brinckerhoff及びMatrisian、(2002)*Nat Rev Mol Cell Biol*、3、207～214
- 【非特許文献31】Overall及びKleinfeld、(2006)*Nat Rev Cancer*、6、227～239
- 【非特許文献32】Horiuchi K等、(1999)*J Bone Miner Res*、14、1239～1249
- 【非特許文献33】Castronovo等、(2006)*Mol Cell Proteomics*、5、2083～2091
- 【非特許文献34】Litvin等、(2004)*J Cell Biochem*、95、1044～1061
- 【非特許文献35】Kim等、(2008)*Int J Oncol*、32、161～169
- 【非特許文献36】Tai等、*Carcinogenesis*、26、908～15、2005 40
- 【非特許文献37】Morra及びMoch(*Virchows Archives*、(2011)459、465～475)
- 【非特許文献38】Borgia等、(2010)*Cancer Res*、70、309～318
- 【非特許文献39】Chiquet-Ehrismann等、(2011) *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 3(5)、doi: 10.1101/cshperspect.a004960
- 【非特許文献40】Weber等、(1998) *J Neurobiol*、35、1～16
- 【非特許文献41】Scherberich等、(2004) *J Cell Sci*、117、571～581
- 【非特許文献42】Meloty-Kapella等、(2006)*Dev Dyn*、235、1532～1542
- 【非特許文献43】Scherberich等、(2004)*J Cell Sci*、117、571～581
- 【非特許文献44】Kimura等、(2007) *Biochem Biophys Res Commun*、356、935～941
- 【非特許文献45】Martina等、(2010)*Int J Biochem Cell Biol*、42、1412～1415 50

- 【非特許文献46】Degen等、(2007) Cancer Res、67、9169～9179
【非特許文献47】Degen等、(2008) Int J Cancer、122、2454～2461
【非特許文献48】Martina等、(2010) FASEB J、24、778～787
【非特許文献49】Brellier等、(2012) BMC Clin Pathol、4、12～14
【非特許文献50】Brellier等、(2012) BMC Clin Pathol、4、12～14
【非特許文献51】Martina等、(2010) FASEB J、24、778～787

【発明の概要】

【0019】

本発明は、治療的及び/又は診断的適用における使用のための新規抗体分子の提供に関する。特に、本発明の抗体分子は、薬理的送達適用における使用が見いだされる。

10

【0020】

具体的にいうと、本発明者らはi)フィブロネクチンのIIICSアイソフォーム、ii)マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)、iii)ペリオスチン又はiv)テネイシンWに結合する新規抗体分子を単離し、これらの抗体分子が腫瘍組織の新生血管及び関節リウマチ(RA)などの炎症性疾患に関連した新生血管を含む血管構造を標的とすることができることを示した。したがって、これらの抗体分子は、治療薬及び/又は診断薬を新生血管に標的化送達するために使用することができ、これには継続的な需要が存在する。

【0021】

第1の態様では、本発明は、フィブロネクチンのIIICSアイソフォームに結合する抗体分子に関する。好ましくは、抗体分子はフィブロネクチンのIIICSドメインに結合する。より好ましくは、抗体分子はフィブロネクチンのIIICSドメインの89Vスプライシングアイソフォーム及び/又は120Vスプライシングアイソフォームに結合する(図1参照のこと)。フィブロネクチンは好ましくはヒトフィブロネクチンである。抗体分子は、配列番号5で記載したSW01抗体分子のVHドメイン相補性決定領域3(HCDR3)又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号5で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含んでいてもよい。さらに、抗体分子は配列番号3～4及び6～8で記載したSW01抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号1及び2でそれぞれ記載したSW01抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。或いは、抗体分子は、配列番号13で記載した抗体分子SW02のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号13で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含んでいてもよい。さらに、抗体分子は配列番号11～12及び14～16で記載したSW02抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号9及び10でそれぞれ記載したSW02抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。

20

30

【0022】

第2の態様では、本発明は、マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)に結合する抗体分子に関する。好ましくは、抗体分子はMMP3の触媒ドメインに結合する。MMP3は好ましくはヒトMMP3である。抗体分子は、好ましくは、配列番号21で記載したCH01抗体分子のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号21で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含む。さらに、抗体分子は配列番号19～20及び22～24で記載したCH01抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号17及び18でそれぞれ記載したCH01抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。

40

【0023】

第3の態様では、本発明は、ペリオスチンに結合する抗体分子に関する。好ましくは、抗体分子はペリオスチンのFASドメイン1～4に結合する。ペリオスチンは好ましくはヒトペリオスチンである。ペリオスチンはまた、骨芽細胞特異的因子2(OSF-2)として知られている。抗体分子は、配列番号29で記載したLG1抗体分子のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号29で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含んでいてもよい。さらに、抗体分子は配列番号27～28及び30～32で記載したLG1抗体分子のHCD

50

R1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号25及び26でそれぞれ記載したLG1抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。或いは、抗体分子は、配列番号37で記載した抗体分子LG2のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号37で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含んでいてもよい。さらに、抗体分子は配列番号35～36及び38～40で記載したLG2抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号33及び34でそれぞれ記載したLG2抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。さらに或いは、抗体分子は、配列番号45で記載した抗体分子LG3のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号45で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含んでいてもよい。さらに、抗体分子は配列番号43～44及び46～48で記載したLG3抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号41及び42でそれぞれ記載したLG3抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。さらに或いは、抗体分子は、配列番号53で記載した抗体分子1E1のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号53で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含んでいてもよい。さらに、抗体分子は配列番号51～52及び54～56で記載した1E1抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号49及び50でそれぞれ記載した1E1抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。

10

20

【0024】

第4の態様では、本発明は、テネイシンWに結合する抗体分子に関する。テネイシンWは好ましくはヒトテネイシンWである。抗体分子は、好ましくは、配列番号61で記載したG10抗体分子のHCDR3又は3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む配列番号61で記載したアミノ酸配列を有するHCDR3を含む。さらに、抗体分子は配列番号59～60及び62～64で記載したG10抗体分子のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、抗体分子は配列番号57及び58でそれぞれ記載したSW01抗体分子のVHドメイン及び/又はVLドメインを含んでいてもよい。所望により、配列番号57の67位の残基はグルタミン(Q)の代わりにアルギニン(R)であってもよい。

【0025】

前述のように、本発明の抗体分子は、3個以下のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む本明細書で開示したHCDR3配列を含んでいてもよい。例えば、本発明の抗体分子は、2個以下、又は1個のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む本明細書で開示したHCDR3配列を含んでいてもよい。HCDR3配列に関するように、本発明の抗体分子は、3個以下、2個以下、又は1個のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む本明細書で開示したHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3配列を含んでいてもよい。同様に、本発明の抗体分子は、10個以下、例えば、9個以下、8個以下、7個以下、6個以下、5個以下、4個以下、3個以下、2個以下又は1個のアミノ酸置換、欠失若しくは挿入を含む開示したVH及び/又はVLドメイン配列を含んでいてもよい。

30

【0026】

本明細書で言及した抗体分子は、任意の適切な型であってもよい。多くの抗体分子型が本分野では知られており、IgGなどの完全な抗体分子及び1本鎖Fv(scFv)などの抗体分子断片の両方が含まれる。本明細書で使用した「抗体分子」という用語には、完全な抗体分子及び抗体分子断片、特に抗原結合断片の両方が包含される。好ましくは、抗体分子はVHドメイン及びVLドメインを含む。好ましい実施形態では、抗体分子はscFvであるか、若しくはscFvを含み、小免疫タンパク質(SIP)、2特異性抗体(ダイアボディ)、又は(完全な)IgG分子である。

40

【0027】

本発明の抗体分子は、分子にコンジュゲートしてコンジュゲートを形成することができる。抗体分子にコンジュゲートする分子の選択は、コンジュゲートの目的とする適用に応じる。例えば、コンジュゲートが疾患又は障害の治療を意図する場合、コンジュゲートは

50

本発明の抗体分子及び殺生物分子 (biocidal molecule)、細胞傷害性分子、放射性同位元素、光感受性物質、酵素、ホルモン、抗炎症薬又はサイトカインを含んでいてもよい。コンジュゲートが疾患又は障害のイメージング、検出又は診断における使用を意図する場合、コンジュゲートは本発明の抗体分子及び放射性同位元素、例えば、非治療的放射性同位元素などの検出可能な標識を含んでいてもよい。抗体分子にコンジュゲートした分子に応じて、コンジュゲートは1本鎖タンパク質であってもよく、又は1本鎖タンパク質を含んでいてもよい。コンジュゲートが1本鎖タンパク質の場合、完全なタンパク質は1本のポリペプチド又は融合タンパク質として発現させることができる。この場合、分子は、ペプチドリンカーによって抗体分子にコンジュゲートしてもよい。融合タンパク質は、単一の分子種からなるので、産生及び精製が簡単であるという利点を有する。これによって、臨床品質の材料の産生が容易になる。或いは、分子は、切断可能なリンカーによって抗体分子にコンジュゲートしてもよい。

10

20

30

40

50

【0028】

本発明はまた、本発明の抗体及びコンジュゲートをコードする単離された核酸を提供する。当業者であれば本分野で周知の方法を使用してこのような核酸を調製することは困難ではないだろう。単離された核酸は、例えば、細菌、酵母、昆虫又はほ乳類宿主細胞において発現させることによって、本発明の抗体分子又はコンジュゲートを発現するために使用してもよい。好ましい宿主細胞は大腸菌である。核酸は一般的に、発現のための組換えベクターの形態で提供される。このようなベクターを含むインビトロにおける宿主細胞は、本発明の抗体及びコンジュゲートを発現するために使用され、これらはその後、細胞培養物から精製し、所望により医薬組成物に製剤化することができるので、本発明の一部である。

【0029】

本発明の抗体分子又はコンジュゲートは、例えば、医薬組成物において提供することができ、単独で、又は1つ以上の他の治療薬と組み合わせて本明細書に記載したような医学的用途のために用いることができる。或いは、本発明の抗体分子又はコンジュゲートは、診断組成物において提供することができ、本明細書に記載したような診断用途のために用いることができる。

【0030】

第5の態様では、本発明はヒト又は動物の体を療法により治療するための方法における使用のための本発明の抗体分子又はコンジュゲートに関する。例えば、本発明の抗体分子又はコンジュゲートは、患者における炎症性疾患を治療し、血管形成を阻害し、癌を治療し、及び/又は自己免疫疾患を治療する方法において使用するためであってもよい。本発明はまた、患者における炎症性疾患を治療し、血管形成を阻害し、癌を治療し、及び/又は自己免疫疾患を治療する方法に関し、この方法は患者に本発明の抗体分子又はコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む。

【0031】

第6の態様では、本発明は患者における炎症性疾患の部位、血管形成の結果である新生血管の部位、癌の部位及び/又は自己免疫疾患の部位に分子を送達する方法における使用のための本発明の抗体分子に関する。本発明はまた、患者に本発明の抗体分子を投与することを含む、患者における炎症性疾患の部位、血管形成の結果である新生血管の部位、癌の部位及び/又は自己免疫疾患の部位に分子を送達する方法であって、抗体分子が分子にコンジュゲートされている、に関する。

【0032】

第7の態様では、本発明は患者における炎症性疾患、血管形成、癌及び/又は自己免疫疾患のイメージング、検出又は診断の方法における使用のための本発明の抗体分子又はコンジュゲートに関する。本発明はさらに、患者に本発明の抗体分子又はコンジュゲートを投与することを含む、患者における炎症性疾患、血管形成、癌及び/又は自己免疫疾患のイメージング、検出又は診断方法に関する。

【0033】

本明細書で言及するように、患者は好ましくはヒト患者である。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】フィブロネクチンのIIICSアイソフォームの可能な5つのスプライシングアイソフォームを示す模式図である。

【図2】図2Aは、ヒト胎盤(hPlacenta)、ヒト腫瘍(A375及びH460)及びマウス腫瘍(K1735及びF9)のフィブロネクチンのIIICSアイソフォームに結合する抗体SW01及びSW02、並びに陰性対照抗体(neg.ctr)による染色を示した図である。使用した陰性対照抗体は、ヒト胎盤実験における抗ヒトフォンビルブランド因子(抗huVWF)及び腫瘍実験における抗マウスCD31(muCD31)であった。図2Bは、抗体SW01のIIICSへの結合を示したピアコアデータを示している。

10

【図3】scFv型の抗ヒトMMP3抗体CH01を使用したヒト胎盤の染色を示した図である。scFv型の抗ニワトリ卵リゾチーム抗体KSFを陰性対照として使用した。2種類のscFv抗体による染色は赤色で示し、血管マーカーヒトフォンビルブランド因子による染色は緑色で示し、核はDAPIを使用して青色に染色した。

【図4】図4Aは、ヒト(HsMMP3)、マウス(MmMMP3)及びラット(RnMMP3)MMP3のビオチン化した触媒ドメインに結合する抗ヒトMMP3抗体CH01抗体の能力をELISAで示した図である。CH01は、ヒト及びマウス両方のMMP3を認識し、ラットMMP3はより少ない程度で認識する。図4Bは、抗体CH01のヒト及びマウスMMP3への結合を示したピアコアデータを示す。

20

【図5】ペリオスチンの4つの公知のアイソフォームを示す模式図である。

【図6】図6Aは、(scFv型の)抗体LG1、LG2及びLG3のペリオスチンへの結合を示したピアコアデータを示す図であり。図6Bは、(SIP型の)抗体1E1のペリオスチンへの結合を示したピアコアデータを示す図である。

【図7】図7は、(scFv型の)抗体G10のテネイシンWへの結合を示したピアコアデータを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0035】

本発明は、記載した態様及び好ましい特徴の組み合わせを含むが、このような組み合わせが明らかに容認されないか、又は明示的に避けられる場合は除く。

【0036】

一態様では、本発明は、i)フィブロネクチンのIIICSアイソフォーム、ii)マトリックス-プロテイナーゼ3(MMP3)、iii)ペリオスチン又はiv)テネイシンWに結合する抗体に関する。

30

【0037】

抗体分子

用語「抗体分子」は、天然であるか又は部分的若しくは全体的に合成によって産生されているかに関わらず、イムグロブリンを意味する。この用語はまた、抗体結合ドメインであるか又は抗体結合ドメインに実質的に相同な結合ドメインを有するあらゆるポリペプチド又はタンパク質も含む。抗体の例は、イムグロブリンアイソタイプ及びそれらのアイソタイプサブクラス、1本鎖2特異性抗体などの、抗原結合ドメインを含む断片である。抗体分子又はその断片は、ヒトであってもよく、又はヒト化されていてもよい。モノクローナル抗体及びその他の抗体を得、組換えDNA技術の技法を使用して元の抗体の特異性を保持するその他の抗体又はキメラ分子を産生することが可能である。このような技術は、イムグロブリン可変領域又は抗体のCDRをコードするDNAを異なるイムグロブリンの定常領域又は定常領域及びフレームワーク領域に導入することを含み得る。例えば、欧州特許出願公開第184187号、英国特許出願公開第2188638号又は欧州特許出願公開第239400号を参照のこと。抗体を産生するハイブリドーマ又はその他の細胞に遺伝子突然変異又はその他の変化を施してもよく、これによって産生する抗体の結合特異性が変化しても変化しなくてもよい。

40

【0038】

50

抗体は多くの方法で修飾することができるので、「抗体分子」という用語は、天然であるうと全体的に又は部分的に合成されていようと、イムノグロブリン結合ドメインを含むあらゆるポリペプチドを含めて、抗体断片、抗体の誘導體、機能的同等物及び相同体を含むと解されるべきである。したがって、別のポリペプチドに融合したイムノグロブリン結合ドメイン又は同等物を含むキメラ分子は含まれる。キメラ抗体のクローニング及び発現は、欧州特許出願公開第0120694号及び欧州特許出願公開第0125023号に記載されている。

【0039】

「特異的」という用語は、抗体分子が特異的な結合相手以外の分子に有意な結合を示さない状況を意味するために使用することができる。この用語はまた、例えば、抗体分子の抗原結合部位が多くの特異的抗原が有する特定のエピトープに特異的である場合に適用することができる。この場合、抗原結合部位を有する抗体分子はこのエピトープを有する様々な抗原に結合することができる。

10

【0040】

抗体分子は、1価又は2価であってもよく、すなわち、2個の抗原結合部位を有していてもよい。抗体分子が2価の場合、2個の抗原結合部位は同一であってもよく、又は異なってもよい。「抗原結合部位」は、抗原の一部又は全部に特異的に結合し、相補的である領域を含む抗体の部分の意味する。抗原が大きい場合、抗体分子はエピトープと呼ばれる抗原の特定の部分にのみ結合してもよい。抗原結合部位は、1個以上の抗体可変ドメイン(例えば、VHドメインからなるいわゆるFd抗体断片)によって提供されてもよい。好ましくは、抗原結合部位には、抗体軽鎖可変領域(VL)及び抗体重鎖可変領域(VH)が含まれる。

20

【0041】

本発明の抗体分子には、好ましくは、抗体SW01、抗体SW02、抗体CH01、抗体LG1、抗体LG2、抗体LG3、抗体1E1又は抗体G10のHCDR3が含まれる。HCDR3は、抗体分子の特異性の決定において役割を担うことが知られている(Segal等、(1974)、PNAS、71:4298~4302;Amit等、(1986)、Science、233:747~753;Chothia等、(1987)、J. Mol. Biol.、196:901~917;Chothia等、(1989)、Nature、342:877~883;Caton等、(1990)、J. Immunol.、144:1965~1968;Sharon等、(1990a)、PNAS、87:4814~4817;Sharon等、(1990b)、J. Immunol.、144:4863~4869;Kabat等、(1991b)、J. Immunol.、147:1709~1719)。

【0042】

抗体分子にはさらに、抗体SW01、抗体SW02、抗体CH01、抗体LG1、抗体LG2、抗体LG3、抗体1E1又は抗体G10のHCDR1、HCDR2、LCDR1、LCDR2及び/又はLCDR3を含めることができる。

30

【0043】

抗体分子にはまた、抗体SW01、抗体SW02、抗体CH01、抗体LG1、抗体LG2、抗体LG3、抗体1E1又は抗体G10のVH及び/又はVLドメインを含めることができる。

【0044】

本発明の抗体分子は、抗体SW01、抗体SW02、抗体CH01、抗体LG1、抗体LG2、抗体LG3、抗体1E1又は抗体G10のVHドメインに少なくとも70%、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%のうちの1つの配列同一性を有するVHドメインを有していてもよい。

40

【0045】

本発明の抗体分子は、抗体SW01、抗体SW02、抗体CH01、抗体LG1、抗体LG2、抗体LG3、抗体1E1又は抗体G10のVLドメインに少なくとも70%、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%のうちの1つの配列同一性を有するVLドメインを有していてもよい。

【0046】

配列同一性は通常、アルゴリズムGAP(Wisconsin GCG package, Accelrys Inc, San Diego USA)を参照して規定する。GAPは、2つの完全な配列を一致の数を最大限にし、ギャップの数を最小限にしてアライメントするためにNeedleman and Wunschアルゴリズムを使用する。一般的に、初期設定パラメータを使用し、ギャップ生成ペナルティ=12及びギャッ

50

ブ伸張ペナルティ=4である。GAPの使用は好ましいが、その他のアルゴリズム、例えば、BLAST(Altschul等、(1990) J. Mol. Biol. 215:405~410の方法を使用する)、FASTA(Pearson及びLipman (1988) PNAS USA 85:2444~2448の方法を使用する)又はSmith-Watermanアルゴリズム(Smith及びWaterman (1981) J. Mol Biol. 147:195~197)又はAltschul等、(1990)上記のTBLASTNプログラムを使用してもよく、一般的に初期設定パラメータを使用する。特に、psi-Blastアルゴリズム(Nucl. Acids Res. (1997) 25 3389~3402)を使用してもよい。

【0047】

これらのVH及びVLドメイン及びCDRの変異体はまた、本明細書で記載した使用のための抗体分子に用いることができる。適切な変異体は、配列変化、又は突然変異及びスクリーニングの方法によって得ることができる。

【0048】

本明細書で記載した使用のための特定の変異体には、1個以上のアミノ酸配列変化(アミノ酸残基の付加、欠失、置換及び/又は挿入)を含めることができ、約20個未満の変化、約15個未満の変化、約10個未満の変化又は約5個未満の変化、4、3、2又は1個であってもよい。

【0049】

変化は、1個以上のフレームワーク領域及び/又は1個以上のCDRにおいてなされてもよい。特に、変化はHCDR1、HCDR2及び/又はHCDR3においてなされてもよい。

【0050】

抗体分子は、完全な抗体又はその断片、特にその抗原結合断片であってもよい。

【0051】

完全な抗体には、IgA、IgD、IgE、IgG又はIgMが含まれる。好ましくは、完全な抗体はIgGである。

【0052】

完全な抗体の抗原結合断片には、(i)VL、VH、CL及びCH1ドメインからなるFab断片;(ii)VH及びCH1ドメインからなるFd断片;(iii)単一の抗体のVL及びVHドメインからなるFv断片;(iv)VH又はVLドメインからなるdAb断片(Ward等、(1989) Nature 341、544~546;McCafferty等、(1990) Nature、348、552~554;Holt等、(2003) Trends in Biotechnology 21、484~490);(v)単離されたCDR領域;(vi)F(ab')₂断片、2個の連結されたFab断片を含む2価の断片(vii)VHドメイン及びVLドメインがペプチドリinkerによって連結され、2個のドメインを抗原結合部位の形成に関連させる1本鎖Fv分子(scFv)(Bird等、(1988)Science、242、423~426;Huston等、(1988) PNAS USA、85、5879~5883);(viii)2特異的1本鎖Fv二量体(国際出願PCT/US92/09965)及び(ix)「2特異性抗体」、遺伝子融合によって構築された多価又は多特異的断片(国際公開第2013/014149号;国際公開第94/13804号;Holliger等、(1993a)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 6444~6448)が含まれる。Fv、scFv又は2特異性抗体分子はVH及びVLドメインを連結するジスルフィド架橋を組み込むことによって安定化することができる(Reiter等、(1996)、Nature Biotech、14、1239~1245)。CH3ドメインに接続したscFvを含む低分子抗体(minibody)も形成することができる(Hu等、(1996)、Cancer Res.、56(13):3055~61)。結合断片のその他の例は、抗体ヒンジ領域からの1個以上のシステインを含めて、重鎖CH1ドメインのカルボキシル末端に数個の残基が付加されている点でFab断片とは異なるFab'、及び定常ドメインのシステイン残基が遊離のチオール基を有するFab'断片であるFab'-SHである。

【0053】

1本鎖Fv(scFv)は、例えば、(Li等、(1997)、Protein Engineering、10:731~736)に記載されたようなミニイムノグロブリン又は低分子免疫タンパク質(SIP)に含まれていてもよい。SIPは、ホモ二量体ミニイムノグロブリン抗体分子を形成するヒトIgE分泌型アイソフォームIgE S2のCH4ドメインに融合したscFv分子を含むことができる(s₂-CH4;Batista等、(1996)、J. Exp. Med.、184:2197~205)。

【0054】

好ましくは、抗体分子は1本鎖Fv、小免疫タンパク質、2特異性抗体、又は(完全な)IgG分子を含むか、又はこれらからなる。

【0055】

コンジュゲート

本発明のコンジュゲートは、本発明の抗体分子及び治療薬又は診断薬を含む。治療薬は、殺生物分子、細胞傷害性分子、放射性同位元素、光感受性物質、酵素、ホルモン又は抗炎症薬であってもよい。好ましくは、治療薬は、殺生物分子、細胞傷害性分子、放射性同位元素又は抗炎症薬である。殺生物分子、細胞傷害性分子又は抗炎症薬はサイトカインであってもよい。

【0056】

診断薬は、放射性同位元素、例えば、非治療的放射性同位元素であってもよい。

【0057】

本発明の結合メンバーにコンジュゲートすることができる放射性同位元素には、 ^{94m}Tc 、 ^{99m}Tc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{47}Sc 、 ^{111}In 、 ^{97}Ru 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y 、 ^{90}Y 、 ^{121}Sn 、 ^{161}Tb 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{105}Rh 、 ^{177}Lu 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{18}F 、 ^{211}At 及び ^{225}Ac などの同位元素が含まれる。好ましくは、 ^{18}F 及び ^{124}I などのポジトロン放出体又は ^{99m}Tc 、 ^{111}In 及び ^{123}I などのガンマ放出体は診断適用(例えば、PET用)に使用され、一方、 ^{131}I 、 ^{90}Y 及び ^{177}Lu などのベータ放出体は、好ましくは、治療適用のために使用する。 ^{211}At 及び ^{225}Ac などのアルファ放出体もまた、治療用に使用することができる。1例では、特異的結合メンバーは、 ^{177}Lu 又は ^{90}Y にコンジュゲートすることができる。

【0058】

特異的結合メンバーは、ペプチド結合又はリンカーによって治療薬にコンジュゲートすることができるが、すなわち、融合ポリペプチド内に前記分子及び特異的結合メンバー又はそれらのポリペプチド鎖成分が含まれる。コンジュゲートのためのその他の手段には、化学的コンジュゲート、特に2官能性試薬(例えば、DOUBLE-REAGENTS(商標)Cross-linking Reagents Selection Guide、Pierceを用いる)を使用する架橋結合が含まれる。

【0059】

リンカー

抗体分子及び治療薬又は診断薬は、例えば、任意の適切な化学結合によって、又はリンカー、例えばペプチドリンカーによって、互いに直接連結することができる。

【0060】

ペプチドリンカーは短くてもよい(2~20個、好ましくは2~15個のアミノ酸残基の長さ)。ペプチドリンカー配列の適切な例は本分野では公知である。1個以上の異なるリンカーを使用してもよい。リンカーは約5アミノ酸長であってもよい。

【0061】

化学結合は、例えば、共有結合又はイオン結合であってもよい。共有結合の例には、ペプチド結合(アミド結合)及びジスルフィド結合が含まれる。例えば、抗体分子及び治療薬又は診断薬は共有結合していてもよい。例えば、ペプチド結合(アミド結合)であってもよい。したがって、抗体分子及び治療薬又は診断薬は、1本鎖ポリペプチドとして産生(分泌)することができる。抗体分子又は治療薬若しくは診断薬を形成する個々の成分はまた、例えば、任意の適切な化学結合によって、又はリンカー、例えばペプチドリンカーによって、直接連結することができる。抗体分子内の連結することができる個々の成分の例は、CD R又はVH又はVL配列である。

【0062】

治療方法及び診断方法

本発明の抗体分子又はコンジュゲートは、抗体分子又はコンジュゲートを患者に投与することを含む、患者(典型的にはヒト患者)における疾患又は障害の治療(予防的治療を含むことができる)の方法などのヒト又は動物の体の治療方法において使用することができる。

【0063】

10

20

30

40

50

したがって、本発明のこのような態様は、本発明の抗体分子又はコンジュゲートを投与することを含む治療方法、症状又は疾患を治療するためのこのような抗体分子又はコンジュゲートを含む医薬組成物、及び生理学的に許容される担体又は賦形剤と共に本発明の抗体分子又はコンジュゲートを製剤化することを含む、医薬品又は医薬組成物の製造方法を提供する。

【0064】

本明細書で記載した抗体分子又はコンジュゲートは、患者における炎症性疾患を治療し、血管形成を阻害し、癌を治療し、及び/又は自己免疫疾患を治療する方法において使用することができる。この方法は、インビボにおいて新生血管に治療薬を標的化することを含むことができる。薬剤は、問題の疾患又は障害の治療に適した本明細書で論じた任意の治療薬であってもよい。

10

【0065】

患者における新生血管に治療薬を標的化することによって、患者における炎症性疾患を治療し、血管形成を阻害し、癌を治療し、及び/又は自己免疫疾患を治療する方法であって、患者に本発明で記載したような抗体分子又はコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む方法も企図される。

【0066】

本明細書で記載した抗体分子又はコンジュゲートはまた、患者における疾患又は障害のイメージング、検出又は診断の方法において使用することができる。本明細書で記載した抗体又はコンジュゲートを患者に投与することを含む疾患又は障害のイメージング、検出又は診断の方法も同様に企図される。疾患又は障害は、炎症性疾患、血管形成、癌及び/又は自己免疫疾患であってもよい。この方法は、インビボにおける新生血管に検出可能な標識などの診断薬を標的化することを含むことができる。

20

【0067】

炎症性疾患には、炎症性の異常を特徴とするあらゆる疾患又は障害も含まれる。このような疾患には、例えば、自己免疫疾患などの免疫系障害及び癌が含まれる。

【0068】

血管形成は、多くの公知の疾患及び障害の特性であり、本発明の抗体又はコンジュゲートを使用する血管形成の阻害は、このような疾患及び障害を治療するために使用することができる。同様に、血管形成を特徴とする疾患及び障害は、本明細書で記載した抗体又はコンジュゲートを使用してイメージングし、検出し、又は診断することができる。血管形成を特徴とする疾患には、例えば、関節リウマチ、糖尿病性網膜症、加齢性筋肉変性、血管腫、腫瘍及び癌が含まれる。

30

【0069】

前述したように、本明細書で記載した抗体又はコンジュゲートを使用して治療し、イメージングし、検出し、又は診断することができる症状には、癌並びにその他の腫瘍及び新生物症状が含まれる。癌の例としては、固形癌又は非固形癌又は悪性リンパ腫の任意の種類、特に肝臓癌、リンパ腫、白血病(例えば、急性骨髄性白血病)、肉腫、皮膚癌、膀胱癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、頭部及び頸部癌、食道癌、膵臓癌、腎臓癌、胃癌及び大脳癌が挙げられる。癌は、家族性又は孤発性であってもよい。癌は、転移性又は非転移性であってもよい。癌、腫瘍又は新生物状態は、i) フィブロネクチンのIIICSアイソフォーム、ii) マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)、iii) ペリオスチン及び/又はiv) テネイシンWを発現し得る。

40

【0070】

本明細書で記載した抗体又はコンジュゲートを使用して治療し、イメージングし、検出し、又は診断することができる自己免疫疾患には、エリテマトーデス、関節リウマチ及び乾癬性関節炎が含まれる。

【0071】

本明細書で記載した抗体又はコンジュゲートを使用して治療し、イメージングし、検出し、又は診断することができるさらなる疾患又は障害は、変形性関節症(変形性関節症)

50

である。

【0072】

医薬組成物

本発明のさらなる態様は、本発明の少なくとも1つの抗体分子又はコンジュゲート及び任意に薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【0073】

本発明の医薬組成物は典型的に、本発明による治療有効量の抗体分子又はコンジュゲート及び任意に薬学的に許容される賦形剤などの補助物質を含む。前記医薬組成物は、製薬分野で周知の方法で調製する。担体又は賦形剤は、活性成分の媒体又は媒質として使用できる液状物質であってもよい。適切な担体又は賦形剤は本分野では周知であり、例えば、安定化剤、抗酸化剤、pH調節物質、放出制御賦形剤が含まれる。本発明の医薬組成物は、例えば、非経口使用のために適合させることができ、溶液などの形態で患者に投与することができる。

10

【0074】

本発明の抗体分子又はコンジュゲートを含む医薬組成物は、患者に投与することができる。投与は好ましくは「治療有効量」であり、これは患者に利益を示すために十分である。このような利益は、少なくとも1つの症候の改善であってもよい。投与した実際の量、投与の速度及び時間経過は、治療するものの性質及び重症度に応じる。治療の指示、例えば、投薬量の決定などは、一般的な開業医及びその他の医師の責任の範囲内である。治療は医師の判断で毎日、1週間に2回、毎週、又は毎月の間隔で反復することができる。

20

【0075】

本発明の医薬組成物は、任意の適切な経路を介して、通常、血流に、及び/又は治療すべき部位に直接注射することによって、治療を必要とする患者に投与することができる。投与の正確な用量及びその頻度は、いくつかの要素、治療経路、治療すべき領域の大きさ及び位置に応じる。

【0076】

経口投与用の医薬組成物は、錠剤、カプセル、粉末又は液状の形態であってもよい。錠剤には、ゼラチンなどの固形担体又はアジュバントを含めてもよい。液状の医薬組成物は一般的に、水、石油、動物油若しくは植物油、鉱油又は合成油などの液状担体を含む。生理食塩水溶液、デキストロース若しくはその他の糖類溶液又はエチレングリコール、プロピレングリコール若しくはポリエチレングリコールなどのグリコールを含めてもよい。

30

【0077】

静脈内注射又は罹患した部位への注射のために、医薬組成物は発熱性物質を含まず、適切なpH、等張性及び安定性を有する非経口的に許容される水性溶液の形態であってもよい。当業者であれば、例えば、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、乳酸リンゲル注射液などの等張媒体を使用して、適切な溶液をうまく調製することができる。保存剤、安定化剤、緩衝剤、抗酸化剤及び/又はその他の添加物は、必要であれば含めることができる。

【0078】

医薬組成物は、単独で、又はその他の治療と組み合わせて、治療すべき症状に応じて同時に、又は順次投与してもよい。

40

【0079】

キット

本発明の別の態様は、本明細書に記載した抗体分子又はコンジュゲートを含む疾患又は障害の治療における使用のための治療用キットを提供する。キットの成分は、好ましくは滅菌されており、密封されたバイアル又はその他の容器に存在する。

【0080】

キットはさらに、本明細書に記載した方法で成分を使用するための指示書を含んでもよい。キットの成分は、容器、例えば、袋、箱、瓶、缶又はプリスター包装内に含めるか、又は包装してもよい。

50

【0081】

本発明のさらなる態様及び実施形態は、以下の実験例を含む本開示があれば当業者には明らかであろう。

【0082】

本明細書で言及した全文献は、全体が参考として本明細書に組み込まれる。

【0083】

本明細書で使用した「及び/又は」は、その他のものと共に、又はその他のものを伴わずに、2つの特定の特徴又は成分のそれぞれの特定の開示としてとらえられる。例えば、「A及び/又はB」は、正にそれぞれが本明細書で個々に記載されているかのように、(i)A、(ii)B並びに(iii)A及びBのそれぞれの特定の開示としてとらえられる。

10

【0084】

特に文脈で指示していない限り、上記特徴の説明及び定義は、本発明のいかなる特定の態様又は実施形態にも限定されず、記載した全態様及び実施形態に等しく適用される。

【0085】

本発明のある種の態様及び実施形態を、例として、上記図面を参照にしてここで例示する。

【実施例】

【0086】

実施例1 - フィブロネクチンのIIICSアイソフォームに対する2つの新規抗体の調製及び特徴付け

20

抗体SW01及びSW02は、国際出願PCT/EP2009/006487、Weber等(PLoS One、2014、9 (6) doi: 10/1361)及びSilacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)に記載されたライブラリーを含むファージディスプレイライブラリーから、Silacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)によって記載されたスクリーニング技術にしたがって、スクリーニング抗原としてフィブロネクチンIIICSを用いて、1本鎖Fv(scFv)の構成で単離した。

【0087】

単量体scFv型で使用したとき、SW01及びSW02抗体は、IIICS(89V)及びIIICS(120V)アイソフォーム(図1)に結合する。さらに、ELISAを使用すると、抗体SW01及びSW02はヒト及びラットの両方の組換えIIICS(120V)アイソフォームを認識することが示された。

30

【0088】

抗体SW01及びSW02は、免疫蛍光分析において良好な性能を示す。図2Aは、ヒト胎盤、ヒト腫瘍(A375、H460)及びマウス腫瘍(K1735、F9)のSIP型のSW01及びSW02による染色を示す。具体的にいうと、SW01及びSW02はこれらの組織/腫瘍において血管及び血管周囲の構造に明確に区別できる染色を示す。陰性対照(neg ctr)として、抗ヒトフォンビルブランド因子抗体(抗huVWF)をヒト胎盤実験のために使用し、抗マウスCD31抗体(muCD31)を腫瘍実験のために使用した。

【0089】

抗体SW01及びSW02のIIICSへの結合をさらに、ピアコア分析によって確認した。結果を図2Bに示す。

40

【0090】

腫瘍切片における免疫蛍光:

腫瘍のクリオスタット切片(10 µm)は氷冷アセトン中で固定し、PBSで再水和し、PBS中の20%牛胎児血清でブロックした。

【0091】

SW01及びSW02抗IIICS抗体並びにKSF抗ニワトリ卵リゾチーム抗体(いずれもSIP型)を3% BSAで最終濃度5 µg/mLまで希釈し、その後組織切片に添加した。ウサギ-a-ヒトIgE抗体(Dako)及びラット-a-マウス-CD31抗体(BD Biosciences)をそれぞれSIP抗体融合タンパク質及び血管の内皮細胞の共染色のために使用した。抗ウサギAlexa488及び抗ラットAlexa594(Invitrogen)2次抗体を検出のために使用した。

50

【0092】

ヒト胎盤の免疫蛍光:

ヒト胎盤のクリオスタット切片(10 μm)は氷冷アセトン中で固定し、PBSで再水和し、PBSに溶かした20%牛胎児血清でブロックした。

【0093】

SW01及びSW02抗IIICS抗体並びにKSF抗ニワトリ卵リゾチーム抗体(いずれもSIP型)をピオチン化して、3% BSAで最終濃度5 μg/mLまで希釈し、その後組織に添加した。ウサギ抗ヒトフォンビルブランド抗体(Dako)を、血管の内皮細胞の染色のために使用した。抗ウサギAlexa594及びストレプトアビジンAlexa594(Invitrogen)2次抗体を検出のために使用した。

10

【0094】

ピアコア分析:

抗体SW01及びSW02のIIICSへの結合をさらに、ピアコア分析によって決定した。CM5チップを14(89V)15(ドメイン14、IIICSのエキストラドメイン-89V及びフィブロネクチンのドメイン15を含む組換えポリペプチド)でコーティングして、最終コーティング密度1400共鳴単位(RU)を実現した。SIP型で産生したSW01及びSW02抗体は、Na₂HPO₄30mM、NaH₂PO₄ 20 mM、NaCl 100mM、pH7.4で希釈し、以下の濃度の溶液を提供した:

1)SIP(SW01): 500nM、250nM及び125nM

2)SIP(SW02):250nM、125nM及び62.5nM

ピアコア分析のための流速は、10 μL/分に設定した。各抗体試料10 μLを系に注入した。分析をHBS-EP緩衝液中で実施した。各注入後、チップをHCl 10mM、5 μLを注入することによって再生した。

20

【0095】

実施例2 - MMP3に対する新規抗体の調製及び特徴付け

CH01抗体を、国際出願PCT/EP2009/006487、Weber等(PLoS One、2014、9 (6) doi: 10/1361)及びSilacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)で記載されたライブラリーを含むファージディスプレイライブラリーから、Silacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)によって記載されたスクリーニング技術にしたがって、ヒトMMP3の触媒ドメインの組換え型(アミノ酸100~273)を用いてscFvの構成で単離した。抗原は、細菌発現系で産生し、標準的手順にしたがってピオチン化した。

30

【0096】

抗体CH01は、免疫蛍光分析によって示されたように新生血管構造に良好な染色を示す。図3は、10 μmの厚さの組織試料がscFv型の抗ヒトMMP3抗体CH01で染色されたヒト胎盤試料の染色を示す。scFv型の抗ニワトリ卵リゾチーム抗体KSFを染色のためのアイソタイプ陰性対照として使用した。scFv染色は赤色で示し、血管マーカーヒトフォンビルブランド因子は緑色で示し、核はDAPIを使用して青色に染色した。陰性対照とは異なり、CH01抗体は胎盤標本中の新生血管構造を染色する。

【0097】

異なる種のMMP3についてのCH01抗体の交差反応性は、ELISAにおいてヒト、マウス及びラットMMP3のピオチン化触媒ドメインに対するCH01抗体の結合を測定することによって分析した。図4Aに示した結果は、CH01はマウス及びヒトMMP3の両方を認識し、ラットMMP3はより少ない程度で認識することを示している。

40

【0098】

抗体CH01のヒト及びマウスMMP3の触媒ドメインへの結合はまた、ピアコア分析によって確認した。結果は図4Bに示す。

【0099】

ヒト胎盤試料に対する免疫蛍光:

MMP3及びフォンビルブランド因子(vWF、内皮マーカー)の2重染色を、ヒト胎盤試料について実施した。10 μmの厚さの凍結標本を室温で解凍し、氷冷アセトンで処理し、PBS中で

50

再水和し、3% BSAでブロックした。アフィニティ精製したmycタグ付けscFv抗体(最終濃度5mg/ml)は、まず組織試料でインキュベートし、次いでビオチン化抗myc9E10モノクローナル抗体(5mg/ml)及び内皮マーカー抗体でインキュベートした。結合したscFvはストレプトアビジンAlexa594(Molecular Probes)で検出した。抗vWF抗体(DAKO)はヤギ抗ウサギIgG Alexa488を使用して検出した。DAPIは核染色のために使用した。抗ニワトリ卵リゾチーム抗体scFv(KSF)を染色のためのアイソタイプ陰性対照として使用した。

【0100】

交差反応性ELISA:

Streptawell High Bind strip(Roche)をビオチン化ヒト、マウス又はラットMMP3触媒ドメイン100nMでコーティングした。ScFv断片を1時間インキュベートし、結合した抗体を抗Myc抗体9E10及びHRPコンジュゲート抗マウスF_c抗体(Sigma)で検出した。プレートコーティング密度を、HRPコンジュゲート抗6xHis抗体(Sigma)を使用してMMP3触媒ドメインを検出することによって評価した。抗体-抗原結合の比色検出は、BM-Blue POD可溶性基質(Roche)を使用して実施した。

【0101】

ピアコア分析:

精製したscFv型のCH01を、ヒト及びマウスMMP3触媒ドメインの両方でコーティングしたCM5チップに注入した。応答単位を、ゼロのベースライン値を得るために標準化した。試料を、10 µL/分の流速でTris-HCl 50mM、pH7.4、NaCl 200mM、CaCl₂1mMに注入した。

【0102】

実施例3 - ペリオスチンに対する4種の新規抗体の調製及び特徴付け

LG1、LG2、LG3及び1E1抗体は、国際出願PCT/EP2009/006487、Weber等(PLoS One、2014、9 (6) doi: 10/1361)及びSilacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)に記載されたライブラリーを含むファージディスプレイライブラリーから、Silacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)によって記載されたスクリーニング技術にしたがってscFvの構成で単離した。ペリオスチンに対する抗体を生成するために、FASドメインの組換え型(1から4;図5)をほ乳類細胞発現系で産生した。抗原は標準的手順にしたがってビオチン化した。

【0103】

ペリオスチンに対する抗体LG1、LG2及びLG3(scFv型)及び1E1(SIP型)の結合は、ピアコア分析によって確認した。結果を図6A及び6Bに示す。

【0104】

ピアコア分析:

精製抗体の単量体画分は、表面プラズモン共鳴(ピアコア、3000系)によって分析した。組換えヒトペリオスチンを、CM-3センサーチップの表面に共有結合させた。各試料30マイクロリットルを流速10 µL/分で注入した。チップの再生を、HCl 10mM 5 µLで実施した。

【0105】

実施例4 - テネイシンWに対する新規抗体の調製及び特徴付け

G10抗体は、国際出願PCT/EP2009/006487、Weber等(PLoS One、2014、9 (6) doi: 10/1361)及びSilacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)に記載されたライブラリーを含むファージディスプレイライブラリーから、Silacci等(Protein Engineering Design & Selection、2006、19、471~478)によって記載されたスクリーニング技術にしたがってscFvの構成で単離した。G10抗体を、ヒトテネイシンWの残基262~534(リーダー配列を含む番号付け)に対応する組換え断片に対してライブラリーをスクリーニングすることによって単離した。組換え断片はまた、N末端メチオニン及びC末端His6タグを含有していた。このペプチドの配列を配列番号65に示す。

【0106】

テネイシンWに対するG10の結合をピアコア分析によって確認した。結果を図7に示す。

【0107】

ピアコア分析:

10

20

30

40

50

精製したG10抗体の単量体画分を、表面プラズモン共鳴(ピアコア、3000系)によって分析した。テネインWのアミノ酸262～534からなる組換えペプチドをCM-5センサーチップの表面に共有結合させた。各試料25マイクロリットルを流速10 μ L/分で注入した。チップの再生は、グリシン-HCl 10mM、pH2.5(GE Healthcare)5 μ lで実施した。

配列表

フィブロネクチンの IIICS アイソフォームに特異的な抗体 SW01 のアミノ酸配列

配列番号 1 (SW01 – VH)

10

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK
GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNRYIFDYWGQGTLTVSS

配列番号2 (SW01 – VL)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSG
NTASLTITGAQAEDEADYYCNSSPKAPRPVVFGGGTKLTVLG

配列番号3 (SW01 – VH CDR1)

20

GFTFSSYAMS

配列番号4 (SW01 – VH CDR2)

AISGSGGSTYYADSVKG

配列番号5 (SW01 – VH CDR3)

NRYIFDY

配列番号6 (SW01 – VL CDR1)

30

QGDSLRSYYAS

配列番号7 (SW01 – VL CDR2)

GKNNRPS

配列番号 8 (SW01 – VL CDR3)

NSSPKAPRPVW

40

フィブロネクチンの IIICS アイソフォームに特異的な抗体 SW02 のアミノ酸配列

配列番号 9 (SW02 – VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK
GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGRFLFDYWGQGTLTVSS

配列番号10 (SW02 – VL)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSG

50

NTASLTITGAQAEDEADYYCNSSPLYNPYVVFSGGKTLTVLG

配列番号11 (SW02 – VH CDR1)

GFTFSSYAMS

配列番号12 (SW02 – VH CDR2)

AISGSGGSTYYADSVKG

10

配列番号13 (SW02 – VH CDR3)

GRFLFDY

配列番号14 (SW02 – VL CDR1)

QGDSLRSYYAS

配列番号15 (SW02 – VL CDR2)

GKNNRPS

20

配列番号 16 (SW02 – VL CDR3)

NSSPLYNPYV

MMP3 に特異的な抗体 CH01 のアミノ酸配列

配列番号 17 (CH01 - VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYAMSWWRQAPGKGLEWWSAITGQGGVTYYADSVK
GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKISSFHFYWGQGLTVTVSS

30

配列番号 18 (CH01- VL)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSHHLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSG
SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQPRGAPTTFGQGTKVEIK

配列番号 19 (CH01 – VH CDR1)

GFTFSPYAMS

配列番号 20 (CH01 – VH CDR2)

AITGQGGVTYYADSVKG

40

配列番号 21 (CH01 – VH CDR3)

ISSFHFYD

配列番号 22 (CH01 – VL CDR1)

RASQSVSSHHLA

配列番号 23 (CH01 – VL CDR2)

DASSRAT

配列番号 24 (CH01 – VL CDR3)

QQPRGAPTT

10

ペリオスチンに特異的な抗体 LG1 のアミノ酸配列

配列番号 25 (LG1 - VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWWRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVK
GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHTPSFDYWGQGTLVTVSS

配列番号 26 (LG1 - VL)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSG
NTASLTITGAQAEDEADYYCNSPYRPKKLWVFGGGTKLTVLG

20

配列番号 27 (LG1 – VH CDR1)

GFTFSSYAMS

配列番号 28 (LG1 – VH CDR2)

AISGSGGSTYYADSVKG

30

配列番号 29 (LG1 – VH CDR3)

HTPSFDY

配列番号 30 (LG1 – VL CDR1)

QGDSLRSYYAS

配列番号 31 (LG1 – VL CDR2)

GKNNRPS

40

配列番号 32 (LG1 – VL CDR3)

NSPYRPKKLWV

ペリオスチンに特異的な抗体 LG2 のアミノ酸配列

配列番号 33 (LG2 - VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK
GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKARYPFDYWGQGTLLTVSS

配列番号 34 (LG2 - VL)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSG
NTASLTITGAQAEDEADYYCNSFGRALPSVVFVGGGKTLTVLG

10

配列番号 35 (LG2 - VH CDR1)

GFTFSSYAMS

配列番号 36 (LG2 - VH CDR2)

AISGSGGSTYYADSVKG

配列番号 37 (LG2 - VH CDR3)

ARYPFDY

20

配列番号 38 (LG2 - VL CDR1)

QGDSLRSYYAS

配列番号 39 (LG2 - VL CDR2)

GKNNRPS

配列番号 40 (LG2 - VL CDR3)

NSFGRALPSVV

30

ペリオスチンに特異的な抗体 LG3 のアミノ酸配列

配列番号 41 (LG3 - VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK
GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRARLFDYWGQGTLLTVSS

配列番号 42 (LG3 - VL)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS
GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGGSLPLTFGQGTKVEIK

40

配列番号 43 (LG3 - VH CDR1)

GFTFSSYAMS

配列番号 44 (LG3 – VH CDR2)

AISGSGGSTYYADSVKG

配列番号 45 (LG3 – VH CDR3)

RARLFDY

配列番号 46 (LG3 – VL CDR1)

RASQSVSSSYLA

10

配列番号 47 (LG3 – VL CDR2)

GASSRAT

配列番号 48 (LG3 – VL CDR3)

QQGGSPLT

ペリオスチンに特異的な抗体 1E1 のアミノ酸配列

20

配列番号 49 (1E1 - VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK
GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHEPYIGFDYWGQGTLVTVSS

配列番号 50 (1E1 - VL)

SELTQDPAVSVLALGQTVRITCQGDSLRTFYASWYQQKPGQAPVPLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSGN
TASLTITGAQAEDADYYCNSSLYPRTPVVFSGGKTLTVLG

30

配列番号 51 (1E1 – VH CDR1)

GFTFSSYAMS

配列番号 52 (1E1 – VH CDR2)

AISGSGGSTYYADSVKG

配列番号 53 (1E1 – VH CDR3)

HEPYIGFDY

40

配列番号 54 (1E1 – VL CDR1)

QGDSLRTFYAS

配列番号 55 (1E1 – VL CDR2)

GKNNRPS

配列番号 56 (1E1 - VL CDR3)

NSSLYP RTPV

テネイシン W に特異的な抗体 G10 のアミノ酸配列

配列番号 57 (G10 - VH)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWWRQAPGKGLEWVSAISGGSTYYADSVK
GQFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKANPWAFDYWGQGT LTVSS

10

配列番号 58 (G10 - VL)

SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSG
NTASLTITGAQAEDEADYYCNSSGSQRSPPVFGGGTKLTVLG

配列番号 59 (G10 - VH CDR1)

GFTFSSYAMS

配列番号 60 (G10 - VH CDR2)

AISGGSTYYADSVK

20

配列番号 61 (G10 - VH CDR3)

ANPWAFDY

配列番号 62 (G10 - VL CDR1)

QGDSLRSYYAS

30

配列番号 63 (G10 - VL CDR2)

GKNNRPS

配列番号 64 (G10 - VL CDR3)

NSSGSQRSPPV

抗体 G10 抗体を単離するために用いた組換えテネイシン W のアミノ酸配列

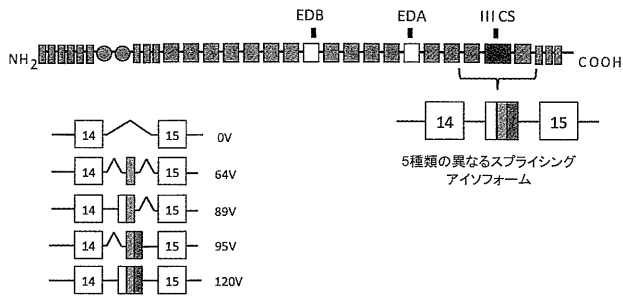
配列番号 65

MVVTPQGLQLLKNTEDSLLVSWEPSSQVNHVLLSYPLGKELSGKQIQVPKEQHSYEILGLLPGTKYI
VTLRNVKNEVSSSPQHLLATTDLAVLGTAWVTDETENSLDVEWENPSTEVDYKLRYPMTGQEVA
EVTVPKSSDPKSRDITGLHPGTEYKITVVP MRGELEGKPILLNGRTEIDSPTNVVTDRTEDTATVSW

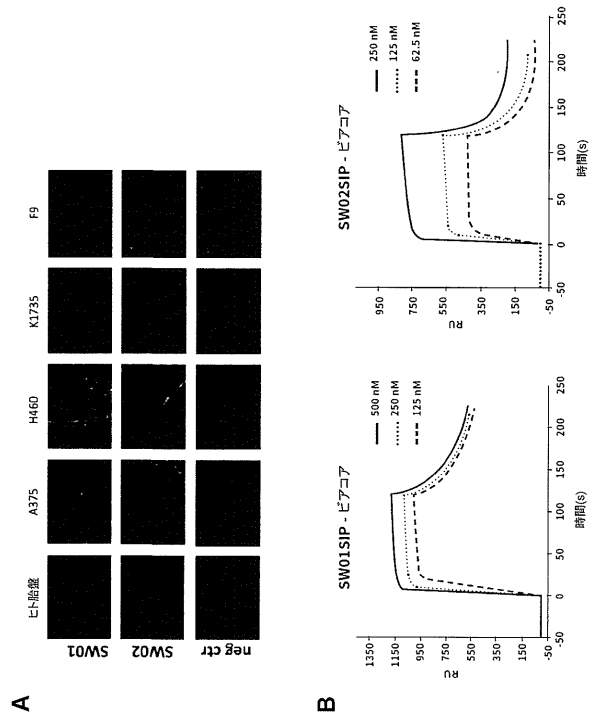
DPVQAVIDKYVVRYTSADGDTKEMAVHKDESSTVLTGLKPGEAYKVYVVAERGNQGSKKADTNALT
EIDSPHHHHH

40

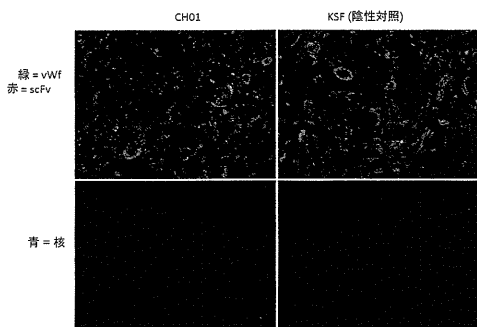
【 図 1 】



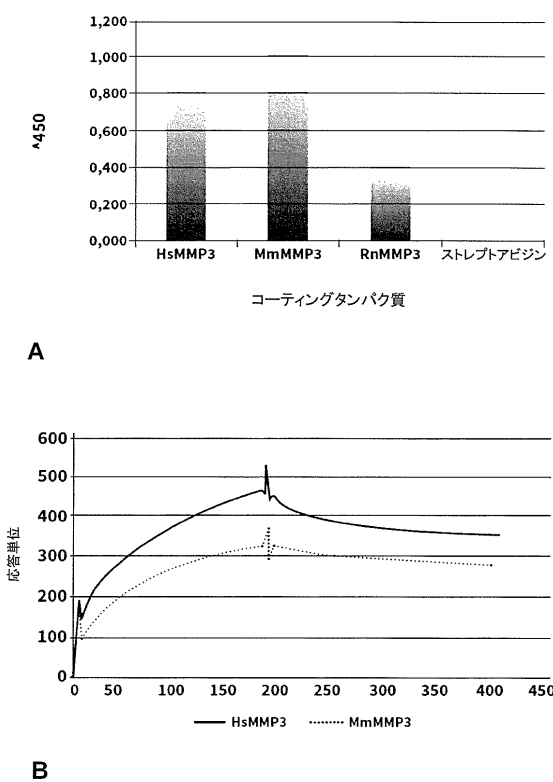
【 図 2 】



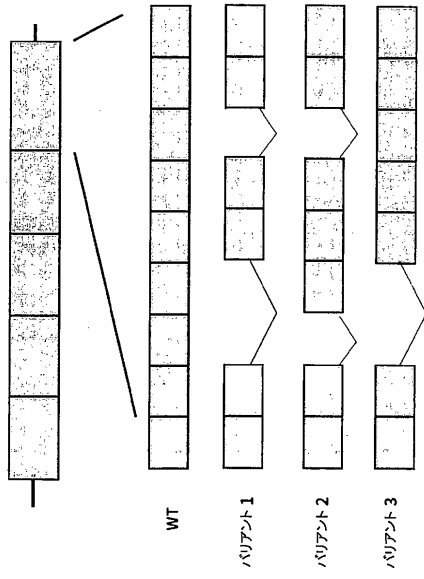
【 図 3 】



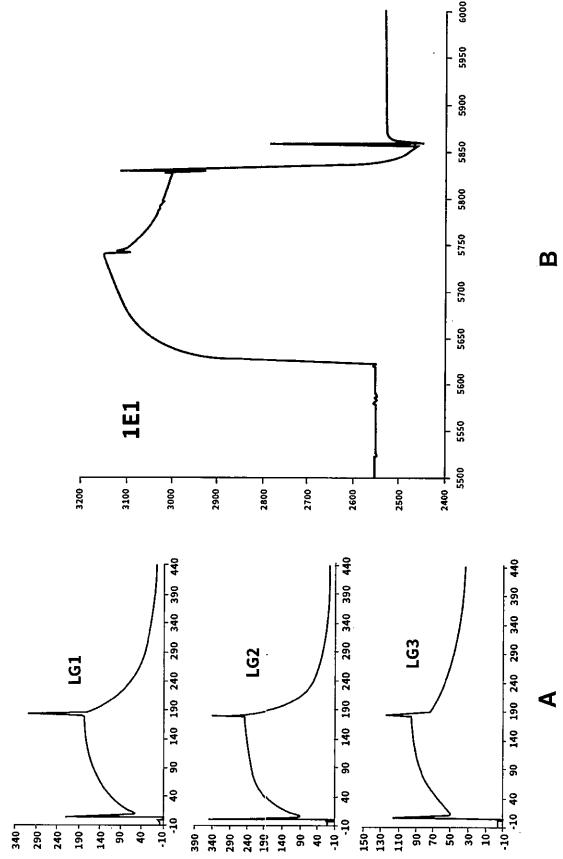
【 図 4 】



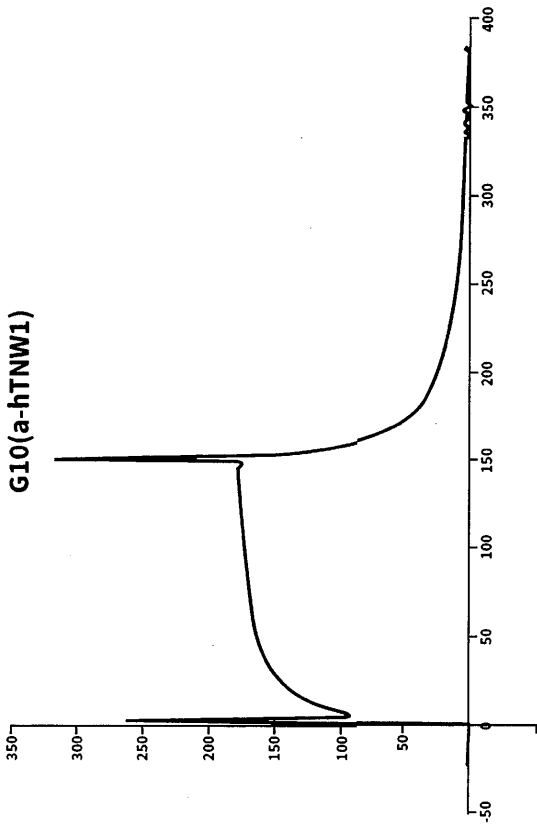
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【配列表】

2017526654000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年3月28日(2017.3.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

テネイシンWに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号61のアミノ酸配列を有し、
LCDR3が配列番号64のアミノ酸配列を有し、
HCDR1が配列番号59のアミノ酸配列を有し、
HCDR2が配列番号60のアミノ酸配列を有し、
LCDR1が配列番号62のアミノ酸配列を有し、及び
LCDR2が配列番号63のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項2】

VHドメインが配列番号57のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号58のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載の抗体分子。

【請求項3】

フィブロネクチンのIIICSアイソフォームに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号5のアミノ酸配列を有し、
LCDR3が配列番号8のアミノ酸配列を有し、
HCDR1が配列番号3のアミノ酸配列を有し、
HCDR2が配列番号4のアミノ酸配列を有し、
LCDR1が配列番号6のアミノ酸配列を有し、及び
LCDR2が配列番号7のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項4】

VHドメインが配列番号1のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号2のアミノ酸配列を有する、請求項3に記載の抗体分子。

【請求項5】

マトリックス-メタロプロテイナーゼ3(MMP3)に結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号21のアミノ酸配列を有し、
LCDR3が配列番号24のアミノ酸配列を有し、
HCDR1が配列番号19のアミノ酸配列を有し、
HCDR2が配列番号20のアミノ酸配列を有し、
LCDR1が配列番号22のアミノ酸配列を有し、及び
LCDR2が配列番号23のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項6】

VHドメインが配列番号17のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号18の

アミノ酸配列を有する、請求項5に記載の抗体分子。

【請求項7】

ペリオスチンに結合する抗体分子であって、前記抗体分子がフレームワーク及び1組の相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含むVHドメイン並びにフレームワーク及び1組の相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含み、

HCDR3が配列番号53のアミノ酸配列を有し、

LCDR3が配列番号56のアミノ酸配列を有し、

HCDR1が配列番号51のアミノ酸配列を有し、

HCDR2が配列番号52のアミノ酸配列を有し、

LCDR1が配列番号54のアミノ酸配列を有し、及び

LCDR2が配列番号55のアミノ酸配列を有する抗体分子。

【請求項8】

VHドメインが配列番号49のアミノ酸配列を有し、及び/又はVLドメインが配列番号50のアミノ酸配列を有する、請求項7に記載の抗体分子。

【請求項9】

1本鎖Fv(scFv)であるか若しくはscFvを含むか、小免疫タンパク質(SIP)であるか、2特異性抗体であるか、又はIgG分子である、請求項1から8のいずれか一項に記載の抗体分子。

【請求項10】

請求項1から9のいずれか一項に記載の抗体分子及び殺生物分子、細胞傷害性分子又は放射性同位元素を含むコンジュゲート。

【請求項11】

請求項1から9のいずれか一項に記載の抗体分子及び抗炎症薬を含むコンジュゲート。

【請求項12】

殺生物分子、細胞傷害性分子又は抗炎症薬がサイトカインである、請求項10又は11に記載のコンジュゲート。

【請求項13】

抗体分子及び殺生物分子、細胞傷害性分子、抗炎症薬又はサイトカインを含む融合タンパク質である、請求項10～12のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項14】

請求項1から9のいずれか一項に記載の抗体分子及び検出可能な標識を含むコンジュゲート。

【請求項15】

患者における癌を治療する方法における使用のための請求項1～10又は12～13のいずれか一項に記載の抗体分子又はコンジュゲートを含む医薬組成物。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/067309

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/18 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/019136 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; VARNER JUDITH A [US]) 6 March 2003 (2003-03-06) page 59, paragraph 2 figure 1B ----- -/--	1-4, 33-66
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
25 September 2015		04/01/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Malamoussi, A

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/067309

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WARAWDEKAR U M ET AL: "Elevated levels and fragmented nature of cellular fibronectin in the plasma of gastrointestinal and head and neck cancer patients", CLINICA CHIMICA ACTA, ELSEVIER BV, AMSTERDAM, NL, vol. 372, no. 1-2, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 83-93, XP027877703, ISSN: 0009-8981 [retrieved on 2006-10-01] abstract page 84, right-hand column, paragraph 3 - paragraph 4 -----	1-4, 33-66
X	ANGELES GARCIA-PARDO ET AL: "Two novel monoclonal antibodies to fibronectin that recognize the hep II and CS-1 regions respectively: Their differential effect on lymphocyte adhesion", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 186, no. 1, 1 July 1992 (1992-07-01), pages 135-142, XP055216310, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/S0006-291X(05)80785-5 abstract -----	1-4, 33-66
X	AMY J. SANTAS ET AL: "Alternative Splicing of the IIICS Domain in Fibronectin Governs the Role of the Heparin II Domain in Fibrillogenesis and Cell Spreading", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 277, no. 16, 19 April 2002 (2002-04-19), pages 13650-13658, XP055216313, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M111361200 abstract page 13652, left-hand column, paragraph 2 -----	1-4, 33-66
X	PACHIYAPPAN KAMARAJAN ET AL: "The CS1 segment of fibronectin is involved in human OSCC pathogenesis by mediating OSCC cell spreading, migration, and invasion", BMC CANCER, vol. 10, no. 1, 1 January 2010 (2010-01-01), page 330, XP055216316, ISSN: 1471-2407, DOI: 10.1186/1471-2407-10-330 abstract page 3, right-hand column, paragraph 1 -----	1-4, 33-66
	----- -/--	

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/067309

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>ELICES M J ET AL: "EXPRESSION AND FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF ALTERNATIVELY SPLICED CS1 FIBRONECTIN IN RHEUMATOID ARTHRITIS MICROVASCULATURE", JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, AMERICAN SOCIETY FOR CLINICAL INVESTIGATION, US, vol. 93, no. 1, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 405-416, XP009052418, ISSN: 0021-9738, DOI: 10.1172/JC1116975 abstract page 406, right-hand column, paragraph 1</p> <p>-----</p>	1-4, 33-66
A	<p>SR BRAMHALL ET AL: "Expression of collagenase (MMP2), stromelysin (MMP3) and tissue inhibitor of the metalloproteinases (TIMP1) in pancreatic and ampullary disease", BRITISH JOURNAL OF CANCER, vol. 73, no. 8, 1 April 1996 (1996-04-01), pages 972-978, XP055216321, ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/bjc.1996.190 page 973, right-hand column, paragraph 2 table II</p> <p>-----</p>	1-4, 33-66
A	<p>ISABELLA T TAI ET AL: "Periostin induction in tumor cell line explants and inhibition of in vitro cell growth by anti-periostin antibodies", CARCINOGENESIS, OXFORD UNIVERSITY PRESS, GB, vol. 26, no. 5, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 908-915, XP008127943, ISSN: 0143-3334, DOI: 10.1093/CARCIN/BGI034 abstract</p> <p>-----</p>	1-4, 33-66
A	<p>ZHU MIN ET AL: "Neutralizing monoclonal antibody to periostin inhibits ovarian tumor growth and metastasis", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, vol. 10, no. 8, 1 August 2011 (2011-08-01), pages 1500-1508, XP009164701, ISSN: 1538-8514 abstract</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-4, 33-66

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/067309

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>FLORENCE BRELLIER ET AL: "Tenascin-W is a better cancer biomarker than tenascin-C for most human solid tumors", BMC CLINICAL PATHOLOGY, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 12, no. 1, 4 September 2012 (2012-09-04), page 14, XP021115769, ISSN: 1472-6890, DOI: 10.1186/1472-6890-12-14 abstract page 2, right-hand column, paragraph 3 -----</p>	<p>1-4, 33-66</p>

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/067309**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-4(completely); 33-66(partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2015/ 067309

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-4(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds the IIICS isoform of fibronectin, sequences relating to clone SW01

2. claims: 5-8(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds the IIICS isoform of fibronectin, sequences relating to clone SW02

3. claims: 9-12(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds matrix-metalloproteinase 3 (MMP3), sequences relating to clone CH01

4. claims: 13-16(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds periostin, sequences relating to clone LG1

5. claims: 17-20(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds periostin, sequences relating to clone LG2

6. claims: 21-24(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds periostin, sequences relating to clone LG3

7. claims: 25-28(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds periostin, sequences relating to clone IE1

8. claims: 29-32(completely); 33-66(partially)

antibody molecule that binds tenascin W, sequences relating to clone G10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/067309

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03019136	A2	06-03-2003	
		AU 2002356180 A1	10-03-2003
		CA 2494870 A1	06-03-2003
		EP 1423135 A2	02-06-2004
		US 2005129681 A1	16-06-2005
		WO 03019136 A2	06-03-2003

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 47/68	(2017.01)	A 6 1 K 39/395	L
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 38/19	(2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 K 38/19	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 51/02	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	A 6 1 K 51/02	2 0 0
G 0 1 N 33/532	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	V
		G 0 1 N 33/532	A

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

(74)代理人 100196966

弁理士 植田 渉

(72)発明者 グアランディ, ローラ

スイス国 8 0 5 7 チューリッヒ, エルリコナーシュトラッセ 3

(72)発明者 ウールファード, サラ

スイス国 5 4 3 2 ノイエンホーフ, ヴェーバーミューレ 1 5

(72)発明者 ハッチンソン, カトリーン

スイス国 5 2 0 0 ブルック アールガウ, ベスタロツツイシュトラッセ 2

(72)発明者 マタッシ, マッティア

スイス国 8 0 3 8 チューリッヒ, タンネンラウフシュトラッセ 7 1

Fターム(参考) 4C076 AA95 BB11 BB21 CC07 CC26 CC27 EE41 EE59 FF32 FF34

FF68

4C084 AA02 AA03 AA19 BA44 DA01 DA39 MA02 MA16 MA35 MA37

MA41 MA43 MA52 MA55 MA66 NA05 NA13 ZB112 ZB261 ZB262

4C085 AA14 AA19 AA21 AA25 BB31 BB36 BB44 DD51 EE01 EE03

GG01 GG02 GG08 GG10 HH03 JJ01 KA04 KA29 LL18

4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 BA71 BA72 CA40 DA01 DA76 EA22

EA28 EA50 EA51 EA54 FA74

专利名称(译)	用于治疗 and 诊断的抗体		
公开(公告)号	JP2017526654A	公开(公告)日	2017-09-14
申请号	JP2017504376	申请日	2015-07-28
[标]申请(专利权)人(译)	菲洛根股份公司		
申请(专利权)人(译)	Firogen SpA公司		
[标]发明人	グアランディローラ ウールファードサラ ハッチンソンカトリー マタッシマッティア		
发明人	グアランディ,ローラ ウールファード,サラ ハッチンソン,カトリー マタッシ,マッティア		
IPC分类号	C07K16/30 C07K16/18 C07K14/52 C07K19/00 A61K39/395 A61K47/68 A61K45/00 A61K38/19 A61P35/00 A61P29/00 A61K51/02 G01N33/53 G01N33/532		
CPC分类号	A61P35/00 A61K47/6843 C07K16/18 C07K16/40 C07K2317/33 C07K2317/92 G01N33/564 G01N33/574 A61K39/3955 A61K47/6803 A61K47/6851 A61K49/0004 A61K51/1018 A61K2039/505 C07K2317/565		
FI分类号	C07K16/30.ZNA C07K16/18 C07K14/52 C07K19/00 A61K39/395.T A61K39/395.L A61K47/68 A61K45/00 A61K38/19 A61P35/00 A61P29/00 A61K51/02.200 G01N33/53.V G01N33/532.A		
F-TERM分类号	4C076/AA95 4C076/BB11 4C076/BB21 4C076/CC07 4C076/CC26 4C076/CC27 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF32 4C076/FF34 4C076/FF68 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/DA01 4C084/DA39 4C084/MA02 4C084/MA16 4C084/MA35 4C084/MA37 4C084/MA41 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/NA13 4C084/ZB112 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C085/AA14 4C085/AA19 4C085/AA21 4C085/AA25 4C085/BB31 4C085/BB36 4C085/BB44 4C085/DD51 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG08 4C085/GG10 4C085/HH03 4C085/JJ01 4C085/KA04 4C085/KA29 4C085/LL18 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/BA71 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA01 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA28 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/EA54 4H045/FA74		
代理人(译)	荒井英一 上田亘		
优先权	2014013357 2014-07-28 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及包括癌症和炎性疾病在内的疾病的诊断和治疗。 本发明提供并包括与 i) 纤连蛋白的IIICS同种型 , ii) 基质金属蛋白酶3 (MMP3) , iii) 骨膜素或iv) 腱生蛋白W结合的抗体。 [选择图]无

(51) Int. Cl.	F I	テームコード (参考)
C O 7 K 16/30 (2006.01)	C O 7 K 16/30 Z N A	4 C O 7 6
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	4 C O 8 4
C O 7 K 14/52 (2006.01)	C O 7 K 14/52	4 C O 8 5
C O 7 K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00	4 H O 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 41 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-504376 (P2017-504376)	(71) 出願人	510120311
(86) (22) 出願日	平成27年7月28日 (2015. 7. 28)	フィロゲン	エスビーエー
(85) 翻訳文提出日	平成29年3月10日 (2017. 3. 10)	イタリア国	5 3 1 0 0 シエナ, ラ リ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/067309	ツァ 7	
(87) 国際公開番号	W02016/016265	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開日	平成28年2月4日 (2016. 2. 4)	弁理士 平木 祐輔	
(31) 優先権主張番号	1413357.3	(74) 代理人	100118773
(32) 優先日	平成26年7月28日 (2014. 7. 28)	弁理士 藤田 郎	
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100122389
		弁理士 新井 栄一	
		(74) 代理人	100111741
		弁理士 田中 夏夫	
		(74) 代理人	100169971
		弁理士 菊田 尚子	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療及び診断のための抗体