

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-42573

(P2018-42573A)

(43) 公開日 平成30年3月22日(2018.3.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/02 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A C	2 G O 4 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 B O 6 3
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 B O 6 4
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 B O 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 C O 7 6

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 78 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-247587 (P2017-247587)	(71) 出願人	512186793 イミュノジェン, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2 4 5 1, ウォルサム, ウィンター ス トリート 8 3 0
(22) 出願日	平成29年12月25日 (2017.12.25)		
(62) 分割の表示	特願2015-530124 (P2015-530124) の分割		
原出願日	平成25年8月30日 (2013.8.30)		
(31) 優先権主張番号	61/695,791	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(32) 優先日	平成24年8月31日 (2012.8.31)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	61/756,254	(74) 代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(32) 優先日	平成25年1月24日 (2013.1.24)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
		(74) 代理人	230113332 弁護士 山本 健策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 葉酸受容体 1 の検出のための診断分析およびキット

(57) 【要約】

【課題】葉酸受容体 1 の検出のための診断分析およびキットを提供すること。

【解決手段】本発明は、概して、ヒト葉酸受容体 1 に結合する抗体、および葉酸受容体 1 に基づく療法のための診断分析に関する。抗体を用いて療法を監視する方法もさらに提供される。本発明は、試料中の F O L R I を検出し、例えば、患者を層別化するために使用され得る方法を提供する。したがって、一実施形態において、本発明は、葉酸受容体 1 媒介疾患を有する患者を治療する方法を提供し、この方法は、(a) 患者から採取した試料中の脱落葉酸受容体 1 (F O L R I) 発現レベルまたは循環腫瘍細胞上の F O L R I を測定することを含む。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

本願明細書に記載の発明。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の分野は概して、ヒト葉酸受容体 1 (FOLR1) に結合する抗体、FOLR1 を検出する方法、癌を診断および治療する方法、ならびに FOLR1 に基づく療法のための診断分析およびキットに関する。

【背景技術】

10

【0002】

癌は、先進国世界における死亡の主原因の 1 つであり、米国では毎年百万人を超える人々が、癌と診断され、500,000 人が死亡している。全体で 3 人に 1 人超が、その生涯の間に何らかの形態の癌を発症すると見積もられている。200 を超える異なる種類の癌が存在し、そのうちの 4 つ - 乳癌、肺癌、大腸癌、および前立腺癌 - は、全新規事例の半数以上を占める (Jemal et al., 2003, Cancer J. Clin. 53: 5 - 26)。

【0003】

葉酸受容体 1 (FOLR1) は、葉酸受容体 - または葉酸結合タンパク質としても既知であり、細胞の血漿膜に発現される N - 糖化タンパク質である。FOLR1 は、葉酸、および幾つかの還元葉酸誘導体に関する高い親和性を有する。FOLR1 は、生理的葉酸、5 - メチルテトラヒドロ葉酸の、細胞内部への送達を媒介する。

20

【0004】

FOLR1 は、卵巣癌の大半、ならびに多くの子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌にて過剰発現され、一方、正常な組織中における FOLR1 の発現は、近位尿管内の上皮細胞の頂端膜、肺の肺胞肺細胞、膀胱、精巣、脈絡叢、および甲状腺に限定される (Weitman SD, et al., Cancer Res 52: 3396 - 3401 (1992); Antony AC, Annu Rev Nutr 16: 501 - 521 (1996); Kalli KR, et al. Gynecol Oncol 108: 619 - 626 (2008))。FOLR1 のこの発現パターンにより、これは、FOLR1 を対象とする癌療法のための望ましい標的となる。

30

【0005】

卵巣癌は、典型的には進行期まで無症状であるため、末期にて診断されることが多く、現在利用可能な処置、典型的には原料手術後の化学療法薬を用いて治療される場合に不良な予後を有する (von Gruenigen V et al., Cancer 112: 2221 - 2227 (2008); Ayhan A et al., Am J Obstet Gynecol 196: 81 e81 - 86 (2007); Harry VN et al., Obstet Gynecol Surv 64: 548 - 560 (2009))。したがって、卵巣癌のためのより有効な治療法に対する未だ満たされていない明確な医学的必要性が存在する。

40

脱落 FOLR1 を検出するために用いられる幾つかの従来分析法は、FOLR1 に十分に特異的ではない。例えば、幾つかの分析法は、FOLR1 と他の葉酸受容体ファミリーメンバー (FOLR2、3、および 4) との間を区別しないか、または総 FBP (葉酸結合タンパク質) に関する値を報告しない。それに加えて、幾つかの分析法は、ヒト試料 (例えば、血漿) を、軽酸洗浄ステップにより事前処理して、葉酸を受容体から解離させることを必要とする。また、幾つかの分析結果は、抗体療法と診断的抗体との間の競合的な効果のため、誤差を有することがある。それに加えて、多数の市販のキットは、その試薬、およびそのロット間安定性の双方において、従来信頼性が低い。これらのキットの評定は、極めて混じり合った結果を出しており、研究的使用のためのみを意図される。多くは

50

、ヒト試料を、「マトリックス効果」に起因する偽陽性の機会を低減させるために、分析前に事前希釈することを必要とする。したがって、FOLR1に基づく療法への付属物としての、感受性が高く正確な診断分析に対する明確な必要性が存在する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Jemal et al., 2003, Cancer J. Clin. 53:5-26

【非特許文献2】Weitman SD, et al., Cancer Res 52: 3396-3401 (1992)

【非特許文献3】Antony AC, Annu Rev Nutr 16: 501-521 (1996)

【非特許文献4】Kalli KR, et al. Gynecol Oncol 108: 619-626 (2008)

【非特許文献5】von Gruenigen V et al., Cancer 112: 2221-2227 (2008)

【非特許文献6】Ayhan A et al., Am J Obstet Gynecol 196: 81 e81-86 (2007)

【非特許文献7】Harry VN et al., Obstet Gynecol Surv 64: 548-560 (2009)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、試料中のFOLR1の検出のためのものであり、また例えば、患者を層別化するために使用され得る方法を提供する。したがって、一実施形態では、本発明は、葉酸受容体1媒介疾患を有する患者を治療する方法を提供し、この方法は、(a)抗体huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者から採取した試料中のサーカルディング腫瘍細胞(CTC)中の脱落葉酸受容体1(FOLR1)発現レベルまたはFOLR1を、基準試料中の脱落またはCTC FOLR1レベルと比較して測定することと、(b)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが上昇している場合に、患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、を含み、固定用量の抗体またはその断片は、疾患または障害を効果的に治療する。

【0008】

別の実施形態では、本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法を提供し、この方法は、(a)FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、(b)抗体huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者の脱落またはCTC FOLR1発現レベルを、基準試料中のFOLR1レベルと比較して測定することと、(c)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含み、患者のFOLR1レベルの増加(例えば、増加した細胞死が、脱落FOLR1の増加した放出をもたらすため)または減少は、治療有効性を示す。別の実施形態では、その後の固定用量の量または頻度は、患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが減少している場合、増加される。

【0009】

別の実施形態では、本発明は、患者におけるFOLR1発現を減少させる方法を提供し、この方法は、(a)抗体huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の脱落またはCTC FOLR1レベルを、基準試料中のFOLR1レベルと

比較して測定することと、(b)患者の脱落またはCTC FOLR1がレベル上昇している場合に、患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、を含み、抗体またはその抗原結合断片の投与は、患者のFOLR1を増加(例えば、増加した細胞死が、脱落FOLR1の増加した放出をもたらすため)または減少させる。

【0010】

別の実施形態では、本発明は、患者におけるFOLR1発現を減少させる方法を提供し、この方法は、(a)媒介疾患または障害を有する患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、(b)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルを、基準試料中のFOLR1レベルと比較して測定することと、(c)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含み、抗体またはその抗原結合断片の投与は、患者におけるFOLR1レベルを増加(例えば、増加した細胞死が、脱落FOLR1の増加した放出をもたらすため)または減少させる。

10

【0011】

一実施形態では、疾患は、癌である。別の実施形態では、癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される、FOLR1上昇癌である。別の実施形態では、癌は、白金耐性または白金不応性の卵巣癌である。

【0012】

本発明は、患者におけるFOLR1活性を調節する固定用量の抗体または抗原結合断片の治療有効性を監視する方法も提供し、この方法は、(a)抗体huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の第1の脱落またはCTC FOLR1レベルを測定することと、(b)患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体または抗原結合断片を投与することと、(c)抗体投与後に、抗体huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者から採取した試料中の第2の脱落またはCTC FOLR1レベルを測定することと、(d)第2のFOLR1レベルを第1のFOLR1レベルと比較することと、を含み、第1及び第2のFOLR1スコアとの間の増加(例えば、増加した細胞死が、脱落FOLR1の増加した放出をもたらすため)または減少は、治療有効性を示す。

20

30

【0013】

一実施形態では、FOLR1発現レベルは、体液において測定される。別の実施形態では、体液は、腹水である。別の実施形態では、体液は、血清、血液、または血漿である。別の実施形態では、FOLR1発現レベルは、末梢血液試料において測定される。

【0014】

一実施形態では、患者は、癌を有する。別の実施形態では、癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される、FOLR1上昇癌である。別の実施形態では、癌は、白金耐性または白金不応性の卵巣癌である。

40

【0015】

一実施形態では、FOLR1発現は、少なくとも1つの追加の抗FOLR1抗体またはその抗原結合断片を用いて測定される。別の実施形態では、FOLR1発現は、2つの抗FOLR1抗体またはその抗原結合断片を用いて測定される。別の実施形態では、別の実施形態では、抗体は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、約1.0~約10nMのKdを有するヒト葉酸受容体1に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、約0.5~約5nMのKdを有するヒト葉酸受容体1に結合する。別の実施形態では、結合親和性は、サイトメトリー、Biacore、ELISA、またはラジオイムノアッセイによって測定される。別の実施形態では、サイトメトリーは、フローサイトメトリーである。

50

【0016】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、葉酸受容体2または葉酸受容体3に結合しない。

【0017】

一実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、固体支持体に結合される。別の実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、マイクロタイタプレートに結合される。別の実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、検出剤を含む。別の実施形態では、検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である。別の実施形態では、検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)である。

10

【0018】

一実施形態では、FOLR1レベルは、酵素結合免疫吸着分析(ELISA)、またはサイトメトリー(例えば、フローサイトメトリー)を用いて決定される。別の実施形態では、ELISAは、サンドイッチELISAである。

【0019】

一実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、(b)配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、(c)配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに(d)配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のFOLR1エピトープに特異的に結合する。

20

【0020】

一実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、FOLR1に特異的に結合し、抗体またはその断片は、(a)配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、(b)配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、(c)配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに(d)配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のFOLR1結合を、競合的に阻害する。

30

【0021】

一実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、FOLR1に特異的に結合し、抗体は、(a)配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、(b)配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、(c)配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、(d)配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに(e)1、2、3、または4つの保守的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。

【0022】

一実施形態では、少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、検出可能に標識される。

40

【0023】

一実施形態では、投与される抗体は、FOLR1抗体huMov19を含む。

【0024】

一実施形態では、huMov19は、抗体メイタンシノイド共役体として投与される。一実施形態では、抗体メイタンシノイド共役体は、メイタンシノイドDM4と切断可能なスルホ-SPDBリンカー(IMG N 853)とを含む。

【0025】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法も提供し、この方法は、(a)FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、(b)FOLR1発現レベル

50

の測定のために、患者から採取した試料を提出することと、(c)測定の結果から、患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが、基準試料中のFOLR1レベルと比較して上昇しているかを決定することと、(d)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含む。

【0026】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法も提供し、この方法は、(a)FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、FOLR1活性を調節する固定用量の抗体またはその抗原結合断片を投与することと、(b)脱落またはCTC FOLR1レベルの測定、および基準試料中のFOLR1レベルとの比較のために、患者から採取した試料を提出することと、(c)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが

10

【0027】

一実施形態では、投与される抗体は、FOLR1抗体huMov19を含む。別の実施形態では、huMov19は、抗体メイタンシノイド共役体として投与される。一実施形態では、抗体メイタンシノイド共役体は、メイタンシノイドDM4と切断可能なスルホ-S PDBリンカー(IMGN853)とを含む。

【0028】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法も提供し、この方法は、(a)FOLR1媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることと、患者は、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を受けている、得ることと、(b)抗体huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、試料から脱落またはCTC FOLR1レベルを測定することと、(c)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが、基準試料中のFOLR1レベルと比較して上昇しているかを決定することと、(d)患者の脱落またはCTC FOLR1レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、患者のFOLR1の増加(例えば、増加した細胞死が、脱落FOLR1の増加した放出をもたらすため)または減少は、治療有効性を示す。

20

30

【0029】

本発明は、試料中の脱落またはCTC FOLR1を検出するための免疫分析キットも提供し、(a)ヒトFOLR1に対する捕捉抗体であって、該捕捉抗体またはその抗原結合断片は、huMov19のFOLR1への結合を競合的に阻害しない、捕捉抗体と、(b)検出試薬と、を含む。別の実施形態では、キットは、捕捉試薬のための固体支持体をさらに含む。別の実施形態では、捕捉試薬は、固体支持体上に固定される。別の実施形態では、捕捉試薬は、マイクロタイタープレート上にコーティングされる。別の実施形態では、検出試薬は、第2のFOLR1抗体である。別の実施形態では、第1および/または第2のFOLR1抗体は、(a)配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、(b)配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、(c)配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、(d)配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに(e)1、2、3、または4つの保存的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。

40

【0030】

一実施形態では、検出試薬は、種特異的抗体を用いて検出される。別の実施形態では、キットは、検出可能な抗体のための検出手段をさらに含む。別の実施形態では、検出手段は、比色手段である。別の実施形態では、キットは、抗原標準としてFOLR1ポリペプチドをさらに含む。別の実施形態では、FOLR1ポリペプチドは、FOLR1-Fcである。

50

【0031】

本発明は、(a)配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、(b)配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、(c)配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに(d)配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のFOLR1エピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片も提供する。

【0032】

本発明は、FOLR1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片も提供し、この抗体またはその断片は、(a)配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、(b)配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、(c)配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに(d)配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のFOLR1への結合を競合的に阻害する。

10

【0033】

本発明は、FOLR1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片も提供し、この抗体は、(a)配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、(b)配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、(c)配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、(d)配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに(e)1、2、3、または4つの保守的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択されるポリペプチド配列を含む。

20

【0034】

一実施形態では、抗体は、(a)配列番号25および配列番号29、(b)配列番号26および配列番号30、(c)配列番号27および配列番号31、ならびに(d)配列番号28および配列番号32からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも90%同一のポリペプチド配列を含む。別の実施形態では、ポリペプチド配列は、(a)配列番号25および配列番号29、(b)配列番号26および配列番号30、(c)配列番号27および配列番号31、ならびに(d)配列番号28および配列番号32からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも95%同一である。別の実施形態では、ポリペプチド配列は、(a)配列番号25および配列番号29、(b)配列番号26および配列番号30、(c)配列番号27および配列番号31、ならびに(d)配列番号28および配列番号32からなる群から選択されるポリペプチド配列と少なくとも99%同一である。

30

【0035】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、マウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、再表面化(resurfaced)、またはヒトである。別の実施形態では、抗体は、ヒトFOLR1に結合するが、FOLR2またはFOLR3には結合しない。別の実施形態では、抗体は、全長抗体または抗原結合断片である。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、一本鎖FvもしくはscFv、ジスフィルド結合Fv、V-NARDメイン、IgNar、細胞内抗体、IgG₂、小型抗体(minibody)、F(ab')₃、四重特異性抗体(tetrabody)、三重特異性抗体(triabody)、二重特異性抗体(diabody)、単ドメイン抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb₂、(scFv)₂、またはscFv-Fcを含む。

40

【0036】

本発明は、FOLR1に特異的に結合するポリペプチドも提供し、このポリペプチドは、(a)配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、(b)配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、(c)配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、(d)配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに(e)1、2、3、または4つの保守的アミノ酸置換を

50

含む (a) ~ (d) の変異体からなる群から選択される配列を含む。別の実施形態では、ポリペプチドは、(a) 配列番号 25 および配列番号 29、(b) 配列番号 26 および配列番号 30、(c) 配列番号 27 および配列番号 31、ならびに (d) 配列番号 28 および配列番号 32 からなる群から選択される配列と少なくとも 90% 同一の配列を含む。別の実施形態では、配列は、(a) 配列番号 25 および配列番号 29、(b) 配列番号 26 および配列番号 30、(c) 配列番号 27 および配列番号 31、ならびに (d) 配列番号 28 および配列番号 32 から選択される配列と少なくとも 95% 同一である。別の実施形態では、配列は、(a) 配列番号 25 および配列番号 29、(b) 配列番号 26 および配列番号 30、(c) 配列番号 27 および配列番号 31、ならびに (d) 配列番号 28 および配列番号 32 からなる群から選択される配列と少なくとも 99% 同一である。

10

【0037】

一実施形態では、抗体またはポリペプチドは、約 1.0 ~ 約 10 nM の K_d を有するヒト葉酸受容体 1 に結合する。別の実施形態では、抗体またはポリペプチドは、約 1.0 nM またはより良好な K_d を有するヒト葉酸受容体 1 に結合する。別の実施形態では、結合親和性は、サイトメトリー、Biacore、ELISA、またはラジオイムノアッセイによって測定される。別の実施形態では、サイトメトリーは、フローサイトメトリーである。

【0038】

本発明は、試料中の FOLR1 発現を検出する方法も提供し、この方法は、試料を、本発明の抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドと接触させることを含む。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、検出可能に標識される。別の実施形態では、標識は、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン光標識、酵素標識、放射標識、アビジン/ビオチン、コロイド金粒子、着色粒子、および磁性粒子からなる群から選択される。別の実施形態では、FOLR1 発現は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、または免疫組織化学分析によって決定される。別の実施形態では、FOLR1 発現は、循環腫瘍細胞 (CTC) を、血液、血漿、または血清の試料から富化し、本発明の抗体またはその抗原結合断片を用いて FOLR1 発現に関して染色する、CTC 分析を用いて決定される。CTC 分析に有用な抗体の非限定的な例としては、FR1-9 および FR1-13 が挙げられる。本発明の抗体を用いる CTC 分析は、FOLR1 に基づく療法に応答する可能性があるとして対象を同定するのに有用であり得る。

20

30

【0039】

本発明は、本発明の抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドを産生する単離された細胞も提供する。

【0040】

本発明は、本発明の抗体もしくはその抗原結合断片、またはポリペプチドを作製する方法も提供し、この方法は、(a) 本発明の抗体もしくはその抗原結合断片、またはポリペプチドを発現する細胞を培養することを含む。

【0041】

本発明は、癌を治療するための方法における使用のための、FOLR1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、FOLR1 タンパク質の増加した発現が、活性剤の投与前に、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて対象由来の癌性試料において測定される。

40

【0042】

本発明は、FOLR1 媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、(a) 本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、患者試料中の FOLR1 タンパク質レベルを測定することと、(b) 患者の FOLR1 タンパク質レベルが基準 FOLR1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、患者に固定用量の活性剤を投与することと、を含む。

50

【0043】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、(a) FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の活性剤を投与することと、(b) 本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、患者のFOLR1タンパク質レベルを測定することと、(c) 患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度を増加させることと、を含む。

【0044】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、(a) 患者から採取した試料において測定されるFOLR1タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準FOLR1タンパク質レベルと比較され、(b) 患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、固定用量の活性剤が投与され、活性剤の投与は、FOLR1タンパク質レベルを減少させる。

10

【0045】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、患者におけるFOLR1発現細胞は、減少され、(a) 固定用量の活性剤が、患者に投与され、(b) 患者から得られた試料において測定されるFOLR1タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準FOLR1タンパク質レベルと比較され、(c) 患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および頻度が増加され、活性剤の投与は、FOLR1タンパク質レベルを減少させる。

20

【0046】

本発明は、患者における固定用量の活性剤の治療有効性を監視するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、(a) 本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、FOLR1媒介疾患または障害を有する患者からの試料中の第1のFOLR1タンパク質レベルを測定することと、(b) 患者に、固定用量の活性剤を投与することと、(c) 本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、活性剤投与後に患者から採取した試料中の第2のFOLR1タンパク質レベルを測定することと、(d) 第2のFOLR1タンパク質レベルを第1のFOLR1タンパク質レベルと比較することと、を含み、第1および第2のFOLR1タンパク質レベルの間の減少は、治療有効性を示す。

30

【0047】

本発明は、患者におけるFOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、(a) FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の活性剤を投与することと、(b) 本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いるFOLR1タンパク質レベルの測定のために、患者から採取した試料を提出することと、(c) 測定の結果から、患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、(d) 患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含む。

40

【0048】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、(a) FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の活性剤を投与する

50

ことと、(b)本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いたFOLR1タンパク質レベルの測定、および測定されたFOLR1タンパク質レベルの基準FOLR1タンパク質レベルとの比較のために、患者から採取した試料を提出することと、(c)患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させることと、を含み、患者のFOLR1レベルの減少は、治療有効性を示す。

【0049】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、この方法は、(a)FOLR1媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることと、患者は、固定用量の活性剤を受けている、得ることと、(b)本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、試料からFOLR1タンパク質レベルを測定することと、(c)患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、(d)患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、患者のFOLR1の減少は、治療有効性を示す。

10

【0050】

本発明は、FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤も提供し、FOLR1の増加した発現が、活性剤の投与前に、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて対象からの試料において測定される。

20

【0051】

幾つかの実施形態では、測定されるFOLR1タンパク質は、脱落FOLR1である。幾つかの実施形態では、測定されるFOLR1タンパク質は、循環腫瘍細胞における。

【0052】

幾つかの実施形態では、FOLR1タンパク質レベルは、体液において測定される。幾つかの実施形態では、体液は、腹水である。幾つかの実施形態では、体液は、血清、血液、または血漿である。幾つかの実施形態では、FOLR1タンパク質レベルは、末梢血液試料において測定される。

30

【0053】

幾つかの実施形態では、患者は、癌を有する。幾つかの実施形態では、FOLR1媒介疾患または障害は、癌である。幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される、FOLR1上昇癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、肺癌は、非小細胞肺癌(NSCLC)である。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【0054】

幾つかの実施形態では、FOLR1タンパク質レベルは、FOLR1に特異的に結合する2つの異なる抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドを用いて測定される。幾つかの実施形態では、FOLR1タンパク質を検出するために用いられる抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、固体支持体に結合される。幾つかの実施形態では、固体支持体は、マイクロタイタープレートである。

40

【0055】

幾つかの実施形態では、FOLR1タンパク質を検出するために用いられる抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む。幾つかの実施形態では、検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である。幾つかの実施形態では、検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)である。

【0056】

幾つかの実施形態では、FOLR1タンパク質レベルは、酵素結合免疫吸着分析(ELI

50

S A) を用いて決定される。幾つかの実施形態では、E L I S A は、サンドイッチ E L I S A である。

【0057】

幾つかの実施形態では、活性剤は、F O L R 1 抗体 h u M o v 1 9 を含む。幾つかの実施形態では、h u M o v 1 9 は、細胞毒性剤に共役される。幾つかの実施形態では、h u M o v 1 9 は、メイタンシノイド D M 4 と切断可能なスルホ - S P D B リンカー (I M G N 8 5 3) とをさらに含む抗体メイタンシノイド共役体として、投与される。

【0058】

本発明は、診断剤としての使用のための、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドも提供する。

10

【0059】

本発明は、例えば、F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤を用いた F O L R 1 媒介疾患もしくは障害の治療における使用のため、および/または、F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視するための、F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない、抗体もしくはその抗原結合断片において提供される、抗体、その抗原結合断片、もしくはポリペプチドも提供する。

【0060】

本発明は、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、もしくはポリペプチドであって、(i) F O L R 1 媒介疾患もしくは障害、および/または (i i) F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた F O L R 1 媒介疾患もしくは障害の治療に対する、応答、および/または (i i i) F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた治療の治療有効性を診断する方法における使用のための、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドも提供する。幾つかの実施形態では、抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、癌に罹患する患者における癌を診断するための方法における、使用のためのものである。幾つかの実施形態では、癌は、F O L R 1 の上昇したレベルと関連している。幾つかの実施形態では、抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む。幾つかの実施形態では、検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である。

20

30

【0061】

本発明は、方法も提供し、F O L R - 1 媒介疾患は、癌であり、活性剤は、I M G N 8 5 3 を含み、脱落 F O L R 1 タンパク質レベルは、活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない少なくとも2つの抗 F O L R 1 抗体を用いる E L I S A 分析を用いて測定され、少なくとも2つの抗 F O L R 1 の各々は、(a) 配列番号 1、2、および 3 と配列番号 1 3、1 4、および 1 5、(b) 配列番号 4、5、および 6 と配列番号 1 6、1 7、および 1 8、(c) 配列番号 7、8、および 9 と配列番号 1 9、2 0、および 2 1、ならびに (d) 配列番号 1 0、1 1、および 1 2 と配列番号 2 2、2 3、および 2 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0062】

本発明は、方法も提供し、F O L R - 1 媒介疾患は、癌であり、活性剤は、I M G N 8 5 3 を含み、活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗 F O L R 1 抗体は、アミノ酸配列 (a) 配列番号 1、2、および 3 と配列番号 1 3、1 4、および 1 5、(b) 配列番号 4、5、および 6 と配列番号 1 6、1 7、および 1 8、(c) 配列番号 7、8、および 9 と配列番号 1 9、2 0、および 2 1、または (d) 配列番号 1 0、1 1、および 1 2 と配列番号 2 2、2 3、および 2 4 を含み、F O L R 1 タンパク質は、サイトメトリーによって検出される。

40

【0063】

方法の幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、癌は、N S C L C である。幾

50

つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【0064】

本発明は、活性剤も提供し、FOLR-1媒介疾患は、癌であり、活性剤は、IMGN853を含み、脱落FOLR1タンパク質レベルは、活性剤のFOLR1への結合を競合的に阻害しない少なくとも2つの抗FOLR1抗体を用いるELISA分析を用いて測定され、少なくとも2つの抗FOLR1の各々は、(a)配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、(b)配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、(c)配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、ならびに(d)配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24からなる群から選択されるアミノ酸配列を。

10

【0065】

本発明は、活性剤も提供し、FOLR-1媒介疾患は、癌であり、活性剤は、IMGN853を含み、脱落FOLR1タンパク質レベルは、活性剤のFOLR1への結合を競合的に阻害しない少なくとも2つの抗FOLR1抗体を用いるELISA分析を用いて測定され、少なくとも2つの抗FOLR1の各々は、(a)配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、(b)配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、(c)配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、ならびに(d)配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

20

【0066】

活性剤の幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、癌は、NSCLCである。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

【0067】

本発明は、癌を治療する方法も提供し、この方法は、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇した脱落FOLR1タンパク質レベルを有する患者に、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、患者のFOLR1タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される。

【0068】

本発明は、癌を治療する方法も提供し、この方法は、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇した循環腫瘍細胞中のFOLR1タンパク質レベルを有する患者に、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、患者のFOLR1タンパク質レベルは、本明細書に提供される抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される。幾つかの実施形態では、活性剤は、IMGN853を含む。幾つかの実施形態では、癌は、卵巣癌である。幾つかの実施形態では、卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である。幾つかの実施形態では、癌は、NSCLCである。幾つかの実施形態では、癌は、子宮内膜癌である。

30

【0069】

本発明は、インビトロの試料中のFOLR1タンパク質レベルの測定のための、本明細書に提供される抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドの使用も提供する。

40

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される。

(項目1)

- (a) 配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、
- (b) 配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、
- (c) 配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに
- (d) 配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のFOLRIエピトープに特異的に結合するか、またはそのFOLR1への結合を競合的に阻害する、抗体もしくはその抗原結合断片。

50

(項目2)

前記抗体またはその抗原結合断片は、

- (a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、
- (b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、
- (c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、
- (d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに
- (e) 1、2、3、または4つの保存的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目1に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目3)

前記抗体またはその抗原結合断片は、

- (a) 配列番号25および配列番号29、
- (b) 配列番号26および配列番号30、
- (c) 配列番号27および配列番号31、ならびに
- (d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目1または2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

10

(項目4)

前記抗体またはその抗原結合断片は、マウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、再表面化、またはヒトである、項目1~3のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目5)

FOLR1に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドは、

- (a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、
- (b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、
- (c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、
- (d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに
- (e) 1、2、3、または4つの保存的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択される配列を含む、ポリペプチド。

20

(項目6)

項目1~5のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドをコードする、核酸分子。

(項目7)

試料中のFOLR1タンパク質を検出する方法であって、前記試料を、項目1~5のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドと接触させることを含む、方法。

30

(項目8)

前記FOLR1タンパク質は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、サイトメトリー、または免疫組織化学分析によって検出される、項目7に記載の方法。

(項目9)

前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目8に記載の方法。

(項目10)

前記FOLR1タンパク質は、脱落FOLR1タンパク質である、項目7または8に記載の方法。

40

(項目11)

前記FOLR1タンパク質は、前記試料中の循環腫瘍細胞において検出される、項目7または8に記載の方法。

(項目12)

前記酵素免疫分析は、酵素結合免疫吸着分析(ELISA)である、項目8に記載の方法。

(項目13)

前記FOLR1タンパク質は、免疫組織化学分析によって検出される、項目8に記載の

50

方法。

(項目14)

項目1～5のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを産生する、細胞。

(項目15)

項目1～5のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを製作する方法であって、(a)項目12に記載の細胞を培養することと、(b)前記培養された細胞から、前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを単離することと、を含む、方法。

(項目16)

試料中のFOLR1タンパク質を検出するための免疫分析キットであって、(a)第1の試薬であって、前記第1の試薬は、項目1～4のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片または項目5に記載のポリペプチドである、第1の試薬と、(b)第2の試薬であって、前記第2の試薬は、検出試薬である、第2の試薬と、を含む、キット。

(項目17)

癌を治療する方法であって、上昇したFOLR1タンパク質レベルを有する患者に、FOLR1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、前記上昇したFOLR1タンパク質レベルは、項目1～4のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片または項目5に記載のポリペプチドを用いて測定される、方法。

【図面の簡単な説明】

【0070】

【図1】FOLR1脱落抗原分析の概略図である。

【図2A】(A)Mov19競合ELISA分析の概略図である。

【図2B】(B)Mov19を用いたサンドイッチELISAによる、muFR1-13の結合親和性の決定である。

【図3A】(A)非競合的FOLR1結合エピトープを決定するための、直接結合競合ELISAの概略図である。

【図3B】(B)抗FOLR1抗体のMov19との結合干渉をスクリーニングするための、競合ELISA結果のLog変換グラフである。

【図4】抗FOLR1抗体のmuFR1-13との結合干渉をスクリーニングするための、競合ELISA結果のLog変換グラフである。

【図5】サンドイッチELISAによる、抗FOLR1抗体の結合親和性である。

【図6】(A)フローサイトメトリーおよび(B)サンドイッチELISAの双方による、FR1-13の結合親和性である。

【図7】サンドイッチELISAによる、(A)FOLR2および(B)FOLR3に結合する抗体に関する結果のLog変換グラフである。

【図8】FR1-9およびFR1-13を用いた脱FOLR1抗原の検出に対する、FOLR1に予め結合された葉酸の効果である。

【図9】FOLR1の存在および干渉する分析タンパク質の存在に関する、ヒト腹水試料の分析である。

【図10】FOLR1の存在および干渉する分析タンパク質の存在に関する、正常ヒトプール血漿試料の分析である。

【図11】FOLR1サンドイッチELISAを用いた、ヒト卵巣患者血漿試料中のFOLR1濃度の決定である。

【図12】連続的に希釈した精製FOLR1-Fc融合タンパク質標準の4PLのS状用量応答曲線適合に基づく、患者試料中のFOLR1の量の補間に関する概略図である。

【図13】一定範囲のFOLR1発現レベルを有する細胞株を用いた抗FOLR1抗体の滴定である。各細胞株および希釈に関して、三連の染色を実施した。平均蛍光強度(MFI)を、FRA発現に関して測定し、平均化し、表に示す(誤差はSEMを表す)。

10

20

30

40

50

【図14】抗FOLR1抗体の最適希釈を用いた細胞株におけるFOLR1発現を示すヒストグラムである。

【図15】抗FOLR1抗体とIMGN853との間の競合を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0071】

本発明は、患者試料中の循環腫瘍細胞中の脱落ヒト葉酸受容体1 (FOLR1) またはFOLR1を検出する、新規の方法を提供する。FOLR1は、抗FOLR1活性剤 (例えば、抗体humov19を含む活性剤) のFOLR1への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて、検出され得る。抗FOLR1活性剤の結合を競合的に阻害しない抗体は、抗FOLR1活性剤を用いて治療されている患者からの試料中のFOLR1 (例えば、循環腫瘍細胞中の脱落FOLR1またはFOLR1) の検出において、特に有用である。循環腫瘍細胞中の脱落FOLR1またはFOLR1は、FOLR1の過剰発現によって特徴付けられる癌治療の治療有効性、またはそれに対する応答の可能性を監視または決定するために、使用され得る。脱落FOLR1検出方法および追加のFOLR1検出方法 (例えば、FOLR1に関連した膜結合および細胞に関するIHC、およびCTC分析) に有用な新規のFOLR1結合ポリペプチド、例えば、抗体等も、開示される。関連するポリペプチドおよびポリヌクレオチド、FOLR1結合剤を含む組成物、ならびにFOLR1結合剤を作製する方法も、提供される。それに加えて、本明細書に提供される方法は、患者の層別化のために使用され得る。

10

【0072】

20

I. 定義

本発明の理解を助けるために、多数の用語および語句を、下記に定義する。

【0073】

本明細書で使用するとき、用語「ヒト葉酸受容体1」、「FOLR1」、または「葉酸受容体 (FR-)」は、別段に指定されない限り、任意の天然のヒトFOLR1を指す。したがって、これらの用語は全て、本明細書に指定されるタンパク質か核酸配列かのいずれかを指すことができる。用語「FOLR1」は、「全長」の未処理FOLR1、および細胞内の処理の結果として得られるFOLR1の任意の形態を包含する。本用語はまた、FOLR1の自然発生変異体、例えば、スプライス変異体 (FOLR2、FOLR3、またはFOLR4を包含する変異体を除く)、対立遺伝子変異体、およびアイソフォームも包含する。本明細書に説明されるFOLR1ポリペプチドは、種々の供給源から、例えば、ヒト組織型もしくは別の供給源から単離することができ、または組換えもしくは合成方法によって調製することができる。FOLR1配列の例としては、NCBI参照番号P15328、NP__001092242.1、AA029268.1、AA037119.1、NP__057937.1、およびNP__057936.1が挙げられるが、これらに限定されない。ヒトFOLR1配列は、以下のものである：

30

MAQRMTTQLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMNA
KHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQEAHKDVS
LYRFNWNHCGEMAPACKRHF IQDTCLYECSPNLGPWIIQQV
DQSWRKERV LNVP LCKEDCEQWVEDCRTSYTCKSNWHKGW
NWTSGFNKCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWITHSYKVS
NYSRGSGRCIQMWFDP AQGNPNEEVARFYAAAMSGAGPWA
AWPFLLSLALMLLWLLS (配列番号49)。

40

【0074】

用語「脱落抗原」および「脱落FOLR1」は、本明細書において互換的に使用される。これらの用語は、可溶性であり、細胞結合型ではないFOLR1タンパク質を指す。幾つかの実施形態では、これは、細胞外ドメイン (ECD) およびグリコシルフォスファチジルイノシトール (GPI) リンカーを含む。一実施形態では、脱落FOLR1は、ECDのみを含む。FOLR1は、シグナルペプチド (アミノ酸1~24)、FOLR1タンパク質鎖 (アミノ酸25~233または234)、および切断され得るプロペプチド (アミ

50

ノ酸 235 ~ 257) を含む。脱落 FOLR は、アミノ酸 1 ~ 257、1 ~ 233、1 ~ 234、25 ~ 233、25 ~ 234、または任意の他のその断片を含むことができる。幾つかの実施形態では、シグナル配列は、切断される。他の実施形態では、ECD および GPI 部分は、膜 (例えば、可溶性脂質ラフト) の中に埋め込まれ得る。一実施形態では、脱落 FOLR 1 は、アミノ酸 1 ~ 233 またはその断片を含むことができる。

【0075】

用語「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも 1 つの抗原認識部位を通して、標的、例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、または前述のものの組み合わせ等を認識し、特異的に結合する、免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で使用する時、用語「抗体」は、無傷ポリクローナル抗体、無傷モノクローナル抗体、抗体断片 (Fab、Fab'、F(ab')₂、および Fv 断片等)、一本鎖 Fv (scFv) 突然変異体、二重特異性抗体等の多特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合タンパク質、ならびに抗体が所望の生物学的活性を示す限りは、抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。抗体は、5 つの主要なクラスの免疫グロブリン: IgA、IgD、IgE、IgG、および IgM、または、それぞれ、 α 、 β 、 γ 、および μ と称されるその重鎖定常ドメインの同一性に基づく、そのサブクラス (アイソタイプ) (例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、および IgA2) のうちのいずれかであり得る。異なるクラスの免疫グロブリンは、異なる、また周知のサブユニット構造および 3 次元構成を有する。抗体は、裸であるか、または毒素、放射性同位体等の他の分子に共役され得る。

10

20

【0076】

幾つかの実施形態では、抗体は、非自然発生抗体である。幾つかの実施形態では、抗体は、天然の成分から精製される。幾つかの実施形態では、抗体は、組換え産生される。幾つかの実施形態では、抗体は、ハイブリドーマによって産生される。

【0077】

「遮断」抗体または「アンタゴニスト」抗体は、FOLR 1 等のそれが結合する抗原の生物学的活性を阻害または低減させる抗体である。特定の実施形態では、遮断抗体またはアンタゴニスト抗体は、抗原の生物学的活性を実質的または完全に阻害する。望ましくは、生物学的活性は、10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%、またはさらには 100% 低減される。

30

【0078】

用語「抗 FOLR 1 抗体」または「FOLR 1 に結合する抗体」は、抗体が、FOLR 1 を標的とすることにおいて診断剤および/または治療剤として有用であるように、十分な親和性によって FOLR 1 に結合可能である抗体を指す。抗 FOLR 1 抗体の関連しない非 FOLR 1 タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ (RIA) によって測定するとき、抗体の FOLR 1 への結合の約 10% 未満である。特定の実施形態では、FOLR 1 に結合する抗体は、 $1 \mu\text{M}$ 、 100 nM 、 10 nM 、 1 nM 、または 0.1 nM の解離定数 (K_d) を有する。一実施形態では、抗 FOLR 1 抗体は、FOLR 2、FOLR 3、FOLR 4、または葉酸に結合しない。

40

【0079】

用語「抗体断片」は、無傷抗体の一部を差し、また無傷抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、および Fv 断片、線状抗体、一本鎖抗体、ならびに抗体断片から形成される多特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用する時、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、即ち、該集団を構成する個々の抗体は、例えば、若干存在し得る自然発生突然変異等の可能な突然変異を除き、同一である。したがって、修飾因子「モノクローナル」は、抗体の特徴を別個の抗体の混合物としてではなく示す。特定の実施形態では、かかるモノクローナル抗体は、典型的には、標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列

50

から、単一の標的結合ポリペプチド配列を選択することを含むプロセスによって得られる。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、または組換えDNAクローンのプール等の複数のクローンからの、固有のクローンの選択であり得る。選択される標的結合配列は、例えば、標的への親和性を改善する、標的結合配列をヒト化する、細胞培養におけるその産生を改善する、インビボのその免疫原性を低減させる、多特異性抗体を作製する等のために、さらに変更され得ること、また、変更された標的結合配列を含む抗体も、本発明のモノクローナル抗体であることを理解すべきである。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体製剤とは対照的に、モノクローナル抗体製剤の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する。その特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、典型的には他の免疫グロブリンによって汚染されていないという点で有利である。

10

【0080】

修飾因子「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体の集団から得られたものとしての抗体の特徴を示し、特定の方法による抗体の産生を必要とするようには解釈されない。例えば、本発明に従って用いられるモノクローナル抗体は、種々の技術によって作製することができ、例えば、ハイブリドーマ法（例えば、Kohler and Milstein, *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma*, 14(3):253-260 (1995)、Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000 ed. 1988); Hammerling et al., *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)中)、組換えDNA法（例えば、米国特許第4,816,567号を参照）、ファージディスプレイ技術（例えば、Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); および Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004)を参照)、ならびにヒト免疫グロブリン遺伝子座またはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部または全部を有するヒト抗体または動物内のヒト様抗体を産生するための技術（例えば、WO1998/24893号; WO1996/34096号; WO1996/33735号; WO1991/10741号; Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33 (1993); 米国特許第5,545,807号; 同第5,545,806号; 同第5,569,825号; 同第5,625,126号; 同第5,633,425号; および同第5,661,016号; Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14:845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826 (1996); ならびに Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995)を参照)が挙げられる。

20

30

40

【0081】

50

用語「ヒト化抗体」は、特定の免疫グロブリン鎖、キメラ免疫グロブリン、または最小の非ヒト（例えば、マウス）配列を含有するそれらの断片である、非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。典型的には、ヒト化抗体は、相補性決定領域（CDR）由来の残基が、所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター）のCDR由来の残基によって置換される、ヒト免疫グロブリンである（Jones et al., 1986, Nature, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536）。場合により、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域（FR）残基は、所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種由来の抗体内の対応する残基によって置き換えられる。ヒト化抗体は、抗体特異性、親和性、および/または能力を高め、最適化するために、Fvフレームワーク領域および/または置き換えられた非ヒト残基内の追加の残基の置換によって、さらに修飾され得る。概して、ヒト化抗体は、非ヒト免疫グロブリンに対応するCDR領域の全てまたは実質的に全てを含有する少なくとも1つ、また典型的には2または3つの可変ドメインのうちの実質的に全てを含み、一方、FR領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Fc）の少なくとも一部分を含むこともでき、それらは典型的には、ヒト免疫グロブリンのものである。ヒト化抗体を生成するために用いられる方法の例は、米国特許第5,225,539号または同第5,639,641号に説明される。抗体の「再表面化」は概して、軽鎖および重鎖の双方における可変領域フレームワーク表面残基の同定、ならびにヒトの等価物を用いてそれらを置き換えることを含む。抗体を再表面化する方法は、例えば、Roguska et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3):969-973 (1994)およびRoguska et al., Protein Eng. 9(10):895-904 (1996)に提供されており、それらは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0082】

抗体の「可変領域」は、単独でか、または組み合わせて、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域を指す。重鎖および軽鎖の可変領域は各々、超可変領域としても既知である3つの相補性決定領域（CDR）によって接続される、4つのフレームワーク領域（FR）からなる。各鎖内のCDRは、FRによって極めて近接して一緒に保持され、他の鎖に由来するCDRと共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。CDRを決定するための、少なくとも2つの技術が存在する：（1）種間配列変動に基づくアプローチ（即ち、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda Md.))、および（2）抗原-抗体複合体の結晶学的研究に基づくアプローチ（Al-lazikani et al. (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948）。それに加えて、当該技術分野では、これらの2つのアプローチの組み合わせがCDRを決定するために使用される場合もある。

【0083】

Kabatの番号付けシステムは、概して、可変ドメイン内の残基（概ね、軽鎖の残基1~107および重鎖の残基1~113）に言及する際に用いられる（例えば、Kabata et al., Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。

【0084】

Kabatにおいて、アミノ酸位置の番号付けは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Inte

rest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)内の、抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに関して用いられる番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを用いて、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのFRまたはCDRの短縮、またはそれへの挿入に対応する、より少ない、または追加のアミノ酸を含有することができる。例えば、重鎖可変ドメインは、H2の残基52の後の単一のアミノ酸挿入(Kabatによる残基52a)、および重鎖FR残基82の後の挿入された残基(例えば、Kabatによる残基82a、82b、および82c等)を含むことができる。残基のKabat番号付けは、抗体の配列の相同領域における「標準」Kabat番号付き配列との整列によって、所与の抗体に関して決定することができる。Chothiaは、代わりに、構造的ループの位置に言及する(Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。ChothiaのCDR-H1ループの末端は、Kabat番号付け方式を用いて番号付けされるとき、ループの長さに応じてH32とH34との間で変動する(これは、Kabat番号付けスキームが、H35AおよびH35Bにて挿入を置くためであり、35Aおよび35Bのいずれも存在しない場合、ループは32にて終了し、35Aのみが存在する場合、ループは33にて終了し、35Aおよび35Bの双方が存在する場合、ループは34にて終了する)。AbM超可変領域は、KabatのCDRとChothiaの構造的ループとの間の妥協案を表し、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって用いられる。

【表1A】

環	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B (Kabat番号付け)	H26-H32..34
H1	H31-H35	H26-H35 (Chothia番号付け)	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

【0085】

用語「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体、または当該技術分野において既知である任意の技術を用いて作製される、ヒトによって産生される抗体に対応するアミノ酸配列を有する抗体を意味する。ヒト抗体のこの定義は、無傷もしくは全長抗体、その断片、ならびに/または、少なくとも1つのヒト重鎖および/もしくは軽鎖ポリペプチドを含む抗体、例えば、マウス軽鎖およびヒト重鎖ポリペプチドを含む抗体を含む。

【0086】

用語「キメラ抗体」は、免疫グロブリン分子のアミノ酸配列が2つ以上の種に由来する抗体を指す。典型的には、軽鎖および重鎖の双方の可変領域は、所望の特異性、親和性、および能力を有する1種の哺乳類(例えば、マウス、ラット、ウサギ等)に由来する抗体の可変領域に対応し、一方、定常領域は、その種における免疫応答を引き起こすのを回避するために、別のもの(通常、ヒト)に由来する抗体内の配列に相同である。

【0087】

用語「エピトープ」または「抗原決定基」は、本明細書において互換的に使用され、特定の抗体によって認識および特異的に結合されることが可能な抗原の部分の部分を指す。抗原がポリペプチドである場合、エピトープは、連続アミノ酸から、およびタンパク質の3次折り畳み(tertiary folding)によって並列する非連続アミノ酸からの双方

から形成することができる。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的にはタンパク質変性に際して保持され、一方、3次折り畳みによって形成されるエピトープは、典型的にはタンパク質変性に際して失われる。エピトープは典型的には、固有の空間構造内に、少なくとも3個、またより通常は、少なくとも5または8～10個のアミノ酸を含む。

【0088】

「結合親和性」は概して、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有相互作用の和の強度を指す。別段に指定されない限り、本明細書で使用するとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）間の1：1の相互作用を反映する、本来の結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（ K_d ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。低親和性抗体は概して、ゆっくりと抗原に結合し、容易に解離する傾向があるのに対し、高親和性抗体は概して、より速く抗原に結合し、結合をより長く保つ傾向がある。結合親和性を測定する種々の方法が、当該技術分野において既知であり、それらのうちのいずれも、本発明の目的のために使用することができる。特定の例証的实施形態は、本明細書に説明される。

10

【0089】

本明細書において結合親和性に言及して使用するとき、「またはより良好な」は、分子とその結合パートナーとの間のより強力な結合を指す。本明細書で使用するとき、「またはより良好な」は、より強力な結合を指し、より小さい K_d 数値で表される。例えば、「0.6 nMまたはより良好な」抗原に対する親和性を有する抗体では、抗原に対する抗体の親和性は、 < 0.6 nM、即ち、0.59 nM、0.58 nM、0.57 nM等、または0.6 nM未満の任意の値である。一実施形態では、抗体の親和性は、 K_d によって決定するとき、約 10^{-3} ～約 10^{-12} M、約 10^{-6} ～約 10^{-11} M、約 10^{-6} ～約 10^{-10} M、約 10^{-6} ～約 10^{-9} M、約 10^{-6} ～約 10^{-8} M、または約 10^{-6} ～約 10^{-7} Mとなる。

20

【0090】

本明細書で使用するとき、語句「実質的に類似の」または「実質的に同一の」は、2つの数値（概して、一方は本発明の抗体に関連し、もう一方は基準/比較抗体に関連する）間の十分に高い度合の類似性を示し、したがって当業者であれば、2つの値の間の差は、該値（例えば、 K_d 値）によって測定される生物学的特徴の文脈において、生物学的および/または統計的有意性をほとんどまたは全く伴わないものであると考えるであろう。該2つの値の間の差は、基準/比較抗体に関する値の関数として、約50%未満、約40%未満、30%未満、約20%未満、または約10%未満である。

30

【0091】

「単離された」ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、天然には見出されない形態のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物である。単離されたポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物としては、もはや天然に見出される形態ではない度合まで精製されているものが挙げられる。幾つかの実施形態では、単離された抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、実質的に純粋である。

40

【0092】

本明細書で使用するとき、「実質的に純粋である」は、少なくとも50%純粋である（即ち、汚染物を含まない）、少なくとも90%純粋である、少なくとも95%純粋である、少なくとも98%純粋である、または少なくとも99%純粋である材料を指す。

【0093】

用語FOLR1の「増加した発現」は、基準試料、基準FOLR1レベル、または同一対象から検出された以前のFOLR1レベルと比較して、上昇したレベルのFOLR1発現を含有する試料を指す。したがって、例えば、患者試料中の「増加したFOLR1タンバ

50

ク質レベル」は、非癌性基準試料中の F O L R 1 タンパク質レベルよりも高い F O L R 1 タンパク質レベルを有することができる。患者試料中の「増加した F O L R 1 タンパク質レベル」はまた、例えば、癌性試料中の F O L R 1 タンパク質レベルと等しい F O L R 1 タンパク質レベルを有することもできる。幾つかの実施形態では、「増加した F O L R 1 タンパク質レベル」が検出され、患者の F O L R 1 タンパク質レベルは、例えば、同一対象から検出された以前の F O L R 1 レベルよりも、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、または少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、または少なくとも約 50 % 多い。循環腫瘍細胞分析において、「増加した F O L R 1 タンパク質レベル」は、F O L R 1 が、より多い割合の細胞中に検出される試料、または F O L R 1 が、より高いレベルで細胞中に検出される試料を指すことができる。したがって、幾つかの実施形態では、「増加した F O L R 1 タンパク質レベル」は、C T C 分析にて検出され、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、または少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、または少なくとも約 50 % 多い細胞が、F O L R 1 発現を示す。それに加えて、幾つかの実施形態では、「増加した F O L R 1 タンパク質レベル」は、C T C 分析にて検出され、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、または少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、または少なくとも約 50 % 多い F O L R 1 が、細胞中に検出される。

10

【0094】

「基準試料」は、試験試料から得られた本発明の方法の結果を相関させ、比較するために使用され得る。基準試料は、細胞（例えば、細胞株、細胞ペレット）、体液、または組織であり得る。「基準試料」中の F O L R 1 レベルは、F O L R 1 の絶対もしくは相対量、量の範囲、最少および/もしくは最大量、平均量、ならびに/または中央量であってよい。「基準試料」はまた、試験試料と比較する F O L R 1 発現のベースラインの役割を果たすこともできる。「基準試料」は、同一患者からの以前の試料もしくはベースライン試料、正常基準、または関連する患者集団からの基準を含むことができる。概して、F O L R 1 レベルは、標準曲線中の値として表される。標準曲線は、試料中の F O L R 1 の濃度を決定するための、分析データをプロットする定量的方法である。一実施形態では、基準試料は、精製された F O L R 1 または F O L R 1 - F c を含む抗原標準である。本発明の診断方法は、試験試料中の F O L R 1 の発現レベルと「基準値」または「レフェレセレベル」との間の比較を含む。幾つかの実施形態では、基準値は、基準試料中の F O L R 1 の発現レベルである。基準値は、所定の値であってもよく、また同様に、試験試料と平行して試験される基準試料（例えば、対照生物学的試料）から決定されてもよい。基準値は、中央値または平均値等の単一のカットオフ値か、または信頼区間等の値の範囲であり得る。基準値は、例えば、癌に罹患し易い個体、早期もしくは末期癌を有する個体、男性および/もしくは女性個体、または癌療法を受けている個体等、種々の個体の下位群に関して確立され得る。正常の基準試料または値、および陽性基準試料または値の例は、本明細書に説明される。

20

30

【0095】

本明細書において、用語「一次抗体」は、試料中の標的タンパク質抗原に特異的に結合する抗体を指す。一次抗体は概して、E L I S A 分析において用いられる第 1 の抗体である。一実施形態では、一次抗体は、I H C 手順において用いられる唯一の抗体である。本明細書において、用語「二次抗体」は、一次抗体に特異的に結合し、それによって、一抗体と、存在する場合、その後の試薬との間に架橋を形成する抗体を指す。二次抗体は概して、免疫組織化学的手順において用いられる第 2 の抗体である。

40

【0096】

本明細書で使用するとき、「免疫組織化学」は、例えば、細胞または組織を分析するために用いられる、組織化学的および免疫学的方法を指す。したがって、用語「免疫組織化学」、「免疫細胞化学」、および「免疫化学」は、互換的に使用される。

【0097】

50

本発明の「試料」または「生物学的試料」は、生物学的起源のものであり、特定の実施形態では、例えば、真核生物に由来する。好ましい実施形態では、試料は、ヒト試料であるが、動物試料も、本発明の実践において使用することができる。本発明における使用のための非限定的な試料供給源としては、例えば、固体組織、生検吸引物、腹水、流体摘出物、血液、血漿、血清、髄液、リンパ液、皮膚の外部切片、気道、腸管、および尿生殖路、涙、唾液、乳、腫瘍、器官、細胞培養物、ならびに／または細胞培養成分が挙げられる。本発明は、概して腹水等の体液を含み、また利用可能な材料の量が少量である癌試料に対して、特に有用である。異なる種類の細胞または組織を比較すること、異なる発生段階を比較すること、ならびに疾患または異常の存在および／または種類を検出または決定することを含むがこれらに限定されない方法が、FOLR1の発現の態様または試料の状態を検査するために用いられ得る。

10

【0098】

本明細書で使用するとき、用語「捕捉試薬」は、好適な条件下で、捕捉試薬と標的分子との複合体を試料の残りから分離することができるように、試料中の標的分子を結合および捕捉することが可能な試薬を指す。一実施形態では、捕捉試薬は、固定される。一実施形態では、サンドイッチ免疫分析における捕捉試薬は、標的抗原に対する抗体または異なる抗体の混合物である。

【0099】

本明細書で使用するとき、用語「検出可能な抗体」は、検出手段によって増幅された標識を通して直接的にか、または例えば、標識された別の抗体を通して、間接的にかのいずれかで検出され得る抗体を指す。直接標識化に関して、抗体は典型的には、何らかの手段によって検出可能である部分に共役される。一実施形態では、検出可能な抗体は、ビオチン化抗体である。

20

【0100】

本明細書で使用するとき、用語「標識」は、抗体に直接的または間接的に共役されて、「標識された」抗体を生成する、検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、それ自体が検出可能あり得るか（例えば、放射性同位体標識または蛍光性標識）、または酵素標識の場合、検出可能な基質化合物もしくは組成物の化学的変更を触媒し得る。

【0101】

本明細書で使用するとき、用語「検出手段」は、本明細書にてELISAにおいて検出可能な抗体の存在を検出するために用いられる部分または技術を指し、マイクロタイタープレート上に捕捉された標識等の固定された標識を増幅する検出剤を含む。一実施形態では、検出手段は、アビジンまたはストレプトアビジン等の蛍光定量的検出剤である。

30

【0102】

一般的に、「サンドイッチELISA」は、以下のステップを採用する：（１）マイクロタイタープレートが、捕捉抗体でコーティングされる、（２）試料が添加され、任意の存在する抗原が、捕捉抗体に結合する、（３）検出抗体が添加され、抗原に結合する、（４）酵素に結合した二次抗体が添加され、検出抗体に結合する、および（５）基質が添加され、検出可能な形態に酵素によって変換される。

【0103】

「関連させる」または「関連させること」は、任意の方法で、第１の分析の性能および／または結果を、第２の分析の性能および／または結果と比較することを意味する。例えば、第１の分析の結果を、第２の分析の実行において用いることができ、および／または第１の分析の結果を用いて、第２の分析を実施すべきかを決定することができ、および／または第１の分析の結果を第２の分析の結果と比較することができる。一実施形態では、FOLR1の増加した発現は、FOLR1を標的とする抗癌療法の有効性の増加した可能性と関連する。

40

【0104】

用語「癌」および「癌性」は、細胞集団が、調節されていない細胞成長によって特徴付けられる、哺乳類における生理的状态を指すか、または説明する。癌の例としては、癌腫、

50

リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病が挙げられるが、これらに限定されない。かかる癌のより具体的な例としては、例えば、肺癌（例えば、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、および肺扁平上皮癌）等の内皮、間葉、もしくは上皮起源の癌、腹膜の癌（例えば、原発腹膜癌）、肝細胞癌、消化管癌、膵臓癌、グリア芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜癌（例えば、子宮内膜腺癌）もしくは子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝癌、脳癌（例えば、グリア芽腫、脈絡叢の腫瘍）、ならびに種々の種類の頭部および頸部癌、また同様に、血管および卵管の腫瘍が挙げられる。癌はまた、上昇した F O L R 1 発現レベルを有する細胞を含有する癌も包含する。かかる F O L R 1 上昇癌としては、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0105】

「腫瘍」および「新生物」は、前癌性病変を含む、良性（非癌性）かまたは悪性（癌性）かのいずれかの過剰な細胞成長または増殖の結果として生じる組織の塊を指す。

【0106】

用語「癌細胞」、「腫瘍細胞」、および文法的等価物は、腫瘍または前癌性病変に由来する細胞の全集団を指し、腫瘍細胞集団の大部分を占める非腫瘍形成性細胞と、腫瘍形成性幹細胞（癌幹細胞）との双方を含む。本明細書で使用するとき、用語「腫瘍細胞」は、再生能力を欠失する腫瘍細胞のみを指す場合、用語「非腫瘍形成性」によって修飾され、癌幹細胞に由来する腫瘍細胞を区別するために差別化する。

20

【0107】

用語「対象」は、特定の治療の受容者となる任意の動物（例えば、哺乳類）を指し、ヒト、非ヒト霊長類、齧歯類等が挙げられるがこれらに限定されない。典型的には、用語「対象」および「患者」は、本明細書においてヒト対象に関して互換的に使用される。

【0108】

用語「薬学的製剤」は、活性成分の生物学的活性を有効にし得るような形態であり、製剤が投与される対象に対して許容不可能に毒性である追加の成分を含有しない調製物を指す。かかる製剤は、無菌であり得る。

【0109】

本明細書に開示される抗体の「有効な量」は、具体的に定められた目的を実行するのに十分な量である。「有効な量」は、定められた目的に関連して、経験的に、また習慣的手法で決定することができる。

30

【0110】

用語「治療上有効な量」または「固定用量」は、対象または哺乳類における疾患または障害を「治療」するのに有効な抗体または他の薬物の量を指す。癌の場合、薬物の治療上有効な量は、癌細胞の数を低減させることができ、腫瘍サイズを低減させることができ、抹消器官への癌細胞浸潤を阻害する（即ち、ある程度遅らせる、および特定の実施形態では、停止する）ことができ、腫瘍転移を阻害する（即ち、ある程度遅らせる、および特定の実施形態では、停止する）ことができ、腫瘍成長を、ある程度阻害することができる、癌に関連した症状のうちの1つ以上を、ある程度緩和することができる、および/あるいは好ましい応答、例えば、増加した無進行生存（PFS）、無病生存（DFS）、もしくは全生存（OS）、完全応答（CR）、部分応答（PR）、または場合により、安定疾患（SD）、進行性疾患（PD）の減少、低減した進行までの時間（TTP）、卵巣癌の場合におけるCA125の減少、またはそれらの任意の組み合わせをもたらすことができる。本明細書における「治療する」の定義を参照されたい。薬物が、成長を防止するおよび/または既存の癌細胞を死滅させ得る限り、それは、細胞増殖抑制性および/または細胞毒性であり得る。「予防上有効な量」は、所望の予防結果を達成するために必要な用量および期間に有効な量を指す。典型的であって必ずしもそうではないが、疾患の早期段階前または早期段階で予防用量が対象において用いられるため、予防上有効な量は、治療上有効な量よりも少ない。

40

50

【0111】

PFS、DFS、およびOSは、国立癌研究所および新薬の認可のための米国食品医薬品局によって定められた規格によって測定することができる。Johnson et al, (2003) J. Clin. Oncol. 21(7):1404-1411を参照されたい。

【0112】

「無進行生存」(PFS)は、登録から疾患進行または死亡までの時間を指す。PFSは概して、Kaplan-Meier方法および固形癌の治療効果判定のためのガイドライン(Response Evaluation Criteria in Solid Tumor)(RECIST)1.1規格を用いて測定される。概して、無進行生存は、患者が、癌が悪化していない状態で生存している状態を指す。

10

【0113】

「腫瘍進行までの時間」(TTP)は、登録から疾患進行までの時間として定義される。TTPは概して、RECIST1.1基準を用いて測定される。

【0114】

「完全応答」または「完全寛解」または「CR」は、治療に応答した腫瘍または癌の全ての兆候の消失を示す。これは、必ずしも癌が治癒したことを意味しない。

【0115】

「部分応答」または「PR」は、治療に応答した1つ以上の腫瘍もしくは病変のサイズもしくは体積、または体内の癌の範囲の減少を指す。

20

【0116】

「安定疾患」は、進行または再発を伴わない疾患を指す。安定疾患においては、部分応答と見なすのに十分な腫瘍縮小がなく、また進行性疾患と見なすのに十分な腫瘍増加もない。

【0117】

「進行性疾患」は、1つ以上の新しい病変もしくは腫瘍の出現、および/または既存の非標的病変の明確な進行を指す。進行性疾患はまた、質量の増加か、または腫瘍の拡大の増加かのいずれかに起因する、治療開始以降の20パーセント超の腫瘍成長を指すこともできる。

30

【0118】

「無病生存」(DFS)は、患者が疾患を有さないままである治療後の時間の長さを指す。

【0119】

「全生存」(OS)は、患者の登録から、死亡、または生存していることが最後に知られている日に打ち切られるまでの時間を指す。OSは、ナীবまたは未治療の個体または患者と比較した、平均余命の延長を含む。全生存は、患者が、例えば、診断または治療時から、1年、5年等の定められた期間、生存したままである状況を指す。

【0120】

「CA125レベルの減少」は、婦人科癌インターグループ(Gynecologic Cancer Intergroup)(GCI G)ガイドラインに従って評価することができる。例えば、CA125レベルは、ベースラインCA125レベルを確立するために治療前に測定することができる。CA125レベルは、治療中または治療後に1回以上測定することができ、ベースラインレベルと比較したCA125レベルの経時的な低減は、CA125レベルの減少と見なされる。

40

【0121】

「治療する」または「治療」または「治療すること」または「軽減する」または「軽減すること」等の用語は、1)診断された病状もしくは障害の症状を治癒、減速、低下させる、および/または診断された病状または障害の進行を中断する治療手段と、2)標的病状もしくは障害の発生を防止するおよび/または遅らせる予防的もしくは防止的手段との双方を指す。したがって、治療を必要とするものは、既に障害を有しているもの、障害を有

50

する傾向があるもの、および障害が防止されるべきものを含む。特定の実施形態では、対象は、国立癌研究所および新薬の認可のための米国食品医薬品局によって定められた規格によって各々測定されるとき、患者が以下のうちの1つ以上を示す場合に、本発明の方法に従って成功裏に癌を「治療される」：悪液質の低減、生存期間の増加、腫瘍進行までの時間の延長、腫瘍塊の低減、腫瘍負荷の低減、および/または腫瘍転移までの時間の延長、腫瘍再発までの時間、腫瘍応答、完全応答、部分応答、安定疾患、進行性疾患、無進行生存(PFS)、全生存(OS)。Johnson et al, (2003) J. Clin. Oncol. 21(7):1404-1411を参照されたい。

【0122】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、本明細書において互換的に使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNAおよびRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、および/またはそれらの類似体、あるいはDNAもしくはRNAポリメラーゼによりポリマーに組み込むことができる任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチドおよびその類似体等の修飾ヌクレオチドを含むことができる。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーの組み立ての前または後に付与され得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断され得る。ポリヌクレオチドは、例えば、標識成分との共役によって、重合化後にさらに修飾され得る。他の種類の修飾としては、例えば、「キャップ」、類似体を用いた自然発生ヌクレオチドのうちの1つ以上との置換、ヌクレオチド間修飾、例えば、非荷電結合(例えば、メチルホスホン酸、ホスホトリエステル、ホスホアミダート、カバメート等)および荷電結合(例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等)によるもの、ペンダント部分、例えば、タンパク質(例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ply-L-リシン等)等を含むもの、挿入剤(例えば、アクリジン、ソラーレン等)によるもの、キレート剤(例えば、金属、放射活性金属、ホウ素、酸化金属等)を含むもの、アルキル化剤を含む物、修飾結合(例えば、アノマー核酸等)によるもの、ならびにポリヌクレオチド(単数または複数)の非修飾形態が挙げられる。さらに、糖内に通常存在するヒドロキシル基のうちのいずれかは、例えば、ホスホン酸基、リン酸基によって置き換えられるか、標準保護基によって保護されるか、もしくは追加のヌクレオチドへの追加の結合を調製するように活性化され得、または固体支持体に共役され得る。5'および3'末端OHは、リン酸化され得、またはアミンもしくは1~20個の炭素原子の有機キャッピング基部分と置換され得る。他のヒドロキシルはまた、標準保護基に誘導体化され得る。ポリヌクレオチドはまた、当該技術分野において概して既知であるリボースまたはデオキシリボース糖の類似形態を含むこともでき、例えば、2'-O-メチル-、2'-O-アシル、2'-フルオロ-または2'-アジド-リボース、炭素環式糖類似体、アノマー糖、エピマー糖、例えば、アラビノース、キシロース、またはリキソース、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプトロース、非環式類似体、および脱塩基ヌクレオチド類似体、例えば、メチルリボシドが挙げられる。1つ以上のホスホジエステル結合を、代替的連結基によって置き換えることができる。これらの代替的連結基としては、限定されないが、リン酸塩がP(O)S(「チオエート」)、P(S)S(「ジチオエート」)、(O)NR₂(「アミダート」)、P(O)R、P(O)OR'、CO、またはCH₂(「ホルムアセタール」)によって置き換えられる実施形態が挙げられ、各RまたはR'は、独立してHであるか、または任意に、エーテル(-O-)結合を含む置換もしくは非置換アルキル(1~20C)、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、もしくはアラリジル(aryl)である。ポリヌクレオチド内のすべての結合が同一である必要はない。前述の説明は、RNAおよびDNAを含む、本明細書において言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

【0123】

用語「ベクター」は、宿主細胞中に1つ以上の関心の遺伝子または配列を送達および発現することが可能な構築物を意味する。ベクターの例としては、ウイルスベクター、裸DN

10

20

30

40

50

A または RNA 発現ベクター、プラスミド、コスミド、またはファージベクター、カチオン濃縮剤に関連した DNA または RNA 発現ベクター、リボソーム中に封入される DNA または RNA 発現ベクター、および産生細胞等の特定の真核細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【0124】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」は、本明細書において、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために互換的に使用される。ポリマーは、線状または分枝状であることができ、修飾アミノ酸を含むことができ、また非アミノ酸によって中断されることができる。本用語はまた、天然に、または介入によって修飾されたアミノ酸ポリマーも包含し、例えば、ジスフィルド結合形成、糖化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作もしくは修飾、例えば、標識成分による共役である。この定義には、例えば、アミノ酸の1つ以上の類似体を含むポリペプチド（例えば、非天然アミノ酸等を含む）、および当該技術分野において既知である他の修飾も含まれる。本発明のポリペプチドは抗体に基づくため、特定の実施形態では、ポリペプチドは、一本鎖または会合した鎖として発生し得ることを理解すべきである。幾つかの実施形態では、ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質は、非自然発生的である。幾つかの実施形態では、ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質は、他の自然発生成分から精製される。幾つかの実施形態では、ポリペプチド、ペプチド、またはタンパク質は、組換え産生される。

10

【0125】

2つ以上の核酸またはポリペプチドの文脈において、用語「同一である」またはパーセント「同一性」は、配列同一性の部分としていかなる保存的置換も考慮せずに、最大対応に関して比較および整列（必要に応じて、ギャップを導入する）したときに、同一である、または同一である特定の割合のヌクレオチドもしくはアミノ酸残基を有する2つ以上の配列またはサブ配列を指す。パーセント同一性は、配列比較ソフトウェアもしくはアルゴリズムを用いて、または目視検査によって測定することができる。アミノ酸またはヌクレオチド配列の整列を得るために用いることができる種々のアルゴリズムおよびソフトウェアが、当該技術分野において既知である。配列整列アルゴリズムのかかる一非限定的例は、Karlin et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci., 87:2264-2268において説明され、Karlin et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., 90:5873-5877において修正され、また NBLAST および XBLAST プログラム (Altschul et al., 1991, Nucleic Acids Res., 25:3389-3402) に組み込まれるアルゴリズムである。特定の実施形態では、Gapped BLAST が、Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res., 25:3389-3402 に説明される通り用いられ得る。BLAST-2、WU-BLAST-2 (Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology, 266:460-480)、ALIGN、ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, California)、または Megalign (DNASTAR) は、配列を整列させるために用いることができる、追加の公表されているソフトウェアプログラムである。特定の実施形態では、2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、GCGソフトウェア内の GAPP プログラムを用いて（例えば、NWSgapdna.CMP マトリックスおよび 40、50、60、70、または 90 のギャップ重みおよび 1、2、3、4、5、または 6 の長さ重みを用いて）、決定される。特定の代替的实施形態では、Needleman and Wunsch のアルゴリズム (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970)) を組み込む GCG ソフトウェアパッケージ内の GAPP プログラムは、2つのアミノ酸配列間のパーセント同一性を決定するために用いることができる（例えば、Blossum62 マトリックスかまたは PAM250 マトリックスかのいずれか、ならびに 16、14、12、10、8、6 または 4 のギャップ重みおよび 1、2、3、4、5 の長さ重みを用いる）。別法として、特定の実施形

20

30

40

50

態では、ヌクレオチドまたはアミノ酸配列間のパーセント同一性は、Myers and Millerのアルゴリズム(CABIOS, 4:11-17 (1989))を用いて決定される例えば、パーセント同一性は、ALIGNプログラム(version 2.0)を用いて、また残基表を伴うPAM120、12のギャップ長さペナルティ、および4のギャップペナルティを用いて決定することができる。特定の整列ソフトウェアによる最大整列のための適切なパラメータは、当業者によって決定され得る。特定の実施形態では、整列ソフトウェアの初期パラメータが用いられる。特定の実施形態では、第1のアミノ酸配列の第2の配列アミノ酸に対する同一性割合「X」は、 $100 \times (Y/Z)$ として算出され、Yは、(目視検査または特定の配列整列プログラムによって整列したときに)第1の配列と第2の配列との整列において同一である適合としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Zは、第2の配列中の残基の総数である。第1の配列の長さが第2の配列よりも長い場合、第1の配列の第2の配列に対するパーセント同一性は、第2の配列に対する第1の配列に対するパーセント同一性よりも長くなる。

10

【0126】

非限定的な例として、任意の特定のポリヌクレオチドが、基準配列に対して特定の配列同一性割合(例えば、少なくとも80%同一である、少なくとも85%同一である、少なくとも90%同一である、また幾つかの実施形態では、少なくとも95%、96%、97%、98%、または99%同一である)を有するかどうかは、特定の実施形態において、Bestfitプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix(登録商標), Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)を用いて決定することができる。Bestfitは、Smith and Waterman, Advances in Applied Mathematics 2: 482-489 (1981)の局所相同性アルゴリズムを用いて、2つの配列間の相同性の最良のセグメントを見出す。Bestfitまたは任意の他の配列整列プログラムを用いて、特定の配列が、本発明による基準配列と、例えば、95%同一であるかを決定するとき、パラメータは、同一性の割合が、基準ヌクレオチド配列の全長にわたって算出されるように、また基準配列中のヌクレオチドの総数の最大5%の相同性におけるギャップが可能であるように、設定される。

20

30

【0127】

幾つかの実施形態では、本発明の2つの核酸またはポリペプチドは、実質的に同一であり、それらは、配列比較アルゴリズムを用いて、または目視検査によって測定し、最大対応に関して比較および整列されるときに、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、また幾つかの実施形態では、少なくとも95%、96%、97%、98%、99%のヌクレオチドまたはアミノ酸残基同一性を有することを意味する。特定の実施形態では、同一性は、少なくとも約10、約20、約40~60残基もしくはその間の任意の整数値の長さである配列の領域にわたって、または60~80残基よりも長い領域、少なくとも約90~100残基にわたって存在し、あるいは配列は、例えば、ヌクレオチド配列のコード領域等の比較される配列の全長にわたって実質的に同一である。

40

【0128】

「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別のアミノ酸残基と置き換えられる置換である。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おり、塩基性側鎖(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖(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(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)、 β -分枝側鎖(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(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン)

50

、ヒスチジン)が挙げられる。例えば、チロシンに関するフェニルアラニンの置換は、保存的置換である。特定の実施形態では、本発明のポリペプチドおよび抗体の配列内の保存的置換は、アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたは抗体の、抗原(単数または複数)、即ち、ポリペプチドまたは抗体が結合するFOLR1への結合を無効にしない。抗原結合を除去しないヌクレオチドおよびアミノ酸の保存的置換を同定する方法は、当該技術分野において周知である(例えば、Brummell et al., Biochem. 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10): 879-884 (1999); および Burks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 412-417 (1997)を参照)。

10

【0129】

本開示および特許請求の範囲において使用するとき、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈によって別段に明確に示されない限り、複数形を含む。

【0130】

実施形態は、「~を含む」という原語によって本明細書に説明されているが、「~からなる」および/または「~から本質的になる」という用語で説明される他の類似の実施形態も同様に提供されることが理解される。

【0131】

用語「および/または」は、本明細書で「Aおよび/またはB」等の語句において使用するとき、「AおよびB」、「AまたはB」、「A」、および「B」のいずれをも含むように意図される。同様に、「A、B、および/またはC」等の語句において使用するとき、用語「および/または」は、以下の実施形態の各々を包含するように意図される: A、B、およびC; A、B、またはC; AまたはC; AまたはB; BまたはC; AおよびC; AおよびB; BおよびC; A(単独); B(単独); ならびにC(単独)。

20

【0132】

II. 脱落抗原分析

抗体メイタンシノイド共役体(AMC)、IMGN853は、メイタンシノイド、DM4(N(2')-デアセチル-N2'-(4-メルカプト-4-メチル-1-オキシペンチル)-メイタンシン)に共役され、切断可能なスルホ-SPDB(N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホブタノエート)リンカーを介して付着される、FOLR1結合モノクローナル抗体、huMov19(M9346A)を含む。IMGN853およびhuMov19は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる同時係属中の米国出願公開第2012/0009181号に説明される。FOLR1抗原は、Mov19によって認識される単一のエピトープを含有する。一実施形態では、huMov19抗体は、以下の配列を有する重鎖および軽鎖を含む:

30

配列番号46: huMov19 vHC

QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFRTGYFMNWVKQS
 PGQSLIEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAH
 MELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSS

40

配列番号47 - huMov19 vLCv1.00

DIVLTQSPPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWY
 HQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLNIS
 PVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKR

配列番号48 - huMov19 vLCv1.60

DIVLTQSPPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWY
 HQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTIS
 PVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKR.

【0133】

幾つかの実施形態では、IMGN853等の抗FOLR1活性剤は、FOLR1活性を調

50

節し、例えば、FOLR1タンパク質の活性を減少させる。

【0134】

IMGN853は、FOLR1陽性の卵巣癌、非小細胞肺癌、類内膜癌、腎臓癌、および他の上皮性悪性腫瘍を含む種々の治療指標に関して、現在臨床開発中である。卵巣癌は、最も大きいFOLR1浸透度を示し、IMGN853を用いた治療に関する主要な指標と見なされる (Antony AC. Ann Rev Nutr 16:501-21 (1996); Yuan Y et al. Hum Pathol 40(10):1453-1460 (2009))。

【0135】

患者血漿試料中の循環抗原(脱落抗原)のレベルを測定することは、AMC治療により応答しやすい患者集団を同定するのに役立つ可能性がある。高レベルの脱落抗原は、治療用抗体の薬物動態学に著しく影響を及ぼすことが報告されている (Tolcher A. et al. 20th Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics; October 21-24, 2008; Geneva, Switzerland: EORTC-NCI-AACR, p163, #514; Baselga J, et al. J Clin Oncol 14:737-744 (1996))。患者血漿試料からの脱落抗原レベルは、抗原標的、疾患指標、および疾患経過等の因子に応じて変動すると考えられる。現在、IMGN853に対する疾患指標における脱落抗原レベルは、十分に検証されており、固体腫瘍発現との相関は、限定されている。FOLR1の上昇が、卵巣腺癌において報告されている一方で、データは、それは、小細胞肺癌等の他のFOLR1+腫瘍指標においては上昇していないことを示唆している (Mantovani LT, et al. Eur J Cancer 30A(3):363-9 (1994); Basal E, et al. PLoS ONE 4(7):e6292 (2009))。本方法は、多い葉酸の存在下でのFOLR1受容体の検出を可能にする。従来分析は、分析の設計にMov19を用いていた。IMGN853は、Mov19を含有し、また一実施形態では、本発明の標的療法であるため、FOLR1の検出前にIMGN853が投与される実施形態では、方法が、Mov19の存在下または不在下でFOLR1を検出することが不可欠である。Mov19を用いる従来分析は、競合的な効果を有し、IMGN853治療を受けている患者において著しく少ないFOLR1を検出するか、または全く検出しないであろう。

【0136】

一実施形態では、ヒト由来の流体試料中のFOLR1を検出するための本方法は、従来サンドイッチELISAフォーマットを用いる(図1)。一実施形態では、方法は、捕捉剤(即ち、抗体、他のタンパク質)を用いて、FOLR1を固体支持体に付着させる。一実施形態では、固体支持体は、マイクロタイタープレートである。このために、試料(腹水、血液、血清、血漿等)は、希釈せずに添加され、第1の捕捉剤の結合と干渉しない異なる検出剤(異なる抗体またはタンパク質)によって検出される。検出剤は次に、二次検出剤(ビオチン/ストレプトアビジン、抗ヒト二次モノクローナルまたはポリクローナル抗体等)の使用を通して検出され、該二次検出剤は、第1の検出剤と複数回結合することができ、したがって検出のシグナルを増幅することができる。二次検出剤は次に、何らかの他の手段(例えば、TMB/ペルオキシダーゼ、シンチレーション計数、蛍光プローブ等)の使用によって定量化される。それに加えて、この分析は、FOLR1を検出し、Mov19、IMGN853、他のFOLR1ファミリーメンバー、または葉酸の存在によって悪影響を受けない。

【0137】

本発明の分析は、FOLR1に基づく療法を受けるのに適格である患者を選択するための分析と、患者の応答を監視するための分析との双方を含む。応答予測に関する分析は、療法選択の前に実施され、脱落FOLR1のレベルは、療法決定に影響を及ぼすことがある。患者の応答を監視するために、分析は、試料中のFOLR1のベースライン(または、

10

20

30

40

50

所定の)レベルを確立するために、療法の開始時に実施される。次に、同一の試料を分析し、FOLR1のレベルを、ベースラインまたは所定のレベルと比較する。本明細書で使用するとき、用語「所定のレベル」は、概して、分析結果を所定のレベルと比較することによって診断結果を評価するために用いられる分析カットオフ値を指し、所定のレベルは既に、種々の臨床パラメータと結び付けられているか、または関連付けられている(例えば、薬物を用いて治療されている対象が、薬物の有効な血液レベルを達成したかの監視、抗癌剤を用いた治療を受けている対象の応答の監視、腫瘍のための治療を受けている対象における、該腫瘍の応答の監視等)。所定のレベルは、絶対値か、または療法の開始前に患者から得られた値を差し引くことによって正規化した値かのいずれかであってもよい。用いることができる所定のレベルの例は、1つ以上の対象から得られたベースラインレベルがあり、該対象は、任意に、1つ以上の疾患または疾病に罹患していてもよい。分析されるバイオマーカーレベルの、ベースラインまたは所定のレベルとの比較(または情報分析)は、ソフトウェアプログラム、または分析が実行される設備(例えば、コンピュータプラットフォーム)の一部であるか、もしくはそれと互換性がある知能システム等の、自動システムによって行うことができる。別法として、この比較または情報分析は、医師によって行われ得る。一実施形態では、レベルが、同一のままであるか、または減少する場合、療法は、有効である可能性があり、継続され得る。ベースラインレベル(または所定のレベル)を上回る著しい増加が生じる場合、患者は、応答していない可能性がある。別の実施形態では、脱落FOLR1レベルの増加は、増加した細胞死および脱落FOLR1の増加した放出を示唆する場合がある。この実施形態では、脱落FOLR1の増加は、治療有効性を示す。したがって、幾つかの実施形態では、脱落FOLR1が測定され、また細胞死が測定される。細胞死を測定するための分析は、当該技術分野において既知であり、例えば、M30-抗原(カスパーゼ切断サイトケラチン)の検出、-H2AX等のDNA損傷のマーカー、または断片化および/または濃色したDAPI染色した核等の細胞の形態学的特徴が挙げられる。

10

20

30

40

【0138】

本発明の分析は、任意のタンパク質分析法によって実施することができる。本発明において有用なタンパク質分析法は、当該技術分野において周知であり、特定の非標識もしくは標識抗体またはタンパク質の発現したタンパク質またはFOLR1の断片への結合に関与する免疫分析法が挙げられる。有用な免疫分析法としては、当該技術分野において既知である任意のフォーマットを用いて実施される液相分析、例えば、限定されないが、Biacore、時間分解蛍光エネルギー転移(TR-FRET)、ELISAフォーマット(サンドイッチ、正逆方向競合的阻害)、または蛍光偏光フォーマットと、固相分析、例えば、免疫組織化学との双方が挙げられる。下記に提供されるFOLR-1結合剤は、これらの免疫分析法に特に有用である。

【0139】

III. FOLR1結合剤

本発明は、ヒトFOLR1に特異的に結合する薬剤を提供する。これらの薬剤は、本明細書において「FOLR1結合剤」と称する。

【0140】

FOLR1結合剤としては、 μ FR1-9、 μ FR1-13、 μ FR1-53、 μ FR1-62、および μ FR1-64の重鎖および軽鎖CDR配列を含むFOLR1結合剤が挙げられる。CDR配列 μ FR1-9、 μ FR1-13、 μ FR1-53、および μ FR1-62は、下の表1および2に説明される。

【表 1】

【表 1】 可変重鎖CDRアミノ酸配列

抗体	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
muFR1-9	SFGMH (配列番号 1)	YISSGSSTFYADTVKG (配列番号 2)	ELTGT Fay (配列番号 3)
muFR1-13	RYSVH (配列番号 4)	MIWSGGNTDYNSVFKS (配列番号 5)	FDGKVSWFAY (配列番号 6)
muFR1-53	DYDIS (配列番号 7)	EIYPGSGRTYYNERFKG (配列番号 8)	SYYYGTNSPFAY (配列番号 9)
muFR1-62	TYTMH (配列番号 10)	YINPTSGYNNYNQKFKE (配列番号 11)	GGAYGRRPVDY (配列番号 12)

10

【表 2】

【表 2】 可変軽鎖CDRアミノ酸配列

抗体	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
muFR1-9	RASQSINNLH (配列番号 13)	YASQIS (配列番号 14)	QQNSWPQVT (配列番号 15)
muFR1-13	KASQSVSNDVL (配列番号 16)	YAYNRYS (配列番号 17)	QQDHSSPFT (配列番号 18)
muFR1-53	RASQDISNYLH (配列番号 19)	YTSRLQS (配列番号 20)	QQGNSLPPT (配列番号 21)
muFR1-62	KASQNVGTNVA (配列番号 22)	SASSRYS (配列番号 23)	HQNSYPYT (配列番号 24)

20

【0141】

30

FOLR1 結合分子は、1つのCDRにつき最大4つ(即ち、0、1、2、3、または4つ)の保守的アミノ酸置換を有するmuFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、muFR1-62、またはmuFR1-64のCDRを含むFOLR1に特異的に結合する、抗体または抗原結合断片であり得る。

【0142】

ポリペプチドは、本明細書に説明される個々の可変軽鎖または可変重鎖のうちの1つを含むことができる。抗体およびポリペプチドはまた、可変軽鎖および可変重鎖の双方を含むこともできる。マウスmuFR1-9、muFR1-13、muFR1-53、およびmuFR1-62抗体の可変軽鎖および可変重鎖配列は、表3および4に提供される。

【表 3】

【表 3】 可変重鎖アミノ酸配列

抗体	VH アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9HCvar	QVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSSFGMHWVRQAPEKGLEWVAYIS SGSSTFYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAKELTGTEFA YWGQGTLVTVSA (配列番号 25)
muFR1-13HCvar	QVQLKESGPDVAPSQSLSTCTVSGFSLSRYSVHWIRQPPGKLEWLGMIWS GGNTDYNVSVFKSRLNITKDNSKSVFLKMNSLQTDITAIYYCATFDGKVSWF AYWGQGTLVTVSA (配列番号 26)
muFR1-53HC	QVQLQQSGPELVRPGASVKMSCKASGYKFTDYDISWVLQRTGQGLEWIGEI YPGSGRTYYNERFKGKATLTADKSSNTVYMQLSLTSSEDSAVYFCASSYYYG TNSPFAYWGQGTTLTVSS (配列番号 27)
muFR1-62HC	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTMHWVKQRPGQGLEWIAY INPTSGYNNYNQKFKEKATLTADKSSSTAYMQLTSLTSEDSAVYYCASGGAYG RRPVDYWGQGTSTVTVSS (配列番号 28)

10

【表 4】

【表 4】 可変軽鎖アミノ酸配列

抗体	VL アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9LCvar	DIVLTQSPATLSVTPGDSVLSLSCRASQSINNNLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSGTDFLTSINSVETEDFGMYFCQQSNSWPQVTFGAGTKLE LKR (配列番号 29)
muFR1-13LCvar	SIVMTQTPKFLVSTGDRFTITCKASQSVSNDVLWYQQKPGQSPKLLIYYAY NRYSGVPDRFTGSGYGTDFITITTVQSEDLAVYFCQQDHSSPFTFGSGTKLE IKR (配列番号 30)
muFR1-53LC	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLHWYQRKPDGTVKLLVYYTS RLQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNSLPPTFGSGTKLEI KR (配列番号 31)
muFR1-62LC	DIVMTQSQKFMSISVGDVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKTLIYSA SSRYSGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCHQYNSYPYTFGGGK LEIKR (配列番号 32)

20

30

【0143】

(a) 配列番号 25 ~ 28 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を有するポリペプチド、および/または (b) 配列番号 29 ~ 32 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を有するポリペプチドを含むポリペプチドも、提供される。特定の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 25 ~ 32 に対して少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。したがって、特定の実施形態では、ポリペプチドは、(a) 配列番号 25 ~ 28 に対して少なくとも約 95% の配列同一性を有するポリペプチド、および/または (b) 配列番号 29 ~ 32 に対して少なくとも約 95% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、(a) 配列番号 25 - 28 のアミノ酸配列を有するポリペプチド、および/または (b) 配列番号 29 ~ 32 のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、FOLR1 を特異的に結合する抗体および/またはポリペプチドである。特定の実施形態では、ポリペプチドは、FOLR1 に特異的に結合するマウス抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体で

40

50

ある。特定の実施形態では、配列番号 25 ~ 32 に対して特定の割合の配列同一性を有するポリペプチドは、保存的アミノ酸置換によってのみ配列番号 25 ~ 32 と異なる。

【0144】

ポリペプチドは、本明細書に説明される個々の軽鎖または重鎖のうちの 1 つを含むことができる。抗体およびポリペプチドはまた、軽鎖および重鎖の双方を含むこともできる。マウス μ FR1-9、 μ FR1-13、 μ FR1-53、および μ FR1-62 抗体の軽鎖および可変鎖配列は、表 5 および 6 に提供される。

【表 5 - 1】

【表 5】 全長重鎖アミノ酸配列

抗体	全長重鎖アミノ酸配列 (配列番号)
μ FR1-9HC	QVQLVESGGGLVQP GGS RKLSCAASGFTFS SFGMHWVRQAPEKGLEWVAYIS SGSSTFYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSED TAMYYCAKELTGTF YWGQGTILVTVSAAKTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVT WNSGSLSSGVHTFPVAVLESDLYTLSSSVTPSSMRPSETVTCNVAHPASSTKVD KKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCVVVDISKDDPEV QFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS AAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVS L TCMITDFFPEDITVE WQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLVN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEG LHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 33)
μ FR1-13HC	QVQLKESGPD LVAPSQSL SITCTVSGFSLSRYSVHWIRQPPGKGLEWLGMIWSG GNTDYNVSVFKSRLNITKDNSKSVFLKMNSLQTDDTAIYYCATFDGKVS WFA YWGQGTILVTVSAAKTPPSVYPLAPGCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVT WNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTPSSTWPSQTVTCSVAHPASSTVD KKLEPSGPISTINPCPPCKECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTC VVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSTLPIQH QDW MSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCL VVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLVNMKTSKWEKT DSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK (配列番号 34)
μ FR1-53HC	QVQLQQSGPELVRPGASVKMSCKASGYKFTDYDISWVLQRTGQGLEWIGEIY PGSGRTYYNERFKGKATLTADKSSNTVYMQLSLTS EDSAVYFCASSYYYGTN SPFAYWGQGTTLTVSSAKTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPV TVTWNSGSLSSGVHTFPVAVLESDLYTLSSSVTPSSMRPSETVTCNVAHPASST KVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCVVVDISKD DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKC RVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVS L TCMITDFFPED ITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLVN VQKSNWEAGNTFTCSV LHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (配列番号 35)
μ FR1-62HC	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTMHWVKQRPGQGLEW IAYI NPTSGYNNYNQKFKEKATLTADKSSSTAYMQLSLTS EDSAVYYCASGGAYGR

10

20

30

40

【表 5 - 2】

	RPVDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNMVTLGCLVKGYFPEP VTVTWNSSGLSSGVHTFPAVLESPLYTLSSSVTPSSMRPSETVTCNVAHPASS TKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCTVVVDISK DDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFK CRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPE DITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLVNPKSNWEAGNTFTCS VLHEGLHNHHTKSLSHSPGK (配列番号 36)
--	---

10

【表 6】

【表 6】 全長軽鎖アミノ酸配列

抗体	全長軽鎖アミノ酸配列 (配列番号)
muFR1-9LC	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSINNNLHWYQQKSHESPRLLIKYASQSI SGIPSRFSGSGSGTDFTLISNSVETEDFGMYFCQQSNSWPQVTFGAGTKLELK RADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVL NSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTITLKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNENE C (配列番号 37)
muFR1-13LC	SIVMTQTPKFLLVSTGDRFTITCKASQSVSNDVLWYQQKPGQSPKLLIYYAYN RYSQVPSRFGSGSGTDFTLITVQSEDLAVYFCQQDHSSPFTFGSGTKLEIK RADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTITLKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNENE (配列番号 38)
muFR1-53LC	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLHWYQRKPDGTVKLLVYYTISR LQSGVPSRFGSGSGTDFTLISNLEQEDIATYFCQQGNSLPPTFGSGTKLEIKR ADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN SWTDQDSKDYSTYSMSSTLTITLKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNENE (配列番号 39)
muFR1-62LC	DIVMTQSQKFMISISVGRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKTLIYSAS SRYSQVPSRFGSGSGTDFTLISNVQSEDLADYFCHQYNSYPYTFGGGKLE IKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTITLKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNENE (配列番号 40)

20

30

【0145】

(a) 配列番号 33 ~ 36 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を有するポリペプチド、および/または (b) 配列番号 37 ~ 40 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を有するポリペプチドを含むポリペプチドも、提供される。特定の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号 33 ~ 40 に対して少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。したがって、特定の実施形態では、ポリペプチドは、(a) 配列番号 33 ~ 36 に対して少なくとも約 95% の配列同一性を有するポリペプチド、および/または (b) 配列番号 37 ~ 40 に対して少なくとも約 95% の配列同一性を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、(a) 配列番号 33 ~ 36 のアミノ酸配列を有するポリペプチド、および/または (b) 配列番号 37 ~ 40 のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ポリペプチドは、FOLR1を

40

50

特異的に結合する抗体および/またはポリペプチドである。特定の実施形態では、ポリペプチドは、FOLR1に特異的に結合するマウス抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体である。特定の実施形態では、配列番号33~40に対して特定の割合の配列同一性を有するポリペプチドは、保存的アミノ酸置換によってのみ配列番号33~40と異なる。

【0146】

抗原に関する抗体の親和性または結合力 (avidity) は、例えば、サイトメトリー (フローサイトメトリーを含む)、酵素結合免疫吸着剤分析 (ELISA)、またはラジオイムノアッセイ (RIA)、または動力学 (例えば、表面プラズモン共鳴分光法 (BIACORE (商標) 分析) 等の、当該技術分野において周知の任意の好適な方法を用いて、実験的に決定することができる。直接結合分析、および競合的結合分析フォーマットは、容易に採用され得る (例えば、Berzofsky, et al., "Antibody - Antigen Interactions", Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, N.Y. (1984) 中; Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, N.Y. (1992); および本明細書に説明される方法を参照)。特定の抗体 - 抗原相互作用の測定された親和性は、異なる条件 (例えば、塩濃度、pH、温度) 下で測定する場合、変動する可能性がある。したがって、親和性および他の抗原結合パラメータ (例えば、KDまたはKd、 K_{on} 、 K_{off}) の測定は、抗体および抗原の標準溶液、ならびに当該技術分野において既知である標準緩衝液、例えば、本明細書に説明される緩衝液を用いて行われる。

【0147】

一態様では、結合分析は、表面上にFOLR1抗原を発現する細胞において、サイトメトリー (例えば、フローサイトメトリー) を用いて実施することができる。例えば、SKOV3等のFOLR1陽性細胞を、100 μ LのFACS緩衝液 (2%の正常ヤギ血清を補充したRPMI-1640培地) 中で一試料あたり 1×10^5 の細胞を用いて、種々の濃度の抗FOLR1抗体と共に定温放置した。次に、細胞を、ペレット化し、脱落し、100 μ LのFITC-共役ヤギ-抗マウスまたはヤギ-抗ヒトIgG抗体 (例えば、Jackson Laboratoryから得られるもの、FACS緩衝液中6 μ g/mL) と共に1時間定温放置した。細胞を、再びペレット化し、FACS緩衝液で洗浄し、1%のホルムアルデヒドを含有する200 μ LのPBS中で再懸濁した。試料は、例えば、HTSマルチウエルサンプラーを有するFACSCaliburフローサイトメーターを用いて獲得し、CellQuest Proを用いて分析した (全て、BD Biosciences, San Diego, 米国)。各試料に関して、FL1 (MFI) に関する平均蛍光強度を出力し、セミログプロットにて抗体濃度に対してプロットして、結合曲線を生成した。S状用量応答曲線を、結合曲線に対して適合させ、EC50値を、初期パラメータを用いてGraphPad Prism v4 (GraphPad software, San Diego, CA) 等のプログラムを用いて算出する。EC50値は、各抗体に関する見かけの解離定数「Kd」または「KD」のための測定値として用いることができる。

【0148】

モノクローナル抗体は、Kohler and Milstein (1975) Nature 256: 495によって説明されるもの等のハイブリドーマ法を用いて調製することができる。ハイブリドーマ法を用いて、マウス、ハムスター、または他の適切な宿主動物は、上述の通り免疫付与されて、免疫抗原に特異的に結合する抗体のリンパ球による産生を引き起こす。リンパ球はまた、インビトロで免疫付与されることもできる。免疫付与後、リンパ球は、単離され、例えば、ポリエチレングリコールを用いて、好適な骨髓腫細胞株と融合されて、ハイブリドーマ細胞を形成し、該ハイブリドーマ細胞は次に、非融合リンパ球および骨髓腫細胞から離して選択される。免疫沈降、免疫プロット法、またはインビトロの結合分析 (例えば、ラジオイムノアッセイ (RIA); 酵素結合免疫吸着

10

20

30

40

50

分析 (E L I S A)) によって決定するとき、選択された抗原に特異的に方向付けられるモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、次に、標準的な方法 (Goding , Monoclonal Antibodies : Principles and Practice , Academic Press , 1986) を用いてか、または動物内の腹水腫瘍としてインビボでかのいずれかで、繁殖させることができる。モノクローナル抗体は次に、培養培地または本明細書に説明される腹水から、ポリクローナル抗体に関して精製することができる。

【 0 1 4 9 】

別法として、モノクローナル抗体はまた、米国特許第 4 , 8 1 6 , 5 6 7 号に説明されるような組換え DNA 法を用いて作製することもできる。モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチドは、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子の特異的に増幅するオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、成熟 B 細胞、または RT - PCR によるもの等のハイブリドーマ細胞から単離され、その配列は、従来の手順を用いて決定される。重鎖および軽鎖をコードする単離されたポリヌクレオチドは次に、好適な発現ベクターにクローン化され、それは、ないしは免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サル COS 細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、または骨髓腫細胞等の宿主細胞に形質導入されるとき、モノクローナル抗体が、宿主細胞によって生成される。また、所望の種の組換えモノクローナル抗体またはその断片は、説明される通り、所望の種の CDR を発現するファージディスプレイライブラリから単離することもできる (McCafferty et al. , 1990 , Nature , 348 : 552 - 554 ; Clackson et al. , 1991 , Nature , 352 : 624 - 628 ; and Marks et al. , 1991 , J. Mol. Biol. , 222 : 581 - 597) 。

【 0 1 5 0 】

モノクローナル抗体をコードするポリヌクレオチド (単数または複数) は、生成する代替的抗体のための組換え DNA 技術を用いて、多数の異なる様式でさらに修飾され得る。幾つかの実施形態では、例えば、マウスモノクローナル抗体の軽鎖および重鎖の定常ドメインは、1) 例えば、キメラ抗体を生成するために、ヒト抗体の該領域と、または 2) 融合抗体を生成するために、非ヒト免疫グロブリンポリペプチドと置換され得る。幾つかの実施形態では、定常領域は、モノクローナル抗体の所望の抗体断片を生成するために、切断または除去される。可変領域の部位指向型または高密度突然変異生成は、モノクローナル抗体の特異性、親和性等を最適化するために用いることができる。

【 0 1 5 1 】

幾つかの実施形態では、ヒト FOLR 1 に対するモノクローナル抗体は、ヒト化抗体である。特定の実施形態では、かかる抗体は、ヒト対象に投与されるとき、抗原応答および HAMA (ヒト抗マウス抗体) 応答を低減させるために治療的に用いられる。

【 0 1 5 2 】

非ヒトまたはヒト抗体を改変、ヒト化、再表面化するための方法を用いることもでき、また当該技術分野において周知である。ヒト化、再表面化、または同様に改変された抗体は、例えば、限定されないが、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、または他の哺乳類等の非ヒトである供給源に由来する、1つ以上のアミノ酸残基を有することができる。これらの非ヒトアミノ酸残基は、「移入」残基と称されることが多い残基によって置き換えられ、それは典型的には、「移入」可変、定常、または既知のヒト配列の他のドメインから採取される。

【 0 1 5 3 】

かかる移入された配列は、当該技術分野において既知である通り、免疫原性を低減させる、または結合、親和性、オンレート (on - rate) 、オフレート (off - rate) 、結合力、特異性、半減期、もしくは任意の他の好適な特徴を低減、強化、もしくは修飾するために用いることができる。概して、CDR 残基は、直接的また最も実質的に、FOLR 1 結合に影響を及ぼすことに関与する。したがって、非ヒトまたはヒト CDR 配列

10

20

30

40

50

の一部または全部を保持しながら、可変および定常領域の非ヒト配列を、ヒトまたは他のアミノ酸と置き換えることができる。

【0154】

抗体はまた、任意に、抗原 F O L R 1 に対する高い親和性および他の好ましい生物学的特性を保持して改変された、ヒト化抗体、再表面化抗体、改変抗体、またはヒト抗体であり得る。この目的を達成するために、ヒト化（またはヒト）または改変抗 F O L R 1 抗体および再表面化抗体は、任意に、親配列、改変配列、およびヒト化配列の 3 次元モデルを用いた親配列ならびに種々の概念的ヒト化および改変産生物の分析プロセスによって調製することができる。3次元免疫グロブリンモデルは、一般的に入手可能であり、また当業者に知られている。選択される候補免疫グロブリン配列の可能性のある 3 次元立体配座構造を例示および表示するコンピュータープログラムが、入手可能である。これらの表示の検査は、残基が、候補免疫グロブリン配列の機能において果たす可能性のある役割の分析を可能にし、即ち、候補免疫グロブリンが F O L R 1 等のその抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基の分析を可能にする。このように、フレームワーク (F R) 残基は、標的抗原 (単数または複数) に対する増加した親和性等の所望の抗体特徴が達成されるように、コンセンサス配列および移入配列から選択され、組み合わせされ得る。

10

【0155】

本発明の抗体のヒト化、再表面化、または改変は、任意の既知の方法を用いて実施することができ、例えば、限定されないが、Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)、Sims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987)、Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993)、Roguska et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3):969-973 (1994)、Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895-904 (1996)、米国特許第 5,639,641 号、同第 5,723,323 号;同第 5,976,862 号;同第 5,824,514 号;同第 5,817,483 号;同第 5,814,476 号;同第 5,763,192 号;同第 5,723,323 号;同第 5,766,886 号;同第 5,714,352 号;同第 6,204,023 号;同第 6,180,370 号;同第 5,693,762 号;同第 5,530,101 号;同第 5,585,089 号;同第 5,225,539 号;同第 4,816,567 号; PCT 第 US 98/16280 号;同第 US 96/18978 号;同第 US 91/09630 号;同第 US 91/05939 号;同第 US 94/01234 号;同第 GB 89/01334 号;同第 GB 91/01134 号;同第 GB 92/01755 号;同第 WO 90/14443 号;同第 WO 90/14424 号;同第 WO 90/14430 号;同第 EP 229246 号;同第 7,557,189 号;同第 7,538,195 号;および同第 7,342,110 号に説明されるもの等であり、その各々は、本明細書に引用される参考文献を含め、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

30

40

【0156】

特定の代替的实施形態では、F O L R 1 に対する抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において既知である種々の技術を用いて直接調製することができる。インビトロで免疫付与された、または免疫付与された個体から単離された、標的抗原に対する抗体を産生する不死化ヒト B リンパ球を生成することができる (例えば、Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p.77 (1985); Boemer et al., 1991, J. Immunol., 147 (1):86-9

50

5 ; および米国特許第 5 , 7 5 0 , 3 7 3 号を参照) 。 また、ヒト抗体は、ファージライブラリから選択することができ、例えば、Vaughan et al. , 1996 , Nat. Biotech. , 14 : 309 - 314 , Sheets et al. , 1998 , Proc. Nat'l. Acad. Sci. , 95 : 6157 - 6162 , Hoogenboom and Winter , 1991 , J. Mol. Biol. , 227 : 381 , and Marks et al. , 1991 , J. Mol. Biol. , 222 : 581 に説明されるように、該ファージライブラリはヒト抗体を発現する。抗体ファージライブラリの生成および使用に関する技術はまた、米国特許第 5 , 9 6 9 , 1 0 8 号、同第 6 , 1 7 2 , 1 9 7 号、同第 5 , 8 8 5 , 7 9 3 号、同第 6 , 5 2 1 , 4 0 4 号、同第 6 , 5 4 4 , 7 3 1 号、同第 6 , 5 5 5 , 3 1 3 号、同第 6 , 5 8 2 , 9 1 5 号、同第 6 , 5 9 3 , 0 8 1 号、同第 6 , 3 0 0 , 0 6 4 号、同第 6 , 6 5 3 , 0 6 8 号、同第 6 , 7 0 6 , 4 8 4 号、および同第 7 , 2 6 4 , 9 6 3 号、ならびに Rothe et al. , 2007 , J. Mol. Bio. , doi : 10 . 1016 / j . jmb . 2007 . 12 . 018 (その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) にも説明される。親和性成熟戦略および鎖シャッフリング戦略 (その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Marks et al. , 1992 , Bio / Technology 10 : 779 - 783) は、当該技術分野において既知であり、また高親和性ヒト抗体を生成するために採用することができる。

10

20

【0157】

ヒト化抗体はまた、免疫付与時に、内因性免疫グロブリン産生の不在化で、ヒト抗体の完全なレパートリーを産生することが可能なヒト免疫グロブリン遺伝子座を含有するトランスジェニックマウスにおいて、作製することもできる。このアプローチは、米国特許第 5 , 5 4 5 , 8 0 7 号 ; 同第 5 , 5 4 5 , 8 0 6 号 ; 同第 5 , 5 6 9 , 8 2 5 号 ; 同第 5 , 6 2 5 , 1 2 6 号 ; 同第 5 , 6 3 3 , 4 2 5 号 ; および同第 5 , 6 6 1 , 0 1 6 号に説明される。

30

【0158】

本発明は、ヒト葉酸受容体 1 を特異的に認識する二重特異性抗体も包含する。二重特異性抗体は、少なくとも 2 つの異なるエピトープを特異的に認識し、結合することが可能な抗体である。ことなるエピトープは、同一分子 (例えば、同一ヒト葉酸受容体 1) 中であるか、または異なる分子上かのいずれかであり得、例えば、抗体は、ヒト葉酸受容体 1、および例えば、1) 白血球上のエフェクター分子、例えば、T細胞受容体 (例えば、CD3) もしくはFc受容体 (例えば、CD64、CD32、もしくはCD16) 等、または2) 下記に詳細に説明されるような細胞毒性剤を特異的に認識し、結合することができる。

40

【0159】

例示的な二重特異性抗体は、2つの異なるエピトープに結合することができ、それらのうちの少なくとも1つは、本発明のポリペプチドに起源を有する。別法として、免疫グロブリン分子の抗抗原腕は、T細胞受容体分子 (例えば、CD2、CD3、CD28、またはB7) 等の白血球上のトリガ分子、またはIgGに対するFc受容体に結合する腕と組み合わせ、特定の抗原を発現する細胞に対する細胞防御メカニズムを集中させることができる。二重特異性抗体はまた、細胞毒性剤を特定の抗原を発現する細胞に方向付けるために用いることもできる。これらの抗体は、抗原結合腕、および細胞毒性剤またはEOTUBE、DPTA、DOTA、もしくはTETA等の放射性核キレート剤を結合する腕を有する。二重特異性抗体を作製するための技術は、当該技術分野において一般的である (Millstein et al. , 1983 , Nature 305 : 537 - 539 ; Brennan et al. , 1985 , Science 229 : 81 ; Suresh et al. , 1986 , Methods in Enzymol . 121 : 120 ; Traunecker et al. , 1991 , EMBO J . 10 : 3655 - 3659 ; Shalaby et al. , 1992 , J. Exp. Med . 175 : 217 - 225 ; Kostelny et al

50

. , 1992 , J . Immunol . 148 : 1547 - 1553 ; Gruber et al . , 1994 , J . Immunol . 152 : 5368 ; and U . S . Patent 5 , 731 , 168) 。 2以上の価数を有する抗体も、企図される。例えば、三重特異性抗体を、調製することができる (Tuttle et al . , J . Immunol . 147 : 60 (1991)) 。 従って、特定の実施形態では、FOLR1に対する抗体は、多特異性である。

【0160】

特定の実施形態では、例えば、腫瘍浸透を増加させるための、抗体断片が提供される。抗体断片の産生に関する種々の技術が、既知である。従来、これらの断片は、無傷抗体のタンパク消化を介して抽出される (例えば、Morimoto et al . , 1993 , Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24 : 107 - 117 ; Brennan et al . , 1985 , Science , 229 : 81) 。 特定の実施形態では、抗体断片は、組換え産生される。Fab、Fv、およびscFv抗体断片は全て、大腸菌または他の宿主細胞内で発現および分泌され得、したがって大量のこれらの断片の産生を可能にする。かかる抗体断片はまた、上述の抗体ファージライブラリから単離することもできる。抗体断片はまた、例えば、米国特許第5,641,870号に説明されるような線状抗体であり得、また単一特異性または二重特異性であり得る。抗体断片の産生に関する他の技術は、当業者に明白であろう。

【0161】

本発明によれば、ヒト葉酸受容体1に特異的である一本鎖抗体の産生に関する技術が、適用され得る (米国特許第4,946,778号を参照) 。 それに加えて、Fab発現ライブラリの構築に関する方法が、適用され得、葉酸1受容体、またはその誘導体、断片、類似体、もしくは相同体に対する所望の特異性を有するモノクローナルFab断片の迅速で有効な同定を可能にする (Huse, et al . , Science 246 : 1275 - 1281 (1989)) 。 抗体断片は、当該技術分野の技術によって産生することができ、(a)抗体分子のペプシン消化によって産生されるF(ab')₂断片、(b)F(ab')₂断片のジスフィルド架橋を還元することによって生成されるFab断片、(c)パインおよび還元剤を用いた抗体分子の処理によって生成されるFab断片、ならびに(d)Fv断片が挙げられるが、これらに限定されない。

【0162】

特に抗体断片の場合には、その血清半減期を増加させるために抗体を修飾することは、さらに望ましい可能性がある。これは、例えば、抗体断片内の適切な領域の突然変異による抗体断片へのサルベージ受容体結合エピトープの組み込みによって、またはエピトープを、その後 (例えば、DNAまたはペプチド合成によって) 末端かもしくは中央かのいずれかで抗体断片に融合されるペプチドタグに、組み込むことによって、達成することができる。

【0163】

ヘテロ共役抗体もまた、本発明の範囲内である。ヘテロ共役抗体は、2つの共有結合した抗体で構成される。かかる抗体は、例えば、不要な細胞に対する免疫細胞を標的にすることが提案されている (米国特許第4,676,980号) 。 抗体は、架橋剤に關与するものを含む、合成タンパク質化学における既知の方法を用いて、インビトロで調製され得ることが企図される。例えば、免疫毒素は、ジスフィルド交換反応を用いて、またはチオエーテル結合を形成することによって、構築することができる。この目的のために好適な試薬の例としては、イミノチオレートおよびメチル-4-メルカプトブチリミデートが挙げられる。

【0164】

本発明の目的のために、修飾抗体は、抗体とヒトFOLR1のポリペプチドとの会合を提供する任意の種類の変領域を含み得ることが理解されるべきである。この点に関して、変領域は、液性応答を行い、所望の腫瘍関連抗原に対する免疫グロブリンを生成するよ

10

20

30

40

50

【0168】

全定常領域ドメインの欠失に加え、本発明の抗体は、少数の、またはさらには単一のアミノ酸の部分的欠失または置換によって提供され得ることが、理解されるであろう。例えば、CH2ドメインの選択されたエリア内の単一のアミノ酸の突然変異は、Fc結合を実質的に低減し、したがって腫瘍局在化を増加させるのに十分な場合がある。同様に、単に、調節されるべきエフェクター機能（例えば、補体C1Q結合）を制御する1つ以上の定常領域ドメインの部分を欠失することが、望ましい場合もある。定常領域のかかる部分的欠失は、対象の無傷定常領域ドメインに関連した他の望ましい機能は残したまま、抗体の選択された特徴（血清半減期）を改善することができる。しかしながら、上に示唆される通り、開示される抗体の定常領域は、結果として得られる構築物のプロファイル強化する1つ以上のアミノ酸の突然変異または置換を通して修飾することができる。この観点から、修飾抗体の構成および免疫原性特性を実質的に維持しながら、保存される結合部位（例えば、Fc結合）によって提供される活性を破壊することが可能であり得る。特定の実施形態は、望ましい特徴、例えば、エフェクター機能の減少もしくは増加等の望ましい特徴を強化するため、またはより多い細胞毒素もしくは炭水化物付着を提供するために、定常領域への1つ以上のアミノ酸の付加を含むことができる。かかる実施形態では、選択される定常領域ドメインに由来する特定の配列を挿入または複製ことが、望ましくあり得る。

10

【0169】

本発明は、本明細書に記載されるキメラ抗体、ヒト化抗体、およびヒト抗体、またはそれらの抗体断片に実質的に相同である変異体および等価物を、さらに採用する。これらは、例えば、保存的置換突然変異、即ち、類似のアミノ酸による1つ以上のアミノ酸の置換を含有し得る。例えば、保存的置換は、アミノ酸の、同一の一般的クラス内の別のアミノ酸との置換を指し、例えば、ある酸性アミノ酸と別の酸性アミノ酸、ある塩基性アミノ酸と別の塩基性アミノ酸、または別の中性アミノ酸による中性アミノ酸の置換である。保存的アミノ酸置換によって意図されるものは、当該技術分野において周知である。

20

【0170】

本発明のポリペプチドは、ヒトFOLR1に対する抗体またはその断片を含む、組換えポリペプチド、天然ポリペプチド、または合成ポリペプチドであり得る。本発明のアミノ酸配列のうちいくつかは、タンパク質の構造または機能の著しい効果を伴わずに変化され得ることは、当該技術分野において認識されるであろう。したがって、本発明は、ヒト葉酸受容体タンパク質に対する実質的活性を示すか、またはヒト葉酸受容体タンパク質に対する抗体もしくはその断片の領域を含むポリペプチドの変形を、さらに含む。かかる突然変異体は、欠失、挿入、反転、反復、および型置換を含む。

30

【0171】

ポリペプチドおよび類似体は、正常にはタンパク質の一部ではない追加の化学的部分を含有するように、さらに修飾することができる。これらの誘導体化された部分は、可溶性、生物学的半減期、またはタンパク質の吸収を改善することができる。この部分はまた、タンパク質等の任意の望ましい副作用を低減または除去することができる。これらの部分の概要は、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 20th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000)に見出すことができる。

40

【0172】

本明細書に説明される単離されたポリペプチドは、当該技術分野において既知である任意の好適な方法によって産生することができる。かかる方法は、直接的なタンパク質合成方法から、単離されたポリペプチド配列をコードし、それらの配列を好適な形質転換された宿主内に発現するDNA配列を構築することに及ぶ。幾つかの実施形態では、DNA配列は、組換え技術を用いて、関心の野生型タンパク質をコードするDNA配列を単離または合成することによって構築される。任意に、配列は、その機能的類似体を提供するような部位特異的な突然変異生成によって、突然変異を誘発され得る。例えば、Zoeller et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 81:

50

5662-5066 (1984) および米国特許第4,588,585号を参照されたい。

【0173】

幾つかの実施形態では、関心のポリペプチドをコードするDNA配列は、オリゴヌクレオチド合成を用いた化学合成によって構築されることになる。かかるオリゴヌクレオチドは、所望のポリペプチドのアミノ酸配列に基づき、関心の組換えポリペプチドが産生されるであろう宿主細胞において好ましいコドンを選択して、設計することができる。関心の単離されたポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド配列を合成するために、標準的な方法を適用することができる。例えば、完全なアミノ酸配列を用いて、逆翻訳された遺伝子を構築することができる。さらに、特定の単離されたポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含有するDNAオリゴマーが、合成され得る。例えば、所望のポリペプチドの部分をコードする幾つかの小さいオリゴヌクレオチドを合成し、次に結紮することができる。個々のオリゴヌクレオチドは、典型的には、相補性組み立て (complementary assembly) のための5'または3'オーバーハングを含有する。

10

【0174】

一旦組み立てられると(合成、部位指向型突然変異生成、または別の方法によって)、関心の特定の単離されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、発現ベクターに挿入され、所望の宿主内でのタンパク質の発現に適切な発現制御配列に、操作可能に結合される。適当な組み立ては、ヌクレオチド配列決定、制限酵素マッピング、および好適な宿主内での生物学的に活性なポリペプチドの発現によって確認することができる。当該技術分野において周知の通り、宿主内に高い発現レベルの形質導入遺伝子を得るために、遺伝子は、選択される発現宿主内で機能する転写および翻訳発現制御配列に操作可能に結合されなければならない。

20

【0175】

特定の実施形態では、組換え発現ベクターは、ヒトFOLR1に対する抗体またはその断片をコードするDNAを増幅および発現するために用いられる。組換え発現ベクターは、抗FOLR1抗体またはその断片のポリペプチド鎖をコードし、また哺乳類、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子に由来する好適な転写または翻訳調節要素に操作可能に結合される合成またはcDNA由来DNA断片を有する、複製可能なDNA構築物である。転写ユニットは概して、(1)遺伝子発現において調節的役割を果たす遺伝要素または要素類、例えば、転写プロモーターまたはエンハンサー、(2)mRNAへ転写され、タンパク質へ翻訳される、構造配列またはコード配列、ならびに(3)下記に詳細に説明されるような、適切な転写および翻訳開始および停止配列の組み立てを含む。かかる調節要素としては、転写を制御するためのオペレーター配列を挙げることができる。通常は複製起点によって付与される宿主における複製の能力、および形質転換体の認識を促進するための選択遺伝子は、追加的に組み込まれ得る。DNA領域は、互いに機能的に関連する場合、操作可能に結合される。例えば、シグナルペプチド(分泌リーダー)に関するDNAは、それがポリペプチドの分泌に関与する前駆体として発現される場合、ポリペプチドに関するDNAに操作可能に結合され、プロモーターは、それが配列の転写を制御する場合、コード配列に操作可能に結合され、またはリボソーム結合部位は、それが翻訳を可能にするように位置付けられる場合、コード配列に操作可能に結合される。酵母発現系における使用のために意図される構造要素としては、宿主細胞による翻訳タンパク質の細胞外分泌を可能にするリーダー配列が挙げられる。別法として、組換えタンパク質がリーダーまたは移行配列を伴わずに発現される場合、それは、N-末端メチオニン残基を含むことができる。この残基は、任意に、発現された組換えタンパク質からその後切断されて、最終的な産物を提供することができる。

30

40

【0176】

発現制御配列および発現ベクターの選択は、宿主の選択に依存する。広範な発現宿主/ベクターの組み合わせが、採用され得る。真核生物宿主に有用な発現ベクターとしては、例

50

えば、SV40、ウシパピローマウイルス、アデノウイルス、およびサイトメガロウイルスに由来する発現制御配列を含むベクターが挙げられる。細菌宿主に有用な発現ベクターとしては、既知の細菌プラスミド、例えば、pCR1、pBR322、pMB9、およびそれらの誘導体を含む、大腸菌に由来するプラスミド、より広範な宿主域のプラスミド、例えば、M13および糸状一本鎖DNAファージが挙げられる。

【0177】

FOLR1結合ポリペプチドまたは抗体（または、抗原として使用するためのFOLR1タンパク質）の発現に好適な宿主細胞としては、適切なプロモーターの制御下での原核生物、酵母、昆虫、または高等真核細胞が挙げられる。原核生物としては、例えば、大腸菌または桿菌等のグラム陰性またはグラム陽性生物が挙げられる。高等真核細胞としては、
10
下記に説明されるような、哺乳類起源の確立された細胞株が挙げられる。無細胞翻訳系も、採用され得る。細菌、真菌、酵母、および哺乳類細胞宿主との使用に適切なクローニングおよび発現ベクターは、Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., 1985)によって説明されており、その関連する開示は、参照により本明細書に組み込まれる。抗体産生を含む、タンパク質産生の方法に関するさらなる情報は、例えば、米国特許公開第2008/0187954号、米国特許6,413,746号および同第6,660,501号、ならびに国際特許公開第WO04009823号に見出すことができ、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0178】

種々の哺乳類または昆虫細胞培養システムもまた、組換えタンパク質を発現するために有利に採用される。哺乳類細胞における組換えタンパク質発現は、かかるタンパク質は概して、正確に折り畳まれ、適切に修飾され、また完全に機能的であるため、実施され得る。好適な哺乳類宿主細胞株の例としては、HEK-293およびHEK-293T、Gluzman (Cell 23:175, 1981)によって説明されるサル腎臓細胞のCOS-7株、ならびに例えば、L細胞、C127、3T3、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)、HeLaおよびBHK細胞株を含む他の細胞株が挙げられる。哺乳類発現ベクターは、非転写要素、例えば、複製起点、発現されるべき遺伝子に結合される好適なプロモーターおよびエンハンサー、ならびに他の5'または3'隣接非転写配列、ならびに5'または3'非翻訳配列、例えば、必要なりボソーム結合部位、ポリアデニル化部位、
30
スプライドナーおよび受容部位、ならびに転写停止配列を含むことができる。昆虫細胞における異種タンパク質の産生に関するバキュロウイルスシステムは、Luckow and Summers, Bio/Technology 6:47 (1988)によって考察されている。

【0179】

形質転換宿主によって産生されるタンパク質は、任意の好適な方法に従って精製することができる。かかる標準的方法としては、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、およびサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、溶解度差、またはタンパク質精製に関する任意の他の標準的技術が挙げられる。ヘキサヒスチジン、マルトース結合ドメイン、インフルエンザコート配列、およびグルタチオン-S-トランスフェラーゼ
40
等の親和性タグは、適切な親和性カラム上の通過による容易な精製を可能にするために、タンパク質に付着され得る。単離されたタンパク質はまた、タンパク質分解、核磁気共鳴、およびX線結晶構造解析等の技術を用いて、物理的に特徴付けられ得る。

【0180】

例えば、組換えタンパク質を培養培地内に分泌するシステムの上清は、まず、市販のタンパク質濃縮フィルタ、例えば、AmiconまたはMillipore Pellicon
限外濾過ユニットと用いて濃縮され得る。この濃縮ステップの後、濃縮物は、好適な精製マトリックスに適用され得る。別法として、アニオン交換樹脂が採用され得、例えば、ペンダントジエチルアミノエチル(DEAE)基を有するマトリックスまたは基質である。マトリックスは、アクリルアミド、アガロース、デキストラン、セルロース、またはタ
50

ンパク質精製に一般的に採用される他の種類のものであり得る。別法として、カチオン交換ステップが採用され得る。好適なカチオン交換としては、スルホプロピルまたはカルボキシメチル基を含む、種々の不溶性マトリックスが挙げられる。最後に、例えば、ペンダントメチル基または他の脂肪族基を有するシリカゲル等の、疎水性 R P - H P L C 培地を採用する 1 つ以上の逆相高性能液体クロマトグラフィー (R P - H P L C) ステップが、 F O L R 1 結合剤をさらに精製するために採用され得る。前述の精製ステップのうちの幾つかまたは全ても、種々の組み合わせで、均質な組換えタンパク質を提供するために採用され得る。

【 0 1 8 1 】

細菌培養において産生される組換えタンパク質は、例えば、細胞ペレットからの初期抽出の後、1 つ以上の濃縮、塩析、水性イオン交換、またはサイズ排除クロマトグラフィーステップによって、単離され得る。高性能液体クロマトグラフィー (H P L C) は、最終精製ステップのために採用され得る。組換えタンパク質の発現に採用される微生物細胞は、凍結融解サイクル、超音波、機械的破壊、または細胞溶解剤の使用を含む、任意の便宜的方法によって破壊され得る。

10

【 0 1 8 2 】

抗体および他のタンパク質を生成するための当該技術分野において既知である方法としては、例えば、米国特許公開第 2 0 0 8 / 0 3 1 2 4 2 5 号、同第 2 0 0 8 / 0 1 7 7 0 4 8 号、および同第 2 0 0 9 / 0 1 8 7 0 0 5 号に説明されるものも挙げられ、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【 0 1 8 3 】

I V . ポリヌクレオチド

特定の実施形態では、本発明は、ヒト F O L R 1 受容体に特異的に結合するポリペプチドまたはかかるポリペプチドの断片をコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドを包含する。例えば、本発明は、ヒト F O L R 1 に対する抗体をコードする、またはかかる抗体の断片をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドを提供する。本発明のポリヌクレオチドは、R N A の形態または D N A の形態であり得る。D N A は、c D N A 、ゲノム D N A 、および合成 D N A を含み、二重鎖または一本鎖であり得、また一本鎖である場合、コード鎖または非コード (アンチセンス) 鎖であり得る。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、1 つ以上の内因性イントロンを欠損する c D N A または D N A である。

30

【 0 1 8 4 】

幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、非自然発生ポリヌクレオチドである。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、組換え産生される。

【 0 1 8 5 】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、単離されている。特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、実質的に純粋である。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、天然成分から精製される。

【 0 1 8 6 】

本発明は、配列番号 1 ~ 4 0 からなる群から選択される配列を含む、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドを提供する。配列番号 1 ~ 4 0 に対して少なくとも約 9 5 % 、少なくとも約 9 6 % 、少なくとも約 9 7 % 、少なくとも約 9 8 % 、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも、提供される。

40

【 0 1 8 7 】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、例えば、宿主細胞からのポリペプチドの発現および分泌を助けるポリヌクレオチドに対して同一の読み枠内で融合された成熟ポリペプチドのためのコード配列を含む (例えば、細胞からのポリペプチドの移行を制御するための分泌配列として機能するリーダー配列) 。リーダー配列を有するポリペプチドは、プレタンパク質であり、成熟形態のポリペプチドを形成するために宿主細胞によって切断され

50

るリーダー配列を有することができる。ポリヌクレオチドはまた、追加の5'アミノ酸残基を伴う成熟タンパク質であるプロタンパク質をコードすることができる。プロ配列を有する成熟タンパク質は、プロタンパク質であり、タンパク質の不活性型である。一旦プロ配列が切断されると、活性成熟タンパク質が残る。

【0188】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、例えば、コードされたポリペプチドの精製を可能にするマーカー配列に、同一の読み枠内で有効された成熟ポリペプチドのためのコード配列を含む。例えば、マーカー配列は、細菌宿主の場合、マーカーに融合される成熟ポリペプチドの精製を提供するためのpQE-9ベクターによって供給されるヘキサ-ヒスチジンタグであり得、または哺乳類宿主（例えば、COS-7細胞）を用いる場合、マーカー配列は、インフルエンザ血球凝集素タンパク質に由来する血球凝集素（HA）タグであり得る。

10

【0189】

本発明はさらに、例えば、断片、類似体、および誘導体をコードする、上述のポリヌクレオチドの変異体に関する。

【0190】

ポリヌクレオチド変異体は、コード領域、非コード領域、またはその双方に変更を含有することができる。幾つかの実施形態では、ポリヌクレオチド変異体は、サイレント置換、付加、または欠失を生み出すがコードされるポリペプチドの特性または活性は変更しない、変更を含有する。幾つかの実施形態では、ヌクレオチド変異体は、遺伝子コードの縮重に起因するサイレント置換によって産生される。ポリヌクレオチド変異体は、種々の理由、例えば、特定の宿主に関するコドン発現を最適化するために産生され得る（ヒトmRNA内のコドンを、大腸菌等の細菌宿主によって好まれるものに変化させる）。

20

【0191】

本明細書に説明されるポリヌクレオチドを含むベクターおよび細胞も、提供される。

【0192】

V. 検出

サンドイッチELISAフォーマットを用いるとき、捕捉抗体は、標識されない。検出抗体は、直接標識されるか、または（過剰の検出抗体を洗浄して取り除いた後に）モル過剰の第2の、第1の抗体に対する標識抗体を添加することによって間接的に検出されるかのいずれかである。

30

【0193】

検出抗体に用いられる標識は、FOLR1抗体の結合と干渉しない任意の検出可能な機能性である。好適な標識の例は、蛍光色素標識、化学発光標識、および放射活性標識等の直接検出され得る部分、ならびに酵素等の検出されるために反応または誘導体化されなければならない部分を含む、免疫分析における使用に関して既知である多数の標識である。かかる標識の例としては、放射性同位体³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H、および¹³¹I、例えば、希土類キレートまたはフルオレセインおよびその誘導体等のフルオロフォア、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、例えば、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ（米国特許第4,737,456号）等のルシフェラーゼ、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、およびグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ等の糖質サッカリドオキシダーゼ、過酸化水素を採用して色素前駆体を酸化する酵素、例えば、HRP、ラクトペルオキシダーゼ、またはマイクロペルオキシダーゼとカップリングされた、ウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼ等の複素環式オキシダーゼ、ピオチン/アビジン、ピオチン/ストレプトアビジン、MUGを伴うピオチン/ストレプトアビジン- α -ガラクトシダーゼ、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定した遊離ラジカル等が挙げられる。上述の通り、蛍光定量的検出は、1つの例である。

40

50

【0194】

これらの標識をタンパク質またはポリペプチドに共有結合するために、従来の方法が利用可能である。例えば、ジアルデヒド、カルボジイミド、ジマレイミド、ビス-イミダート、ビス-ジアゾ化ベンジジン等のカップリング剤を用いて、上述の蛍光標識、化学発光標識、および酵素標識によって抗体にタグ付けすることができる。例えば、米国特許第3,940,475号(蛍光定量法)および同第3,645,090号(酵素); Hunter et al. Nature 144:945 (1962); David et al. Biochemistry 13:1014-1021 (1974); Pain et al. J. Immunol. Methods 40:219-230 (1981); ならびに Nygren J. Histochem. and Cytochem. 30:407-412 (1982)を参照されたい。特定の実施形態では、本明細書の標識は、増幅および感度を8 pg/mlまで増加させるために蛍光性であり、より好ましくは、シグナルを増幅するためのストレプトアビジン-ガラクトシダーゼおよびMUGを伴うビオチンである。特定の実施形態では、比色標識が用いられ、例えば、検出可能な抗体は、ビオチン化され、検出手段は、アビジンまたはストレプトアビジン-ペルオキシダーゼおよび3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンである。

10

【0195】

酵素を含む、抗体に対するかかる標識の共役は、免疫分析技術における通常の技術のうちの1つに関する標準的な操作手順である。例えば、Methods in Enzymology, ed. J. J. Langone and H. Van Vunakis, Vol. 73 (Academic Press, New York, N.Y., 1981), pp.147-166内のO'Sullivan et al. "Methods for the Preparation of Enzyme-antibody Conjugates for Use in Enzyme Immunoassay"を参照されたい。

20

【0196】

最終標識抗体の添加後、結合した抗体の量は、過剰の結合していない標識抗体を、洗浄を通して除去し、次に標識に適切な検出方法を用いて付着した標識の量を測定し、測定した量を、生物学的試料中の循環腫瘍細胞中の脱落FOLR1またはFOLR1の量と関連させることによって決定される。例えば、酵素の場合、発色および測定される色の量は、循環腫瘍細胞中に存在する脱落FOLR1またはFOLR1の量の直接測定値となる。具体的には、HRPが標識である場合、色は、450nm吸光度で基質3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンを用いて検出され得る。

30

【0197】

VI. 循環腫瘍細胞分析

本明細書に説明される抗FOLR1抗体は、循環腫瘍細胞分析におけるFOLR1の検出のために使用することもできる。循環腫瘍細胞(CTC)は、腫瘍から血管系へ脱落し、血流中を循環する細胞である。CTCは、極めて低い濃度で循環して存在する。概して、CTCは、当該技術分野において既知である種々の技術によって、患者の血液から富化される。CTCは、サイトメトリー(例えば、フローサイトメトリー)に基づく方法およびIHCに基づく方法を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において既知である方法を用いて染色されてもよい。CTCは、CTCを正常血液細胞から同定および識別することを可能にする腫瘍細胞に特有のタンパク質マーカーに関して染色されてもよい。CTCはまた、FR1-9およびFR1-13を含むがこれらに限定されない、本発明の抗体を用いて、FOLR1に関して染色されてもよい。CTC分析はまた、CTCの数および/またはFOLR1陽性CTCの数の定量分析を含んでもよい。本発明では、本明細書に説明されるFOLR1抗体は、癌を有する対象から単離されたCTCを染色して、CTC中に存在するFOLR1を測定するために用いられてもよい。FOLR1発現CTCの増加は、FOLR1に基づく療法に応答する可能性がある、癌を有する対象を同定するのに役立つことができ、またはFOLR1抗体もしくは免疫共役体を用いた治療計画の最適化

40

50

を可能にすることができる。CTC FOLR1の定量化は、腫瘍の病期、療法に対する応答、および/または疾患進行に関する情報を提供することができる。これは、予後的、予測的、または薬力学的バイオマーカーとして用いることができる。それに加えて、FOLR1を含むがこれに限定されない特定のマーカーに関してCTCを染色することは、単独でか、または固体生検試料の追加の腫瘍マーカー分析と組み合わせてかのいずれかで、液体生検として用いることができる。

【0198】

VII. キット

便宜上、本発明の分析方法は、キットの形式で提供することができる。かかるキットは、(a) 捕捉試薬であり得、ヒトFOLR1に対するモノクローナル抗体からなる第1の試薬、および/または(b) 検出試薬である第2の試薬の基本的な要素を含む、パッケージ化された組み合わせである。検出試薬はまた、FOLR1モノクローナル抗体を含むこともできるが、FOLR1に結合する検出可能な(標識または非標識)抗体を含むこともできる。これらの基本的な要素は、上記において、および下記の実施例において定義される。

10

【0199】

第1の試薬および第2の試薬が、FOLR1に結合する抗体、その抗原結合断片、またはポリエチデである一実施形態では、第1および第2の試薬は、異なる抗体、その抗原結合断片、またはポリエチデである。一実施形態では、第1の試薬は、第2のFOLR1試薬とは異なるFOLR1エピトープに結合する。一実施形態では、第1の試薬および第2の試薬のどちらも、活性剤(例えば、huMOV19抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤)の結合がFOLR1に結合することを競合的に阻害しない。

20

【0200】

一実施形態では、キットは、捕捉試薬のための固体支持体を更に含み、該固体支持体は、別個の要素として提供されることができ、またはその上に捕捉試薬が既に固定されている。したがって、キット内の捕捉抗体は、固体支持体上に固定され得るか、または、キットと共に含まれる、もしくはキットとは別個に提供される支持体上に固定され得る。

【0201】

一実施形態では、捕捉試薬は、マイクロタイプレート上にコーティングされる。検出試薬は、直接検出される標識抗体、または異なる種において育成された非標識抗体に対する標識抗体によって検出される非標識抗体であり得る。標識が酵素である場合、キットは通常、酵素によって必要とされる基質および補因子を含み、標識がフルオロフォアである場合、検出可能な発色団を提供する染料前駆体を含む。検出試薬が標識されない場合、キットは、例えば、蛍光定量的に検出されたフォーマットにおける、非標識抗体に対する標識抗体等の検出可能な抗体のために検出手段を、さらに含むことができる。標識が酵素である場合、キットは通常、酵素によって必要とされる基質および補因子を含み、標識がフルオロフォアである場合、検出可能な発色団を提供する染料前駆体を含み、また標識がビオチンである場合、MUGと共にHRPまたは -ガラクトシダーゼに共役されるアビジン、例えば、アビジン、ストレプトアビジン、またはストレプトアビジン等を含む。

30

【0202】

一実施形態では、捕捉試薬は、FOLR1抗体FR1-9であり、検出試薬は、FOLR1抗体FR1-13である。別の実施形態では、FR1-13は、ビオチン化される。

40

【0203】

キットはまた、典型的には、分析を実行するための手引き、ならびに/または抗原標準としてFOLR1タンパク質もしくはその断片(例えば、FOLR1細胞外ドメインもしくはFOLR1細胞外ドメイン、およびGPI結合ドメインの全部もしくは一部)、ならびに他の添加物、例えば、安定剤、洗浄および定温放置緩衝液等を含む。一実施形態では、FOLR1抗原標準は、FOLR1-Fcイムノアドヘシンである。キットはまた、FOLR1発現の検出およびスコア化のための手引きを含むこともできる。

【0204】

50

キットの構成要素は、分析の感度を実質的に最大化する試薬溶液の濃度を提供するために好適に変化された種々の試薬の相対量を用いた、所定の比率で提供される。具体的には、試薬は、溶解すると、試験されるべき試料との組み合わせに適切な濃度を有する試薬溶液を提供する賦形剤を含む、通常は凍結乾燥された、乾燥粉末として提供され得る。

【0205】

本開示の実施形態では、本開示の特定の抗体の調製および本開示の抗体を用いるための方法を詳細に説明する以下の非限定的実施例への参照によって、さらに定義され得る。多数の修正が、材料および方法の双方に対して、本開示の範囲から逸脱することなく行われ得ることは、当業者に明らかである。

【実施例】

【0206】

本明細書で説明される実施例および実施形態は、例証のみを目的としており、これらを考慮して、種々の修正および変更が当業者に提案され、本出願の精神および範囲に含まれることが理解される。

【0207】

実施例 1

マウス抗 FOLR1 抗体の開発

2つの異なる免疫付与/スクリーニングシリーズが存在した。第1のシリーズでは、マウスを、約 5×10^6 の FOLR1 発現 KB 細胞 (American Tissue Culture Collection, ATCC CCL-17) を用いて皮下に免疫付与した。第2のシリーズでは、表面にヒト FOLR1 を発現する 300-19 細胞を用いて、マウスに免疫付与した。これらの細胞を作製するために、ヒト FOLR1 アミノ酸配列を、NCBI ウェブサイト (受託番号 NP_057937) から得て、次に Blue Heron biotechnologies によって、コドン最適化し、pSRa 哺乳類発現ベクターへのクローン化を促進するように両側に EcoRI および XbaI 制限部位を隣接させて合成した。Balb/c マウスに由来するプレB細胞株、300-19 細胞 (Reth et al., Nature, 317:353-355 (1985)) を、高レベルのヒト FOLR1 を細胞表面上に安定して発現するように、pSRa-FOLR1 発現プラスミドで形質移入した。当業者に既知である標準的な免疫付与プロトコル、例えば、ImmunoGen, Inc. にて用いられるものを、両シリーズに適用した。免疫付与されたマウスを、ハイブリドーマ生成のために屠殺する前に、抗原を用いて3日間ブーストした。マウスの脾臓を、例えば、2つの無菌顕微鏡曇りスライドガラスの間で組織をすり潰して、RPMI-1640 培地中に単一細胞懸濁液を得ること等の標準的な動物プロトコルに従って収集した。脾臓細胞を、遠心分離し、ペレット化し、洗浄し、ポリエチレングリコール-1500 (Roche 783 641) を用いて、例えば、P3X63Ag8.653 細胞 (Kearney et al., J. Immunol., 123:1548-1550 (1979)) 等のマウス骨髄腫と融合させた。融合させた細胞を、ヒポキサンチン-アミノプテリン-チミジン (HAT) (Sigma H-0262) を含有する RPMI-1640 選択培地内で再懸濁し、5% CO₂、37 °C で 96 ウェル平底培養プレート (Corning-Costar 3596、1 ウェルあたり 0.2 ml の細胞懸濁液) 内で成長に関して選択した。5日間の定温放置後、0.1 ml の培養上清を各ウェルから取り除き、ヒポキサンチン-チミジン (HT) 補充物 (Sigma H-0137) を含有する 0.1 ml の RPMI-1640 培地と置き換えた。ハイブリドーマクローンが抗体スクリーニングに対して準備が整うまで、5% CO₂、37 °C での定温放置を継続した。他の免疫付与およびハイブリドーマ産生技術を用いることもでき、例えば、Langone et al. (Eds., "Immunochemical Techniques, Part I", Methods in Enzymology, Academic Press, volume 121, Florida) および Harlow et al. ("Antibodies: A Laboratory Manual"; Cold Spring Ha

10

20

30

40

50

rbor Laboratory Press, New York (1988)) に説明されるものが挙げられる。

【0208】

実験例2

ハイブリドーマスクリーニングおよび選択

ヒトFOLR1で形質移入したFOLR1-300-19細胞およびKB細胞を、第1および第2のスクリーニングシリーズにおいて対応させて用いた。ハイブリドーマからの培養上清を、FOLR1発現300-19細胞またはKB細胞等のFOLR1陽性細胞には結合するが、非形質導入300-19細胞等のFOLR1陰性細胞には結合しないマウスモノクローナル抗体の分泌に関してフローサイトメトリーによってスクリーニングした。0.1mlのハイブリドーマ上清を、FOLR1陽性細胞かまたは非形質導入300-19細胞(一試料あたり 1×10^5 細胞)かのいずれかと共に、0.1mlのFACS緩衝液(2%の正常ヤギ血清を補充したRPMI-1640培地)中で3時間定温放置した。次に、細胞を、遠心分離し、ペレット化し、洗浄し、0.1mlのPE共役ヤギ抗マウスIgG-抗体(例えば、Jackson Laboratoryから得られるもの、FACS緩衝液中 $6 \mu\text{g/ml}$)と共に1時間定温放置した。細胞を、遠心分離し、再びペレット化し、FACS緩衝液で洗浄し、1%のホルムアルデヒドを含有する0.2mlのPBS中で再懸濁した。細胞関連蛍光を、HTSマルチウエルサンプラーを有するFACS CaliburフローサイトメーターまたはFACS arrayフローサイトメーターを用いて測定し、Cell Quest Pro(全て、BD Biosciences, San Diego, 米国)を用いて分析した。陽性ハイブリドーマクローンを、限界希釈法を用いてサブクローン化した。フローサイトメトリーによってFOLR1に対して親細胞と同一の反応性を示した各ハイブリドーマに由来する1つのクローンを、その後の分析のために選択した。安定したサブクローンを、培養し、分泌された各抗FOLR1抗体のアイソタイプを、商業用アイソタイプ試薬(Roche 1493027)を用いて同定した。マウス抗体は、上述の通り除去されたハイブリドーマ培地から精製されたタンパク質Aであった。これらの抗体は、指定のFR-1抗体であった。

【0209】

1つのクローン、muFR1-13が、(1)同一抗原へのMov19の結合を同時に競争または妨害しない、および(2)一般的なフローサイトメトリー技術によって実証するとき、標的に対する高い結合特異性を有する(図2Aおよび2B)、抗FOLR1クローンとして同定された。これらの2つの特徴は、この分析の開発に必要であり、したがってクローンmuFR1-13を、分析における使用のために選択した。

【0210】

残りの64個の抗FOLR1クローンパネルから、muFR1-13に求められるものと同じの基準を保持する第2の抗体が、分析のために必要とされた。それに加えて、第2の抗体は、同一抗原へのmuFR1-13の結合を同時に競争または妨害することはできなかった(即ち、Mov19、muFR1-13、および最終クローンは、全て明確に別個のエピトープを有さなければならない)。これらの条件を満たすために、一連の競合ELISA実験を、65個の抗葉酸クローンの残りのパネルに実施した(図3A)。抗体が、検出されている抗体と同一または立体的に類似したエピトープを共有する場合、シグナルの低減が観察される(図3B)。この方法を用いて、試験した64個の抗体のうち5個が、Mov19と競争するエピトープを有すると同定され、したがって以後の考察から取り除いた。

【0211】

同一の方法を繰り返して、Mov19共役ビオチンをmuFR1-13共役ビオチンで置換した(図4)。この方法を用いて、6個の追加のクローンを、muFR1-13と競争するエピトープを有すると同定され、したがって以後の考察から取り除いた。残りの53個のクローンのうち、さらに13個のクローンを、不良な親和性を有することが示され、考察から取り除かれた。

10

20

30

40

50

【0212】

残りの40個のクローンを、図1に示されるものと同様のELISAフォーマットを用いてスクリーニングした。40個のクローンを、図中のmuFR1-9の代わりに分析プレート上にコーティングし、得られた結合曲線を分析し、図5に示した。最も低い最大半量応答(EC50)を含有した抗体は、FOLR1に対する最も高い結合特性を有すると考えられ、したがって分析のための上位候補として選択された。新規のより高品質な材料が試験のために利用可能であったので、この方法で分析した上位4個のクローンの結合親和性は、約 $1 \sim 5 \times 10^{-9}$ Mの範囲にわたった。

【0213】

実施例3

マウスモノクローナル抗体精製

抗体を、標準的な方法、例えば、タンパク質AまたはGクロマトグラフィー(HiTrap Protein AまたはG HP、1 mL、Amersham Biosciences)を用いて、ハイブリドーマサブクローン上清から精製した。手短に述べると、上清を、1/10体積の1 M Tris/HCl緩衝液、pH 8.0の添加によって、クロマトグラフィー用に調製した。pH調整した上清を、0.22 µm濾過膜を通して濾過し、結合緩衝液(PBS、pH 7.3)と平衡化したカラム上に配置した。280 nmにて吸光度を有さない安定したベースラインが得られるまで、カラムを、結合緩衝液で洗浄した。抗体を、pH 2.8、0.15 MのNaClを含有する0.1 Mの酢酸緩衝液と共に、0.5 mL/分の流速を用いて溶出させた。約0.25 mLの画分を収集し、1/10体積の1 M Tris/HCl、pH 8.0の添加によって中和した。ピーク画分(単数または複数)を、1 x PBSに対して2回、一晚透析し、0.2 µm濾過膜を通して濾過することによって滅菌した。精製した抗体を、A₂₈₀にて吸光度によって定量化した。

【0214】

実施例4

フローサイトメトリーによる結合特徴評価

結合特異性を、精製した抗体を用いてフローサイトメトリーによって試験した。各抗体を、FOLR1発現300-19細胞か、または非形質導入300-19細胞(一試料あたり 1×10^5 細胞)かのいずれかと共に、0.1 mLのFACS緩衝液(2%の正常ヤギ血清を補充したRPMI-1640培地)中で3時間定温放置した。次に、細胞を、ペレット化し、洗浄し、0.1 mLのFITC共役ヤギ抗マウスIgG-抗体(例えば、Jackson Laboratoryから得られるもの、FACS緩衝液中6 µg/mL)と共に1時間定温放置した。細胞を、再びペレット化し、FACS緩衝液で洗浄し、1%のホルムアルデヒドを含有する200 µLのPBS中で再懸濁した。試料を、HTSマルチウエルサンプラーを有するFACSCaliburフローサイトメーターまたはFACS arrayフローサイトメーターを用いて獲得し、CellQuest Pro(全て、BD Biosciences, San Diego, 米国)を用いて分析した。抗FOLR1抗体のFACSヒストグラムは、蛍光シフトを示し、それに対して親300-19細胞は示さなかった。同様に、細胞株のどちらかのみを単独でFITC共役ヤギ抗ヒトIgG-抗体と共に定温放置したとき、著しい蛍光シフトは検出されなかった。

【0215】

実施例5

muFR1-9およびFR1-53のVLおよびVH領域のクローン化および配列決定
全ての細胞RNAは、RNeasyキット(QIAGEN)を用いて、製造者プロトコルに従って 5×10^6 ハイブリドーマ細胞から調製した。その後、cDNAを、SuperScript II cDNA合成キット(Invitrogen)を用いて全RNAから合成した。ハイブリドーマ細胞に由来するcDNAにおける第1ラウンド縮重PCR反応に関する手順は、Wang et al. (2000) J Immunol Methods, Jan 13; 233(1-2): 167-77およびCoet al. (1992) J Immunol, Feb 15; 148(4): 1149-

10

20

30

40

50

54に説明される方法に基づいた。VH配列を、以下の縮重プライマーを用いてPCRによって増幅した：EcoMH1 CTTCCGGAATTCSARGTNMAGCTGSAGSAGTC(配列番号45)、EcoMH2 CTTCCGGAATTCSARGTNMAGCTGSAGSAGTCWGG(配列番号41)、およびBamIGG1 GGAGGATCCATAGACAGATGGGGGTGTCGTTTTTGGC(配列番号42)。VL配列を、以下の縮重プライマーを用いてPCRによって増幅した：SacIMK GGAGCTCGAYATTGTGMTSACMCARWCTMCA(配列番号43)およびHindKL TATAGAGCTCAAGCTTGGATGGTGGGAAGATGGATACAGTTGGTGC(配列番号44)。(混合基は、以下の通り定義される：N=G+A+T+C、S=G+C、Y=C+T、M=A+C、R=A+G、W=A+T)。

【0216】

次に、PCR反応混合物を、1%の低融点アガロースゲル上で走らせ、300~400bpバンドを切り取り、Zymo DNAMinicolumnを用いて精製し、配列決定のためにAgencourt Biosciencesに送った。それぞれの5'および3'PCRプライマーを配列決定プライマーとして用いて、双方向から可変領域cDNAを配列決定した。VectorNTIソフトウェアを用いてDNA配列決定結果を翻訳することによって、VHおよびVL領域のアミノ酸配列を得た。

【0217】

予備可変領域cDNA配列は、マウス抗体mRNAよりもむしろ縮重PCRプライマーに由来する5'末端配列を含み、したがってマウス抗体生殖系列配列との配列比較は、これらの配列決定アーチファクトの同定および除去を促進した。NCBI IgBlast site(www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)を利用して、予備抗体cDNA配列が由来するマウス生殖系列配列を検索し、5'末端配列を導き出したプライマーを、対応する生殖系列配列と置き換えた。次に、雑音を取り除いた可変領域配列を、マウスカッパおよびIgG1定常領域(それぞれ、受託番号AJ294736.1およびD78344.1)に関するNCBI基準配列と組み合わせて、予想される全長マウス抗体配列を組み立てた。次に、予想されるマウスFR1-9およびFR1-53の軽鎖および重鎖の分子量を算出し、液体クロマトグラフィー/質量分光光度分析(LC/MS)によって測定した質量と比較した。

【0218】

上述の方法の後、マウスFR1-9軽鎖を配列決定するための初期の努力は不成功であることが判明し、したがって代替的方法を採用した。FR1-9に関連するハイブリドーマの軽鎖配列を用いて、FR1-9軽鎖フレームワークの推定リーダー配列をアニールするためのKS77LCLead PCRプライマー(ttttgagctctggattccagcctccagagggt)を設計した。このリーダープライマーPCR反応および配列決定を、上述の通り実施し、LC/MSによって測定したFR1-9軽鎖質量に合致する軽鎖をコードする完全なcDNA配列を得た。

【0219】

実施例6

FOLR1 Fc融合制御試料

ヒト葉酸受容体1 Fc融合分子を、典型的には人乳に由来するヒト葉酸結合タンパク質に対する代替的な可溶性抗原供給源として構築した。上述の免疫付与実施例に説明されるヒトFOLR1 cDNAのアミノ末端を、EcoRIおよびPst1制限消化物を用いて全長配列から切り取った。この断片は、N末端シグナルペプチドからhuFolR1(NCBI受託番号NM_016731.2)のGPI結合部位の直ぐ上流の残基までの233個のアミノ酸をコードするcDNAを含有した。BamHIオリゴヌクレオチドリンカーに対するPst1は、pmuFc2ANL-EK哺乳類発現プラスミドにおいて、マウスIgG2AHンジ、CH2、およびCH3抗体定常領域配列(NCBI受託番号P01863)を用いたインフレームのFolR1断片のクローン化を促進した。次に、ヒト

10

20

30

40

50

F O L R 1 - F c 融合タンパク質を、H E K - 2 9 3 T または C H O 細胞等の哺乳類宿主細胞株における一過性または安定形質導入によって発現させた。4 7 5 アミノ酸融合タンパク質は、マウス I g G 2 A 定常領域を含有するため、分子は、上述の標準マウス抗体精製手順後に精製した。

【 0 2 2 0 】

実施例 7

脱落抗原 E L I S A 分析

材料が、予想通りに継続して機能していることを確認するために、全抗体を、当該技術分野において既知である E L I S A およびフローサイトメトリー法の双方によって結合に関してスクリーニングした。フローサイトメトリーは、当該技術分野において基地であるインビトロ細胞培養技術を用いて培養した F O L R 1 発現ヒト T 4 7 D 細胞を用いて実施した。抗体を、これらの細胞に結合させ、F A C S c a l i b u r m a c h i n e 上でヤギ抗マウス A l e x a - f l u o r 4 8 8 検出抗体を用いて間接的に検出した(図 6 A - B)。同一の方法を他の抗体に適用し、最終的な選択された抗体 F R 1 - 1 3 および F R 1 - 9 は、両方法によってそれぞれ約 $1 - 3 \times 10^{-9}$ M および $2 - 4 \times 10^{-9}$ の結合親和性を示すことが決定された。

10

【 0 2 2 1 】

M o v 1 9 は F O L R 1 のみに特異的であるため、分析が、F O L R 1 のみを検出し、F O L R 2、または特に F O L R 3 (一般的に、ヒト血漿中に脱落タンパク質として見出される)は検出しないことは、重要である。これを決定するために、上位 4 個のクローンを、市販の E L I S A キットを用いてスクリーニングした(図 7 A ~ B)。陽性対照検出抗体は、バックグラウンドを上回る陽性シグナルを示し、F O L R 2 または F O L R 3 の検出を示唆している。残りの抗体(F R 1 - 9、F R 1 - 5 3、F R 1 - 6 2、F R 1 - 6 4、および M o v 1 9)は、分析にてシグナルを産生せず、したがって F O L R 2 または F O L R 3 に結合しない。

20

【 0 2 2 2 】

それに加えて、F O L R 1 に結合した葉酸の存在は、選択された抗体のエピトープを潜在的に覆い隠した可能性があった。分析が、ヒト血液中の生理量の葉酸中の F O L R 1 を検出することを確認するために、葉酸を、F O L R 1 標準精製タンパク質と共に予め定温放置し、分析プレートに添加した。図 8 に示される通り、葉酸の存在は、葉酸を含有しない陽性対照と比較して、分析の検出親和性にほとんど影響を及ぼさなかった。したがって、分析は、結合した葉酸の存在下であってさえも、F O L R 1 を検出し得ることが結論付けられた。

30

【 0 2 2 3 】

上位 4 個の抗体クローン(F R 1 - 9、5 3、6 2、または 6 4)のうちのいずれも、M o v 1 9 または F R 1 - 1 3 の結合との干渉を示さなかったため、また F O L R 2、F O L R 3、または葉酸の存在下で、不都合な結合特性が観察されなかったため、元の 6 4 個のクローンのうち、これら 4 個の候補が、分析における使用のために実行可能であった。これらの 4 個のクローンのうち、クローン F R 1 - 9 および F R 1 - 5 3 は、F R 1 - 6 2 および F R 1 - 6 4 と比較してより高い結合親和性を有することが決定された。F R 1 - 5 3 抗体の、その親ハイブリドーマからの産生は、一貫してより不良な生産量を生じ、したがってクローン F R 1 - 9 を、その抗体産生の容易さ、より高い抗体純度およびモノマー割合を理由として選択した。

40

【 0 2 2 4 】

分析を最適化するために、F R 1 - 9、ビオチン化 F R 1 - 1 3、S t r p - H R P の濃度、およびそれぞれの定温放置時間を、F O L R 1 - F c 融合タンパク質を抗原標準として用いて最適化する体系的なアプローチが用いられた。F O L R 1 - F c 融合は、h u F O L R 1 とマウス I g G 2 A ヒンジ、C H 2、C H 3 との融合ペプチドである。最適化された条件を確立するための基準は、ノイズ比に対する高シグナルを伴う再現可能なシグナル、ヒト血漿試料における最少のマトリックス効果、高い反復性および精度、ならびに最

50

低の検出限界であった。

【0225】

より具体的には、分析は、分析プレートを $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の $\mu\text{FR}1-9$ を用いてコーティングし、定温放置することによって実施された。非特異タンパク質による遮断後、試料（抗原標準およびヒト血漿試料を含む）を分析プレートに添加して、定温放置した。次に、プレートを洗浄し、 $\mu\text{FR}1-13\text{b}$ 検出抗体（ $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）を、各ウエルに添加した。モル過剰のストレプトアビジン共役西洋ワサビペルオキシダーゼ（ $1:5, 000$ ）を添加する前に、プレートを再び洗浄した。 $3, 3', 5, 5'$ -テトラメチルベンジジン（TMB）を添加する前に、プレートを再び洗浄した。TMBは、ペルオキシダーゼと反応して、試料中に存在するFOLR1の量に応じた強度で、青色を形成した。反応を、酸含有溶液を用いて停止し、それは、次に黄色に変化した。次に、分析をspectramaxプレートリーダー上で読み取り、各試料の色反応の強度（吸光度）を決定した。必要に応じて、S状用量応答（可変スロープ）曲線を、全ての希釈シリーズに関して、4PL等式： $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC}50 - X) * \text{Hill Slope}})$ を用いて、Graphpad Prism v5.04ソフトウェアを用いて生成した。

10

【0226】

最終的なELISAフォーマットの妥当性を決定するために、ヒト卵巣癌患者の血漿および非腫瘍由来のヒト腹水試料を試験した。腹水を有する非担腫瘍患者において、FOLR1の存在に関して15個の試料を分析した。全ての15個の試料において、FOLR1は、分析によって検出されず、マトリックス効果のため偽陽性は観察されなかった（図9）。別法として、これらの腹水試料は、その中に添加された精製されたヒトFOLR1タンパク質を有し、その後の検出が実施された。このアッセイによって決定されたFOLR1タンパク質の回収は、既知の追加量（図示されず）の85%を上回った。従って、非腫瘍関連ヒト腹水中には、試料の希釈を伴わない場合でさえも、干渉タンパク質は存在しないことが仮定された。

20

【0227】

同一の分析を、プールした正常ヒト血漿において実施した（プールは、1ロットあたり $n = 10$ 患者であった）。分析によって、内因性FOLR1は検出されず、また干渉タンパク質は、精製された $\text{huFOLR}1-\text{Fc}$ タンパク質が添加されたヒト血漿の非希釈試料中に発見されなかった（図10）。ヒト卵巣癌血漿の試料は、Dana Farber Cancer InstituteまたはMass General Hospitalによって提供された。今日までに分析した72個の試料のうち、7個の試料が、 $0.7 \sim 30.6 \text{ nM}$ の範囲の検出可能なレベルのFOLR1を有するとして同定された。このデータの代表的な分析は、11に示される。ここで、8個の試料のうちの3個は、検出可能なレベルのFOLR1を含有し、試料PB105、PB106、およびPB109に関して、それぞれ 0.74 、 0.91 、および 30.6 nM を示した。 $\text{huFOLR}1-\text{Fc}$ を用いて生成された、関連する標準曲線からのこのデータの補間のための方法は、図12に示される。

30

【0228】

実施例 8

循環腫瘍細胞分析

種々のレベルのFOLR1発現を有する3個の細胞株を、高発現（KB）、低発現（OVCAR3）、および発現無し（A549）の代表として選択した。非標識FR1-9およびFR1-13、ならびに商業用の抗FOLR1抗体（「商業用FRA」）を滴定し、抗体の各々に関して、選択された細胞株においてレーザー走査サイトメトリー（LSC）検出を用いて最適滴定を決定した。蛍光を、平均蛍光強度（MFI）として測定し、図13に示す。全ての3個の抗体は、KB細胞中に葉酸受容体の発現を示した。最適希釈は、各抗体に関して次の通りに同定された：商業用FRAに関して $1:5$ 、 $\mu\text{FR}1-9$ に関して $1:100$ 、および $\mu\text{FR}1-13$ に関して $1:200$ 。試験した抗体のうち、商

40

50

業用抗体は、バックグラウンド割当量に対して最良のシグナルを付与した（8.0対4.07（ μ FR1-9）および4.19（ μ FR1-13））が、 μ FR1-9だけは、OVCAR3細胞においてシグナルを示した（A549細胞よりも約30%多いシグナル）。図14を参照されたい。

【0229】

IMG N 8 5 3を用いた治療または有効性の監視を含む適用のために、CTC分析における使用のために選択される抗体は、FOLR1への結合に関して、IMG N 8 5 3の抗体成分（即ち、 μ FR1-9（M9346A））と競争すべきではない。抗体のうちのいずれかが、FOLR1への結合に関してIMG N 8 5 3と競争するかを決定するために、競合分析を実施した。これらの分析のために、A549（陰性）およびKB（高発現体（high expressor））細胞を、M9346A抗体、またはビヒクル単独と共に処理した。次に、細胞を洗浄し、3個の抗体の各々を用いて染色し、LSCを用いて発現を分析した。結果は、図15に提供される。薄いバー（左）は、ビヒクル単独を表し、濃いバー（右）は、IMG N 8 5 3処理細胞を表す。治療用IMG N 8 5 3との競合が存在する場合、KB細胞において、濃いバー（右）は、薄いバー（左）よりも低くなる。図15の結果は、商業用FRA抗体は、結合に関してIMG N 8 5 3と競争し（FRAシグナルにおいて約66%降下）、一方、 μ FR1-9および μ FR1-13抗体は、IMG N 8 5 3治療によって影響を受けないことを示す。

10

【0230】

総じて、これらの結果は、 μ FR1-9および μ FR1-13は、IMG N 8 5 3と競争しておらず、したがって、これらは、IMG N 8 5 3を用いた治療後に、体液（例えば、血液または血漿）、循環腫瘍細胞、または組織試料中のFOLR1レベルを監視する分析における使用のための、より望ましい候補となることを実証する。それに加えて、 μ FR1-9は、より感受性が高く、低レベルの発現を有するOVCAR3細胞中の発現を検出する特有の能力を実証しており、これらの種類の分析のための好ましい候補抗体である。

20

【0231】

実施例9

NSCLCおよび卵巣癌患者から単離された循環腫瘍細胞（CTC）中のFOLR1の検出

30

血液試料を、以下の時点において、卵巣癌またはNSCLC癌患者から採血する：スクリーニング（ベースラインの最大28日前）、ベースライン、サイクル3の前、およびサイクル4終了時。CTCを、試料から富化し、上述の実施例8に説明される抗体および希釈を用いてCK、CD45、核、およびFOLR1に関して染色する。CTCの数（即ち、CK+/CD45-有核細胞）、CK-/CD45-有核細胞の数、CTC中のFOLR1の発現、CK-/CD45-有核細胞の数、ならびにFOLR1陽性CTCおよびCK-/CD45-有核細胞の割合を、各試料に関してLSCによって決定する。このデータは、IMG N 8 5 3に関する第一相臨床試験中の種々の時点におけるCTC中のFOLR1発現レベルを決定するために用いられる。

40

【0232】

本明細書に引用される全ての刊行物、特許、特許出願、インターネットサイト、および受託番号/データベースの配列（ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列の両方を含む）は、各々の個々の刊行物、特許、特許出願、インターネットサイト、または受託番号/データベースの配列が、個別に、参照により組み込まれるのと同程度に、あらゆる目的で、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

本発明は以下の項目も提供する。

（項目1）

葉酸受容体1（FOLR1）媒介疾患を有する患者を治療する方法であって、

- （a） 患者から採取した試料中の脱落FOLR1タンパク質レベルを測定することと、
- （b） 前記患者の脱落FOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベ

50

ルと比較して上昇している場合に、前記患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、
前記活性剤は、前記疾患または障害を効果的に治療する、方法。

(項目2)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) 前記活性剤のF O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、前記患者の脱落F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の脱落F O L R 1 タンパク質レベルが、基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含み、

前記患者の脱落F O L R 1 レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。

(項目3)

患者におけるF O L R 1 タンパク質を減少させる方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の前記脱落F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(b) 前記患者の脱落F O L R 1 タンパク質レベルが、基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、

前記活性剤の前記投与は、前記患者における脱落F O L R 1 レベルを減少させる、方法。

(項目4)

患者におけるF O L R 1 タンパク質を減少させる方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) 前記活性剤のF O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、患者の脱落F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の脱落F O L R 1 タンパク質レベルが、基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含み、

前記活性剤の前記投与は、前記患者における脱落F O L R 1 レベルを減少させる、方法。

(項目5)

葉酸受容体1 (F O L R 1) 媒介疾患を有する患者における、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者における第1の脱落F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(b) 前記患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(c) 活性剤投与後に、前記患者における第2の脱落F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(d) 前記第2の脱落F O L R 1 タンパク質レベルを前記第1の脱落F O L R 1 タンパク質レベルと比較することと、を含み、

前記第1および第2の脱落F O L R 1 レベルは、前記活性剤のF O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体または抗原結合断片を用いて測定され、

前記第1および第2の脱落F O L R 1 レベルの間の減少は、治療有効性を示す、方法。

(項目6)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

10

20

30

40

50

(b) 脱落 F O L R 1 タンパク質レベルの測定のために、前記患者から採取した試料を提出することと、

(c) 前記測定の結果から、前記患者の脱落 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、

(d) 前記患者の脱落 F O L R 1 タンパク質レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含み、

前記脱落 F O L R 1 レベルは、前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、方法。

(項目 7)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) 脱落 F O L R 1 タンパク質レベルの測定および基準 F O L R 1 タンパク質レベルとの比較のために、前記患者から採取した試料を提出することと、

(c) 前記患者の脱落 F O L R 1 タンパク質レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含み、

前記患者の前記脱落 F O L R 1 レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。

(項目 8)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることであって、前記患者は、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を受けている、得ることと、

(b) 前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、前記試料から脱落 F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の脱落 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、

(d) 前記患者の脱落 F O L R 1 タンパク質レベルが上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、

前記患者の前記脱落 F O L R 1 タンパク質レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。

(項目 9)

F O L R 1 媒介疾患を有する患者を治療する方法であって、

(a) 患者から採取した循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(b) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、

前記活性剤は、前記疾患または障害を効果的に治療する、方法。

(項目 10)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) 前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、循環腫瘍細胞中の患者の F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含み、

前記患者の循環腫瘍細胞中の F O L R 1 レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。

(項目 11)

患者における F O L R 1 タンパク質を減少させる方法であって、

10

20

30

40

50

(a) 抗体またはその抗原結合断片を用いて、F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者から採取した循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、
 (b) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、を含み、
 前記活性剤の前記投与は、前記患者における F O L R 1 レベルを減少させる、方法。

(項目 1 2)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者における F O L R 1 タンパク質を減少させる方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) 前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、循環腫瘍細胞中の患者の F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させることと、を含み、

前記活性剤の前記投与は、前記患者における F O L R 1 レベルを減少させる、方法。

(項目 1 3)

患者における F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者から採取した試料中の患者の循環腫瘍細胞中の第 1 の F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(b) 前記患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(c) 活性剤投与後に、前記患者から採取した患者の循環腫瘍細胞中の第 2 の F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(d) 前記第 2 の F O L R 1 タンパク質レベルを前記第 1 の F O L R 1 タンパク質レベルと比較することと、を含み、

前記第 1 および第 2 の F O L R 1 レベルは、前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体または抗原結合断片を用いて測定され、

前記第 1 および第 2 の F O L R 1 レベルの間の減少は、治療有効性を示す、方法。

(項目 1 4)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) F O L R 1 タンパク質レベルの測定のために、前記患者から採取した循環腫瘍細胞の試料を提出することと、

(c) 前記測定の結果から、前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、

(d) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、前記基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含み、

前記 F O L R 1 レベルは、前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、方法。

(項目 1 5)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を投与することと、

(b) 脱落 F O L R 1 タンパク質レベルの測定および基準 F O L R 1 タンパク質レベルとの比較のために、前記患者から採取した循環腫瘍細胞の試料を提出することと、

10

20

30

40

50

(c) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、前記基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および / または頻度を増加させることと、を含み、

前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
(項目 16)

F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者を治療する方法であって、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者から循環腫瘍細胞の試料を得ることであって、前記患者は、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を受けている、得ることと、

(b) 前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体またはその抗原結合断片を用いて、前記試料から F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、

(d) 前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 タンパク質レベルが、前記基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含み、

前記患者の循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 レベルの減少は、治療有効性を示す、方法。
(項目 17)

前記脱落 F O L R 1 は、前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、項目 1 または 3 に記載の方法。

(項目 18)

循環腫瘍細胞中の前記 F O L R 1 は、前記活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体を用いて測定される、項目 9 または 11 に記載の方法。

(項目 19)

前記患者の脱落 F O L R 1 タンパク質レベルまたは前記患者の循環腫瘍細胞の F O L R 1 レベルは、試料または前記患者から得られた試料において検出される、項目 2、4、5、10、12、または 13 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 20)

前記測定された F O L R 1 タンパク質レベルは、体液において測定され、かつ / または前記試料は、体液試料である、項目 1、3、6 ~ 9、11、または 14 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 21)

前記体液は、腹水である、項目 20 に記載の方法。

(項目 22)

前記体液は、血清、血液、または血漿である、項目 20 に記載の方法。

(項目 23)

前記測定された F O L R 1 タンパク質レベルは、末梢血液試料において測定され、かつ / または前記試料は、末梢血液試料である、項目 1、3、6 ~ 9、11、または 14 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 24)

前記患者は、癌を有する、項目 1 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 25)

前記 F O L R 1 媒介疾患または障害は、癌である、項目 1 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 26)

前記癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される F O L R 1 上昇癌である、項目 24 または 25 に記載の方法。

(項目 27)

10

20

30

40

50

前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目 26 に記載の方法。

(項目 28)

前記肺癌は、非小細胞肺癌 (NSCLC) である、項目 26 に記載の方法。

(項目 29)

前記癌は、子宮内膜癌である、項目 26 に記載の方法。

(項目 30)

FOLR1 タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、再表面化 (resurfaced) 抗体、もしくはヒト抗体、またはこれらの抗原結合断片である、項目 2、4~8、10、または 12~29 のいずれか一項に記載の方法。

10

(項目 31)

FOLR1 タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、約 1.0 nM ~ 約 10 nM の Kd を有するヒト葉酸受容体 1 に結合する、項目 2、4~8、10、または 12~30 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 32)

FOLR1 タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、約 0.5 nM ~ 約 5 nM の Kd を有するヒト葉酸受容体 1 に結合する、項目 2、4~8、10、または 12~30 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 33)

前記結合親和性は、サイトメトリー、表面プラズモン共鳴分光法、ELISA、またはラジオイムノアッセイによって測定される、項目 31 または 32 に記載の方法。

20

(項目 34)

前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目 33 に記載の方法。

(項目 35)

FOLR1 タンパク質レベルを測定するために用いられる前記抗体またはその抗原結合断片は、葉酸受容体 2 または葉酸受容体 3 に結合しない、項目 2、4~8、10、または 12~34 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 36)

前記測定された FOLR1 タンパク質レベルは、2 つの異なる抗 FOLR1 抗体またはその抗原結合断片を用いて測定される、項目 1~8、16、または 18~35 のいずれか一項に記載の方法。

30

(項目 37)

FOLR1 タンパク質レベルを測定するために用いられる少なくとも 1 つの抗体またはその抗原結合断片は、固体支持体に結合される、項目 2、4~8、10、または 12~36 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 38)

前記固体支持体は、マイクロタイタープレートである、項目 37 に記載の方法。

(項目 39)

FOLR1 タンパク質レベルを測定するために用いられる少なくとも 1 つの抗体またはその抗原結合断片は、検出剤を含む、項目 2、4~8、10、または 12~38 のいずれか一項に記載の方法。

40

(項目 40)

前記検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、免疫蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である、項目 39 に記載の方法。

(項目 41)

前記検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) である、項目 39 または 40 に記載の方法。

(項目 42)

前記 FOLR1 タンパク質レベルは、酵素結合免疫吸着分析 (ELISA) を用いて決定される、項目 1~41 のいずれか一項に記載の方法。

50

(項目43)

前記ELISAは、サンドイッチELISAである、項目42に記載の方法。

(項目44)

FOLR1タンパク質を測定するために用いられる少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、

(a) 配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、

(b) 配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、

(c) 配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに

(d) 配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のFOLR1エピトープに特異的に結合する、項目2、4~8、10、または12~43のいずれか一項に記載の方法。

10

(項目45)

FOLR1タンパク質を測定するために用いられる少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、

(a) 配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、

(b) 配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、

(c) 配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに

(d) 配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のFOLR1結合を競合的に阻害する、項目2、4~8、10、または12~44のいずれか一項に記載の方法。

20

(項目46)

FOLR1タンパク質を測定するために用いられる少なくとも1つの抗体またはその抗原結合断片は、

(a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、

(b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、

(c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、

(d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに

(e) 1、2、3、または4つの保存的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目2、4~8、10、または12~45のいずれか一項に記載の方法。

30

(項目47)

前記活性剤は、前記FOLR1抗体huMov19を含む、項目1~46のいずれか一項に記載の方法。

(項目48)

前記huMov19抗体またはその抗原結合断片は、細胞毒性剤に共役される、項目47に記載の方法。

(項目49)

前記huMov19抗体またはその抗原結合断片は、メイタンシノイドDM4と切断可能なスルホ-SPDBリンカー(IMGN853)とをさらに含む抗体メイタンシノイド共役体として投与される、項目48に記載の方法。

40

(項目50)

(a) 配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、

(b) 配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、

(c) 配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに

(d) 配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体と同一のFOLR1エピトープに特異的に結合する、抗体またはその抗原結合断片。

50

(項目51)

F O L R 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体またはその抗原結合断片は、

- (a) 配列番号25のポリペプチドおよび配列番号29のポリペプチドを含む抗体、
- (b) 配列番号26のポリペプチドおよび配列番号30のポリペプチドを含む抗体、
- (c) 配列番号27のポリペプチドおよび配列番号31のポリペプチドを含む抗体、ならびに
- (d) 配列番号28のポリペプチドおよび配列番号32のポリペプチドを含む抗体からなる群から選択される抗体のF O L R 1 への結合を競合的に阻害する、抗体またはその抗原結合断片。

10

(項目52)

F O L R 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体またはその抗原結合断片は、

- (a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、
- (b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、
- (c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、
- (d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに
- (e) 1、2、3、または4つの保守的アミノ酸置換を含む(a)~(d)の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、抗体またはその抗原結合断片。

20

(項目53)

前記抗体またはその抗原結合断片は、

- (a) 配列番号25および配列番号29、
- (b) 配列番号26および配列番号30、
- (c) 配列番号27および配列番号31、ならびに
- (d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択される2つのアミノ酸配列のうちの一つと各々少なくとも90%同一の少なくとも2つのアミノ酸配列を含む、項目52に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目54)

前記アミノ酸配列は各々、

- (a) 配列番号25および配列番号29、
- (b) 配列番号26および配列番号30、
- (c) 配列番号27および配列番号31、ならびに
- (d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択される2つのアミノ酸配列のうちの一つと少なくとも95%同一である、項目53に記載の抗体またはその抗原結合断片。

30

(項目55)

前記アミノ酸配列は各々、

- (a) 配列番号25および配列番号29、
- (b) 配列番号26および配列番号30、
- (c) 配列番号27および配列番号31、ならびに
- (d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択される2つのアミノ酸配列のうちの一つと少なくとも99%同一である、項目54に記載の抗体またはその抗原結合断片。

40

(項目56)

前記アミノ酸配列は、

- (a) 配列番号25および配列番号29、
- (b) 配列番号26および配列番号30、
- (c) 配列番号27および配列番号31、ならびに
- (d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択される、項目55に記載の抗体またはその抗原結合断片。

50

(項目57)

前記抗体またはその抗原結合断片は、マウス、非ヒト、ヒト化、キメラ、再表面化、またはヒトである、項目50～56のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目58)

前記抗体は、ヒトFOLR1に結合するが、FOLR2またはFOLR3には結合しない、項目50～57のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目59)

全長抗体である、項目50～58のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目60)

抗原結合断片である、項目50～59のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目61)

前記抗体またはその抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、一本鎖FvもしくはscFv、ジスフィルド結合Fv、V-NARDメイン、IgNar、細胞内抗体、IgG_{CH2}、小型抗体(minibody)、F(ab')₃、四重特異性抗体(tetrabody)、三重特異性抗体(triabody)、二重特異性抗体(diabody)、単ドメイン抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb₂、(scFv)₂、またはscFv-Fcを含む、項目60に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目62)

前記抗体またはその抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、一本鎖FvもしくはscFv、ジスフィルド結合Fv、V-NARDメイン、IgNar、細胞内抗体、IgG_{CH2}、小型抗体、F(ab')₃、四重特異性抗体、三重特異性抗体、二重特異性抗体、単ドメイン抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb₂、(scFv)₂、またはscFv-Fである、項目61に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(項目63)

FOLR1に特異的に結合するポリペプチドであって、前記ポリペプチドは、

(a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、

(b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、

(c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、

(d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、ならびに

(e) 1、2、3、または4つの保守的アミノ酸置換を含む(a)～(d)の変異体からなる群から選択される配列を含む、ポリペプチド。

(項目64)

前記ポリペプチドは、

(a) 配列番号25および配列番号29、

(b) 配列番号26および配列番号30、

(c) 配列番号27および配列番号31、ならびに

(d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択される2つの配列のうちの一つと各々少なくとも90%同一の少なくとも2つの配列を含む、項目63に記載のポリペプチド。

(項目65)

前記配列は各々、

(a) 配列番号25および配列番号29、

(b) 配列番号26および配列番号30、

(c) 配列番号27および配列番号31、ならびに

(d) 配列番号28および配列番号32からなる群から選択される2つの配列のうちの一つと少なくとも95%同一である、項目64に記載のポリペプチド。

(項目66)

前記配列は各々、

10

20

30

40

50

(a) 配列番号 2 5 および配列番号 2 9 、
 (b) 配列番号 2 6 および配列番号 3 0 、
 (c) 配列番号 2 7 および配列番号 3 1 、ならびに
 (d) 配列番号 2 8 および配列番号 3 2 からなる群から選択される 2 つの配列のうちの 1 つと少なくとも 9 9 % 同一である、項目 6 5 に記載のポリペプチド。

(項目 6 7)

前記配列は、

(a) 配列番号 2 5 および配列番号 2 9 、
 (b) 配列番号 2 6 および配列番号 3 0 、
 (c) 配列番号 2 7 および配列番号 3 1 、ならびに
 (d) 配列番号 2 8 および配列番号 3 2 からなる群から選択される、項目 6 6 に記載のポリペプチド。

10

(項目 6 8)

前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、組換え産生される、項目 5 0 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目 6 9)

約 1 . 0 n M ~ 約 1 0 n M の K d を有するヒト F O L R 1 に結合する、項目 5 0 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目 7 0)

約 1 . 0 n M またはより良好な K d を有するヒト F O L R 1 に結合する、項目 5 0 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

20

(項目 7 1)

前記結合親和性は、サイトメトリー、表面プラズモン共鳴分光法、E L I S A、またはラジオイムノアッセイによって測定される、項目 6 9 または 7 0 に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目 7 2)

前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目 7 1 に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目 7 3)

項目 5 0 ~ 7 2 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドをコードする、核酸分子。

30

(項目 7 4)

項目 7 3 に記載の核酸分子を含む、ベクター。

(項目 7 5)

前記ベクターは、プロモーター結合部位と、任意に、エンハンサー配列とをさらに含む、項目 7 4 に記載のベクター。

(項目 7 6)

前記ベクターは、プラスミド、ウイルス、ファージ、細菌、またはウイロイドである、項目 7 4 または 7 5 に記載のベクター。

(項目 7 7)

試料中の F O L R 1 タンパク質を検出する方法であって、前記試料を、項目 5 0 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドと接触させることを含む、方法。

40

(項目 7 8)

前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出可能に標識される、項目 7 7 に記載の方法。

(項目 7 9)

前記標識は、免疫蛍光標識、化学発光標識、リン光標識、酵素標識、放射標識、アビジン/ビオチン、コロイド金粒子、着色粒子、および磁性粒子からなる群から選択される、項目 7 8 に記載の方法。

50

(項目 80)

F O L R 1 タンパク質は、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット分析、免疫蛍光分析、酵素免疫分析、免疫沈降分析、化学発光分析、サイトメトリー、または免疫組織化学分析によって検出される、77～79のいずれか一項に記載の方法。

(項目 81)

前記サイトメトリーは、フローサイトメトリーである、項目 80 に記載の方法。

(項目 82)

前記試料は、体液、細胞、または組織試料である、項目 77～81のいずれか一項に記載の方法。

(項目 83)

前記細胞は、循環腫瘍細胞である、項目 82 に記載の方法。

(項目 84)

前記体液は、血液、血漿、または血清である、項目 82 に記載の方法。

(項目 85)

前記 F O L R 1 タンパク質は、脱落 F O L R 1 タンパク質である、項目 77～82 または 84 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 86)

F O L R 1 タンパク質は、前記試料中の循環腫瘍細胞において検出される、項目 77～84 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 87)

項目 50～71 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを産生する、細胞。

(項目 88)

前記細胞は、単離された細胞である、項目 87 に記載の細胞。

(項目 89)

前記細胞は、項目 66 に記載の核酸および / または項目 74～76 のいずれか一項に記載のベクターを含む、項目 87 または 88 に記載の細胞。

(項目 90)

前記細胞は、細菌細胞または真核細胞である、項目 87～89 のいずれか一項に記載の細胞。

(項目 91)

項目 50～71 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを作製する方法であって、(a) 項目 87～89 のいずれか一項に記載の細胞を培養することと、(b) 前記培養された細胞から、前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを単離することと、を含む、方法。

(項目 92)

試料中の脱落 F O L R 1 タンパク質を検出するための免疫分析キットであって、(a) 第 1 の試薬であって、前記第 1 の試薬は、ヒト F O L R 1 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドであり、前記抗体またはその抗原結合断片は、h u M o v 19 の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない、第 1 の試薬と、(b) 第 2 の試薬であって、前記第 2 の試薬は、検出試薬である、第 2 の試薬と、を含む、キット。

(項目 93)

前記第 1 の試薬は、捕捉試薬であり、前記キットは、前記捕捉試薬のための固体支持体をさらに含む、項目 92 に記載のキット。

(項目 94)

前記捕捉試薬は、前記固体支持体上に固定される、項目 93 に記載のキット。

(項目 95)

前記捕捉試薬は、マイクロタイタープレート上にコーティングされる、項目 93 または 94 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 96)

10

20

30

40

50

前記キットは、ヒト F O L R 1 に特異的に結合する第 2 の異なる抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドである検出試薬をさらに含む、項目 9 2 ~ 9 5 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 9 7)

前記第 1 の試薬および / または前記第 2 の試薬は、

(a) 配列番号 1、2、および 3 と配列番号 1 3、1 4、および 1 5、
 (b) 配列番号 4、5、および 6 と配列番号 1 6、1 7、および 1 8、
 (c) 配列番号 7、8、および 9 と配列番号 1 9、2 0、および 2 1、
 (d) 配列番号 1 0、1 1、および 1 2 と配列番号 2 2、2 3、および 2 4、ならびに
 (e) 1、2、3、または 4 つの保存的アミノ酸置換を含む (a) ~ (d) の変異体からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 9 2 ~ 9 6 のいずれか一項に記載のキット。

10

(項目 9 8)

前記第 2 の試薬は、種特異的抗体を用いて検出される、項目 9 2 ~ 9 7 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 9 9)

前記検出可能な試薬のための検出手段をさらに含む、項目 9 2 ~ 9 8 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 1 0 0)

前記検出手段は、比色手段である、項目 9 9 に記載のキット。

20

(項目 1 0 1)

抗原標準として F O L R 1 ポリペプチドをさらに含む、項目 9 2 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 1 0 2)

前記 F O L R 1 ポリペプチドは、F O L R 1 - F c である、項目 1 0 1 に記載のキット。

(項目 1 0 3)

癌を治療するための方法における使用のための、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、F O L R 1 タンパク質の増加した発現が、前記活性剤の投与前に、項目 5 0 ~ 7 1、7 8、または 7 9 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて前記対象由来の癌性試料において測定される、活性剤。

30

(項目 1 0 4)

F O L R 1 媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、(a) 項目 5 0 ~ 7 1、7 8、または 7 9 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、患者試料中の F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(b) 前記患者の F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、前記患者に固定用量の前記活性剤を投与することと、を含む、活性剤。

40

(項目 1 0 5)

F O L R 1 媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、

(b) 項目 5 0 ~ 7 1、7 8、または 7 9 のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、前記患者の F O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者の F O L R 1 タンパク質レベルが、基準 F O L R 1 タンパク質レベルと比

50

較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度を増加させることと、を含む、活性剤。

(項目106)

F O L R 1 媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、

(a) 患者から採取した試料において測定される前記F O L R 1 タンパク質レベルが、項目50～71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較され、

(b) 前記患者のF O L R 1 タンパク質レベルが、前記基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、固定用量の前記活性剤が、投与され、

前記活性剤の前記投与は、前記F O L R 1 タンパク質レベルを減少させる、活性剤。

(項目107)

F O L R 1 媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、患者におけるF O L R 1 発現細胞は、減少され、

(a) 固定用量の前記活性剤が、前記患者に投与され、

(b) 前記患者から得られた試料において測定される前記F O L R 1 タンパク質レベルが、項目50～71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較され、

(c) 前記患者のF O L R 1 タンパク質レベルが、前記基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量または頻度が増加され、

前記活性剤の前記投与は、前記F O L R 1 タンパク質レベルを減少させる、活性剤。

(項目108)

F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、患者における固定用量の前記活性剤の治療有効性を監視するための方法における使用のための活性剤であり、前記方法は、

(a) 項目50～71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者からの試料中の第1のF O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(b) 前記患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、

(c) 活性剤投与後に、項目50～71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、前記患者から採取した試料中の第2のF O L R 1 タンパク質レベルを測定することと、

(d) 前記第2のF O L R 1 タンパク質レベルを前記第1のF O L R 1 タンパク質レベルと比較することと、を含み、

前記第1および第2のF O L R 1 タンパク質レベルの間の減少は、治療有効性を示す、活性剤。

(項目109)

患者におけるF O L R 1 媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、

(a) F O L R 1 媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、

(b) 項目50～71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いたF O L R 1 タンパク質レベルの測定のために、前記患者から採取した試料を提出することと、

(c) 前記測定の結果から、前記患者のF O L R 1 タンパク質レベルが、基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、

(d) 前記患者のF O L R 1 タンパク質レベルが、前記基準F O L R 1 タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させ

10

20

30

40

50

ることと、を含む、活性剤。

(項目110)

FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、

(a) FOLR1媒介疾患または障害を有する患者に、固定用量の前記活性剤を投与することと、

(b) 項目50~71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いたFOLR1タンパク質レベルの測定、および前記測定されたFOLR1タンパク質レベルの基準FOLR1タンパク質レベルとの比較のために、前記患者から採取した試料を提出することと、

(c) 前記患者のFOLR1タンパク質レベルが、前記基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させることと、を含む、

前記患者のFOLR1レベルの減少は、治療有効性を示す、活性剤。

(項目111)

FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、前記方法は、

(a) FOLR1媒介疾患または障害を有する患者から試料を得ることであって、前記患者は、固定用量の前記活性剤を受けている、ことと、

(b) 項目50~71のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて、前記試料からFOLR1タンパク質レベルを測定することと、

(c) 前記患者のFOLR1タンパク質レベルが、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇しているかを決定することと、

(d) 前記患者のFOLR1タンパク質レベルが、前記基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇している場合に、その後の固定用量の量および/または頻度を増加させるか、または増加させるようにヘルスケア提供者に指示することと、を含む、

前記患者の前記FOLR1の減少は、治療有効性を示す、活性剤。

(項目112)

FOLR1媒介疾患または障害を治療するための方法における使用のための、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤であって、FOLR1の増加した発現が、前記活性剤の投与前に、項目50~71および78~79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて対象からの試料において測定される、活性剤。

(項目113)

前記測定されたFOLR1タンパク質は、脱落FOLR1である、項目103~112のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目114)

前記測定されたFOLR1タンパク質は、循環腫瘍細胞における、項目103~112のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目115)

前記FOLR1タンパク質レベルは、体液において測定される、項目103~114のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目116)

前記体液は、腹水である、項目115に記載の使用のための活性剤。

(項目117)

前記体液は、血清、血液、または血漿である、項目115に記載の使用のための活性剤

(項目118)

前記FOLR1タンパク質レベルは、末梢血液試料において測定される、項目103~114のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

10

20

30

40

50

(項目 1 1 9)

前記患者は、癌を有する、項目 1 0 4 ~ 1 1 8 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 0)

前記 F O L R 1 媒介疾患または障害は、癌である、項目 1 0 4 ~ 1 1 8 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 1)

前記癌は、卵巣癌、非小細胞肺癌、子宮癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎臓癌、肺癌、および乳癌からなる群から選択される F O L R 1 上昇癌である、項目 1 0 3、1 1 9、または 1 2 0 に記載の使用のための活性剤。

10

(項目 1 2 2)

前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目 1 2 1 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 3)

前記肺癌は、非小細胞肺癌 (N S C L C) である、項目 1 2 1 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 4)

前記癌は、子宮内膜癌である、項目 1 2 1 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 5)

前記 F O L R 1 タンパク質レベルは、F O L R 1 に特異的に結合する 2 つの異なる抗体もしくはその抗原結合断片またはポリペプチドを用いて測定される、項目 1 0 3 ~ 1 2 4 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

20

(項目 1 2 6)

F O L R 1 タンパク質を検出するために用いられる前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、固体支持体に結合される、項目 1 0 4 ~ 1 2 5 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 7)

前記固体支持体は、マイクロタイタープレートである、項目 1 2 6 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 2 8)

F O L R 1 タンパク質を検出するために用いられる前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む、項目 1 0 4 ~ 1 2 7 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

30

(項目 1 2 9)

前記検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である、項目 1 2 8 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 3 0)

前記検出剤は、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) である、項目 1 2 8 または 1 2 9 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 3 1)

前記 F O L R 1 タンパク質レベルは、酵素結合免疫吸着分析 (E L I S A) を用いて決定される、項目 1 0 3 ~ 1 3 0 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

40

(項目 1 3 2)

前記 E L I S A は、サンドイッチ E L I S A である、項目 1 3 1 に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 3 3)

前記活性剤は、前記 F O L R 1 抗体 h u M o v 1 9 を含む、項目 1 0 3 ~ 1 3 2 のいずれか一項に記載の使用のための活性剤。

(項目 1 3 4)

前記 h u M o v 1 9 は、細胞毒性剤に共役される、項目 1 3 3 に記載の使用のための活

50

性剤。

(項目135)

前記h u M o v 19は、メイタンシノイドDM4と切断可能なスルホ - S P D B リンカー (I M G N 8 5 3) とをさらに含む抗体メイタンシノイド共役体として投与される、項目134に記載の使用のための活性剤。

(項目136)

診断剤としての使用のための、項目50~71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目137)

F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤を用いた F O L R 1 媒介疾患または障害の治療における使用のため、かつ/または F O L R 1 活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤の治療有効性を監視するための、

(a) 項目50~71および78~79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、もしくはポリペプチド、または

(b) F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む活性剤の F O L R 1 への結合を競合的に阻害しない抗体もしくはその抗原結合断片。

(項目138)

(i) F O L R 1 媒介疾患もしくは障害、および/または

(i i) F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた、F O L R 1 媒介疾患もしくは障害の治療に対する応答、および/または

(i i i) F O L R 1 活性を調節する抗体もしくはその抗原結合断片を含む固定用量の活性剤を用いた治療の治療有効性、を診断する方法における使用のための、項目50~71および78~79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目139)

癌に罹患する患者における癌を診断するための方法における使用のための、項目50~71、78、または79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目140)

前記癌は、F O L R 1 の上昇したレベルと関連している、項目139に記載の使用のための抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目141)

前記抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドは、検出剤を含む、項目136~140のいずれか一項に記載の使用のための抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目142)

前記検出剤は、発色検出剤、蛍光検出剤、酵素検出剤、または電気化学発光検出剤である、項目141に記載の使用のための抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチド。

(項目143)

前記F O L R - 1 媒介疾患は、癌であり、

前記活性剤は、I M G N 8 5 3 を含む、

前記脱落F O L R 1 タンパク質レベルは、前記活性剤のF O L R 1 への結合を競合的に阻害しない少なくとも2つの抗F O L R 1 抗体を用いるE L I S A 分析を用いて測定され、前記少なくとも2つの抗F O L R 1 の各々は、

(a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、

(b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、

(c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、ならびに

(d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目2、4~8、または17のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の方法。

(項目144)

前記FOLR-1媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、IMGN853を含み、
前記活性剤のFOLR1への結合を競合的に阻害しない前記抗FOLR1抗体は、アミノ酸配列

(a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、

(b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、

(c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、または

(d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24を含み、

前記FOLR1タンパク質は、サイトメトリーによって検出される、項目10、12~16、または18のいずれか一項に記載の方法。

10

(項目145)

前記癌は、卵巣癌である、項目143または144に記載の方法。

(項目146)

前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目145に記載の方法。

(項目147)

前記癌は、NSCLCである、項目143または144に記載の方法。

(項目148)

前記癌は、子宮内膜癌である、項目143または144に記載の方法。

20

(項目149)

前記FOLR-1媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、IMGN853を含み、
前記脱落FOLR1タンパク質レベルは、前記活性剤のFOLR1への結合を競合的に阻害しない少なくとも2つの抗FOLR1抗体を用いるELISA分析を用いて測定され、
前記少なくとも2つの抗FOLR1の各々は、

(a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、

(b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、

(c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、ならびに

(d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目104~112のいずれか一項に記載の活性剤

30

(項目150)

前記FOLR-1媒介疾患は、癌であり、
前記活性剤は、IMGN853を含み、
前記脱落FOLR1タンパク質レベルは、前記活性剤のFOLR1への結合を競合的に阻害しない少なくとも2つの抗FOLR1抗体を用いるELISA分析を用いて測定され、
前記少なくとも2つの抗FOLR1の各々は、

(a) 配列番号1、2、および3と配列番号13、14、および15、

(b) 配列番号4、5、および6と配列番号16、17、および18、

(c) 配列番号7、8、および9と配列番号19、20、および21、ならびに

(d) 配列番号10、11、および12と配列番号22、23、および24、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目104~112のいずれか一項に記載の活性剤

40

(項目151)

前記癌は、卵巣癌である、項目149または150に記載の使用のための活性剤。

(項目152)

前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目151に記載の使用のための活性剤。

(項目153)

50

前記癌は、NSCLCである、項目149または150に記載の使用のための活性剤。
(項目154)

前記癌は、子宮内膜癌である、項目149または150に記載の使用のための活性剤。
(項目155)

癌を治療する方法であって、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して上昇した脱落FOLR1タンパク質レベルを有する患者に、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、前記患者のFOLR1タンパク質レベルは、項目50~71のいずれか一項に記載の抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される、方法。

(項目156)

10

癌を治療する方法であって、基準FOLR1タンパク質レベルと比較して循環腫瘍細胞中の上昇したFOLR1タンパク質レベルを有する患者に、FOLR1活性を調節する抗体またはその抗原結合断片を含む活性剤を投与することを含み、前記患者のFOLR1タンパク質レベルは、項目50~71のいずれか一項に記載の抗体、抗原結合断片、またはポリペプチドを用いて測定される、方法。

(項目157)

前記活性剤は、IMG N 853を含む、項目155または156に記載の方法。

(項目158)

前記癌は、卵巣癌である、項目155~157のいずれか一項に記載の方法。

(項目159)

20

前記卵巣癌は、白金耐性または白金不応性である、項目158に記載の方法。

(項目160)

前記癌は、NSCLCである、項目155~157のいずれか一項に記載の方法。

(項目161)

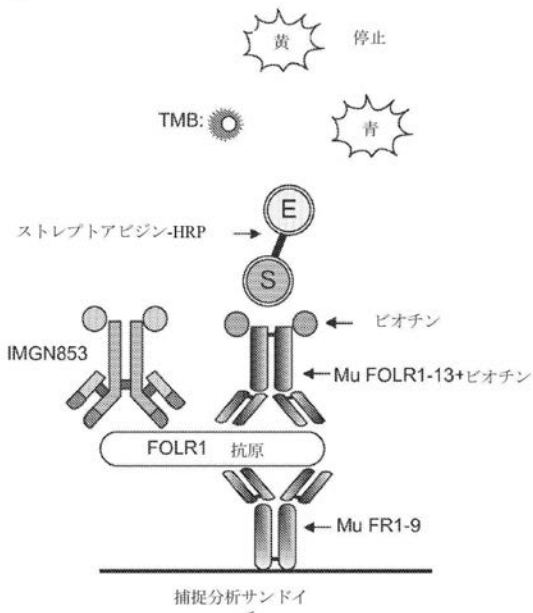
前記癌は、子宮内膜癌である、項目155~157のいずれか一項に記載の方法。

(項目162)

インビトロの試料中のFOLR1タンパク質レベルの測定のための、項目50~71および78~79のいずれか一項に記載の抗体、その抗原結合断片、またはポリペプチドの使用。

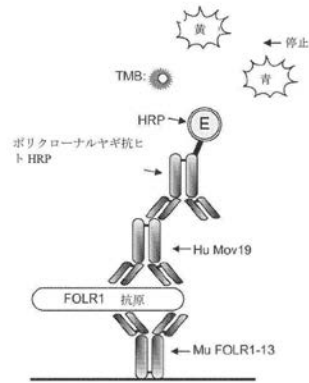
【 図 1 】

【 図 1 】



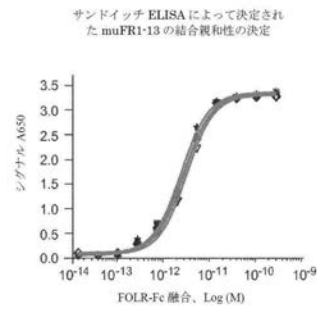
【 図 2 A 】

【 図 2 A 】



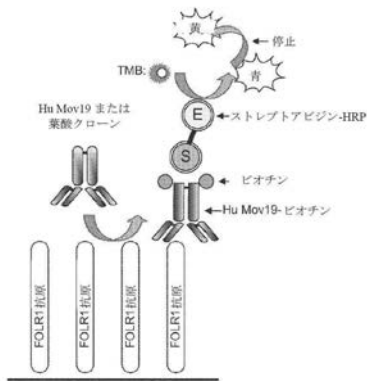
【 図 2 B 】

【 図 2 B 】



【 図 3 A 】

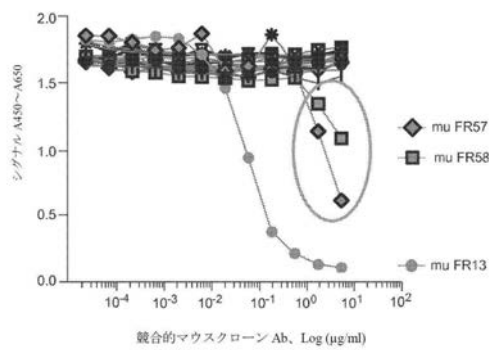
【 図 3 A 】



【 図 4 】

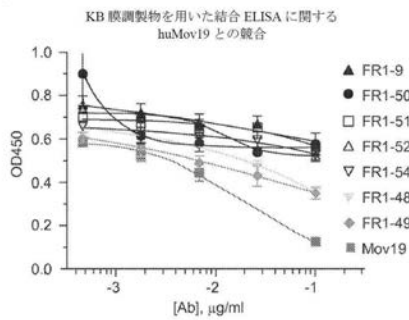
【 図 4 】

連続濃度の抗-FOLR1 クローンの定濃度の muFR1-13 との競合 ELISA



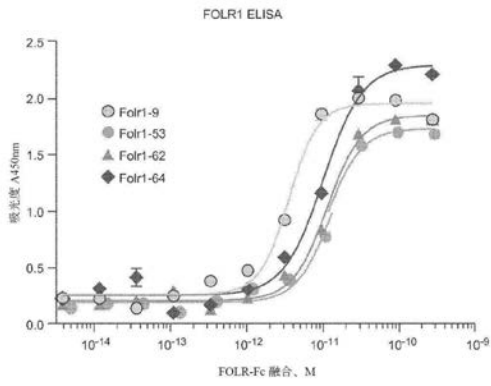
【 図 3 B 】

【 図 3 B 】



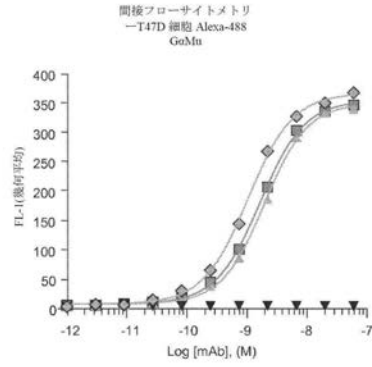
【 図 5 】

【 図 5 】

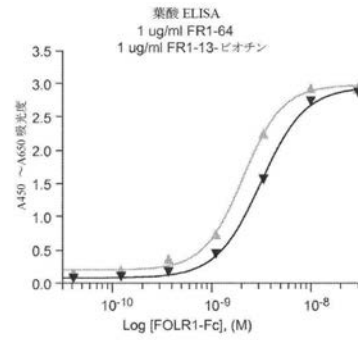


【 図 6 】

【 図 6 A 】

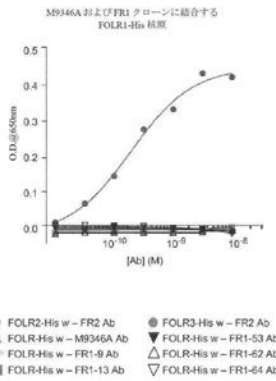


【 図 6 B 】

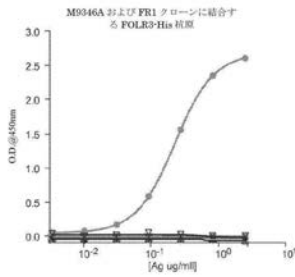


【 図 7 】

【 図 7 A 】



【 図 7 B 】

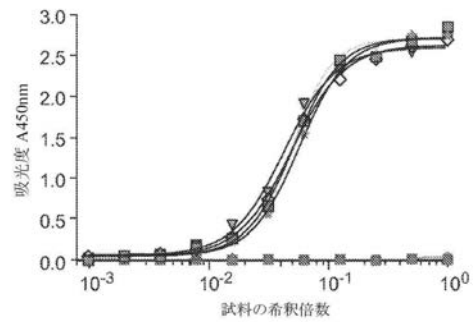


注：FR3 曲線→3分進行
他の全ての曲線→20分進行

【 図 8 】

【 図 8 】

FR1-9 および FR1-13 の結合に対する葉酸の効果

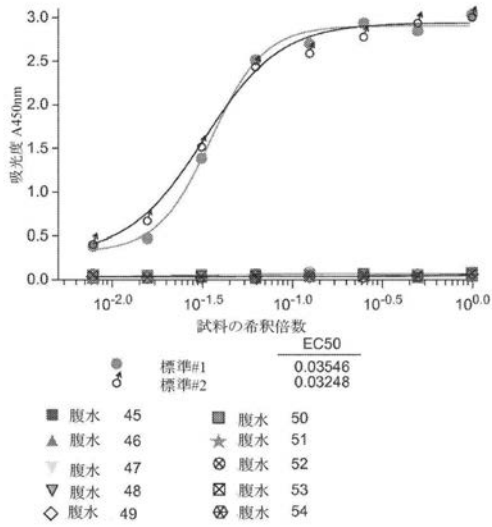


●	正常個体血漿#1	
■	正常個体血漿#2	
▲	プールの血漿	
▽	60nM FOLR1-Fc (プールの血漿中)	EC50
◇	60nM FOLR1-Fc (0.5%カゼイン中)	0.05020
◇	FOLR1-Fc + 1000nM 葉酸	0.04277
◇	FOLR1-Fc + 500nM 葉酸	0.04936
◇	FOLR1-Fc + 100 nM 葉酸	0.05141
★	FOLR1-Fc + 100 nM 葉酸	0.05734

【 図 9 】

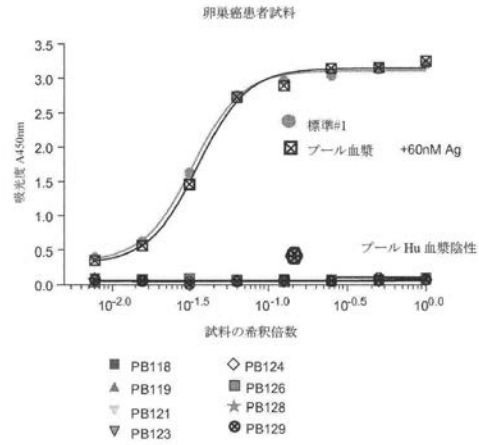
【 図 9 】

ヒト腹水試料を用いた FOLR1 サンドイッチ ELISA

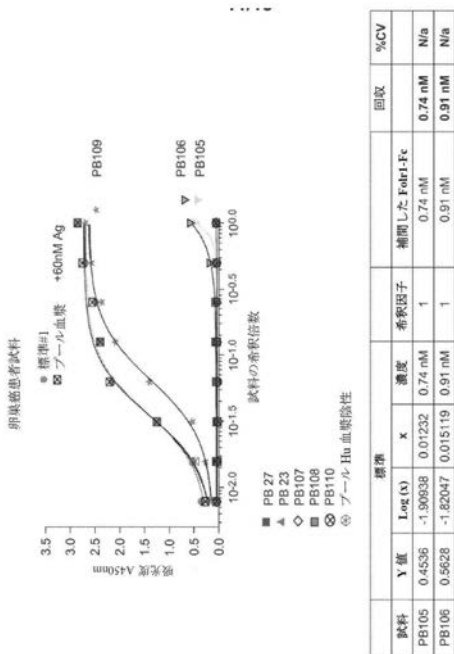


【 図 1 0 】

【 図 1 0 】

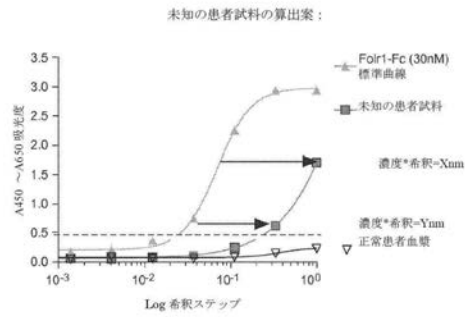


【 図 1 1 】



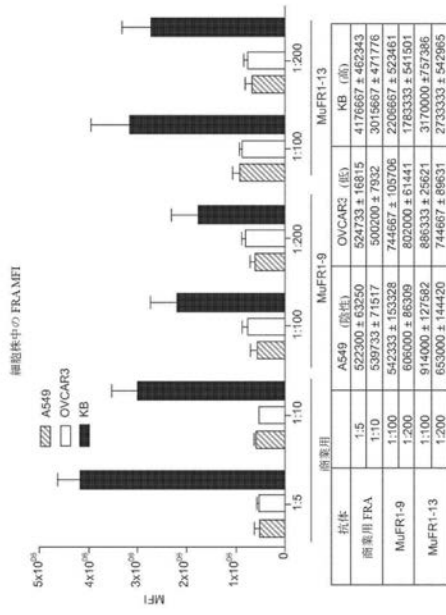
【 図 1 2 】

【 図 1 2 】



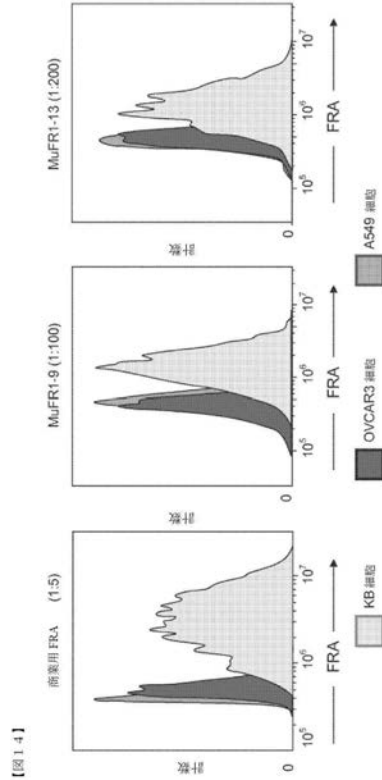
【 図 1 1 】

【 図 1 3 】



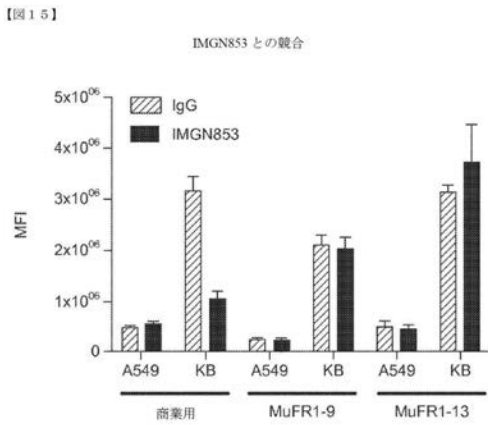
【 図 1 3 】

【 図 1 4 】



【 図 1 4 】

【 図 1 5 】



抗体	細胞	処理	
		IgG (MFI)	IMG853 (MFI)
商業用 FRA	A549	458333 ± 36085	524333 ± 62307
	KB	3173333 ± 298124	1006333 ± 195297
MuFR1-9	A549	224667 ± 27936	221667 ± 32380
	KB	2076667 ± 202759	2010000 ± 225167
MuFR1-13	A549	459000 ± 129230	404667 ± 117689
	KB	3113333 ± 190117	3726667 ± 768339

【配列表】

2018042573000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月25日(2017.12.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2018042573000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 Q 1/28 (2006.01)	C 1 2 Q 1/28	4 C 0 8 5
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	4 H 0 4 5
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 0 7 K 17/00 (2006.01)	C 0 7 K 17/00	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395	T
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	A
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/543	5 9 5
G 0 1 N 33/483 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/543	5 4 5 A
	G 0 1 N 33/543	5 7 5
	G 0 1 N 33/483	C

- (72)発明者 ネイサン イー . テスタ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 5 3 , ウォルサム , マートル ストリート 5 3
 ナンバー 4
- (72)発明者 クリスティーナ エヌ . キャリガン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 8 , ベルモント , ダートマス ストリート 5
 3 エー
- (72)発明者 オルガ アブ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 0 5 4 , ミリス , ベイベリー サークル 2 6
- (72)発明者 ダニエル タバレス
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 6 0 , ナティック , シルベスター ロード 2 7
- (72)発明者 ベニ ビー . ウォルフ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1 , レキシントン , フェアバンクス ロード
 2 9

F ターム(参考) 2G045 AA26 CA25 CA26 DA36 FA37
 4B063 QA01 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ03 QQ08 QQ42 QQ52 QR32
 QR35 QR55 QR62 QS25 QS32 QX01
 4B064 AG26 AG27 CA10 CA19 CA20 CA31 CC24 DA01 DA13
 4B065 AA01X AA57X AA83X AA86X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01
 CA24 CA25 CA44 CA46
 4C076 AA95 EE59
 4C085 AA13 AA14 CC02 DD62 EE01
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17
 BA41 BA60 CA40 DA50 DA75 DA76 EA20 EA50 FA74

【外国語明細書】

2018042573000001.pdf

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2018042573A5	公开(公告)日	2018-05-10
申请号	JP2017247587	申请日	2017-12-25
[标]申请(专利权)人(译)	伊缪诺金公司		
申请(专利权)人(译)	lmyunojen公司		
[标]发明人	ネイサンイーテスタ クリスティーナエヌキャリガン オルガアブ ダニエルタバレス ベニビーウォルフ		
发明人	ネイサン イー. テスタ クリスティーナ エヌ. キャリガン オルガ アブ ダニエル タバレス ベニビー. ウォルフ		
IPC分类号	C12N15/02 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12Q1/28 C07K14/705 C07K16/28 C07K16/46 C07K19/00 C07K17/00 C12P21/08 A61K39/395 A61K47/68 G01N33/574 G01N33/543 G01N33/53 G01N33/483		
CPC分类号	A61P35/00 A61K47/6849 C07K16/28 C07K2317/33 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/57492 G01N2333/705 G01N33/566 C07K16/30 C07K2317/21 C07K2317/41 C07K2317/565 C07K2317/73 C07K2317/732 C07K2317/77 C07K2317/80 G01N33/574 C07K16/3015 C07K16/3023 C07K16/303 C07K16/3069 C07K2317/24		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.C C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12Q1/28 C07K14/705 C07K16/28 C07K16/46 C07K19/00 C07K17/00 C12P21/08 A61K39/395.E A61K39/395.T A61K47/68 G01N33/574. A G01N33/543.595 G01N33/53.D G01N33/543.545.A G01N33/543.575 G01N33/483.C		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FA37 4B063/QA01 4B063/QA13 4B063 /QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QX01 4B064/AG26 4B064 /AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CA31 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA83X 4B065/AA86X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076 /AA95 4C076/EE59 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC02 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA13 4H045/BA14 4H045/BA15 4H045 /BA16 4H045/BA17 4H045/BA41 4H045/BA60 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	61/695791 2012-08-31 US 61/756254 2013-01-24 US		
其他公开文献	JP6480558B2 JP2018042573A		

摘要(译)

要解决的问题：提供用于检测叶酸受体1的诊断分析和试剂盒。本发明一般涉及与人叶酸受体1结合的抗体和基于叶酸受体1的治疗的诊断测定。还提供了用抗体监测治疗的方法。本发明提供了一种可用于检测样品中FOLRI的方法，例如用于对患者进行分层。因此，在一个实施方案中，本发明提供治疗患有叶酸受体1介导的疾病的患者的方法，该方法包括：(a) 使取出的叶酸受体1 (FOLRI) 与取自患者的样品接触，测量循环肿瘤细胞的表达水平或FOLRI。 【选择图】无