

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-527488

(P2005-527488A)

(43) 公表日 平成17年9月15日(2005.9.15)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 16/40</b>	C07K 16/40	2G045
<b>A61K 9/08</b>	A61K 9/08	4B064
<b>A61K 9/10</b>	A61K 9/10	4B065
<b>A61K 39/395</b>	A61K 39/395 N	4C076
<b>A61K 47/48</b>	A61K 39/395 Y	4C084
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 66 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-557514 (P2003-557514)  
 (86) (22) 出願日 平成14年12月27日 (2002.12.27)  
 (85) 翻訳文提出日 平成16年6月24日 (2004.6.24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/041607  
 (87) 国際公開番号 W02003/057155  
 (87) 国際公開日 平成15年7月17日 (2003.7.17)  
 (31) 優先権主張番号 60/342,398  
 (32) 優先日 平成13年12月27日 (2001.12.27)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504244438  
 バン アンデル リサーチ インスティテュート  
 アメリカ合衆国 ミシガン 49503,  
 グランド ラピドス, ポストウィック  
 エヌイー 333

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 Met を発現し、肝細胞増殖因子と結合する腫瘍のモノクローナル抗体画像化および治療

## (57) 【要約】

広範にわたる種々のヒト固形腫瘍において、積極的な転移表現型および不十分な臨床的予後は、レセプターチロシンキナーゼ Met およびそのアゴニストリガンド HGF の発現と相関する。本発明は、(a) Met 特異的である mAb およびそれらを産生するハイブリドーマ細胞株、ならびに (b) 抗 Met mAb および抗 HGF mAb の組み合わせを開示する。直接標識される場合、これらの抗体は、このような腫瘍を画像化するのに有用である。抗 Met mAb 組成物ならびに、Met を有する腫瘍のシンチグラフィー検出、診断、予後、モニタリングおよび処置のための方法を提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

モノクローナル抗体であって：

(a) 受入番号 P T A - 4 3 4 9 で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体 M e t 3 ; および

(b) 受入番号 P T A - 4 4 7 7 で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体 M e t 5 からなる群から選択される、モノクローナル抗体または該抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

10

## 【請求項 2】

受入番号 P T A - 4 3 4 9 で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託された前記ハイブリドーマ細胞株によって産生される、請求項 1 に記載の M e t 3 モノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体。

## 【請求項 3】

受入番号 P T A - 4 4 7 7 で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託された前記ハイブリドーマ細胞株によって産生される、請求項 1 に記載の M e t 5 モノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体。

## 【請求項 4】

請求項 2 に記載のモノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体を識別する生物学的特徴の全てを有する、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

20

## 【請求項 5】

請求項 3 に記載のモノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体と識別する生物学的特徴の全てを有する、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

## 【請求項 6】

M e t に特異的なヒト化モノクローナル抗体であって、該抗体の重鎖およびノもしくは軽鎖可変領域、または該可変領域の抗原結合部位が、請求項 2 または 3 に記載のモノクローナル抗体の対応する領域または部位を識別する同一の生物学的または構造的特徴の全てを有し、該ヒト化モノクローナル抗体の残り実質的に全てが、ヒト起源であるか、または該ヒト化モノクローナル抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体である、ヒト化モノクローナル抗体。

30

## 【請求項 7】

M e t に特異的なヒトモノクローナル抗体であって、該抗体は、請求項 2 に記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープと同じエピトープ、または該ヒト抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体に結合する、ヒトモノクローナル抗体。

## 【請求項 8】

M e t に特異的なヒトモノクローナル抗体であって、該抗体は、請求項 3 に記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープと同じエピトープ、または該ヒト化抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体に結合する、ヒトモノクローナル抗体。

40

## 【請求項 9】

請求項 1 に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 10】

請求項 2 に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 11】

請求項 3 に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 12】

請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、さらに、M e t エピトープに特異的な 1 つ以上のさらなる抗体を含むか、または、該さらなる 1 つ以上の抗体の抗原結合

50

フラグメントもしくは誘導体を含む、組成物。

【請求項 13】

請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、さらに、肝細胞増殖因子 (HGF) に特異的な 1 つ以上の抗体を含むか、または該 1 つ以上の HGF 特異的な抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体を含む、組成物。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の組成物であって、前記 1 つ以上の HGF 特異的抗体が：

(a) 受入番号 PTA - 3414 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体；

10

(b) 受入番号 PTA - 3416 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体；

(c) 受入番号 PTA - 3413 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体；および

(d) 受入番号 PTA - 3412 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体、

からなる群から選択される、組成物。

20

【請求項 15】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の診断的または検出可能に標識されたモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体、および；

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項 16】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の診断的または検出可能に標識された組成物；および

30

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項 17】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項 12 に記載の診断的または検出可能に標識された組成物；および

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項 18】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項 13 に記載の診断的または検出可能に標識された組成物；および

40

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項 19】

請求項 15 に記載の診断的に有用な組成物であって、ここで前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体が、放射性核種、PET 画像化可能な試薬 MRI 画像化可能な試薬、蛍光物質、蛍光源、発色団、色素源、リン光物質、化学発光物質および生体発光物質からなる群から選択される検出可能な標識で標識される、組成物。

【請求項 20】

請求項 16 に記載の診断的に有用な組成物であって、ここで前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体が、放射性核種、PET 画像化可能な試薬、MRI 画像化可能な

50

試薬、蛍光物質、蛍光源、発色団、色素源、リン光物質、化学発光物質および生体発光物質からなる群から選択される検出可能な標識で標識される、組成物。

【請求項 21】

前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体が、放射性核種で標識される、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 22】

前記放射性核種がインビボで検出可能なものである、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 23】

前記放射性核種が放射免疫シンチグラフィにより検出可能なものである、請求項 22 に記載の組成物。

10

【請求項 24】

請求項 21 に記載の組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$  および  $^{201}\text{Tl}$  からなる群から選択される、組成物。

【請求項 25】

前記放射性核種が  $^{125}\text{I}$  である、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 26】

前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体が放射性核種で標識される、請求項 20 に記載の組成物。

【請求項 27】

前記放射性核種がインビボで検出可能なものである、請求項 26 に記載の組成物。

20

【請求項 28】

前記放射性核種が放射免疫シンチグラフィにより検出可能なものである、請求項 27 に記載の組成物。

【請求項 29】

請求項 26 に記載の組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$  および  $^{201}\text{Tl}$  からなる群から選択される、組成物。

【請求項 30】

前記放射性核種が  $^{125}\text{I}$  である、請求項 29 に記載の組成物。

30

【請求項 31】

前記検出可能な標識が、蛍光物質または蛍光源である、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 32】

請求項 31 に記載の組成物であって、ここで前記蛍光物質または蛍光源が、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、*o*-フタルデヒド、フルオレサミン、フルオレセイン誘導体、Oregon Green、Rhodamine Green、Rhodol Green および Texas Red からなる群から選択される、組成物。

【請求項 33】

前記検出可能な標識が、蛍光物質または蛍光源である、請求項 20 に記載の組成物。

40

【請求項 34】

請求項 33 に記載の組成物であって、ここで前記蛍光物質または蛍光源が、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、*o*-フタルデヒド、フルオレサミン、フルオレセイン誘導体、Oregon Green、Rhodamine Green、Rhodol Green および Texas Red からなる群から選択される、組成物。

【請求項 35】

前記検出可能な標識が、前記抗体に結合された 1 つ以上のジエチレントリアミンペンタ酢酸 (DTPA) 残基を介して該抗体に結合する、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 36】

50

前記検出可能な標識が、1つのDTPA残基を介して前記抗体に結合する、請求項35に記載の組成物。

【請求項37】

MRI診断に有用な、請求項35に記載の組成物であって、ここで金属原子が前記DTPA残基に結合する、組成物。

【請求項38】

前記金属が、ガドリニウム、マンガン、銅、鉄、金およびユーロピウムからなる群から選択される、請求項37に記載の組成物。

【請求項39】

前記金属がガドリニウムである、請求項38に記載の組成物。 10

【請求項40】

前記検出可能な標識が、前記抗体に結合された1つ以上のジエチレントリアミンペンタ酢酸(DTPA)残基を介して該抗体に結合する、請求項20に記載の組成物。

【請求項41】

前記検出可能な標識が、1つのDTPA残基を介して前記抗体に結合する、請求項40に記載の組成物。

【請求項42】

MRI診断に有用な、請求項40に記載の組成物であって、ここで金属原子が前記DTPA残基に結合する、組成物。

【請求項43】 20

前記金属が、ガドリニウム、マンガン、銅、鉄、金およびユーロピウムからなる群から選択される、請求項42に記載の組成物。

【請求項44】

前記金属がガドリニウムである、請求項43に記載の組成物。

【請求項45】

Met発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

(a) 治療有効量の、請求項1～8のいずれか1項に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体；および

(b) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。 30

【請求項46】

Met発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

(a) 治療有効量の、請求項9～11のいずれか1項に記載の組成物；および

(b) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。

【請求項47】

Met発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

(a) 治療有効量の、請求項12に記載の組成物；および

(b) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。 40

【請求項48】

Met発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

(a) 治療有効量の、請求項13に記載の組成物；および

(b) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。

【請求項49】

注射または注入に適する形態での、請求項45に記載の治療用組成物。

【請求項50】

請求項45に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも1つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識さ 50

れる、治療用組成物。

【請求項 5 1】

前記治療部分が放射性核種である、請求項 5 0 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 2】

請求項 5 1 に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$  および  $^{217}\text{Bi}$  からなる群から選択される、組成物。

【請求項 5 3】

注射または注入に適する形態での、請求項 4 6 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 4】

請求項 4 6 に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

10

【請求項 5 5】

前記治療部分が放射性核種である、請求項 5 4 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 6】

請求項 5 5 に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$  および  $^{217}\text{Bi}$  からなる群から選択される、組成物。

【請求項 5 7】

注射または注入に適する形態での、請求項 4 7 に記載の治療用組成物。

20

【請求項 5 8】

請求項 4 7 に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

【請求項 5 9】

前記治療部分が放射性核種である、請求項 5 8 に記載の治療用組成物。

【請求項 6 0】

請求項 5 9 に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$  および  $^{217}\text{Bi}$  からなる群から選択される、組成物。

30

【請求項 6 1】

注射または注入に適する形態での、請求項 4 8 に記載の治療用組成物。

【請求項 6 2】

請求項 4 8 に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

【請求項 6 3】

前記治療部分が放射性核種である、請求項 6 2 に記載の治療用組成物。

【請求項 6 4】

請求項 6 3 に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$  および  $^{217}\text{Bi}$  からなる群から選択される、組成物。

40

【請求項 6 5】

キットであって、以下：

(a) 請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、標識された第 1 の容器；

(b) 診断的または薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、標識された第 2 の容器；および

(c) ；被験体の癌性状態または腫瘍であって、該被験体の癌腫または腫瘍細胞が M e

50

tを発現する、癌性状態または腫瘍を診断、予後、モニタリングまたは処置するための該抗体の使用のための説明書

を含み、ここで、該抗体、フラグメントまたは誘導体が該状態の診断、予後、モニタリングまたは処置に効果的であり、そして、該標識された容器が、該抗体が該診断、予後、モニタリングまたは処置のために使用され得ることを示す、キット。

【請求項66】

Metの存在を検出するための方法であって、該Metは、(i)細胞表面上、(ii)組織内、(iii)器官内または(iv)生物学的サンプル内であり、この細胞、組織、器官またはサンプルは、Metを発現することが予想され、該方法は以下：

(a)細胞、組織、器官またはサンプルを請求項15に記載の組成物と接触させる工程 10

；  
(b)細胞、組織、器官またはサンプルに関する前記標識の存在を検出する工程を包含する、方法。

【請求項67】

Metの存在を検出するための方法であって、該Metは、(i)細胞表面上、(ii)組織内、(iii)器官内または(iv)生物学的サンプル内であり、この細胞、組織、器官またはサンプルは、Metを発現することが予想され、該方法は以下：

(a)細胞、組織、器官またはサンプルを請求項16に記載の組成物と接触させる工程 20

；  
(b)細胞、組織、器官またはサンプルに関する前記標識の存在を検出する工程を包含する、方法。

【請求項68】

Metの存在を検出するための方法であって、該Metは、(i)細胞表面上、(ii)組織内、(iii)器官内または(iv)生物学的サンプル内であり、この細胞、組織、器官またはサンプルは、Metを発現することが予想され、該方法は以下：

(a)細胞、組織、器官またはサンプルを請求項17に記載の組成物と接触させる工程 30

；  
(b)細胞、組織、器官またはサンプルに関する前記標識の存在を検出する工程を包含する、方法。

【請求項69】

Metの存在を検出するための方法であって、該Metは、(i)細胞表面上、(ii)組織内、(iii)器官内または(iv)生物学的サンプル内であり、この細胞、組織、器官またはサンプルは、Metを発現することが予想され、該方法は以下：

(a)細胞、組織、器官またはサンプルを請求項18に記載の組成物と接触させる工程 40

；  
(b)細胞、組織、器官またはサンプルに関する前記標識の存在を検出する工程を包含する、方法。

【請求項70】

前記接触および検出がインビトロである、請求項66に記載の方法。

【請求項71】

前記接触がインビボでありかつ前記検出がインビトロである、請求項66に記載の方法。 40

【請求項72】

前記接触および検出がインビボである、請求項66に記載の方法。

【請求項73】

前記接触および検出がインビボである、請求項67に記載の方法。

【請求項74】

前記接触および検出がインビボである、請求項68に記載の方法。

【請求項75】

前記接触および検出がインビボである、請求項69に記載の方法。

【請求項76】

前記検出可能な標識が放射性核種である、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記検出可能な標識が放射性核種である、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記検出可能な標識が放射性核種である、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記検出可能な標識が放射性核種である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 0】

請求項 7 6 に記載の方法であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$  および  $^{201}\text{Tl}$  からなる群から選択される、方法。 10

【請求項 8 1】

請求項 7 7 に記載の方法であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$  および  $^{201}\text{Tl}$  からなる群から選択される、方法。

【請求項 8 2】

請求項 7 8 に記載の方法であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$  および  $^{201}\text{Tl}$  からなる群から選択される、方法。

【請求項 8 3】

請求項 7 9 に記載の方法であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$  および  $^{201}\text{Tl}$  からなる群から選択される、方法。 20

【請求項 8 4】

前記検出が放射免疫シンチグラフィによってである、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記検出が放射免疫シンチグラフィによってである、請求項 8 1 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記検出が放射免疫シンチグラフィによってである、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記検出が放射免疫シンチグラフィによってである、請求項 8 3 に記載の方法。 30

【請求項 8 8】

前記放射性核種が  $^{125}\text{I}$  である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記放射性核種が  $^{125}\text{I}$  である、請求項 8 5 に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記放射性核種が  $^{125}\text{I}$  である、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記放射性核種が  $^{125}\text{I}$  である、請求項 8 7 に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記検出可能な標識が MRI 画像化可能な試薬でありかつ前記検出が MRI によってである、請求項 7 2 に記載の方法。 40

【請求項 9 3】

前記検出可能な標識が MRI 画像化可能な試薬でありかつ前記検出が MRI によってである、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記検出可能な標識が MRI 画像化可能な試薬でありかつ前記検出が MRI によってである、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記検出可能な標識が MRI 画像化可能な試薬でありかつ前記検出が MRI によってであ 50

る、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 96】

(i) Met 発現腫瘍細胞の増殖、遊走もしくは浸潤、または (ii) Met 発現腫瘍細胞によって誘導される脈管形成を阻害するための方法であって、該細胞を、有効量の請求項 45 に記載の治療用組成物に接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 97】

(i) Met 発現腫瘍細胞の増殖、遊走もしくは浸潤、または (ii) Met 発現腫瘍細胞によって誘導される脈管形成を阻害するための方法であって、該細胞を、有効量の請求項 46 に記載の治療用組成物に接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 98】

(i) Met 発現腫瘍細胞の増殖、遊走もしくは浸潤、または (ii) Met 発現腫瘍細胞によって誘導される脈管形成を阻害するための方法であって、該細胞を、有効量の請求項 47 に記載の治療用組成物に接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 99】

(i) Met 発現腫瘍細胞の増殖、遊走もしくは浸潤、または (ii) Met 発現腫瘍細胞によって誘導される脈管形成を阻害するための方法であって、該細胞を、有効量の請求項 48 に記載の治療用組成物に接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 100】

前記接触がインビボである、請求項 96 に記載の方法。

【請求項 101】

前記接触がインビボである、請求項 97 に記載の方法。

【請求項 102】

前記接触がインビボである、請求項 98 に記載の方法。

【請求項 103】

前記接触がインビボである、請求項 99 に記載の方法。

【請求項 104】

前記治療用組成物が注射または注入に適する形態である、請求項 100 に記載の方法。

【請求項 105】

請求項 100 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 106】

前記治療用組成物において、前記治療部分が放射性核種である、請求項 105 に記載の方法。

【請求項 107】

前記治療用組成物が注射または注入に適する形態である、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 108】

請求項 101 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 109】

前記治療用組成物において、前記治療部分が放射性核種である、請求項 108 に記載の方法。

【請求項 110】

前記治療用組成物が注射または注入に適する形態である、請求項 102 に記載の方法。

【請求項 111】

請求項 102 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 112】

10

20

30

40

50

前記治療用組成物において、前記治療部分が放射性核種である、請求項 1 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 3】

前記治療用組成物が注射または注入に適する形態である、請求項 1 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 4】

請求項 1 0 3 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 1 1 5】

前記治療用組成物において、前記治療部分が放射性核種である、請求項 1 1 4 に記載の方法。 10

【請求項 1 1 6】

( i ) M e t 発現細胞の望ましくない増殖、遊走もしくは浸潤、または ( i i ) M e t 発現細胞によって誘導される望ましくない脈管形成に関する癌性疾患または状態を有する被験体を処置するための方法であって、有効量の請求項 4 5 に記載の治療用組成物を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項 1 1 7】

( i ) M e t 発現細胞の望ましくない増殖、遊走もしくは浸潤、または ( i i ) M e t 発現細胞によって誘導される望ましくない脈管形成に関する癌性疾患または状態を有する被験体を処置するための方法であって、有効量の請求項 4 6 に記載の治療用組成物を該被験体に投与する工程を包含する、方法。 20

【請求項 1 1 8】

( i ) M e t 発現細胞の望ましくない増殖、遊走もしくは浸潤、または ( i i ) M e t 発現細胞によって誘導される望ましくない脈管形成に関する癌性疾患または状態を有する被験体を処置するための方法であって、有効量の請求項 4 7 に記載の治療用組成物を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項 1 1 9】

( i ) M e t 発現細胞の望ましくない増殖、遊走もしくは浸潤、または ( i i ) M e t 発現細胞によって誘導される望ましくない脈管形成に関する癌性疾患または状態を有する被験体を処置するための方法であって、有効量の請求項 4 8 に記載の治療用組成物を該被験体に投与する工程を包含する、方法。 30

【請求項 1 2 0】

請求項 1 1 6 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 1 2 1】

請求項 1 1 7 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 1 2 2】 40

請求項 1 1 8 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 1 2 3】

請求項 1 1 9 に記載の方法であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、方法。

【請求項 1 2 4】

受入番号 P T A - 4 3 4 9 で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託された、前記ハイブリドーマ細胞株。 50

## 【請求項125】

受入番号PTA-4477でAmerican Type Culture Collectionに寄託された、前記ハイブリドーマ細胞株。

## 【発明の詳細な説明】

## 【背景技術】

## 【0001】

(発明の背景)

(発明の分野)

本発明は、医学、免疫学ならびに癌診断および癌治療の分野において、Met、オンコジーン産物を発現し、そして肝細胞増殖因子/分散因子に結合する腫瘍を画像化および処置するのに有用なモノクローナル抗体(mAb)組成物に関する。

10

## 【0002】

(背景技術の説明)

心血管医学の分野において、生物医学の画像化が、危険の合理的評価を可能にする因子の可視化および定量化、従って、治療の選択の案内に成功している。本発明者らは、身体的ストレス試験または薬理的ストレス試験(「心臓危険性層別化」として公知のプロセス)と組み合わせた非侵襲性の画像化方法によって心筋灌流を日常的に評価する。腫瘍学の分野では、遅れを取っているが、最近の進歩は、新たに診断され、臨床的に制限された癌を持つほとんどまたは全ての患者が、「転位性危険性層別化」(MRS)として役立つ(またはこれに寄与する)試験を受けることを可能にし得る平行するアプローチの進歩につ

20

## 【0003】

全ての分裂細胞は、腫瘍になる可能性を有し、そして全ての腫瘍が、率直に言って悪性腫瘍(すなわち、侵襲し、転移し得る)となる可能性を有する。20年以上の間、分子腫瘍学者が、発癌および癌の進行に重要で、特徴的な、および潜在的に診断する分子を20年以上の間探し求めてきた。現在、非常に行き渡った遺伝子発現微量検定法分析および数千の分子に対するプロテオーム解析を同時に実施する技術能力を備えた、プロセスが、加速している(Takahashi Mら、2001、Proc Natl Acad Sci USA 98:9754-9759およびPCT公開WO02/079411A2; Huang Yら、2001、Proc Natl Acad Sci USA 98:15044-15049; Miller JCら、「Antibody microarray profiling of human prostate cancer sera: antibody screening and identification of potential biomarkers」Proteomics, in press、2002)。この技術により調べられたあらゆる型の癌について「非常に悪性の」状態を決定するのに役立つか、またはこの状態の外部の腫瘍の指標として働き得る候補分子の一覧がますます増加している。増加するデータの山から、少なくともいくつかの分子が、悪性癌そのものを処置するのに有用なマーカーおよび処置のための標的として現れることが期待される。一方、その存在および発現形態が、転移の危険性に関するいくつかの分子が、遺伝子発現分析技術における最近の急増の前に公知であった。MRSのための、または少なくとも将来のMRSアルゴリズムのための原型としてこれらの分子の開発が、まさに始まったところである。1つのこのような例は、Metとして公知の分子である。

30

40

## 【0004】

50

c - met - プロトオンコジーンのタンパク質産物である Met は、1984 初頭、National Cancer Institute にて George Vande Woude の研究室において発見され、研究された (Cooper CS ら、1984、Nature 311: 29 - 33; Dean M ら、1985、Nature 318: 385 - 388; Iyer A ら、1990、Cell Growth Differ 1: 87 - 95)。Met は、表皮増殖因子 (EGF) レセプターとして同じファミリーのレセプタープロテインチロシンキナーゼである。この膜貫通タンパク質は、細胞外ドメイン (ECD) が、肝細胞増殖因子 / 分散因子 (HGF / SF、また本明細書中に省略される HGF) と結合する細胞表面膜レセプターとして作用する。Met は、リガンドと結合して活性キナーゼを形成する後に二量体化する。細胞内チロシンキナーゼドメインは、生化学反応の複合体カスケードを活性化する。通常の下で、Met は、要となる分子であり、細胞分化、運動性、増殖、器官形成、脈管形成、およびアポトーシスの原因である分子シグナル伝達経路において作用する (Haddad R ら、2001、Anti cancer Res 21: 4243 - 4252)。腫瘍細胞において、Met および HGF の異常な発現は、侵襲性 / 転移性の表現型の発現に導く。これを支持するものは、多くの型のヒト固体腫瘍 (頭部および頸部、甲状腺、肺、胸、腹、肝臓、膵臓、結腸および腸、腎臓、膀胱、前立腺、卵巣、子宮、皮膚、骨、筋肉、ならびに他の結合組織が起源である癌を含む) のトランスフェクション実験および回顧的分析の結果である。Haddad ら、前述; (Stuart, KA ら (2000) Int J Exp Path 81: 17 - 30; van der Voort, R ら (2000) Adv Cancer Res 79: 39 - 90)。HGF による Met 活性のパラクリン機構およびオートクリン機構の両方が、ヒト腫瘍において生じる。さらに、生殖細胞系統で遺伝したか、または散発性の癌において見出されるかのいずれかの Met における変異の活性化が、種々のヒト癌の一因であることが、示されてきた。(Schmidt L ら、1997、Nat Genet 16: 68 - 7313)。

腫瘍のスペクトルの全域で、一般に Met - HGF 発現のレベルは、臨床的結果と逆に相関する。この相関は、ヒト乳癌および前立腺癌腫について最も詳細に検証されてきた。胸部腫瘍中での Met の過剰発現は、乳癌の進行と関係し、(Niemann C ら、1998、J Cell Biol 143: 533 - 545; Tsarfaty I ら、1999、Anal Quant Cytol Histol 21: 397 - 408; Firon M ら、2000、Oncogene 19: 2386 - 2397)、そして、高度な HGF 発現はまた、腺管乳癌における乏しい生存と相関する (Yamashita JI ら、1994、Cancer Res 54: 1630 - 1633; Ghousoub RAD ら、Cancer 82: 1513 - 1520)。Tsarfaty ら (前述) は、同じ原発性乳癌腫区域における腫瘍 (T) 組織に対して関与しない (N) Met 発現を定量化した。この患者群における全体の Met 分布は、 $T < N$  で 40% 以下、 $N = T$  で 40% 以下、 $T > N$  で 20% であった。正常組織よりも腫瘍においてより高い Met 発現が、乏しい患者の結果と関係した。

#### 【0005】

3つのグループ (Jin L ら、1997、Cancer 79: 749 - 760; Tuck A ら、1996、Am J Pathol 148: 225 - 232; Edakuni G ら、2001、Pathol Int'l 51: 172 - 178) が、良性の胸部組織および悪性の胸部組織における Met 発現および HGF 発現を検証し、しばしばレセプターおよびリガンドの両方が、発現され、そして、発現は、良性の胸部組織よりも、乳癌およびインサイチュの癌腫においてより高いことを見出した。Met は主に上皮乳癌細胞において検出される一方、HGF は、腫瘍細胞および細胞型間質において検出され、このことは HGF が、オートクライン機構およびパラクライン機構のいずれかまたは両方によって乳癌細胞の増殖および侵襲性に寄与することを意味する。この結論はまた、Met および HGF によるトランスフェクション後の乳癌細胞の減少した細管形成によって達成される増加した腫瘍形成活性および転移活性を示す結果によって支持される (Fi 50

r onら、前述)。Metがまた、ヒト前立腺癌腫の性質において重要な役割を果たす、臨床的証拠および実験的証拠の集合が増大している。4つの独立した研究室が、局所的な前立腺癌の約2分の1～3分の2ではあるが、これらの腫瘍の全ての骨転移によって明らかにMetの異常な発現を報告している。このことは、Metが、前立腺癌における転移性増殖について強い選択的な機構を提供することを示す(Humphrey PAら, 1995, Am J Pathol 147:386-396; Pisters LLら, 1995, J Urol 154:293-298; Watanabe Mら, 1999, Cancer Lett 141:173-178; Knudsen BSら, 2002, Urology, 60:1113-1117)。

【0006】

単純に考えて、より良好になるまで、または良好にならない限り、Metは、(1)非常に悪性の癌が器官の組織に独立してMetを発現し、そして(2)Metが、癌に対する組織特異的マーカーではなくプロセス特異的マーカーであり、腫瘍起源の指標ではなく腫瘍密度の指標である点で、非常に悪性癌の「代名詞」とみなし得る。

【0007】

これらの意見を頭に置いて、本発明者らは、Metを利用するための分子画像化を利用することを提示して、インビボでの特定の固形腫瘍におけるMet発現の状態を決定し、そしてその情報を供給されて、より好ましい臨床結果に向かって腫瘍の運命を変えるMet特異的治療を設計する。

【0008】

本開示は、分子画像化手段の進歩を記載し、そして細胞レベルでMetの性質を明瞭にするようにアプローチをし、これらのアプローチをインビボでのヒト癌の動物モデルに、および天然に存在するヒト癌に適用する。

【0009】

本発明者らおよび同僚は、分子画像化としてMetを利用するようアプローチし、そして治療標的は、4つの一般的な領域に入る：

- 1 顕微鏡的分子画像化：免疫組織化学、免疫蛍光(IF)、および共焦点レーザー走査顕微鏡(CLSM)
- 2 核分子画像化：放射免疫シンチグラフィ
- 3 「誘発的」機能分子画像化：磁気共鳴画像化および超音波検査による腫瘍生理学の評価
- 4 癌治療のMet特異的形態

本発明は、主に上記アプローチ番号2に焦点が当てられ、番号4の下で発展に導く。

【0010】

多くの刊行物が抗Met抗体を開示する。Schwallに対する米国特許第5,686,292号、同第6,207,152号、同第6,214,344号(1997年11月11日、2001年3月27日、および2001年4月10日それぞれ、mAbs、特にHGFレセプターのアンタゴニストである一価抗体および癌を処置するそれらの使用を開示する。)これらの文書は、これらの抗体またはフラグメントを用いるインビボでの診断に言及していない。

【0011】

米国特許第6,099,841号(Hillanら)(2000年8月8日)は、HGFレセプターアンタゴニストである抗体およびフラグメントを開示する。この文書は、これらの分子が、HGFレセプター活性化を実質的に高めるのに使用され得、薬学的組成物、製造物品、またはキットに含まれ得ることを開示する。これらの分子HGFレセプターアンタゴニストを使用する処置およびインビボでの診断の方法もまた、開示される。インビボでの診断に関して開示されていることは、「インビボでの画像化アッセイのような、当該分野で公知の種々の診断アッセイが使用され得、...」というあいまいな供述のみである。より注意が払われるインビボでのみの使用は、肝細胞増殖を刺激することである。

【0012】

10

20

30

40

50

Pratら, *Mol Cell Biol* 11:5954-5962 (1991)は、c-Met遺伝子によりコードされる鎖の細胞外ドメインに特異的ないくつかのmAbを記載した(WO92/20792もまた参照のこと)。mAbを、Metを過剰発現する全ての生存するGTL-16細胞(ヒト胃癌腫細胞株)によるマウスの免疫後に選択した。ハイブリッド上清を、GTL細胞への結合のためにスクリーニングした。DL-21、DN-30、DN-31およびDO-24として呼ばれる4つのmAbを、選択した。Pratら, *Int J Canc* 49:323-328 (1991)は、ヒト通常組織および腫瘍組織におけるMetタンパク質の分布を検出するための抗-c-Met mAbを記載した。Yamadaら, *Brain Res* 637:308-312 (1994)もまた、参照のこと。mAb DO-24が、IgG2aアイソタイプ抗体であると報告された。 10

【0013】

Crepaldiら, *J Cell Biol* 125:313-320 (1994)は、mAb DO-24およびmAb DN-30(前述)およびmAb DQ-13を用いて上皮の組織およびMDCK細胞単層におけるHGFレセプターの細胞下分布を同定することを報告した。この文書に従って、DQ-13を、ヒトc-Metの19C末端アミノ酸(Ser<sup>1372</sup>~Ser<sup>1390</sup>)に対応するペプチドに対して惹起した。

【0014】

ヒトc-Metの細胞質ドメインに特異的なmAbは、Bottaroら, *Science* 251:801-804 (1991)によって記載された。 20

【0015】

Silvagnoら, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:1857-1865 (1995)は、インビボでのMetアンタゴニスト抗体を使用してMatrigel(登録商標)プラグにおける血管形成を促進することが記載された。

【0016】

Hillanら(前述)に従って;上で引用されたいくつかのmAbは、Upstate Biotechnology Incorporated, Lake Placid, NYから市販されていた(細胞外エピトープに特異的なDO-24およびDL-21、細胞内エピトープに特異的なDQ-13)。 30

【0017】

(腫瘍画像化)

放射免疫シンチグラフィは、癌の実験的および臨床的分子画像化について重要かつ魅力的な様式である。実質的に任意の所定のタンパク質抗原(複合体タンパク質混合物の少量成分として、または全細胞の少量表面成分として存在するものとしてさえ)に対して反応性のmAbを惹起し、特徴付けし、増殖させ得る。適切な量における放射標識mAbについての、およびシンチグラフィについての適切な量の確立された方法は、入手可能で、実現可能で、比較的安価で、そしてエピトープの特異性に関係無く実質的に任意のmAbに適合可能である。新しい放射標識方法は、連続的に出現し、そして多くの研究室は、全長キメラ分子およびヒト化分子から単量体抗体フラグメントおよび多量体抗体フラグメントまでの、(あるいは)免疫結合体までの広範な抗体誘導体を、改善された標的選択性およびより好ましい生物学的代謝回転力学を持つ潜在的により優れた画像化剤および治療剤として評価している。(プログラムおよび要旨, *Ninth Conference on Cancer Therapy with Antibodies and Immunconjugates*, 2002, *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* 17:465-494)。 40

【0018】

さらに、実験動物におけるおよびヒトにおける放射免疫シンチグラフィを実施するのに必要な試薬、供給品、および装置は一般的である。何十年もの間、使わなかったかまたは修復した臨床的カメラが、動物画像化適用について十分であると証明され、そしてこ 50

れらはそうであり続けている。小動物画像化のために適合された改変したまたは特注のカメラが、より広く入手可能になっている。

【0019】

分子画像化様式としてのシンチグラフィの主な利点（抗体による画像化に限定されない）は、得られた画像が、本質的に定量的であるということである。放射の物理学および核画像の数学的分析（光子減衰および他のアーチファクトについての補正を含む）は、十分に理解されている。動物モデルおよびヒト研究において、本発明者らは、標的病変との放射性薬品相互作用の正味の集積および幾つかの速度論的パラメータを非侵襲的かつ正確に測定し得、そして診断画像の定量的分析と組み合わせられた直接計数のための生物学的サンプルのなお小さなセット（例えば、血液および排出物）の同時収集は、治療目的についての有用な線量測定概算の作成を可能にする。

【0020】

多くの異なる放射性薬品は、画像化新生物に利用可能である。それらは、古典的な薬剤（例えば、ヨウ化ナトリウム（ $\text{Na} - ^{131}\text{I}$ ）、塩化タリウム（ $^{201}\text{TlCl}$ ）、およびクエン酸ガリウム（ $^{67}\text{Ga}$ -クエン酸））から、高度に選択的な陽電子-放射レポーター遺伝子検出システム（Val labhajosula S (2001), Nuclear Oncology. I Khalkhaliら, 編 Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. pp. 31-62; Iyer Mら (2001) J Nucl Med 42, 96-105)までの範囲である。特定の細胞表面成分に結合する放射標識された分子は、腫瘍画像化および治療への1つの首尾良いアプローチを提供する。例としては、神経内分泌新生物を画像化および潜在的に処置するためのOctreoScan（登録商標）、結腸大腸癌および卵巣癌を画像化するためのCEAScan（登録商標）およびOncoscint（登録商標）、ならびに特定のリンパ腫を検出および処置するためのBexxar（登録商標）およびZevalin（登録商標）である。

【0021】

このストラテジーの新規なバリエーションとして、本発明者らは、放射性薬品（ならびに関連する診断薬剤および治療薬剤）を開発し始め、この放射性薬品は、Met癌遺伝子産物の標的化に基づく、起源組織による以外の新生物の表現型および侵襲性/転移性の可能性に従って、新生物を区別するように設計される。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0022】

（発明の要旨）

診断薬剤および治療薬剤として組織特異的mAbを用いる新規なバリエーションとして、本発明者らは、放射性薬品の形態で例示される、抗体ベースの薬剤を開発し、この薬剤は、起源組織による以外の表現型および侵襲性/転移性の可能性に従って、新生物を区別する。このような抗体は、Met癌遺伝子タンパク質産物の細胞外エピトープに特異的である。本発明者らは、ヒトMet（「hMet」または「huMet」）のECDに対してmAbを惹起および特徴付けした；それらはまた、ヒトHGFに特異的な抗体（「hHGF」または「huHGF」）を産生した。それらは、最近、単一のmAb以外の、異なるエピトープ特異性を有する少なくとも3つの抗HGF mAbの混合物が、インビボでHGFによるMetの活性化を遮断するのに必要であったと報告された（Caobら (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98: 7443-7448; 同時係属PCT出願, Caora, WO01/34650（これらは、その全体が本明細書で参考として援用される））。

【0023】

MetおよびHGFに対して反応性の放射標識されたmAbと、特に、hHGFおよびhMetの両方を産生する腫瘍との混合物を用いる腫瘍の画像化が、本明細書に開示され、それゆえに、オートクライン様式で増殖するように刺激される。本発明者らは、抗hM

e t 抗体および抗 h H G F 抗体またはそれらの組み合わせを使用して、これらの m A b が、特異的である（ヌードマウスにおいて）タンパク質を発現または分泌するヒト腫瘍をインビボで画像化し得ることを発見した。

【0024】

幾つかの新規な抗 M e t m A b を h M e t に対して産生し、そして特徴付けた。これらの m A b を産生するハイブリドーマ細胞株を、受託番号 P T A - 4 3 4 9 および P T A - 4 4 7 7 の下、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託した。

【0025】

これらの抗体（M e t 3 および M e t 5）は、イムノアッセイ（例えば、E L I S A）において、または高レベルの h M e t を発現することが既知の腫瘍細胞に対する間接的 I F において、または生物学的活性もしくは生化学的活性の抗体阻害（例えば、スキッターアッセイまたはウロキナーゼ - 刺激アッセイにおいて）によって、h M e t に結合する。

10

【0026】

放射標識単独または抗 H G F m A b の中和混合物との組み合わせのいずれかの、2 F 6 と称される1つのハイブリドーマ由来の放射性ヨウ素化抗 h M e t m A b (= M e t 3) は、そのような腫瘍を保有するマウスのガンマカメラシンチグラフィによって実証されるように、h M e t および h H G F についての腫瘍オートクラインを迅速かつ有効に検出した。

20

【0027】

少なくとも2つの抗 h M e t m A b は、M e t と結合する場合にはアゴニストであることが示された。少なくとも1つの抗 M e t m A b は、M e t と結合する場合には強力なアンタゴニストであった。

【0028】

従って、本発明は、以下の新規な m A b に関する：

( a ) 受託番号 P T A - 4 3 4 9 の下で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生された m A b M e t 3 ; および

( b ) 受託番号 P T A - 4 4 7 7 の下で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生された m A b M e t 5 、

30

または抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

【0029】

a h a m A b 、またはその抗原結合フラグメントもしくは誘導体は、上記の m A b 、フラグメントまたは誘導体の同定生物学的特徴を全て有することもまた、意図される。

【0030】

1つの実施形態は、M e t に特異的なヒト化 m A b （または抗原結合フラグメントもしくは誘導体）を含み、ここで抗 M e t m A b の重鎖領域および/もしくは軽鎖 V 領域、または V 領域の抗原結合部位は、上記の新規な m A b の対応する領域または部位の全ての同定的生物学的特徴または構造的特徴を有し、そしてヒト化 m A b の実質的に残り全ては、ヒト起源である。上記 m A b （M e t 3 または M e t 5）が結合するエピトープと同じエピトープに結合する M e t エピトープに特異的なヒト m A b 、またはヒト抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体もまた、含まれる。

40

【0031】

上記 m A b 、フラグメントまたは誘導体を含む組成物もまた、意図される。この組成物は、M e t に特異的な1つ以上のさらなる抗体をさらに含み得るか、またはさらなる1つ以上の抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体を含み得る。上記組成物は、H G F に特異的な1つ以上の抗体、フラグメントもしくは誘導体をさらに含み得る。好ましくは、抗 H G F は、以下かなる群より選択される：

50

( a ) 受託番号 P T A - 3 4 1 4 の下で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生された m A b ;  
 ( b ) 受託番号 P T A - 3 4 1 6 の下で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生された m A b ;  
 ( c ) 受託番号 P T A - 3 4 1 3 の下で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生された m A b ;  
 および

( d ) 受託番号 P T A - 3 4 1 2 の下で A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生された m A b .

【 0 0 3 2 】

上記の好ましい組成物は、この組成物における少なくとも1つの抗体が、適切な診断的標識または検出可能な標識、好ましくは、インビボで検出可能な標識を保有する(それらの標識に結合する、それらの標識と結合体化される、それらの標識により標識される)点において、診断的に有用である。好ましい検出可能な標識としては、放射性核種 P E T 画像化可能剤 M R I 画像化可能剤、蛍光物質 ( f l u o r e s c e r )、蛍光原 ( f l u o r o g e n )、発色団、色素原、リン光物質 ( p h o s p h o r e s c e r )、化学発光物質 ( c h e m i l u m i n e s c e r ) または生体発光物質 ( b i o l u m i n e s c e r ) が挙げられる。このような標識は、組織サンプル中の M e t レベルまたは H G F レベルの検出または定量を可能にし、そして、それゆえに、M e t の発現もしくは増強された発現(または H G F のその結合)が、病理学的診断マーカーおよび/または治療標的として振る舞うか、または役立つ疾患、特に、癌における診断ツールおよび予後判定ツールとして使用され得る。好ましい放射性核種は、<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>35</sup>S、<sup>99</sup>Tc、<sup>123</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>111</sup>In、<sup>97</sup>Ru、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>72</sup>As、<sup>89</sup>Zr および <sup>201</sup>Tl かなる群より選択される。最も好ましい標識は、<sup>125</sup>I である。好ましいインビボでの検出は、放射免疫シンチグラフィによる。

10

20

【 0 0 3 3 】

診断的抗体組成物において、蛍光物質または蛍光原は、好ましくは、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o - フタルデヒド、フルオレサミン、フルオレセイン誘導体、O r e g o n G r e e n、R h o d a i m i n e G r e e n、R h o d o l G r e e n または T e x a s R e d である。

30

【 0 0 3 4 】

好ましくは、診断標識は、タンパク質に結合された1つ以上のジエチレントリアミン五酢酸 ( D T P A ) 残基を介して抗体タンパク質に結合される。好ましい実施形態において、標識は、1つの D T P A 残基を介して結合される。抗体が、1つ(またはそれより多い) D T P A に結合している M R I のための好ましい診断組成物は、金属原子に結合している。1つの好ましい診断方法は、これらの標識されたタンパク質を使用する M R I である。M R I に有用な多数の金属(放射性同位体ではない)としては、ガドリニウム、マンガネーゼ、銅、鉄、金およびユーロピウムが挙げられる。ガドリニウムが、最も好ましい。一般的に、診断用途における検出可能性に必要な標識された抗体の量は、考慮(例えば、年齢、状態、性別)および患者における疾患の程度、禁忌、必要ならば、他の変数に依存して変化し、そして、個々の医師または診断医により調整されるべきである。投薬量は、各単一の抗体または抗体の組み合わせにつき、0 . 0 1 m g / k g ~ 1 0 0 m g / k g で変化し得る。

40

【 0 0 3 5 】

本発明は、( i ) 細胞表面上、( i i ) 組織中、( i i i ) 器官、または( i v ) 生物学的サンプル中の、M e t の存在を検出するための方法を提供し、これらの細胞、組織、器官またはサンプルは、M e t を発現していると疑われ、この方法は、以下の工程を包含する：

( a ) 細胞、組織、器官またはサンプルと上記のような診断組成物とを接触させる工程

50

;

(b) 細胞、組織、器官またはサンプルに関連する標識の存在を検出する工程。

## 【0036】

この方法において、接触させる工程および検出する工程は、インビトロであり得；接触させる工程は、インビボ、そして検出する工程は、インビトロ、または好ましくは、接触させる工程および検出する工程は、インビボであり得る。この方法は、診断、予後判定、および/またはモニタリング（例えば、治療後）の目的のために実施され得る。インビボにおいて、検出は、好ましくは、上記のような放射性核種によりのものであり、好ましくは、放射免疫シンチグラフィによるものである。この方法はまたMRI画像化可能剤である検出可能な標識を利用し得、そしてMRIを使用して、Met発現腫瘍の結合および局在化を検出し得る。

10

## 【0037】

Met発現癌の進行を決定する方法であって、この方法は、以下の工程を包含する：

a) 癌を有する患者由来の組織サンプルと上記のような抗体組成物とを接触させる工程

;

b) 抗体のMetへの結合を検出する工程；

c) サンプル中のMet（またはHGF）の量を測定する工程；ならびに

d) 抗体結合と癌発生の臨床的に規定された病期とを相関させる工程。

## 【0038】

患者におけるMet発現癌の存在を検出するための方法であって、この方法は、以下の工程：

20

a) 被験体由来の組織サンプルと上記抗体組成物とを接触させる工程；

b) サンプル中のMet（および、必要に応じて、HGFを伴う）と抗体との結合を検出する工程、

を包含し、それにより、コントロール組織サンプルから抗体への抗原の結合に対して、抗原の抗体への結合の増加が、サンプル中のMetの量の増加を示し、それにより、Metの量の増加が、サンプル中の癌性組織の存在を示す。

## 【0039】

Met発現腫瘍を処置するのに有用な治療組成物もまた、提供され、ここで、少なくとも1つの抗体（またはフラグメントもしくは誘導体）は、適切な治療「標識」（本明細書で「治療的部分」ともいわれる）を保有する。治療的部分は、MetおよびHGFの発現に関連する疾患または状態を処置する際に、それを活性化させるタンパク質に加えらるる、原子、分子、化合物、または任意の化学成分である。治療的に活性な部分は、タンパク質に直接的または間接的に結合され得る。治療的に標識されたポリペプチド（抗体、フラグメント、誘導体）タンパク質は、薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む医薬組成物として投与され、好ましくは、注入に適した形態である。

30

## 【0040】

好ましい治療的部分は、放射性核種（例えば、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ または $^{217}\text{Bi}$ ）である。

40

## 【0041】

本発明は、製造の物品および関連するキットを含む。キットは、以下：

a) 上記のような抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、標識された第1の容器；

b) 診断的にもしくは薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、標識された第2の容器；ならびに

c) 抗体を使用して、被験体における癌性状態もしくは腫瘍を診断、予後判定、モニタリング、または処置するための指示書であって、ここで、被験体における癌細胞または腫瘍細胞が、Metを発現する、指示書、

を含み得、ここで、抗体、フラグメントまたは誘導体は、状態を診断、予後判定、モニタリングまたは処置するのに有効であり、かつ、標識された容器上の標識は、抗体が、類似

50

の場合を診断、予後判定、モニタリングまたは処置するために使用され得る。

【0042】

(i) Met 発現腫瘍細胞の増殖、移動、もしくは浸潤、または(ii) Met 発現腫瘍細胞によって誘導される脈管形成を阻害するための方法もまた、提供され、この方法は、細胞と有効量の上記治療組成物とを接触させる工程を包含する。好ましくは、接触させる工程は、インビボである。

【0043】

処置方法において、治療組成物は、好ましくは、少なくとも1つの抗体、フラグメントまたは誘導体が、治療的部分に結合し、治療的部分と結合体化し、あるいは治療的部分により標識される治療組成物である。

【0044】

本発明は、(i) Met 発現細胞の所望でない増殖、移動もしくは浸潤、または(ii) Met 発現細胞によって誘導される所望でない脈管形成、に関連する癌性疾患または状態を有する被験体を処置するための方法を提供し、この方法は、有効量の上記治療組成物、好ましくは、少なくとも1つの抗体、フラグメントまたは誘導体が、治療的部分に結合し、治療的部分と結合体化し、あるいは治療的部分により標識される治療組成物を、被験体に投与する工程を包含する。

【0045】

(好ましい実施形態の説明)

Met および/またはそのリガンドである HGF の不適切な発現は、種々のヒト固形癌において、芳しくない予後に関連する。本発明者らは、いくつかの新規の抗 Met mAb および/または1つ以上の抗 HGF mAb との抗 Met mAb の組み合わせを使用して、インビボでの腫瘍における Met および HGF の発現の核画像化のための動物モデルを開発した。本発明者らは、ヌードマウス中の Met 発現腫瘍異種移植片が、放射標識した抗 Met 単独または抗 HGF mAb との組み合わせの注射の1時間後には、ある場合において、注射後約3日に起こるピークの画像コントラスト(腫瘍における活性対体全体における活性)を有して、視覚化され得ることを開示した。Met 発現腫瘍異種移植片は、見積もられた注射活性の約5%~20%の照射線標識した mAb の最初の取り込みの範囲を示す。腫瘍関連放射活性は、ピーク画像コントラストにおいて、体全体の活性の約10%~約40%に相当した。放射標識 mAb の転換は、高い初期取り込み値を示す腫瘍異種移植片において、実質的により迅速なようであった。

【0046】

次の説明において、免疫学、細胞生物学および分子生物学の当業者に公知の種々の方法論に対して参照がなされる。参照がなされるそのような公知の方法論を記載する出版物および他の資料は、完全に記載されているかのように、その全体が参考として本明細書中に援用される。免疫学の一般原理を記載する標準的参考文献としては、A. K. Abbas ら、Cellular and Molecular Immunology (第4版)、W. B. Saunders Co., Philadelphia, 2000; C. A. Janeway ら、Immunobiology. The Immune System in Health and Disease, 第4版, Garland Publishing Co., New York, 1999; Roitt, I. ら、Immunology (現在の版) C. V. Mosby Co., St. Louis, MO (1999); Klein, J., Immunology, Blackwell Scientific Publications, Inc., Cambridge, MA, (1990) が挙げられる。

【0047】

抗体は、免疫グロブリン(Ig)分子としても公知のポリペプチドであり、これは、特定の抗体またはエピトープへの結合特異性を示す。用語「抗体」の本使用は、広く、従来のインタクトな4鎖Ig分子(IgG抗体、IgA抗体およびIgE抗体の特徴)を越えて拡張される。抗体は、ポリクローナル抗体(例えば、分画された免疫血清または分画さ

れない血清)またはmAb(以下を参照のこと)の形態において、起こり得る。また、1つより多くの抗原特異性を有するIg分子(例えば、2つの異なる抗体由来の抗原結合領域または抗原結合鎖を結合することによって形成される二重特異的抗体)が、含まれる。抗体は、代表的には、特定の抗原に対する結合特異性を示すポリペプチドである。天然のIg分子は、代表的にはヘテロテトラマー糖タンパク質(2つの同一の軽鎖(L)および2つの同一の重鎖(H)から構成物され、各L鎖は、1つの鎖間ジスルフィド結合によって、H鎖に結合される)である。さらなるジスルフィドが、2つのH鎖を架橋する。各H鎖およびL鎖は、規則正しく間隔のあいた鎖内ジスルフィド結合を有する。各H鎖およびL鎖のN末端は、可変(V)ドメインまたは領域(V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>)を含む。V<sub>H</sub>ドメインのC末端側に、多くの定常(C)ドメイン(C<sub>H</sub>)があり; L鎖は、そのc末端で、単一Cドメインのみを有する(CLと称される)。特定のアミノ酸残基は、V<sub>H</sub>ドメインとV<sub>C</sub>ドメインとの間のインターフェースを形成する。脊椎動物のL鎖はそれらのC末端のアミノ酸配列に基づいて、2つの別個の型(アイソトープともまた呼ばれる、および)のうちの1つに割り当てられる。それらのC<sub>H</sub>ドメインの配列に依存して、Igは、異なるクラス: IgG、IgM、IgA、IgEおよびIgDのメンバーであり、それぞれ、μ、およびと称されるそれらのH鎖によって同定される。いくつかのサブクラスまたはアイソタイプが、公知である(例えば、IgGアイソタイプIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>およびIgG<sub>4</sub>(それぞれ1、2、3および4として公知なH鎖を含む)またはIgAアイソタイプIgA<sub>1</sub>およびIgA<sub>2</sub>(それぞれ1および2として公知のH鎖を含む)。

10

20

#### 【0048】

抗体分子の記載されるドメインまたは領域に対して使用される場合、用語「可変」は、異なる抗体間で異なり、また、抗体の抗原特異性を担う、アミノ酸配列をいう。配列可変性は、V領域を通じて等しく分配されるが、代表的にはV<sub>H</sub>ドメインまたはV<sub>L</sub>ドメインに存在する、3つの特定領域(相補性決定領域(CDR)または、超可変領域と称される)においてより大きい。Vドメインのより高度に保存された部位は、フレームワーク(FR)領域と呼ばれる。各V<sub>H</sub>ドメインおよびV<sub>L</sub>ドメインは、代表的には4つのFR領域を含む。主として、3つのCDR領域に結合されるシート形状を採り、これは、シート構造を結合するループを形成し、また、いくつかの場合において、シート構造の一部を形成する。各鎖中のCDRは、FR領域によって非常に近位に保持され、また、他の鎖からのCDRを有し、抗原結合部位(Kabat, E. A.ら、Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, MD(1987))の形成に寄与する。Cドメインは、抗原結合において直接的に関連しないが、種々のエフェクター機能(オプソニン作用、相補的固定および抗体依存細胞毒性)を示す。

30

#### 【0049】

Ig分子(Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、FvまたはscFvフラグメント(全てが当該分野において周知である)を含む)の抗原結合フラグメントはまた、抗体の定義中に含まれる。FabおよびF(ab')<sub>2</sub>フラグメントは、インタクトな抗体のFcフラグメントを欠き、循環からより迅速に除去され、また、インタクトな抗体よりもより低い非特異的組織結合を有し得る(Wahlら、J Nucl. Med. 24: 316-325(1983))。Fabフラグメント(および単一の抗原結合部位のみを有する一価抗体の他の形態)は、他の公知の利点を有する(特に、インビボでのMet保有細胞への抗体の侵入またはMetの活性化、および確かめられたシグナル伝達経路を避けるか、あるいは制限することが好ましい場合)。本発明において有用である抗体のFab、F(ab')<sub>2</sub>、FvおよびscFvフラグメントまたは形態が、Metタンパク質の検出、定量または単離、ならびにインタクトな抗体の場合と同様の様式でMet発現腫瘍の診断または治療のために使用され得ることが理解される。従来のは、代表的には、酵素(例えば、パパイン(Fabフラグメントについて)またはペプシン(F(ab')

40

50

2 フラグメントについて)を使用するタンパク質溶解性分裂によって生成される。Fvフラグメントは、(Hochman, J.ら、1973, Biochemistry 12: 1130-1135; Sharon, J.ら、1976, Biochemistry 15: 1591-1594)中に記載される。scFvポリペプチドは、目的のIg由来の超可変領域を含み、インタクトなIgのサイズの画分の間、天然のIgの抗原結合部位を再生成する(Skerra, A.ら、(1988) Science, 240: 1038-1041; Pluckthun, A.ら、(1989) Methods Enzymol. 178: 497-515; Winter, G.ら、(1991) Nature, 349: 293-299); Birdら、(1988) Science 242: 423; Hustonら、(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879; 米国特許第4,704,692号,同第4,853,871号,同第4,94,6778号,同第5,260,203号,同第5,455,030号)。異なる特異性の抗体由来の1つのよりも多く抗原結合抗体フラグメントを結合することによって形成される二量体抗体および複数特異的抗体は、抗体として含まれる。

#### 【0050】

本明細書中で使用される「モノクローナル抗体またはmAbは、実質的に単一Bリンパ球クローンの生成物である抗体の(全体でない場合)均質な集団の一部である抗体をいう。mAbは、当該分野において周知であり、それは、従来の方法を使用して製造される;例えば、KohlerおよびMilstein, Nature 256: 495-497 (1975); 米国特許第4,376,110号; Harlow, E.ら、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988); Monoclonal Antibodies and Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Press, New York, NY (1980); H. Zolaら、Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications, CRC Press, 1982)を参照のこと。mAbsは、同様に、組み換え的に生成され得る(例えば、米国特許第4,816,567号に従う)。mAbは、単一種由来であり得る(例えば、マウスmAbまたはヒトmAb)か、あるいはキメラであり得る。

#### 【0051】

本発明のmAbは、「キメラ」抗体を含むことが企図される。キメラ抗体は、Ig分子であり、ここで、分子のことなる部位は、異なる動物種由来である。例は、マウスmAb由来の可変領域およびヒトIg定常領域を有するIgである。キメラ抗体のような抗原結合フラグメントが、また意図される。キメラ抗体およびそれらの生成のための方法が、当該分野において公知である。例えば、Cabillyら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 3273-3277 (1984); Cabillyら、米国特許第4,816,567号(3/28/89)および同第6,331,415号(12/18/01); Morrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855 (1984); Boulimannら、Nature 312: 643-646 (1984); Neubergerら、Nature 314: 268-270 (1985); Sahaganら、J. Immunol. 137: 1066-1074 (1986); Liuら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 3439-3443 (1987); Betterら、Science 240: 1041-1043 (1988))を参照のこと。これらの参考文献は、本明細書中に参考として援用される。

#### 【0052】

好ましいキメラ抗体は、「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法が、当該分野において周知である。非ヒト(例えば、マウス)抗体のヒト化形態は、キメラIg、その鎖またはフラグメント(例えば、Fv、Fab、Fab'などのような)(非

ヒトIg由来の最小配列を含む)である。好ましいヒト化抗体において、ヒトIg CDR非ヒト種(ドナーまたは移植抗体(例えば、マウス、ラット、ウサギ))からの残基を受け取り、レシピエント抗体は、レシピエントCDRとドナーCDR残基とを交換する)。いくつかの実例において、ヒトIgのFvフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置換され得る。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体でも、移植されるCDRまたは構造配列においてのいずれかでも認められない残基を含み得る。一般には、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、代表的には2つのVドメインの実質的に全てを含み、ここで、非ヒトIgのそれらに対応するCDR領域の全てか、または実質的に全て、および、FR領域の全て、または実質的に全ては、ヒトIgコンセンサス配列のVドメインである。ヒト化抗体はまた、必要に応じて、ヒトIg C領域の少なくとも一部を含む(例えば、Fc) 10

Jonesら、Nature 321:522-525(1986); Reichmannら、Nature 332:323-327(1988); Presta, Curr. Op. Struct. Biol, 2:593-596(1992); Verhoeyenら、Science, 239:1534-1536(1988); 米国特許第4,816,567号)を参照のこと。

#### 【0053】

ヒト化抗体を製造するために使用されるヒトVドメイン( $V_H$  および  $V_L$ )の選択は、ヒトに対して反復的に投与される場合、生成物の抗原性を減少するために重要である。「最適に一致する」方法に従って、げっ歯類抗体のVドメインの配列は、公知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリーに対してスクリーニングされる。次いで、げっ歯類に最も近いヒト配列は、ヒト化抗体のためのヒトFRとして受け入れられる(Simsら、J. Immunol. 151:2296(1993); Chothiaら、J. Mol. Biol. 196:901(1987))。別の方法は、L鎖またはH鎖の特定の部分群の全てのヒト抗体のコンセンサス配列由来の特定のFRを使用する。同じFRが、いくつかの異なるヒト化抗体について使用され得る(Carterら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285(1992); Prestaら、J. Immunol. 151:2623-2632(1993))。 20

#### 【0054】

ヒト化抗体が、抗原に対するその(好ましくは高い)結合親和性および他の好ましい生物学的特性を保つことが、重要である。これを達成するために、ヒト化抗体は、親配列およびヒト化配列の3次元(3D)モデルを用いる親配列および種々の概念上のヒト化産物の分析のプロセスによって設計される。3D Igモデルは、市販されており、当業者に公知である。入手可能なコンピュータープログラムが、選択された候補Ig配列の有望な3D立体配座構造を例示および展示する。これらの展示の調査が、候補Ig配列の機能的な能力における特定のアミノ酸残基の可能性のある役割の分析を可能にする。この方法において、FR残基が、コンセンサス配列および導入配列から、選択され得、結合され得、その結果所望される抗体特徴が達成される。一般に、CDR残基が、抗原結合への影響に直接的におよび最も実質的に関与する(例えば、WO94/04679)。 30

#### 【0055】

ヒト抗体の産生のために、免疫化の際に、内在性Ig産生の非存在下でヒト抗体の全レパートリーを産生可能なトランスジェニック動物(例えば、マウス)が、利用される。例えば、キメラのマウスおよび生殖細胞系変異マウスにおける抗体H鎖結合領域( $J_H$ )遺伝子のホモ接合の欠失が、内因性抗体産生の完全な阻害を生じる。ヒト生殖細胞系Ig遺伝子アレイをこのような生殖細胞系変異マウスに移すことは、抗原投与の際にヒト抗体の産生を生じる(Jakobovitsら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2551-255(1993); Jakobovitsら Nature, 362:255-258(1993); Bruggermannら、Year in Immunol. 7:33(1993))。 40

#### 【0056】

ヒト抗体がまた、ファージディスプレイライブラリーにおいて産生され得る(Hoog 50

enboomら、J. Mol. Biol. 222:381(1991); Marksら、J. Mol. Biol., 222:581(1991)。CoteらおよびBoernerらの技術がまた、ヒトmAbの調製に利用可能である(Coleら、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p.77(1985)およびBoernerら、J. Immunol, 147:86-95(1991))。

【0057】

本発明のmAbまたはそれらのドメインの抗原結合フラグメントを含む、他のタイプのキメラ分子または融合ポリペプチドは、インビボで延長された半減期のために設計されたキメラ分子または融合ポリペプチドを含む。これは、IgG分子のFc領域の「サルベージレセプター」結合エピトープの配列および高次構造を最初に同定することを含み得る。「サルベージレセプター結合エピトープ」とは、本明細書中で、特定のIgG分子のインビボ半減期の増加に寄与する(他のIgクラスと比較した場合)、任意のアイソタイプのIgG分子のFc領域のエピトープまたはフラグメントをいう。一度このエピトープが同定されると、mAbの配列は同定された結合エピトープの配列および高次構造を含むように修飾される。配列を変化後、キメラを、修飾されていないIg分子またはIg鎖と比較してより長いインビボ半減期について試験する。より長い半減期が明らかでない場合、同定した結合エピトープの配列および高次構造を含むように配列をさらに変える。このキメラ分子の抗原結合活性または他の所望の生物活性が維持されることに気を付ける。サルベージレセプター結合エピトープは、一般的に、1つまたは2つのFcドメインのループの全てまたは一部と一致する領域を構成する;好ましくは、この配列は、抗Met抗体フラグメント中の類似の位置に「移植」される。好ましくは、Fcドメインの1つまたは2つのループに由来する3つ以上の残基が、移される;より好ましくは、エピトープは、IgG CH<sub>2</sub>ドメインから選ばれ、そして1つまたはそれ以上の抗Met抗体のCH<sub>1</sub>、CH<sub>3</sub>、またはV<sub>H</sub>領域に移される。あるいは、CH<sub>2</sub>ドメインに由来するエピトープは抗Met抗体フラグメントのC<sub>L</sub>ドメインまたはV<sub>L</sub>ドメインに移される。

【0058】

本明細書中で意図される、別のキメラ分子は、Ig定常ドメインまたは無関係の(異種の)ポリペプチド(例えば、アルブミン)と融合した抗Met抗体鎖またはフラグメントを含む。このようなキメラは、モノマー、ホモマルチマーまたはヘテロマルチマーとして設計され得、ヘテロダイマーが好ましい。

【0059】

別の実施形態において、キメラは、アルブミンと融合した抗Met抗体フラグメントを含む。このようなキメラは、プラスミド発現ベクターにアルブミンの全コード領域を挿入することにより構築され得る。抗体鎖またはフラグメントをコードするDNAは、アルブミンコード配列に対して5'側に、リンカーをコードする挿入物とともに挿入され得る(例えば、Gly<sub>4</sub>(Luら、FEBS Lett 356:56~59(1994))。キメラを、所望の哺乳動物細胞または酵母で発現させ得る。

【0060】

一般的に、これら様々なキメラ分子は、よりありふれたキメラ抗体と類似の方法で構築され得、ここで、ある抗体由来の可変ドメインは、他の抗体のVドメインに置換される。このような、抗体-非抗体融合物を調製する際のさらなる詳細については、例えば、Caponら、Nature 337:525(1989);Byrnら、Nature、344:667(1990)を参照のこと。

【0061】

二重特異性抗体(diabody)は、2つの抗原結合部位を有する小さな抗体フラグメントである。ここで、このフラグメントは、同じポリペプチド鎖中で、V<sub>L</sub>ドメインに結合するV<sub>H</sub>ドメインを含む(V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>)。非常に短いので、同じ鎖上の2つのドメイン間でペアリングが可能ではないリンカーを用い、ドメインを別の鎖の相補ドメインとペアを作らされ、そして2つの抗原結合部位を形成させられる。二重特異性抗体は、例えば

EP 404, 097; WO 93/11161; および Hollingerら、Proc. Natl. Acad. Sci., 90: 6444~6448 (1993)において、さらに詳細に記載される。

#### 【0062】

抗イデオタイプ(抗-I d)抗体は、一般的に、抗原結合部位と結合する独自の決定基を認識する抗体である。抗-I d抗体は、抗I dが調製されるmAbで、mAbの供給源と同じ種および遺伝子型の動物(例えば、マウスの株)を免疫することで調製され得る。免疫化された動物は、これらのイデオタイプ決定基に対する、抗体(抗-I d抗体)を産生することにより、免疫化する抗体のイデオタイプエピトープを認識しそして応答する。抗-I d抗体はまた、「免疫原」として使用され、さらに別の動物において免疫応答を誘導し、いわゆる抗-抗-I d抗体を産生し得る。抗-抗-I d抗体は、抗-I dを誘導する元のmAbとエピトープ的に同じである。従って、mAbのイデオタイプ決定基に対する抗体の使用により、同一の特異性の抗体を発現する別のクローンを同定することが可能である。従って、抗-I d mAbは、関与する場合、エピトープと構造的に類似する、それらの独自のイデオタイプエピトープ、または「イデオトープ」(例えばMetエピトープ)を有する。

10

#### 【0063】

(抗体の機能的誘導体および化学的に修飾された抗体)

抗Met抗体の化学的修飾(共有結合修飾を含む)は、本発明の範囲内である。あるタイプの修飾は、選択された側鎖またはN-またはC-末端残基と反応し得る有機誘導体化薬剤と標的アミノ酸残基を反応させることにより、分子に導入される。

20

#### 【0064】

二官能性薬剤を用いた誘導体化は、抗体(またはフラグメントまたは誘導体)を、精製法(下記)に使用される水不溶性支持マトリックスまたは表面に架橋するために、有用である。一般的に使用される架橋剤としては、以下が挙げられる:例えば、1,1-ビス(ジアゾ-アセチル)-2-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(例えば、4-アジドサリチル酸とのエステル)、ホモ二官能性イミドエステル(例えば、ジスクシンイミジルエステル(例えば、3,3'-ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート))が挙げられる)、および二官能性マレイミド(例えば、ビス-N-マレイミド-1,8-オクタン。メチル-3-[ (p-アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミデートのような誘導体化薬剤は、光を照射された場合、架橋し得る光活性化可能な中間体を形成する。プロモシアン活性炭水化物のような反応性水不溶性マトリックスおよび米国特許第3,969,287号;同3,691,016号;同4,195,128号;同4,247,642号;同4,229,537号;および同4,330,440号に記載される反応性基質は、タンパク質固定化において使用される。

30

#### 【0065】

他の修飾としては、グルタミル残基およびアスパラギン残基の、それぞれに対応する、グルタミル残基およびアスパルチル残基の脱アミド、プロリンおよびリジンのヒドロキシル化、セリル残基またはトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン側鎖、アルギニン側鎖、およびヒスチジン側鎖のα-アミノ基のメチル化(例えば、T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, (1983)を参照のこと)、N末端アミンのアセチル化、および任意のC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。修飾された形態の残基は、本発明の範囲内である。

40

#### 【0066】

ポリペプチドの天然グリコシル化パターンが変化した抗体もまた、本明細書中に含まれる。これは、1つ以上の炭水化物部分の欠失および/または天然ポリペプチド鎖に存在しない、1つ以上のグリコシル化部位を付加することを意味する。タンパク質のグリコシル化は、代表的にN連結(Asp側鎖に結合した)グリコシル化またはO連結(ヒドロキシ

50

アミノ酸、最も一般的にはSerまたはThr；おそらく、5-ヒドロキシProまたは5-ヒドロキシLysに結合した)グリコシル化である。トリペプチドAsp-Z-SerおよびAsp-Z-Thr(ここで、Zは任意のアミノ酸であるが、Proではない)は、Asp側鎖に対する炭水化物部分の酵素的連結の認識配列である。これらの配列のいずれかの存在は、潜在的なN-グリコシル化部位を形成する。O連結グリコシル化は、普通はN-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースの結合を含む。グリコシル化部位のポリペプチドへの付加は、1つ以上の上記のトリペプチド配列を含むように天然アミノ酸配列を変えること(N連結グリコシル化部位に対する)あるいは1つ以上のセリンまたはトレオニンの付加または1つ以上のセリンもしくはトレオニンによる置換(O連結グリコシル化部位に対する)により達成され得る。アミノ酸配列は、DNAレベルでの変化(例えば、前もって選択した塩基で、Igポリペプチド鎖をコードするDNAを変異することにより所望のアミノ酸をコードするコドンを生成する)で変えられ得る。例えば、米国特許第5,364,934号を参照のこと。

10

**【0067】**

ポリペプチドへのグリコシドの化学的結合または酵素的結合がまた使用され得る。使用される結合様態に依存して、糖は、(a)アルギニンおよびHis、(b)遊離カルボキシル基、(c)遊離スルフヒドリル基(例えば、Cysの遊離スルフヒドリル基)、(d)遊離ヒドロキシル基(例えば、セリン、Thr、またはヒドロキシProの遊離ヒドロキシル基)、(e)芳香族残基(例えば、Phe、Tyr、またはTrpの芳香族残基)、または(f)Glnのアミド基に付着され得る。これらの方法は、WO87/05330(11 Sept 1987)およびAplinら、CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306(1981)に記載される。

20

**【0068】**

存在する炭水化物部分の除去は、化学的にまたは酵素的に、あるいはコドンの変異置換によって(上記のように)達成され得る。化学的な脱グリコシル化は、例えば、イポリペプチドをインタクトなままにしながら、ポリペプチドをトリフルオロメタンスルホン酸、または大部分のまたは全ての糖(連結する糖(N-アセチルグルコサミンまたはN-アセチルガラクトサミン)を除く)を切断する等価の化合物に曝すことにより、達成される。Hakimuddinら、Arch. Biochem. Biophys., 259:52(1987); Edgerら、Anal. Biochem. 118:131(1981)を参照のこと。多数のエンドグリコシダーゼおよびエキソグリコシダーゼのうち任意のものが、ポリペプチドからの炭水化物部分の酵素的切断に使用される(Thotakuraら、Meth. Enzymol. 138:350(1987))。

30

**【0069】**

潜在的なグリコシル化部位でのグリコシル化は、N-グリコシド結合の形成を阻害するツニカマイシンの使用により阻害され得る(Duskinら、J Biol Chem, 257:3105(1982))。

**【0070】**

本抗体の別の型の化学修飾は、多数の異なる非蛋白性ポリマー(例えば、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン)のいずれかに1つに、米国特許第4,640,835号；同4,496,689号；同4,301,144号；同4,670,417号；4,791,192号および同4,179,337号ならびにWO93/00109に記載されるような様式で結合することを含む。

40

**【0071】**

インビボ診断および治療の使用に加えて、本発明の抗体またはフラグメントは、細胞のサンプルまたは他の生物学的サンプルにおけるMetの存在を定量的にまたは定性的に検出するために使用され得る。例えば、mAbの治療用量または治療形態を受けている被験体の循環または組織におけるMetのレベルをモニターリングすることが所望され得る。従って、本発明で有用な抗体(またはそのフラグメント)は、Met産生腫瘍細胞の存在を検出するために組織学的に利用され得る。

50

## 【0072】

本発明は、特に、HGFまたはMet-HGF複合体のMetの様々なエピトープに対して、反応性の多くの有用なmAbに関連する。最も好ましいmAbは、Metに特異的なmAb、特にMet ECD上のエピトープに特異的なmAbである。

## 【0073】

本発明のmAbおよび組み合わせは、各mAbに使用される様々な名前(いくつかは、より長い名称の略語である)とともに以下の表1に示される。これらのmAbを産生するハイブリドーマは、本願書の出願前に、American Type Culture Collection(ATCC)に寄託された。これらのATCC特許寄託名称(または登録番号)は、表1に提供される。

## 【0074】

## 【表1】

表 1

mAb 名前	ハイブリドーマ	ATCC#	Ref /コメント
ECDエピトープに特異的な抗Met mAb			
Met3	2F6-B7-A11 (“2F6”とも言われる) アイソタイプ: IgG2b/k	PTA-4349	実施例 1-3, 実施例 4
Met5	3A11-A8 (“3A11”とも言われる) IgG; アイソタイプ/	PTA-4477	実施例 5
抗 HGF mAb *			
A.1	1C10-F1-A11	PTA-3414	実施例 1-3, Ref 1, Ref 2
A.5	13B1-E4-E10	PTA-3416	実施例 1-3, Ref 1, Ref 2
A.7	15D7-B2	PTA-3413	実施例 1-3, Ref 1, Ref 2
A.10	31D4-C9-D4	PTA-3412	実施例 1-3, Ref 1, Ref 2

(\*4つの抗HGF mAb全てからなる中和混合物は、HGF-Metペアと反応性であり、実施例1~3において使用された。)

Ref 1: WO 01/34650A1

Ref 2: Cao ら, *Proc Natl Acad Sci USA* 98:7443-7448 (2001)

最初に、Met発現腫瘍の各画像化は、hMetのhHGFおよびECD(HGF結合ドメイン)に結合するmAbの混合物を放射ヨウ素標識することにより、達成された。以下の実施例1~3およびHayら, *Mol Imaging*, 2001, 1:56-62(参考としてその全体が援用される)を参照のこと。<sup>125</sup>I-mAb混合物を、いくつかのタイプの腫瘍の1つを保有するマウスに静脈内(i.v.)注射した。ある分類の腫瘍は、腫瘍が発現したhHGFを用いるhMetのオートクライン刺激により増殖した。他の腫瘍は、mHGFを用いたmMetのオートクライン分泌-パラクリン刺激により増殖した(マウスMetおよびマウスHGF)。

## 【0075】

本明細書中で例示された放射性映像アプローチとの組み合わせに加え、本発明はまた、観察された反応の分子基礎を理解するための、免疫化学的分析および生化学的分析と組み合わせた顕微鏡画像技術を含む(例えば、インビボのMet発現腫瘍の特徴を画像化するために、総細胞Metレベル、mAbへのMetの表面接触、Met活性化の状態、およびレセプターの代謝回転の速度のようなパラメーターの相対的寄与率を決定する)。

## 【0076】

(診断組成物および方法)

抗hMet mAb単独(好ましくはMet3またはMet5)、抗hMet mAbの組み合わせ(例えば、Met3+Met5)または1つ以上の抗hMet mAbの抗hHGF mAbとの組み合わせは、例えば、哺乳動物(好ましくはヒト)における新生物の放射免疫シンチグラフィによる画像化における(ならびに免疫療法および放射免疫

10

20

30

40

50

療法のための)、新規アプローチを提供する。いくつかのmAbまたはその誘導体(例えば、Bexxar(登録商標)、Oncoscint(登録商標)、ProstaScint(登録商標)、Zevalin(登録商標))は、放射免疫シンチグラフィまたは放射免疫療法のための臨床的承認を得ている。これらは全て、細胞の起源の腫瘍(例えば、癌腫、肉腫、リンパ腫など)に基づいて、新生物を標的化する。対照的に、本発明は、Metおよび/またはhHGFの不適切な発現に基づいて、新生物を標的化する。これは、組織の起源によって限定されることなく、広範なヒト固形腫瘍における乏しい予後と関連している。新生物細胞において、MetおよびHGFの異常な発現は、浸潤/転移の表現型の出現を導く。

【0077】

抗hMet mAbのうち1つまたはそれらの組み合わせは、必要に応じて、抗hHGF mAbと組み合わせられて、動物およびヒトにおける新生物の放射免疫シンチグラフィ、免疫療法および放射免疫療法についての新規アプローチを提供する。

【0078】

放射免疫シンチグラフィまたは放射免疫療法のために臨床的に承認されたいくつかのmAbまたはその誘導体(例えば、Bexxar(登録商標)、Oncoscint(登録商標)、ProstaScint(登録商標)、Verluna(登録商標)、CEAScan(登録商標)、Zevalin(登録商標))は、全て、腫瘍細胞の起源(例えば、癌腫、肉腫、リンパ腫など)に基づいて、新生物を標的化する。対照的に、抗hMet mAbは、単独または抗hHGF mAbと組み合わせ、Metおよび/またはhHGFの不適切な発現に基づいて、新生物を標的化する。これは、広範なヒト固形腫瘍における乏しい予後と関連している。新生物細胞において、MetおよびHGFの異常な発現は、浸潤/転移の表現型の出現を導く。このような放射標識されたmAbは、ヒトにおいてMet発現腫瘍および/またはHGF/SF発現腫瘍を検出する際に、有効である。

【0079】

本発明のmAbは、例えば、細胞の表面上または内部のMetを検出するために、直接標識され得、そして使用され得る。このようなアプローチを、以下に例示する。結合の間および結合後のmAbの運命は、インビトロまたはインビボで、標識を検出するための適切な方法を使用して、追跡され得る。標識されたmAbは、診断および予後のために、インビボで利用され得る。

【0080】

用語「診断的に標識された」は、mAbが、診断的に検出可能な標識に結合されていることを意味する。当業者に公知の、多くの異なる標識および標識方法が存在する。本発明において使用され得る標識の型の例としては、放射性同位体、常磁性同位体、および陽子射出断層撮影法(PET)によって画像化され得る化合物が挙げられる。当業者は、本発明において使用されるmAbに結合するために適切な他の標識について知っているか、または、慣用的な実験によって、確認し得る。このようなクラスの多数の診断標識が、以下に開示される。診断的に標識された(例えば、放射標識された)mAbは、動物モデルにおいてMet発現ヒト腫瘍および/またはHGF発現ヒト腫瘍を検出する際に有効であり、従って、このような腫瘍を有するヒトにおいて同様に有効であることが予測される。

【0081】

腫瘍細胞上でのMetのより高い発現に起因して、腫瘍組織に対するこれらの標識されたmAbの結合対正常組織バックグラウンドを識別することが可能である。さらに、腫瘍のクラス(異なる起源の器官および組織)にわたるMetの広範な発現に起因して、この単一の表面マーカーの画像化は、任意の特定の腫瘍型について特異的ではないが、任意のMet発現腫瘍については一般的に使用され得る。このことは、腫瘍型特異的マーカーを標的化する画像化剤とは、対照的である。

【0082】

診断および画像化のために適切な検出可能な標識としては、放射標識、蛍光標識、蛍光発生標識または他の化学的標識が挙げられる。カウンター、シンチレーションカウンタ

10

20

30

40

50

一、PET走査またはオートラジオグラフィーによって簡単に検出される有用な放射標識としては、 $^3\text{H}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ および $^{14}\text{C}$ が挙げられる。さらに、 $^{131}\text{I}$ は、有用な治療的同位体である（以下を参照のこと）。

#### 【0083】

一般的な蛍光標識としては、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルアルデヒドおよびフルオレサミンが挙げられる。発蛍光団（例えば、ダンシル基）は、特定の波長の光によって励起されて、蛍光を発するはずである。例えば、Haugland, Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, 第6版, Molecular Probes, Eugene, OR., 1996を参照のこと。フルオレセイン、フルオレセイン誘導体およびフルオレセイン様分子（例えば、Oregon Green<sup>TM</sup>およびその誘導体、Rhodamine Green<sup>TM</sup>ならびにRhodol Green<sup>TM</sup>）は、イソチオシアネート、スクシンイミジルエステルまたはジクロロトリアジニル反応性基を使用して、アミン基にカップリングされる。同様に、発蛍光団はまた、マレイミド、ヨードアセトアミドおよびアジリジン反応性基を使用して、チオールにカップリングされ得る。長波長ローダミン（これは、基本的に、窒素上に置換基を有する、Rhodamine Green<sup>TM</sup>誘導体である）は、公知の最も光安定性の蛍光標識試薬である。そのスペクトルは、4と10との間のpHの変化によって影響されず、これは、多くの生物学的適用について、フルオレセインを上回る重要な利点である。この群には、テトラメチルローダミン、X-ローダミンおよびTexas Red<sup>TM</sup>誘導体が挙げられる。本発明に従うペプチドを誘導体化するための他の好ましい発蛍光団は、紫外線光によって励起されるものである。例としては、カスケードブルー、クマリン誘導体、ナフタレン（ダンシルクロリドは、このメンバーである）、ピレンおよびピリジロキサゾール誘導体が挙げられる。最近記載された2つの関連する無機物質（例えば、硫酸カドミウムを含む半導体ナノ結晶（Bruchez, M.ら、Science 281:2013-2016 (1998)）および量子ドット（例えば、硫酸亜鉛キャップされたセレン化カドミウム）（Chan, W. C. W.ら、Science 281:2016-2018 (1998)））もまた、標識として挙げられる。

#### 【0084】

なお別のアプローチにおいて抗Met mAbのアミノ基は、蛍光産物（例えば、フルオレスカミン、ジアルデヒド（例えば、o-フタルジアルデヒド）、ナフタレン-2,3-ジカルボキシレートおよびアントラセン-2,3-ジカルボキシレート）を生じる試薬と反応することが可能である。7-ニトロベンズ-2-オキサ-1,3-ジアゾール（NBD）誘導体の塩化物およびフッ化物は共に、蛍光産物を生じるようにアミンを改変するために有用である。

#### 【0085】

mAbはまた、蛍光放出金属（例えば、 $^{152}\text{Eu}$ またはランタニド系列の他の金属）を使用して、検出のために標識され得る。これらの金属は、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）またはエチレンジアミン四酢酸（EDTA）のような金属キレート基を使用して、ペプチドに結合され得る。アルデヒド形態のDTPAは、 $\text{NH}_2$ 含有mAbを容易に改変し得る。

#### 【0086】

インビボの診断または治療について、放射性核種は、DTPAおよびEDTAのようなキレート剤を使用して、直接的または間接的のいずれかで、mAbに結合され得る。このような放射性核種の例は、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{90}\text{Y}$ および $^{201}\text{Tl}$ である。一般に、診断的用途における検出性に必要とされる標識されたmAbの量は、年齢、状態、性別および患者における疾患の程度、禁忌（存在する場合）ならびに他の変数のような考慮事項に依存して変動しそして個々の医師または診断医によって調節される。投薬量は、 $0.01\text{mg/kg} \sim 100\text{mg/kg}$ の範囲であり得る。

10

20

30

40

50

## 【0087】

mAbはまた、リン光化合物または化学発光化合物にこれらをカップリングすることによって、検出可能にされ得る。次いで、化学発光タグ化ペプチドの存在は、化学反応の過程の間に生じる発光の存在を検出することによって、決定される。特に有用な化学発光剤の例は、ルミノール、イソルミノール、芳香族(theromatic)アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルである。同様に、生体発光化合物は、ペプチドを標識するために使用され得る。生体発光は、生物学的系(ここで、触媒タンパク質が、化学発光反応の効率を増大させる)において見出される化学発光の1つの型である。生体発光タンパク質の存在は、発光の存在を検出することによって決定される。標識を目的とする重要な生体発光化合物は、ルシフェリン、ルシフェラーゼおよびエクオリンである。

10

## 【0088】

なお別の実施形態において、比色検出が、高い消光係数を有する発色団を有するかまたはそれを生じる発色化合物に基づいて、使用される。

## 【0089】

標識されたmAbのインサイチュ検出は、被験体から組織学的検体を取り出し、そして標識を検出するのに適切な条件下で顕微鏡によってそれを試験することによって、達成され得る。当業者は、任意の広範な種々の組織学的方法(例えば、染色手順)が、このようなインサイチュ検出を達成するために改変され得ることを、容易に理解する。

## 【0090】

インビボの診断的な放射画像化について、利用可能な検出機器の型は、放射性核種の選択における主要な因子である。選択された放射性核種は、特定の機器によって検出可能な型のデコイを有さなければならない。一般に、診断的画像化を可視化するための任意の従来法が、本発明に従って利用され得る。インビボ診断のための放射性核種の選択における別の因子は、その半減期が、標的組織による最大取り込みの時点でなお標識が検出可能であるように十分に長いが、宿主の有害な照射が最小化されるのに十分に短いことである。1つの好ましい実施形態において、インビボの画像化のために使用される放射性核種は、粒子を放射しないが140~200keVの範囲で多数の光子を生じ、これは、従来のカウンターによって容易に検出され得る。

20

## 【0091】

好ましい診断方法は、放射免疫シンチグラフィ分析であり、これは、好ましくは、連続的全身カメラ画像を生じ、そして定量的「対象領域(region-of-interest)」(ROI)分析による局所的活性の決定を可能にする様式で、行われる。実施例が、以下に提供される。

30

## 【0092】

本発明によれば、生検または切除される全てのヒト固形腫瘍は、そのMet発現状態を特徴づけるために、免疫組織化学によって慣用的に調査され得る。Met陽性腫瘍を有する全ての患者は、次いで、Met指向性核画像化研究を受けて、残留病変または臨床的に不顕性の病変を明らかにし、そしてそれらのMetの異常を評価するか、または証拠がないことを報告する。残留病変または新たに明らかにされた病変を有する任意の患者は、誘発診断MRIおよび/または超音波検査法によって評価されて、それらの腫瘍の生理学的応答性を決定し得、次いで、適切な治療レジメン(化学療法、免疫療法、放射免疫療法)が考案される。最後に、誘発機能的画像化またはMet指向性核画像化は、治療に应答したMetの量および活性の変化をモニタリングするために使用される。

40

## 【0093】

以下に例示されるように、hHGFおよびhMetの相互作用に起因するオートクライン様式での腫瘍増殖は、mHGF、mMetまたはこれら両方を発現する腫瘍よりもより迅速に、<sup>125</sup>I-mAb混合物を取り込み、そして浄化する。hHGF/hMetを有する腫瘍において、全身放射活性に対する平均腫瘍放射活性の比は、注射後一日目に>0.3であった。従って、hHGFおよびhMetの発現に起因するオートクライン様増殖

50

を受ける腫瘍の放射免疫検出は、リガンド（HGF）-レセプター（Met）対と反応性であるmAbの放射性要素化（<sup>125</sup>I）混合物を使用して、達成される。

【0094】

本発明の方法は、しばしば、新たに診断された癌患者に、新規種類の「転移リスク層別化」（これは、所定の腫瘍が、腫瘍の起源の「組織」に依存せずに、引き続いて浸潤または転移する可能性が高いか低いかを評価するための非侵襲性手段を使用する）を提供する。このような情報は、個々の患者基準に基づいて、適切なモニタリングおよび治療のプロトコルを設計する能力を改善する。非常に多数の患者が、診断的画像化ならびに免疫療法および/または放射免疫療法のために、抗hMet mAbを使用する本発明から、利益を受け得る。

10

【0095】

本発明は、例えば、Michiganにおける、新たに発見された固形腫瘍を有する全ての患者の半分だけが、それらの病期決定および転移リスク評価の一部として抗hMet mAbおよび/または抗hHGF mAbのいずれかを用いる本発明の方法を使用する画像化を受ける場合に、一年に20,000例より多い数が、Michiganにおける癌の任意の単一の型の実際の年間発生率をはるかに超え、そして全ての他のFADに承認されたmAbによって現在提供される、組み合わせられた臨床的容量をはるかに超えることを計算した。

【0096】

インビボの画像化は、他の方法によって観察できない不顕性の転移を検出するために使用され得る。Metの発現は、癌患者における疾患の進行に相関し得、その結果、後期病期の癌を有する患者が、原発性腫瘍および転移の両方においてより高いレベルのMet発現（またはHGF結合）を有する。MetまたはHGFを標的化した画像化は、腫瘍を非侵襲的に病期決定するか、またはMet/HGFの増大したレベルの存在に関連する別の疾患を検出するために、使用され得る。

20

【0097】

本発明の組成物は、所望の動物種の任意の適切な細胞、組織、器官または生物学的サンプルの組み合わせで、診断手順、予後手順または研究手順において使用され得る。用語「生物学的サンプル」によって、正常被験体または罹患被験体の身体由来の任意の流体または他の材料（例えば、血液、血清、血漿、リンパ、尿、唾液、涙、脳脊髄液、乳汁、羊水、胆汁、腹水、膿など）が意図される。器官または組織の抽出物、および被験体由来の任意の細胞または組織の調製物がインキュベートされた培養流体もまた、この用語の意味に含まれる。

30

【0098】

本発明の診断的に標識されたmAbは、従来の投薬形態中に組み込まれ得る。

【0099】

好ましくは、診断のために、標識されたmAbは、例えば、注射または注入によって、全身的に投与される。使用される場合、注射または注入は、任意の公知の経路（好ましくは、静脈内注射または注入、皮下注射、筋内、頭蓋内または髄腔内の注射または注入、あるいは腹腔内投与）によるものであり得る。注射可能剤は、従来の形態で、溶液形態または懸濁物形態、固体形態のいずれかとして、調製され得る。

40

【0100】

本発明は、任意の多数の動物の属および種の診断において使用され得、そしてヒトまたは脊椎動物の医療の実施において等しく適用可能である。従って、これらの組成物は、家畜および商業的動物（トリ、およびより好ましくは哺乳動物、ならびにヒトを含む）と共に使用され得る。

【0101】

（試薬の組成）

上述したように、本発明の抗体組成物はまた、治療またはインビボ診断使用に対するさらなる有用性を提供する。例えば、抗体組成物は、特定の細胞および組織におけるMet

50

の過剰発現を検出するのに有用である。(これはまた、診断ツールとしても役立ち得る。) 当該分野で公知の種々の免疫アッセイ技術(例えば、不均一相または均一相のいずれかにおいて行われる、競合結合アッセイ、直接または間接サンドイッチアッセイおよび免疫沈降アッセイ)が使用され得る。例えば、Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987) pp. 147-158を参照のこと。この様式で使用される抗体は、直接的または間接的のいずれかで検出可能なシグナルを生じる検出可能な標識で、検出可能に標識され得る。インビボ使用のための簡便な標識としては、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ または $^{125}\text{I}$ に対する放射性同位体が挙げられる。蛍光および化学発光の標識および系は上述される。検出可能な標識を抗体に結合体化するかまたは連結するための任意の公知の方法(例えば、Hunterら、Nature 194:495(1962); G.S. Davidら、Biochemistry 13:1014-1021(1974); D. Painら、J. Immunol Meth 40:219-230(1981); およびH. Nygren, J. Histochem Cytochem. 30:407(1982)に記載される方法)が使用され得る。

10

#### 【0102】

抗体またはフラグメントを標識する好ましい方法は、抗体またはフラグメントを酵素に連結、そして抗体またはフラグメントを酵素免疫アッセイ(EIA)または、酵素結合イムノソルベント検定法(ELISA)に使用することによってである。このようなアッセイは、以下により詳細に記載される: STRUCTURE OF ANTIGENS, Vol. 1 (Van Regenmortel, M., CRC Press, Boca Raton 1992, pp. 209-259における、Butler, J.E., The Behavior of Antigens and Antibodies Immobilized on a Solid Phase (Chapter 11); van Oss, C.J.ら(編), IMMUNOCHEMISTRY, Marcel Dekker, Inc., New York, 1994, pp. 759-803における、Butler, J.E., ELISA (Chapter 29); Butler, J.E. (編), IMMUNOCHEMISTRY OF SOLID-PHASE IMMUNOASSAY, CRC Press, Boca Raton, 1991; Voller, A.ら、Bull. WHO 53:55-65(1976); Voller, A.ら、J. Clin. Pathol. 31:507-520(1978); Butler, J.E., Meth. Enzymol. 73:482-523(1981); Magglio, E. (編), Enzyme Immunoassay, CRC Press, Boca Raton, 1980 Ishikawa, E.ら(編) Enzyme Immunoassay, Kagaku Shoin, Tokyo, 1981。

20

30

#### 【0103】

その基質に後で曝露される場合、次いで、この酵素は、(例えば、分光光度的、蛍光定量的によってまたは視覚的手段によって)検出し得る化学部分を生じるような様式で基質と反応する。この目的で一般に使用される酵素としては、以下が挙げられる: 西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、マレイン酸デヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、-V-ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコールデヒドロゲナーゼ、-グリセロリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、-ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコアミラーゼおよびアセチルコリンエステラーゼ。

40

#### 【0104】

本発明の抗体はまた、アッセイ、調製アフィニティークロマトグラフィーおよびMetを含む混合物からの分子の固相分離においてMet、またはMetを発現する細胞に対して結合する親和性リガンドとしても有用である。このような抗体組成物はまた、フローサイトメトリー方法論および/または固相方法論を使用して、抗体が結合する細胞を同定、濃

50

縮、精製または単離するのに使用され得る。mAbは、ビオチン化mAbと共に、従来の方法（例えば、CNBr活性化Sephacrose（登録商標）またはAgarose（登録商標）、NHS-Agarose（登録商標）またはSephacros（登録商標）、エポキシ活性化Sephacrose（登録商標）またはAgarose（登録商標）、EAH-Sephacrose（登録商標）またはAgarose（登録商標）、ストレプトアビジン-Sephacrose（登録商標）またはAgarose（登録商標）との結合）を使用して固定化され得る。一般に、本発明のmAbは、これらの化合物を示された目的のために固相に固定化し得る任意の他の方法によって、固定化され得る。例えば、Affinity Chromatography: Principles and Methods (Pharmacia LKB Biotechnology)を参照のこと

10

#### 【0105】

「固相」または「固体支持体」または「キャリア」によって、mAbまたは誘導体を結合し得る任意の支持体またはキャリアが意図される。上述のSephacrose（登録商標）またはAgarose（登録商標）に加え、周知の支持体またはキャリアとしては、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然または改変セルロース（例えば、ニトロセルロース）、ポリアクリルアミド、ポリビニリデンジフルオリド、他のアガロースおよびマグネタイト（磁気ビーズを含む）がある。キャリアは、完全に不溶性か、または部分的に可溶性であり得る。支持体物質は、結合分子がレセプター物質に結合し得る限り任意の可能な構造構成を有し得る。従って、支持体構成は、ビーズにおいてのように、球状であり得るか、あるいは試験管もしくはマイクロプレートのウェルの内部表面または、ロッドの外部表面のように、円筒状であり得る。あるいは、表面は、シート、テストストリップ、マイクロプレートのウェルの底部表面などのように平らであり得る。

20

#### 【0106】

（薬学的組成物および治療的組成物ならびにその投与）

本発明の薬学的組成物において使用され得る化合物は、上述の全ての化合物およびこれらの化合物の薬学的に受容可能な塩を含む。本発明の組成物は、それ自体が活性であり得るか、またはインビボで活性型に変換される「プロドラッグ」として作用し得る。

30

#### 【0107】

本発明の組成物アンタゴニストを投与するための有効投薬量および計画は、経験的に決定され得る；このような決定を行うことは、当該分野の技術の範疇である。当業者は、mAb組成物の有効投薬量が、例えば、処置される被験体の種、投与経路、使用されるmAb調製物または構築物の特定の型、および被験体哺乳動物に投与される任意の他の薬物または薬剤に依存して変化することを理解する。mAbの適当な容量を選択する手引きは、抗体の治療的使用に関する文献（例えば、Handbook of Monoclonal Antibodies, S. Ferroneら編, Noyes Publications, Park Ridge, NJ (1985)、特に、chap. 22およびpp. 303-357; Smithら、Antibodies in Human Diagnosis and Therapy (Haberら編) Raven Press, New York (1977), pp. 365-389)に見出される。治療的mAb組成物の代表的な1日の投薬量は、上述の因子に依存して、体重1kgあたり、約1μgと約100mgとの間の範囲であり得る。

40

#### 【0108】

別の実施形態において、本発明のmAb組成物は、有効量の1以上の他の治療剤と組み合わせるか、または放射治療のような別の治療様式と組み合わせる。被験体に投与される。企図される治療剤としては、抗癌化学治療剤、免疫アジュバントおよび生物学的生成物（免疫刺激サイトカイン）が挙げられる。本発明の抗体組成物を用いる、Met発現腫瘍

50

を有する被験体の処置は、現在それらだけで（すなわち、本発明の抗体を含まない）有効と考えられているレベルより下のレベルを含む、低用量の化学療法薬物に対して腫瘍を「感作」感受性にすると考えられる。本発明の組み合わせ治療における使用が企図される薬物としては、当該分野で周知の任意の以下のものが挙げられる：例えば、ドキソルピシン、5-フルオロウラシル、シトシンアラビノシド（Ara-C）、シクロホスファミド、チオテパ、ブスルファン、タキソール、メトトレキサート、シスプラチン、カルボプラチン、メルファラン、ビンブラスチンなど。この抗体組成物は、1つ以上の化学療法剤または生物療法剤の前、後または同時に投与され得る。抗体組成物および一緒に使用される従来の薬物の量は、例えば、薬物の型、処置される腫瘍または癌の性質および程度、投与の計画および個々の経路に基づく。正確な用量の決定は、経験的に、そして、従来の薬剤またはより知られている薬剤に対する既知の応答に基づいて決定される。一般に、用量は、抗体組成物および従来薬物の各々が別々に投与される場合、一般により少ない。

10

**【0109】**

本発明の組成物の投与（単独でかまたは組み合わせで）の後、被験体の状態および、腫瘍または癌の状態を種々の従来方法でモニタリングする。例えば、腫瘍塊は、物理的手段（触診を含む）によって、標準のX線および他の放射性技術によって、ならびに/または、新規の診断方法および本明細書中に記載する組成物を使用することによって、モニタリングされ得る。

**【0110】**

本発明の化合物およびその薬学的に受容可能な塩は、従来の投薬形態（例えば、カプセル、浸透オブラート、錠剤または注射用調製物）に組み込まれ得る。固体または液体の薬学的に受容可能なキャリアが使用され得る。注射剤は、従来の形態で、溶液または懸濁剤（注射前に液体中の溶液または懸濁剤に適した固体形態）としてか、または乳剤として調製され得る。固体キャリアとしては、以下が挙げられる：デンプン、ラクトース、硫酸カルシウム二水和物、テラアルバ、ショ糖、滑石、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウムおよびステアリン酸。液体キャリアとしては、以下が挙げられる：シロップ、ピーナッツ油、オリーブ油、生理食塩水、水、デキストロース、グリセロールなど。同様に、キャリアまたは希釈剤は、任意の延長放出物質（例えば、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリル）を単独でか、または蠟とともに含み得る。液体キャリアが使用される場合、調製物は、シロップ剤、エリキシル剤、乳剤、軟ゼラチンカプセル、アンプルのような滅菌注射用溶液（例えば、溶液）または水性もしくは非水性液体懸濁剤の形態であり得る。このような薬学的組成物の概要については、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania (Gennaro 第18版、1990)において見出され得る。

20

30

**【0111】**

固体キャリアとしては、以下が挙げられる：デンプン、ラクトース、硫酸カルシウム二水和物、テラアルバ、ショ糖、滑石、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウムおよびステアリン酸。液体キャリアとしては、以下が挙げられる：シロップ、ピーナッツ油、オリーブ油、生理食塩水、水、デキストロース、グリセロールなど。同様に、キャリアまたは希釈剤は、任意の延長放出物質（例えば、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリル）を単独でか、または蠟とともに含み得る。液体キャリアが使用される場合、調製物は、シロップ剤、エリキシル剤、乳剤、軟ゼラチンカプセル、アンプルのような滅菌注射用液（例えば、溶液）または水性もしくは非水性液体懸濁剤の形態であり得る。このような薬学的組成物の概要については、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania (Gennaro 第18版、1990)において見出され得る。

40

**【0112】**

薬学的調製物は、製薬化学の従来技術に従って作製され、従来技術としては、錠剤形態

50

について必要な場合、混合、造粒および圧縮のような工程、または、経口、非経口、局所、経皮、腔内、陰茎内、経鼻、経気管支、頭蓋内、経眼、経耳および直腸投与のための所望の生成物を得るために、適切な場合、混合、充填、および成分の溶解を含む。薬学的組成物はまた、微量の非毒性補助物質（例えば、湿潤剤、乳化剤、pH緩衝剤など）を含み得る。

【0113】

好ましい投与経路は全身であるが、薬学的組成物は、局所または経皮的に（例えば、軟膏、クリームまたはゲル）；経口的に；直腸的に（例えば、坐剤）；非経口的に（注射によってかまたは連続的な注入によって）；腔内に；陰茎内に；経鼻的に；経気管支的に；頭蓋内に；経耳的に；または経眼的に投与され得る。

10

【0114】

噴霧可能エアロゾル調製物はまた、局所適用にとって適切であり、ここで、組成物（好ましくは固体または液体の挿入キャリア物質との組み合わせにおいて）は、搾り出し容器中（squeeze bottle）に詰められるか、または加圧された揮発性物質（通常は、ガス状発射剤）と共に混合剤中に詰められる。エアロゾル調製物は、本発明の化合物に加えて、溶媒、緩衝剤、界面活性剤、香料および/または抗酸化剤を含み得る。

【0115】

好ましい局所適用（特にヒトにとって）について、影響される領域（例えば、肌表面、粘膜、目など）に、有効量の化合物を投与することが好ましい。この量は、一般的に、1回の適用あたり約0.001mg～約1gの範囲の所定の抗体であり、投与される領域、症状の重症度、および使用される局所のビヒクルの性質に依存する。

20

【0116】

本発明の治療的組成物は、標識された抗体に加えて、1つ以上のさらなる抗腫瘍剤（例えば、有糸分裂インヒビター（例えば、ビンブラスチン）；アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド）；葉酸インヒビター（例えば、メトトレキサート、ピリトレキシムまたはトリメトレキサート）；抗代謝剤（例えば、5-フルオロウラシルアラビノシドおよびシトシンアラビノシド）；インターカレート抗生物質（intercalating antibiotics）（例えば、アドリアマイシンおよびブレオマイシン）；酵素または酵素インヒビター（例えば、アスパラギナーゼ、トポイソメラーゼインヒビター（例えば、エトポサイド）；または生物学的応答調製剤（biological response modifier）（例えば、インターフェロンまたはインターロイキン）を含み得る。事実、本明細書に開示される標識された抗体との組み合わせにおいて、任意の公知の癌治療剤を含む薬学的組成物が、本明細書の範囲内である。薬学的組成物はまた、1つ以上の他の医薬（例えば、抗菌剤、抗真菌剤、抗寄生剤、抗ウイルス剤および抗コクシジウム剤を含む抗感染剤）を含み、危険性のある標的患者のさらなる症状を処置する。

30

【0117】

（治療的組成物）

好ましい実施形態において、本明細書に記載される抗体は、「治療的結合され（る）」かまたは「治療的標識され」（これらの用語は、変換可能であることが企図される）そして、抗体は、目指し（home）結合する部位（例えば、原発腫瘍部位または腫瘍転移部位）に治療剤を送達するために使用される。用語「治療的結合される」は、タンパク質が、腫瘍増殖または腫瘍浸潤の「成分」に物理的に向けられる別の治療薬に結合されることを意味する。

40

【0118】

有用な治療的放射性同位体（原子番号の順に並べた）の例としては、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ および $^{217}\text{Bi}$ が挙げられる。これらの原子は、ポリペプチドに直接的に結合され得るか、キレートの一部として間接的に結合され得るか、またはヨードの場合、ヨード化Bolton-Hunter基の一部として間接的に結合され得る。

【0119】

50

放射性核種結合体の好ましい用量は、標的部位に送達される特定の放射活性の関数であり、この用量は、腫瘍の型、腫瘍の位置、および血管形成、ポリペプチドキャリアの動力学および生物学的分散、核種による放射性放射のエネルギーなどによって変化する。放射線治療の分野の当業者は、過度の実験なしに、所望の治療利益をもたらすために、特定の粒子核種の用量に関連して標識タンパク質の用量を容易に調整し得る。

#### 【0120】

本明細書中に含まれる別の治療的アプローチは、ホウ素中性子捕獲治療 (NCT) の使用であり、ここで、ホウ素化抗体は、所望の標的部位 (例えば、腫瘍、最も好ましくは頭蓋内腫瘍) に送達される (Barth, R. F., *Cancer Invest.* 14: 534-550 (1996); Mishima, Y. (編), *Cancer Neutron Capture Therapy*, New York: Plenum Publishing Corp., 1996; Soloway, A. H. ら、(編), *J. Neuro-Oncol.* 33: 1-188 (1997))。安定な同位体  $^{10}\text{B}$  は、低エネルギーの熱中性子 ( $< 0.025\text{ eV}$ ) を放射し、得られた核捕獲は、粒子および  $^7\text{Li}$  核を産生し、それらは、高い線形エネルギー転換および、それぞれ約  $9\ \mu\text{m}$  および約  $5\ \mu\text{m}$  の通過波長を有する。この方法は、血液、内皮細胞および正常組織 (例えば、脳) 低レベルな腫瘍において、 $^{10}\text{B}$  の蓄積が予測される。そのような送達は、上皮増殖成長因子を使用することによって達成された (Yang, W. ら、*Cancer Res.* 57: 4333-4339 (1997))。

10

#### 【0121】

ホウ素 NCT に加えて、ガドリニウム (特に、 $^{157}\text{Gd}$ ) は、本発明の抗体を用いる NCT における使用のために特に利点があることが明らかである。 $^{157}\text{Gd}$  は、天然に存在する同位体の間で、最も高い ( $255, 000\text{ barn}$ ) ( $^{10}\text{B}$  の熱中性子捕獲断面積よりも 66 倍大きい) 有し;  $\text{Gd}$  中性子捕獲反応は、長い範囲の ( $> 100\ \mu\text{m}$ ) 即発線、内部転換電子、X 線およびオージェ電子を放出することが、最近報告されている (Tokumitsu, H. ら、*Chem Pharm Bull.* 47: 838-842 (1999)、その全体が、参考として援用される)。従って、 $\text{Gd}$ -NCT は、光子が腫瘍細胞にヒットする機会、ならびに電子が、局所的におよび集中的にこれらの細胞を損傷する機会を増加させ得る。別の利点は、 $\text{Gd}$  が、MRI 画像化診断薬として長く使用されることである。本抗体の  $\text{Gd}$  充填投与形態を使用することによって、 $\text{Gd}$ -NCT と MRI 診断とを統合することが可能である。 $\text{Gd}$ -NCT における使用のための、本発明の抗体を標識するための  $\text{Gd}$  の好ましい形態は、ガドペンテ酸 (gadopentetic acid) である ( $\text{Gd-DTPA}$ )。

20

30

#### 【0122】

本発明の方法に従う抗体に結合され得る他の治療的薬剤は、薬物、プロドラッグ、プロドラッグを活性化するための酵素、光感作性薬剤、遺伝子治療薬、アンチセンスベクター、ウイルスベクター、レクチンおよび他の毒素である。

#### 【0123】

投与される治療的薬量は、治療的に有効な量であり、これは当業者によって、公知であるか、または容易に確かめられる量である。用量はまた、レシピエントの年齢、健康状態、および体重、もしあるとすれば、同時処置の種類、処置の頻度、および望まれる効果の性質 (例えば、抗炎症効果または抗菌効果のような) に依存する。

40

#### 【0124】

レクチンは、炭水化物に結合するタンパク質 (一般的には、植物由来) である。他の活性の間で、いくつかのレクチンは、毒素である。公知の最も細胞毒性である物質のいくつかは、細菌または植物起源のタンパク質毒素である (Frankel, A. E. ら、*Ann. Rev. Med.* 37: 125-142 (1986))。これらの分子は細胞表面に結合し、細胞性タンパク質の合成を阻害する。最も一般的に使用される植物毒素は、リシンおよびアブリンである; 最も一般的に使用される細菌毒素は、ジフテリア毒素およびシユードモナス外毒素 A である。リシンおよびアブリンにおいて、結合機能および毒性機能

50

は、2つの別個のタンパク質サブユニット（A鎖およびB鎖）中に含まれる。リシンB鎖は、細胞表面の炭水化物に結合し、そして細胞内へのA鎖の取り込みを促進する。一旦、細胞内に入ると、リシンA鎖は、真核細胞のリボソームの60Sサブユニットを不活化することによってタンパク質合成を阻害する（Endo, Yら、J. Biol. Chem. 262: 5908-5912 (1987)）。単鎖のリボソーム阻害性タンパク質である他の植物由来の毒素としては、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、コムギ麦芽タンパク質、ゲロニン（gelonin）、ジアンチン（dianthin）、モモカリン（momorcharin）、トリコサンチン（trichosanthin）およびその他多くのものを挙げられる（Strip, Fら、FEBS Lett. 195: 1-8 (1986)）。ジフテリア毒素およびシュードモナス外毒素Aはまた、単鎖タンパク質であり、それらの結合機能および毒性機能は、全毒性活性を有する同一のタンパク質鎖の別個のドメイン内に存在し、その活性は、2つのドメイン間のタンパク質分解性切断を必要とする。シュードモナス毒素Aは、ジフテリア毒素と同様の触媒活性を有する。リシンは、その毒性鎖を標的分子（例えば、抗体）に結合させることによって、治療的に使用され、毒性効果の部位特異的送達を可能にする。細菌毒素はまた、抗腫瘍結合体として使用されている。本明細書中に企図されるように、毒性ペプチド鎖または毒性ペプチドドメインは、本発明の抗体に結合され、毒性活性が所望される（例えば、転移性病巣）標的部位に部位特異的様式で送達される。抗体または他のリガンドへの毒素の化学的結合体化のための方法、および毒素含有融合タンパク質の組み換え産生は、当該分野において公知である（例えば、Olsnes, Sら、Immunol. Today 10: 291-295 (1989); Vitetta, E. S.ら、Ann. Rev. Immunol. 3: 197-212 (1985)）。

#### 【0125】

DNA合成、RNA合成およびタンパク質合成を含む重要な細胞プロセスを妨害する細胞障害性薬物は、抗体に結合体化され、次いでインビボ治療のために使用される。そのような薬物（ダウノルビシン（daunorubicin）、ドキソルビシン（doxorubicin）、メトトレキサート（methotrexate）およびミトマイシンCが挙げられるがそれらに限定されない）はまた、本発明の抗体に結合され、この形態で治療的に使用される。

#### 【0126】

本発明の別の実施形態において、光感受性剤は、腫瘍への直接的な送達のために、本抗体に結合され得る。

#### 【0127】

（治療方法）

本発明の方法は、被験体において、腫瘍の増殖および浸潤を阻害するために使用され得る。腫瘍の増殖および浸潤を阻害することによって、本方法は、同様に腫瘍の転移を阻害することが意図される。哺乳動物被験体（好ましくは、ヒト）は、腫瘍の増殖、浸潤または転移を阻害するのに有効な量で、本発明の治療抗体組成物の量を投与される。この化合物またはその薬学的に受容可能な塩は、好ましくは、上述のような薬学的組成物の形態で投与される。

#### 【0128】

組成物の用量は、好ましくは、抗体または抗体の組み合わせの有効な量を含む薬学的投薬単位を含む。有効量は、インビボで正常濃度を達成するために十分な量を意味し、これは、疾患のあらゆる適切なパラメータの適度な減少を生じ、かつ原発腫瘍または転移腫瘍の増殖、あるいは疾患の無い期間または生存の適度な延長を含む。例えば、患者の20%における腫瘍増殖の減少は、かなり有効である（Frei III, E., The Cancer Journal 3: 127-136 (1997)）。しかし、この規模の効果は、本発明によって有効である用量についての最小要求量であるとみなされない。

#### 【0129】

1つの実施形態において、有効な用量は、好ましくは、本明細書に記載のようなインビ

ボアッセイにおいて、組成物の50%の有効用量(ED<sub>50</sub>)よりも10倍高く、より好ましくは、100倍高い。

#### 【0130】

投与される活性化合物の量は、適正な抗体または選択された組み合わせ、疾患または状態、投与経路、レシピエントの健康または体重、他の併用処置の存在(もしあるのであれば、処置の頻度)、所望される効果の性質(例えば、腫瘍転移の阻害)および熟練した開業医の判断に依存する。

#### 【0131】

腫瘍を有する被験体(好ましくは、哺乳動物、より好ましくは、ヒト)を処置するための好ましい用量は、体重1キログラムあたり、約100mgまでの総抗体たんぱく質量である。典型的な単回投薬量は、体重1kgあたり、約1ngと約100mgとの間である。局所投与について、化合物の約0.01~20%濃度(重量%)の範囲、好ましくは1~5%が、示唆される。約0.1mg~約7gの範囲の1日の総1日投薬量は、静脈内投与であることが望ましい。しかし、前述の範囲は、個々の処置レジメンにおける変数の数が大きくなった場合、示唆的であり、これらの好ましい値からのかなりの偏差が予想される。有効用量および最適な用量範囲は、本明細書に記載される方法を用いて、インビトロにおいて決定される得か、またはマウスモデルにおいて決定され得る。

#### 【0132】

(抗Met mAbの特徴)

(散乱アッセイ)

再クローン化されたハイブリドーマを、無血清培地中で培養した。培養上清画分中の抗hMet mAbを、プロテインG親和性カラムによって個々に別個に精製し、IgG濃度を、2mg/mlに調整した。個々の抗hMet mAbを、MDCK細胞散乱アッセイを使用したMetに対する活性の中和または活性化についてスクリーニングした。簡単には、MDCK細胞を、5%FBSを有するDMEM中で、HGF(5ng/ウェル)用いるか、または用いずに7.5×10<sup>4</sup>細胞/100μl/ウェルでプレートした。各抗hMet mAbを、連続的に、培養培地で2倍濃度に希釈し、150μlの各々の連続希釈物を、96ウェルプレート中で細胞に添加した。HGF/SF(1μg/ウェル)に対する活性を中和したウサギポリクローナル抗血清を、Met中和コントロールとして含めた。37で一晚のインキュベートした後に、細胞を、50%エタノール(v/v)中の0.5%クリスタルバイオレットを用いて、10分間、室温で染色し、散乱を、光学顕微鏡を使用して観察した。

#### 【0133】

(ウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター-プラスミンタンパク質分解アッセイ)

METを発現する細胞のHGF刺激は、セリンプロテアーゼウロキナーゼ(uPA)およびそのレセプター(uPAR)の発現を誘導する。次いで、uPAは、プラスミノゲンを、より広い特異性のプロテアーゼであるプラスミンに切断する。このアッセイにおいて、本発明者らは、過剰のプラスミノゲンを供給して、プラスミンの産生を増幅させ、そして本発明者らはまた、プラスミンのための比色定量基質として、Chromozyme PLを供給する。このプロセスは、Chromozyme PLの着色された切断産物を生じ、これを、405nmにおいて分光光度法により定量し得る。

#### 【0134】

このアッセイを実施するために、1500細胞/ウェル(例えば、MDCK-II細胞)を、DMEM-10%FBS中で96ウェルマイクロプレートに播種する。翌日、mAbを、種々の濃度で、単独でかまたは10単位のHGFの存在下で添加する;コントロールウェルは、HGFを含まず/mAbを含まず、抗体なしでHGFを含み、そして中和抗HGF抗体の存在下でHGFを含む。3日目に、細胞を、フェノールレッドを欠くDMEMで2回洗浄し、そして200μlの反応緩衝液(フェノールレッドを含まないDMEM中50%v/v 0.05U/mlプラスミノゲン; 40%v/v 50mM Tris-HCl(pH 8.2); および100mMグリシン中10%v/v 3mM Chr

10

20

30

40

50

o m o z y m e P L ) とともに 4 時間インキュベートする。次いで、上清画分を、分光光度法により、切断生成物について 4 0 5 n m で分析する。現在までに試験された 1 0 の抗 h M e t m A b のうちの 1 つが、H G F による u P A の誘導を完全に阻害する ( アンタゴニスト ) ; 2 つが、H G F 自体を用いて見られるレベルに匹敵するレベルまで、u P A を誘導する ( アゴニスト ) ; そして他のものは、これらの両極端の間のスペクトルを形成する。

【 0 1 3 5 】

( 免疫蛍光アッセイ )

実施例を参照のこと。

【 0 1 3 6 】

( 核画像化実験 )

抗 h M e t m A b M e t 3 を、抗 H G F m A b の中和混合物と組み合わせて、M e t 発現腫瘍および H G F 発現腫瘍をインビボで画像化するために使用することは、実施例に詳細に記載される。

【 0 1 3 7 】

( 物品およびキット )

本発明はまた、M e t 陽性腫瘍の診断または画像化のため、このような腫瘍を処置するため、および M e t を検出、定量もしくは精製するために有用な組成物を含む、物品およびキットを提供する。この物品は、ラベルを有する容器を備える。適切な容器としては、例えば、瓶、バイアル、および試験管が挙げられる。これらの容器は、種々の材料 ( 例えば、ガラスまたはプラスチック ) から形成され得る。この容器は、活性薬剤を保持し、この薬剤は、1 つ以上の本発明による m A b ( 抗 M e t 抗体、または抗 M e t 抗体と抗 H G F 抗体との組み合わせのいずれか ) を含む組成物である。この容器上のラベルは、その組成物が、事情に応じて、癌の診断のため、モニタリングのためもしくは処置のために使用されること、あるいは好ましくは、M e t を発現するかまたは M e t のレベルもしくは代謝回転が、治療のための診断的標的、予後標的または効果的な標的である特定の型の癌または腫瘍を診断、モニタリングまたは処置するために使用されることを示す。別の実施形態において、このラベルは、その組成物が、M e t を検出、定量または精製するために有用であることを示し、そしてまた、上記のもののような、インビボまたはインビトロのいずれかでの使用に対する指示を示し得る。

【 0 1 3 8 】

本発明のキットは、上記容器、および緩衝液または他の試薬を含む第二の容器を備える。このキットは、市販および使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含み得、この材料としては、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、注射器、および使用説明書を備えるパッケージ挿入物が挙げられる。このキットはまた、別の抗癌治療剤 ( 例えば、化学療法薬物 ) を含有し得る。

【 0 1 3 9 】

ここで、本明細書を一般的に記載したので、本発明は、以下の実施例を参照することによって、より容易に理解される。これらの実施例は、説明によって提供され、そして特定しない限り、本発明の限定としては意図されない。

【 実施例 】

【 0 1 4 0 】

( 実施例 1 )

( 材料および方法 )

( 試薬 )

<sup>125</sup>I を、N a I ( ヨウ素 1 μ g あたり 4 8 0 ~ 6 3 0 m B q ( 1 3 ~ 1 7 m C i ) ) として、A m e r s h a m C o r p . ( A r l i n g t o n H e i g h t s , I L ) から購入した。ヒト M e t の C 末端部分と反応性である C - 2 8 ウサギポリクローナル抗体を、S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y , I n c . から購入した。

【 0 1 4 1 】

10

20

30

40

50

(細胞株および腫瘍)

画像化研究を、S-114細胞(hHGFおよびhMetで形質転換されたNIH 3T3細胞(Rong Sら, Cell Growth Differ. 1993; 4: 563-569))とM-114細胞(mHGFおよびmMetで形質転換されたNIH 3T3細胞)との構築された混合物で開始した。細胞を、8%ウシ血清を含むDMEM中で増殖させた。SK-LMS-1(hMetおよびhHGFについてのヒト平滑筋肉腫細胞株オートクライン(Jeffers Mら, Mol Cell Biol. 1996; 16: 1115-1125))を、10% FBSを補充したダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)中に維持した。DA3(mMetを発現するマウス乳腺癌細胞株(Firon Mら, Oncogene 2000; 19: 2386-2397))を、10% FBSおよび抗生物質を補充したDMEM中で増殖させた。

10

【0142】

(mAbの産生および特徴付け)

(抗HGF mAb)

抗HGF mAbの産生およびスクリーニングは、W001/34650A1およびCaora, 2001(前出)(これらの両方は、本明細書中に参考として援用される)に詳細に記載された。簡単にいえば、HGFが、S114細胞から調製され、そしてこのタンパク質に対するマウスmAbが、Balb/Cマウスに腹腔内(i.p.)で、完全フロイントアジュバント中の精製されたネイティブHGFタンパク質を注射し、次いで不完全フロイントアジュバント中の精製したタンパク質を4回さらに注射することによって、産生された。1ヵ月後、最後のHGF注射を、アジュバントなしで、i.p.およびi.v.で与えた。ハイブリドーマ産生のためのB細胞/形質細胞の供給源として動物を選択するために、免疫されたマウスの血清を、それらがMDCK細胞散乱アッセイ(従来、当該分野において認識された、HGF/SFの生物学的活性のアッセイ)においてHGF/SFを中和する能力について試験した。血清が中和抗体を有する動物由来の非細胞を採取し、そして最後の免疫注射の3日後、標準的な技術を使用して、P3X63AF8/653骨髓腫細胞と融合させた。

20

【0143】

(抗Met mAb)

hMetに対するmAbを、BALB/cマウスに腹腔内(i.p.)で、0.5mlのリン酸緩衝化生理食塩水(PBS)中の $5 \times 10^6$ の121-1TH-14細胞(hMetを発現する)を注射し、次いで同じ用量をさらに3回注射することによって、産生した。1ヵ月後、0.5mlのPBS中の $10^7$ のOkajima細胞を、各マウスにi.p.で注射した。最後の注射の4日後に得た非細胞を、標準的な技術を使用して、P3X63AF8/653骨髓腫細胞と融合させた。

30

【0144】

ハイブリドーマ細胞を、 $0.5 \mu\text{g/ml}$ のc-Met/Fcキメラタンパク質でコーティングした96ウェルマイクロプレートを使用するELISAによって、hMetに対する反応性についてスクリーニングした。c-Met/Fcとは、コーティング緩衝液( $0.2 \text{ M Na}_2\text{CO}_3 / \text{NaHCO}_3$  (pH 9.6)、1ウェルあたり $50 \mu\text{l}$ )中で一晩の、ヒトIgG<sub>1</sub> H鎖(R & D Systemsから購入された、カタログ番号358-MT)とのhMet ECDの融合タンパク質である。ウェルを $200 \mu\text{l}$ のブロッキング緩衝液(PBS-1% BSA)で、室温で1時間または4で一晩ブロッキングした後に、 $50 \mu\text{l}$ のハイブリドーマ上清を、室温で1.5時間、ウェルに添加した。プレートを洗浄緩衝液(PBS-0.05% Tween 20)で2回洗浄した。アルカリホスファターゼ結合体化ヤギ抗マウスIgG(Sigma)を、1:2000希釈で添加し( $50 \mu\text{l}$ /ウェル)、そして室温で1.5時間インキュベートした。プレートを洗浄緩衝液で4回洗浄した後、ホスファターゼ基質であるCP-ニトロフェニルホスフェート(Kirkegaard & Perry Laboratories, Rockville, MD)を30分間添加し、そして吸光度を $405 \text{ nm}$ で測定した。c-

40

50

Met/Fcタンパク質との強い反応性を有するハイブリドーマ(OD値>0.5、一方で陰性コントロール<0.02)を再クローニングし、そして反応性をELISAで確認した。

【0145】

IFによってmAbを特徴付けるために、8ウェルストリップ中のS-114細胞およびコントロールの親NIH-3T3細胞を、ホルムアルデヒドまたはアセトン/メタノール(1:1、V/V)のいずれかで10分間、室温で固定し、10分間風乾し、そしてブロッキング緩衝液(PBS-1%BSA)で室温で30分間ブロックした。精製した抗Met mAbおよびコントロールの正常マウスIgGを、20 $\mu$ g/mlにブロッキング緩衝液で希釈し、そしてS-114細胞またはコントロールのNIH-3T3細胞のいずれかに、50 $\mu$ l/ウェルで添加した。37 $^{\circ}$ Cで1時間のインキュベーション後、ストリップを洗浄緩衝液(PBS-0.5%Tween-20)中で3回洗浄した。細胞を、FITC結合体化ヤギ抗マウスIg血清と共に、1:20の希釈で37 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートし、次いで、3回洗浄した。サンプルを、蛍光顕微鏡によって観察し、そしてアセトン/メタノールで固定されたS-114細胞に対して最も強い染色を示すmAb(2F6と命名した)を、核画像化のために選択した。なぜなら、これは、hMet ECDに対して最も高い網掛けの親和性を有したからである。

10

【0146】

IgG画分を、プロテインGアフィニティークロマトグラフィーによって、ハイブリドーマ上清から精製し、そして0.25リン酸ナトリウム緩衝液(pH6.8~7.0)中で最終濃度2mg/mlに調節した。精製したIgG画分を、小さいアリコート(50 $\mu$ g)中で凍結させて貯蔵し、そして放射性ヨウ素処理の直前に解凍した。

20

【0147】

本明細書中に記載される実験について、等体積の(a)2F6抗hMet mAbおよび(b)4種の抗HGF mAb(A.1、A.5、A.7およびA.10と命名した)を含む中和混合物を混合して、HGF-Met対と反応性の混合物を構築した。

【0148】

(mAb混合物の放射性ヨウ素処理および注射)

最終のmAb混合物を、放射性核種の供給者の指示に従って、放射性ヨウ素処理した。簡単にいえば、0.1mlの0.25Mリン酸ナトリウム(pH6.8)25 $\mu$ g中のmAb混合物に、74MBq(2.0mCi;20 $\mu$ l)の $^{125}$ Iをヨウ化ナトリウムとして、および20nmol(10 $\mu$ l)のクロロミン-Tを添加した。これらの反応物を混合し、そして室温で90秒間穏やかに攪拌した。この反応を、42nmol(20 $\mu$ l)のメタ重亜硫酸ナトリウムの添加によってクエンチした。 $^{125}$ I-mAbを、Bio-Rad AG 1 $\times$ 8樹脂(50~100メッシュ)の小さいカラムでのイオン交換によって、未反応 $^{125}$ Iから分離した。回収した生成物を4 $^{\circ}$ Cで貯蔵し、そして標識の24時間以内に注射した。放射性同位体標識の効率を、Beckman Gamma 8000カウンターで決定し、そして最終生成物におけるタンパク質に結合した $^{125}$ Iの割合を、80%水性メタノールで展開するITLC-SGストリップ(Gelman)でのクロマトグラフィーによって評価した。標識混合物からのmAbの完全な回収を仮定すると、放射性同位体標識の効率は60%より高く、そしてタンパク質に結合し放射活性は、最終生成物の全放射活性の85%以上を占めた。

30

40

【0149】

(画像化手順および分析)

動物を画像化し、そしてシンチグラムを、本発明者らおよびその同僚らによって記載される方法(Gross MDら(1984)Invest Radiol 19:530-534;Hay RVら(1997)Nucl Med Commun 18:367-378)によって分析した。簡単にいえば、各マウスに、 $^{125}$ I-mAb混合物を、50~100 $\mu$ Ci(1.8~3.7MBq)で、0.2ml以下を静脈内(i.v.)で側方に、尾の静脈によって、麻酔を軽く吸入させた状態で与えた。

50

## 【0150】

各画像化期間の直前に、各マウスに、13 mg / kg までのキシラジンおよび 87 mg / kg のケタミンを、s.c. で、肩甲骨間領域に与えた。各マウスの前側 (DA3 腫瘍保有マウスについて) および後側 (他の全てのマウスについて) の全身カメラ画像を<sup>1 2 5</sup>I - mAb 混合物の注射の1時間後、ならびに再度、注射の1日後、3日後、および5日後に獲得した。鎮静したマウスを、1匹または2匹で、コリメータ上の保護層を備える逆カメラヘッドの頂部に配置し、そして最適な肢の伸長を維持するために、この層にテープで留めた。<sup>1 2 5</sup>I 活性の画像を、低エネルギーの高感度コリメータを備える Siemens LEM Plus 移動カメラで獲得した。画像を15分間にわたって獲得し、この間に、 $2 \times 10^5$  カウントと  $3 \times 10^6$  カウントとの間が、1つの全身画像あたりに獲得された。 10

## 【0151】

比活性を、コンピュータ支援目的領域 (ROI) 分析によって、各腫瘍について、全身について、そして適切なバックグラウンド領域について、各画像化時点で決定した。これらのデータを、バックグラウンド補正および崩壊補正した活性比として以下に表現する。変換したデータのグラフ分析および統計学的分析を、Microsoft Excel で実行した。

## 【0152】

(実施例2)

(抗 Met mAb の、免疫蛍光法による特徴付け)

抗 hMet ECD (2F6) に対して特異的な mAb を、hMet を発現する S-114 細胞を用いて、IF について特徴付けた。結果を図1に示す。アセトン/メタノール中で固定した S-114 細胞を、mAb 2F6 (= Met3) (緑色、パネルA) と Met C 末端ペプチド抗体 C-28 に対するウサギポリクローナル抗体 (赤色、パネルB) との両方を用いて染色した。染色のコロニー形成 (黄色) は、パネルCに明らかである。培養中の細胞の非線織位置および特徴を示すために、Nomarski 画像 (パネルD) が提供される。 20

## 【0153】

(実施例3)

(画像解析および定量化)

個々の腫瘍保有マウスの連続全身カメラ画像を、hHGF および hMet と反応性の<sup>1 2 5</sup>I - mAb 混合物の静脈内注射後1時間と5日間との間で得た。図2を参照のこと。活性は、早ければ注射後1時間で、ヒト腫瘍 (SK-LMS-1 および S-114、ともに hHGF および hMet を発現する) において明らかであり、その後顕著に明らかであった。 30

## 【0154】

活性はまた、早ければ注射後1日で、マウス腫瘍 (M-114 (mHGF および mMet を発現する) および DA3 (mMet のみを発現する)) において、はっきり見られた。それにもかかわらず、ヒト腫瘍保有マウスは、注射後3日後および5日後でのそれらのずっとより低いレベルの内臓放射能およびより目立つ甲状腺活性 (標識された mAb から放出された遊離放射性ヨウ素の取り込みを示す) から明らかなように、マウス腫瘍保有マウスよりも急速に血液循環から放射能を除去した。ヒト腫瘍中の絶対放射能レベルおよびマウス腫瘍中の絶対放射能レベルは、一般に、経時的に匹敵するようであったとしても、ヒト腫瘍に関連した非甲状腺性の全身放射能の比率 (すなわち、腫瘍画像化コントラスト) は、全ての画像化時点で、マウス腫瘍に関連した非甲状腺性の全身放射能の比率より高いようである。 40

## 【0155】

4匹のヒト腫瘍保有マウスからの画像および3匹のマウス腫瘍保有マウスからの画像を ROI 分析で評価し、これらの明らかな差異を定量化し、これらが統計学的に有意で有り得るか否かを決定した。その結果を、図3A および 3B に要約する。実際に、全身活性 ( 50

甲状腺を含む)に対する腫瘍活性の平均比のt検定比較(T t : W B tと示される)は、全ての画像化時点で、マウス腫瘍よりヒト腫瘍に対しての方が有意に高く(1時間で $p < 0.02$ ; 1時間後 $p = 0.001$ )、注射後1日で0.34対0.11の動物および注射後3日で0.37対0.23の動物のこれらの小集団の平均値に達する。全身放射能の平均保持率(W B t : W B 1 hとして示される)はまた、ヒト腫瘍に対し、1時間後で有意に低かった( $p = 0.001$ )。最終的に、腫瘍関連活性の平均保持率(T t : T 1 h)は、注射後1時間で、マウス腫瘍中よりもヒト腫瘍中が低かったが、この差異は、研究された少数の動物を考えた場合、統計学的に有意ではなかった(1日で $p = 0.3$ ; 3日および5日で $p < 0.08$ )。

#### 【0156】

データにおける放射能標識m A bの静脈内注射の有効性における変動の影響を最小にするため、R O Iの結果を、より従来の「注入活性パーセント(% I A)」(H a yら、前出)としてではなく、むしろ活性比として表した。技術的要素は、この変動を、マウスにおいて、血管アクセスがより容易なより大きな動物におけるよりも潜在的にずっと大きなものとする。このようにして、推定の注入された放射能に対する、やや正確ではない平均値に頼るよりも、むしろ各動物の実際に測定された最も早い画像化時点での全身活性が、それ自身の注入標準としての役目をする。さらに、有意な放射性核種排出が、注射後1時間の間には生じないと仮定すると、1時間での全身活性に対する腫瘍活性の比(T 1 h : W B 1 h)は、1時間での腫瘍に対する% I Aと非常に近似であり、そしてT t : W B 1 hの比は、同様に、時間tでの腫瘍に対する% I Aと近似である。

#### 【0157】

ネガティブコントロール実験およびポジティブコントロール実験は、マウス腫瘍およびヒト腫瘍との $^{125}$ I - m A b混合物の関連の特異性を明らかにした。これらを以下に要約する：

1. マウス腫瘍(M - 114およびD A 3)は、注射後1時間または24時間まで、血液プールの活性以上の有意な活性を示さなかった。

#### 【0158】

2. 抗M e t  $^{125}$ I - m A bおよび抗H G F  $^{125}$ I - m A bの混合物の「古い(a g e d)」バッチ(1週間以上冷凍保存され、次いで再純化され、遊離ヨウ素を除去される)は、注射後1時間または24時間まで、M - 114中の血液プール以上の有意な活性を示さなかった。「古い」 $^{125}$ I抗M e t m A b単独は、S K - L M S - 1を画像化するために有効ではなかった。

#### 【0159】

3. 新しく標識した抗M e t m A bおよび抗H G F m A bを別々に用いる腫瘍画像実験は、抗M e tおよび抗H G F / S Fの両方が、 $^{125}$ I - m A b混合物で観察された全体の腫瘍関連活性に寄与したことを示す。

#### 【0160】

まとめると、これらの結果は、本研究において観察された腫瘍関連活性のレベルおよび時間的パターンが、新たに放射ヨウ素標識された抗M e tおよび抗H G Fの使用に、何らかの形で特有であり、一般的に放射ヨウ素標識されたタンパク質のいくつかの非特異的な性質には特有ではないことを主張する。

#### 【0161】

(実施例1~3の考察)

上記の結果は、h H G Fおよびh M e tを発現する(オートクライン様式で)腫瘍(一般的に、腫瘍の迅速に増殖する性質)は、H G F - M e tのペアに対して反応性のm A bの $^{125}$ I - 標識混合物で画像化され得ることを実証する。m H G Fおよび/またはm M e tを発現する腫瘍はまた、おそらくエピトープ交差反応性のために、放射ヨウ素標識されたm A b混合物で画像化され得る。しかし、ヒト腫瘍およびマウス腫瘍による $^{125}$ I - m A b混合物のインビボ代謝は、他の数量的規準によるのと同様に、反応速度論において異なる。要するに、調べたヒト腫瘍は、血液循環からのm A b混合物の迅速な取り込み

10

20

30

40

50

および迅速な排除を示し、そして注射後1時間から5日の範囲での時間で、マウス腫瘍よりも全身放射能の有意に高い比率を構成する。実際に、このような差異は、高い親和性、高い能力の腫瘍と結合に対するより低い親和性およびより所定の放射性トレーサ代謝のより低い能力を有する腫瘍との間で予測される。

【0162】

上記の画像化実験は、単一のエピト-プ特異性を有するmAbというよりは、むしろHGF-Metのペアと反応性であるmAbの「構成された」混合物により開始された。これは、レセプター(Met)およびそのリガンド(HGF)の両方を発現する腫瘍モデル中の任意の他のエピト-プから1つの標的エピト-プを選択するための、いくつかの推測的な理由の欠如のために行われた。

10

【0163】

さらに、本研究で使用される様々な抗HGF mAbが、異なるエピト-プに結合することがすでに知られている。アニメ形式で図4に図示されるように、放射標識した抗Met mAbは、腫瘍細胞表面上に発現したMet分子に直接結合し得るが、抗HGF mAbは、Met発現細胞のすぐ近傍に局所的に集中したHGF分子に結合し得るか、または間接的にMet発現腫瘍細胞を有効にターゲティングする(例えば、Met結合HGFへの結合によって)、HGFおよびMetと三重複合体を形成し得る。

【0164】

抗HGF mAbのこの特定の中和混合物は、Metの安定化に関与し得るので抗Met mAbは、他の場合よりも容易に、または強く結合する。この混合物中に含まれる任意のmAbは、単独で、これらの腫瘍を画像化するために使用され得ることもまた可能である。

20

【0165】

前記に基づき、ヒトにおいてMet発現腫瘍および/またはHGF腫瘍を検出可能な、新しく開発された放射標識mAbは、所定の被験体について、所定の腫瘍が後で侵入し、転移する可能性(例えば、高いまたは低い)の非侵襲性評価に基づいて、その被験体の「転移性の危険の層別化」を得るための臨床的ツールとして得られることが予測される。は、このような情報は、我々が、各々の患者に基づく適切なモニタリングおよび治療プロトコルを設計する能力を向上する。

【0166】

(実施例4)

(Met3を使用する、hMet発現腫瘍異種移植片の放射免疫シンチグラフィ)

単一のハイブリド-マクロン由来の抗Met mAb - - Met3と称する - - の活性を、4つの異なる組織起源のヒトMet発現腫瘍を画像化し、そして、Metの相対量に従ってそれらを区別する能力について試験した。

30

【0167】

<sup>125</sup>IをNaI(480-630 MBq;ヨウ素1μgあたり13~17mCi)として、Amersham Corp.(Arlington Heights, IL)より購入した。ヒトMetのC末端部分と反応性のC-28ウサギポリクローナル抗体および-チューブリンと反応性のH-235ウサギポリクローナル抗体を、Santa Cruz Biotechnology, Inc.より購入した。Alexa488結合体化抗マウス抗体をMolecular Probesより購入した。免疫修飾試薬をAmersham Pharmacia BioTechより購入した。

40

【0168】

(細胞株および腫瘍導入)

S-114細胞は、NIH 3T3細胞をヒトHGF/SFおよびヒトMetで形質転換したものである(Rongら、前出)。SK-LMS-1/HGF細胞は、ヒトMetおよびヒトHGF/SFを自己分泌するヒト平滑筋肉腫細胞株である(Jeffersら、前出)。PC-3細胞は、ヒト前立腺癌腫細胞株である。M14-MelおよびSK-MEL-28は、ヒト悪性黒色腫細胞株である。これらの全ての細胞株を、全て、10%

50

FBSを補填したDMEM中で維持した。

【0169】

約6週齢の雌性胸腺欠損ヌード(nu/nu)マウスに、S-114、SK-LMS-1/HGFもしくはPC-3細胞の懸濁液を、右大腿の後部側面、または、悪性黒色腫細胞懸濁液を大腿の右側隣接部に、皮下注入した。各マウスに、 $2 \times 10^5$ 個と $5 \times 10^5$ 個の間の細胞を移植した。腫瘍を、画像化の前1~6週間増殖させ、外部のキャリパー測定による最大寸法が0.5cmに達した。マウスを、国際動物保護委員会によって承認される条件下で、小集団で収容し、自由にマウス飼料および飲用水に近づけるようにした。

【0170】

(細胞株によるMet発現の分析)

上に列挙した培養細胞を、以前に記載される手順に少しの改変を加えた免疫ブロッティング(Webb, C.P.ら、2000, Cancer Res. 60:342-349)により、Metの相対量について分析した。簡単には、細胞をコンフルエンス近くまで、10% FBSを補填したDMEM中で増殖させた。細胞溶解物を調製し、清澄し、そして、タンパク質濃度について分析した。細胞溶解物の標準化アリコートにSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、電気移動し、そしてC-28抗Metポリクローナル抗体に続き抗-チューブリンポリクローナル抗体で免疫修飾した。免疫複合体は、増強された化学発光によって示され、X線フィルムへの曝露によって可視化した。

【0171】

(Met3の調製および特徴付け)

ヒトMetの細胞外ドメインに対するmAbを生成し、上述のように反応性についてスクリーニングした。ハイブリドーマクローン2F6由来の抗体を、ELISAによってMetに対する最も高い親和性を、そして、IFによってヒトMet細胞外ドメインに対する最も高い明らかな親和性を示すものとして同定した。本明細書中に記載される実験に使用される、クローン2F6由来の抗体を、Met3と称する。

【0172】

Met発現の免疫組織化学分析およびヒト組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片における分布をKnudsenら、前出に記載されるものを以下のように改変して実施した：顕微鏡用スライド上の組織切片をMet3とともにインキュベートし、Ventana(登録商標)automated systemで処理した。スライドを従来の光学顕微鏡で検鏡した。

【0173】

培養細胞におけるMet発現の免疫蛍光分析を、実質的に上述のように実施し、固定単層細胞をMet3次いで、FITC結合体化抗マウスIgGとともにインキュベートし、およびC-28ポリクローナル抗体次いでローダミン結合体化抗ウサギIgGとともにインキュベートし、適切な蛍光およびフィルターセットで染色パターンを可視化した。

【0174】

培養ヒト前立腺癌細胞株に結合するMet3の蛍光細胞分析分離装置(FACS)分析をBecton Dickinson FACS Calibur装置で実施した。培養細胞を、コンフルエンス近くまで増殖させ、ケラチンで剥離および分離し、そして、BSA含有緩衝液中0.1mlあたり約 $10^6$ 細胞で再懸濁した。細胞懸濁液をMet3( $10 \mu\text{g/ml}$ )とともに4で30分間インキュベートし、3回洗浄し、二次抗体(抗マウスAlexa green, Molecular Probes)とともに4で15分間インキュベートし、分析の前に3回洗浄した。

【0175】

核画像化実験について、IgG画分を、プロテインGアフィニティークロマトグラフィーによって2F6(Met3)ハイブリドーマ細胞株上清画分から精製し、0.25ナトリウムリン酸緩衝液(pH6.8~7.0)中2mg/mlの最終濃度に調整した。精製IgG画分を小さなアリコート(25~50 $\mu\text{g}$ )中に凍結保存し、放射ヨウ素標識の直

10

20

30

40

50

前に溶解した。

【0176】

(Met 3の放射ヨウ素標識および注射)

Met 3を上述の手順によって放射ヨウ素標識した。回収した生成物を使用するまで4で保存し、標識から24時間以内に注入した。放射標識効果を、Beckman Gamma 8000 counterで決定し、最終生成物中のタンパク質 - 結合<sup>1 2 5</sup>Iの割合を80%メタノール水溶液で展開するITLC-SGストリップ(Gelman)のクロマトグラフィーによって調べた。標識化混合物からmAbを完全に回収したと想定すると、放射標識効果は>60%であり、タンパク質 - 結合放射活性は、最終生成物中の総活性の90%とみなされた。

10

【0177】

(画像化手順および分析)

動物を画像化し、そしてシンチグラムを上記およびGrossら(前出); Hayら, 1997(前出); およびHayら, 2002, Nucl. Med. Commun. 23: 367-372に記載される方法によって分析した。簡単には、各マウスに約50µl中の<sup>1 2 5</sup>I-Met 3、50-100µCi(1.8-3.7MBq)を、軽い吸入麻酔下で尾静脈に皮内注射した。各画像化セッションの直前に、各マウスに、13mg/kgまでのキシラジンおよび87mg/kgのケタミンを、肩甲骨間領域に皮下注射した。各マウスの背面全身のカメラ画像を、<sup>1 2 5</sup>I-Met 3注射後1~2時間に始めて得、注射後1日、3日、および少なくとも5または6日で再び得た。落ち着いた状態のマウスを一匹または対で、コリメータ上に保護層を備える、逆さに向けたカメラヘッドの頂部に配置し、そして最適な肢の延びを維持するようにその層にテープ付けした。<sup>1 2 5</sup>I活性の画像を、低エネルギーで高感度のコリメータを備えるSiemens LEM Plusモバイルカメラによって得た。全身の画像あたり $2 \times 10^5 \sim 3 \times 10^6$ カウントを回収する間、15分間にわたって収集(acquisition)を得た。

20

【0178】

相対活性を、コンピュータで補助された(computer-assisted)対象領域(ROI)の分析によって、各腫瘍について、全身について、および適切なバックグラウンド領域について、各画像化の時点において測定した。これらのデータは、バックグラウンド補正された活性比および減衰補正された活性比として以下に示される。変換したデータのグラフィック分析および統計学分析は、Excel(Microsoft)プログラムを利用した。

30

【0179】

(結果)

(Met 3の特徴)

本明細書中に示されるように、Met 3は、市販されているポリクローナル抗Met抗体C-28(培養されたS-114細胞中)、ヒトMetおよびヒトHGF/SFで形質転換されたマウス株と共存する。図5Aは、Met 3がまた、ホルマリン固定化パラフィン包埋組織切片での、ヒト組織(例えば、前立腺組織)の免疫組織化学のために使用され得ることを示す。図5Bは、ヒト前立腺上皮細胞の初代培養物中でのIF分析によるMet 3の染色パターンが、C-28で観察されるパターンを複製することを示す。さらに、Met 3はPC-3およびDU145ヒト前立腺癌細胞株(これらの両方は、Metを発現する)の表面に結合するが、Metをごくわずかしか発現しないLNCaP細胞表面に対しては、任意の有意なレベルまで結合しない(Knudsenら(前出))。図5Cを参照のこと。

40

【0180】

(細胞株によるMet発現の分析)

図6に示されるように、この研究用に選択した細胞株は、血清の存在下で培養された場合に、Metの相対発現が劇的に変化する。細胞タンパク質濃度に対して規格化された細胞溶解物を電気泳動、電気移動(electrotransfer)、ならびにC-28

50

および抗 チューブリン（無関係なハウスキーピング遺伝子産物の種々の細胞株間の匹敵するレベルを確認するためのコントロールとして）での免疫修飾にかけ、M e t の存在量を評価する。これらの条件下で、S - 1 1 4 は、p 1 7 0 前駆体および成熟 p 1 4 0 形態の両方のように、M e t の最も高い存在量を示した。メラノーマ細胞株は、S K - M E L - 2 8 よりも低い M 1 4 - M e l を有する、最も低いレベルの M e t を発現した。S K - L M S - 1 / H G F および P C - 3 細胞は、総 M e t の匹敵するレベル（p 1 7 0 + p 1 4 0）で、M e t の中間的な存在量を示すが、P C - 3 細胞中で検出される p 1 4 0 に対する p 1 7 0 のより低い比を伴う。

#### 【0181】

（画像分析および定量化）

図7は、<sup>125</sup>I - M e t 3 の静脈内注射後、1 ~ 2 時間および5 ~ 6 時間で得られる、個々の異種移植片保有マウスの連続的な全身カメラ画像を示す。一对の同時に画像化された宿主マウスは、S K - L M S - 1 / H G F 異種移植片を示す。活性は、最も初期の画像化セッションにおける S - 1 1 4 および S K - L M S - 1 / H G F 異種移植片中ではっきりと可視化され、P C - 3 異種移植片中ですべて最初に示唆された後肢活性のかすかな非対称性を有する。全身の活性の関数としての腫瘍関連放射活性は、注射後3日でのこれらの3つの異種移植片中ですべて最も顕著である。どのメラノーマ異種移植片も、画像化の順序の間に、放射活性の量的にかなりの取りこみまたは保持を示さなかった。

10

#### 【0182】

図8は、2つの形式で示される、定量的な画像ROI分析のグラフィック結果を示す。上のパネルは、注射後の時間の関数として、異なる組織起源の異種移植片と関連する注射活性の推定画分を示す。各異種移植片型は、最も初期の画像化セッションにおいて、この関数について最も高い平均値を示し、S - 1 1 4、S K - L M S - 1 / H G F、および P C - 3 について、それぞれ推定注射活性の  $18.6 \pm 2.1$ 、 $7.2 \pm 2.2$ 、および  $5.4 \pm 2.6$  % の最大値（ $\pm 1$  s. d.）であった。下のパネルは、注射後の時間の関数として、腫瘍対全身の活性の平均比を示す。各異種移植片型について、この関数について最も高い値は注射後3日で生じ、S - 1 1 4、S K - L M S - 1 / H G F、および P C - 3 について、それぞれ  $0.32 \pm 0.13$ 、 $0.15 \pm 0.06$ 、および  $0.10 \pm 0.04$  の平均値（ $\pm 1$  s. d.）であった。M 1 4 - M e l または S K - M E L - 2 8 は、注射後の任意の時間において、注射活性または全身活性の3%以下を占める。

20

30

#### 【0183】

（考察）

実施例1 ~ 3に記載されるように、ヒト M e t - H G F レセプター - リガンド複合体の複数のエピトープを認識する m A b の混合物は、自己分泌腫瘍異種移植片の放射免疫シンチグラフィのために使用され得る。これらの観察は、実施例4に拡張され、これは、E C D h M e t の単一のエピトープを認識する単一のハイブリドーマクローンの産物である M e t 3 が、核画像化のために同様に有効であることを示す。これらの研究は、M e t 3 がヒト組織のホルマリンで固定化パラフィン包埋切片の慣習的な免疫組織化学分析のため、初代ヒト細胞培養物の I F 分析のため、およびヒト腫瘍細胞の F A C S ベースの分析のため（特に、正常ヒト前立腺組織および悪性ヒト前立腺組織のサンプルの評価のため）

40

#### 【0184】

さらなる例にそってここで示される結果は、放射標識された M e t 3 が異なる組織起源の、M e t 発現ヒト腫瘍異種移植片を画像化することを支持する。さらに、<sup>125</sup>I - M e t 3 取りこみのランク順序および異なる型の異種移植片によって示される保持レベルを、血清の存在下で培養したそれぞれの親細胞株中で生化学的に評価されるように、相対 M e t 存在量のランク順序でインピボで直接的に補正する。別の言いかたをすると、これらの知見に基づいて、腫瘍を、核画像化分析によって高い、低い、および中間の M e t 3 取りこみの分類で独断的に分け、これらそれぞれの分類が、腫瘍細胞中の高い、低い、および中間の M e t 存在量を反映することを推測することが可能である。

50

## 【0185】

中間のMet3取りこみ分類に分けられた2つの腫瘍異種移植片型(SK-LMS-1/HGFおよびPC-3)は、ここで例示されるROI分析関数のいずれに対しても統計学的に有意な差異を示さず、そして培養細胞溶解物の免疫プロット分析によって、かなりの総Met存在量(p170+p140)を有することを明らかにする。それにも関わらず、両方のROI分析関数は、PC-3中よりも、SK-LMS-1/HGF中でより高い値をとる傾向があり、これは、おそらく、前者におけるMetの自己分泌媒介性ターンオーバーに起因する。従って、放射標識されたMet3取りこみにおけるわずかな差異およびかなりの総Met存在量を有する細胞によるインビボでの保持におけるわずかな差異でさえも、Metの生物学的ターンオーバーの異なる速度に寄与し得る(Webbら、(前出); Jeffers, Mら、1997, Mol. Cell. Biol. 17: 799-808)。

## 【0186】

この可能性は、本発明者らの最近の研究によって支持され、この研究は、インビボでのさらなる型の異種移植片による<sup>125</sup>I抗Met mAbクリアランスの速度を、インビボでのHGF刺激に対するこれらの反応性と比較する(実施例55を参照のこと)。

## 【0187】

この放射ヨウ素標識抗Met mAb(Met3と示される)は、異なる組織起源のhMet発現異種移植片の画像化に有用であることが結論付けられた。これらの結果に従って、放射標識されたMet3でのシンチグラフィは、これらのMet発現レベルに従って、ヒト腫瘍異種移植片を区別し得る。

## 【0188】

(実施例5)

(新しいmAb、Met3を使用する、hMet発現腫瘍異種移植片の放射免疫シンチグラフィ)

単一のハイブリドマクローンからの二次抗Metモノクローナル抗体(Met5と示される)(表1を参照)を産生し、そしてMet3について上記したのと本質的に同じようにスクリーニングした。免疫沈降およびイムノプロット分析およびFACS分析は、このMet5 mAbが、イヌMetおよびヒトMetの両方に結合することを示す。ここで示される結果は、Met5が、Met3 mAbよりも、MetのECDの異なるエピトープに結合することを示す。

## 【0189】

この結果は、図9~13に示す。

## 【0190】

Metは、イヌ細胞に存在することが見出された。イヌ腎臓細胞株MDCKの細胞を培養し、そして所定の濃度でHGFに曝した。細胞溶解物を調製し、Met5と免疫沈降させ、その後、電気泳動、電気移動、および抗PY 4G10(抗ホスホチロシン抗体)で免疫修飾し、活性化(ホスホリル化)Metを検出する。SKLMS-1細胞を既知のポジティブコントロール(Met-ポジティブ、HGF反応性)として同様に処理した。結果は、これらの処理された細胞中に存在する大量のMetの存在を示し、これは、HGF刺激が強くなるにつれて増加する(図9A、9B)。これは、図10中に示される第2の実験で示された。

## 【0191】

PC-3ヒト前立腺癌細胞に結合するMet3のFACS分析は、Met3の存在下での蛍光指示薬(色素結合抗マウスAb)の、細胞との結合を反映するより大きい粒子サイズへの移行を示す(図11A~11C)。MDCKイヌ腎臓細胞へのMet5結合(図12A~12C)の同様の分析は、より大きい粒子サイズへの蛍光指示薬(蛍光標識された抗マウス抗体)の同様の移行を示す。

## 【0192】

2つの異なる型のヒト腫瘍異種移植片の、<sup>125</sup>I-Met5での核画像化を、図13

10

20

30

40

50

A ~ 13Dに示す。ヒト鼻咽頭癌(NPC)細胞株CNE-2および腎臓細胞癌(RCC)細胞株769-Pの異種移植片をヌードマウスの右大腿の皮下で増殖させた(3匹/群)。各マウスを<sup>125</sup>I-Met5で静脈内注射し、そして連続的なカメラ画像を得た(注射後1時間~5日)。各群中の一匹のマウスの画像に付けられている矢印は、皮下(大腿)腫瘍位置を示す。抗体の結合およびクリアランスの動力学における差異は明らかである。RCC腫瘍細胞は、1時間ほどで検出され、そして皮下腫瘍を標識する抗体の証明は、3日かかった。対照的に、NPC細胞は、1日で標識を示し、そして腫瘍は、5日で標識されたままである。これは、この二価抗体によって本質的にかまたはこの二価抗体による結合に応答してのいずれかで、細胞表面Met分子のターンオーバーまたは内在化を反映し得る。

10

#### 【0193】

従って、放射ヨウ素化標識されたMet5は、Met3と同様に、ヌードマウス中のヒト腫瘍異種移植片を画像化するために有効である。この試薬は、Met特異的画像化ならびにヒトおよびペットのイヌ(この中で、前立腺および骨の癌の自然発生は、比較的通常である)の両方のための診断薬および治療剤の開発を可能にする。

#### 【0194】

上で引用される参考文献は、具体的に援用されるか否かに関わらず、その全体が本明細書中で参考として援用される。

#### 【0195】

ここで、本発明を全て記載したが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、かつ過度の実験を伴わずに、本発明が等価のパラメータ、濃度、および条件の広い範囲内で実行され得ることを、当業者は容易に理解する。

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0196】

【図1】図1A~1Dは、抗hMet mAbを用いる、腫瘍の免疫蛍光(IF)分析を示す。アセトン/メタノール中に固定した抗hMet mAbs.S-114細胞を、(A)抗Met mAb 2F6次いでFITC結合体化抗マウスIgG(緑色Fig. 1A)または(B)ポリクローナル抗Metウサギ抗体C-28(Santa Cruz)次いでローダミン結合体化抗ウサギIgG(赤色、図1B)のいずれかで標識した。図1Cは、mAbおよびポリクローナル抗体で認識される抗原の共存(黄色)を確認する。図1Dは、図1~1Cからの細胞のNomarski-Differential Interference Contrast画像を示す。

30

【図2】図2は、hHGFに特異的な抗体およびhMetに特異的な抗体を含む<sup>125</sup>I標識mAb混合物を注射した、腫瘍を有するマウスの一連の全身画像を示す。各未加工像はこの<sup>125</sup>I-mAb混合物を注射した単一の腫瘍を有するマウスに対する連続全身シンチグラムを含む。各マウスにおける腫瘍は、その未加工像の左に示す。各カラムの下に、mAb注射後の時間を示し、この時点で各画像を取得した。上の3つの未加工画像について後方投射で、そしてDA3を有するマウスについては前方投射で、画像を得た。大きな矢印は、各腫瘍の横位置を示す。アスタリスクは、甲状腺の横位置を示す。注入後1日のDA3を有するマウスに対する画像の小さな矢印は、泌尿器膀胱活性を示す。M114を有するマウスについての各シンチグラムの上右角の体外放射活性は、位置マーカーを表す。

40

【図3】図3Aおよび3Bは、hHGFおよびhMetを発現する腫瘍とmHGFおよび/またはmMetを発現する腫瘍とのROI比較を示す。hMetおよびhHGFに起因して自己分泌様式で成長する腫瘍を有する4匹のマウス(3匹のマウスはS-114を有し、1匹のマウスはSK-LMS-1を有する)ならびに、mHGFおよび/またはmMetを発現する腫瘍を有する3匹のマウス(2匹のマウスはDA3を有し、1匹のマウスはM-114を有する)に、hMetおよびhHGF/SFに特異的な<sup>125</sup>I-標識mAb混合物を注射した。腫瘍の放射活性(T)および全身の放射活性(WB)を、早期として注入後1時間、および後期として注入後5日として得た連続的なシンチグラムの「対

50

象領域」分析によって定量した(図2)。平均値(±1SD)をTt:T1時間の比(=注入後1時間でのTに対する時間tでのTの比)、WBt:WB1時間、Tt:WB1時間およびTt:WBtについてプロットする。これらのマウスにおけるヒト腫瘍とマウス腫瘍の間の差異は、WBt:WB1時間(1時間後に $p < 0.001$ )およびTt:WBt(1時間で $p < 0.02$ ; 1時間後に $p = 0.001$ )について有意であった。

【図4】図4は、放射標識mAbが腫瘍細胞に結合する機構の図式表示である。放射標識化抗Met mAb(\*抗Met)は、腫瘍細胞表面上に発現されるMetに直接結合するように図示する。放射標識抗HGF mAb(\*抗HGF/SF)は、細胞外環境に濃縮される遊離HGFに結合し、それによって放射標識化可溶性複合体で腫瘍細胞を包圍し得るか、または細胞表面でmAb:HGF:Metの三元複合体を形成し得る。

10

【図5A】図5Aは、抗Met mAb「Met3」の反応性を特徴付ける。図5Aは、Met3を用いたエキソピボでの免疫組織化学染色を示す。ヒト前立腺組織のホルマリン固定のパラフィン包埋サンプルを、Met3を用いて免疫組織化学で試験した。正常な前立腺上皮において、暗茶色の染色によってMet発現を示す。染色は、基本細胞層において最も顕著である(矢印)。

【図5B】図5Bは抗Met mAb「Met3」の反応性を特徴付ける。図5Bは、培養された正常ヒト前立腺上皮細胞においてMet3がMetに結合することを示す。正常ヒト前立腺上皮細胞の初代培養を、Met3(緑色;図5Bの左半分)およびC-28ポリクローナル抗体(赤色;図5Bの右半分)を用いてIFによって試験した。抗体の結合は、形質膜に同時に局在する。

20

【図5C】図5C/1~5C/3は抗Met mAb「Met3」の反応性を特徴付ける。図5C/1~5C/3は、Met3がPC-3およびDU145前立腺癌腫細胞の表面に結合することを示す:Met3でのFACS分析(右にシフトする薄い緑色の曲線)は、LNCaP細胞株(非常の低いレベルのMet発現を示す)ではなく、Met発現PC-3およびDU145細胞株における染色表面を示す。

【図6】図6は、選択したヒト癌細胞によるMet発現を示す。示される培養細胞株を10%のウシ胎仔血清(FBS)を含むDMEM中でコンフルエント近くまで増殖させた。細胞溶解物の標準化アリコート、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、電気移動し、そしてC-28抗Metポリクローナル抗体(上パネル)に続きH-235抗-チューブリンポリクローナル抗体(下パネル)で免疫修飾した。免疫複合体は、増強された化学発光によって示された。結果として得られたルミノグラムの関連領域を示す。

30

【図7】図7は、腫瘍異種移植片のシンチグラムを示す。示された細胞株を雌胸腺欠損ヌードマウスの、右大腿の背部側面にかまたは右側方(悪性黒色腫に関して)の隣接部位に皮下注射し、異種移植片を導入した。宿主動物を $^{125}\text{I}$ -Met3(これらの腫瘍が最大寸法において0.5cmに達した場合、50~100 $\mu\text{Ci}$ を静脈内に与えた)での放射免疫シンチグラフィにかけた。左に示される腫瘍を有する動物の各々についての連続背部全身シンチグラムの複合(注入後1~2時間5~6日)を示す。矢印は、腫瘍異種移植片の位置を示す。いくつかの動物におけるいくつかの時点において、異種移植片近くで明らかな活性の正中焦点は、泌尿器膀胱における放射性ヨウ素( $^{125}\text{I}$ )を示す。各画像における活性のcranial admost焦点は、甲状腺によって取り込まれる遊離放射性ヨウ素を示す。

40

【図8A】図8Aは、シンチグラムの対象領域(ROI)分析を示す。各宿主動物についての連続シンチグラムを定量的ROI分析により評価した。図8Aは、腫瘍異種移植片に関する注入活性の推定割合を、注入後時間の関数として示す。

【図8B】図8Bは、シンチグラムの対象領域(ROI)分析を示す。各宿主動物についての連続シンチグラムを定量的ROI分析により評価した。図8Bは、腫瘍関連放射活性と測定した全身活性の比を注入後時間の関数として示す。各異種移植片群について、各注入後の時点での平均値(+1s.d.)を示し;群あたり $n = 3 \sim 5$ 動物である。

【図9】図9Aおよび9Bは、イヌ細胞における活性化Metの存在を示す。イヌの腎臓

50

細胞株 M D C K の細胞を培養し、示された濃度で H G F に曝露した。細胞溶解物を調製し、M e t 5 で免疫沈降し、その後、電気泳動し、電気移動し、そして抗 P Y 4 G 1 0 (抗リン酸チロシン抗体) で免疫修飾し、活性化 (リン酸化) M e t を検出した。S K L M S - 1 細胞を既知のポジティブコントロール (M e t - 陽性、H G F - 反応性) として、同様に処理した。

【図 1 0】図 1 0 は、図 9 A / 9 B と同様に、イヌ細胞における活性化 M e t を示す。培養 M D C K 細胞 (イヌ腎臓細胞株) を示された濃度で H G F に曝露した。細胞溶解物を M e t 5 で免疫沈降し、その後、電気泳動し、電気移動し、そして抗リン酸チロシン抗体で免疫修飾し、活性化 (リン酸化) M e t を検出した。S K L M S - 1 細胞を再度コントロールとして用いた。

【図 1 1】図 1 1 A ~ 1 1 C は、P C - 3 ヒト前立腺癌細胞株に結合する M e t 3 の F A C S 分析を示す。M e t 3 の存在下での蛍光指示薬 (色素結合体化抗マウス A b) のより大きい粒子サイズへのシフトは、細胞に関連して反映する。

【図 1 2】図 1 2 A ~ 1 2 C は、M D C K イヌ腎臓細胞に結合する M e t 5 の F A C S 分析を示す。M e t 5 は、細胞に関連して反映する蛍光指示薬 (色素結合体化抗マウス抗体) のより大きい粒子サイズへのシフトを誘導した。

【図 1 3】図 1 3 A ~ 1 3 D は、<sup>125</sup>I - M e t 5 を用いたヒト腫瘍異種移植片の核画像化の結果を示す。ヒト鼻咽頭癌細胞株 C N E - 2 および腎細胞癌細胞株 7 6 9 - P の異種移植片をヌードマウスの右大腿の皮下で増殖させた (3 マウス / 群)。各マウスに、<sup>125</sup>I - M e t 5 を静脈内注射し、連続カメラ画像を取得した (注入後 1 時間 ~ 5 日)。各群の 1 匹のマウスの画像に付加された矢印は、皮下 (大腿) 腫瘍位置を示す。

10

20

【図 1】

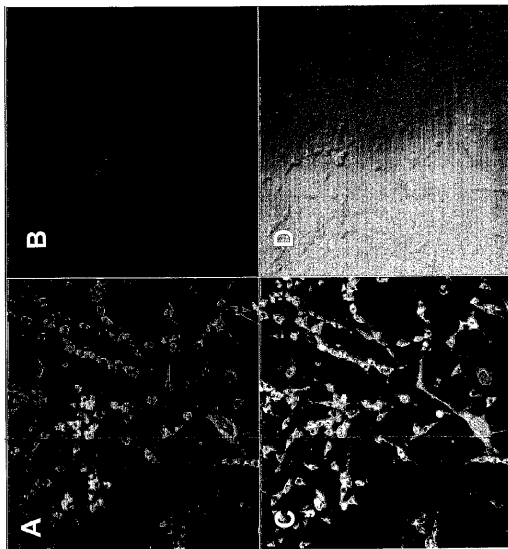


Fig. 1

【図 2】

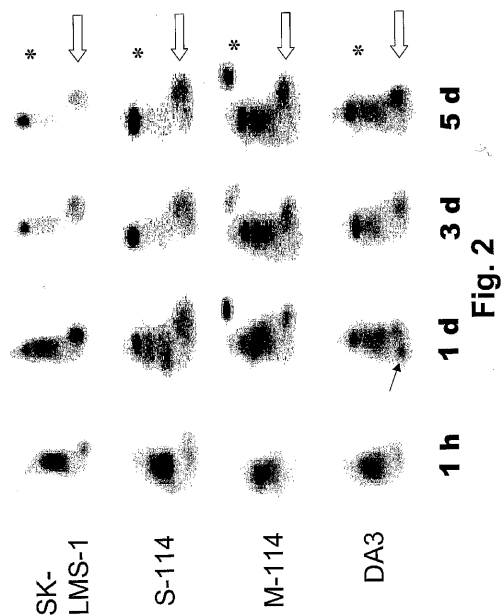


Fig. 2

【 図 3 】

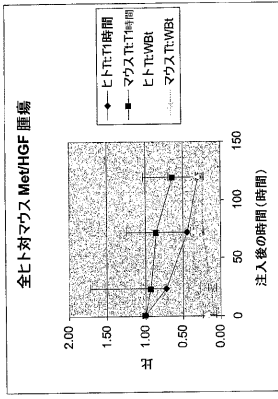


Fig. 3B

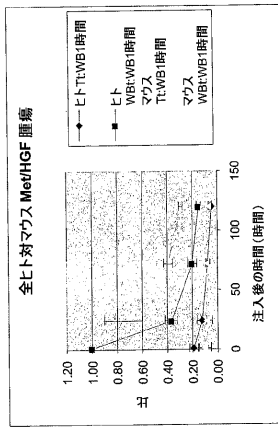


Fig. 3A

【 図 5 A 】

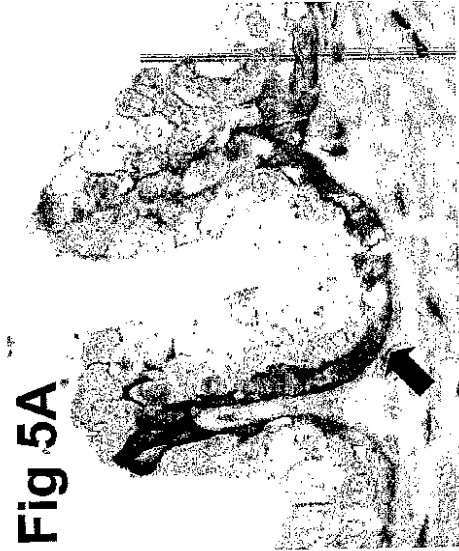


Fig. 5A

【 図 4 】

腫瘍細胞への\*MAb結合の潜在的な機構

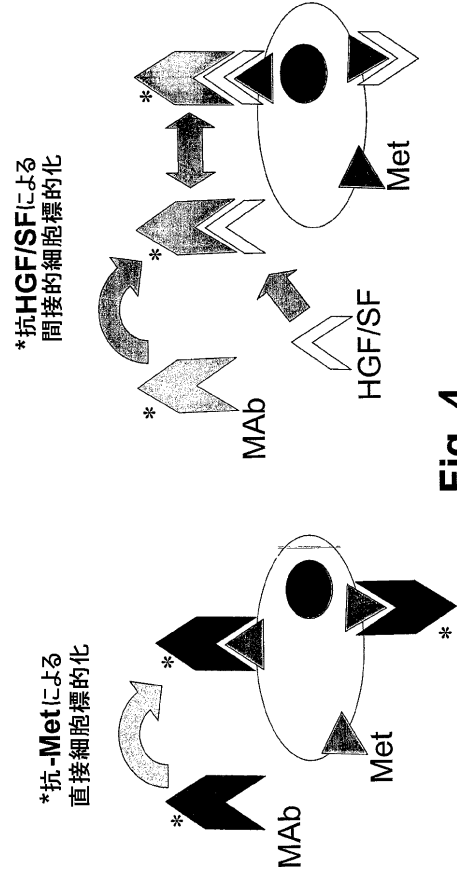


Fig. 4

【 図 5 B 】

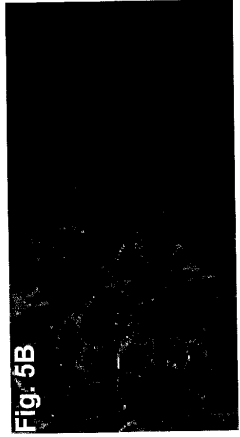


Fig. 5B

【 図 5 C 】

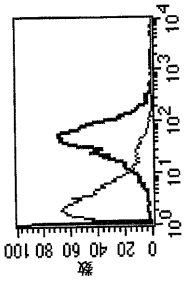


Fig. 5C/3

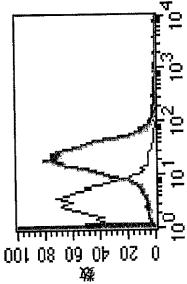


Fig. 5C/2

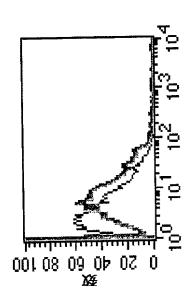


Fig. 5C/1

【 図 6 】

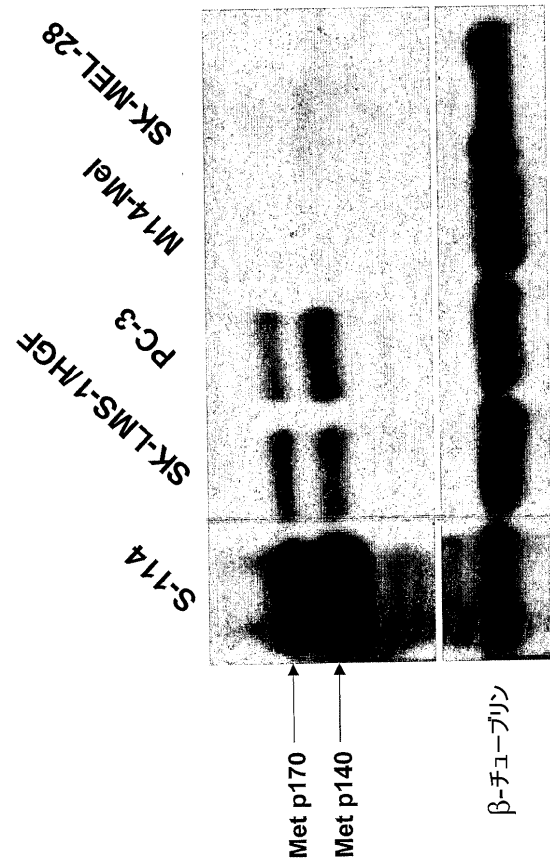


Fig 6

【 図 7 】

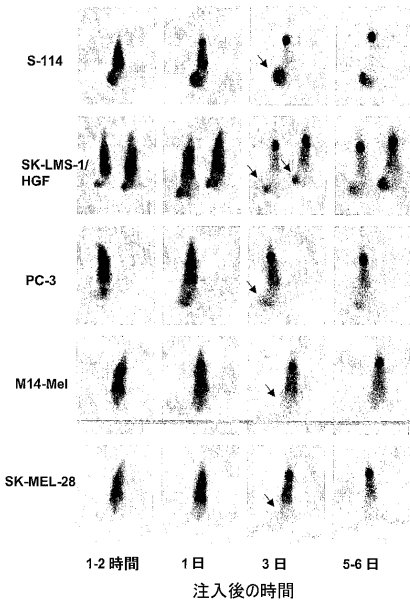


Fig. 7

【 図 8 A 】

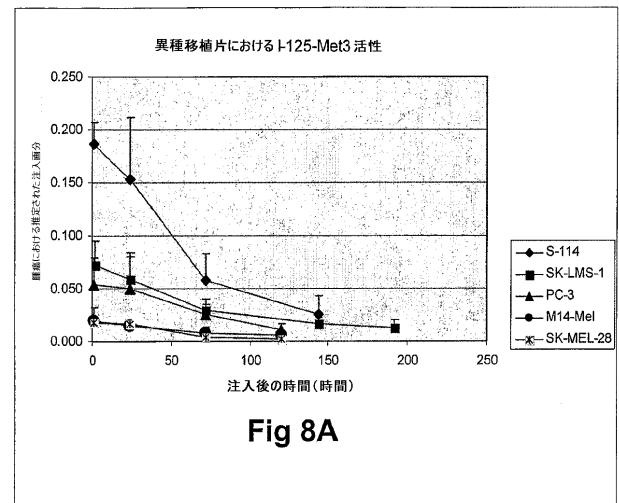
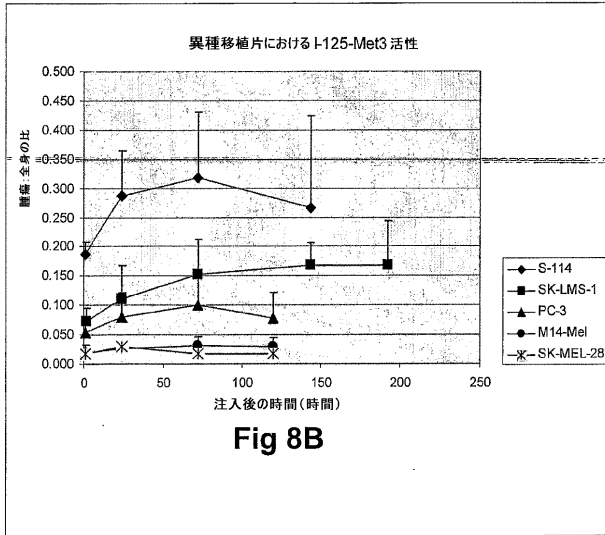
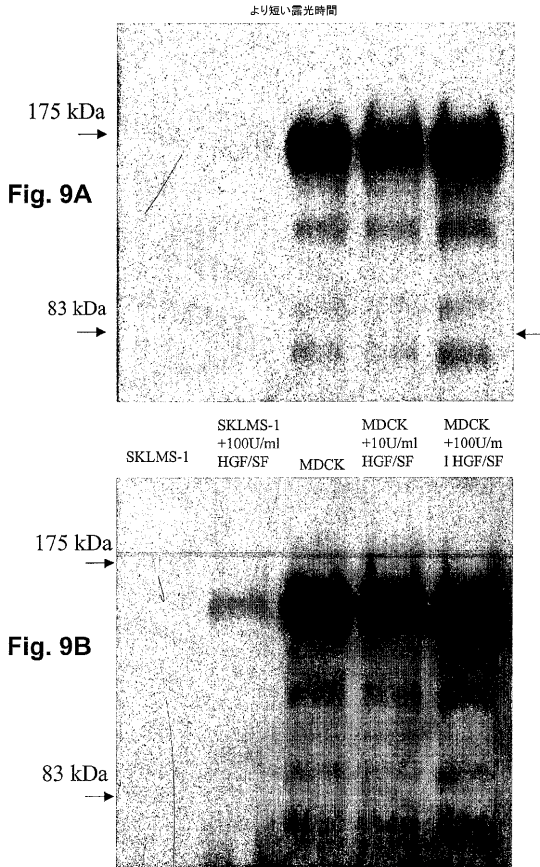


Fig 8A

【 図 8 B 】



【 図 9 】



【 図 1 0 】

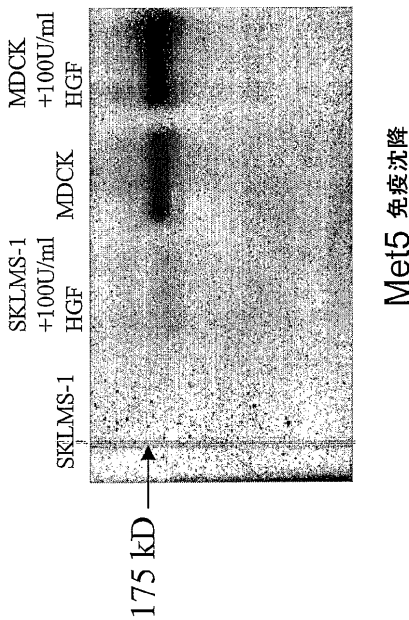
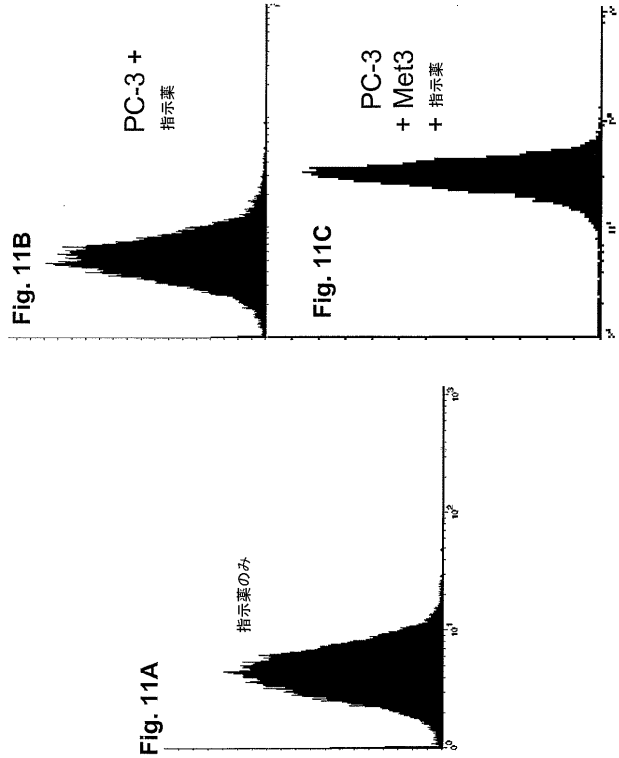


Fig. 10

【 図 1 1 】



【 図 1 2 】

Fig. 12A

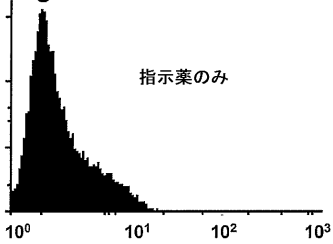


Fig. 12B

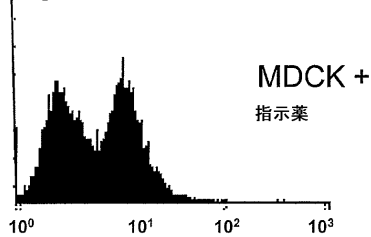
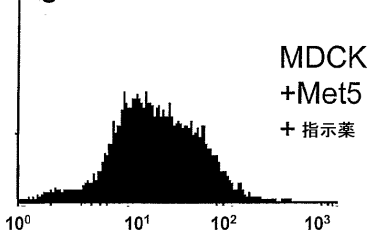
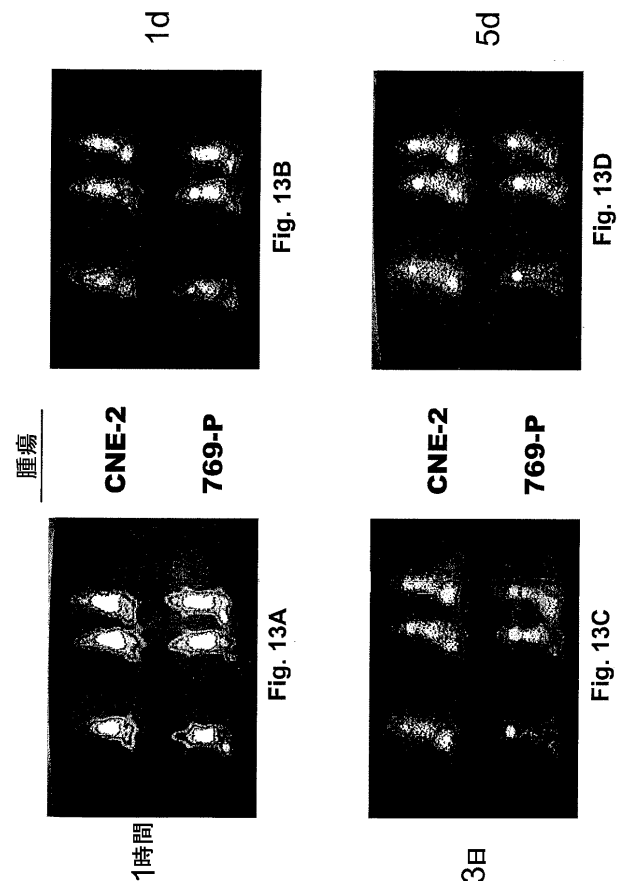


Fig. 12C



【 図 1 3 】



## 【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成16年6月29日 (2004.6.29)

## 【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

モノクローナル抗体であって：

(a) 受入番号PTA-4349でAmerican Type Culture Collectionに寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体Met3；および

(b) 受入番号PTA-4477でAmerican Type Culture Collectionに寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体Met5からなる群から選択される、モノクローナル抗体または該抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

【 請求項 2 】

受入番号PTA-4349でAmerican Type Culture Collectionに寄託された前記ハイブリドーマ細胞株によって産生される、請求項1に記載のMet3モノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体。

【 請求項 3 】

受入番号PTA-4477でAmerican Type Culture Collectionに寄託された前記ハイブリドーマ細胞株によって産生される、請求項1に記載のMet5モノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体。

## 【請求項 4】

請求項 2 に記載のモノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体を識別する生物学的特徴の全てを有する、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

## 【請求項 5】

請求項 3 に記載のモノクローナル抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体と識別する生物学的特徴の全てを有する、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメントもしくは誘導体。

## 【請求項 6】

Me t に特異的なヒト化モノクローナル抗体であって、該抗体の重鎖および/もしくは軽鎖可変領域、または該可変領域の抗原結合部位が、請求項 2 または 3 に記載のモノクローナル抗体の対応する領域または部位を識別する同一の生物学的または構造的特徴の全てを有し、該ヒト化モノクローナル抗体の残り実質的に全てが、ヒト起源であるか、または該ヒト化モノクローナル抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体である、ヒト化モノクローナル抗体。

## 【請求項 7】

Me t に特異的なヒトモノクローナル抗体であって、該抗体は、請求項 2 に記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープと同じエピトープ、または該ヒト抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体に結合する、ヒトモノクローナル抗体。

## 【請求項 8】

Me t に特異的なヒトモノクローナル抗体であって、該抗体は、請求項 3 に記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープと同じエピトープ、または該ヒト化抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体に結合する、ヒトモノクローナル抗体。

## 【請求項 9】

請求項 1 に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 10】

請求項 2 に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 11】

請求項 3 に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 12】

請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、さらに、Me t エピトープに特異的な 1 つ以上のさらなる抗体を含むか、または、該さらなる 1 つ以上の抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 13】

請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、さらに、肝細胞増殖因子 (HGF) に特異的な 1 つ以上の抗体を含むか、または該 1 つ以上の HGF 特異的な抗体の抗原結合フラグメントもしくは誘導体を含む、組成物。

## 【請求項 14】

請求項 13 に記載の組成物であって、前記 1 つ以上の HGF 特異的抗体が：

(a) 受入番号 PTA - 3414 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体；

(b) 受入番号 PTA - 3416 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体；

(c) 受入番号 PTA - 3413 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体；および

(d) 受入番号 PTA - 3412 で American Type Culture Collection に寄託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナ

ル抗体、  
からなる群から選択される、組成物。

【請求項15】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項1～8のいずれか1項に記載の診断的または検出可能に標識されたモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導體、および；

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項16】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項9～11のいずれか1項に記載の診断的または検出可能に標識された組成物；および

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項17】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項12に記載の診断的または検出可能に標識された組成物；および

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項18】

診断的に有用な組成物であって、以下：

(a) 請求項13に記載の診断的または検出可能に標識された組成物；および

(b) 診断的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、組成物。

【請求項19】

請求項15に記載の診断的に有用な組成物であって、ここで前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導體が、放射性核種、PET画像化可能な試薬MRI画像化可能な試薬、蛍光物質、蛍光源、発色団、色素源、リン光物質、化学発光物質および生体発光物質からなる群から選択される検出可能な標識で標識される、組成物。

【請求項20】

請求項16に記載の診断的に有用な組成物であって、ここで前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導體が、放射性核種、PET画像化可能な試薬、MRI画像化可能な試薬、蛍光物質、蛍光源、発色団、色素源、リン光物質、化学発光物質および生体発光物質からなる群から選択される検出可能な標識で標識される、組成物。

【請求項21】

前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導體が、放射性核種で標識される、請求項19に記載の組成物。

【請求項22】

前記放射性核種がインビボで検出可能なものである、請求項21に記載の組成物。

【請求項23】

前記放射性核種が放射免疫シンチグラフィにより検出可能なものである、請求項22に記載の組成物。

【請求項24】

請求項21に記載の組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ および $^{201}\text{Tl}$ からなる群から選択される、組成物。

【請求項25】

前記放射性核種が $^{125}\text{I}$ である、請求項24に記載の組成物。

【請求項26】

前記モノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導體が放射性核種で標識される、請求項

20に記載の組成物。

【請求項27】

前記放射性核種がインビボで検出可能なものである、請求項26に記載の組成物。

【請求項28】

前記放射性核種が放射免疫シンチグラフィにより検出可能なものである、請求項27に記載の組成物。

【請求項29】

請求項26に記載の組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ および $^{201}\text{Tl}$ からなる群から選択される、組成物。

【請求項30】

前記放射性核種が $^{125}\text{I}$ である、請求項29に記載の組成物。

【請求項31】

前記検出可能な標識が、蛍光物質または蛍光源である、請求項19に記載の組成物。

【請求項32】

請求項31に記載の組成物であって、ここで前記蛍光物質または蛍光源が、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒド、フルオレサミン、フルオレセイン誘導体、Oregon Green、Rhodamine Green、Rhodol GreenおよびTexas Redからなる群から選択される、組成物。

【請求項33】

前記検出可能な標識が、蛍光物質または蛍光源である、請求項20に記載の組成物。

【請求項34】

請求項33に記載の組成物であって、ここで前記蛍光物質または蛍光源が、フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒド、フルオレサミン、フルオレセイン誘導体、Oregon Green、Rhodamine Green、Rhodol GreenおよびTexas Redからなる群から選択される、組成物。

【請求項35】

前記検出可能な標識が、前記抗体に結合された1つ以上のジエチレントリアミンペンタ酢酸(DTPA)残基を介して該抗体に結合する、請求項19に記載の組成物。

【請求項36】

前記検出可能な標識が、1つのDTPA残基を介して前記抗体に結合する、請求項35に記載の組成物。

【請求項37】

MRI診断に有用な、請求項35に記載の組成物であって、ここで金属原子が前記DTPA残基に結合する、組成物。

【請求項38】

前記金属が、ガドリニウム、マンガン、銅、鉄、金およびユーロピウムからなる群から選択される、請求項37に記載の組成物。

【請求項39】

前記金属がガドリニウムである、請求項38に記載の組成物。

【請求項40】

前記検出可能な標識が、前記抗体に結合された1つ以上のジエチレントリアミンペンタ酢酸(DTPA)残基を介して該抗体に結合する、請求項20に記載の組成物。

【請求項41】

前記検出可能な標識が、1つのDTPA残基を介して前記抗体に結合する、請求項40に記載の組成物。

【請求項42】

MRI診断に有用な、請求項40に記載の組成物であって、ここで金属原子が前記DTPA

A 残基に結合する、組成物。

【請求項 4 3】

前記金属が、ガドリニウム、マンガン、銅、鉄、金およびユーロピウムからなる群から選択される、請求項 4 2 に記載の組成物。

【請求項 4 4】

前記金属がガドリニウムである、請求項 4 3 に記載の組成物。

【請求項 4 5】

M e t 発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

( a ) 治療有効量の、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のモノクローナル抗体、フラグメントまたは誘導体；および

( b ) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。

【請求項 4 6】

M e t 発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

( a ) 治療有効量の、請求項 9 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の組成物；および

( b ) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。

【請求項 4 7】

M e t 発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

( a ) 治療有効量の、請求項 1 2 に記載の組成物；および

( b ) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。

【請求項 4 8】

M e t 発現腫瘍を処置するのに有用な治療用組成物であって、以下：

( a ) 治療有効量の、請求項 1 3 に記載の組成物；および

( b ) 薬学的または治療的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、治療用組成物。

【請求項 4 9】

注射または注入に適する形態での、請求項 4 5 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 0】

請求項 4 5 に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

【請求項 5 1】

前記治療部分が放射性核種である、請求項 5 0 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 2】

請求項 5 1 に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$  および  $^{217}\text{Bi}$  からなる群から選択される、組成物。

【請求項 5 3】

注射または注入に適する形態での、請求項 4 6 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 4】

請求項 4 6 に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも 1 つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

【請求項 5 5】

前記治療部分が放射性核種である、請求項 5 4 に記載の治療用組成物。

【請求項 5 6】

請求項 5 5 に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$

、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ および $^{217}\text{Bi}$ からなる群から選択される、組成物。

【請求項57】

注射または注入に適する形態での、請求項47に記載の治療用組成物。

【請求項58】

請求項47に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも1つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

【請求項59】

前記治療部分が放射性核種である、請求項58に記載の治療用組成物。

【請求項60】

請求項59に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ および $^{217}\text{Bi}$ からなる群から選択される、組成物。

【請求項61】

注射または注入に適する形態での、請求項48に記載の治療用組成物。

【請求項62】

請求項48に記載の治療用組成物であって、ここで前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも1つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、治療用組成物。

【請求項63】

前記治療部分が放射性核種である、請求項62に記載の治療用組成物。

【請求項64】

請求項63に記載の治療用組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ および $^{217}\text{Bi}$ からなる群から選択される、組成物。

【請求項65】

キットであって、以下：

(a) 請求項1～8のいずれか1項に記載の抗体、フラグメントまたは誘導体を含む、標識された第1の容器；

(b) 診断的または薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤を含む、標識された第2の容器；および

(c)；被験体の癌性状態または腫瘍であって、該被験体の癌腫または腫瘍細胞がMetを発現する、癌性状態または腫瘍を診断、予後、モニタリングまたは処置するための該抗体の使用のための説明書

を含み、ここで、該抗体、フラグメントまたは誘導体が該状態の診断、予後、モニタリングまたは処置に効果的であり、そして、該標識された容器が、該抗体が該診断、予後、モニタリングまたは処置のために使用され得ることを示す、キット。

【請求項66】

Metの存在を検出するための組成物であって、該Metは、(i)細胞表面上、(ii)組織内、(iii)器官内または(iv)生物学的サンプル内であり、この細胞、組織、器官またはサンプルは、Metを発現することが予想され、該組成物は、請求項15～18のいずれか1項に記載の組成物を含む、組成物。

【請求項67】

前記検出がインビトロである、請求項66に記載の組成物。

【請求項68】

前記検出がインビボである、請求項66に記載の組成物。

【請求項69】

前記検出可能な標識が放射性核種である、請求項68に記載の組成物。

【請求項70】

請求項69に記載の組成物であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$

、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ および $^{201}\text{Tl}$ からなる群から選択される、組成物。

【請求項71】

前記検出が放射免疫シンチグラフィによってである、請求項70に記載の組成物。

【請求項72】

前記放射性核種が $^{125}\text{I}$ である、請求項71に記載の組成物。

【請求項73】

前記検出可能な標識がMRI画像化可能な試薬でありかつ前記検出がMRIによってである、請求項68に記載の組成物。

【請求項74】

(i) Met発現腫瘍細胞の増殖、遊走もしくは浸潤、または(ii) Met発現腫瘍細胞によって誘導される脈管形成を阻害するための組成物であって、該細胞を、有効量の請求項45～48のいずれか1項に記載の治療用組成物を含む、組成物。

【請求項75】

前記治療用組成物が注射または注入に適する形態である、請求項74に記載の組成物。

【請求項76】

請求項74に記載の組成物であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも1つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、組成物。

【請求項77】

前記治療用組成物において、前記治療部分が放射性核種である、請求項76に記載の組成物。

【請求項78】

請求項45～48に記載の組成物であって、ここで該組成物が、(i) Met発現細胞の望ましくない増殖、遊走もしくは浸潤、または(ii) Met発現細胞によって誘導される望ましくない脈管形成に関する癌性疾患または状態を有する被験体を処置するために使用される、組成物。

【請求項79】

請求項78に記載の組成物であって、ここで前記治療用組成物において、前記抗体、フラグメントまたは誘導体の少なくとも1つが、治療部分に結合するか、結合体化するか、または治療部分で標識される、組成物。

【請求項80】

受入番号PTA-4349でAmerican Type Culture Collectionに寄託された、前記ハイブリドーマ細胞株。

【請求項81】

受入番号PTA-4477でAmerican Type Culture Collectionに寄託された、前記ハイブリドーマ細胞株。

【請求項82】

Metの存在を検出するための方法であって、該Metは、(i)細胞表面上、(ii)組織内、(iii)器官内または(iv)生物学的サンプル内であり、この細胞、組織、器官またはサンプルは、Metを発現することが予想され、該方法は以下：

(a)細胞、組織、器官またはサンプルをインビトロで請求項15～18に記載の組成物と接触させる工程；

(b)細胞、組織、器官またはサンプルに関する前記標識の存在をインビトロで検出する工程

を包含する、方法。

【請求項83】

前記検出可能な標識が放射性核種である、請求項82に記載の方法。

【請求項84】

請求項83に記載の方法であって、ここで、前記放射性核種が、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、

$^{99}\text{Tc}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ および $^{201}\text{Tl}$ からなる群から選択される、方法。

【請求項85】

前記放射性核種が $^{125}\text{I}$ である、請求項83に記載の方法。

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/41607
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC(7) : G01N 33/53; C07K 16/00 US CL : 435/7.1; 530/387.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/7.1; 530/387.1		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	YAMADA et al. Immunohistochemistry with antibodies to hepatocyte growth factor and its receptor protein (c-Met) in human brain tissues. Brain Res. 1994, Vol. 637, pages 308-312. See entire document.	1-14,16-18,20,26-30,33-34,40-44,46-48,53-64,67-69,73-75,77-79,81-83,85-91,93-95
A	FRAT et al. C-terminal truncated forms of Met, the hepatocyte growth factor receptor. Mol Cell Biol. December 1991, Vol.11, No. 12, pages 5954-5962. See entire document.	1-14,16-18,20,26-30,33-34,40-44,46-48,53-64,67-69,73-75,77-79,81-83,85-91,93-95
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 22 October 2004 (22.10.2004)	Date of mailing of the international search report 26 NOV 2004	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer MINH-TAM DAVIS <i>J. Roberto for</i> Telephone No. 571-272-1600	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/41607

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)**

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

1.  Claim Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.  Claim Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claim Nos.: 15,19,21-25,31,32,35-39,45,49-52,65,66,70-72,76,80,84,92,96,100,104-106,116 and 120  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)**This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
Please See Continuation Sheet

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

**Remark on Protest**  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/41867

**BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING**

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, claim(s) 1-14, 16-18,20,26-30,33-34,40-44,46-48,53-64,67-69,73-75,77-79,81-83,85-91,93-95, drawn to a monoclonal antibody to Met and a method for detecting Met.

Group II, claim(s) 97-99,101-103,107-115,117-119,121-125, drawn to a method for inhibiting cancer or angiogenesis using a monoclonal antibody to Met or a combination of a monoclonal antibody to Met and antibodies specific for hepatocyte growth factor.

The inventions listed as Groups I-II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

An international stage application shall relate to one invention only or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. When claims to different categories are present in the application, the claims will be considered to have unity of invention if the claims are drawn only to one of the following combinations of categories: (1) A product and a process specially adapted for the manufacture of said product; or (2) A product and a process of use of said product; or (3) A product, a process specially adapted for the manufacture of the said product, and a use of the said product; or (4) A process and an apparatus or means specifically designed for carrying out the said process; or (5) A product, a process specially adapted for the manufacture of the said product, and an apparatus or means specifically designed for carrying out the said process. If multiple products, processes of manufacture or uses are claimed, the first invention of the category first mentioned in the claims of the application will be considered as the main invention in the claims, see PCT article 17(3) (a) and 1.476 (c), 37 C.F.R. 1.475(b) and (d). Group I will be the main invention. After that, all other products and methods will be broken out as separate groups (see 37 CFR 1.475(d).)

Group I, claims 1-14, 16-18,20,26-30,33-34,40-44,46-48,53-64,67-69,73-75,77-79,81-83,85-91,93-95 form a single general inventive concept.

Group II is an additional use claimed for the monoclonal antibody specific for Met.

Claims 15,19,21-25,31,32,35-39,45,49-52,65,66,70-72,76,80,84,92,96,100,104,105,106,116,120 are improper independent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentence of PCT Rule 6.4(a).

**Continuation of Box II Item 4:**

1-14,16-18,20,26-30,33,34,40-44,46-48,53-64,67-69,73-75,77-79,81-83,85-91, and 93-95

**Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:**

DIALOG, WEST

Search terms: antibody, Met, PTA-4349, PTA-4477

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 49/00	A 6 1 K 47/48	4 C 0 8 5
A 6 1 K 51/00	A 6 1 K 49/00	C 4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00	A 6 1 K 49/00	Z
C 1 2 N 5/10	A 6 1 P 35/00	
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/531	G 0 1 N 33/531	A
G 0 1 N 33/574	G 0 1 N 33/574	D
G 0 1 N 33/58	G 0 1 N 33/58	Z
G 0 1 N 33/60	G 0 1 N 33/60	A
// C 0 7 K 16/28	C 1 2 N 5/00	B
C 1 2 P 21/08	A 6 1 K 49/02	A
	A 6 1 K 43/00	
	C 0 7 K 16/28	
	C 1 2 P 21/08	

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

- (71) 出願人 504243833  
 ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメリカ, アズ リプレゼンティッド バイ ザ デパートメント オブ ヴェテランズ アフェアーズ  
 アメリカ合衆国 ワシントン ディーシー 20420, エヌダブリュー, パーモント アベニュー 810, オフィス オブ ジェネラル カウンセル - ピーエスジー アイブイ (024), デパートメント オブ ヴェテランズ アフェアーズ
- (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策
- (74) 代理人 100062409  
 弁理士 安村 高明
- (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹
- (72) 発明者 ハイ, リック ブイ.  
 アメリカ合衆国 ミシガン 49301, エイダ, エス.イー., アスペンウッド ドライブ 7954
- (72) 発明者 チャオ, ポリアン  
 アメリカ合衆国 ミシガン 49301, エイダ, エヌ.イー., ドニールック コート 158
- (72) 発明者 リサウ, ジェームズ エイチ.  
 アメリカ合衆国 ミシガン 49506, グランド ラピッズ, エス.イー., アレクサンダー 1413
- (72) 発明者 バンデ ラウデ, ジョージ エフ.  
 アメリカ合衆国 ミシガン 49301, エイダ, エヌ.イー., バイレー ドライブ 9451
- (72) 発明者 グロス, ミルトン ディー.  
 アメリカ合衆国 ミシガン 48105, アン アーバー, ミドルトン 3695

Fターム(参考) 2G045 AA26 DA37 DA78 FB03 FB07 FB08 FB12  
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 CE12 DA05 DA14  
4B065 AA91X AA92X AB05 AC14 BD14 CA25 CA44 CA46  
4C076 AA11 AA16 AA95 BB11 CC27 CC41 EE59 FF66 FF68  
4C084 AA02 AA03 AA07 AA12 BA33 BA41 MA02 MA05 MA13 MA17  
MA22 MA23 MA31 MA35 MA37 MA43 MA52 MA56 MA57 MA58  
MA59 MA60 MA66 NA05 NA13 ZB262 ZC422  
4C085 AA14 AA16 AA22 AA26 AA34 BB11 BB41 BB43 BB44 CC02  
CC21 CC23 CC31 DD59 EE01 EE03 GG01 GG08 HH03 HH07  
HH11 JJ02 JJ03 KA04 KA05 KA09 KA27 KA28 KA29 KB07  
KB08 KB09 KB12 KB55 KB56 LL18  
4H045 AA11 CA41 DA50 DA76 DA86 DA89 EA28 EA51 FA72 GA26

专利名称(译)	单克隆抗体成像和治疗表达Met并结合肝细胞生长因子的肿瘤		
公开(公告)号	<a href="#">JP2005527488A</a>	公开(公告)日	2005-09-15
申请号	JP2003557514	申请日	2002-12-27
[标]申请(专利权)人(译)	温安洛研究所 美利坚合众国为VETE李介绍股份有限公司遮阳板处地政事务		
申请(专利权)人(译)	温安洛研究所 通过Veteranzu事务部门的美利坚合众国，如丽介绍		
[标]发明人	ハイリックブイ チャオポリアン リサウジェームズエイチ バンデラウデジョージエフ グロスミルトンディー		
发明人	ハイ,リック ブイ. チャオ,ポリアン リサウ,ジェームズ エイチ. バンデラウデ,ジョージ エフ. グロス,ミルトン ディー.		
IPC分类号	G01N33/53 A61K9/08 A61K9/10 A61K39/395 A61K47/48 A61K49/00 A61K51/00 A61K51/10 A61P35/00 C07K16/28 C07K16/32 C07K16/40 C12N5/10 C12P21/08 G01N33/531 G01N33/574 G01N33/58 G01N33/60		
CPC分类号	A61K51/1045 A61K2039/505 A61P35/00 C07K16/2863 C07K16/32 G01N33/57484 G01N33/57492		
FI分类号	C07K16/40 A61K9/08 A61K9/10 A61K39/395.N A61K39/395.Y A61K47/48 A61K49/00.C A61K49/00.Z A61P35/00 G01N33/53.D G01N33/531.A G01N33/574.D G01N33/58.Z G01N33/60.A C12N5/00.B A61K49/02.A A61K43/00 C07K16/28 C12P21/08		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/DA37 2G045/DA78 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB08 2G045/FB12 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA05 4B064/DA14 4B065/AA91X 4B065/AA92X 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BD14 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076/AA11 4C076/AA16 4C076/AA95 4C076/BB11 4C076/CC27 4C076/CC41 4C076/EE59 4C076/FF66 4C076/FF68 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA07 4C084/AA12 4C084/BA33 4C084/BA41 4C084/MA02 4C084/MA05 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA31 4C084/MA35 4C084/MA37 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA58 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/NA13 4C084/ZB262 4C084/ZC422 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/AA22 4C085/AA26 4C085/AA34 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB44 4C085/CC02 4C085/CC21 4C085/CC23 4C085/CC31 4C085/DD59 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG08 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/JJ02 4C085/JJ03 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KA09 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4C085/KB07 4C085/KB08 4C085/KB09 4C085/KB12 4C085/KB55 4C085/KB56 4C085/LL18 4H045/AA11 4H045/CA41 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/DA89 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA72 4H045/GA26		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/342398 2001-12-27 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		
摘要(译)			

在各种各样的人类实体瘤中，侵袭性，转移性表型和不良的临床预后与受体酪氨酸激酶的表达有关。Met及其激动剂配体HGF。本文公开了 (a) mAb和产生它们的杂交瘤细胞系，这些mAbs抗体对Met具有特异性，(b) 抗Met和抗HGF mAb的组合。当被可检测地标记时，这些抗体可用于使此类肿瘤成像。提供了抗Met mAb组合物和用于闪烁检测，诊断，预后，监测和治疗携带Met的肿瘤的方法。

(5) Int. Cl. 7	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 16/40</b>	C O 7 K 16/40	2 G 0 4 5
<b>A 6 1 K 9/08</b>	A 6 1 K 9/08	4 B 0 6 4
<b>A 6 1 K 9/10</b>	A 6 1 K 9/10	4 B 0 6 5
<b>A 6 1 K 39/395</b>	A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 47/48</b>	A 6 1 K 39/395	Y 4 C 0 8 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 66 頁) 最終頁

(21) 出願番号	特願2003-557514 (P2003-557514)	(71) 出願人	504244438
(86) (22) 出願日	平成14年12月27日 (2002.12.27)	パン アンデル リサーチ インスタ	
(85) 翻訳文提出日	平成16年6月24日 (2004.6.24)	ユート	
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/041607	アメリカ合衆国 ミシガン 495C	
(87) 国際公開番号	W02003/057155	グランド ラビドス, ポストワイ	
(87) 国際公開日	平成15年7月17日 (2003.7.17)	エヌイー 333	
(31) 優先権主張番号	60/342,398		
(32) 優先日	平成13年12月27日 (2001.12.27)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		