

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5627191号
(P5627191)

(45) 発行日 平成26年11月19日(2014.11.19)

(24) 登録日 平成26年10月10日(2014.10.10)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 E

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 K 45/06 (2006.01)

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 45/06

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/48

請求項の数 34 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-92429 (P2009-92429)
 (22) 出願日 平成21年4月6日(2009.4.6)
 (62) 分割の表示 特願平10-506995の分割
 原出願日 平成9年7月17日(1997.7.17)
 (65) 公開番号 特開2009-197002 (P2009-197002A)
 (43) 公開日 平成21年9月3日(2009.9.3)
 審査請求日 平成21年5月1日(2009.5.1)
 審判番号 不服2013-2589 (P2013-2589/J1)
 審判請求日 平成25年2月12日(2013.2.12)
 (31) 優先権主張番号 60/022, 125
 (32) 優先日 平成8年7月18日(1996.7.18)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 08/838, 682
 (32) 優先日 平成9年4月9日(1997.4.9)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 592035453
 コーネル・リサーチ・ファンデーション・
 インコーポレイテッド
 CORNELL RESEARCH FO
 UNDATION, INCORPORA
 TED
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 1485
 O, イサカ, パイン ツリー ロード
 395, スイート 310
 (74) 代理人 100140109
 弁理士 小野 新次郎
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100096013
 弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌の治療および診断

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

前立腺特異的膜抗原 (P S M A) の細胞外ドメインに結合する単離された抗体またはその抗原結合部分を含む、 P S M A - 発現細胞を破壊するまたは殺すための医薬であって、ここで、前記抗体またはその抗原結合部分は、インターナライズされて細胞内活性な細胞障害剤を P S M A - 発現細胞中に送達するために用いられることができ、かつ前記抗体またはその抗原結合部分は単独でも用いられることができる医薬。

【請求項 2】

単離された抗体またはその抗原結合部分が生細胞に結合する、請求項 1 の医薬。

【請求項 3】

抗体がモノクローナル抗体である、請求項 1 または 2 に記載の医薬。

【請求項 4】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、E 9 9、J 4 1 5、J 5 9 1 および J 5 3 3 モノクローナル抗体からなる群から選択される抗体によっても認識される P S M A の細胞外エピトープに結合する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 5】

抗体が E 9 9、J 4 1 5、J 5 9 1 および J 5 3 3 モノクローナル抗体からなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 6】

抗体が、ATCC受託番号 HB - 1 2 1 0 1 を有するハイブリドーマ、ATCC受託番号 HB - 1 2 1

09を有するハイブリドーマ、ATCC受託番号HB-12127を有するハイブリドーマまたはATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項7】

抗原結合部分がFabフラグメント、F(ab')₂フラグメントおよびFvフラグメントからなる群から選択される、請求項1～6のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項8】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、配列番号8（重鎖可変領域）、配列番号19（軽鎖可変領域）、ATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される重鎖可変領域のアミノ酸配列、およびATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される軽鎖可変領域のアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列の抗原結合部分を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

10

【請求項9】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、配列番号8（重鎖可変領域）および配列番号19（軽鎖可変領域）からなる群から選択されるアミノ酸配列の抗原結合部分を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項10】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、ATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される重鎖可変領域のアミノ酸配列およびATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される軽鎖可変領域のアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列の抗原結合部分を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

20

【請求項11】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、配列番号6（重鎖可変領域）、配列番号17（軽鎖可変領域）、ATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される重鎖可変領域をコードする核酸配列、およびATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される軽鎖可変領域をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列によってコードされるアミノ酸配列の抗原結合部分を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項12】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、配列番号6（重鎖可変領域）および配列番号17（軽鎖可変領域）からなる群から選択される核酸配列によってコードされるアミノ酸配列の抗原結合部分を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

30

【請求項13】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、ATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される重鎖可変領域をコードする核酸配列およびATCC受託番号HB-12126を有するハイブリドーマによって生産される軽鎖可変領域をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列によってコードされるアミノ酸配列の抗原結合部分を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項14】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、さらに標識を含む、請求項1～13のいずれか1項に記載の医薬。

40

【請求項15】

単離された抗体またはその抗原結合部分が正常、良性増殖性または癌性PSMA-発現細胞またはその部分に結合するときに、生物サンプルにおいて前記細胞の検出を可能にするのに有効な標識に結合される請求項14に記載の医薬。

【請求項16】

標識が蛍光標識、生物学的活性酵素標識、放射標識、核磁気共鳴活性標識、発光体標識および発光団標識からなる群から選択される請求項14に記載の医薬。

【請求項17】

50

放射標識が ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^3H 、 ^{14}C 及び ^{188}Rh からなる群から選択される請求項16に記載の医薬。

【請求項18】

標識が放射標識 ^{131}I である請求項16に記載の医薬。

【請求項19】

標識が放射標識 ^{99m}Tc である請求項16に記載の医薬。

【請求項20】

標識が放射標識 ^{111}In である請求項16に記載の医薬。

【請求項21】

対象における癌の治療、予防または癌の発達の遅延のために有用である、請求項1～20のいずれか1項に記載の医薬。 10

【請求項22】

PSMA-発現細胞が正常、良性増殖性または癌性前立腺上皮細胞である、請求項1～20のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項23】

PSMA-発現細胞が非前立腺癌性細胞である、請求項1～20のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項24】

PSMA-発現細胞が新生血管細胞である、請求項1～20のいずれか1項に記載の医薬。 20

【請求項25】

癌が前立腺癌である請求項21に記載の医薬。

【請求項26】

前立腺特異的膜抗原(PSMA)の細胞外ドメインに結合する単離された抗体またはその抗原結合部分の、PSMA-発現細胞を破壊するまたは殺すための医薬の製造における使用であって、前記医薬において、前記抗体またはその抗原結合部分は、インターナライズされて細胞内活性な細胞障害剤をPSMA-発現細胞中に送達するために用いられることができ、かつ前記抗体またはその抗原結合部分は単独でも用いられることができる、PSMA-発現細胞を破壊するまたは殺すための医薬の製造における使用。

【請求項27】

単離された抗体またはその抗原結合部分が、さらに標識を含む、請求項26に記載の使用。 30

【請求項28】

医薬が対象における癌の治療、予防または癌の発達の遅延のために有用である、請求項26または27に記載の使用。

【請求項29】

PSMA-発現細胞が正常、良性増殖性または癌性前立腺上皮細胞である、請求項26または27に記載の使用。

【請求項30】

PSMA-発現細胞が非前立腺癌性細胞である、請求項26または27に記載の使用。 40

【請求項31】

PSMA-発現細胞が新生血管細胞である、請求項26または27に記載の使用。

【請求項32】

癌が前立腺癌である請求項28に記載の使用。

【請求項33】

第2治療法と組み合わせて投与される、請求項1～25のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項34】

第2治療法が手術、放射線、化学療法、免疫療法、ホルモン代償、エストロゲン若しくは抗アンドロゲン剤による処置、及びテストステロンの効果をブロック若しくは阻害する薬剤による処置からなる群から選択される、請求項33に記載の医薬。 50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、1996年7月18日提出の米国仮特許出願60/022,125の利益を享受し、1996年5月6日提出の米国仮特許出願60/016,976の利益を享受する1997年4月9日提出の米国特許出願08/838,682の一部継続である。

【0002】

発明の分野

本発明は生物薬剤による癌の治療および診断に関する。

【背景技術】

10

【0003】

発明の背景

ある種の癌の治療が改善されてきたにもかかわらず、癌は米国において未だに死亡原因のトップである。癌を完全に寛解する可能性は、多くの場合、初期診断によって非常に高められるので、実質的な腫瘍が広がる前に、内科医が癌を検知できることが非常に望ましい。しかしながら、多くの種類の癌を迅速かつ正確に検知できる方法の開発が医学界に求められ続けている。そのような実例となるひとつの癌の種類は前立腺癌である。

【0004】

前立腺癌は、男性に最も多い癌であり、1996年、米国において推定317,000症例とされている。腫瘍により死亡する男性における死因の第2位であり、推定で年間40,000人が死亡している。前立腺癌による死亡率を抑制するために迅速な発見と治療が必要とされている。

20

【0005】

前立腺癌の発見

癌細胞の転移において、前立腺癌は骨およびリンパ節に転移する明確な傾向を有する。Saitoh, et al., "Metastatic Patterns of Prostatic Cancer. Correlation Between Sites And Number of Organs Involved," Cancer, 54:3078-3084(1984)。臨床診断において、放射性核種走査により患者の25%に骨への転移が認められている。Murphy, G.P., et al., "The National Survey Of Prostate Cancer In The United States By The American College Of Surgeons," J. Urol., 127:928-939(1982)。結節での併発を正確に臨床上判定することは困難である。コンピュータ断層撮影法("CT")あるいは磁気共鳴("MR")映像法のようなイメージング技術により、リンパ節の転移性前立腺癌併発をサイズ(すなわち、>1cm)とは別の基準によって識別することは不可能である。従って、当然これらのイメージング様式は本来、大きい容積のアデノパシーの発見において非特異的であり、小さい容積(<1cm)の疾病の発見において感受性が鈍い。最近の研究において、臨床的に同在性の前立腺癌の患者におけるMRの正確さが調査された。Rifkin et al., "Comparison Of Magnetic Resonance Imaging And Ultrasonography In Staging Early Prostate Cancer," N. Engl. J. Med., 323:621-626(1990)。この研究において、194人の患者がMRを受け、そのうち185人の患者がリンパ節切開を受けた。23人(13%)の患者で病的にリンパ節に併発があった。4%の感受性となる23症例のうち唯1例においてMRが疑わしかった。同様の結果がCTスキャンについても見られた。Gasser et al., "MRI And Ultrasonography In Staging Prostate Cancer," N. Engl. J. Med. (Correspondence), 324(7):49-495(1991)。

30

40

【0006】

前立腺癌転移の患者における血清酸性ホスファターゼ活性の増加が最初、Gutman et al. により J. Clin. Invest. 17:473(1938)に報告された。前立腺の癌において、前立腺酸性ホスファターゼは癌組織から血流へと放出され、その結果、全血清酸性ホスファターゼレベルは正常値よりはるかに増加する。この酵素およびその前立腺癌との関係について数多くの研究がその当時からなされてきた(例えば、Yam, Amer. J. Med. 56:604(1974))。しかしながら、血清酸性ホスファターゼの測定値は、骨に転移した前立腺の癌腫がある患

50

者の約 65 ~ 90 % ; X 線による骨への転移の証拠がない患者の約 30 % ; 臨床的に明らかな転移がない患者の約 5 ~ 10 % のみにおいて増加した。

【 0 0 0 7 】

前立腺酸性ホスファターゼに関する特異的試験を開発しようとする先行技術の試みは、限定的な成功しか納めていない。なぜなら、いわゆる“特異的”基質に対する酵素活性を基とする技術は、前立腺起源の酵素活性とは無関係の多くの酸性ホスファターゼにおいて他の生化学的および免疫化学的差異を考慮し得ないからである。イソ酵素の場合、すなわち同じ特徴的酵素活性および同様の分子構造を有するが、アミノ酸配列および/あるいは含量が異なる、従って、免疫化学的には区別され得る、遺伝子学的に定義された酵素の場合、特定の基質を選択するだけで種々のイソ酵素の形態を識別することは、本来不可能であると思われる。従って、これらの先行技術の方法において、前立腺酸性ホスファターゼ活性の直接的測定に関して非常に特異的なものが何もないことは驚くべきことではない ; 例えば、参照 Cancer 5:236(1952); J. Lab. Clin. Med. 82:486(1973); Clin. Chem. Acta . 44:21(1973); and J. Physiol. Chem. 356:1775(1975)。

10

【 0 0 0 8 】

前立腺酸性ホスファターゼの検出に使用される先行技術の試薬の多くに特有であるとみられる上記の非特異性の問題に加え、他の疾病と関連のある血清酸性ホスファターゼの増加についての報告があり、前立腺癌の正確な臨床診断についての問題をさらに複雑にしている。例えば、Tuchman et al. , Am. J. Med. 27:959(1959)はゴーシェ病患者の血清酸性ホスファターゼレベルが上昇するらしいことに注目している。

20

【 0 0 0 9 】

前立腺酸性ホスファターゼのための“特異的”基質の開発が本来難しいので、数人の研究者が前立腺酸性ホスファターゼの検出に関する免疫化学的方法を開発してきた。しかしながら、先に報告された免疫化学的方法には広範囲の受容を妨げるというそれ自身の欠点がある。例えば、Shulman et al. , Immunology 93:474(1964)はヒト前立腺酸性ホスファターゼの検出のための免疫 - 拡散法試験を記載している。前立腺疾病の患者から直腸マッサージによって得られる前立腺液抗原から製造される抗血清を使用し、正常な腎臓、睾丸、肝臓および肺の抽出物に対する二重拡散技術において交差反応沈降素ラインは観察されなかった。しかしながら、この方法は、抗原が大量に使用されても、および前立腺液に存在する抗原的に無関係の血清タンパク質成分といった他のものと交差反応することがある抗血清が大量に使用されても、感受性が限定的であるという不都合を有する。

30

【 0 0 1 0 】

Chu et al. の WO 79 / 00475 には、上記の欠点の多くを取り除く前立腺癌関連の前立腺酸性ホスファターゼイソ酵素パターンの検出のための方法が記載されている。しかしながら、実際の問題は、診断上意味のある前立腺癌関連の前立腺酸性ホスファターゼイソ酵素パターンがその抗体の製造のために抽出される癌前立腺組織の源を必要とすることから生じている。

【 0 0 1 1 】

最近、特異的診断用試薬の開発の目的で、様々なタイプの悪性腫瘍についての酵素あるいは抗原マーカーを同定するために多大な努力が費やされている。理想的な腫瘍マーカーは、他の特性において組織あるいは細胞型についての特異性を示す。先の研究者らはヒト前立腺の組織特異的抗原の発生を証明している。

40

【 0 0 1 2 】

前立腺癌の治療

W. J. Catalona , "Management of Cancer of the Prostate," New Engl. J. Med. , 331(15):996-1004(1994)に記載されているように、前立腺癌への対応は、注意深く見守ること、治療的処置をとること、および対症処置を行うことによって達成され得る。

【 0 0 1 3 】

平均余命が 10 年以下の男性において、良性の前立腺肥大の部分的切除の際に、低程度で低段階の前立腺癌が発見された場合、注意深く見守ることが肝要である。このような癌

50

は発見後の最初の5年間で進行することはめったにない。一方、若い男性にとって、治療はしばしばより適切である。

【0014】

前立腺癌が局在性であり、患者の平均余命が10年あるいはそれ以上の場合、前立腺の全切除は疾病の根絶のための最良の可能性を提供する。歴史的に、この方法の欠点は、癌が発見されたときにはほとんどの癌が手術の限界を越えてしまっていることである。しかしながら、前立腺特異的抗原試験の使用は、前立腺癌の早期発見につながる。結果として、合併症は少なく、外科手術は広範囲に及ばずに済む。大きい、高程度の腫瘍がある患者は、前立腺の全切除によって好結果の治療を受ける見込みは低い。

【0015】

外科手術後、血清前立腺特異的抗原が検出可能な濃度にある場合、残存する癌を示している。多くの場合、前立腺特異的抗原濃度は放射線治療によって低下する。しかしながら、この濃度は2年以内にしばしば再び増加する。

【0016】

放射線療法は前立腺の全切除に代わる手段としても広く使用されてきた。一般に放射線療法によって治療される患者は、高齢の健康でない者や高程度の臨床的に進行した腫瘍を有する者である。特に好ましい方法は、放射線の領域を治療される組織の容量に適合するように設定されている3次元の適合放射線療法を伴う外線療法；放射線化合物の種子が超音波誘導によって移植される介入性放射線療法；および外線療法と介入性放射線療法の組み合わせである。

【0017】

局所的に進行した疾病の患者の治療には、前立腺の全切除あるいは放射線療法の前あるいは後にホルモン療法が利用されてきた。ホルモン療法は前立腺癌が拡大してしまった男性を治療する主要な手段である。睾丸摘除は血清テストステロン濃度を減じ、エストロゲン治療も同様に有益である。エストロゲンからのジエチルstilbestrolは、別の有用なホルモン療法であるが、心臓血管系の障害を起こす不都合を有する。ゴナドトロピン放出ホルモンアゴニストが投与されると、テストステロン濃度は最終的に減少する。フルタミドおよび非ステロイド、抗-アンドロゲン剤は、テストステロンがその細胞内受容体と結合するのを阻害する。結果として、血清テストステロン濃度が増加しながら、また患者に性的能力が残存したままでフルタミドはテストステロンの効果を阻害する。性的能力については、前立腺の全切除および放射線治療の後では、重要な問題である。

【0018】

細胞毒性化学療法は前立腺癌治療においてほとんど効果がない。この療法はその毒性のために高齢患者にとって不適切となる。さらに、前立腺癌は比較的細胞障害剤に抵抗力がある。

【0019】

前立腺癌の発見と治療におけるモノクローナル抗体の使用

理論的には、放射ラベルモノクローナル抗体(“mAb”)は、リンパ節内および他の部位内の前立腺癌の発見に対する感受性および特異性の両方を高める能力を提供する。多くのmAbがすでに前立腺関連抗原に対して製造されてきたが、一方イメージング目的として特に製造されたものはない。しかしながら、臨床的な必要性からこれらmAbのいくつかが可能なイメージング試薬として検討されてきた。Vihko et al., "Radioimaging of Prostatic Carcinoma With Prostatic Acid Phosphatase-Specific Antibodies," Biotechnology in Diagnostics, 131-134(1985); Babaian et al., "Radioimmunological Imaging of Metastatic Prostatic Cancer With 111-Indium-Labeled Monoclonal Antibody PAY 276," J. Urol., 137:439-443(1987); Leroy et al., "Radioimmunodetection of Lymph Node Invasion In Prostatic Cancer. The Use of Iodine 123(123-I) Labeled Monoclonal Anti-Prostatic Acid Phosphatase(PAP) 227 A F(ab')₂ Antibody Fragments In Vivo," Cancer, 64:1-5(1989); Meyers et al., "Development of Monoclonal Antibody Imaging of Metastatic Prostatic Carcinoma," The Prostate, 14:209-220(1989)。

【 0 0 2 0 】

いくつかの場合、前立腺癌の発見および/または治療のために開発されたモノクローナル抗体は、悪性の前立腺組織に特異的な抗原を認識する。従って、このような抗体は悪性前立腺組織を（治療あるいは検出のため）良性前立腺組織と区別するために使用される。参照、Bazinet et al.の米国特許第4,970,299およびFreeman et al.の米国特許第4,902,615。

【 0 0 2 1 】

他のモノクローナル抗体は、癌性あるいは良性のすべての前立腺表皮細胞上で表面抗原と反応する。参照、Chu et al.の米国特許第4,446,122およびRe33,405、McEwan et al.の米国特許第4,863,851およびUeda et al.の米国特許第5,055,404。しかし、これらのモノクローナル抗体によって検出される抗原は、血液中に存在し、従って、モノクローナル抗体について腫瘍部位での抗原と競合する。これは、インビボでのイメージングにおけるこのような抗体の使用が不適当となるノイズを引き起こす。治療において、このような抗体は、細胞障害剤と結合する場合、他の組織に有害となり得る。

【 0 0 2 2 】

Horoszewicz et al., "Monoclonal Antibodies to a New Antigenic Marker in Epithelial Prostatic Cells and Serum of Prostatic Cancer Patients," Anticancer Research, 7:927-936(1987)("Horoszewicz")およびHoroszewiczの米国特許第5,162,504は、前立腺特異的細胞膜抗原("PSMA")を認識する7E11と名付けられた抗体について記載している。Israeli et al., "Molecular Cloning of a Complementary DNA Encoding a Prostate-specific Membrane Antigen," Cancer Research, 53:227-230(1993)("Israeli")は、PSMAのクローニングおよび配列決定について記載し、PSMAが前立腺特異的であると報告し、転移部位およびホルモン不応性状態において発現レベルが増加していることを示している。他の研究によれば、PSMAは正常な前立腺からの細胞または良性過形成を有する前立腺からの細胞と比較して、前立腺癌細胞においてより強く発現することが示されている。さらに、PSMAは血清中に見出されない(Troyer et al., "Detection and Characterization of the Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) in Tissue Extracts and Body Fluids," Int. J. Cancer, 62:552-558(1995))。

【 0 0 2 3 】

これらの特徴がPSMAを前立腺癌のイメージングおよび療法における抗体介在標的法について魅力的な対象としている。インジュウム標識7E11を用いるイメージング研究によれば、抗体は前立腺および転移部位の両方に非常によく局在することが示された。さらに、7E11は、CTおよびMRイメージングまたは骨シンチグラフィのような現在利用可能な他のイメージング技術と比較して、病変の検知に明らかに優れた感受性を有するようである。Bander, "Current Status of Monoclonal Antibodies for Imaging and the rapy of Prostate Cancer," Sem. In Oncology, 21:607-612(1994)。

【 0 0 2 4 】

しかしながら、イメージングおよび治療を提供するために7E11および他の既知の抗体をPSMAに使用することは、いくつかの不都合を有する。最初に、PSMAは短い細胞内テイルおよび長い細胞外ドメインを有することが知られている必須細胞膜タンパク質である。生化学的特徴およびマッピング(Troyer et al., "Biochemical Characterization and Mapping of the 7E11-C5.3 Epitope of the Prostate-specific Membrane Antigen," Urol. Oncol., 1:29-37(1995))は、7E11抗体の結合するエピトープまたは抗原部位が分子の細胞内部分に存在することを示している。正常な環境下では、抗体分子が分子の細胞外部分と結合し、細胞内に転座しない限り、抗体分子は細胞膜を通過しないので、7E11抗体は他の健康な生長細胞においてその抗原標的部位とアクセスしない。

【 0 0 2 5 】

従って、7E11を用いるイメージングは、腫瘍蓄積内の死亡細胞の検知に限定される。さらに、7E11抗体の治療への使用は、すでに死んだ細胞または大部分が死亡細胞で

ある組織だけが効果的に標的され得るので、限定される。

【 0 0 2 6 】

ひとつの特定の癌の種類の診断および治療における不適當および問題が先の議論の焦点であるが、前立腺癌は単に代表的モデルに過ぎない。数多くの他の癌の診断および治療が類似の問題を抱えている。

【 発明の概要 】

【 0 0 2 7 】

本発明は前立腺癌および他のタイプの癌の診断および治療における先行技術の抗体の欠点を克服することに関する。

発明の要約

本発明のひとつの実施態様は、癌性細胞を切除または殺す方法に関する。この方法は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原を認識する生物薬剤を提供することを含む。この生物薬剤は、癌性細胞に近接の血管性内皮細胞に、この血管性内皮細胞に生物薬剤を結合することと癌性細胞を殺すまたは切除することの両方を可能とするのに効果的な条件で、接触する。この生物薬剤は、単独で用いられるか、または癌性細胞に近接の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合した際に癌性細胞を殺すまたは切除するのに効果的な物質と結合して、用いられる。

【 0 0 2 8 】

本発明における癌性細胞を切除または殺す方法の特に好ましい実施態様では、生物薬剤は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、該細胞の前立腺特異的膜抗原で取り込まれる。本発明における癌性細胞を切除または殺す方法に使用するのに好ましい生物薬剤は、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドである。本発明の方法は、腎、尿路上皮、結腸、直腸、肺、乳房の癌性細胞または肝への転移性腺癌細胞を殺すまたは切除するのに特に有用である。

【 0 0 2 9 】

本発明の他の実施態様は、生物サンプルにおける癌性組織を検出する方法である。この方法は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに結合する生物薬剤を提供することを含む。生物薬剤は、癌性細胞に近接または内在の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合する際に、癌性細胞に近接または内在の血管性内皮細胞の検出を可能にするのに効果的な標識と結合している。生物サンプルは、標識を有する生物薬剤に、生物サンプルにおける癌性細胞に近接または内在の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合することを可能にするのに効果的な条件で、接触する。生物サンプルにおける癌性組織の存在が標識の検出により検出される。

【 0 0 3 0 】

本発明で癌性組織を検出する特に好ましい実施態様において、生物薬剤は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれるものである。本発明で癌性組織の検出方法での使用に好ましい生物薬剤は、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドである。本発明の方法は、腎、尿路上皮、結腸、直腸、肺、乳房の癌性細胞または肝への転移性腺癌細胞を検出するのに特に有用である。

【 0 0 3 1 】

本発明のさらに他の実施態様は、正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を切除または殺す方法に関する。この方法は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを認識する生物薬剤を提供することを含む。この生物薬剤は、単独で用いられるか、または細胞に生物薬剤が結合した際に細胞を殺すのに効果的な物質と結合して、用いられる。この生物薬剤は細胞に、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに生物薬剤が結合することと細胞を切除または殺すことの両方を可能にするのに効果的な条件で、接触する。

【 0 0 3 2 】

本発明で正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を切除または殺す方法についての特に好ましい実施態様において、生物薬剤は、該細胞の前立腺特異的膜抗原に結合し、

10

20

30

40

50

それで取り込まれる。正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を切除または殺す方法における使用に好ましい生物薬剤は、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドである。

【0033】

本発明の他の実施態様は、生物サンプル中の正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を検出する方法に関する。この方法は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに結合する生物薬剤を提供することを含む。生物薬剤は、細胞またはその部分に生物薬剤が結合する際に、細胞またはその部分の検出を可能にするのに効果的な標識と結合している。生物サンプルは、標識を有する生物薬剤に、生物サンプル中の細胞またはその部分の前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに生物薬剤が結合することを可能にするのに効果的な条件で、接触する。生物サンプル中の細胞またはその部分の存在が標識の検出により検出される。

10

【0034】

本発明で正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を検出する方法の特に好ましい実施態様において、生物薬剤は、該細胞の前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれる。本発明で正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を検出する方法における使用に好ましい生物薬剤は、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドである。

【0035】

本発明の他の実施態様は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを認識する生物薬剤に関する。好ましい実施態様において、単離された生物薬剤は前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれる。本発明における前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを認識する好ましい単離生物薬剤は、単離された抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドである。これらのタイプのモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞系も開示される。

20

【0036】

本発明の生物薬剤は、正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞の抗原の細胞外ドメインを認識する。細胞溶解後に細胞外に露出される前立腺関連抗原のエピトープを認識する7E11抗体と異なり、本発明の生物薬剤は、生きている前立腺細胞において細胞外に露出される抗原性エピトープに結合する。本発明の生物薬剤を用いて、生きている、固定されていない正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を標的とすることができ、それによって治療および診断をより効率的にする。前立腺癌を処置するための好ましい実施態様において、本発明の生物薬剤は前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれ、よって細胞内で作用する細胞障害剤の医療的使用が可能となる。

30

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】図1は、4 でのインキュベーション後のLNCaP細胞表面の金標識モノクローナル抗体J591の免疫電子顕微鏡図である。

【図2】図2は、37 でのインキュベーション5分後の金標識モノクローナル抗体J591で処理したLNCaP細胞の免疫電子顕微鏡図である。

【図3】図3は、37 でのインキュベーション10分後の金標識モノクローナル抗体J591で処理したLNCaP細胞の免疫電子顕微鏡図である。

40

【図4】図4は、37 でのインキュベーション15分後の金標識モノクローナル抗体J591で処理したLNCaP細胞の免疫電子顕微鏡図である。

【図5】図5は、エンドソーム中に37 で示した15分後の金標識モノクローナル抗体J591で処理したLNCaP細胞表面の免疫電子顕微鏡図である。

【図6】図6は、モノクローナル抗体J591の重鎖の配列決定戦略の概要を表す。

【図7A】図7Aは、モノクローナル抗体J591の重鎖のヌクレオチド配列(配列番号1)、対応逆転、非コード鎖のヌクレオチド配列(配列番号2)および対応演繹アミノ酸配列(配列番号3、4および5)を示す。

【図7B】図7Bは、モノクローナル抗体J591の重鎖のヌクレオチド配列(配列番号1)、

50

対応逆転、非コード鎖のヌクレオチド配列(配列番号2)および対応演繹アミノ酸配列(配列番号3、4および5)を示す。

【図8】図8は、モノクローナル抗体J591の重鎖とマウス重鎖サブグループIIAについての共通配列との比較である。

【図9】図9は、モノクローナル抗体J591のカッパ軽鎖の配列決定戦略の概要を示す。

【図10A】図10Aは、モノクローナル抗体J591のカッパ軽鎖のヌクレオチド配列(配列番号9)、対応逆転、非コード鎖のヌクレオチド配列(配列番号10)および対応演繹アミノ酸配列(配列番号11、12および13)を示す。

【図10B】図10Bは、モノクローナル抗体J591のカッパ軽鎖のヌクレオチド配列(配列番号9)、対応逆転、非コード鎖のヌクレオチド配列(配列番号10)および対応演繹アミノ酸配列(配列番号11、12および13)を示す。

【図11】図11は、モノクローナル抗体J591のカッパ軽鎖とマウスカッパ鎖サブグループVについての共通配列との比較である。

【図12】図12A - 12Fは、種々の癌腫の血管新生に対するmAb J591の免疫組織化学的反応性を示す顕微鏡図(倍率250X)である。

【発明を実施するための形態】

【0038】

発明の詳細な記述

本発明のひとつの実施態様は、正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を切除または殺す方法に関する。この方法は、該細胞の前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメイン(すなわち、該細胞の外にある前立腺特異的膜抗原の部分)に結合する、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤を提供することを含む。この生物薬剤は、単独で用いられるか、または細胞に生物薬剤が結合した際に癌性細胞を殺すのに効果的な物質と結合して、用いられる。この生物薬剤は細胞に、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに生物薬剤が結合することと細胞を切除または殺すことの両方を可能にするのに効果的な条件で、接触する。好ましい形において、該接触は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに生物薬剤が結合することと細胞を切除または殺すことの両方を可能にするのに効果的な条件で、生きている哺乳動物に生物薬剤を投与することによりその哺乳動物中で実施される。この投与は経口または非経口でなされ得る。

【0039】

本発明で正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を切除または殺す方法の特に好ましい実施態様において、生物薬剤は、該細胞の前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれる。また、生物薬剤は単独で使うことができる。あるいは、生物薬剤は、生物薬剤が前立腺特異的膜抗原に結合する際および生物薬剤が前立腺特異的膜抗原で取り込まれる際に細胞を殺すのに効果的な物質と結合させることができる。

【0040】

生物薬剤を前立腺特異的膜抗原で取り込むメカニズムは、本発明の実施にとってあまり重要でない。例えば、生物薬剤は前立腺特異的膜抗原の取り込みを誘発する。他方、生物薬剤の取り込みは前立腺特異的膜抗原の通常的な取り込みの結果でもあり得る。

【0041】

上記の生物薬剤(すなわち、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを認識し、好ましくはそれで取り込まれる)は、癌性細胞を切除または殺すのに用いられる。本発明の好ましくは実施態様において、生物薬剤は、単独で用いられるか、癌性細胞に近接の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合した際に細胞を殺すのに効果的な物質と結合して用いられる。生物薬剤は癌性細胞に近接する血管性内皮細胞に接触される。この接触は、癌性細胞に近接の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合するのに効果的な条件および加えるに癌性細胞を殺すまたは切除するのに効果的な条件で、実施される。癌性細胞が切除または殺されるメカニズムは、本発明の実施にとってあまり重要でない。例え

ば、癌性細胞は、生物薬剤が結合する血管性内皮細胞へのその近接性の結果として、生物薬剤により直接的に切除または殺される。あるいは、生物薬剤は、血管性内皮細胞に近接の癌性細胞への血流を止めるか、さもなければ減少して、それにより癌性細胞を殺すまたは切除するように、血管性内皮細胞を殺すまたは切除し、さもなければその性質を変えることができる。このように、本発明の方法は、癌性組織または癌性組織を含有する癌性細胞における血管性内皮細胞を殺すまたは切除するのに特に有用である。

【0042】

本発明で癌性組織を切除または殺す方法の特に好ましい実施態様において、生物薬剤は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに結合し、それで取り込まれるものである。本発明の方法は、癌性前立腺上皮細胞あるいはそれ以外の癌性細胞を殺すまたは切除するのに特に有用である。癌性前立腺上皮細胞でない癌性細胞の例として、腎、尿路上皮、結腸、直腸、肺、乳房の癌性細胞または肝への転移性腺癌細胞がある。本発明方法は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインおよびその部分を発現する細胞、および前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインおよびその部分を発現する細胞に生存を依存しているすべての細胞を殺すまたは切除するのに有用であり得るが、癌性細胞を殺すまたは切除するのに特に有用である。なぜなら、癌性細胞(例えば、腫瘍、癌性細胞の集団または他の癌性塊)に血液を供給する血管性内皮細胞は、関連する癌の種類にかかわらず前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを発現するからである。これに対し、正常組織に血液を供給する血管性内皮細胞は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを発現しない。

【0043】

本発明の他の実施態様は、生物サンプル中の正常、良性増殖性および癌性上皮細胞を検出する方法に関する。この方法は、該細胞の前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに結合する、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤を提供することを含む。生物薬剤は、細胞またはその部分に生物薬剤が結合する際に、細胞またはその部分(例えば、該正常、良性増殖性および癌性上皮細胞から遊離した前立腺特異的膜抗原またはそのフラグメント)の検出を可能にするのに効果的な標識と結合している。生物サンプルは、標識を有する生物薬剤に、生物サンプル中の細胞またはその部分の前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに生物薬剤が結合することを可能にするのに効果的な条件で、接触する。生物サンプル中の細胞またはその部分の存在が標識の検出により検出される。好ましい形において、該接触は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに生物薬剤が結合することと細胞を切除または殺すことの両方を可能にするのに効果的な条件で、生きている哺乳動物に生物薬剤を投与することによりその哺乳動物中で実施される。また、この投与は経口または非経口でなされ得る。

【0044】

本発明の方法は、正常、良性増殖性および癌性の上皮細胞またはその部分に関連する疾患について患者を識別するのに用いることができる。他方、このような疾患、特に患者の特定の生物的物质に局在している疾患の再発を同定するのに用いられる。例えば、放射線での前立腺切除後、前立腺窩に疾患が再発することがある。本発明方法を用いると、短射程放射標識抗体を投与し、標識を直腸において経直腸検出プローブなどで検出することにより、再発が調べられる。

【0045】

一方、接触工程は、血清、尿あるいは他の体液などのサンプルにおいて、例えば、体液中のPSMAを検出するために実施される。接触が血清または尿サンプルでなされるときは、生物薬剤がPSMA以外の血中を循環する抗原を実質的に認識しないことが好ましい。無傷の前立腺細胞はPSMAを細胞外環境に排出も分泌もしないので、血清、尿または他の体液中にPSMAが検出されると前立腺細胞が溶解していることを一般的に表す。このように、本発明の生物薬剤および方法は、血清、尿または他の体液におけるPSMAのレベルを監視することにより、前立腺癌に対する処置法の効果を調べるのに用いることができる。

【0046】

本発明で正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を検出方法の特に好ましい実施態様において、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤は、該細胞の前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれる。また、生物薬剤が前立腺特異的膜抗原に結合し、またはそれで取り込まれる際に、生物薬剤は、細胞またはその部分の検出を可能にするのに効果的な標識に結合している。

【0047】

本発明の他の実施態様は、生物サンプルにおける癌性組織を検出する方法である。この方法は、上記の生物薬剤(すなわち、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに結合する、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤)を提供することを含む。生物薬剤は、癌性細胞に近接または内在の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合する際に、癌性細胞に近接または内在の血管性内皮細胞の検出を可能にするのに効果的な標識と結合している。生物サンプルは標識を有する生物薬剤に接触される。接触は、生物サンプルにおける癌性細胞に近接または内在の血管性内皮細胞に生物薬剤が結合することを可能にするのに効果的な条件で行われる。生物サンプルにおける癌性細胞またはその部分の存在が標識の検出により調べられる。

【0048】

全体の生物サンプルを生物薬剤に接触させるよりも、部分的な生物サンプルを使用することが考えられる。例えば、組織生検サンプルを生物薬剤に接触せしめて、組織生検サンプル中の癌性組織の存在を、元の大きい生物サンプルと同様に、調べる。あるいは、生物薬剤を血清または尿サンプルに接触せしめて、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを発現する血管性内皮細胞が存在するかどうかを確認する。前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインを発現する血管性内皮細胞は、癌性組織の血管系に存在し、正常組織の血管系には見出されないので、血清または尿サンプルにおける標識の検出は、元の大きい生物サンプル(例えば、患者)における癌性組織の存在を表す。

【0049】

本発明で癌性組織を検出する特に好ましい実施態様において、生物薬剤は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに接触したときに、前立腺特異的膜抗原に結合し、それで取り込まれるものである。本発明の方法は、癌性の前立腺上皮細胞および癌性前立腺上皮細胞以外の癌性細胞を含有する癌性組織を検出するのに用いられる。本発明で検出できる癌性前立腺上皮細胞以外の癌性細胞を含有する癌性組織の例としては、腎、尿路上皮、結腸、直腸、肺、乳房の癌性細胞または肝への転移性腺癌細胞がある。

【0050】

上述のように、癌性細胞、正常、良性増殖性および前立腺上皮細胞を殺すまたは切断する、あるいはこれらを検出するのいずれにも適している生物薬剤には、モノクローナルまたはポリクローナル抗体などの抗体が含まれる。さらに、抗体フラグメント、半抗体、ハイブリッド誘導体、プローブおよび他の分子構築体を用いることができる。抗体、その結合部分、プローブおよびリガンドなどの生物薬剤は、正常、良性増殖性および癌性前立腺上皮細胞における前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインまたはその部分に結合する。結果として、正常、良性増殖性および前立腺上皮細胞を殺すまたは切断する、あるいはこれらを検出する本発明の方法を行うときに、生物薬剤はすべてのこのような細胞に、固定されている細胞や細胞外環境に細胞内抗原性ドメインが露出している細胞のみでなく、結合する。その結果として、生物薬剤の結合は、前立腺上皮細胞が固定または非固定、生存または壊死であるにかかわらず、この細胞が存在する場所に集中する。加えるにまたは別に、抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤は、正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞中の前立腺特異的膜抗原またはその部分に結合し、またはそれで取り込まれる。

【0051】

モノクローナル抗体の製造は、よく知られた技術でなされる。基本的に、望む抗原によりインビトロまたはインビボのいずれかで予め免疫された哺乳動物(例えば、マウス)の脾臓由来の免疫細胞(リンパ球)を最初に得ることを含む。抗体分泌リンパ球は(マウス)ミエ

10

20

30

40

50

ローマ細胞または形質転換細胞と融合さす。これらの細胞は、細胞培養中で際限なく複製され、不死の免疫グロブリン分泌細胞系を産生し得るものである。この融合細胞すなわちハイブリドーマを培養し、得たコロニーを望むモノクローナル抗体の産生のためにスクリーンする。このような抗体を産生するコロニーをクローン化し、インビトロまたはインビボで成長せしめて、多量の抗体を製造する。このような細胞の融合についての理論的基本および実際的方法は、Kohler and Milstein, Nature 256:495(1975) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。

【0052】

哺乳動物のリンパ球を本発明のタンパク質またはペプチドで動物(例えば、マウス)のインビボ免疫により免疫する。この免疫を数週間までの間隔で必要に応じて繰り返し、十分な力価の抗体を得る。最後の免疫強化後に動物を殺し、脾細胞を取り出す。

10

【0053】

哺乳動物のミエローマ細胞または細胞培養中で際限なく複製できる他の融合相手との融合は、標準的な既知の技術、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)や他の融合剤を用いて行われる(参照、Milstein and Kohler, Eur. J. Immunol. 6:511(1976)、出典明示により本明細書の一部とする)。この不死の細胞系は、好ましくはネズミであるが、限定的でなくラットやヒトを含む他の哺乳動物の細胞からも誘導され、選択されて、ある種の栄養物の利用に必要な酵素を欠き、成長が速く、融合能の高いものを得る。これらの細胞系の多くは当業者に知られており、その他の系も常に報告されている。

20

【0054】

ポリクローナル抗体を増大する方法もよく知られている。典型的には、かかる抗体は、本発明のタンパク質またはポリペプチドをニュージーランド白兎(プレ免疫血清を得るために、まず採血する)に皮下投与することにより、増殖される。

抗原を6カ所の異なる場所に1カ所につき計100 μ l注射する。各注射物質には、合成表面活性アジュバント・プルロニックポリオールまたはSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動後のタンパク質やポリペプチド含有の微細アクリルアミドゲルが含まれる。最初の注射2週間後にウサギから採血し、次いで定期的に同じ抗原で3回6週おきに免疫強化する。各強化10日後にサンプルの血清を採取する。抗体を捕らえる対応抗原を用いてアフィニティークロマトグラフィーにより血清からポリクローナル抗体を得る。最後にウサギをフェノバルビタール150mg/kg IVで安楽死させる。ポリクローナル抗体を得るこの方法および他の方法は、E. Harlow, et al., editors, Antibodies: A Laboratory Manual (1988) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。

30

【0055】

抗体全体の使用に加えて、本発明の方法は該抗体の結合部分の利用にも関する。この結合部分には、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメントおよびFvフラグメントが含まれる。これらの抗体フラグメントは、タンパク質分解フラグメンテーション法などの従来法によりつくられる。これは、J. Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.98-118 (N.Y. Academic Press 1983)

(出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。

【0056】

40

別の手段として、本発明方法において、天然に存在するプローブまたはリガンド、または組換えDNA法あるいは他の生物学的方法により合成されたプローブまたはリガンドが使用される。適当なプローブまたはリガンドは、本発明のモノクローナル抗体により同定される前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに結合する分子である。他の適当なプローブまたはリガンドは、前立腺特異的膜抗原に結合、またはそれに取り込まれる分子である。該プローブまたはリガンドは、例えばタンパク質、ペプチド、レクチンまたは核酸のプローブで有り得る。

【0057】

下記の表1に同定されるモノクローナル抗体を使用するのが特に好ましい。

【0058】

50

【表 1】

表 1

モノクローナル抗体名	ハイブリドーマ細胞系についての ATCC 名
E 9 9	HB-1 2 1 0 1
J 4 1 5	HB-1 2 1 0 9
J 5 3 3	HB-1 2 1 2 7
J 5 9 1	HB-1 2 1 2 6

10

【 0 0 5 9 】

これらの抗体は、単独で、または他の抗体または他の生物薬剤との混合物中の成分として、癌を治療し、あるいは癌性組織(特に、そのうちの血管性内皮細胞)または種々の表面抗原特性を有する前立腺上皮細胞を造影するために、用いられる。

【 0 0 6 0 】

生物薬剤が治療または診断のいずれに使用されるにかかわらず、生物薬剤は、経口、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、点鼻、空洞または小胞点滴、点眼、動脈内、病巣内に投与され、または鼻、喉および気管支などの粘膜に適用される。単独で投与されるか、薬学的あるいは生理的に許容される担体、賦形剤または安定剤とともに投与され、そして錠剤、カプセル、粉末、溶液、懸濁液、エマルションなどの固体または液体の形態をとる。

20

【 0 0 6 1 】

固体の単位用量形態は通常のタイプであり得る。固体形態は、本発明の抗体やその結合部分などの生物薬剤および担体、例えば滑沢剤やラクトース、スクロースまたはトウモロコシデンプンなどの無活性充填剤を含有する通常のゼラチンタイプなどのカプセルであり得る。他の実施態様において、これらの化合物は、ラクトース、スクロースまたはトウモロコシデンプンなどの通常の錠剤基剤をアカシア、トウモロコシデンプンまたはゼラチンなどの結合剤、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプンまたはアルギン酸などの崩壊剤およびステアリン酸やステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤と併用して錠剤にされる。

30

【 0 0 6 2 】

本発明の生物薬剤は、薬学的担体と共に生理的に許容される希釈剤中のこれらの物質の溶液または懸濁液により注射可能な用量形態でも投与され得る。この担体には水や油などの無菌の液体があり、それに界面活性剤およびアジュバント、賦形剤または安定剤などを含む他の薬理学的および栄養学的に許容される担体に加えられたり、加えられなかったりする。上記した油は、石油、動物、植物、合成を起源とし、例えばピーナッツ油、大豆油、鉱物油である。一般的に、水、塩水、水性デキストールおよび関連糖溶液およびプロピレングリコールまたはポリエチレングリコールなどのグリコール類が好ましい液体担体、特に注射用の担体である。

40

【 0 0 6 3 】

エアゾルとしての使用のために、溶液や懸濁液中の本発明の生物薬剤は、適当な噴霧剤、例えばプロパン、ブタンまたはイソブタンのような炭化水素系噴霧剤、通常のアジュバンドとともに、加圧エアゾル容器に充填され得る。本発明の物質はネブライザーやアトマイザーなどの非加圧形態でも投与され得る。

【 0 0 6 4 】

生物薬剤は、インビボで癌性組織(特に、そのうちの血管性内皮細胞)、および正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を検出するのに、用いられる。生物薬剤を標識し、それを哺乳動物に投与し、哺乳動物を造影して、検出する。

【 0 0 6 5 】

50

本発明による診断造影に有用な標識の例には、 ^{131}I 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^3H 、 ^{14}C および ^{188}Rh などの放射標識、フルオレセインおよびローダニンなどの蛍光標識、核磁気共鳴活性標識、ルシフェリンなどの化学発光体、ペロキシダーゼまたはホスファターゼなどの酵素マーカーがある。経直腸プローブなどの短射程検出プローブのような短射程放出体も使用される。これらの放射同位体および経直腸検出プローブは、併用されるとき、前立腺窩再発および骨盤結節疾患を検出するのに特に有用である。生物薬剤は既知の技術を用いてこれらの試薬で標識される。例えば、抗体の放射標識については、Wensel and Meares, Radioimmunoimaging and Radioimmunotherapy, Elsevier, NewYork(1983) (出典明示により本明細書の一部とする)を参照。D. Colcher et al., "Use of Monoclonal Antibodies as Radiopharmaceuticals for the Localization of Human Carcinoma Xenografts in Athymic Mice", Meth. Enzymol. 121:802-816(1986) (出典明示により本明細書の一部とする)も参照。

【0066】

放射標識された本発明の生物薬剤は、インビトロ診断試験に使用され得る。標識された抗体、その結合部分、プローブまたはリガンドなどの標識された生物薬剤の特異的活性は、放射活性標識の半減期や同位体純度と、いかに標識が生物薬剤に合体しているかとの依存する。表2は、いくつかの普通に使用される同位体、その特異的活性および半減期を表示する。イムノアッセイにおいて、特異的活性が高くなるほど、一般的に感受性がよくなる。

【0067】

【表2】

表2

同位体	純同位体の特異的活性(curies/mole)	半減期
^{14}C	6.25×10^1	5720年
^3H	2.01×10^4	12.5年
^{35}S	1.50×10^6	87日
^{125}I	2.18×10^6	60日
^{32}P	3.16×10^6	14.3日
^{131}I	1.62×10^7	8.1日

【0068】

生物薬剤を表2の放射活性同位体で標識する方法は、一般的に知られている。トリチウム・標識法は米国特許第4,302,438 (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。ネズミモノクローナル抗体に特に適用されるヨウ素化法、トリチウム・標識法および ^{32}S 標識法は、Goding, J.W. (上記, pp124-126) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。抗体やその結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤をヨウ化する他の方法は、Hunter and Greenwood, Nature 144:945(1962), David et al., Biochemistry 13:1014-1021(1974)、および米国特許第3,867,517および4,376,110 (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。造影に有用な放射標識元素は、例えば ^{123}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ である。生物薬剤をヨウ化する方法は、Greenwood, F. et al., Biochem. J. 89:114-123(1963); Marchalonis, J., Biochem. J. 113:299-305(1969); and Morrison, M. et al., Immunochemistry, 289-297(1971) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識法は、Rhodes, B. et al. in Burchiel, S. et al. (eds.), Tumor Imaging: The Radioimmunochemical Detection of Cancer, New York: Masson 111-123(1982) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。生物薬剤を ^{111}In 標識するのに適した方法

は、Hnatowich, D.J. et al., J. Immunol. Methods, 65:147-157(1983), Hnatowich, D. et al., J. Applied Radiation, 35:554-557(1984), and Buckley, R.G. et al., F.E.B.S. 166:202-204(1984) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。

【0069】

放射標識された生物薬剤の場合、生物薬剤は患者に投与されて、抗原を生じる腫瘍に局在する。生物薬剤は、その抗原と反応し、次いで、例えばガンマー・カメラまたは発光断層撮影法を用いる放射核スキャンなどの既知方法でインビボで検出すなわち“造影”される。参照、A. R. Bradwell et al., "Developments in Antibody Imaging", Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy, R.W. Baldwin et al., (eds.), pp.65-85 (Academic Press 1985) (出典明示により本明細書の一部とする)。他方、放射標識が陽電子 (例えば、 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O および ^{13}N) を放出するときは、Brookhaven National Laboratory に存在する PET-VIなどの陽電子放出軸移送断層撮影スキャナーを使用し得る。

10

【0070】

発蛍光団および発色団で標識された生物薬剤は、既知の標準的分子部分からつくられる。抗体および他のタンパク質が約310nm以上の波長の光を吸収するので、選択される蛍光部分は、約310nm以上、好ましくは400nm以上の波長で実質的な吸収を有すべきである。種々の適当な発蛍光団および発色団は、Stryer, Science, 162:526(1968) and Brand, L. et al., Annual Review of Biochemistry, 41:843-868(1972) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。生物薬剤は、米国特許第3,940,475、4,289,747および4,376,110 (出典明示により本明細書の一部とする)に記載のような通常の方法によって、蛍光発色基で標識され得る。

20

【0071】

上記のいくつかの望ましい特性を有する蛍光体のひとつのグループは、キサンテン色素であって、これは、3,6-ジヒドロ-9-ヘニルキサンチンヒドロールから誘導されたフルオレセイン、レサミン、3,6-ジアミノ-9-フェニルキサンチンヒドロールから誘導されたローダニン、リサニムローダミンBを含む。ローダミンBおよびフルオレセインの9-ο-カルボキシフェニルキサンチンヒドロール誘導体は9-ο-カルボキシフェニル基を有する。アミノおよびイソチオシアネート基などの活性カップリング基を有するフルオレセイン化合物、例えばフルオレセイン・イソシアネートおよびフルオレセスカミンは、容易に利用される。蛍光化合物の他のグループは、αまたはβ位にアミノ基を有するナフチルアミンである。

30

【0072】

生物薬剤は、Goding, J. (上記、pp208-249)記載の方法により発蛍光団または発色団で標識される。生物薬剤は、NMR活性 ^{19}F 原子を含む指示基または下記のような原子の複数で標識され得る。それは、(i)天然に豊富にあるフッ素原子の実質的にすべてが ^{19}F 同位体であり、したがって、実質的にすべてのフッ素含有化合物がNMR活性であり、(ii)トリフルオロ酢酸無水物などの多くの化学的活性ポリフッ化化合物が比較的低価格で市販されており、(iii)多くのフッ化化合物がヒトに医学的に使用し得る事が知られ、過フッ化ポリエーテルがヘモグロビン置換などの酸素移送に用いられているものである。インキュベーションの時間を取った後、癌性組織(特に、その中の血管性内皮細胞)および前立腺上皮細胞を局在化し造影するために、全体NMR測定をPykett, Scientific American, 246:78-88(1982) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されるような機器を用いて実施する。

40

【0073】

生きているのと死んだ前立腺上皮細胞含有の領域を識別すること、または生きているのと死んだ前立腺上皮細胞を識別することが重要である場合、本発明の抗体(または本発明の他の生物薬剤)は、上記のように標識されて、生きているか死んだのかいずれかの前立腺上皮細胞のみを認識する抗体または他の生物薬剤と共に投与される。これらの抗体などは、主体の抗体を標識するのに用いた標識と区別できる標識で標識されている。種々の場

50

所または時間における２レベルを監視することにより、生きているまたは死んだ、正常、良性増殖性および癌性前立腺上皮細胞の場所的および時間的な濃度の変化を確かめることができる。特に、この方法は、生きているのと死んだのと両方の前立腺上皮細胞を認識する本発明の標識抗体と死んだ前立腺上皮細胞のみを認識する標識7E11抗体とを用いて実施することができる。

【 0 0 7 4 】

生物薬剤は、インビボで正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を切除または殺すためにも用いられる。これには、生物薬剤がそのみ、または生物薬剤(すなわち、正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞を認識する生物薬剤)が結合する細胞障害剤とともに用いられることが含まれる。また、細胞障害剤と結合した生物薬剤を処置を必要とする哺乳動物に投与することが含まれる。正常、良性増殖性および癌性の前立腺上皮細胞の場合、生物薬剤は前立腺上皮細胞を認識するので、生物薬剤が結合するこのような細胞は破壊される。該投与は正常な前立腺上皮細胞を破壊するが、前立腺が生命に、すなわち生存に必要でないので問題でない。前立腺は間接的に生殖に関係するが、本発明の処置を受ける患者にとって実際的に考慮すべき問題ではなかったようである。癌性組織の場合、生物薬剤が癌性細胞に近接の血管性内皮細胞を認識するので、生物薬剤/細胞障害剤の血管性内皮細胞との結合は、この細胞を破壊し、それによって近接の癌性細胞への血流を遮断し、それら癌性細胞を殺すまたは切断する。あるいは、生物薬剤は、その癌性細胞に近接の血管性内皮細胞との結合によって、癌性細胞に近接して局在する。このように、適当な生物薬剤(非識別的に、短い射程で細胞を殺すのに効果的な物質を含有する生物薬剤を含む)を用いて、癌性組織中の細胞(癌性細胞を含む)が選択的に切断または殺される。

【 0 0 7 5 】

本発明の生物薬剤は、治療薬剤、放射化合物、植物、かび、細菌源の分子、生物学的タンパク質およびこれらの混合物などの様々な細胞障害剤を輸送するのに用いられる。細胞障害剤は、細胞内作用細胞障害剤、例えば短射程、高エネルギー α 放出体などの短射程放射放出体であり得る。

【 0 0 7 6 】

酵素的に活性のトキシンおよびそのフラグメントには、例えば、ジフテリア・トキシン A フラグメント、ジフテリア・トキシンの非結合活性フラグメント、エキソトキシン A (*Pseudomonas aeruginosa* 由来)、リシン A 鎖、アブリン A 鎖、モデシン A 鎖、 α -サクリン、ある種の *Aleurites fordii* タンパク質、ある種のジアンシン・タンパク質、*Phytolacca americana* タンパク質 (P A P , P A P I I および P A P - S)、*Morodica charantia* 阻害剤、クルシン、クロチン、*Saponaria officinalis* 阻害剤、ゲロニン、ミタギリ、レストリクトシン、フェノマイシンおよびエノマイシンがある。酵素的活性タンパク質の製造方法は、W O 8 4 / 0 3 5 0 8 および W O 8 5 / 0 3 5 0 8 (出典明示により本明細書の一部とする) に記載されている。ある種の細胞障害部分は、例えば、アドリアマイシン、クロラムブシル、ダウノマイシン、メトトレキセート、ネオカルジノスタチンおよびプラチナムから誘導される。

【 0 0 7 7 】

生物薬剤を細胞障害剤とコンジュゲートする方法は、以前から知られている。クロラムブシルを抗体とコンジュゲートする方法は、Flechner, I., *European Journal of Cancer*, 9:741-745(1973); Ghose, T. et al., *British Medical Journal*, 3:495-499(1972); and Szekerke, M., et al., *Neoplasma*, 19:211-215(1972) (出典明示により本明細書の一部とする) に記載されている。ダウノマイシンおよびアドリアマイシンを抗体とコンジュゲートする方法は、Hurwitz, E. et al., *Cancer Research*, 35:1175-1181 (1975) and Arnon, R. et al., *Cancer Surveys*, 1:429-449(1982) (出典明示により本明細書の一部とする) に記載されている。抗体-リシン・コンジュゲートを製造する方法は、米国特許第 4, 4 1 4, 1 4 8 および Osawa, T., et al., *Cancer Surveys*, 1:373-388(1982) (出典明示により本明細書の一部とする) に記載されている。カップリング方法は、E P 8 6 3 0 9 5 1 6 . 2 (出典明示により本明細書の一部とする) に記載されている。

【 0 0 7 8 】

本発明の特に好ましい実施態様、正常、良性増殖性および癌性前立腺上皮細胞を殺すまたは切断することについて特に適した実施態様において、第 1 生物薬剤がプロドラッグ活性化剤に密接したときにのみ活性化されるプロドラッグとコンジュゲイトしている。プロドラッグ活性化剤は、本発明の第 2 生物薬剤、特に前立腺特異的膜抗原分子上の非競合部位に結合している生物薬剤とコンジュゲイトされる。競合または非競合結合部位に結合した 2 種の生物薬剤は、通常の競合結合アッセイにより測定される。例えば、モノクローナル抗体 J591、J533 および E99 は、前立腺特異的膜抗原分子上の競合結合部位に結合する。他方、抗体 J415 は、J591、J533 および E99 が結合する部位と競合しない結合部位に結合する。従って、例えば第 1 生物薬剤が J591、J533 および E99 の一つであり、第 2 生物薬剤が J415 であり得る。逆に、第 1 生物薬剤が J415 であり、第 2 生物薬剤が J591、J533 および E99 の一つであり得る。本発明の実施に使用するのに適したドラッグ - プロドラッグの対については、Blakely et al., "ZD2767, an Improved System for Antibody-directed Enzyme Prodrug Therapy That Results in Tumor Regressions in Colorectal Tumor Xenografts." *Cancer Research*, 56:3287-3292 (1996) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載されている。

10

【 0 0 7 9 】

別法において、抗体やその結合部分あるいはプローブは、高エネルギー放出体、例えば、 γ 放出体、 ^{131}I などの放射性同位体とカップリングすることができ、腫瘍部位に局在して、いくつかの細胞を殺す。参照、例えば、S. E. Order, "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy", *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy*, R. W. Baldwin et al. (eds.), pp303-316 (Academic Press 1985) (出典明示により本明細書の一部とする)。他の適当な放射性同位体には、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{211}At などの α 放出体および ^{186}Re 、 ^{90}Y などの β 放出体がある。癌における前立腺上皮細胞および血管性内皮細胞が放射線に比較的感受性であることから、放射治療は特に効果的であると期待される。

20

【 0 0 8 0 】

生物薬剤が癌性細胞または前立腺上皮細胞を殺すまたは切除するために単独で使用されるときは、補体媒介または抗体依存性の細胞毒性などの内因性宿主免疫機能が開始されて、殺すまたは切除することがなされる。

30

【 0 0 8 1 】

本発明の生物薬剤は、特定の標識を検出するために、キットとして器具とともに使用され、販売され得る。

本発明の生物薬剤の医療的使用は、他の医療処置形態と併用することができる。その他の処置には、外科処置、放射線照射、冷凍外科法、温熱療法、ホルモン治療、化学療法、ワクチンおよび他の免疫治療が含まれる。

【 0 0 8 2 】

本発明にさらに包含されるものとして、予防のために生物薬剤を用いて、殺すまたは切除する方法がある。例えば、これらの物質は、前立腺または他の癌の発生あるいは進行を防止または遅延するのに用いられる。

40

【 0 0 8 3 】

本発明の前立腺または他の癌を処置する医療方法には多くの利点がある。生物薬剤は、癌性細胞(前立腺上皮細胞を含有する癌性組織の細胞など)および前立腺上皮細胞のみを標的とするので、他の組織に影響しない。結果として、生物薬剤による処置は安全性が高く、特に高齢者により安全である。本発明による処置は、前立腺癌の転移が起こりやすく、また多くの他の癌が転移しやすい骨髄やリンパ節に抗体やその結合部分、プローブまたはリガンドなどの生物薬剤を高レベルで向けるので、特に効果的であると期待される。さらに、前立腺癌の腫瘍部位は大きさが小さい傾向にあり、従って、細胞障害剤により容易に破壊されやすいので、本発明方法は前立腺癌の処置に特に適している。本発明による処置は、前立腺癌の場合、血清前立腺特異抗原、患者の癌の病理的特性、グリーソン・スコア

50

、囊外の、精液の、小胞の、眼周辺の侵入、リンパ節を含むポジティブ・マージンなどの臨床パラメーターにより効果的に監視され得る。また、これらのパラメーターは、かかる処置が取られるべきかを知るのに使用することができる。

【 0 0 8 4 】

本発明の生物薬剤が生きている前立腺細胞に結合するので、これらの生物薬剤を使用する前立腺癌を処置する医療的方法は、溶解前立腺細胞を標的とする他の方法よりも非常に効果的である。同じ理由によって、生きている正常、良性増殖性または癌性の前立腺上皮細胞(同じく癌における血管性内皮細胞)の存在位置を診断または造影する方法は、本発明の生物薬剤を用いることにより非常に改善される。さらに、生きているのと死んだ前立腺細胞とを識別する能力は、特に特定の処置の効果を監視するのに、優れている。

10

【 0 0 8 5 】

ハイブリドーマE99、J415、J533およびJ591は、特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関するブタベスト条約の要件に従い、それを満足して、American Type Culture Collection (A.T.C.C.) at 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852に寄託されている。ハイブリドーマE99は1996年5月2日に(寄託番号HB-12101)、ハイブリドーマJ415は1996年5月30日に(寄託番号HB-12109)、ハイブリドーマJ533およびJ591は1996年6月6日に(寄託番号HB-12127およびHB-12126)寄託された。

【 0 0 8 6 】

本発明を下記の実施例でさらに説明する。

実施例

20

実施例 1 - ヒト組織

良性および悪性組織の新鮮な試料は、New York Hospital Cornell University Medical Center(NYH-CUMC)の病理学部門により提供された。

【 0 0 8 7 】

実施例 2 - 組織培養

ヒト癌の培養細胞系は、NYH-CUMCの泌尿器癌研究所から得た。前立腺癌細胞系 P C - 3 (Mickey, D. D. et al., 『単層培養および無胸腺マウスにおける固形癌としての、ヒト前立腺癌細胞系 (D U 1 4 5) の特徴づけ』、Prog. Clin. Biol. Res., 37:67-84(1980)、出典明示により本明細書の一部とする)、D U - 1 4 5 (Mickey, D. D. et al., 『単層培養および無胸腺マウスにおける固形癌としての、ヒト前立腺癌細胞系 (D U 1 4 5) の特徴づけ』、Prog. Clin. Biol. Res., 37:67-84(1980)、出典明示により本明細書の一部とする)および L N C a P (Horoszewicz, J. S. et al., 『ヒト前立腺癌の L N C a P モデル』、Cancer Res., 43:1809-1818 (1983)、出典明示により本明細書の一部とする)は、アメリカ基準菌株保存機構 (A T C C) (Rockville, MD.) から入手した。始めにハイブリドーマを、10% FCS、0.1 mM 非必須アミノ酸、2 mM L - グルタミン、100 単位 / ml ペニシリン、100 μ g / ml ストレプトマイシンおよび HAT 培地 (GIBCO, Grand Island, NY) を追加した R P M I - 1 6 4 0 培地中でクローン化した。サブクローンをアミノプテリン非含有の同培地で培養した。

30

【 0 0 8 8 】

実施例 3 - マウスモノクローナル抗体の調製

40

雌性 B A L B / c マウスを、2週間間隔で3回、LNCaP(6×10^6 細胞)を用いて腹腔内注射により免疫化した。最後の腹腔内免疫強化をインビトロで生育した新鮮な前立腺上皮細胞で行った。標準的な技術 (Ueda, R. et al., 『マウスモノクローナル抗体により規定されるヒト腎臓癌の細胞表面抗原: 組織特異的肝臓糖蛋白質の同定』、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:5122-5126 (1981) (出典明示により本明細書の一部とする))を用いて、3日後に脾臓細胞を S P - 2 マウスミエローマ細胞と融合させた。得られたクローンの上清を生きているLNCaPに対するロゼット法および細胞毒性アッセイによりスクリーニングした。これらのアッセイで陽性であったクローンを正常腎臓、結腸および前立腺に対する免疫化学でスクリーニングした。LNCaP⁺/Nml腎⁻/結腸⁻/前立腺⁺であったクローンを選別し、限定希釈により3回サブクローンした。各クローン由来の培養上清の免疫グロブリン

50

クラスを、特異的ウサギ抗血清(Calbiochem, San Diego, CA)を用いて免疫拡散法により決定した。M A P S - IIキット(Bio-Red, Richmond, CA)を用いて、m A bを精製した。

【0089】

実施例4-m A bのビオチニル化

精製m A bを0.1 M N a C O₃中で2時間透析した。1 m g / m lのm A b 1 m lをジメチルスルホキシド中、ビオチンアミドカプロン酸N - ヒドロキシスクシンアミドエステル(Sigma) 1 m g / m lの0.1 m lと混合し、4時間室温で撹拌した。非結合ビオチンをリン酸緩衝液(P B S)に対する透析により除去した。

【0090】

実施例5-免疫組織化学的染色

前立腺組織のクリオスタット画分を、Marusich, M. F. 『免疫組織化学的ハイブリドーマスクリーニング用の、組織画分を非常に大量に調製する迅速な方法』、J. Immunol. Methods, 111:143-145 (1988) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載のように、前以て0.45%ゼラチン溶液で被膜したファルコン3034プレートカバー(Becton-Dickenson, Lincoln Park, NJ)のリング内に置いた。プレートを-80℃で貯蔵した。クリオスタット画分を10分間室温でP B S中、2%パラホルムアルデヒドで固定し、P B Sで洗浄後、内因性ペルオキシダーゼ活性は、10分間室温でP B S中、0.3%過酸化水素で処理することにより阻害された。画分を20分間P B S中、2% B S Aでインキュベートした後、m A bを60分間で室温にて加えた。スライドは、P B Sで十分に洗浄し、P B S中10%正常ヒト血清で1:100に希釈したペルオキシダーゼ-コンジュゲートウサギ・アンチ-マウスI g (DAKO Corp., Santa Barbara, CA)と共に60分間、室温でインキュベートした。ジアミノベンジン反応後、画分をヘマトキシリンを用いて対比染色した。

【0091】

実施例6-血清学的解析

アンチ-マウス免疫グロブリン混合血球吸着アッセイを、Ueda, R. et al., 『マウスモノクローナル抗体により規定されるヒト腎臓癌の細胞表面抗原：組織特異性肝臓糖蛋白質の同定』、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 5122-5126(1981) (出典明示により本明細書の一部とする)に記載のように行った。指示細胞を調製するために、0.01%塩化クロムを用いて、アンチ-マウスI g DAKO(Corp.)をO型ヒトR B Cに結合させた。血清学的検定は、前以てテラサキプレート(Nunc, Denmark)で培養した細胞で行った。抗体を室温で1時間、標的細胞と共にインキュベートした。ついで、標的細胞を洗浄し、指示細胞を1時間で加えた。

【0092】

実施例7-免疫沈降反応

L N C a P細胞(2×10^7)を氷上30分間ビオチンN H S S (最終濃度5 m M)でビオチニル化した。洗った後、ビオチニル化細胞を氷上30分間、溶解緩衝液1 m l (20 m M Tris / H C l、p H 8.0、1 m M E D T A、1 m M P M S F、1% toriton X-100)に再懸濁した。懸濁液を4 100分間1500 g $\times$ 100で遠心分離し、上澄み液を4 で15分間12,000 r p mで遠心分離した。得た溶解質をウサギまたはヤギ-マウスI g G - コート・パンソルピンで4 1時間あらかじめ吸収せしめた。吸収された溶解質をm A bで4 一夜インキュベートした。ウサギまたはヤギアンチ-マウスI g コート・アガロースビードを4 2時間に加え、次いで洗った。ビードをTris塩基 / N a C lに再懸濁し、サンプルの緩衝液に2-メルカプトエタノールと共に加え、5分間煮沸した。遠心分離後、上澄み液をS D S - P A G E 12%ゲルにかけた。ゲルをストラブタビジン-ペルオキシダーゼでブロックおよび着色されたニトロセルロース膜を通した。膜はジアミノベンジジン(D A B)で展開された。

【0093】

逐次免疫沈降は、溶解質が4 一夜-79 m A bで最初にあらかじめ処理された以外は同様である。次いで第2のm A bが用いられて、前処理された溶解質が免疫沈降された。

10

20

30

40

50

約 2 0 0 0 クローンがスクリーンされ、うち 4 クローンは実施例 4 に記載のように選択された。サブクロニングの後、4 ハイブリドーマ、E 9 9、J 4 1 5、J 5 3 3 および J 5 9 1 からの上澄み液を、生存能力のある（すなわち非固定の）L N C a P に対する免疫蛍光および免疫沈降および逐次免疫沈降によって検定し、P S M A に対する反応性を確認した。

【 0 0 9 4 】

L N C a P 標的細胞（最初にHoroszewiczに記載されており、7 E 1 1 抗体およびP S M A の発現についてのプロトタイプ細胞系をつくる）を用いた免疫蛍光試験は、E 9 9 抗体が生存能力のあるL N C a P 細胞免疫蛍光物に結合し、低下することを示す。このことは、Horoszewiczが最初に記載したように、7 E 1 1 抗体が生存能力のあるL N C a P 細胞にほとんどまたはまったく結合しないで、固定された（死んだ）細胞のみに強く結合することと好対照である。

10

【 0 0 9 5 】

4 種のm A b の正常ヒト組織との反応性を免疫組織化学的に調べた。その結果を表 3 に示す。

表 3

間接的免疫ペルオキシダーゼ染色によるm A b のヒト正常組織との反応性

【 0 0 9 6 】

【表 3】

表 3

間接的免疫ペルオキシダーゼ染色による mAb のヒト正常組織との反応性

組織	E 99 (γ_3)	J 415 (γ_1)	J 533 (γ_1)	J 591 (γ_1)	
前立腺*	●	●	●	●	10
腎臓					
糸球体	○	○	○	○	20
尿細胞	■	■	■	■	
尿管	○	○	○	○	
膀胱	○	○	○	○	
精巣	○	○	○	○	
子宮	○	○	○	○	
食道	○	○	○	○	
小腸	○	○	○	○	
胃	○	○	○	○	
結腸	○	○	○	○	
脾臓	○	○	○	○	
甲状腺	○	○	○	○	
肺	○	○	○	○	
すい臓	○	○	○	○	
肝臓	○	○	○	○	
*BPH	0-3 ⁺	0-3 ⁺	0-4 ⁺	0-4 ⁺	30
*前立腺癌	0-3 ⁺	0-3 ⁺	0-4 ⁺	0-4 ⁺	
*LNCaP (scid)	3 ⁺	3 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	
*LuCaP (scid)	0-2 ⁺	0-2 ⁺	0-3 ⁺	0-3 ⁺	

●—陽性；■—弱い、異種；○—陰性

【0097】

上記の逐次免疫沈降試験は、7E11、E99、J415、J533および591が同じ分子すなわちPSMAに結合することを示した。

実施例 8 - ウェスタンブロット法

抗体E99、J415、J533および591が7E11抗体（すなわちPSMA）と同じバンドを沈降することを確認するために、ウェスタンブロット法を行った。精液（400 μ g / レーン）またはLNCaP溶解質を12%SDS-PAGEゲルのレーン中に充填した。ゲルをニトロセルロース膜に移した。膜を室温60分間、5%ドライミルク / Tris緩衝液-Tween 20 (TBST) でブロックした。洗った後、膜を室温で60分間、最初のmAbでインキュベートした。くり返して洗った後、膜を室温で60分間、5%ドライミルク / TBST中のヤギアンチマウス-Igペルオキシダーゼ1 / 5000でインキュベートした。さらに洗った後、“ECL” (Amersham Life Sciences, International, Arlington Heights, Illinois) と云う化学発光物を用いて製造業者の指示通りに展開した。ウェスタンブロット試験を表4に示す。

【0098】

表 4

ウェスタンブロット結果

【 0 0 9 9 】

【 表 4 】

表 4

ウェスタンブロット結果

サンプル	7E11	E99	J415	J533	J591
前立腺体液	100 KD	100 KD	100 KD	100 KD	100 KD
(精液)	バンド	バンド	バンド	バンド	バンド
L N C a P	100 KD &	100 KD &	100 KD &	100 KD &	100 KD &
細胞溶解質	200 KD	200 KD	200 KD	200 KD	200 KD
	バンド	バンド	バンド	バンド	バンド

10

【 0 1 0 0 】

実施例 9 - P S M A の外的ドメインに対する m A b の反応性

検出された P S M A の細胞表面（外部）発現を確認するために、新鮮な生存能力のある細胞を固定することなしに、インビトロで免疫蛍光によって調べた。L N C a P 細胞を洗い、室温で 1 時間、m A b と共に、次いでウサギアンチマウス I g 蛍光物（DAKO Corp. , Santa Babara . CA）と共にインキュベートした。ウェルを蛍光顕微鏡で読んだ。陰性コントロールはアイソタイプ対無関係 m A b からなり、一方、アンチ - クラス I M H C m A b は陽性コントロールとなった。

20

【 0 1 0 1 】

免疫蛍光法およびロゼット法の結果を表 5 に示す。

表 5

7 E 1 1 の新しい m A b との比較

【 0 1 0 2 】

【 表 5 】

30

表 5

7 E 1 1 の新しい m A b との比較

LNCaP生存能力	7E11	E99	J415	J533	J591
のある細胞					
免疫蛍光法	neg	3+	3+	4+	4+
ロゼット法	neg	+	+	+	+
LNCaP-固定	+++	++++	+++	++	+++

40

【 0 1 0 3 】

実施例 1 0 - 競合試験

J 5 9 1 , J 5 3 3 , E 9 9 および J 4 1 5 が同じまたは異なる前立腺特異的膜抗原分子の抗原性部位（エピトープ）を検出したかどうかを調べるために、下記の方法で競合試験を行った。

【 0 1 0 4 】

前立腺特異的膜抗原源としての L N C a P 細胞系の溶解質でプレートのコートし、洗って非結合物を除去した。“ コールド ”（非標識）モノクローナル抗体をプレート上で室温

50

1時間インキュベートし、その抗原性部位へ結合せしめた。次いで、ビオチンまたは¹²⁵Iで標識した第2モノクローナル抗体を追加の時間で加えた。前立腺特異的膜抗原コートプレートに結合の第2モノクローナル抗体の量は酵素連結イムノアッセイのアビジン・アルカリホスファターゼ(ビオチン標識第2モノクローナル抗体の場合)またはガンマー・カウンターでの物理的に計数(¹²⁵I-標識第2モノクローナル抗体の場合)によって調べた。非標識(コールド)と標識されているのと両方の同じモノクローナル抗体を用いたコントロールを“100%競合”とし、まったく異なる分子に対するモノクローナル抗体(例えば、前立腺特異的膜抗原と異なる前立腺関連タンパク質であるインヒピンを検出するモノクローナル抗体I-56)を“0%競合”と定義した。

【0105】

その結果によると、J591、J533およびE99は互に妨害し、競合し夫々の結合をブロックするが、J415の結合をブロックしない。逆も同じである。7E11/CYT356は、異なる部位(細胞内)でPSMAを結合することが知られているが、J591、J533、E99またはJ415のいずれをもブロックしなかった。

【0106】

非競合的部位に結合するモノクローナル抗体の対を有することは、例えば体液における可溶化前立腺特異的膜抗原またはそのフラグメントなどの可溶性抗原についての抗体サンドウィッチアッセイの開発を可能にする。例えば、抗原(例えば前立腺特異的膜抗原またはそのフラグメント)は、J591で体液から“捕捉”され、他の工程で標識J415により検出され得る。

【0107】

別の処置において、非競合的モノクローナル抗体を用いて抗体結合を増すことができる。例えば、非競合部位が各々前立腺特異的膜抗原分子上で提示されているとすると、J591とJ415の併用を加えることは、夫々のモノクローナル抗体単独の2倍のモノクローナル抗体分子に結合することになる。2つの非競合抗原結合部位に結合することは、抗原架橋を増加し、そしておそらく取りこみを増大することになる。さらに2つの検出された部位は同じ前立腺特異的膜抗原分子上に物理的に位置しているので、単一の前立腺特異的膜抗原分子に2つのモノクローナル抗体分子が結合することは、2つのモノクローナル抗原分子を互に近接の場所に置き、非常に好ましいドラッグ-プロドラッグ相互作用を提供する。

例えば、モノクローナル抗体J591は不活性プロドラッグとコンジゲートし、J415はプロドラッグ活性化剤とコンジゲートされ得る。プロドラッグと活性化剤は、前立腺特異的膜抗原-発現細胞(例えば、前立腺癌細胞)の部位でのみ密接して結合しているので、活性型へのプロドラッグの活性化はそれらの部位でのみ起きる。

【0108】

実施例11 - 顕微鏡検査

共焦点顕微鏡検査および免疫電子顕微鏡検査によると、E99、J591、J533およびJ415はクラスリン被覆小窩で細胞膜に結合し、迅速にエンドソーム(細胞膜小胞)に取り込まれる。図1-4は、細胞表面での金標識モノクローナル抗体J591の取り込みを時間関数で表わしている免疫電子顕微鏡検査である。これらの図においてモノクローナル抗体は黒点で表わされる。

【0109】

生存能力のあるLNCaP細胞をJ591と共に4で1時間インキュベートした。細胞を洗い、37で、0、5、10または15分を取得し、固定し、免疫電子顕微鏡検査を行った。図1は37インキュベーションの前の細胞を示す。J591が細胞膜の外観に沿って細胞に結合しているのが見られる。この図において、“M”は細胞のミトコンドリアを、“N”は核を示す。図2は375分間インキュベーション後の細胞を示す。矢印はクラスリン被覆小窩の形成を示す。図3は3710分間インキュベーション後の細胞を示す。クラスリン被覆小窩の摘み取り、すなわち細胞内取り込み(エンドサイトーシス)が矢印で示すように見られる。図4では、3715分間インキュベーション後に、モ

10

20

30

40

50

ノクローナル抗体 J 5 9 1 が細胞内の取り込み小胞に含有されており、矢印で示す。図 5 では、3 7 1 5 分間インキュベーション後に、モノクローナル抗体 J 5 9 1 がエンドソーム中にも含有されており、矢印で示す。

【 0 1 1 0 】

実施例 1 2 - モノクローナル抗体 5 9 1 の可変領域の配列決定

全 RNA を 10^7 ネズミハイブリドーマ J 5 9 1 細胞から調製した。これらの細胞からのコンディショントメディアムのサンプルについて、前立腺細胞上の J 5 9 1 の特異抗原との結合を調べた。条件培養基は E L I S A およびウェスタンブロット法で抗原との結合が陽性であった。

【 0 1 1 1 】

V H および V K c D N A は、逆転写酵素、マウス κ 定常領域およびマウス I g G 正常領域プライマーを用いて調製した。第 1 鎖 c D N A は多種のマウスシグナル配列プライマー (V H について 6 、 V K について 7) を用いて、P C R により増幅した。増幅 D N A をゲル精製し、ベクター p T 7 B l u e 中にクローン化した。

【 0 1 1 2 】

得た V H および V K クローンを P C R で正しい挿入について選別し、選択したクローンの D N A 配列をジデオキニン鎖測定法で調べた。

プライマー領域 (用いられたプライマーの配列に依存したこの配列として) 、得たすべての V H クローンは同じ配列を有していた。この配列は 3 種の異なる 5 ' プライマーから産生したクローンより得られた。1つのクローンはシグナル配列に 1 塩基対を有し、1つのクローンは異常な P C R 産物を含有していた。図 6 に示す配列決定戦略を用いて、重鎖についてのヌクレオチド配列を得た。これを配列番号 1 とし、対応の逆転非コード鎖のヌクレオチド配列 (配列番号 2) と併せて、図 7 に示す。これらの配列はシグナル配列の部分および抗体の定常領域の部分を含んでいる。J 5 9 1 V H の対応演繹アミノ酸配列を配列番号 3 、配列番号 4 および配列番号 5 として図 7 に示す。J 5 9 1 重鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) のコード鎖は、下記ヌクレオチド配列 (配列番号 6) を有する。

【 0 1 1 3 】

【 化 1 】

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAACTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAGG
ATATCCTGCAAGACTTCTGGATACACATTCACCTGAATATACCATACACTGGGTGAAG
CAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAAACATCAATCCTAACAATGGTGGT
ACCACCTACAATCAGAAGTTTCGAGGACAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCTCC
AGTACAGCCTACATGGAGCTCCGCAGCCTAACATCTGAGGATTCTGCAGTCTATTAT
TGTGCAGCTGGTTGGAACCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCC
TCA

【 0 1 1 4 】

J 5 9 1 重鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) の逆転、非コード鎖は、下記ヌクレオチド配列 (配列番号 7) を有する。

【 0 1 1 5 】

10

20

30

40

【化 2】

TGAGGAGACTGTGAGAGTGGTGCCTTGGCCCCAGTAGTCAAAGTTCCAACCAGCTGC
 ACAATAATAGACTGCAGAATCCTCAGATGTTAGGCTGCGGAGCTCCATGTAGGCTGT
 ACTGGAGGACTTGTCTACAGTCAATGTGGCCTTGTCTCGAAGTTCTGATTGTAGGT
 GGTACCACCATTGTTAGGATTGATGTTTCCAATCCACTCAAGGCTCTTTCCATGGCT
 CTGCTTCACCCAGTGTATGGTATATTCAGTGAATGTGTATCCAGAAGTCTTGCAGGA
 TATCCTCACTGAAGTCCCAGGCTTCACCAGTTCAGGTCCAGACTGTTGCAGCTGGAC
 CTC

10

【0116】

J591重鎖の可変領域（シグナル配列および定常領域成分を除く）に対応するタンパク質配列は、下記のヌクレオチド配列（配列番号8）を有する。

【0117】

【化 3】

EVQLQQSGPELVKPGTSVRISCKTSGYTFTEYTIHWVKQSHGKSLEWIGNINPNNGG
 TTYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCAAGWNFDYWGQGTTLTVS
 S

【0118】

J591VHはマウス重鎖サブグループIIA（Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services (1991) (“Kabat”）、出典明示により本明細書の一部とする。）中に存在する。図8にJ591の配列をこのサブグループとの共通配列について比較する。

20

【0119】

VHと異なり、複数のVK配列が得られた。検査した15VKクローンのうち、4が融合相手（Carol et al., Molecular Immunology, 25:991-995(1988)、出典明示により本明細書の一部とする）からの異常マウスIgkの配列を有した。これらのクローンは2つの特異的5'プライマーから始まる。これらのクローンについてはさらに研究しなかった。残りのクローンのうち、10は同じヌクレオチド配列を有し、1つのクローン、VK17は別のVK配列を有した。10の同じクローンは3つの5'プライマー（異常配列を示す2つのものと異なる）から始まり、そのうち1つはVK17を産生した。用いた配列決定戦略を図9に示す。

30

【0120】

10の同じクローンに対応するJ591VKの核酸配列（配列番号9）を、対応する逆転非コード鎖の核酸配列（配列番号10）および演繹アミノ酸配列（配列番号11、12、13）と併せて図10に示す。これらの配列はシグナル配列の部分および抗体の定常領域の部分を含んでいる。10の同じクローンに対応するJ591軽（kappa）鎖の可変領域（シグナル配列および定常領域成分を除く）のコード鎖は下記のヌクレオチド配列（配列番号14）を有する。

40

【0121】

【化 4】

AACATTGTAATGACCCAATCTCCCAAATCCATGTCCATGTCAGTAGGAGAGAGGGTC
 ACCTTGACCTGCAAGGCCAGTGAGAATGTGGTTACTTATGTTTCCTGGTATCAACAG
 AAACCAGAGCAGTCTCCTAAACTGCTGATATACGGGGCATCCAACCGGTACACTGGG
 GTCCCCGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGCAACAGATTTCACTCTGACCATCAGC
 AGTGTGCAGGCTGAAGACCTTGACAGATTATCACTGTGGACAGGGTTACAGCTATCCG
 TACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

50

【 0 1 2 2 】

10 の同じクローンに対応する J 5 9 1 軽 (kappa) 鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) の逆転、非コード鎖は下記のヌクレオチド配列 (配列番号 15) を有する。

【 0 1 2 3 】

【 化 5 】

TTTTATTTCCAGCTTGGTCCCCCTCCGAACGTGTACGGATAGCTGTAACCCTGTCC
ACAGTGATAATCTGCAAGGTCTTCAGCCTGCACACTGCTGATGGTCAGAGTGAAATC
TGTTGCAGATCCACTGCCTGTGAAGCGATCGGGGACCCAGTGTACCGGTTGGATGC
CCCGTATATCAGCAGTTTAGGAGACTGCTCTGGTTTCTGTTGATACCAGGAAACATA
AGTAACCACATTCTCACTGGCCTTGCAGGTCAAGGTGACCCTCTCTCCTACTGACAT
GGACATGGATTGGGAGATTGGGTCATTACAATGTT

10

【 0 1 2 4 】

10 の同じクローンに対応の J 5 9 1 軽 (kappa) 鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) に対応するタンパク質配列は下記のヌクレオチド配列 (配列番号 16) を有する。

【 0 1 2 5 】

【 化 6 】

NIVMTQSPKSMMSVGERVTLTCKASENVVTYVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTG
VPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYHCGQGYSYPYTFGGGTKLEIK

20

【 0 1 2 6 】

クローン V K 1 7 に対応する J 5 9 1 軽 (kappa) 鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) のコード鎖は下記のヌクレオチド配列 (配列番号 17) を有する。

【 0 1 2 7 】

【 化 7 】

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTC
AGCATCATCTGTAAGGCCAGTCAAGATGTGGGTACTGCTGTAGACTGGTATCAACAG
AAACCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTATTGGGCATCCACTCGGCACACTGGA
GTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATTACT
AATGTTTCAGTCTGAAGACTTGGCAGATTATTTCTGTCAGCAATATAACAGCTATCCT
CTCACGTTTCGGTGCTGGGACCATGCTGGACCTGAAA

30

【 0 1 2 8 】

クローン V K 1 7 に対応する J 5 9 1 軽 (kappa) 鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) の逆転、非コード鎖は下記のヌクレオチド配列 (配列番号 18) を有する。

【 0 1 2 9 】

40

【化 8】

TTTCAGGTCCAGCATGGTCCCAGCACCGAACGTGAGAGGATAGCTGTTATATTGCTG
 ACAGAAATAATCTGCCAAGTCTTCAGACTGAACATTAGTAATGGTGAGAGTGAAGTC
 TGTCCCAGATCCACTGCCTGTGAAGCGATCAGGGACTCCAGTGTGCCGAGTGGATGC
 CCAATAAATCAGTAGTTTAGGAGATTGTCCTGGTTTCTGTTGATACCAGTCTACAGC
 AGTACCCACATCTTGACTGGCCTTACAGATGATGCTGACCCTGTCTCCTACTGATGT
 GGACATGAATTTGTGAGACTGGGTCATCACAATGTC

【0130】

10

クローン V K 17 に対応の J 591 軽 (kappa) 鎖の可変領域 (シグナル配列および定常領域成分を除く) に対応するタンパク質配列は下記のヌクレオチド配列 (配列番号 19) を有する。

【0131】

【化 9】

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVGTAVDWYQQKPGQSPKLLIWASTRHTG
 VPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFCQQYNSYPLTFGAGTMLDLK

【0132】

J 591 V K はマウスカッパー鎖サブグループ V (Kabat, 出典明示により本明細書の一部とする) に存在する。図 11 において、10 の同じクローンに対応する J 591 V K の配列をこのサブグループの共通配列について比較する。

20

【0133】

好ましい J 591 の配列は、配列番号 6 に対応する重鎖可変領域 DNA コード鎖配列および配列番号 7 に対応する重鎖可変領域 DNA コード鎖配列を有するものである。J 591 の重鎖可変領域は、好ましくは配列番号 8 に対応するアミノ酸配列を有する。J 591 の軽鎖可変領域は、好ましくは配列番号 17 に対応する DNA コード鎖配列、配列番号 18 に対応する DNA 非コード鎖 (逆転) 配列および配列番号 19 に対応するアミノ酸配列を有する。

【0134】

30

実施例 13 - 正常および癌性組織の免疫組織化学的染色

23 癌腫からの癌組織を液体窒素であらかじめ冷し、ドライアイス上 OTC 化合物 (Miles, Elkhart, Indiana) 中で急凍し、-80 で保存した。低温槽の組織画分 (5 μm) を冷アセトン (4) で 10 分間で固定した。mAb (5 μg/ml またはハイブリドーマ上清) を室温で 1 時間インキュベートした。抗体結合は、第 2 抗体としてウサギアンチ - マウス Ig ペルオキシダーゼ (Dako, Carpinteria, California) およびクロモゲンとして DAB (Sigma, St. Louis, Missouri) を用いて検出した。同位体マッチ非関連抗体を陰性コントロールとして用いた。

【0135】

mAb J 591, J 533, J 415 および E 99 は、試験した全 23 の癌腫中の血管性内皮細胞に強く反応した。これらは、9/9 腎の、5/5 尿路の、6/6 結腸の、1/1 肺の、1/1 乳房の癌腫および 1/1 肝への転移性腺癌である。図 2A - 2F は、それぞれ腎、尿路、結腸、肺および乳房の癌腫、および肝への転移性腺腫の新生血管系に対する mAb J 591 の免疫化学的反応性を示す。

40

【0136】

説明の目的で本発明を詳細に記載したが、この詳述は説明のためにのみなされたものであって、当業者は下記の請求項に定義される本発明の精神および範囲を逸脱することなしに改変できることが理解されるべきである。

【0137】

【数 1】

SEQUENCE LISTING

(1) GENERAL INFORMATION:

- (i) APPLICANT: Cornell Research Foundation, Inc.
 - (ii) TITLE OF INVENTION: TREATMENT AND DIAGNOSIS OF
CANCER
 - (iii) NUMBER OF SEQUENCES: 19 10
 - (iv) CORRESPONDENCE ADDRESS:
 - (A) ADDRESSEE: Nixon, Hargrave, Devans & Doyle LLP
 - (B) STREET: Clinton Square, P.O. Box 1051
 - (C) CITY: Rochester
 - (D) STATE: New York
 - (E) COUNTRY: U.S.A.
 - (F) ZIP: 14603-1051
 - (v) COMPUTER READABLE FORM:
 - (A) MEDIUM TYPE: Floppy disk
 - (B) COMPUTER: IBM PC compatible
 - (C) OPERATING SYSTEM: PC-DOS/MS-DOS 20
 - (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30
 - (vi) CURRENT APPLICATION DATA:
 - (A) APPLICATION NUMBER:
 - (B) FILING DATE:
 - (C) CLASSIFICATION:
 - (vii) PRIOR APPLICATION DATA:
 - (A) APPLICATION NUMBER: US 06/022,125
 - (B) FILING DATE: 18-JUL-1996
 - (viii) PRIOR APPLICATION DATA:
 - (A) APPLICATION NUMBER: US 08/838,632 30
 - (B) FILING DATE: 09-APR-1997
 - (ix) ATTORNEY/AGENT INFORMATION:
 - (A) NAME: Goldman, Michael L.
 - (B) REGISTRATION NUMBER: 30,727
 - (C) REFERENCE/DOCKET NUMBER: 19603/1174
 - (x) TELECOMMUNICATION INFORMATION:
 - (A) TELEPHONE: (716) 263-1304
 - (B) TELEFAX: (716) 263-1600
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:1: 40
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

【 0 1 3 8 】

【数 2】

- (A) LENGTH: 391 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:1:

TCTCCTGTCA GGAAGTGCAG GTGTCCTCTC TGAGGTCCAG CTGCAACAGT CTGGACCTGA	60	10
ACTGGTGAAG CCTGGGACTT CAGTGAGGAT ATCCTGCAAG ACTTCTGGAT ACACATTCAC	120	
TGAATATACC ATACACTGGG TGAAGCAGAG CCATGGAAAG AGCCTTGAGT GGATTGGAAA	180	
CATCAATCCT AACAAATGGTG GTACCACCTA CAATCAGAAG TTCGAGGACA AGGCCACATT	240	
GACTGTAGAC AAGTCCTCCA GTACAGCCTA CATGGAGCTC CGCAGCCTAA CATCTGAGGA	300	
TTCTGCAGTC TATTATTGTG CAGCTGGTTG GAACTTTGAC TACTGGGGCC AAGGCACCAC	360	
TCTCACAGTC TCCTCAGCCA AAACGACACC C	391	

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:2:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 391 base pairs
 - (B) TYPE: nucleic acid
 - (C) STRANDEDNESS: single
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:2:

GGGTGTCGTT TTGGCTGAGG AGACTGTGAG AGTGGTGCCT TGGCCCCAGT AGTCAAAGTT	60	
CCAACCAGCT GCACAATAAT AGACTGCAGA ATCCTCAGAT GTTAGGCTGC GGAGCTCCAT	120	30
GTAGGCTGTA CTGGAGGACT TGTCTACAGT CAATGTGGCC TTGTCCTCGA ACTTCTGATT	180	
GTAGGTGGTA CCACCATGTG TAGGATTGAT GTTTCCAATC CACTCAAGGC TCTTTCCATG	240	
GCTCTGCTTC ACCCAGTGTA TGGTATATTC AGTGAATGTG TATCCAGAAG TCTTGCAGGA	300	
TATCCTCACT GAAGTCCCAG GCTTCACCAG TTCAGGTCCA GACTGTTGCA GCTGGACCTC	360	
AGAGAGGACA CCTGCAGTTC CTAGCAGGAG A	391	

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:3:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 123 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (C) STRANDEDNESS:
 - (D) TOPOLOGY: linear

【 0 1 3 9 】

【数 3】

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:3:

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

10

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:4:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 130 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (C) STRANDEDNESS:
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: protein

30

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:4:

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

40

【 0 1 4 0 】

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr
115 120 125

Thr Pro
130

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 125 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (C) STRANDEDNESS:
- (D) TOPOLOGY: linear

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:5:

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

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 345 base pairs
 (B) TYPE: nucleic acid
 (C) STRANDEDNESS: single
 (D) TOPOLOGY: linear

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:6:

GAGGTCACAGC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTGGTGAAGC CTGGGACTTC AGTGAGGATA 60
TCCTGCAAGA CTTCTGGATA CACATTCACT GAATATACCA TACACTGGGT GAAGCAGAGC 120

【数 5】

CATGGAAAGA GCCTTGAGTG GATTGGAAAC ATCAATCCTA ACAATGGTGG TACCACCTAC	180
AATCAGAAAGT TCGAGGACAA GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCCTCCAG TACAGCCTAC	240
ATGGAGCTCC GCAGCCTAAC ATCTGAGGAT TCTGCAGTCT ATTATTGTGC AGCTGGTTGG	300
AACTTTGACT ACTGGGGCCA AGGCACCACT CTCACAGTCT CCTCA	345

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:7:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 345 base pairs
 (B) TYPE: nucleic acid
 (C) STRANDEDNESS: single
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:7:

TGAGGAGACT GTGAGAGTGG TGCCTTGCC CCAGTAGTCA AAGTTCCAAC CAGCTGCACA	60
ATAATAGACT GCAGAATCCT CAGATGTTAG GCTGCGGAGC TCCATGTAGG CTGTACTGGA	120
GGACTTGTCT ACAGTCAATG TGGCCTTGTC CTCGAACTTC TGATTGTAGG TGGTACCACC	180
ATTGTTAGGA TTGATGTTTC CAATCCACTC AAGGCTCTTT CCATGGCTCT GCTTCACCCA	240
GTGTATGGTA TATTCAGTGA ATGTGTATCC AGAAGTCTTG CAGGATATCC TCACTGAAGT	300
CCCAGGCTTC ACCAGTTCAG GTCCAGACTG TTGCAGCTGG ACCTC	345

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:8:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 115 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (C) STRANDEDNESS:
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:8:

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr	1	5	10	15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr	20	25	30	
Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile	35	40	45	
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe	50	55	60	

40

【 0 1 4 2 】

【数 6】

Glu Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:9:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 363 base pairs
 - (B) TYPE: nucleic acid
 - (C) STRANDEDNESS: single
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:9:

20

TTATATGGAG CTGATGGGAA CATTGTAATG ACCCAATCTC CCAAATCCAT GTCCATGTCA	60
GTAGGAGAGA GGGTCACCTT GACCTGCAAG GCCAGTGAGA ATGTGGTTAC TTATGTTTCC	120
TGGTATCAAC AGAAACCAGA GCAGTCTCCT AAAGTGCTGA TATACGGGGC ATCCAACCGG	180
TACACTGGGG TCCCCGATCG CTTCACAGGC AGTGGATCTG CAACAGATTT CACTCTGACC	240
ATCAGCAGTG TGCAGGCTGA AGACCTTGCA GATTATCACT GTGGACAGGG TTACAGCTAT	300
CCGTACACGT TCGGAGGGGG GACCAAGCTG GAAATAAAAC GGGCTGATGC TGCACCAACT	360
GTA	363

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:10:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 363 base pairs
 - (B) TYPE: nucleic acid
 - (C) STRANDEDNESS: single
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:10:

40

TACAGTTGGT GCAGCATCAG CCCGTTTTAT TTCCAGCTTG GTCCCCCTC CGAACGTGTA	60
CGGATAGCTG TAACCCTGTC CACAGTGATA ATCTGCAAGG TCTTCAGCCT GCACACTGCT	120
GATGGTCAGA GTGAAATCTG TTGCAGATCC ACTGCCTGTG AAGCGATCGG GGACCCCACT	180

【 0 1 4 3 】

【数 7】

```

GTACCGGTTG GATGCCCCGT ATATCAGCAG TTTAGGAGAC TGCTCTGGTT TCTGTTGATA      240
CCAGGAAACA TAAGTAACCA CATTCTCACT GGCCTTGACG GTCAAGGTGA CCTTCTCTCC      300
TACTGACATG GACATGGATT TGGGAGATTG GGTCAATTACA ATGTTCCCAT CAGCTCCATA      360
TAA                                                                    363

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:11:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 121 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (C) STRANDEDNESS:
- (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:11:

```

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

```

20

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:12:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 114 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (C) STRANDEDNESS:
- (D) TOPOLOGY: linear

40

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:12:

```

Tyr Met Glu Leu Met Gly Thr Leu Pro Asn Leu Pro Asn Pro Cys Pro
1          5          10          15

```

【 0 1 4 4 】

10

20

30

40

【 0 1 4 5 】

【数 9】

- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:14:

AACATTGTAA TGACCCAATC TCCCAAATCC ATGTCCATGT CAGTAGGAGA GAGGGTCACC	60	
TTGACCTGCA AGGCCAGTGA GAATGTGGTT ACTTATGTTT CCTGGTATCA ACAGAAACCA	120	10
GAGCAGTCTC CTAAACTGCT GATATACGGG GCATCCAACC GGTACACTGG GGTCCCCGAT	180	
CGCTTCACAG GCAGTGGATC TGCAACAGAT TTCACTCTGA CCATCAGCAG TGTGCAGGCT	240	
GAAGACCTTG CAGATTATCA CTGTGGACAG GGTTACAGCT ATCCGTACAC GTTCGGAGGG	300	
GGGACCAAGC TGGAAATAAA A	321	

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:15:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 321 base pairs
 - (B) TYPE: nucleic acid
 - (C) STRANDEDNESS: single
 - (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:15:

TTTTATTTCC AGCTTGGTCC CCCCTCCGAA CGTGTACGGA TAGCTGTAAC CCTGTCCACA	60	
GTGATAATCT GCAAGGTCTT CAGCCTGCAC ACTGCTGATG GTCAGAGTGA AATCTGTTGC	120	
AGATCCACTG CCTGTGAAGC GATCGGGGAC CCCAGTGTAC CGGTTGGATG CCCCCTATAT	180	30
CAGCAGTTTA GGAGACTGCT CTGGTTTCTG TTGATACCAG GAAACATAAG TAACCACATT	240	
CTCACTGGCC TTGCAGGTCA AGGTGACCCCT CTCTCCTACT GACATGGACA TGGATTTGGG	300	
AGATTGGGTC ATTACAATGT T	321	

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:16:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 107 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (C) STRANDEDNESS:
 - (D) TOPOLOGY: linear

40

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:16:

【数 1 0】

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

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:17:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 321 base pairs
 (B) TYPE: nucleic acid
 (C) STRANDEDNESS: single
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:17:

GACATTGTGA TGACCCAGTC TCACAAATTC ATGTCCACAT CAGTAGGAGA CAGGGTCAGC 60
 ATCATCTGTA AGGCCAGTCA AGATGTGGGT ACTGCTGTAG ACTGGTATCA ACAGAAACCA 120
 GGACAATCTC CTAAACTACT GATTTATTGG GCATCCACTC GGCACACTGG AGTCCCTGAT 180
 CGCTTCACAG GCAGTGGATC TGGGACAGAC TTCACTCTCA CCATTACTAA TGTTCACTCT 240
 GAAGACTTGG CAGATTATTT CTGTCAGCAA TATAACAGCT ATCCTCTCAC GTTCGGTGCT 300
 GGGACCATGC TGGACCTGAA A 321

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:18:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 321 base pairs
 (B) TYPE: nucleic acid
 (C) STRANDEDNESS: single
 (D) TOPOLOGY: linear

40

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:18:

【 0 1 4 7】

【数 1 1】

```

TTTCAGGTCC AGCATGGTCC CAGCACCGAA CGTGAGAGGA TAGCTGTTAT ATTGCTGACA      60
GAAATAATCT GCCAAGTCTT CAGACTGAAC ATTAGTAATG GTGAGAGTGA AGTCTGTCCC      120
AGATCCACTG CCTGTGAAGC GATCAGGGAC TCCAGTGTGC CGAGTGGATG CCCAATAAAT      180
CAGTAGTTTA GGAGATTGTC CTGGTTTCTG TTGATACCAG TCTACAGCAG TACCCACATC      240
TTGACTGGCC TTACAGATGA TGCTGACCCT GTCTCCTACT GATGTGGACA TGAATTTGTG      300
AGACTGGGTC ATCACAATGT C                                     321

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:19:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 107 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (C) STRANDEDNESS:
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:19:

20

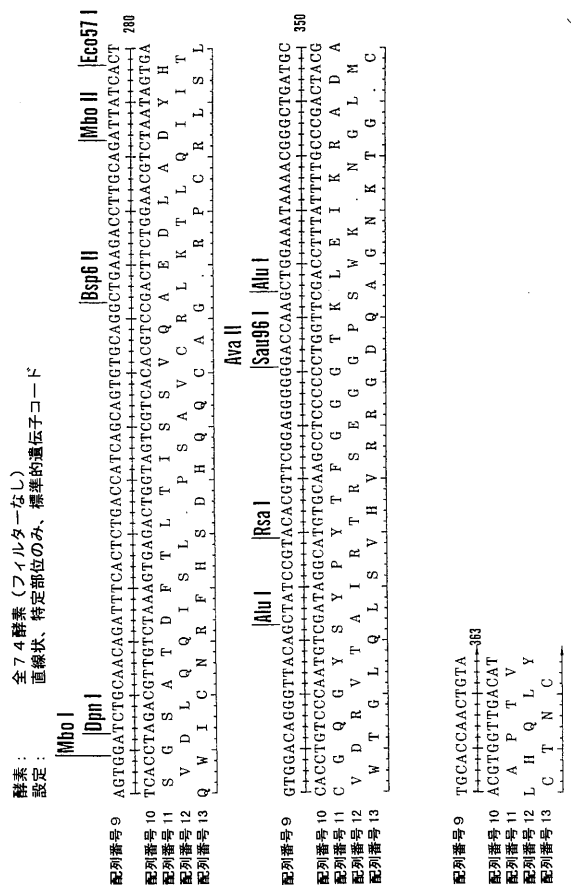
```

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

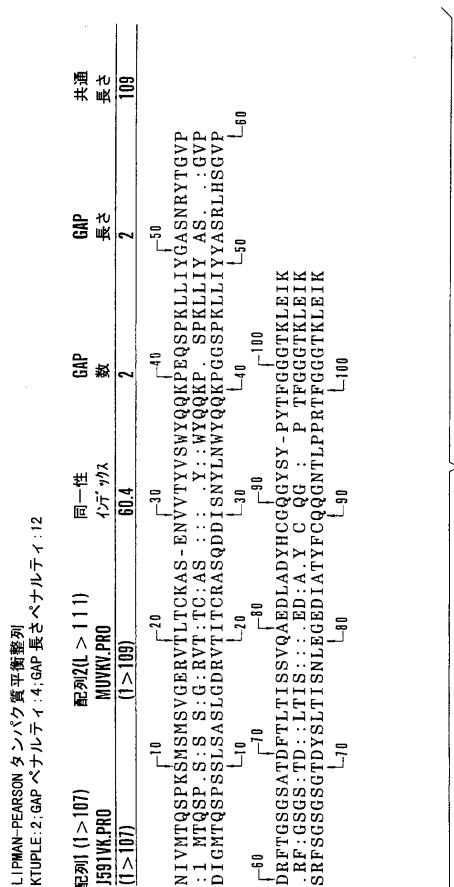
```

30

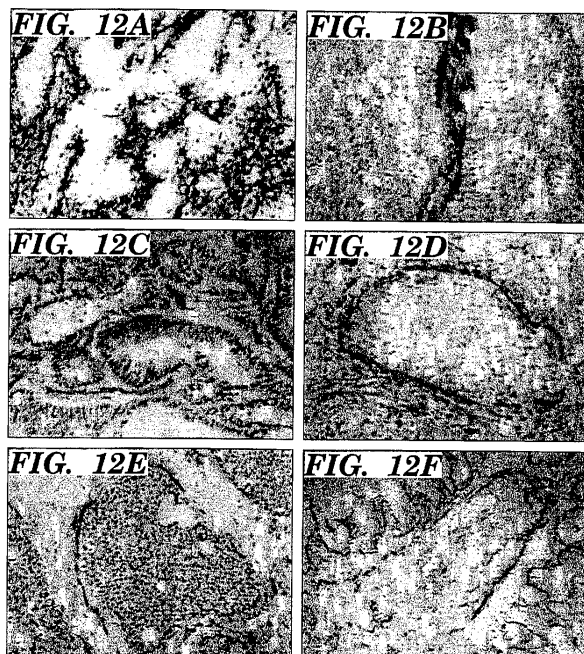
【図 10B】



【図 11】



【図 12】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 35/00

(74)代理人 100092967
弁理士 星野 修

(74)代理人 100106080
弁理士 山口 晶子

(72)発明者 バンダー, ニール・エイチ
アメリカ合衆国10514ニューヨーク州チャッパカ、ヘムロック・ヒルズ2番

合議体

審判長 内田 淳子

審判官 岩下 直人

審判官 前田 佳与子

(56)参考文献 特表平8-506005(JP,A)
特開昭62-215870(JP,A)
MURPHY, G. P. et al., The Prostate, 1996年4月, Vol. 28, pp. 266-271

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00

A61K 45/00

A61K 47/00

A61P 35/00

专利名称(译)	治疗和诊断癌症		
公开(公告)号	JP5627191B2	公开(公告)日	2014-11-19
申请号	JP2009092429	申请日	2009-04-06
[标]申请(专利权)人(译)	康乃尔研究基金会有限公司		
申请(专利权)人(译)	康奈尔大学研究基金会有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	康奈尔大学研究基金会有限公司		
[标]发明人	バンダーニールエイチ		
发明人	バンダー,ニール・エイチ		
IPC分类号	A61K39/395 A61K45/00 A61K45/06 A61K47/48 A61P35/00 G01N33/53 A61K38/00 C07K16/28 C07K16/30 C12N15/09 C12P21/08 C12Q1/02 C12R1/91 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/57434 A61K2039/505 C07K16/3069 C07K2317/77 G01N2333/705 Y10S435/81 Y10S435/975		
FI分类号	A61K39/395.E A61K39/395.T A61K45/00 A61K45/06 A61K47/48 A61P35/00 A61K49/00 A61K49/00.C A61K49/00.Z A61K49/02.A A61K49/06 A61K49/08 A61K51/00 A61K51/00.200 A61K51/02.200 A61K51/10.200 G01N33/574.A		
F-TERM分类号	4C084/AA23 4C084/NA14 4C084/ZB26 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA21 4C085/BB01 4C085/CC02 4C085/EE01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG08 4C085/HH01 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/KA04 4C085/KB07 4C085/KB09 4C085/KB15 4C085/KB18 4C085/KB20 4C085/KB54 4C085/LL05 4C085/LL11 4C085/LL18		
代理人(译)	小林 泰 星野 修 山口明子		
审查员(译)	内田淳子		
助理审查员(译)	菅直人岩下		
优先权	60/022125 1996-07-18 US 08/838682 1997-04-09 US		
其他公开文献	JP2009197002A5 JP2009197002A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供抗体或其结合部分，探针，配体或其他生物制剂，其识别前列腺特异性膜抗原的细胞外结构域，或与前列腺特异性膜抗原结合或内化。ŽSOLUTION：这些生物制剂被标记并用于检测癌组织。特别地，生物制剂用于检测接近或含有血管内皮细胞的癌组织，所述血管内皮细胞表达前列腺特异性膜抗原的细胞外结构域。标记的生物制剂也可用于检测正常，良性增生或癌性前列腺上皮细胞或其部分。生物制剂也可单独使用或与有效杀死或消融此类细胞的物质一起使用，作为前列腺或其他癌症的疗法。还公开了四种杂交瘤细胞系，每种细胞系产生识别正常，良性增生和癌性前列腺上皮细胞或其部分的前列腺特异性膜抗原的细胞外结构域的单克隆抗体。Ž

組織	E 99 (γ_2)	J 415 (γ_1)	J 533 (γ_1)	J 591 (γ_1)
前立腺*	●	●	●	●
腎臓				
糸球体	○	○	○	○
尿細胞	■	■	■	■
尿管	○	○	○	○
膀胱	○	○	○	○
精巣	○	○	○	○
子宮	○	○	○	○
食道	○	○	○	○
小腸	○	○	○	○
胃	○	○	○	○
結腸	○	○	○	○
脾臓	○	○	○	○
甲状腺	○	○	○	○
肺	○	○	○	○
すい臓	○	○	○	○
肝臓	○	○	○	○
* B P H	0-3*	0-3*	0-4*	0-4*
前立腺癌	0-3	0-3*	0-4*	0-4*
LNCaP (scid)	3	3*	4*	4*
LuCaP (scid)	0-2	0-2*	0-3*	0-3*