(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2015-521027
(P2015-521027A)
(43)公表日　平成27年7月27日(2015.7.27)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4B064
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4B065
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4C063
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	101	4C072

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 164 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-503644 (P2015-503644)
(86)(22)出願日　平成25年3月29日 (2013.3.29)
(85)翻訳文提出日　平成26年11月28日 (2014.11.28)
(86)国際出願番号　PCT/US2013/034629
(87)国際公開番号　WO2013/149159
(87)国際公開日　平成25年10月3日 (2013.10.3)
(31)優先権主張番号　61/618,232
(32)優先日　平成24年3月30日 (2012.3.30)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/683,048
(32)優先日　平成24年8月14日 (2012.8.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/778,710
(32)優先日　平成25年3月13日 (2013.3.13)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(74)代理人　100109726
弁理士　園田　吉隆
(74)代理人　100101199
弁理士　小林　義教
(72)発明者　ホンゴ，　ジョーアン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　1

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＬＧＲ５抗体および免疫複合体

(57)【要約】
本発明は、抗ＬｇＲ５抗体および免疫複合体ならびにそれらを使用する方法を提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＬｇＲ５に結合する単離抗体であって、前記抗体は、配列番号６７のアミノ酸２２～３２３内または配列番号６７のアミノ酸２２～１２３内のエピトープに結合し、ＬｇＲ５に５ｎＭ以下の親和性で結合する、抗体。
【請求項２】
モノクローナル抗体である、請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体である、請求項１に記載の抗体。
【請求項４】
ＬｇＲ５に結合する抗体断片である、請求項１に記載の抗体。
【請求項５】
ＬｇＲ５は、配列番号６７のヒトＬｇＲ５である、請求項１に記載の抗体。
【請求項６】
前記抗体は、
ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、または、
ｂ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、を含む、請求項１に記載の抗体。
【請求項７】
前記抗体は、
ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、または、
ｂ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、を含む、請求項１に記載の抗体。
【請求項８】
前記抗体は、配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３および、
ａ）配列番号４０の重鎖フレームワークＦＲ３配列、
ｂ）配列番号４１の重鎖フレームワークＦＲ３配列、
ｃ）配列番号４２の重鎖フレームワークＦＲ３配列、または、
ｄ）配列番号４３の重鎖フレームワークＦＲ３配列、を含む、請求項７に記載の抗体。
【請求項９】
前記抗体は、
ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、または、
ｂ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、を含む、請求項７または請求項８に記載の抗体。
【請求項１０】
前記抗体は、
ａ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、または、
ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号５８のアミノ酸配列を含

むＨＶＲ－Ｌ２、および配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、を含む、請求項１に記載の抗体。

【請求項１１】

前記抗体は、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含み、配列番号３５の軽鎖フレームワークＦＲ３配列をさらに含む、請求項９または請求項１０に記載の抗体。

【請求項１２】

前記抗体は、

ａ）配列番号６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｂ）配列番号５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列および（ｂ）にあるようなＶＬ配列、

ｄ）配列番号８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｅ）配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｆ）（ｄ）にあるようなＶＨ配列および（ｅ）にあるようなＶＬ配列、

ｇ）配列番号１０のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｈ）配列番号９のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｉ）（ｇ）にあるようなＶＨ配列および（ｈ）にあるようなＶＬ配列、

ｊ）配列番号１２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｋ）配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｌ）（ｊ）にあるようなＶＨ配列および（ｋ）にあるようなＶＬ配列、

ｍ）配列番号１４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｎ）配列番号１３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｏ）（ｍ）にあるようなＶＨ配列および（ｎ）にあるようなＶＬ配列、

ｐ）配列番号１６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｑ）配列番号１５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｒ）（ｐ）にあるようなＶＨ配列および（ｑ）にあるようなＶＬ配列、

ｓ）配列番号１８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｔ）配列番号１７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｕ）（ｓ）にあるようなＶＨ配列および（ｔ）にあるようなＶＬ配列、

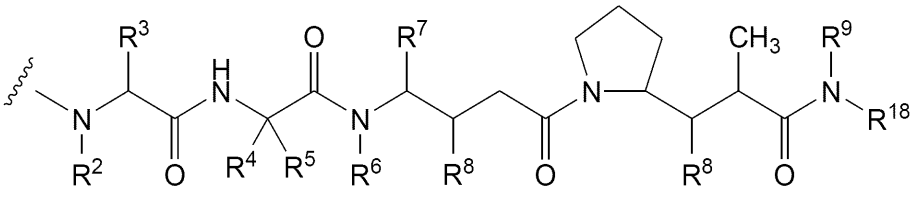
ｖ）配列番号２０のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、

ｗ）配列番号１９のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、

ｘ）（ｖ）にあるようなＶＨ配列および（ｗ）にあるようなＶＬ配列、

ｙ）配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配

列、
ｚ）配列番号２５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または、
ａａ）（ｙ）にあるようなＶＨ配列および（ｚ）にあるようなＶＬ配列、を含む、前述の請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１３】
配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、および２６から選択されるＶＨ配列を含む、請求項１２に記載の抗体。
【請求項１４】
配列番号５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、および２５から選択されるＶＬ配列を含む、請求項１２または請求項１３に記載の抗体。
【請求項１５】
抗体であって、
ａ）配列番号６のＶＨ配列および配列番号５のＶＬ配列、
ｂ）配列番号８のＶＨ配列および配列番号７のＶＬ配列、
ｃ）配列番号１０のＶＨ配列および配列番号９のＶＬ配列、
ｄ）配列番号１２のＶＨ配列および配列番号１１のＶＬ配列、
ｅ）配列番号１４のＶＨ配列および配列番号１３のＶＬ配列、
ｆ）配列番号１６のＶＨ配列および配列番号１５のＶＬ配列、
ｇ）配列番号１８のＶＨ配列および配列番号１７のＶＬ配列、
ｈ）配列番号２０のＶＨ配列および配列番号１９のＶＬ配列、または、
ｉ）配列番号２６のＶＨ配列および配列番号２５のＶＬ配列、を含む、抗体。
【請求項１６】
ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、またはＩｇＧ２ｂ抗体である、請求項１～１５のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１７】
請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体をコードする、単離核酸。
【請求項１８】
請求項１７に記載の核酸を含む、宿主細胞。
【請求項１９】
前記抗体が産生されるように、請求項１８に記載の宿主細胞を培養することを含む、抗体を産生する方法。
【請求項２０】
請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体および細胞傷害性薬剤を含む、免疫複合体。
【請求項２１】
式Ａｂ－（Ｌ－Ｄ）ｐを有し、式中、
（ａ）Ａｂは、請求項１～１５のいずれか１項に記載の抗体であり、
（ｂ）Ｌは、リンカーであり、
（ｃ）Ｄは、メイタンシノイド、オーリスタチン、カリケアミシン、ピロロベンゾジアゼピン、およびネモルビシン（ｎｅｍｏｒｕｂｉｃｉｎ）誘導体から選択される薬物であり、
（ｄ）ｐは、１～８の範囲である、請求項２０に記載の免疫複合体。
【請求項２２】
Ｄは、オーリスタチンである、請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項２３】
Ｄは、式D_E



D_E

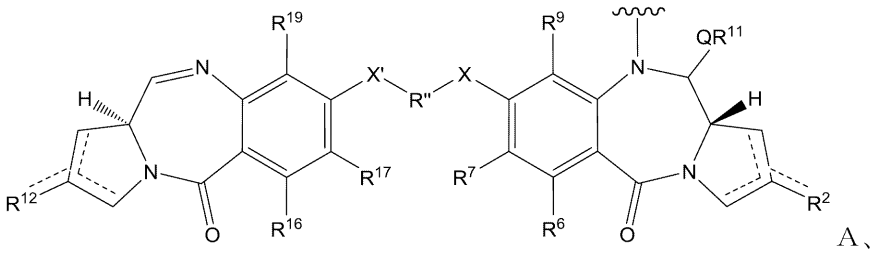
を有し、式中、R^2およびR^6は各々、メチルであり、R^3およびR^4は各々、イソプロピルであり、R^5は、Hであり、R^7は、ｓｅｃ－ブチルであり、各R^8は独立して、CH_3、O－CH_3、OH、およびHから選択され、R^9は、Hであり、R^{18}は、－C（R^8）$_2$－C（R^8）$_2$－アリールである、請求項２２に記載の免疫複合体。

【請求項２４】

前記薬物は、ＭＭＡＥである、請求項２１に記載の免疫複合体。

【請求項２５】

Ｄは、式Ａ、



Ａ、

のピロロベンゾジアゼピンであり、式中、点線は、Ｃ１とＣ２またはＣ２とＣ３との間の二重結合の任意の存在を示し、

R^2は独立して、H、OH、＝O、＝CH_2、CN、R、OR、＝CH－R^D、＝C（R^D）$_2$、O－SO_2－R、CO_2R、およびCORから選択され、任意に、ハロまたはジハロからさらに選択され、R^Dは独立して、R、CO_2R、COR、CHO、CO_2H、およびハロから選択され、

R^6およびR^9は独立して、H、R、OH、OR、SH、SR、NH_2、NHR、NRR’、NO_2、Me_3Sn、およびハロから選択され、

R^7は独立して、H、R、OH、OR、SH、SR、NH_2、NHR、NRR’、NO_2、Me_3Sn、およびハロから選択され、

Ｑは独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮＨから選択され、

R^{11}は、H、もしくはRであるか、または、QがOである場合、SO_3Mであるか、のいずれかであり、式中、Mは、金属陽イオンであり、

RおよびR’は各々独立して、任意に置換されるC_{1-8}アルキル、C_{3-8}ヘテロシクリル、およびC_{5-20}アリール基から選択され、任意に、基NRR’に関して、RおよびR’は、それらが結合する前記窒素原子と一緒に、任意に置換される４、５、６、または７員の複素環式環を形成し、

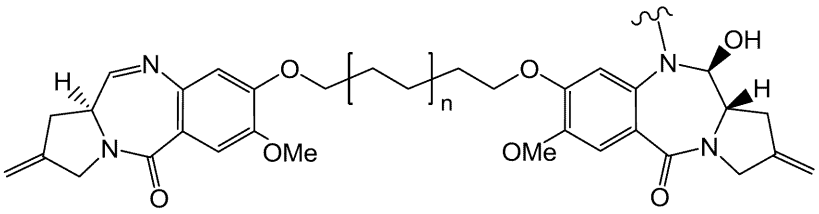
R^{12}、R^{16}、R^{19}、およびR^{17}は、それぞれ、R^2、R^6、R^9、およびR^7について定義される通りであり、

R″は、C_{3-12}アルキレン基であり、その鎖は、任意に置換される１個以上のヘテロ原子および／または芳香族環によって分断され得、

XおよびX’は独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮ（Ｈ）から選択される、請求項２１に記載の免疫複合体。

【請求項２６】

Ｄは、構造、

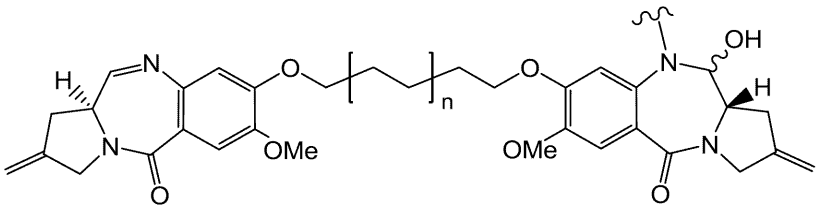


Ａ（ＩＩ）、

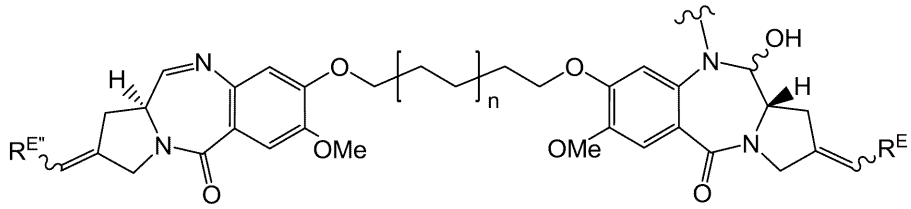
を有し、式中、ｎは、０または１である、請求項２５に記載の免疫複合体。

【請求項２７】

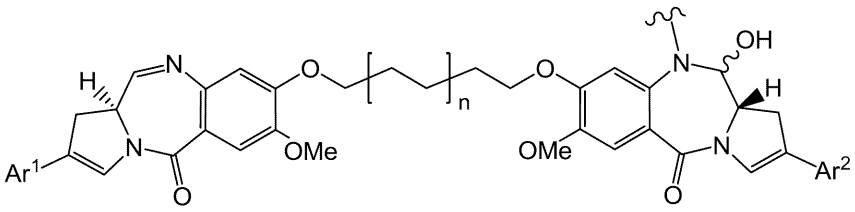
Ｄは、



Ａ（Ｉ）、

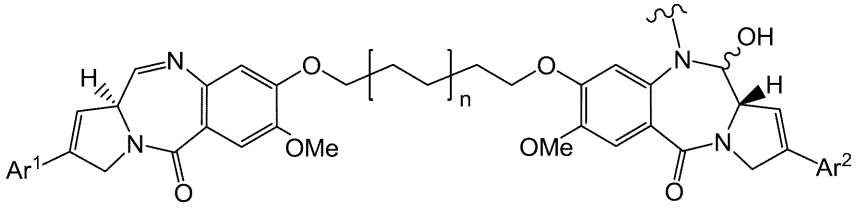


Ａ（ＩＩＩ）、



Ａ(ＩＶ)、

および



Ａ（Ｖ）、

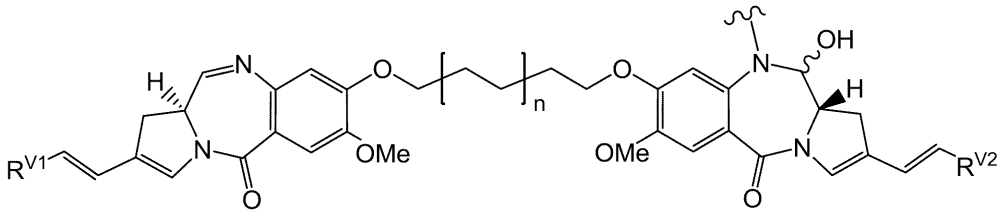
から選択される構造を有し、式中、R^Eおよび$R^{E''}$は各々独立して、ＨまたはR^Dから選択され、式中、R^Dは独立して、Ｒ、CO_2R、ＣＯＲ、ＣＨＯ、CO_2H、およびハロから選択され、

Ar^1およびAr^2は各々独立して、任意に置換されるC_{5-20}アリールであり、

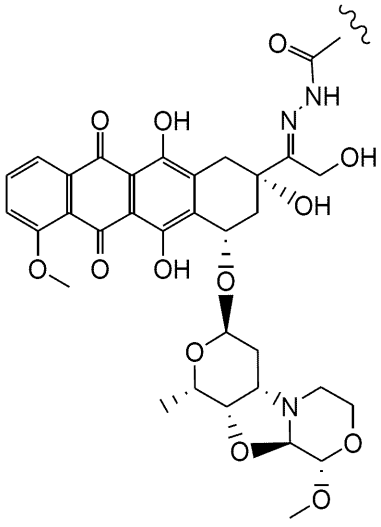
ｎは、０または１である、請求項２５に記載の免疫複合体。

【請求項２８】

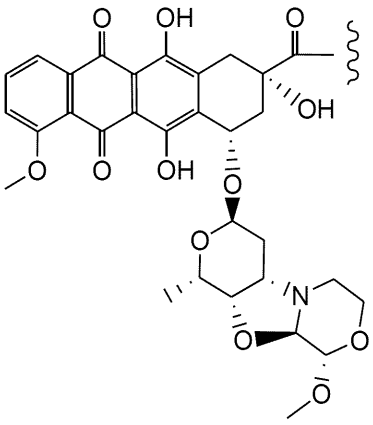
Ｄは、式Ｂ、



のピロロベンゾジアゼピンであり、式中、水平の波線は、リンカーへの共有結合（ａｔｔａｃｈｅｍｅｎｔ）部位を示し、
R^{V1}およびR^{V2}は独立して、Ｈ、メチル、エチル、フェニル、フルオロ置換フェニル、およびC_{5-6}ヘテロシクリルから選択され、
ｎは、０または１である、請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項２９】
Ｄは、ネモルビシン誘導体である、請求項２１に記載の免疫複合体。
【請求項３０】
Ｄは、

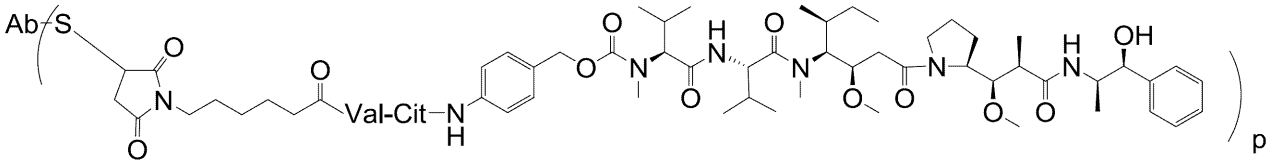


、および

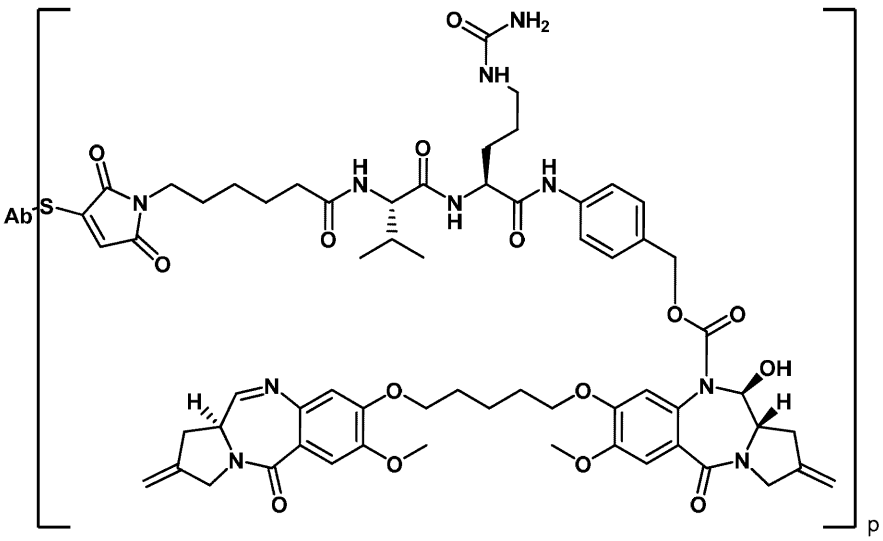


から選択される構造を有する、請求項２９に記載の免疫複合体。
【請求項３１】
前記リンカーは、プロテアーゼによって開裂可能である、請求項２１～３０のいずれか１項に記載の免疫複合体。
【請求項３２】
前記リンカーは、ｖａｌ－ｃｉｔジペプチドまたはＰｈｅ－Ｌｙｓジペプチドを含む、

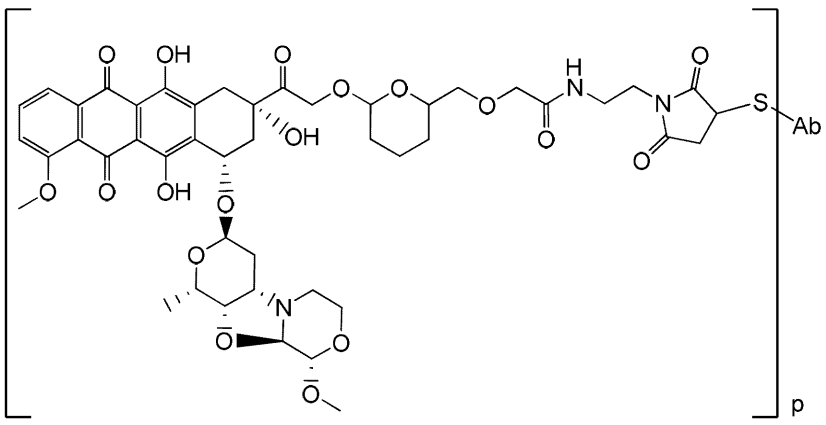
請求項３１に記載の免疫複合体。
【請求項３３】
前記リンカーは、酸不安定性である、請求項２１～３０のいずれか１項に記載の免疫複合体。
【請求項３４】
前記リンカーは、ヒドラゾンを含む、請求項３３に記載の免疫複合体。
【請求項３５】
式、



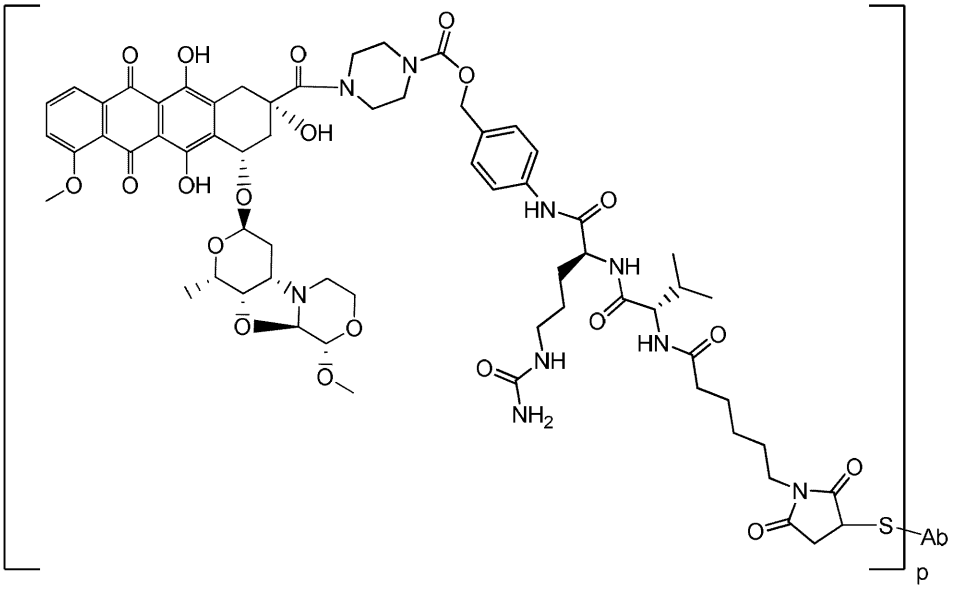
を有し、式中、Ｓは、硫黄原子である、請求項２３に記載の免疫複合体。
【請求項３６】
式、

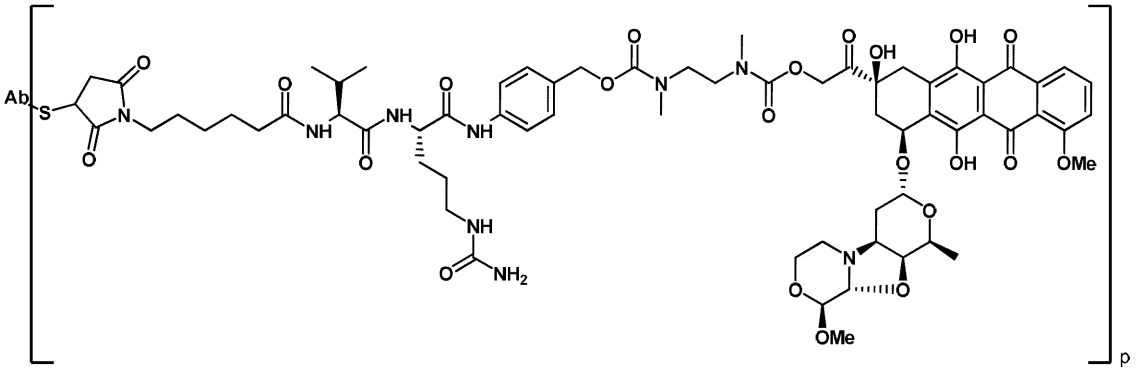


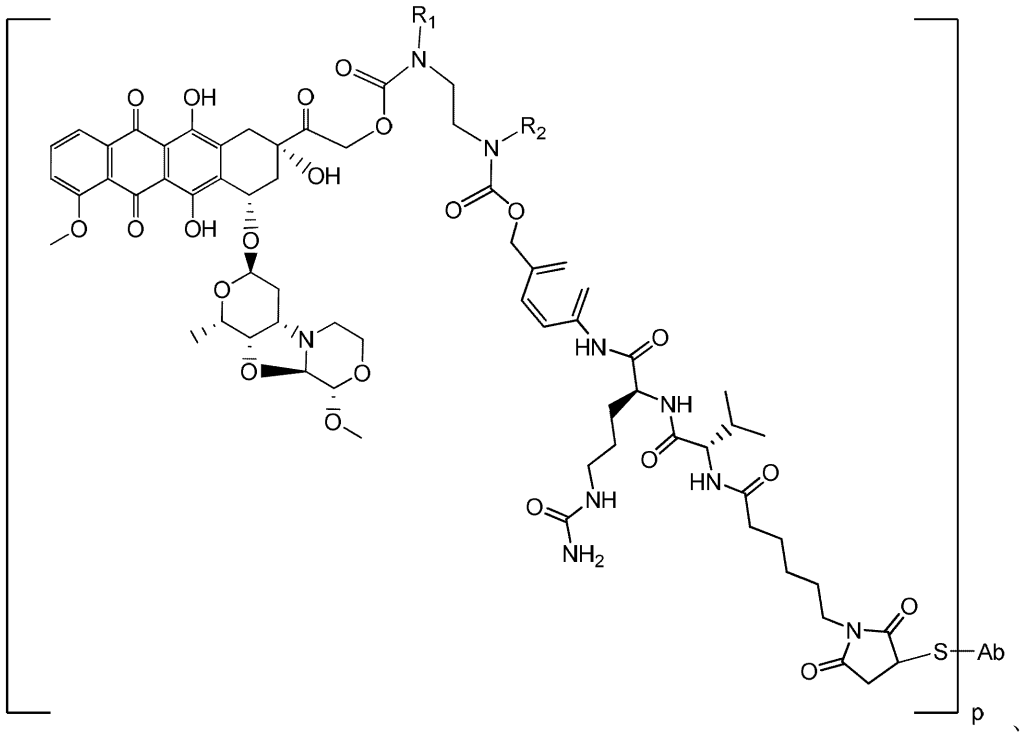
を有する、請求項２６に記載の免疫複合体。
【請求項３７】



、

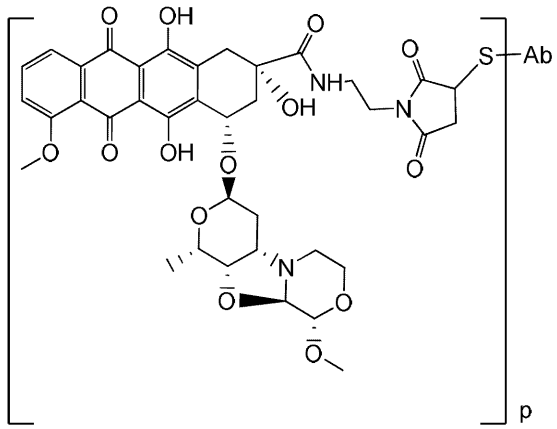






、

および



から選択される式を有する、請求項３０に記載の免疫複合体。

【請求項３８】

ｐは、２～５の範囲である、請求項２１～３７のいずれか１項に記載の免疫複合体。

【請求項３９】

請求項９に記載の抗体を含む、請求項２１～３８のいずれか１項に記載の免疫複合体。

【請求項４０】

請求項１５に記載の抗体を含む、請求項２１～３８のいずれか１項に記載の免疫複合体。

【請求項４１】

請求項２１～４０のいずれか１項に記載の免疫複合体、および薬剤的に許容される担体を含む、医薬製剤。

【請求項４２】

追加の治療剤をさらに含む、請求項４１に記載の医薬製剤。

【請求項４３】

前記追加の治療剤は、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）である、請求項４

２に記載の医薬製剤。
【請求項４４】
ＬｇＲ５陽性がんを有する個体を治療する方法であって、前記方法は、前記個体に、有効量の、請求項２１～４０のいずれか１項に記載の免疫複合体を投与することを含む、方法。
【請求項４５】
前記ＬｇＲ５陽性がんは、結腸直腸がん、膵臓がん、卵巣がん、および子宮内膜がんから選択される、請求項４４に記載の方法。
【請求項４６】
追加の治療剤を個体に投与することをさらに含む、請求項４５に記載の方法。
【請求項４７】
前記追加の治療剤は、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）である、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
ＬｇＲ５陽性細胞の増殖を阻害する方法であって、前記方法は、前記細胞を、請求項２１～４０のいずれか１項に記載の免疫複合体に、前記細胞の表面上のＬｇＲ５への前記免疫複合体の結合を許容する条件下で曝露し、それによって前記細胞の増殖を阻害することを含む、方法。
【請求項４９】
前記細胞は、結腸直腸、膵臓、卵巣、または子宮内膜がん細胞である、請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
標識に複合される、請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項５１】
前記標識は、陽電子放出体である、請求項５０に記載の抗体。
【請求項５２】
前記陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである、請求項５１に記載の抗体。
【請求項５３】
生体試料中のヒトＬｇＲ５を検出する方法であって、前記生体試料を、請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗ＬｇＲ５抗体と、自然発生ヒトＬｇＲ５への前記抗ＬｇＲ５抗体の結合を許容する条件下で接触させることと、複合体が、前記生体試料中で、前記抗ＬｇＲ５抗体と自然発生ヒトＬｇＲ５との間で形成されるかどうかを検出することと、を含む、方法。
【請求項５４】
前記抗ＬｇＲ５抗体は、請求項９または請求項１５にあるような抗体である、請求項５３に記載の方法。
【請求項５５】
前記生体試料は、結腸直腸がん試料、膵臓がん試料、卵巣がん試料、または子宮内膜がん試料である、請求項５３に記載の方法。
【請求項５６】
ＬｇＲ５陽性がんを検出するための方法であって、（ｉ）標識された抗ＬｇＲ５抗体を、ＬｇＲ５陽性がんを有するかまたはそれを有することが疑われる対象に投与することであって、前記標識された抗ＬｇＲ５抗体は、請求項１～１６のいずれか１項に記載の前記抗ＬｇＲ５抗体を含む、投与することと、（ｉｉ）前記対象において前記標識された抗ＬｇＲ５抗体を検出することであって、前記標識された抗ＬｇＲ５抗体の検出は、前記対象におけるＬｇＲ５陽性がんを示す、検出することと、を含む、方法。
【請求項５７】
前記標識された抗ＬｇＲ５抗体は、標識されている、請求項８または請求項１４にあるような抗体である、請求項５６に記載の方法。
【請求項５８】

前記標識された抗ＬｇＲ５抗体は、陽電子放出体に複合された抗ＬｇＲ５抗体を含む、請求項５６または請求項５７に記載の方法。

【請求項５９】

前記陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである、請求項５８に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、抗ＬｇＲ５抗体および免疫複合体ならびにそれらを使用する方法に関する。

【背景技術】

【０００２】

ロイシンリッチ反復含有Ｇタンパク質共役型受容体５（ＬｇＲ５）は、活性に細胞分裂している（ｃｙｃｌｉｎｇ）腸幹細胞（ＩＳＣ）の表面上で見出される、７回膜貫通タンパク質である。ＬｇＲ５発現ＩＳＣは、Ｗｎｔ調節に感受性があり、主に、腸上皮の恒常性の再生に関与する。しかしながら、マウスにおけるＬｇＲ５発現細胞の排除は、腸上皮の恒常性に影響せず、これは他の細胞型がこの細胞集団の喪失を補償し得ることを示唆している。Ｔｉａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ４７８：２５５－２５９（２０１１）。Ｒ－スポンジンは、ＷＮＴ３ＡによるＷＮＴシグナル伝達を増強し、全ての４つのＲ－スポンジン（ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、およびＲＳＰＯ４）が、ＬｇＲ５に結合可能である。Ｌａｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ４７６：２９３－２９７（２０１１）。

【０００３】

ヒトＬｇＲ５は、９０７アミノ酸タンパク質であり、このうち約５４０個のアミノ酸が、アミノ末端シグナル配列の開裂後に細胞外空間にあることが予測される。ＬｇＲ５は、エクトドメインにおける１７個の不完全なロイシンリッチ反復モチーフ、およびロイシンリッチ反復と第１の膜貫通ドメインとの間に位置するシステインリッチ領域を含む。

【０００４】

当該技術分野において、がん等のＬｇＲ５関連常態の診断および治療のために、ＬｇＲ５を標的とする薬剤に対する必要性が存在する。本発明はその必要性を満たし、また他の便益を提供する。

【発明の概要】

【０００５】

本発明は、抗ＬｇＲ５抗体および免疫複合体ならびにそれらを使用する方法を提供する。

【０００６】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する単離抗体が提供される。いくつかの実施形態において、本抗体は、任意の組み合わせで、次の特性のうちの少なくとも１つ以上を有する：（ａ）配列番号６７のアミノ酸２２～５５５内のエピトープに結合する、および／または配列番号６７のアミノ酸２２～１２３内のエピトープに結合する、および／または配列番号６７のアミノ酸２２～３２３内のエピトープに結合する、および／または配列番号６７のアミノ酸２２～４２４内のエピトープに結合する、および／または配列番号６７のアミノ酸３２４～５５５内のエピトープに結合する、および／または配列番号６７のアミノ酸３２４～４２４内のエピトープに結合する、（ｂ）ＬｇＲ５に、５ｎＭ以下、または４ｎＭ以下、または３ｎＭ以下、または２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、および任意に、０．０００１ｎＭ以上、または０．００１ｎＭ以上、または０．０１ｎＭ以上の親和性で結合する、（ｃ）ＬｇＲ５へのＲ－スポンジン（ＲＳＰＯ）の結合を有意に妨害しない、（ｄ）β－カテニンシグナル伝達を有意に妨害しない、（ｅ）ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を有意に妨害しない、（ｆ）カスパーゼ３開裂を活性化する、（ｇ）ヒトＬｇＲ５および齧歯類ＬｇＲ５の両方を認識する、（ｈ）ヒトＬｇＲ５を認識するが、齧歯類ＬｇＲ５を認識しない、（ｉ）その複合されていない形態で腫瘍成長を有意に阻害しない、ならびに（ｊ）幹細胞分化を誘導しない。

【０００７】
いくつかの実施形態において、単離抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号６７のアミノ酸２２～３２３内のエピトープに、５ｎＭ以下、または４ｎＭ以下、または３ｎＭ以下、または２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、および任意に、０．０００１ｎＭ以上、または０．００１ｎＭ以上、または０．０１ｎＭ以上の親和性で結合する。
【０００８】
いくつかの実施形態において、単離抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号６７のアミノ酸２２～１２３内のエピトープに、５ｎＭ以下、または４ｎＭ以下、または３ｎＭ以下、または２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、および任意に、０．０００１ｎＭ以上、または０．００１ｎＭ以上、または０．０１ｎＭ以上の親和性で結合する。
【０００９】
いくつかの実施形態において、単離抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号６７のアミノ酸３２４～４２４内のエピトープに、５ｎＭ以下、または４ｎＭ以下、または３ｎＭ以下、または２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、および任意に、０．０００１ｎＭ以上、または０．００１ｎＭ以上、または０．０１ｎＭ以上の親和性で結合する。
【００１０】
単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５へのＲ－スポンジン（ＲＳＰＯ）の結合を有意に妨害しない。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ｗｎｔ／β－カテニンシグナル伝達を有意に妨害しない。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を有意に妨害しない。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、カスパーゼ３開裂を活性化する。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒトＬｇＲ５および齧歯類ＬｇＲ５の両方を認識する。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒトＬｇＲ５を認識するが、齧歯類ＬｇＲ５を認識しない。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、その複合されていない形態で腫瘍成長を有意に阻害しない。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、幹細胞分化を誘導しない。
【００１１】
単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、モノクローナル抗体である。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体である。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、またはＩｇＧ２ｂ抗体である。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する抗体断片である。単離抗ＬｇＲ５抗体のうちの任意のもののいくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、配列番号６７のヒトＬｇＲ５である。
【００１２】
いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、配列番号６７のアミノ酸２２～３２３内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本抗体は、ＬｇＲ５に５ｎＭ以下の親和性で結合する。いくつかの実施形態において、本抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラ抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、またはＩｇＧ２ｂ抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、ＬｇＲ５に結合する抗体断片である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、配列番号６７のヒトＬｇＲ５である。
【００１３】
いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨ

ＶＲ－Ｈ３、（ｂ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および（ｃ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号４１の重鎖フレームワークＦＲ３配列をさらに含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３をさらに含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号３５の軽鎖フレームワークＦＲ３配列をさらに含む。

【００１４】

いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、または（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列および（ｂ）にあるようなＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号８のＶＨ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号７のＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、配列番号８のＶＨ配列および配列番号７のＶＬ配列を含む。

【００１５】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、（ａ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｂ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および（ｃ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３をさらに含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００１６】

いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号２４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、または（ｂ）配列番号２３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列および（ｂ）にあるようなＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号２４のＶＨ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号２３のＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、配列番号２４のＶＨ配列および配列番号２３のＶＬ配列を含む。

【００１７】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、（ａ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｂ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および（ｃ）配列番号４９５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３をさらに含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号４５のアミノ酸配列を含む

ＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００１８】

いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号２２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、または（ｂ）配列番号２１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列および（ｂ）にあるようなＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号２２のＶＨ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号２１のＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、配列番号２２のＶＨ配列および配列番号２１のＶＬ配列を含む。

【００１９】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、（ａ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｂ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および（ｃ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３をさらに含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００２０】

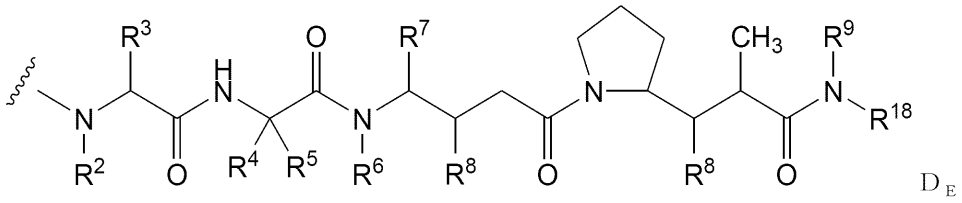
いくつかの実施形態において、単離抗体は、（ａ）配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、または（ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列および（ｂ）にあるようなＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号２６のＶＨ配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号２５のＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、単離抗体は、配列番号２６のＶＨ配列および配列番号２５のＶＬ配列を含む。

【００２１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体をコードする単離核酸が提供される。いくつかの実施形態において、核酸を含む宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体を産生する方法が提供される。いくつかの実施形態において、本方法は、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含む。

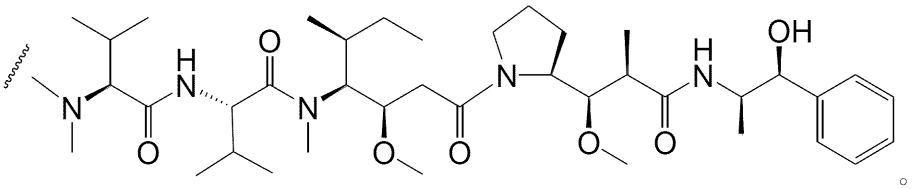
【００２２】

いくつかの実施形態において、免疫複合体が提供される。いくつかの実施形態において、免疫複合体は、抗ＬｇＲ５抗体および細胞傷害性薬剤を含む。いくつかの実施形態において、免疫複合体は、式Ａｂ－（Ｌ－Ｄ）ｐを有し、式中、（ａ）Ａｂは、本明細書に記載される抗体であり、（ｂ）Ｌは、リンカーであり、（ｃ）Ｄは、メイタンシノイド、オーリスタチン、カリケアミシン、ピロロベンゾジアゼピン、およびネモルビシン（ｎｅｍｏｒｕｂｉｃｉｎ）誘導体から選択される薬物であり、（ｄ）ｐは、１～８の範囲である。いくつかの実施形態において、Ｄは、オーリスタチンである。いくつかのかかる実施形態において、Ｄは、式D_E



Ｄ$_E$

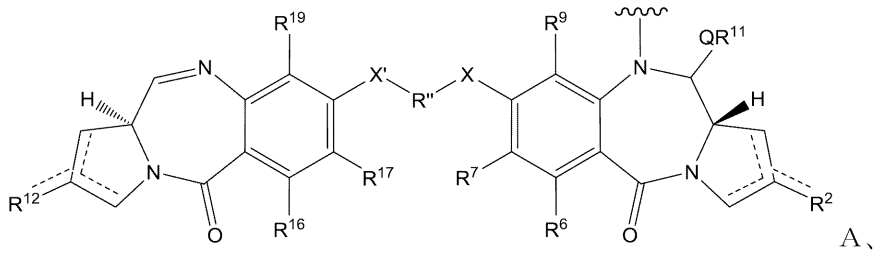
を有し、式中、Ｒ^{2}およびＲ^{6}は各々、メチルであり、Ｒ^{3}およびＲ^{4}は各々、イソプロピルであり、Ｒ^{5}は、Ｈであり、Ｒ^{7}は、ｓｅｃ－ブチルであり、各Ｒ^{8}は独立して、ＣＨ$_3$、Ｏ－ＣＨ$_3$、ＯＨ、およびＨから選択され、Ｒ^{9}は、Ｈであり、Ｒ^{18}は、－Ｃ（Ｒ^8）$_2$－Ｃ（Ｒ^8）$_2$－アリールである。いくつかの実施形態において、Ｄは、次の構造を有するＭＭＡＥである：



。

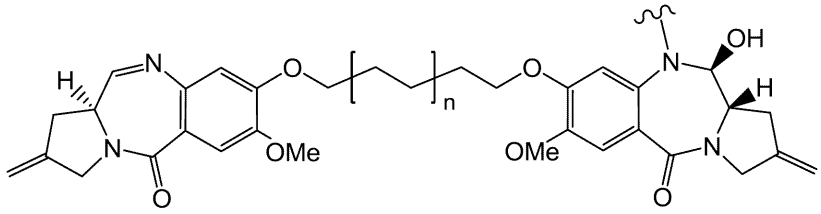
【００２３】

いくつかの実施形態において、Ｄは、式Ａ、



Ａ、

のピロロベンゾジアゼピンであり、式中、点線は、Ｃ１とＣ２またはＣ２とＣ３との間の二重結合の任意の存在を示し、Ｒ^{2}は独立して、Ｈ、ＯＨ、＝Ｏ、＝ＣＨ$_2$、ＣＮ、Ｒ、ＯＲ、＝ＣＨ－Ｒ^D、＝Ｃ（Ｒ^D）$_2$、Ｏ－ＳＯ$_2$－Ｒ、ＣＯ$_2$Ｒ、およびＣＯＲから選択され、任意に、ハロまたはジハロからさらに選択され、式中、Ｒ^{D}は独立して、Ｒ、ＣＯ$_2$Ｒ、ＣＯＲ、ＣＨＯ、ＣＯ$_2$Ｈ、およびハロから選択され、Ｒ^{6}およびＲ^{9}は独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、ＮＨ$_2$、ＮＨＲ、ＮＲＲ’、ＮＯ$_2$、Ｍｅ$_3$Ｓｎ、およびハロから選択され、Ｒ^{7}は独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、ＮＨ$_2$、ＮＨＲ、ＮＲＲ’、ＮＯ$_2$、Ｍｅ$_3$Ｓｎ、およびハロから選択され、Ｑは独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮＨから選択され、Ｒ^{11}は、Ｈ、もしくはＲであるか、または、ＱがＯである場合、ＳＯ$_3$Ｍであるか、のいずれかであり、式中、Ｍは、金属陽イオンであり、ＲおよびＲ’は各々独立して、任意に置換されるＣ$_{1-8}$アルキル、Ｃ$_{1-12}$アルキル、Ｃ$_{3-8}$ヘテロシクリル、Ｃ$_{3-20}$ヘテロシクリル、およびＣ$_{5-20}$アリール基から選択され、任意に、基ＮＲＲ’に関して、ＲおよびＲ’は、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４、５、６、または７員の複素環式環を形成し、Ｒ^{12}、Ｒ^{16}、Ｒ^{19}およびＲ^{17}は、それぞれ、Ｒ^2、Ｒ^6、Ｒ^{9}およびＲ^{7}について定義される通りであり、Ｒ″は、Ｃ$_{3-12}$アルキレン基であり、その鎖は、任意に置換される１個以上のヘテロ原子および／または芳香族環によって分断され得、ＸおよびＸ’は独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮ（Ｈ）から選択される。いくつかのかかる実施形態において、Ｄは、

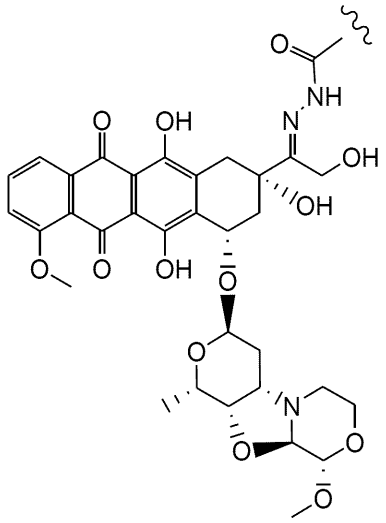


、

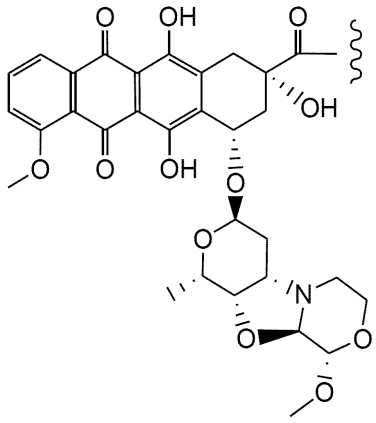
であり、式中、ｎは、０または１である。

【００２４】

いくつかの実施形態において、Ｄは、ネモルビシン誘導体である。いくつかの実施形態において、Ｄは、



、および



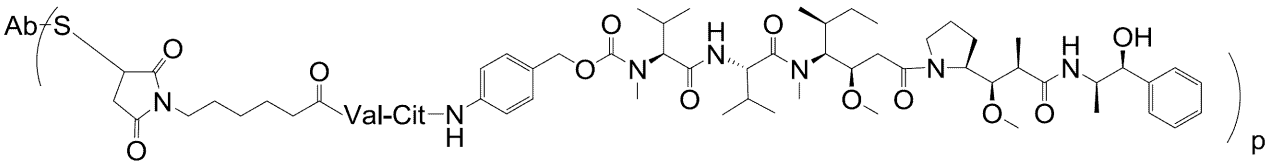
から選択される構造を有する。

【００２５】

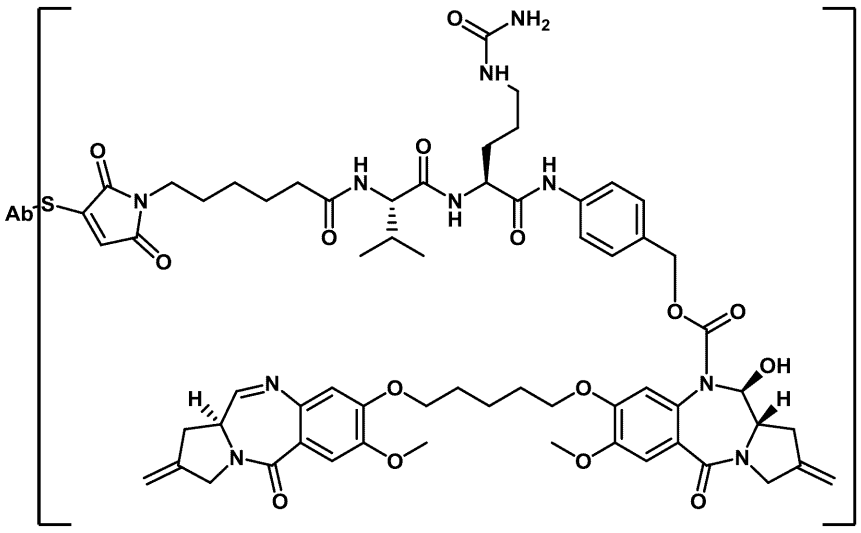
いくつかの実施形態において、免疫複合体は、プロテアーゼによって開裂可能であるリンカーを含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、ｖａｌ－ｃｉｔジペプチドまたはＰｈｅ－Ｌｙｓジペプチドを含む。いくつかの実施形態において、免疫複合体は、酸不安定性であるリンカーを含む。いくつかのかかる実施形態において、リンカーは、ヒドラゾンを含む。

【００２６】

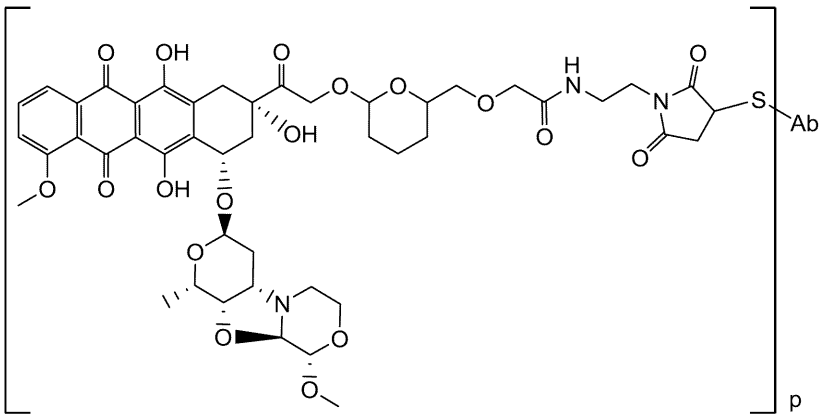
いくつかの実施形態において、免疫複合体は、



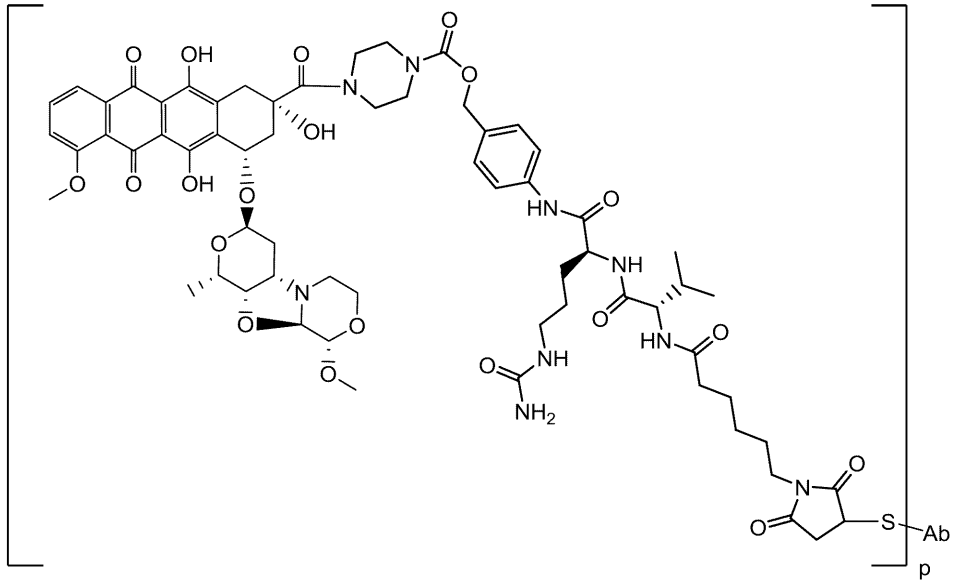
から選択される式を有し、式中、Ｓは、硫黄原子であり、



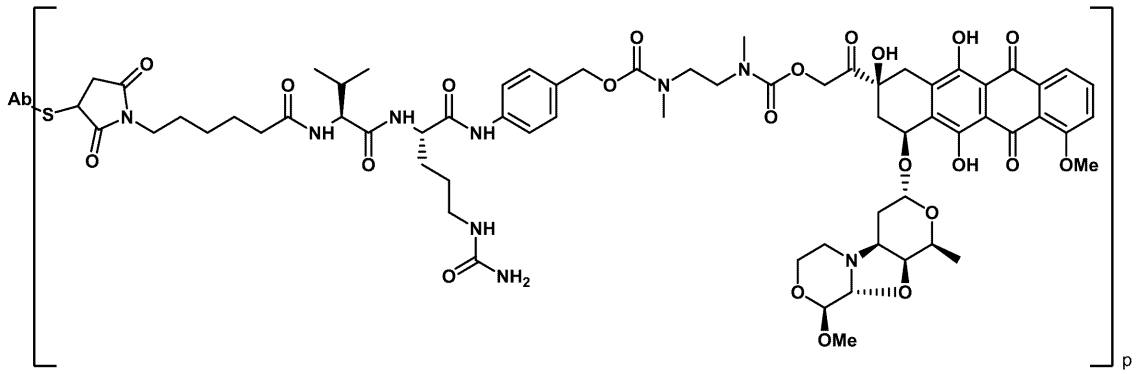
、



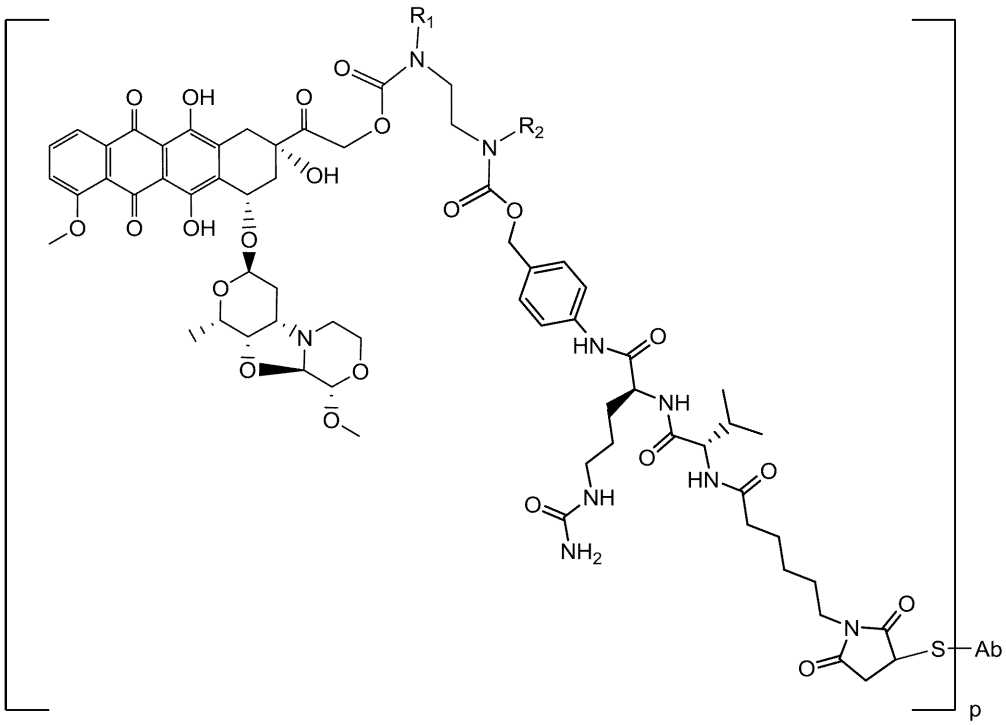
、



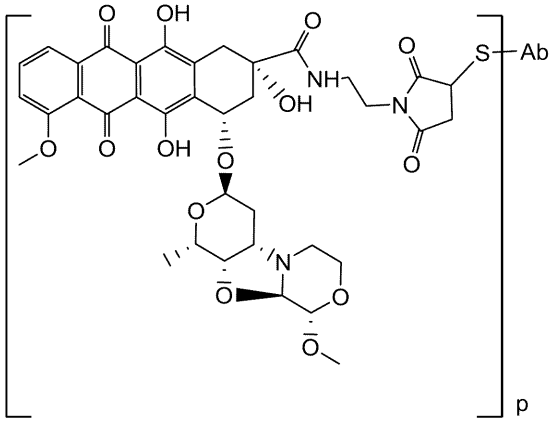
、



、



、および



である。

いくつかの実施形態において、ｐは、２～５の範囲である。

【００２７】

いくつかの実施形態において、免疫複合体は、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、抗体を含む。いくつかの実施形態において、免疫複合体は、配列番号８のＶＨ配列および配列番号７のＶＬ配列を含む、抗体を含む。

【００２８】

いくつかの実施形態において、医薬製剤が提供される。いくつかのかかる実施形態において、医薬製剤は、例えば、本明細書に記載される、ＬｇＲ５に結合する抗体を含む、免疫複合体を含む。いくつかの実施形態において、医薬製剤は、追加の治療剤をさらに含む

。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）である。

【００２９】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんを有する個体を治療する方法が提供される。いくつかのかかる実施形態において、本方法は、例えば、本明細書に記載される、ＬｇＲ５に結合する抗体を含む免疫複合体を含む、医薬製剤を投与することを含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、結腸直腸がん、膵臓がん、卵巣がん、および子宮内膜がんから選択される。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、小腸がんである。いくつかの実施形態において、小腸がんは、十二指腸、空腸、および／または腸骨（ｉｌｉｕｍ）のがんである。いくつかの実施形態において、小腸がんは、空腸および／または腸骨（ｉｌｉｕｍ）のがんである。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、Ｋｒａｓ突然変異、ＡＰＣ突然変異、またはＫｒａｓ突然変異およびＡＰＣ突然変異の両方（例えば、がん細胞のうちの少なくとも一部分において）を含む。いくつかの実施形態において、本方法は、追加の治療剤を個体に投与することを含む。いくつかのかかる実施形態において、追加の治療剤は、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）である。

【００３０】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性細胞の増殖を阻害する方法が提供される。いくつかの実施形態において、細胞を、ＬｇＲ５に結合する抗体を含む免疫複合体に、細胞の表面上のＬｇＲ５への免疫複合体の結合を許容する条件下で曝露することを含む、方法。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、本明細書に記載される抗体である。いくつかの実施形態において、細胞の増殖がそれによって阻害される。いくつかの実施形態において、細胞は、結腸直腸、小腸、膵臓、卵巣、または子宮内膜がん細胞である。

【００３１】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、標識に複合される。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、本明細書に記載される抗体である。いくつかの実施形態において、標識は、陽電子放出体である。いくつかの実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【００３２】

いくつかの実施形態において、生体試料中のヒトＬｇＲ５を検出する方法が提供される。いくつかの実施形態において、本方法は、生体試料を、抗ＬｇＲ５抗体と、自然発生ヒトＬｇＲ５への抗ＬｇＲ５抗体の結合を許容する条件下で接触させることと、複合体が、生体試料中で、抗ＬｇＲ５抗体と自然発生ヒトＬｇＲ５との間で形成されるかどうかを検出することとを含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、本明細書に記載される抗体である。いくつかの実施形態において、生体試料は、結腸直腸がん試料、小腸がん試料、膵臓がん試料、卵巣がん試料、または子宮内膜がん試料である。

【００３３】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんを検出するための方法が提供される。いくつかのかかる実施形態において、本方法は、（ｉ）標識された抗ＬｇＲ５抗体を、ＬｇＲ５陽性がんを有するかまたはそれを有することが疑われる対象に投与することと、（ｉｉ）対象において標識された抗ＬｇＲ５抗体を検出することとを含み、その標識された抗ＬｇＲ５抗体の検出は、対象におけるＬｇＲ５陽性がんを示す。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、本明細書に記載される抗体である。

【図面の簡単な説明】

【００３４】

【図１】実施例Ａに記載される、種々の組織におけるヒトＬｇＲ５遺伝子発現のレベルのグラフ表示を示す。図１における挿入図は、実施例Ａに記載される、正常な結腸組織および結腸腫瘍におけるヒトＬｇＲ５遺伝子発現のレベルのグラフ表示を示す。

【図２】実施例Ｂに記載される、インサイツハイブリダイゼーションによる結腸腫瘍にお

けるＬｇＲ５の発現を示す。
【図３】実施例Ｂに記載される、双方ともインサイツハイブリダイゼーションによって決定される、（Ａ）結腸腫瘍組織マイクロアレイにおける種々のレベルのＬｇＲ５発現の有病率、および（Ｂ）各結腸直腸腺がん試料からの３つのコアにおけるＬｇＲ５発現の不均一性を示す。
【図４】実施例Ｃ～Ｆに記載されるように発達させられた、ある特定の抗ＬｇＲ５モノクローナル抗体の特性を示す。
【図５】マウス抗体ｍｕ８Ｅ１１およびそのヒト化変異体（ｈｕ８Ｅ１１．ｖ１～ｈｕ８Ｅ１１．ｖ８）の軽鎖可変領域配列のアライメントを示す。３つの超可変領域（ＨＶＲ：ＨＶＲ１、ＨＶＲ２、ＨＶＲ３）は、配列における囲みによって示される。
【図６】マウス抗体ｍｕ８Ｅ１１およびそのヒト化変異体（ｈｕ８Ｅ１１．ｖ１～ｈｕ８Ｅ１１．ｖ８）の重鎖可変領域配列のアライメントを示す。３つの超可変領域（ＨＶＲ：ＨＶＲ１、ＨＶＲ２、ＨＶＲ３）は、配列における囲みによって示される。
【図７】マウス抗体３Ｇ１２および２Ｈ６の軽鎖可変領域配列を示す。３つの超可変領域（ＨＶＲ：ＨＶＲ１、ＨＶＲ２、ＨＶＲ３）は、配列における囲みによって示される。
【図８】マウス抗体３Ｇ１２および２Ｈ６の重鎖可変領域配列を示す。３つの超可変領域（ＨＶＲ：ＨＶＲ１、ＨＶＲ２、ＨＶＲ３）は、配列における囲みによって示される。
【図９】実施例Ｅに記載される、キメラ抗体ｃｈ８Ｅ１１および種々のヒト化変異体の親和性測定を示す。
【図１０】ヒト抗体ＹＷ３５３の軽鎖可変領域配列を示す。３つの超可変領域（ＨＶＲ：ＨＶＲ１、ＨＶＲ２、ＨＶＲ３）は、配列における囲みによって示される。
【図１１】ヒト抗体ＹＷ３５３の重鎖可変領域配列を示す。３つの超可変領域（ＨＶＲ：ＨＶＲ１、ＨＶＲ２、ＨＶＲ３）は、配列における囲みによって示される。
【図１２Ａ】ヒト、カニクイザル、ラット、およびマウス由来のＬｇＲ５のアライメントを示す。
【図１２Ｂ】ヒト、カニクイザル、ラット、およびマウス由来のＬｇＲ５のアライメントを示す。
【図１２Ｃ】ヒト、カニクイザル、ラット、およびマウス由来のＬｇＲ５のアライメントを示す。
【図１３】実施例Ｌに記載されるように、抗ＬｇＲ５免疫複合体が、ＬｏＶｏ結腸がん異種移植片において有効性を実証することを示す。
【図１４】実施例Ｍに記載されるように、抗ＬｇＲ５免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において有効性を実証することを示す。
【図１５】実施例Ｍに記載されるように、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において３、６、および１２ｍｇ／ｋｇで有効性を実証することを示す。
【図１６】実施例Ｎに記載される、ＡＶおよびＡＫＶマウスの結腸からの正常な組織およびポリープにおけるＬｇＲ５　ｍＲＮＡ発現を示す。
【図１７】実施例Ｎに記載されるように、抗ＬｇＲ５抗体および抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体を投与されたＡＫＶマウスの生存期間が、対照ＡＫＶマウスよりも長い生存時間を有することを示す。
【図１８】実施例Ｎに記載される、対照ＡＤＣ、抗ＬｇＲ５　ＡＤＣ、または抗ＬｇＲ５抗体を投与されたＡＫＶマウスにおける、切断型カスパーゼ３に対して陽性である、腫瘍面積の割合を示す。
【図１９】実施例Ｎに記載されるように、抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体を投与されたＡＫＶマウスが、無処置のＡＫＶマウスおよびｇｐ１２０－ＡＤＣまたは抗ＬｇＲ５を投与されたＡＫＶマウスよりも長い生存時間を有することを示す。
【図２０】実施例Ｎに記載される、ＡＫＶＬｇＲ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスの小腸ポリープおよび結腸ポリープにおけるＬｇＲ５＋面積を示す。
【図２１】実施例Ｎに記載される、（Ａ）対照ＡＤＣおよび抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ処置ＡＫ

ＶＬｇＲ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスにおける、１細胞面積当たりのＣＣ３＋ＧＦＰ＋面積、ならびに（Ｂ）対照ＡＤＣおよび抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ処置ＡＫＶＬｇＲ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスにおける、例となる免疫組織化学染色を示す。

【図２２】実施例Ｎに記載される、対照ＡＤＣおよび抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ治療ＡＫＶＬｇＲ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスにおける、１細胞面積（ＧＦＰ＋細胞またはＧＦＰ－細胞のいずれか）当たりのＫｉ６７＋面積を示す。

【図２３】実施例Ｎに記載される、ＡＫＶＬｇＲ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスの陰窩および腫瘍におけるＧＦＰ強度対ＧＦＰ＋面積の比率を示す。

【図２４】実施例Ｏに記載されるように、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ、およびｃｈ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図２５】実施例Ｏに記載されるように、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図２６】実施例Ｐに記載されるように、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥおよびｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体が、ＬｏＶｏＸ１．１結腸がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図２７】実施例Ｐに記載されるように、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体が、ＬｏＶｏＸ１．１結腸がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図２８】実施例Ｑに記載されるように、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ、ｈｕＹＷ３５３－アセタール－ＰＮＵ、およびｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＮＵ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図２９】実施例Ｒに記載されるように、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵ、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＮＵ、およびｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ＰＮＵ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において実証することを示す。

【図３０】実施例Ｓに記載される、ＬｏＶｏＸ１．１結腸がん異種移植片におけるある特定のｈｕ８Ｅ１１ｖ２免疫複合体および対照抗体免疫複合体の投与の結果を示す。

【図３１】実施例Ｓに記載されるように、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵ免疫複合体は、過剰の対照抗体を同時投与された（ｃｏａｄｍｉｎｓｔｅｒｅｄ）マウスにおけるＬｏＶｏＸ１．１結腸がん異種移植片において有効性を実証する。

【図３２】実施例Ｔに記載されるように、抗ＬｇＲ５　ｈｕＹＷ３５３　ＰＢＤ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図３３】実施例Ｔに記載されるように、抗ＬｇＲ５　ｈｕ８Ｅ１１ｖ２　ＰＢＤ免疫複合体が、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図３４】実施例Ｕに記載されるように、抗ＬｇＲ５　ｈｕ８Ｅ１１ｖ２　ＰＢＤ免疫複合体が、ＬｏＶｏＸ１．１結腸（ｃｏｌｏｎｇ）異種移植片において有効性を実証することを示す。

【図３５－１】（Ａ）抗体－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体、（Ｂ）抗体－アセタール－ＰＮＵ免疫複合体、（Ｃ）抗体－アセタール－ＰＮＵ免疫複合体、（Ｄ）抗体－ＰＮＵ免疫複合体、および（Ｅ）抗体－ｖｃＰＢＤ免疫複合体の構造を示す。

【図３５－２】（Ａ）抗体－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体、（Ｂ）抗体－アセタール－ＰＮＵ免疫複合体、（Ｃ）抗体－アセタール－ＰＮＵ免疫複合体、（Ｄ）抗体－ＰＮＵ免疫複合体、および（Ｅ）抗体－ｖｃＰＢＤ免疫複合体の構造を示す。

【発明を実施するための形態】

【００３５】

Ｉ．　定義

本明細書における目的のために、「アクセプターヒトフレームワーク」は、下に記載される、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（ＶＨ）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワー

クは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはそれは、アミノ酸配列変化を含有し得る。いくつかの実施形態において、アミノ酸変化の数は、１０以下、９以下、８以下、７以下、６以下、５以下、４以下、３以下、または２以下である。いくつかの実施形態において、ＶＬアクセプターヒトフレームワークは、配列において、ＶＬヒト免役グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

【００３６】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、総計の非共有相互作用の強度を指す。別途指定されない限り、本明細書で使用されるとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体および抗原）間の１：１の相互作用を反映する、固有結合親和性を指す。分子Ｘの、そのパートナーＹに対する親和性は、一般に、解離定数（Ｋｄ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例示説明および例となる実施形態が、以下に記載される。

【００３７】

「親和性成熟」抗体は、変化を有しない親抗体と比較して、１つ以上の超可変領域（ＨＶＲ）において１つ以上の変化を有し、かかる変化が抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらす、抗体を指す。

【００３８】

「抗ＬｇＲ５抗体」および「ＬｇＲ５に結合する抗体」という用語は、抗体が、診断剤および／または治療剤として、ＬｇＲ５を標的とすることにおいて有用であるように、ＬｇＲ５に十分な親和性で結合可能である抗体を指す。一実施形態において、無関係の非ＬｇＲ５タンパク質への抗ＬｇＲ５抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（ＲＩＡ）によって測定するとき、ＬｇＲ５への抗体の結合の約１０％未満である。ある特定の実施形態において、ＬｇＲ５に結合する抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、５Ｎｍ以下、４ｎＭ以下、３ｎＭ以下、２ｎＭ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下、または０．００１ｎＭ以下（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（Ｋｄ）を有する。ある特定の実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、異なる種由来のＬｇＲ５の間で保存されるＬｇＲ５のエピトープに結合する。

【００３９】

「抗体」という用語は、本明細書で最も広義に使用され、それらが所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、および抗体断片を含むが、これらに限定されない、種々の抗体構造を包含する。

【００４０】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部分を含み、インタクトな抗体が結合する抗原に結合する、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、$F(ab')_2$；二重特異性抗体；線状抗体（ｌｉｎｅａｒ　ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）；１本鎖抗体分子（例えば、ｓｃＦｖ）；および抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【００４１】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、その抗原への参照抗体の結合を５０％以上遮断する抗体、および逆に、競合アッセイにおいて、その抗原への抗体の結合を５０％以上遮断する参照抗体を指す。例となる競合アッセイが本明細書に提供される。

【００４２】

「がん」および「がん性」という用語は、未制御な細胞成長／増殖によって典型的に特徴付けられる、哺乳動物における生理的状態を指すか、または説明する。がんの例としては、がん腫、リンパ腫（例えば、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫）、芽細胞腫、肉腫

、および白血病が挙げられるが、これらに限定されない。かかるがんのより特定の例としては、扁平上皮細胞がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺の腺がん、肺の扁平上皮がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消化器がん、膵臓がん、神経膠腫、子宮頚がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、肝細胞腫、乳がん、結腸がん、結腸直腸がん、小腸がん、子宮内膜または子宮がん腫、唾液腺がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝細胞がん、白血病および他のリンパ増殖性障害、ならびに種々の種類の頭頸部がん等が挙げられる。

【００４３】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖および／または軽鎖の一部分が特定の源または種に由来する一方で、重鎖および／または軽鎖の残りの部分が異なる源または種に由来する、抗体を指す。

【００４４】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメインまたは定常領域の型を指す。５つの主要な抗体クラスＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭが存在し、これらのうちの数個は、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、およびIgA_2にさらに分割され得る。免役グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、およびμと呼ばれる。

【００４５】

本明細書で使用される「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害するもしくは阻止する、および／または細胞死もしくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞傷害性薬剤には、放射性同位体（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、およびＬｕの放射性同位体）；化学療法剤もしくは化学療法薬（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンＣ、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他のインターカレート剤）；成長阻害剤；核酸分解酵素等の酵素およびそれらの断片；抗生物質；細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片および／または変異体を含む）等の毒素；ならびに下に記載される種々の抗腫瘍または抗がん剤が含まれるが、これらに限定されない。

【００４６】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより様々である、抗体のＦｃ領域に起因し得る生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合および補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）；Ｆｃ受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）；食作用；細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方制御；ならびにＢ細胞活性化が挙げられる。

【００４７】

薬剤、例えば、医薬製剤の「有効量」は、必要な複数回投薬量で一定期間にわたる、所望の治療的または予防的結果を達成するために有効な量を指す。

【００４８】

「エピトープ」という用語は、抗体が結合する抗原分子上の特定の部位を指す。

【００４９】

本明細書における「Ｆｃ領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含有する、免役グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するように使用される。この用語には、天然配列Ｆｃ領域および変異体Ｆｃ領域が含まれる。一実施形態において、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃｙｓ２２６から、またはＰｒｏ２３０から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は、存在することも、しないこともある。本明細書で別途明記されない限り、Ｆｃ領域または定常領域におけるアミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂ

lic Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載される、EUインデックスとも呼ばれる、EU付番方式に従う。

【００５０】

「フレームワーク」または「ＦＲ」は、超可変領域（ＨＶＲ）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのＦＲは、一般に、４つのＦＲドメインＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、およびＦＲ４からなる。したがって、ＨＶＲおよびＦＲ配列は、一般に、ＶＨ（またはＶＬ）において次の配列で現れる：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４。

【００５１】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、および「全抗体」という用語は、本明細書で、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有する、または本明細書に定義されるＦｃ領域を含有する重鎖を有する、抗体を指すように交換可能に使用される。

【００５２】

「ＬｇＲ５のグリコシル化型」という用語は、炭水化物残基の付加によって翻訳後修飾されている、ＬｇＲ５の自然発生型を指す。

【００５３】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、および「宿主細胞培養物」という用語は、交換可能に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、かかる細胞の子孫を含む。宿主細胞には、初代形質転換細胞および継代の数に関わらずそれに由来する子孫を含む、「形質転換体」および「形質転換細胞」が含まれる。子孫は、核酸含量において親細胞と完全に同一でない場合があるが、突然変異を含有し得る。元々形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物活性を有する突然変異体子孫が、本明細書に含まれる。

【００５４】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レパートリーを利用する非ヒト源に由来する、抗体のアミノ酸配列、または他のヒト抗体コード配列に対応する、アミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特異的に除外する。

【００５５】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免役グロブリンＶＬまたはＶＨフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を代表する、フレームワークである。一般に、ヒト免役グロブリンＶＬまたはＶＨ配列の選択は、可変ドメイン配列の下位集団から行われる。一般に、配列の下位集団は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．, Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ, Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ, ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ９１－３２４２, Ｂｅｔｈｅｓｄａ ＭＤ（１９９１）, ｖｏｌｓ．１－３．にあるような下位集団である。一実施形態において、ＶＬについて、下位集団は、上記のＫａｂａｔらにあるような下位集団カッパＩである。一実施形態において、ＶＨについて、下位集団は、上記のＫａｂａｔらにあるような下位集団ＩＩＩである。

【００５６】

「ヒト化」抗体は、非ヒトＨＶＲからのアミノ酸残基およびヒトＦＲからのアミノ酸残基を含む、キメラ抗体を指す。ある特定の実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には２つの、可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、そのＨＶＲ（例えば、ＣＤＲ）の全てまたは実質的に全てが、非ヒト抗体のそれらに対応し、そのＦＲの全てまたは実質的に全てが、ヒト抗体のそれらに対応する。ヒト化抗体は任意に、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。抗体、例えば非ヒト抗体の、「ヒト化型」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【００５７】

本明細書で使用される「超可変領域」または「ＨＶＲ」という用語は、配列が高度に変

化する、および／または構造的に規定されたループ（「超可変ループ」）を形成する、抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般に、天然４本鎖抗体は、６つのＨＶＲを含み、このうち３つがＶＨ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）にあり、３つがＶＬ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）にある。ＨＶＲは一般に、超可変ループからのおよび／または「相補性決定領域」（ＣＤＲ）からのアミノ酸残基を含み、このうち後者が、配列可変性が最も高く、および／または抗原認識に関与する。例となる超可変ループは、アミノ酸残基２６～３２（Ｌ１）、５０～５２（Ｌ２）、９１～９６（Ｌ３）、２６～３２（Ｈ１）、５３～５５（Ｈ２）、および９６～１０１（Ｈ３）において生じる。（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）。例となるＣＤＲ（ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、ＣＤＲ－Ｌ３、ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、およびＣＤＲ－Ｈ３）は、アミノ酸残基Ｌ１の２４～３４、Ｌ２の５０～５６、Ｌ３の８９～９７、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～６５、およびＨ３の９５～１０２において生じる。（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１）。ＶＨにおけるＣＤＲ１を除いて、ＣＤＲは一般に、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。ＣＤＲはまた、抗原に接触する残基である、「特異性決定残基」または「ＳＤＲ」も含む。ＳＤＲは、短縮型（ａｂｂｒｅｖｉａｔｅｄ）ＣＤＲ、またはａ－ＣＤＲと呼ばれるＣＤＲの領域内に含有される。例となるａ－ＣＤＲ（ａ－ＣＤＲ－Ｌ１、ａ－ＣＤＲ－Ｌ２、ａ－ＣＤＲ－Ｌ３、ａ－ＣＤＲ－Ｈ１、ａ－ＣＤＲ－Ｈ２、およびａ－ＣＤＲ－Ｈ３）は、アミノ酸残基Ｌ１の３１～３４、Ｌ２の５０～５５、Ｌ３の８９～９６、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～５８、およびＨ３の９５～１０２において生じる。（Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）を参照されたい）。別途指定されない限り、可変ドメインにおけるＨＶＲ残基および他の残基（例えば、ＦＲ残基）は、本明細書において上記のＫａｂａｔらに従って付番される。

【００５８】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これらに限定されない１個以上の異種性分子（複数可）に複合される抗体である。

【００５９】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、およびウマ）、霊長類（例えば、ヒト、およびサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、および齧歯類（例えば、マウスおよびラット）が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、個体または対象は、ヒトである。

【００６０】

「単離抗体」は、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、例えば、電気泳動法（例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、等電点電気泳動（ＩＥＦ）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフ法（例えば、イオン交換または逆相ＨＰＬＣ）によって決定するとき、９５％超または９９％超の純度まで精製される。抗体の純度の評価のための方法の概説については、例えば、Ｆｌａｔｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ８４８：７９－８７（２００７）を参照されたい。

【００６１】

「単離核酸」は、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸には、核酸分子を通常含有する細胞内に含有される核酸分子が含まれるが、その核酸分子は、染色体外に、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に、存在する。

【００６２】

「抗ＬｇＲ５抗体をコードする単離核酸」は、抗体重鎖および軽鎖（またはそれらの断片）をコードする１個以上の核酸分子を指し、それには単一のベクターまたは別個のベクターにおけるかかる核酸分子（複数可）が含まれ、かかる核酸分子（複数可）は、宿主細

胞内の１つ以上の場所に存在する。

【００６３】

本明細書で使用される「ＬｇＲ５」という用語は、細胞内のＬｇＲ５前駆体タンパク質のプロセシングからもたらされる、任意の天然の成熟ＬｇＲ５を指す。別途指定されない限り、この用語には、霊長類（例えば、ヒトおよびカニクイザル）および齧歯類（例えば、マウスおよびラット）等の哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来のＬｇＲ５が含まれる。この用語にはまた、ＬｇＲ５の自然発生変異体、例えば、スプライス変異体または対立遺伝子変異体が含まれる。シグナル配列（アミノ酸１～２１）を含む、例となるヒトＬｇＲ５前駆体タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号６７に示される。例となる成熟ヒトＬｇＲ５のアミノ酸配列は、配列番号６８に示される。例となるカニクイザルＬｇＲ５のアミノ酸３３～９０７についての予測される配列は、配列番号６９に示される。例となるラットＬｇＲ５前駆体（シグナル配列、アミノ酸１～２１を含む）および成熟配列についてのアミノ酸配列は、それぞれ、配列番号７０および７１に示される。例となるマウスＬｇＲ５前駆体（シグナル配列、アミノ酸１～２１を含む）および成熟配列についてのアミノ酸配列は、それぞれ、配列番号７２および７３に示される。

【００６４】

「ＬｇＲ５陽性がん」という用語は、細胞の表面上でＬｇＲ５を発現する細胞を含むがんを指す。細胞が表面上でＬｇＲ５を発現するかどうかを決定する目的のために、ＬｇＲ５　ｍＲＮＡ発現は、細胞表面上のＬｇＲ５発現に相関すると見なされる。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５　ｍＲＮＡの発現は、インサイツハイブリダイゼーションおよびＲＴ－ＰＣＲ（定量ＲＴ－ＰＣＲを含む）から選択される方法によって決定される。代替的に、細胞表面上でのＬｇＲ５の発現は、例えば、ＬｇＲ５に対する抗体を使用して、免疫組織化学、ＦＡＣＳ等の方法において、決定することができる。

【００６５】

「ＬｇＲ５陽性細胞」という用語は、その表面上でＬｇＲ５を発現する細胞を指す。

【００６６】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、同一であり、および／または同じエピトープに結合するが、例えば、自然発生突然変異を含有する、またはモノクローナル抗体製剤の産生中に発生する、可能性のある変異体抗体を除き、かかる変異体は一般に少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体製剤とは対照的に、モノクローナル抗体製剤の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する。故に、「モノクローナル」という修飾語は、抗体の実質的に同種の集団から得られるという抗体の特徴を示しており、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されないものとする。例えば、本発明による使用対象のモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組み換えＤＮＡ法、ファージディスプレイ法、およびヒト免役グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むが、これらに限定されない、多様な技法によって作製されてもよく、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法および他の例となる方法が、本明細書に記載されている。

【００６７】

「裸の抗体」は、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識に複合されていない抗体を指す。裸の抗体は、医薬製剤中に存在してもよい。

【００６８】

「天然抗体」は、様々な構造を有する、自然発生免役グロブリン分子を指す。例えば、天然ＩｇＧ抗体は、ジスルフィド結合されている２つの同一の軽鎖および２つの同一の重鎖から構成される、約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。Ｎ末端からＣ末端まで、各重鎖は、可変重ドメイン（ｖａｒｉａｂｌｅ　ｈｅａｖｙ　ｄｏｍａｉｎ）または重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＨ）、続いて３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、およびＣＨ３）を有する。同様に、Ｎ末端からＣ末端まで、各軽

鎖は、可変軽ドメイン（ｖａｒｉａｂｌｅ　ｌｉｇｈｔ　ｄｏｍａｉｎ）または軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＬ）、続いて定常軽（ＣＬ）ドメインを有する。抗体の軽鎖には、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）およびラムダ（λ）と呼ばれる２つの型うちの１つが割り当てられ得る。

【００６９】

「添付文書」という用語は、かかる治療薬の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症についての情報、および／またはその使用に関する警告を含有する、治療薬の商用のパッケージに通例含まれる指示書を指すように使用される。

【００７０】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列をアライメントし、必要な場合、ギャップを導入して、配列同一性最大パーセントを得た後に、配列同一性の部分としていかなる保存的置換も考慮に入れずに、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内である種々の方式で、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア等の、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長にわたる最大のアライメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするために適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的のために、アミノ酸配列同一性％値は、配列比較コンピュータプログラムＡＬＩＧＮ－２を使用して生成される。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．によって著され、ソースコードは、ユーザ文書と共に米国著作権庁（Ｕ．Ｓ．Ｃｏｐｙｒｉｇｈｔ　Ｏｆｆｉｃｅ），Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．，２０５５９に提出されており、米国著作権番号ＴＸＵ５１００８７の下に登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから公的に利用可能であるか、またはソースコードから編集されてもよい。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、デジタルＵＮＩＸ　Ｖ４．０Ｄを含むＵＮＩ　Ｘオペレーティングシステムで使用する場合は編集すべきである。全ての配列比較パラメータは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムによって設定され、変更はない。

【００７１】

アミノ酸配列比較のためにＡＬＩＧＮ－２が用いられる場合、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比した、所与のアミノ酸配列Ａのアミノ酸配列同一性％（代替的に、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比したある特定のアミノ酸配列同一性％を有する、またはそれを含む、所与のアミノ酸配列Ａと表現され得る）は、次のように算出される：

１００×分数Ｘ／Ｙ

（式中、Ｘは、配列アライメントプログラムＡＬＩＧＮ－２によって、そのプログラムのＡおよびＢのアライメントにおいて完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂ中のアミノ酸残基の総数である）。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合、Ｂに対するＡのアミノ酸配列同一性％は、Ａに対するＢのアミノ酸配列同一性％と等しくはならないことが理解されよう。特に別途定めのない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性％値は、直前の段落に記載されるように、ＡＬＩＧＮ－２コンピュータプログラムを使用して得られる。

【００７２】

「医薬製剤」という用語は、調製物の中に含有される活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、製剤が投与されるであろう対象にとって許容できないほど　有毒である追加の構成成分を何ら含有しない、調製物を指す。

【００７３】

「薬剤的に許容される担体」は、対象にとって無毒である、活性成分以外の医薬製剤中の成分を指す。薬剤的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤、または防腐剤が含まれるが、これらに限定されない。

【００７４】

本明細書で使用されるとき、「治療」（および「治療する」または「治療すること」等のその文法上の変形形態）は、治療されている個体の自然過程を変えることを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程の間に行うことができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の予防、疾患進行速度の低減、疾患状態の寛解または一次緩和、および緩解または予後の改善が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、疾患の発症を遅延するために、または疾患の進行を緩徐にするために使用される。

【００７５】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合することに関与する、抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、ＶＨおよびＶＬ）は一般に、同様の構造を有し、各ドメインは、４つの保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）および３つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む。（例えば、Ｋｉｎｄｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｋｕｂｙ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６^{ｔｈ}　ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｃｏ．，ｐａｇｅ　９１（２００７）を参照されたい）。抗原結合特異性を付与するためには、単一のＶＨまたはＶＬドメインで十分であり得る。さらに、抗原に結合する抗体からのＶＨまたはＶＬドメインを使用して、それぞれ、相補的ＶＬまたはＶＨドメインのライブラリをスクリーニングして、特定の抗原に結合する抗体を単離してもよい。例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５０：８８０－８８７（１９９３）、Ｃｌａｒｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８（１９９１）を参照されたい。

【００７６】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、連結している別の核酸を増殖することが可能な核酸分子を指す。この用語には、自己複製核酸構造としてのベクター、ならびに導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターが含まれる。ある特定のベクターは、作動的に連結された核酸の発現を導くことが可能である。かかるベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。

【００７７】

「アルキル」は、直鎖（ｎｏｒｍａｌ）、第二級、第三級、または環状炭素原子を含有する、$Ｃ_{１}$～$Ｃ_{１８}$炭化水素である。例としては、メチル（Ｍｅ、－$ＣＨ_{３}$）、エチル（Ｅｔ、－$ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、１－プロピル（ｎ－Ｐｒ、ｎ－プロピル、－$ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、２－プロピル（ｉ－Ｐｒ、ｉ－プロピル、－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）_{２}$）、１－ブチル（ｎ－Ｂｕ、ｎ－ブチル、－$ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、２－メチル－１－プロピル（ｉ－Ｂｕ、ｉ－ブチル、－$ＣＨ_{２}ＣＨ（ＣＨ_{３}）_{２}$）、２－ブチル（ｓ－Ｂｕ、ｓ－ブチル、－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、２－メチル－２－プロピル（ｔ－Ｂｕ、ｔ－ブチル、－$Ｃ（ＣＨ_{３}）_{３}$）、１－ペンチル（ｎ－ペンチル、－$ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、２－ペンチル（－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、３－ペンチル（－$ＣＨ（ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}）_{２}$）、２－メチル－２－ブチル（－$Ｃ（ＣＨ_{３}）_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、３－メチル－２－ブチル（－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ（ＣＨ_{３}）_{２}$）、３－メチル－１－ブチル（－$ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ（ＣＨ_{３}）_{２}$）、２－メチル－１－ブチル（－$ＣＨ_{２}ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、１－ヘキシル（－$ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、２－ヘキシル（－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、３－ヘキシル（－$ＣＨ（ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}）（ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、２－メチル－２－ペンチル（－$Ｃ（ＣＨ_{３}）_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、３－メチル－２－ペンチル（－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}$）、４－メチル－２－ペンチル（－$ＣＨ（ＣＨ_{３}）ＣＨ_{２}ＣＨ（ＣＨ_{３}）_{２}$）、３－メチル－３－ペンチル（－$Ｃ（ＣＨ_{３}）（ＣＨ_{２}ＣＨ_{３}）_{２}$）、２－メチル－３－ペンチル（

－ＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$）、２，３－ジメチル－２－ブチル（－Ｃ（ＣＨ$_3$）$_2$ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$）、３，３－ジメチル－２－ブチル（－ＣＨ（ＣＨ$_3$）Ｃ（ＣＨ$_3$）$_3$がある。

【００７８】

本明細書で使用される「Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル」という用語は、１～８個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖の飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル」基には、－メチル、－エチル、－ｎ－プロピル、－ｎ－ブチル、－ｎ－ペンチル、－ｎ－ヘキシル、－ｎ－ヘプチル、－ｎ－オクチル、－ｎ－ノニルおよび－ｎ－デシルが含まれるが、これらに限定されない一方で、分岐鎖Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキルには、－イソプロピル、－ｓｅｃ－ブチル、－イソブチル、－ｔｅｒｔ－ブチル、－イソペンチル、２－メチルブチルが含まれるが、これらに限定されず、不飽和Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキルには、－ビニル、－アリル、－１－ブテニル、－２－ブテニル、－イソブチレニル、－１－ペンテニル、－２－ペンテニル、－３－メチル－１－ブテニル、－２－メチル－２－ブテニル、－２，３－ジメチル－２－ブテニル、１－ヘキシル、２－ヘキシル、３－ヘキシル、－アセチレニル、－プロピニル、－１－ブチニル、－２－ブチニル、－１－ペンチニル、－２－ペンチニル、－３－メチル－１ブチニルが含まれるが、これらに限定されない。Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル基は、置換されていないか、または－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＳＯ$_3$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない１個以上の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、およびアリールから選択される。

【００７９】

本明細書で使用される「Ｃ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキル」という用語は、１～１２個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖の飽和または不飽和炭化水素を指す。Ｃ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキル基は、置換されていないか、または－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＳＯ$_3$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない１個以上の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、およびアリールから選択される。

【００８０】

本明細書で使用される「Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル」という用語は、１～６個の炭素原子を有する直鎖または分岐鎖の飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル」基には、－メチル、－エチル、－ｎ－プロピル、－ｎ－ブチル、－ｎ－ペンチル、および－ｎ－ヘキシルが含まれるが、これらに限定されない一方で、分岐鎖Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキルには、－イソプロピル、－ｓｅｃ－ブチル、－イソブチル、－ｔｅｒｔ－ブチル、－イソペンチル、および２－メチルブチルが含まれるが、これらに限定されず、不飽和Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキルには、－ビニル、－アリル、－１－ブテニル、－２－ブテニル、および－イソブチレニル、－１－ペンテニル、－２－ペンテニル、－３－メチル－１－ブテニル、－２－メチル－２－ブテニル、－２，３－ジメチル－２－ブテニル、１－ヘキシル、２－ヘキシル、および３－ヘキシルが含まれるが、これらに限定されない。Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル基は、置換されていないか、またはＣ$_1$～Ｃ$_8$アルキル基について上述される、１個以上の基で置換されている可能性がある。

【００８１】

本明細書で使用される「Ｃ$_1$～Ｃ$_4$アルキル」という用語は、１～４炭素原子を有する直鎖または分岐鎖の飽和または不飽和炭化水素を指す。代表的な「Ｃ$_1$～Ｃ$_4$アルキル」基には、－メチル、－エチル、－ｎ－プロピル、－ｎ－ブチルが含まれるが、これらに限

定されない一方で、分岐鎖C_1～C_4アルキルには、－イソプロピル、－ｓｅｃ－ブチル、－イソブチル、－ｔｅｒｔ－ブチルが含まれるが、これらに限定されず、不飽和C_1～C_4アルキルには、－ビニル、－アリル、－１－ブテニル、－２－ブテニル、および－イソブチレニルが含まれるが、これらに限定されない。C_1～C_4アルキル基は、置換されていないか、またはC_1～C_8アルキル基について上述される、１個以上の基で置換されている可能性がある。

【００８２】

「アルコキシ」は、酸素に単結合されたアルキル基である。例となるアルコキシ基には、メトキシ（－OCH_3）およびエトキシ（－OCH_2CH_3）が含まれるが、これらに限定されない。「C_1～C_5アルコキシ」は、１～５個の炭素原子を有するアルコキシ基である。アルコキシ基は、置換されていないか、またはアルキル基について上述される、１個以上の基で置換されている可能性があり得る。

【００８３】

「アルケニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち炭素－炭素、sp^2二重結合を有する直鎖、第二級、第三級、または環状炭素原子を含有する、C_2～C_{18}炭化水素である。例としては、エチレンまたはビニル（－$CH=CH_2$）、アリル（－$CH_2CH=CH_2$）、シクロペンテニル（－C_5H_7）、および５－ヘキセニル（－$CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$）が挙げられるが、これらに限定されない。「C_2～C_8アルケニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち炭素－炭素、sp^2二重結合を有する２～８個の直鎖、第二級、第三級、または環状炭素原子を含有する、炭化水素である。

【００８４】

「アルキニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち炭素－炭素、ｓｐ三重結合を有する直鎖、第二級、第三級、または環状炭素原子を含有する、C_2～C_{18}炭化水素である。例としては、アセチレン系（－C≡CH）およびプロパルギル（－$CH_2C\equiv CH$）が挙げられるが、これらに限定されない。「C_2～C_8アルキニル」は、少なくとも１つの不飽和部位、すなわち炭素－炭素、ｓｐ三重結合を有する２～８個の直鎖、第二級、第三級、または環状炭素原子を含有する、炭化水素である。

【００８５】

「アルキレン」は、１～１８個の炭素原子からなり、親アルカンの同じまたは２個の異なる炭素原子からの２個の水素原子の除去によってもたらされる２つの一価ラジカル中心を有する、飽和の分岐鎖または直鎖または環状炭化水素基を指す。典型的なアルキレン基には、メチレン（－CH_2－）１，２－エチル（－CH_2CH_2－）、１，３－プロピル（－$CH_2CH_2CH_2$－）、１，４－ブチル（－$CH_2CH_2CH_2CH_2$－）等が含まれるが、これらに限定されない。

【００８６】

「C_1～C_{10}アルキレン」は、式－（CH_2）$_{1-10}$－の直鎖、飽和炭化水素基である。C_1～C_{10}アルキレンの例としては、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ペンチレン、ヘキシレン、ヘプチレン、オクチレン（ｏｃｙｔｙｌｅｎｅ）、ノニレン、およびデカレンが挙げられる。

【００８７】

「アルケニレン」は、２～１８個の炭素原子からなり、親アルケンの同じまたは２個の異なる炭素原子からの２個の水素原子の除去によってもたらされる２つの一価ラジカル中心を有する、不飽和の分岐鎖または直鎖または環状炭化水素基を指す。典型的なアルケニレン基には、１，２－エチレン（－CH＝CH－）が含まれるが、これらに限定されない。

【００８８】

「アルキニレン」は、２～１８個の炭素原子からなり、親アルキンの同じまたは２個の異なる炭素原子からの２個の水素原子の除去によってもたらされる２つの一価ラジカル中心を有する、不飽和の分岐鎖または直鎖または環状炭化水素基を指す。典型的なアルキニ

レン基には、アセチレン（－Ｃ≡Ｃ－）、プロパルギル（－ＣＨ$_2$Ｃ≡Ｃ－）、および４－ペンチニル（－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｃ≡Ｃ－）が含まれるが、これらに限定されない。

【００８９】

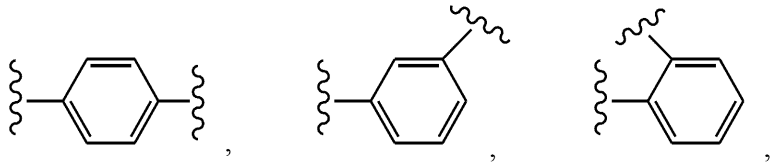
「アリール」は、炭素環式芳香族基を指す。アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、およびアントラセニルが挙げられるが、これらに限定されない。炭素環式芳香族基または複素環式芳香族基は、置換されていないか、または－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない１個以上の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、およびアリールから選択される。

【００９０】

「Ｃ$_5$～Ｃ$_{20}$アリール」は、炭素環式芳香環内に５～２０個の炭素原子を有する、アリール基である。Ｃ$_5$～Ｃ$_{20}$アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、およびアントラセニルが挙げられるが、これらに限定されない。Ｃ$_5$～Ｃ$_{20}$アリール基は、アリール基について上述されるように、置換されているか、または置換されていない可能性がある。「Ｃ$_5$～Ｃ$_{14}$アリール」は、炭素環式芳香族内に５～１４個の炭素原子を有するアリール基である。Ｃ$_5$～Ｃ$_{14}$アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、およびアントラセニルが挙げられるが、これらに限定されない。Ｃ$_5$～Ｃ$_{14}$アリール基は、アリール基について上述されるように、置換されているか、または置換されていない可能性がある。

【００９１】

「アリーレン」は、２つの共有結合を有するアリール基であり、次の構造、



に示されるオルト、メタ、またはパラ配置にあり得、そのフェニル基は、置換されていないか、または－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－Ｎ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大４個の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、およびアリールから選択される。

【００９２】

「アリールアルキル」は、炭素原子、典型的には末端またはsp^3炭素原子に結合した水素原子のうちの１個が、アリール基と置き換えられている、非環式アルキル基を指す。典型的なアリールアルキル基には、ベンジル、２－フェニルエタン－１－イル、２－フェニルエテン－１－イル、ナフチルメチル、２－ナフチルエタン－１－イル、２－ナフチルエテン－１－イル、ナフトベンジル、２－ナフトフェニルエタン－１－イル等が含まれるが、これらに限定されない。アリールアルキル基は、６～２０個の炭素原子を含み、例えば、アリールアルキル基のアルカニル、アルケニル、またはアルキニル基を含む、アルキル部分は、１～６個の炭素原子であり、アリール部分は、５～１４個の炭素原子である。

【００９３】

「ヘテロアリールアルキル」は、炭素原子、典型的には末端またはsp^3炭素原子に結合した水素原子のうちの１個が、ヘテロアリール基と置き換えられている、非環式アルキル基を指す。典型的なヘテロアリールアルキル基には、２－ベンズイミダゾリルメチル、

２－フリルエチル等が含まれるが、これらに限定されない。ヘテロアリールアルキル基は、６～２０個の炭素原子を含み、例えば、ヘテロアリールアルキル基のアルカニル、アルケニル、またはアルキニル基を含む、アルキル部分は、１～６個の炭素原子であり、ヘテロアリール部分は、５～１４個の炭素原子ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子である。ヘテロアリールアルキル基のヘテロアリール部分は、３～７個の環員を有する単環（２～６個の炭素原子、または７～１０環員を有する二環（４～９個の炭素原子ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子）、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、または［６，６］系であり得る。

【００９４】

「置換アルキル」、「置換アリール」、および「置換アリールアルキル」は、１個以上の水素原子が各々独立して置換基と置き換えられている、それぞれ、アルキル、アリール、およびアリールアルキルを意味する。典型的な置換基には、－Ｘ、－Ｒ、－Ｏ$^-$、－ＯＲ、－ＳＲ、－Ｓ$^-$、－ＮＲ$_2$、－ＮＲ$_3$、＝ＮＲ、－ＣＸ$_3$、－ＣＮ、－ＯＣＮ、－ＳＣＮ、－Ｎ＝Ｃ＝Ｏ、－ＮＣＳ、－ＮＯ、－ＮＯ$_2$、＝Ｎ$_2$、－Ｎ$_3$、ＮＣ（＝Ｏ）Ｒ、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_2$、－ＳＯ$_3$$^-$、－ＳＯ$_3$Ｈ、－Ｓ（＝Ｏ）$_2$Ｒ、－ＯＳ（＝Ｏ）$_2$ＯＲ、－Ｓ（＝Ｏ）$_2$ＮＲ、－Ｓ（＝Ｏ）Ｒ、－ＯＰ（＝Ｏ）（ＯＲ）$_2$、－Ｐ（＝Ｏ）（ＯＲ）$_2$、－ＰＯ$_3$、ＰＯ$_3$Ｈ$_2$、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ、－Ｃ（＝Ｏ）Ｘ、－Ｃ（＝Ｓ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、－ＣＯ$_2$、－Ｃ（＝Ｓ）ＯＲ、－Ｃ（＝Ｏ）ＳＲ、－Ｃ（＝Ｓ）ＳＲ、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_2$、－Ｃ（＝Ｓ）ＮＲ$_2$、－Ｃ（＝ＮＲ）ＮＲ$_2$が含まれるが、これらに限定されず、式中、各Ｘは独立して、ハロゲン、すなわちＦ、Ｃｌ、Ｂｒ、またはＩであり、各Ｒは独立して、－Ｈ、Ｃ$_2$～Ｃ$_{18}$アルキル、Ｃ$_6$～Ｃ$_{20}$アリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_{14}$複素環、保護基、またはプロドラッグ部分である。上述のアルキレン、アルケニレン、およびアルキニレン基もまた、同様に置換され得る。

【００９５】

「ヘテロアリール」および「複素環」は、１個以上の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、および硫黄である、環系を指す。複素環基は、３～２０個の炭素原子ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む。複素環は、３～７個の環員を有する単環（２～６個の炭素原子ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子）、または７～１０環員を有する二環（４～９個の炭素原子ならびにＮ、Ｏ、Ｐ、およびＳから選択される１～３個のヘテロ原子）、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、または［６，６］系であり得る。

【００９６】

例となる複素環は、例えば、Ｐａｑｕｅｔｔｅ，Ｌｅｏ Ａ.，“Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｍｏｄｅｒｎ Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ”（Ｗ. Ａ. Ｂｅｎｊａｍｉｎ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９６８）（特に第１、３、４、６、７、および９章）、“Ｔｈｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ，Ａ ｓｅｒｉｅｓ ｏｆ Ｍｏｎｏｇｒａｐｈｓ”（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ& Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９５０～現在）（特に第１３、１４、１６、１９、および２８巻）、ならびにＪ. Ａｍ. Ｃｈｅｍ. Ｓｏｃ.（１９６０）８２：５５６６に記載される。

【００９７】

複素環の例としては、限定ではなく例として、ピリジル、ジヒドロイピリジル（ｄｉｈｙｄｒｏｙｐｙｒｉｄｙｌ）、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、チアゾリル、テトラヒドロチオフェニル、硫黄酸化型テトラヒドロチオフェニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、テトラゾリル、ベンゾフラニル、チアナフタレニル、インドリル、インドレニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、ピペリジニル、４－ピペリドニル、ピロリジニル、２－ピロリドニル、ピロリニル、テトラヒドロフラニル、ビス－テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビス－テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デ

カヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、アゾシニル（ａｚｏｃｉｎｙｌ）、トリアジニル、６Ｈ－１，２，５－チアジアジニル、２Ｈ，６Ｈ－１，５，２－ジチアジニル、チエニル、チアントレニル、ピラニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサンテニル、フェノキサチニル、２Ｈ－ピロリル、イソチアゾリル、イソキサゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、インドリジニル、イソインドリル、３Ｈ－インドリル、１Ｈ－インダゾリル、プリニル、４Ｈ－キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、プテリジニル、４ａＨ－カルバゾリル、カルバゾリル、β－カルボリニル、フェナントリジニル、アクリジニル、ピリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フラザニル、フェノキサジニル、イソクロマニル、クロマニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピペラジニル、インドリニル、イソインドリニル、キヌクリジニル、モルホリニル、オキサゾリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイソキサゾリル、オキシンドリル、ベンゾキサゾリニル、およびイサチノイル（ｉｓａｔｉｎｏｙｌ）が挙げられる。

【００９８】

限定ではなく例として、炭素が結合する複素環は、ピリジンの２、３、４、５、もしくは６位、ピリダジンの３、４、５、もしくは６位、ピリミジンの２、４、５、もしくは６位、ピラジンの２、３、５、もしくは６位、フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフェン、ピロール、もしくはテトラヒドロピロールの２、３、４、もしくは５位、オキサゾール、イミダゾール、もしくはチアゾールの２、４、もしくは５位、イソキサゾール、ピラゾール、もしくはイソチアゾールの３、４、もしくは５位、アジリジンの２もしくは３位、アゼチジンの２、３、もしくは４位、キノリンの２、３、４、５、６、７、もしくは８位、またはイソキノリンの１、３、４、５、６、７、もしくは８位において結合される。さらにより典型的に、炭素が結合した複素環には、２－ピリジル、３－ピリジル、４－ピリジル、５－ピリジル、６－ピリジル、３－ピリダジニル、４－ピリダジニル、５－ピリダジニル、６－ピリダジニル、２－ピリミジニル、４－ピリミジニル、５－ピリミジニル、６－ピリミジニル、２－ピラジニル、３－ピラジニル、５－ピラジニル、６－ピラジニル、２－チアゾリル、４－チアゾリル、または５－チアゾリルが含まれる。

【００９９】

限定ではなく例として、窒素が結合した複素環は、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、２－ピロリン、３－ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、２－イミダゾリン、３－イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、２－ピラゾリン、３－ピラゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドール、インドリン、１Ｈ－インダゾールの１位、イソインドール、またはイソインドリンの２位、モルホリンの４位、およびカルバゾールまたはβ－カルボリンの９位において結合される。さらにより典型的に、窒素が結合した複素環には、１－アジリジル、１－アゼテジル（ａｚｅｔｅｄｙｌ）、１－ピロリル、１－イミダゾリル、１－ピラゾリル、および１－ピペリジニルが含まれる。

【０１００】

「$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{8}$複素環」は、環炭素原子のうちの１～４個が独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮからなる群からのヘテロ原子と置き換えられている、芳香族または非芳香族$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{8}$炭素環を指す。$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{8}$複素環の代表的な例としては、ベンゾフラニル、ベンゾチオフェン、インドリル、ベンゾピラゾリル、クマリニル、イソキノリニル、ピロリル、チオフェニル、フラニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、キノリニル、ピリミジニル、ピリジニル、ピリドニル、ピラジニル、ピリダジニル、イソチアゾリル、イソキサゾリル、およびテトラゾリルが挙げられるが、これらに限定されない。$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{8}$複素環は、置換されていないか、または－$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキル、－Ｏ－（$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）$ＮＨ_{2}$、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_{2}$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－$Ｎ_{3}$、－$ＮＨ_{2}$、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大７個の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキル、およびア

リールから選択される。

【０１０１】

「C_3～C_8ヘテロシクロ」は、複素環基の水素原子のうちの１個が結合と置き換えられている、上に定義されるC_3～C_8複素環基を指す。C_3～C_8ヘテロシクロは、置換されていないか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大６個の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、およびアリールから選択される。

【０１０２】

「C_3～C_{20}複素環」は、環炭素原子のうちの１～４個が独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮからなる群からのヘテロ原子と置き換えられている、芳香族または非芳香族C_3～C_8炭素環を指す。C_3～C_{20}複素環は、置換されていないか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない最大７個の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、およびアリールから選択される。

【０１０３】

「C_3～C_{20}ヘテロシクロ」は、複素環基の水素原子のうちの１個が結合と置き換えられている、上に定義されるC_3～C_{20}複素環基を指す。

【０１０４】

「炭素環」は、単環として３～７個の炭素原子、または二環として７～１２個の炭素原子を有する、飽和または不飽和の環を意味する。単環式炭素環は、３～６個の環原子、さらにより典型的には５または６個の環原子を有する。二環式炭素環は、例えば、ビシクロ［４，５］、［５，５］、［５，６］、もしくは［６，６］系として配置される、７～１２個の環原子、またはビシクロ［５，６］もしくは［６，６］系として配置される、９もしくは１０個の環原子を有する。単環式炭素環の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、１－シクロペンター１－エニル、１－シクロペンター２－エニル、１－シクロペンター３－エニル、シクロヘキシル、１－シクロヘキサ－１－エニル、１－シクロヘキサ－２－エニル、１－シクロヘキサ－３－エニル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが挙げられる。

【０１０５】

「C_3～C_8炭素環」は、３、４、５、６、７、または８員の飽和または不飽和の非芳香族炭素環式環である。代表的なC_3～C_8炭素環には、－シクロプロピル、－シクロブチル、－シクロペンチル、－シクロペンタジエニル、－シクロヘキシル、－シクロヘキセニル、－１，３－シクロヘキサジエニル、－１，４－シクロヘキサジエニル、－シクロヘプチル、－１，３－シクロヘプタジエニル、－１，３，５－シクロヘプタトリエニル、－シクロオクチル、および－シクロオクタジエニルが含まれるが、これらに限定されない。C_3～C_8炭素環基は、置換されていないか、または－C_1～C_8アルキル、－Ｏ－（C_1～C_8アルキル）、－アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－Ｃ（Ｏ）NH_2、－Ｃ（Ｏ）ＮＨＲ’、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＯＨ、－ハロゲン、－N_3、－NH_2、－ＮＨ（Ｒ’）、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、および－ＣＮを含むが、これらに限定されない１個以上の基で置換されている可能性があり、式中、各Ｒ’は独立して、Ｈ、－C_1～C_8アルキル、およびアリールから選択される。

【０１０６】

「Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクロ」は、炭素環基の水素原子のうちの１個が結合と置き換えられている、上に定義されるＣ$_3$～Ｃ$_8$炭素環基を指す。

【０１０７】

「リンカー」は、共有結合、または抗体を薬物部分に共有結合する原子の鎖を含む、化学部分を指す。種々の実施形態において、リンカーには、アルキルジイル、アリールジイル、ヘテロアリールジイル等の二価基、－（ＣＲ$_2$）$_n$Ｏ（ＣＲ$_2$）$_n$－等の部分、アルキルオキシ（例えば、ポリエチレンオキシ、ＰＥＧ、ポリメチレンオキシ）およびアルキルアミノ（例えば、ポリエチレンアミノ、Ｊｅｆｆａｍｉｎｅ（商標））の反復単位、ならびにコハク酸塩、コハク酸アミド、ジグリコール酸塩、マロン酸塩、およびカプロアミドを含む二酸エステルおよびアミドが含まれる。種々の実施形態において、リンカーは、バリン、フェニルアラニン、リジン、およびホモリジン等の１個以上のアミノ酸残基を含むことができる。

【０１０８】

「キラル」という用語は、鏡像パートナーの重ね合せできない（ｎｏｎ－ｓｕｐｅｒｉｍｐｏｓａｂｉｌｉｔｙ）特性を有する分子を指し、一方で「キラル」という用語は、それらの鏡像パートナーと重ね合せできる（ｓｕｐｅｒｉｍｐｏｓａｂｉｌｉｔｙ）分子を指す。

【０１０９】

「立体異性体」という用語は、同一の化学構成を有するが、空間内の原子または基の配置に関して異なる、化合物を指す。

【０１１０】

「ジアステレオマー」は、２つ以上のキラル性の中心を有し、それらの分子が互いの鏡像でない、立体異性体を指す。ジアステレオマーは、異なる物理特性、例えば、融点、沸点、スペクトル特性、および反応性を有する。ジアステレオマーの混合物は、電気泳動法およびクロマトグラフィー等の高解像度分析手順の下で分離されてもよい。

【０１１１】

「鏡像異性体」は、互いに重ね合せできない鏡像である、化合物の２つの立体異性体を指す。

【０１１２】

本明細書で使用される立体化学的な定義および慣例は、一般に、Ｓ．Ｐ．Ｐａｒｋｅｒ，Ｅｄ．，ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｔｅｒｍｓ（１９８４）ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｂｏｏｋ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、およびＥｌｉｅｌ，Ｅ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｎ，Ｓ．，Ｓｔｅｒｅｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ（１９９４）Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋに従う。多くの有機化合物は、光学活性型で存在し、すなわち、それらは、平面偏光の平面を回転させる能力を有する。光学活性化合物を説明する際、接頭辞ＤおよびＬ、またはＲおよびＳは、そのキラル中心（複数可）の周りの分子の絶対配置を表すように使用される。接頭辞ｄおよびｌまたは（＋）および（－）は、化合物による平面偏光の回転の徴候を表記するために用いられ、このうち（－）またはｌは、化合物が左旋性であることを意味する。（＋）またはｄの接頭辞を有する化合物は、右旋性である。所与の化学構造について、これらの立体異性体は、それらが互いの鏡像であることを除いて同一である。特定の立体異性体はまた、鏡像異性体とも称され得、かかる異性体の混合物は、しばしば鏡像異性体混合物と呼ばれる。鏡像異性体の５０：５０混合物は、ラセミ混合物またはラセミ体と称され、それらは化学反応またはプロセスにおいて立体選択または立体特異性が存在していない場合に生じ得る。「ラセミ混合物」および「ラセミ体」という用語は、光学活性を欠く２つの鏡像異性体種の等モル混合物を指す。

【０１１３】

「脱離基」は、別の官能基によって置換され得る官能基を指す。ある特定の脱離基は、当該技術分野で周知であり、例としては、ハロゲン化物（例えば、塩化物、臭化物、ヨウ

化物）、メタンスルホニル（メシル）、ｐ－トルエンスルホニル（トシル）、トリフルオロメチルスルホニル（トリフル酸塩）、およびトリフルオロメチルスルホン酸塩が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１４】

「保護基」という用語は、特定の官能性を、化合物上の他の官能基を反応させながら、ブロッキングするまたは保護するために一般的に用いられる置換基を指す。例えば、「アミノ保護基」は、化合物中のアミノ官能性をブロッキングするまたは保護する、アミノ基に結合した置換基である。好適なアミノ保護基には、アセチル、トリフルオロアセチル、ｔ－ブトキシカルボニル（ＢＯＣ）、ベンジルオキシカルボニル（ＣＢＺ）、および９－フルオレニルメチレンオキシカルボニル（ｆｌｕｏｒｅｎｙｌｍｅｔｈｙｌｅｎｏｘｙｃａｒｂｏｎｙｌ）（Ｆｍｏｃ）が含まれるが、これらに限定されない。保護基およびそれらの使用の一般的説明については、Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９１、またはより新しい版を参照されたい。

【０１１５】

ＩＩ．　組成物および方法

一態様において、本発明は、部分的に、ＬｇＲ５に結合する抗体およびかかる抗体を含む免疫複合体に基づく。本発明の抗体および免疫複合体は、例えば、ＬｇＲ５陽性がんの診断または治療に有用である。

【０１１６】

Ａ．　例となる抗ＬｇＲ５抗体

いくつかの実施形態において、本発明は、ＬｇＲ５に結合する単離抗体を提供する。ＬｇＲ５は、例えば、活性に細胞分裂している腸幹細胞の表面上で見出される、７回膜貫通タンパク質である。本明細書で実証されるように、ＬｇＲ５は、試験された結腸腫瘍切片の約７７％において発現される。

【０１１７】

シグナル配列（アミノ酸１～２１）を含む、例となる自然発生ヒトＬｇＲ５前駆体タンパク質配列は、配列番号６７に提供され、対応する成熟ＬｇＲ５タンパク質配列は、配列番号６８（配列番号６７のアミノ酸２２～９０７に対応する）に示される。

【０１１８】

ある特定の実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、任意の組み合わせで、次の特性のうちの少なくとも１つ以上を有する：（ａ）配列番号６７のアミノ酸２２～５５５内のエピトープに結合する、（ｂ）ＬｇＲ５に、５ｎＭ以下、または４ｎＭ以下、または３ｎＭ以下、または２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、および任意に、０．０００１ｎＭ以上、または０．００１ｎＭ以上、または０．０１ｎＭ以上の親和性で結合する、（ｃ）ＬｇＲ５へのＲ－スポンジン（ＲＳＰＯ）の結合を有意に妨害しない、（ｄ）β－カテニンシグナル伝達を有意に妨害しない、（ｅ）ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を有意に妨害しない、（ｆ）カスパーゼ３開裂を活性化する、（ｇ）ヒトＬｇＲ５および齧歯類ＬｇＲ５の両方を認識する、（ｈ）ヒトＬｇＲ５を認識するが、齧歯類ＬｇＲ５を認識しない、（ｉ）その複合されていない形態で腫瘍成長を有意に阻害しない、ならびに（ｊ）幹細胞分化を誘導しない。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、８Ｅ１１、ならびにｈｕ８Ｅ１１．ｖ２、ＹＷ３５３、２Ｈ６、および３Ｇ１２等のそのヒト化変異体である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒト、カニクイザル、マウス、およびラットＬｇＲ５から選択される。

【０１１９】

（ａ）配列番号６７のアミノ酸２２～５５５内のエピトープに結合する

抗ＬｇＲ５抗体がＬｇＲ５のエピトープに結合するかどうかを決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープ（例えば、配列番号６７のアミノ酸２２～５５５内）への抗ＬｇＲ５抗体の結合は、２９３細胞内で

Ｎ末端およびＣ末端欠失を伴うＬｇＲ５ポリペプチドを発現させること、ならびにＦＡＣＳによって、実施例Ｉに記載されるように、切断型ポリペプチドへの抗体の結合を試験することによって、決定されてもよい。いくつかの実施形態において、２９３細胞内で発現される完全長ＬｇＲ５への結合と比べた、切断型ポリペプチドへの抗体の結合の実質的な低減（７０％以上の低減）または排除は、抗体がその切断型ポリペプチドに結合しないことを示す。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５またはカニクイザルＬｇＲ５である。

【０１２０】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のロイシン（ｌｕｃｉｎｅ）リッチＮ末端ドメイン（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基２５～６６）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５の１つ以上のロイシン（ｌｕｃｉｎｅ）リッチ反復（ＬＲＲ）（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基６７～４４６、ＬｇＲ５のＬＲＲ１～１６）を含む。）。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基６７～９０）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ２（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基９１～１１２）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ３（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基１１５～１３６）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ４（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基１３９～１６０）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ５（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基１６３～１８４）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ６（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基１８７～２０８）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ７（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基２１１～２３２）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ８（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基２３５～２５６）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ９（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基２５８～２７９）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１０（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基２８２～３０３）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１１（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基３０６～３２８）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１２（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基３２９～３５０）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１３（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基３５３～３７４）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１４（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基３７５～３９６）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１５（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基３９９～４２０）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬｇＲ５のＬＲＲ１６（例えば、配列番号６７のアミノ酸残基４２３～４４６）を含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、ＬＲＲ１～ＬＲＲ１１、ＬＲＲ２～ＬＲＲ１１、ＬＲＲ３～ＬＲＲ１１、ＬＬＲ１～ＬＬＲ３、ＬＬＲ２～ＬＬＲ３、ＬＬＲ２～ＬＬＲ８、ＬＬＲ３～ＬＬ７、またはＬＬＲ４～ＬＬＲ６のいずれかを含む。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、配列番号６７のアミノ酸２２～５５５内のエピトープを含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、配列番号６７のアミノ酸２２～４２４内のエピトープを含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、配列番号６７のアミノ酸２２～１２３内のエピトープを含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、配列番号６７のアミノ酸２２～３２３内のエピトープを含む。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５のエピトープは、配列番号６７のアミノ酸３２４～５５５内のエピトープを含む。いくつかの実施形

態において、ＬｇＲ５のエピトープは、配列番号６７のアミノ酸３２４～４２４内のエピトープを含む。

【０１２２】

本明細書に記載される態様および実施形態は、「なること（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ）」および／または態様および実施形態「から事実上なること（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｆｆｅｃｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」を含むことが理解される。

【０１２３】

（ｂ）ＬｇＲ５に、５ｎＭ以下、または４ｎＭ以下、または３ｎＭ以下、または２ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、および任意に、０．０００１ｎＭ以上、または０．００１ｎＭ以上、または０．０１ｎＭ以上の親和性で結合する。

結合親和性を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、結合親和性は、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）アッセイに従って、本明細書の実施例Ｅに記載されるように決定されてもよい。具体的には、いくつかの実施形態において、Ｋｄは、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用した表面プラスモン共鳴アッセイを使用して、測定されてもよい。ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）リサーチグレードＣＭ５チップを、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシコハク酸イミド（ＮＨＳ）試薬により、供給業者の指示に従って活性化してもよい。ヤギ抗ヒトＦｃＩｇＧをチップにカップリングして、各フローセルにおいておよそ１０，０００応答単位（ＲＵ）を達成してもよい。未反応のカップリング基を、１Ｍエタノールアミンによりブロッキングしてもよい。動態測定のために、抗ＬＧＲ５抗体を捕捉して、およそ３００のＲＵを達成してもよい。ヒトＬｇＲ５　ＥＣＤ（例えば、バキュロウイルス株において発現されたＨｉｓ－Ｆｃに融合されたアミノ酸２２～５５７（または２２～５５５等の同様の断片）、またはＣＨＯ細胞から発現されたＦｃに融合されたアミノ酸２２～５５８（または２２～５５５等の同様の断片）、１２５ｎＭ～０．４９ｎＭ）の２倍段階希釈液を、ＨＢＳ－Ｐ緩衝液中（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．４）、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）、２５℃で、３０μＬ／分の流速により注射してもよい。会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）は、１：１　Ｌａｎｇｍｕｉｒ結合モデル（ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ第３．２版）を使用して算出してもよい。平衡解離定数（Ｋｄ）は、比率k_{off}/k_{on}として算出されてもよい。オン速度が、上の表面プラスモン共鳴アッセイによって、$10^6 M^{-1}s^{-1}$を超える場合、オン速度は、撹拌されたキュベットを備えるストップトフロー装着分光光度計（Ａｖｉｖ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または８０００－シリーズＳＬＭ－Ａｍｉｎｃｏ（登録商標）分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）等の分光計において測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、２５℃で、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中２０ｎＭ抗－抗原抗体（Ｆａｂ型）の蛍光発光強度（励起＝２９５ｎｍ、発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍ帯域通過）の増加または減少を測定する、蛍光消光技法を使用することによって、決定されてもよい。

【０１２４】

いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に、約５ｎＭ以下、または約４ｎＭ以下、または約３ｎＭ以下、または約２ｎＭ以下、または約１ｎＭ以下のいずれかの親和性で結合する。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に、約５以下の親和性で結合する。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に、約４ｎＭ以下の親和性で結合する。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に、約３ｎＭ以下の親和性で結合する。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に、約２ｎＭ以下の親和性で結合する。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５またはカニクイザルＬｇＲ５である。

【０１２５】

当業者によって理解されるように、「約」値またはパラメータへの言及は、その値また

はパラメータ自体に対する実施形態を含む（および説明する）。例えば、「約Ｘ」に言及する説明は、「Ｘ」の説明を含む。

【０１２６】

（ｃ）ＬｇＲ５へのＲ－スポンジン（ＲＳＰＯ）の結合を有意に妨害しない

ＬｇＲ５へのＲＳＰＯの結合を妨害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５へのＲ－スポンドン（ｓｐｏｎｄｏｎ）（ＲＳＰＯ）の結合を有意に妨害する抗ＬｇＲ５抗体の能力は、フローサイトメトリーによって決定されてもよい。いくつかの実施形態において、例えば、ＬｇＲ５を発現する２９３細胞は、ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、および／またはＲＳＰＯ４等の、蛍光標識されたＲＳＰＯと、抗ＬｇＲ５抗体の存在および非存在下で接触させられてもよい。２９３細胞へのＲＳＰＯの結合は、蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）を使用して検出されてもよい。いくつかの実施形態において、対照抗体の存在下でのＲＳＰＯ結合と比べた、抗ＬｇＲ５抗体の存在下での約２５％未満のＲＳＰＯ結合の減少は、その抗ＬｇＲ５抗体がＬｇＲ５へのＲＳＰＯの結合を有意に妨害しないことを示す。

【０１２７】

いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５へのＲ－スポンドン（ｓｐｏｎｄｏｎ）（ＲＳＰＯ）の結合を有意に妨害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力は、ＢＩＡｃｏｒｅアッセイによって決定されてもよい。いくつかの実施形態において、例えば、ＬｇＲ５細胞外ドメインは、例えば、本明細書に記載されるように、ＣＭ５チップ上に固定化されてもよく、固定化されたＬｇＲ５への、ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、および／またはＲＳＰＯ４等のＲＳＰＯの結合は、抗ＬｇＲ５抗体の存在および非存在下で決定されてもよい。いくつかの実施形態において、対照抗体の存在下でのＲＳＰＯ結合と比べた、抗ＬｇＲ５抗体の存在下での約２５％未満のＲＳＰＯ結合の減少は、その抗ＬｇＲ５抗体がＬｇＲ５へのＲＳＰＯの結合を有意に妨害しないことを示す。

【０１２８】

いくつかの実施形態において、ＲＳＰＯは、ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、およびＲＳＰＯ４から選択される。いくつかの実施形態において、本抗体は、結合を、約２５％未満、約２０％未満、約１５％未満、または約１０％未満妨害する。いくつかの実施形態において、本抗体は、ＬｇＲ５へのＲＳＰＯの結合を検出可能に妨害しない。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５またはカニクイザルＬｇＲ５である。

【０１２９】

（ｄ）ｗｎｔ／β－カテニンシグナル伝達を有意に妨害しない

ｗｎｔ／β－カテニンシグナル伝達を妨害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、ｗｎｔ／β－カテニンシグナル伝達を有意に妨害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力は、レポーター遺伝子アッセイを使用して決定されてもよい。いくつかの実施形態において、例えば、ｗｎｔ／β－カテニン反応性プロモーター（例えば、多量体化ＴＣＦ／ＬＥＦ　ＤＮＡ結合部位を含むプロモーター等）の制御下で、レポーター遺伝子（例えば、ルシフェラーゼ遺伝子等）を含む、レポーター構築物が、ＬｇＲ５を発現する細胞中にトランスフェクトされてもよい。細胞は次いで、Ｗｎｔ３ａ等のＷｎｔリガンド、ならびにＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、および／またはＲＳＰＯ４等のＲＳＰＯと、抗ＬｇＲ５抗体の存在および非存在下で接触させられ、ルシフェラーゼ発現が測定される。いくつかの実施形態において、対照抗体の存在下でのルシフェラーゼ発現と比べた、抗体の存在下での約２５％未満のルシフェラーゼ発現の減少は、その抗ＬｇＲ５抗体がβ－カテニンシグナル伝達を有意に妨害しないことを示す。

【０１３０】

いくつかの実施形態において、本抗体は、β－カテニンシグナル伝達を、約２５％未満、約２０％未満、約１５％未満、または約１０％未満妨害する。いくつかの実施形態において、本抗体は、β－カテニンシグナル伝達を検出可能に妨害しない。いくつかの実施形

態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５またはカニクイザルＬｇＲ５である。

【０１３１】

（ｅ）ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を有意に妨害しない

ＬｇＲ５のＲＳＰＯ活性化を妨害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を有意に妨害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力は、レポーター遺伝子アッセイを使用して決定されてもよい。いくつかの実施形態において、例えば、β－カテニン反応性プロモーター（例えば、多量体化ＴＣＦ／ＬＥＦ　ＤＮＡ結合部位を含むプロモーター等）の制御下で、レポーター遺伝子（例えば、ルシフェラーゼ遺伝子等）を含む、レポーター構築物が、ＬｇＲ５を発現する細胞中にトランスフェクトされてもよい。細胞は次いで、Ｗｎｔ３ａ等のＷｎｔリガンドと、ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、および／またはＲＳＰＯ４等のＲＳＰＯの存在および非存在下で接触させられてもよく、ＬｇＲ５シグナル伝達の活性化が、ＲＳＰＯの存在下でのルシフェラーゼ発現の増加として測定されてもよい。ＬｇＲ５シグナル伝達の活性化はまた、抗ＬｇＲ５抗体の存在および非存在下で測定されてもよい。いくつかの実施形態において、細胞が対照抗体と対比して抗ＬｇＲ５抗体と接触させられるときの、ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、および／またはＲＳＰＯ４の存在下での約２５％未満のＬｇＲ５シグナル伝達の活性化の減少は、その抗ＬｇＲ５抗体がＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を有意に妨害しないことを示す。

【０１３２】

いくつかの実施形態において、ＲＳＰＯは、ＲＳＰＯ１、ＲＳＰＯ２、ＲＳＰＯ３、およびＲＳＰＯ４から選択される。いくつかの実施形態において、本抗体は、ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を、約２５％未満、約２０％未満、約１５％未満、または約１０％未満妨害する。いくつかの実施形態において、本抗体は、ＬｇＲ５シグナル伝達のＲＳＰＯ活性化を検出可能に妨害しない。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５は、ヒトＬｇＲ５またはカニクイザルＬｇＲ５である。

【０１３３】

（ｆ）カスパーゼ３開裂を活性化する

カスパーゼ３開裂を活性化する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、カスパーゼ３開裂を活性化する、抗ＬｇＲ５抗体の能力は、齧歯類異種移植片モデルにおいて、例えば、実施例Ｎに記載されるように、決定されてもよい。いくつかの実施形態において、切断型カスパーゼ３の存在は、例えば、抗ＬｇＲ５抗体を投与された腸腫瘍発生（ｔｕｍｏｒｏｇｅｎｅｓｉｓ）モデルマウスから収集された、ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）小腸および結腸組織における、腫瘍面積の関数として測定されてもよい。切断型カスパーゼ３の存在は、いくつかの実施形態において、免疫組織化学を使用して決定されてもよい。さらに、いくつかの実施形態において、カスパーゼ３開裂は、陽性腫瘍面積パーセントとして、例えば、実施例Ｎおよび図１８に示されるように、決定されてもよい。

【０１３４】

いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、カスパーゼ３陽性腫瘍面積の割合を、実施例Ｎに記載されるアッセイに従って、少なくとも約２０％、少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、少なくとも約３５％、少なくとも約４０％、少なくとも約４５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、または少なくとも約１００％（すなわち、陽性腫瘍面積の割合は倍増する）のいずれかだけ増加させる。

【０１３５】

（ｇ）ヒトＬｇＲ５および齧歯類ＬｇＲ５の両方を認識する

ヒトおよび齧歯類ＬｇＲ５に結合する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該

技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、ヒトおよび齧歯類ＬｇＲ５ポリペプチドは、２９３細胞において発現され、ＬｇＲ５発現（ｅｓｐｒｅｓｓｉｎｇ）２９３細胞への抗体の結合が、ＦＡＣＳによって、実施例Ｇに記載されるように試験される。いくつかの実施形態において、齧歯類ＬｇＲ５は、マウスまたはラットＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、齧歯類ＬｇＲ５は、マウスＬｇＲ５である。

【０１３６】

（ｈ）ヒトＬｇＲ５を認識するが、齧歯類ＬｇＲ５を認識しない

ヒトＬｇＲ５に結合するが、齧歯類ＬｇＲ５には結合しない、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、ヒトおよび齧歯類ＬｇＲ５ポリペプチドは、２９３細胞において発現され、ＬｇＲ５発現（ｅｓｐｒｅｓｓｉｎｇ）２９３細胞への抗体の結合が、ＦＡＣＳによって、実施例Ｇに記載されるように試験される。いくつかの実施形態において、齧歯類ＬｇＲ５は、マウスまたはラットＬｇＲ５である。いくつかの実施形態において、齧歯類ＬｇＲ５は、マウスＬｇＲ５である。

【０１３７】

（ｉ）その複合されていない形態で腫瘍成長を有意に阻害しない

その複合されていない形態で腫瘍成長を阻害する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、実施例Ｍに記載されるＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデル等の齧歯類異種移植片モデルが、使用される。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、例えば、実施例Ｌに記載されるように、ＬｏＶｏ結腸がん細胞株異種移植片モデルにおいて、その複合されていない形態で腫瘍成長を有意に阻害しない。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、例えば、実施例Ｎに記載されるように、マウス腸腫瘍発生モデルにおいて、その複合されていない形態で腫瘍成長を有意に阻害しない。異種移植片モデルまたはマウス腸腫瘍発生モデルにおける腫瘍成長の阻害は、ビヒクル対照または対照抗体と比べて決定される。

【０１３８】

いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、腫瘍成長を、その複合されていない形態で、約２５％未満、約２０％未満、約１５％未満、または約１０％未満阻害する。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、その複合されていない形態で腫瘍成長を検出可能に阻害しない。

【０１３９】

（ｊ）幹細胞分化を誘導しない

幹細胞分化（ｄｉｆｆｅｒｎｔｉａｔｉｏｎ）を誘導する、抗ＬｇＲ５抗体の能力を決定する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、幹細胞分化は、抗ＬｇＲ５抗体の存在および非存在下で、ＬｇＲ５を発現する、小腸内の迅速に細胞分裂している（ｆａｓｔ－ｃｙｃｌｉｎｇ）幹細胞である、陰窩底部円柱細胞（ＣＢＣ）の、例えば、腸細胞、杯細胞、および／または腸内分泌細胞へと分化する能力を決定することによってアッセイされてもよい。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、抗ＬｇＲ５抗体の存在下で、対照抗体もまたＣＢＣの集団の約２５％未満において幹細胞分化を誘導する条件下で、ＣＢＣの集団の約２５％未満、約２０％未満、約１５％未満、または約１０％未満のいずれかが分化する場合、幹細胞分化を誘導しないと見なされる。

【０１４０】

いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体免疫複合体は、幹細胞分化を誘導しないという主要な機構を通じて、腫瘍成長を阻害する。いくつかのかかる実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体免疫複合体は、免疫複合体における抗体に複合された細胞傷害性薬剤を通じて媒介される細胞傷害性活性を通じて、腫瘍成長を阻害する。

【０１４１】

抗体８Ｅ１１および他の実施形態

いくつかの実施形態において、本発明は、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３

２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む、抗ＬｇＲ５抗体を提供する。

【０１４２】

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。別の実施形態において、本抗体は、配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３および配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１４３】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１４４】

別の態様において、本発明の抗体は、（ａ）（ｉ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｉｉｉ）配列番号３２から選択されるアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＨドメイン、ならびに（ｂ）（ｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＬドメイン、ならびに（ｃ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１４５】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、抗体を提供する。

【０１４６】

上の実施形態のいずれにおいても、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒト化されている。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、上の実施形のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。ある特定の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、ヒトＶＬカッパＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）フレームワークおよび／またはVH_1フレームワークである。ある特定の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、重鎖フレームワーク領域ＦＲ３内にＲ７１Ｓ突然変異およびＡ７８Ｖ突然変異を含む、ヒトＶＬカッパＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）フレームワークおよび／またはVH_1である。

【０１４７】
いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、上の実施形のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、配列番号４０～４３から選択される重鎖フレームワークＦＲ３配列をさらに含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、上の実施形態のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、配列番号４１の重鎖フレームワークＦＲ３配列をさらに含む。いくつかのかかる実施形態において、重鎖可変ドメインフレームワークは、配列番号４０～４３から選択されるＦＲ３配列を有する、修飾されたヒトVH_1フレームワークである。いくつかのかかる実施形態において、重鎖可変ドメインフレームワークは、配列番号４１のＦＲ３配列を有する、修飾されたヒトVH_1フレームワークである。

【０１４８】
いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、上の実施形のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、配列番号３６の軽鎖フレームワークＦＲ３配列をさらに含む。いくつかのかかる実施形態において、重鎖可変ドメインフレームワークは、配列番号３６のＦＲ３配列を有する、修飾されたＶＬカッパＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）フレームワークである。

【０１４９】
別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、１８、および２０から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。ある特定の実施形態において、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、１８、および２０から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＨ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、１８、および２０から選択される配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、１８、および２０から選択される配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。

【０１５０】
いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配

列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。

【０１５１】

任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号６、８、１０、１２、１４、１６、１８、および２０から選択されるＶＨ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１５２】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、配列番号５、７、９、１１、１３、１５、１７、および１９から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。ある特定の実施形態において、配列番号５、７、９、１１、１３、１５、１７、および１９から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＬ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号５、７、９、１１、１３、１５、１７、および１９から選択されるアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号５、７、９、１１、１３、１５、１７、および１９から選択されるアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。

【０１５３】

いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％

、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号１９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。

【０１５４】

任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号５、７、９、１１、１３、１５、１７、および１９から選択されるアミノ酸配列のＶＬ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＬは、（ａ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１５５】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＨ、および上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＬを含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号６および配列番号５におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号８および配列番号７におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号１０および配列番号９におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号１２および配列番号１１におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号１４および配列番号１３におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号１６および配列番号１５におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号１８および配列番号１７におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号２０および配列番号１９におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。

【０１５６】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体を提供する。例えば、ある特定の実施形態において、配列番号８のＶＨ配列および配列番号７のＶＬ配列を含む抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸２２～３２３からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６７のエピトープに結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、アミノ酸１～３１２からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６８のエピトープに結合する、抗体が提供される。

【０１５７】

本発明のさらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、二重特異性抗体、またはＦ（ａｂ’）$_2$断片である。別の実施形態において、本抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるＩｇＧ１抗体または他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【０１５８】

さらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、下の第１～７節に記載される特長のうちのいずれをも、単独でまたは組み合わせて、組み込んでもよい。

【０１５９】

抗体ＹＷ３５３および他の実施形態

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む、抗ＬｇＲ５抗体を提供する。

【０１６０】

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。別の実施形態において、本抗体は、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、および配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１６１】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１６２】

別の態様において、本発明の抗体は、（ａ）（ｉ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｉｉｉ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＨドメイン、ならびに（ｂ）（ｉ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＬドメイン、ならびに（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１６３】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号５９から選択されるアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、抗体を提供する。

【０１６４】

上の実施形態のいずれにおいても、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒト抗体である。

【０１６５】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。ある特定の実施形態において、配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を

有する、ＶＨ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号２６において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号２６において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２６のＶＨ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１６６】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、配列番号２５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。ある特定の実施形態において、配列番号２５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＬ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号２５において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号２５において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２５のＶＬ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＬは、（ａ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１６７】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＨ、および上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＬを含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号２６および配列番号２５におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。

【０１６８】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体を提供する。例えば、ある特定の実施形態において、配列番号２６のＶＨ配列および配列番号２５のＶＬ配列を含む抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸２２～１２３からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６７のエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸１～１０２からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６８のエピトープに結合する、抗体が提供される。

【０１６９】

本発明のさらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、ヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、二重特異性抗体、またはＦ（ａｂ’）$_2$断片である。別の実施形態において、本抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるＩｇＧ２ａ抗体または他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【０１７０】

さらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、下の第１～

７節に記載される特長のうちのいずれをも、単独でまたは組み合わせて、組み込んでもよい。

【０１７１】

抗体３Ｇ１２および他の実施形態

いくつかの実施形態において、本発明は、（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む、抗ＬｇＲ５抗体を提供する。

【０１７２】

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。別の実施形態において、本抗体は、配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３および配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１７３】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１７４】

別の態様において、本発明の抗体は、（ａ）（ｉ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｉｉｉ）配列番号５０から選択されるアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＨドメイン、ならびに（ｂ）（ｉ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＬドメイン、ならびに（ｃ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１７５】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、抗体を提供する。

【０１７６】

上の実施形態のいずれにおいても、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒト化されている。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、上の実施形のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコン

センサスフレームワークをさらに含む。ある特定の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、ヒトＶＬカッパコンセンサス（$ＶＬ_K$）フレームワークおよび／またはヒトＶＨ下位集団３コンセンサス（$ＶＨ_3$）フレームワークである。

【０１７７】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。ある特定の実施形態において、配列番号２２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＨ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号２２のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号２２のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。

【０１７８】

任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２２のＶＨ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１７９】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、配列番号２１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。ある特定の実施形態において、配列番号２１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＬ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号２１のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号２１のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。

【０１８０】

任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２１のＶＬ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＬは、（ａ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号４６アミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１８１】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＨ、および上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＬを含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号２２および配列番号２１におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。

【０１８２】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体を提供する。例えば、ある特定の実施形態において、配列番号２２

のＶＨ配列および配列番号２１のＶＬ配列を含む抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸３２４～４２３からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６７のエピトープに結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、アミノ酸３０３～４０２からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６８のエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸３２４～５５５からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６７のエピトープに結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、アミノ酸３０３～５３４からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６８のエピトープに結合する、抗体が提供される。

【０１８３】

本発明のさらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、二重特異性抗体、またはＦ（ａｂ’）$_2$断片である。別の実施形態において、本抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるＩｇＧ１抗体または他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【０１８４】

さらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、下の第１～７節に記載される特長のうちのいずれをも、単独でまたは組み合わせて、組み込んでもよい。

【０１８５】

抗体２Ｈ６および他の実施形態

いくつかの実施形態において、本発明は、（ａ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む、抗ＬｇＲ５抗体を提供する。

【０１８６】

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。別の実施形態において、本抗体は、配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３および配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、および配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。さらなる実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１８７】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、抗体を提供する。一実施形態において、本抗体は、（ａ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｃ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１８８】

別の態様において、本発明の抗体は、（ａ）（ｉ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｉｉｉ）配列番号５６から選択されるアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＨドメイン、ならびに（ｂ）（ｉ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２から選択される、少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全ての３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む、ＶＬドメイン、ならびに（ｃ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１８９】

別の態様において、本発明は、（ａ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、および（ｆ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、抗体を提供する。

【０１９０】

上の実施形態のいずれにおいても、抗ＬｇＲ５抗体は、ヒト化されている。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、上の実施形のいずれかにあるようなＨＶＲを含み、ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。ある特定の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、ヒトＶＬカッパコンセンサス（$ＶＬ_{K}$）フレームワークおよび／またはヒトＶＨ下位集団３（$ＶＨ_{3}$）フレームワークである。

【０１９１】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。ある特定の実施形態において、配列番号２４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＨ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号２４のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号２４のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。

【０１９２】

任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２４のＶＨ配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、および（ｃ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１９３】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、配列番号２３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。ある特定の実施形態において、配列番号２３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する、ＶＬ配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ＬｇＲ５抗体は、ＬｇＲ５に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計１～１０個のアミノ酸が、配列番号２３のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。あ

る特定の実施形態において、総計１～５個のアミノ酸が、配列番号２３のアミノ酸配列において置換され、挿入され、および／または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。

【０１９４】

任意に、抗ＬｇＲ５抗体は、配列番号２３のＶＬ配列のアミノ酸配列を、その配列の翻訳後修飾を含めて、含む。特定の実施形態において、ＶＬは、（ａ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、ならびに（ｃ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される、１つ、２つ、または３つのＨＶＲを含む。

【０１９５】

別の態様において、抗ＬｇＲ５抗体が提供され、その抗体は、上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＨ、および上に提供される実施形態のいずれかにあるようなＶＬを含む。一実施形態において、本抗体は、それぞれ配列番号２４および配列番号２３におけるＶＨおよびＶＬ配列を、それらの配列の翻訳後修飾を含めて、含む。

【０１９６】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体を提供する。例えば、ある特定の実施形態において、配列番号２４のＶＨ配列および配列番号２３のＶＬ配列を含む抗ＬｇＲ５抗体と同じエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸３２４～４２３からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６７のエピトープに結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、アミノ酸３０３～４０２からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６８のエピトープに結合する、抗体が提供される。ある特定の実施形態において、アミノ酸３２４～５５５からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６７のエピトープに結合する、抗体が提供される。いくつかの実施形態において、アミノ酸３０３～５３４からの、その内の、またはそれと重複する、配列番号６８のエピトープに結合する、抗体が提供される。

【０１９７】

本発明のさらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、二重特異性抗体、またはＦ（ａｂ’）$_2$断片である。別の実施形態において、本抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるＩｇＧ１抗体または他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【０１９８】

さらなる態様において、上の実施形態のいずれかによる抗ＬｇＲ５抗体は、下の第１～７節に記載される特長のうちのいずれをも、単独でまたは組み合わせて、組み込んでもよい。

【０１９９】

１．　抗体親和性

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下、または０．００１ｎＭ以下の、および任意に、10^{-13}Ｍ以上である、解離定数（Ｋｄ）を有する。（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）。

【０２００】

一実施形態において、Ｋｄは、目的の抗体のＦａｂバージョンおよびその抗原と共に行われる、放射標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）によって、次のアッセイによって記載されるように測定される。抗原に対するＦａｂの溶液結合親和性は、Ｆａｂを、未標識抗原の一連の滴定の存在下で、最小濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原と平衡化し、次いで抗Ｆａｂ抗

体コーティングプレートと結合した抗原を捕捉することによって、測定される（例えば、Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するために、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）中５μｇ／ｍＬの捕捉抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ Ｌａｂｓ）で一晩コーティングし、その後、ＰＢＳ中２％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンにより、室温（およそ２３℃）で２～５時間ブロッキングする。非吸着性のプレート（Ｎｕｎｃ番号２６９６２０）中で、１００ｐＭまたは２６ｐＭ［^{125}Ｉ］－抗原を、目的のＦａｂの段階希釈液と混合する（例えば、Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９（１９９７）における、抗ＶＥＧＦ抗体Ｆａｂ－１２の評価と一致）。目的のＦａｂを次いで一晩インキュベートするが、インキュベーションは、平衡に到達することを確実にするために、より長い期間（例えば、約６５時間）継続してもよい。その後、混合物を、室温での（例えば、１時間にわたる）インキュベーションのために、捕捉プレートに移す。溶液を次いで除去し、プレートを、ＰＢＳ中０．１％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））で８回洗浄する。プレートが乾燥したとき、１５０μＬ／ウェルのシンチラント（ｓｃｉｎｔｉｌｌａｎｔ）（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）；Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、プレートをＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）γ計数器（Ｐａｃｋａｒｄ）により１０分間計数する。最大結合の２０％以下をもたらす各Ｆａｂの濃度を、競合結合アッセイにおいて使用するために選定する。

【０２０１】

別の実施形態によれば、Ｋｄは、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用した表面プラスモン共鳴アッセイを使用して、２５℃で、約１０応答単位（ＲＵ）で固定化された抗原ＣＭ５チップを用いて測定される。簡潔に述べると、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ（ＣＭ５，ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシコハク酸イミド（ＮＨＳ）により、供給業者の指示に従って活性化する。抗原を１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ４．８）で５μｇ／ｍＬ（約０．２μＭ）まで希釈した後、５μＬ／分の流速で注射して、カップリングされたタンパク質のおよそ１０応答単位（ＲＵ）を達成する。抗原の注射後、１Ｍのエタノールアミンを注射して、未反応の基をブロッキングする。動態測定のために、Ｆａｂ（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）の２倍段階希釈液を、ＰＢＳ中、０．０５％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））界面活性剤（ＰＢＳＴ）と共に、２５℃で、およそ２５μＬ／分の流速で注射する。会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）を、単純な１対１Ｌａｎｇｍｕｉｒ結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｓｏｆｔｗａｒｅ第３．２版）を使用して、会合センサグラムおよび解離センサグラムを同時に適合することによって、算出する。平衡解離定数（Ｋｄ）は、比率k_{off}/k_{on}として算出する。例えば、Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい。オン速度が、上の表面プラスモン共鳴アッセイによって、10^{6}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$を超える場合、オン速度は、撹拌されたキュベットを備えるストップトフロー装着分光光度計（Ａｖｉｖ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または８０００－シリーズＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）等の分光計において測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、２５℃で、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中２０ｎＭ抗－抗原抗体（Ｆａｂ型）の蛍光発光強度（励起＝２９５ｎｍ、発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍ帯域通過）の増加または減少を測定する、蛍光消光技法を使用することによって、決定することができる。

【０２０２】

２．　抗体断片

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、およびｓｃＦｖ断

片、ならびに下に記載される他の断片が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）を参照されたい。ｓｃＦｖ断片の概説については、例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，ｉｎ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ），ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照されたく、また、国際公開第９３／１６１８５号、および米国特許第５，５７１，８９４号および同第５，５８７，４５８号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加した体内半減期を有する、ＦａｂおよびＦ（ａｂ’）$_2$断片の考察については、米国特許第５，８６９，０４６号を参照されたい。

【０２０３】

二重特異性抗体は、二価性または二重特異性であり得る、２つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第４０４，０９７号、国際公開第１９９３／０１１６１号、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）、およびＨｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４－６４４８（１９９３）を参照されたい。三重特異性抗体および四重特異性抗体もまた、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）に記載される。

【０２０４】

単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部分または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部分を含む、抗体断片である。ある特定の実施形態において、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ、例えば、米国特許第６，２４８，５１６　Ｂ１号を参照されたい）。

【０２０５】

抗体断片は、本明細書に記載される、インタクトな抗体のタンパク質分解、ならびに組み換え宿主細胞（例えば、大腸菌またはファージ）による産生を含むが、これらに限定されない、種々の技法によって作製することができる。

【０２０６】

３．　キメラおよびヒト化抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号、およびＭｏｒｒｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５（１９８４）に記載される。一実施例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサル等の非ヒト霊長類に由来する可変領域）およびヒト定常領域を含む。さらなる実施例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のそれから変更された、「クラススイッチされた」抗体である。キメラ抗体には、それらの抗原結合断片が含まれる。

【０２０７】

ある特定の実施形態において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減するために、ヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、ＨＶＲ、例えば、ＣＤＲ（またはそれらの部分）が非ヒト抗体に由来し、ＦＲ（またはそれらの部分）がヒト抗体配列に由来する、１つ以上の可変ドメインを含む。任意にヒト化抗体はまた、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体におけるいくつかのＦＲ残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元するまたは改善するために、非ヒト抗体（例えば、ＨＶＲ残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

【０２０８】

ヒト化抗体およびそれらを作製する方法は、例えば、Ａｌｍａｇｒｏ　ａｎｄ　Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）に概説され、また例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３３２：３２３

－３２９（１９８８）、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９－１００３３（１９８９）、米国特許第５，８２１，３３７号、同第７，５２７，７９１号、同第６，９８２，３２１号、および同第７，０８７，４０９号、Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５－３４（２００５）（ＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）移植法を記載する）、Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９－４９８（１９９１）（「リサーフェシング（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）」を記載する）、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３－６０（２００５）（「ＦＲシャフリング」を記載する）、ならびにＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１－６８（２００５）およびＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２－２６０（２０００）（ＦＲシャフリングへの「誘導選択（ｇｕｉｄｅｄ ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ）」アプローチを記載する）にさらに記載される。

【０２０９】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域には、「最良適合（ｂｅｓｔ－ｆｉｔ）」法を使用して選択されるフレームワーク領域（例えば、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）を参照されたい）、軽鎖または重鎖可変領域の特定の下位集団のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）、およびＰｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）を参照されたい）、ヒト成熟（体細胞突然変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞株フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）を参照されたい）、ならびにＦＲライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：１０６７８－１０６８４（１９９７）およびＲｏｓｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７１：２２６１１－２２６１８（１９９６）を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。

【０２１０】

４．　ヒト抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で既知の種々の技法を使用して産生することができる。ヒト抗体は、一般に、ｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５：３６８－７４（２００１）およびＬｏｎｂｅｒｇ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０：４５０－４５９（２００８）に記載される。

【０２１１】

ヒト抗体は、免疫原を、抗原投与に応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を含むインタクトな抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に投与することによって、調製されてもよい。かかる動物は典型的に、内因性免役グロブリン遺伝子座を置き換える、または染色体外に存在するか、もしくは動物の染色体中に無作為に組み込まれる、ヒト免役グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内因性免役グロブリン遺伝子座は一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３：１１１７－１１２５（２００５）を参照されたい。また、例えば、米国特許第６，０７５，１８１号および同第６，１５０，５８４号（ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術を記載する）、米国特許第５，７７０，４２９号（ＨｕＭａｂ（登録商標）技術を記載する）、米国特許第７，０４１，８７０号（Ｋ－Ｍ ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術を記載する）、ならびに米国特許出願公開第ＵＳ ２００７／００６１９００号（ＶｅｌｏｃｉＭｏｕｓｅ（登録商標）技術を記載する）も参照されたい。かかる動物によって生成されるインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに修飾されてもよい。

【０２１２】
ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫およびマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株が記載されている。（例えば、Ｋｏｚｂｏｒ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）、Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７）、およびＢｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：８６（１９９１）を参照されたい）。ヒトＢ－細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されるヒト抗体もまた、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２（２００６）に記載される。追加の方法には、例えば、米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトＩｇＭ抗体の産生を記載する）、およびＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５－２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマを記載する）に記載されるものが含まれる。ヒトハイブリドーマ技術（Ｔｒｉｏｍａ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）はまた、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）：９２７－９３７（２００５）およびＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５－９１（２００５）にも記載される。

【０２１３】
ヒト抗体はまた、Ｆｖクローン可変ドメイン配列をヒト由来ファージディスプレイライブラリから単離することによって、生成されてもよい。かかる可変ドメイン配列は次いで、所望のヒト定常ドメインと組み合わされてもよい。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法が、下に記載される。

【０２１４】
５．　ライブラリ由来抗体
本発明の抗体は、コンビナトリアルライブラリを、所望の活性（単数または複数）を有する抗体についてスクリーニングすることによって、単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、かかるライブラリを、所望の結合特性を保有する抗体についてスクリーニングするための、多様な方法が当該技術分野で知られている。かかる方法は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００１）に概説され、またさらに、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９２）、Ｍａｒｋｓ ａｎｄ Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１６１－１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３）、Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０（２００４）、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３（２００４）、Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７－１２４７２（２００４）、およびＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２（２００４）に記載される。

【０２１５】
ある特定のファージディスプレイ法において、ＶＨおよびＶＬ遺伝子のレパートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって別個にクローニングされ、ファージライブラリ中で無作為に組み換えられ、それを次いで、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２：４３３－４５５（１９９４）に記載されるように、抗原

結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは典型的に、１本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片としてまたはＦａｂ断片としてのいずれかで、抗体断片を提示する。免疫された源からのライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。代替的に、ナイーブレパートリーをクローニングして（例えば、ヒトから）、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ，１２：７２５－７３４（１９９３）によって記載されるように、いずれの免疫化も伴わずに、広範な非自己抗原およびまた自己抗原に対する抗体の単一の源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリはまた、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１－３８８（１９９２）に記載されるように、幹細胞からの再配列されていないＶ遺伝子セグメントをクローニングし、無作為配列を含有するＰＣＲプライマーを使用して高度可変ＣＤＲ３領域をコードし、体外で再配列を達成することによって、合成的に作製することができる。ヒト抗体ファージライブラリを記載する特許公開には、例えば、米国特許第５，７５０，３７３号、および米国特許公開第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号、および同第２００９／０００２３６０号が含まれる。

【０２１６】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書でヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【０２１７】

６．　多重特異性抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも２つの異なる部位に対する結合特異性を有する、モノクローナル抗体である。ある特定の実施形態において、結合特異性のうちの一方は、ＬｇＲ５に対するものであり、他方は、任意の他の抗原に対するものである。ある特定の実施形態において、結合特異性のうちの一方は、ＬｇＲ５に対するものであり、他方は、ＣＤ３に対するものである。例えば、米国特許第５，８２１，３３７号を参照されたい。ある特定の実施形態において、二重特異性抗体は、ＬｇＲ５の２つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体をまた使用して、細胞傷害性薬剤を、ＬｇＲ５を発現する細胞に限局化させてもよい。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製することができる。

【０２１８】

多重特異性抗体を作製するための技法には、異なる特異性を有する２つの免役グロブリン重鎖－軽鎖対の組み換え共発現（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ ３０５：５３７（１９８３）、国際公開第９３／０８８２９号、およびＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：３６５５（１９９１）を参照されたい）、「ノブ・イン・ホール（ｋｎｏｂ－ｉｎ－ｈｏｌｅ）」操作（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。多重特異性抗体はまた、静電的ステアリング（ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃ ｓｔｅｅｒｉｎｇ）効果を操作して抗体Ｆｃ－ヘテロ二量体分子を作製すること（国際公開第２００９／０８９００４Ａ１号）、２つ以上の抗体または断片を架橋すること（例えば、米国特許第４，６７６，９８０号、およびＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）を参照されたい）、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること（例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）を参照されたい）、「二重特異性抗体」技術を使用して二重特異性抗体断片を作製すること（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）を参照されたい）、および１本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体を使用すること（例えば、Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５２：５３６８（１９９４）を参照さ

れたい）、ならびに例えば、Ｔｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）に記載される三重特異性抗体を調製することによって、作製されてもよい。

【０２１９】

「オクトパス（Ｏｃｔｏｐｕｓ）抗体」を含む、３つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体もまた、本明細書に含まれる（例えば、米国公開特許第２００６／００２５５７６Ａ１号を参照されたい）。

【０２２０】

本明細書における抗体または断片にはまた、ＬｇＲ５ならびに別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用（Ｄｕａｌ　Ａｃｔｉｎｇ）ＦＡｂ」または「ＤＡＦ」が含まれる（例えば、米国公開特許第２００８／００６９８２０号を参照されたい）。

【０２２１】

７．　抗体変異体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性および／または他の生物学的特性を改善することが望ましいことがある。抗体のアミノ酸配列変異体は、適切な修飾を、抗体をコードするヌクレオチド配列中に導入することによって、またはペプチド合成によって、調製されてもよい。かかる修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの残基の欠失、および／またはそこへ残基の挿入、および／またはその内の残基の置換が含まれる。欠失、挿入、および置換の任意の組み合わせを作製して、最終構築物に到達することができるが、但し、その最終構築物が、所望の特性、例えば、抗原結合性を保有することを条件とする。

【０２２２】

ａ）置換、挿入、および欠失変異体

ある特定の実施形態において、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換型突然変異生成に対する目的の部位には、ＨＶＲおよびＦＲが含まれる。保存的置換は、表１において、「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化は、表１において、「例となる置換」の見出しの下に提供され、またアミノ酸側鎖クラスを参照して下にさらに記載される。アミノ酸置換が目的の抗体中に導入され、生成物が、所望の活性、例えば、保持／改善された抗原結合、減少した免疫原性、または改善されたＡＤＣＣもしくはＣＤＣについて、スクリーニングされてもよい。

表１

元の残基	例となる置換	好ましい置換
Ａｌａ（A）	Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ	Ｖａｌ
Ａｒｇ（R）	Ｌｙｓ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ	Ｌｙｓ
Ａｓｎ（N）	Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ａｓｐ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ	Ｇｌｎ
Ａｓｐ（D）	Ｇｌｕ、Ａｓｎ	Ｇｌｕ
Ｃｙｓ（C）	Ｓｅｒ、Ａｌａ	Ｓｅｒ
Ｇｌｎ（Q）	Ａｓｎ、Ｇｌｕ	Ａｓｎ
Ｇｌｕ（E）	Ａｓｐ、Ｇｌｎ	Ａｓｐ
Ｇｌｙ（G）	Ａｌａ	Ａｌａ
Ｈｉｓ（H）	Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ	Ａｒｇ
Ｉｌｅ（I）	Ｌｅｕ、Ｖａｌ、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｐｈｅ、ノルロイシン	Ｌｅｕ
Ｌｅｕ（L）	ノルロイシン、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｐｈｅ	Ｉｌｅ
Ｌｙｓ（K）	Ａｒｇ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ	Ａｒｇ
Ｍｅｔ（M）	Ｌｅｕ、Ｐｈｅ、Ｉｌｅ	Ｌｅｕ
Ｐｈｅ（F）	Ｔｒｐ、Ｌｅｕ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ａｌａ、Ｔｙｒ	Ｔｙｒ
Ｐｒｏ（P）	Ａｌａ	Ａｌａ
Ｓｅｒ（S）	Ｔｈｒ	Ｔｈｒ
Ｔｈｒ（T）	Ｖａｌ、Ｓｅｒ	Ｓｅｒ
Ｔｒｐ（W）	Ｔｙｒ、Ｐｈｅ	Ｔｙｒ
Ｔｙｒ（Y）	Ｔｒｐ、Ｐｈｅ、Ｔｈｒ、Ｓｅｒ	Ｐｈｅ
Ｖａｌ（V）	Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ｐｈｅ、Ａｌａ、ノルロイシン	Ｌｅｕ

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って分類されてもよい：

（１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、

（２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、

（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ、

（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、

（５）鎖配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、

（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【０２２３】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーを別のクラスと交換することを伴うであろう。

【０２２４】

置換変異体の１つの種類は、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗体）の１個以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される、結果と

して生じる変異体（複数可）は、親抗体と比べて、ある特定の生物学的特性（例えば、増加した親和性、低減された免疫原性）における修飾（例えば、改善）を有することになり、および／または親抗体の、実質的に保持されたある特定の生物学的特性を有することになる。例となる置換変異体は、例えば、本明細書に記載されるもの等のファージディスプレイベースの親和性成熟技法を使用して、好都合に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔に述べると、１個以上のＨＶＲ残基が突然変異させられ、変異体抗体がファージ上で提示され、特定の生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【０２２５】

変化（例えば、置換）は、ＨＶＲにおいて、例えば、抗体親和性を改善するために、行われてもよい。かかる変化は、ＨＶＲ「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で突然変異を経るコドンによってコードされる残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６（２００８）を参照されたい）、および／またはＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）において行われてもよく、結果として生じる変異体ＶＨまたはＶＬが、結合親和性について試験される。二次ライブラリを構築し、そこから再選択することによる親和性成熟は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態において、多様性が、多様な方法（例えば、変異性ＰＣＲ、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性突然変異生成）のうちのいずれかによって、成熟のために選定された可変遺伝子中に導入される。二次ライブラリが次いで作り出される。ライブラリは次いで、所望の親和性を有する任意の抗体変異体を特定するために、スクリーニングされる。多様性を導入するための別の方法は、数個のＨＶＲ残基（例えば、１回に４～６個の残基）が無作為化される、ＨＶＲ指向性アプローチを伴う。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えば、アラニンスキャニング突然変異生成またはモデリングを使用して、具体的に特定されてもよい。特にＣＤＲ－Ｈ３およびＣＤＲ－Ｌ３が、しばしば標的とされる。

【０２２６】

ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、かかる変化が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、１つ以上のＨＶＲ内で生じてもよい。例えば、結合親和性を実質的に低減しない保存的変化（例えば、本明細書に提供される保存的置換）が、ＨＶＲにおいて行われてもよい。かかる変化は、ＨＶＲ「ホットスポット」またはＳＤＲの外側にあってもよい。上に提供される変異体ＶＨおよびＶＬ配列のある特定の実施形態において、各ＨＶＲは、変化させられないか、またはわずか１つ、２つ、もしくは３つのアミノ酸置換を含有するにすぎないかのいずれかである。

【０２２７】

突然変異生成のための標的とされ得る、抗体の残基または領域の特定のための有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５によって記載される、「アラニンスキャニング突然変異生成」と呼ばれるものである。この方法において、標的残基（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、およびｇｌｕ等の荷電残基）のうちのある残基または基が特定され、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）によって置き換えられて、抗体の抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを決定する。さならる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の場所に導入されてもよい。代替的に、または追加的に、抗原－抗体複合体の結晶構造を使用して、抗体と抗原との間の接触点が特定される。かかる接触残基および隣接する残基は、置換の候補として標的とされるか、または排除されてもよい。変異体は、それらが所望の特性を含有するかどうかを決定するために、スクリーニングされてもよい。

【０２２８】

アミノ酸配列挿入は、１個の残基から１００個以上の残基を含有するポリペプチドの範囲の長さである、アミノ末端および／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一のまた

は多数のアミノ酸残基の配列内（ｉｎｔｒａｓｅｑｕｅｎｃｅ）挿入を含む。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異体には、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、ＡＤＥＰＴのための）またはポリペプチドに対する抗体のＮ末端またはＣ末端への融合が含まれる。

【０２２９】

ｂ）グリコシル化変異体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変化させられる。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、１つ以上のグリコシル化部位が作り出されるか、または除去されるように、アミノ酸配列を変化させることによって、好都合に遂行されてもよい。

【０２３０】

抗体がＦｃ領域を含む場合、そこに結合した炭水化物が変化させられてもよい。哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、典型的に、一般にＮ－結合によって、Ｆｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７に結合される、分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ　ｅｔ　ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ　１５：２６－３２（１９９７）を参照されたい。オリゴ糖には、種々の炭水化物、例えば、マンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、およびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」においてＧｌｃＮＡｃに結合したフコースが含まれ得る。いくつかの実施形態において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある特定の改善された特性を有する抗体変異体を作り出すために行われてもよい。

【０２３１】

一実施形態において、Ｆｃ領域に（直接的にまたは間接的に）結合されるフコースを欠いた炭水化物構造を有する、抗体変異体が提供される。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、または２０％～４０％であってもよい。フコースの量は、例えば、国際公開第２００８／０７７５４６号に記載されるように、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析法によって測定するとき、Ａｓｎ　２９７に結合した全ての糖鎖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、および高マンノース構造）の合計と比べた、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を算出することによって決定される。Ａｓｎ２９７は、Ｆｃ領域における約２９７位（Ｆｃ領域残基のＥｕ付番）に位置するアスパラギン残基を指すが、Ａｓｎ２９７はまた、抗体における小規模な配列変異に起因して、２９７位から約±３アミノ酸上流または下流、すなわち、２９４位～３００位の間にも位置する。かかるフコシル化変異体は、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。例えば、米国特許公開第ＵＳ　２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）、同第ＵＳ　２００４／００９３６２１号（Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ　Ｋｏｇｙｏ　Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異体に関連する刊行物の例としては、米国公開特許第２００３／０１５７１０８号、国際公開第２０００／６１７３９号、国際公開第２００１／２９２４６号、米国公開特許第２００３／０１１５６１４号、米国公開特許第２００２／０１６４３２８号、米国公開特許第２００４／００９３６２１号、米国公開特許第２００４／０１３２１４０号、米国公開特許第２００４／０１１０７０４号、米国公開特許第２００４／０１１０２８２号、米国公開特許第２００４／０１０９８６５号、国際公開第２００３／０８５１１９号、国際公開第２００３／０８４５７０号、国際公開第２００５／０３５５８６号、国際公開第２００５／０３５７７８号、国際公開第２００５／０５３７４２号、国際公開第２００２／０３１１４０号、Ｏｋａｚａｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９－１２４９（２００４）、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損したＬｅｃ１３　ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ　ｅｔ　ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３－５４５（１９８６）、米国特許出願第ＵＳ　２００３／０１５７１０８　Ａ１号、Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ、および国際公開第２００４／０５６３１２　Ａ１号、Ａｄａｍｓｅｔ　ａｌ．，（特

に実施例１１で））、およびα－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８、ノックアウトＣＨＯ細胞等のノックアウト細胞株（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）、Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０－６８８（２００６）、および国際公開第２００３／０８５１０７号を参照されたい）が挙げられる。

【０２３２】

二分されたオリゴ糖類を有する、例えば、抗体のＦｃ領域に結合した二分岐オリゴ糖類がＧｌｃＮＡｃによって二分される、抗体変異体がさらに提供される。かかる抗体変異体は、低減されたフコシル化および／または改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。かかる抗体変異体の例は、例えば、国際公開第２００３／０１１８７８号（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔら）、米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａら）、および米国公開特許第２００５／０１２３５４６号（Ｕｍａｎａら）に記載される。Ｆｃ領域に結合したオリゴ糖類において少なくとも１個のガラクトース残基を有する、抗体変異体もまた提供される。かかる抗体変異体は、改善されたＣＤＣ機能を有し得る。かかる抗体変異体は、例えば、国際公開第１９９７／３００８７号（Ｐａｔｅｌら）、国際公開第１９９８／５８９６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）、および国際公開第１９９９／２２７６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）に記載される。

【０２３３】

ｃ）Ｆｃ領域変異体

ある特定の実施形態において、１つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のＦｃ領域に導入され、それによってＦｃ領域変異体を生成してもよい。Ｆｃ領域変異体は、１つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含む、ヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域）を含んでもよい。

【０２３４】

ある特定の実施形態において、本発明は、いくつかのエフェクター機能を保有するが、全てのエフェクター機能は保有せず、それにより、体内での抗体の半減期が重要であるが、なおもある特定のエフェクター機能（補体およびＡＤＣＣ等）が不必要または有害である場合の適用に対する望ましい候補となる、抗体変異体を企図する。体外および／または体内細胞傷害性アッセイを実行して、ＣＤＣおよび／またはＡＤＣＣ活性の低減／枯渇を確認することができる。例えば、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実行して、抗体がＦｃγＲ結合を欠いている（よって、ＡＤＣＣ活性を欠いている可能性が高い）が、ＦｃＲｎ結合能力を保持していることを確実にすることができる。ＡＤＣＣを媒介するための主要な細胞であるＮＫ細胞は、Ｆｃ（ＲＩＩＩのみを発現するが、一方で単球は、Ｆｃ（ＲＩ、Ｆｃ（ＲＩＩ、およびＦｃ（ＲＩＩＩを発現する。造血細胞上でのＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ　ａｎｄ　Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－４９２（１９９１）の４６４ページの表３に要約される。目的の分子のＡＤＣＣ活性を評価するための体外アッセイの非限定的な例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えば、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ．ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８３：７０５９－７０６３（１９８６）を参照されたい）およびＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：１４９９－１５０２（１９８５）、５，８２１，３３７（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１－１３６１（１９８７）を参照されたい）に記載される。代替的に、非放射性アッセイ法が用いられてもよい（例えば、フローサイトメトリーのためのＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ，ＣＡ、およびＣｙｔｏＴｏｘ　９６（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を参照されたい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）およびナチュラルキラー細胞が含まれる。代替的に、または追加的に、目的の分

子のＡＤＣＣ活性は、体内で、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９５：６５２－６５６（１９９８）に開示されるもの等の動物モデルにおいて、評価されてもよい。Ｃ１ｑ結合アッセイをまた行って、抗体がＣ１ｑに結合不可能であり、よってＣＤＣ活性を欠いていることを確認してもよい。例えば、国際公開第２００６／０２９８７９号および国際公開第２００５／１００４０２号におけるＣ１ｑおよびＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイを行ってもよい（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２０２：１６３（１９９６）、Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１０１：１０４５－１０５２（２００３）、およびＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ａｎｄ　Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｂｌｏｏｄ　１０３：２７３８－２７４３（２００４）を参照されたい）。ＦｃＲｎ結合および体内クリアランス／半減期決定もまた、当該技術分野で既知の方法を使用して行うことができる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９－１７６９（２００６）を参照されたい）。

【０２３５】

低減されたエフェクター機能を有する抗体には、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、および３２９のうちの１つ以上の置換を有するものが含まれる（米国特許第６，７３７，０５６号）。かかるＦｃ突然変異体には、アラニンへの残基２６５および２９７の置換を有するいわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ突然変異体を含む（米国特許第７，３３２，５８１号）、アミノ酸２６５、２６９、２７０、２９７、および３２７位のうちの２つ以上において置換を有するＦｃ突然変異体が含まれる。

【０２３６】

ＦｃＲへの改善されたまたは減少した結合を有する、ある特定の抗体変異体が記載される。（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号、国際公開第２００４／０５６３１２号、およびＳｈｉｅｌｄｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４（２００１）を参照されたい）。

【０２３７】

ある特定の実施形態において、抗体変異体は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８、３３３、および／または３３４位（残基のＥＵ付番）における置換を有する、Ｆｃ領域を含む。

【０２３８】

いくつかの実施形態において、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号、国際公開第９９／５１６４２号、およびＩｄｕｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）に記載されるように、変化した（すなわち、改善されたまたは減少したのいずれか）Ｃ１ｑ結合および／または補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）をもたらす変化が、Ｆｃ領域において行われる。

【０２３９】

母体のＩｇＧの胎児への移入に関与する、増加した半減期および新生児型Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への改善された結合を有する抗体（Ｇｕｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）およびＫｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４）が、米国公開特許第２００５／００１４９３４Ａ１号（Ｈｉｎｔｏｎら）に記載される。それらの抗体は、ＦｃＲｎへのＦｃ領域の結合を改善する、１つ以上の置換を内部に有するＦｃ領域を含む。かかるＦｃ変異体には、Ｆｃ領域残基２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、または４３４のうちの１つ以上における置換、例えば、Ｆｃ領域残基４３４の置換（米国特許第７，３７１，８２６号）を有するものが含まれる。

【０２４０】

また、Ｆｃ領域変異体の他の例に関して、Ｄｕｎｃａｎ＆Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８－４０（１９８８）、米国特許第５，６４８，２６０号、米国特許第５

，６２４，８２１号、および国際公開第９４／２９３５１号も参照されたい。
【０２４１】
ｄ）システイン操作された抗体変異体
ある特定の実施形態において、抗体の１個以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「チオＭａｂ」を作り出すことが望ましい場合がある。特に実施形態において、置換残基は、抗体の利用しやすい部位において生じる。それらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基はそれによって、抗体の利用しやすい部位に位置付けられ、それを使用して、抗体を、薬物部分またはリンカー－薬物部分等の他の部分に複合して、本明細書にさらに記載される、免疫複合体を作り出してもよい。ある特定の実施形態において、次の残基のうちの任意の１個以上が、システインで置換されてもよい：軽鎖のＶ２０５（Ｋａｂａｔ付番）、重鎖のＡ１１８（ＥＵ付番）、および重鎖Ｆｃ領域のＳ４００（ＥＵ付番）。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第７，５２１，５４１号に記載されるように生成されてもよい。
【０２４２】
例となるｈｕ８Ｅ１１．ｖ２軽鎖（ＬＣ）Ｖ２０５ＣチオＭａｂは、それぞれ配列番号６４および７４の重鎖および軽鎖配列を有する。例となるｈｕ８Ｅ１１．ｖ２重鎖（ＨＣ）Ａ１１８ＣチオＭａｂは、それぞれ配列番号７５および６３の重鎖および軽鎖配列を有する。例となるｈｕ８Ｅ１１．ｖ２重鎖（ＨＣ）Ｓ４００ＣチオＭａｂは、それぞれ配列番号７６および６３の重鎖および軽鎖配列を有する。
【０２４３】
例となるＹＷ３５３軽鎖（ＬＣ）Ｖ２０５ＣチオＭａｂは、それぞれ配列番号６６および７７の重鎖および軽鎖配列を有する。例となるＹＷ３５３重鎖（ＨＣ）Ａ１１８ＣチオＭａｂは、それぞれ配列番号７８および６５の重鎖および軽鎖配列を有する。例となるＹＷ３５３重鎖（ＨＣ）Ｓ４００ＣチオＭａｂは、それぞれ配列番号７９および６５の重鎖および軽鎖配列を有する。
【０２４４】
さらなる例となるＶ２０５Ｃシステイン操作されたチオＭａｂは、配列番号３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、および２３から選択される可変領域ならびに配列番号８０の定常領域を含む、軽鎖と、配列番号４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、および２４から選択される可変領域ならびにＩｇＧ１等のヒト重鎖定常領域を含む、重鎖とを含む。さらなる例となるＡ１１８Ｃシステイン操作されたチオＭａｂは、配列番号３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、および２３から選択される可変領域ならびにカッパ軽鎖定常領域等のヒト軽鎖定常領域を含む、軽鎖と、配列番号４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、および２４から選択される可変領域ならびに配列番号８１の定常領域を含む、重鎖とを含む。さらなる例となるＳ４００Ｃシステイン操作されたチオＭａｂは、配列番号３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、および２３から選択される可変領域ならびにカッパ軽鎖定常領域等のヒト軽鎖定常領域を含む、軽鎖と、配列番号４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、および２４から選択される可変領域ならびに配列番号８２の定常領域を含む、重鎖とを含む。
【０２４５】
ｅ）抗体誘導体
ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、容易に入手可能な、追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、およびデキストランま

たはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレン（ｐｒｏｐｒｏｐｙｌｅｎｅ）グリコールホモポリマー、プロリプロピレン（ｐｒｏｌｙｐｒｏｐｙｌｅｎｅ）オキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性に起因して、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってもよく、分岐しているか、または非分岐であり得る。抗体に結合したポリマーの数は、様々であってもよく、１つを超えるポリマーが結合される場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／または種類は、改善対象の抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定の条件下で療法において使用されるかどうか等を含むが、これらに限定されない考慮に基づいて、決定することができる。

【０２４６】

別の実施形態において、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る、抗体および非タンパク質性部分の複合体が提供される。一実施形態において、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブ（Ｋａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　１０２：１１６００－１１６０５（２００５）である。放射線は、任意の波長のものであってもよく、一般の細胞を害さないが、非タンパク質性部分を、抗体－非タンパク質性部分に近位の細胞が死滅させられる温度まで加熱する波長が含まれるが、これらに限定されない。

【０２４７】

Ｂ．　組み換え法および組成物

抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号に記載される、組み換え法および組成物を使用して産生されてもよい。一実施形態において、本明細書に記載される、抗ＬｇＲ５抗体をコードする単離核酸が提供される。かかる核酸は、抗体のＶＬを含むアミノ酸配列および／またはＶＨを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む１つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む宿主細胞が提供される。１つのかかる実施形態において、宿主細胞は、（１）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列および抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（２）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第１のベクター、および抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第２のベクターを含む（例えば、それらで形質転換されている）。一実施形態において、宿主細胞は、真核性、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞またはリンパ球系細胞（例えば、Ｙ０、ＮＳ０、Ｓｐ２０細胞）である。一実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体を作製する方法が提供され、本方法は、上に提供される抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意に、抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することとを含む。

【０２４８】

抗ＬｇＲ５抗体の組み換え産生のために、例えば、上述の、抗体をコードする核酸が、単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニングおよび／または発現のために、１つ以上のベクター中に挿入される。かかる核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能である、オリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、配列決定され得る。

【０２４９】

抗体コードベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、本明細書に記載される原核または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化およびＦｃエフェクター機能が必要とされない場合に、細菌において産生されてもよい。細菌における抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第５，６４８，２３７号、同第５，７８９，１９９号、および同第５，８４０，５２３号を参照されたい。（ま

た、大腸菌における抗体断片の発現を記載する、Ｃｈａｒｌｔｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３），ｐｐ．２４５－２５４も参照されたい）。発現後、抗体は、可溶性画分において細菌細胞ペーストから単離されてもよく、またさらに精製することができる。

【０２５０】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母等の真核微生物は、抗体コードベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、それには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌および酵母株が含まれる。Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２２：１４０９－１４１４（２００４）、およびＬｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２４：２１０－２１５（２００６）を参照されたい。

【０２５１】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物および脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物および昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞と併せて、特にヨトウガ細胞のトランスフェクションのために、使用され得る、多数のバキュロウイルス株が特定されている。

【０２５２】

植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第５，９５９，１７７号、同第６，０４０，４９８号、同第６，４２０，５４８号、同第７，１２５，９７８号、および同第６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのＰＬＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ（商標）技術を記載している）を参照されたい。

【０２５３】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳類細胞株が、有用であり得る。有用な哺乳類宿主細胞株の他の例としては、ＳＶ４０によって形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株（ＣＯＳ－７）；ヒト胚性腎臓株（例えば、Ｇｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７）に記載される、２９３または２９３細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ）；マウスセルトリ細胞（例えば、Ｍａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１（１９８０）に記載される、ＴＭ４細胞）；サル腎臓細胞（ＣＶ１）；アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６）；ヒト子宮頚がん細胞（ＨＥＬＡ）；イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ；バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ ３Ａ）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８）；ヒト肝がん細胞（Ｈｅｐ Ｇ２）；マウス乳腺腫瘍（ＭＭＴ ０６０５６２）；例えば、Ｍａｔｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎａｌｓ Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８（１９８２）に記載される、ＴＲＩ細胞；ＭＲＣ ５細胞；およびＦＳ４細胞がある。他の有用な哺乳類宿主細胞株には、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞（Ｕｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６（１９８０）を含む、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞；ならびにＹ０、ＮＳ０、およびＳｐ２／０等の骨髄腫細胞株が含まれる。抗体産生に好適なある特定の哺乳類宿主細胞株の概説については、例えば、Ｙａｚａｋｉ ａｎｄ Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ），ｐｐ．２５５－２６８（２００３）を参照されたい。

【０２５４】

Ｃ． アッセイ

本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体は、それらの物理／化学特性および／または生物活性について、当該技術分野で既知の種々のアッセイによって、特定され、スクリーニングされ、または特徴付けられてもよい。

【０２５５】

一態様において、本発明の抗体は、その抗原結合活性について、例えば、ＥＬＩＳＡ、ＢＩＡＣｏｒｅ（登録商標）、ＦＡＣＳ、またはウェスタンブロット等の既知の方法によって、試験される。

【０２５６】

別の態様において、競合アッセイを使用して、ＬｇＲ５への結合に対して、本明細書に記載される抗体のいずれかと競合する抗体を特定してもよい。ある特定の実施形態において、かかる競合抗体は、本明細書に記載される抗体によって結合される、同じエピトープ（例えば、直線状または立体配座エピトープ）に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例となる方法は、Ｍｏｒｒｉｓ（１９９６）“Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，” ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｖｏｌ．６６（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ）に提供される。

【０２５７】

例となる競合アッセイにおいて、固定化されたＬｇＲ５は、ＬｇＲ５に結合する第１の標識抗体（例えば、本明細書に記載される抗体のいずれか）、およびＬｇＲ５への結合に対して第１の抗体と競合するその能力について試験されている第２の未標識抗体を含む、溶液中でインキュベートされる。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたＬｇＲ５が、第１の標識抗体を含むが、第２の未標識抗体を含まない、溶液中でインキュベートされる。ＬｇＲ５への第１の抗体の結合を許容する条件下でのインキュベーション後、過剰の非結合抗体が除去され、固定化されたＬｇＲ５に関連する標識の量が測定される。固定化されたＬｇＲ５に関連する標識の量が、対照試料と比べて試験試料中で実質的に低減される場合、それは、第２の抗体がＬｇＲ５への結合に対して第１の抗体と競合していることを示す。Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ ｃｈ．１４（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ）を参照されたい。

【０２５８】

Ｄ．　免疫複合体

本発明はまた、本明細書において、化学療法剤もしくは化学療法薬、成長阻害性薬剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、または放射性同位体（すなわち、放射性複合体（ｒａｄｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ））等の、１つ以上の細胞傷害性薬剤に複合される抗ＬｇＲ５抗体を含む、免疫複合体も提供する。

【０２５９】

免疫複合体は、腫瘍への薬物部分の標的化された送達を可能にし、いくつかの実施形態においては、複合されていない薬物の全身投与が、正常な細胞にとって許容できないレベルの毒性をもたらし得る場合に、腫瘍中の細胞内蓄積を可能にする（Ｐｏｌａｋｉｓ Ｐ．（２００５）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ５：３８２－３８７）。

【０２６０】

抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、強力な細胞傷害性薬物の標的を抗原発現腫瘍細胞に定め（Ｔｅｉｃｈｅｒ，Ｂ．Ａ．（２００９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｓ ９：９８２－１００４）、それによって、有効性を最大限にし、オフターゲット毒性を最小限にすることにより治療指数を増強することによって、抗体および細胞傷害性薬物の両方の特性を組み合わる、標的を定められた化学療法分子である（Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．Ｊ．ａｎｄ Ｓｅｎｔｅｒ Ｐ．Ｄ．（２００８）Ｔｈｅ Ｃａｎｃｅｒ Ｊｏｕｒ．１４（３）：１５４－１６９、Ｃｈａｒｉ，Ｒ．Ｖ．（２００８）Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．４１：９８－１０７。

【０２６１】

本発明のＡＤＣ化合物には、抗がん活性を有するものが含まれる。いくつかの実施形態

において、ＡＤＣ化合物には、薬物部分に複合された、すなわち、共有結合された、抗体が含まれる。いくつかの実施形態において、本抗体は、リンカーを通じて薬物部分に共有結合される。本発明の抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、有効用量の薬物を腫瘍組織に選択的に送達し、それによって、治療指数（「治療濃度域」）を増加させながら、より高い選択性、すなわちより低い効果的用量が、達成され得る。

【０２６２】

抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）の薬物部分（Ｄ）は、細胞傷害性または細胞静止効果を有する任意の化合物、部分、または基を含んでもよい。薬物部分は、チューブリン結合、ＤＮＡ結合またはインターカレーション、ならびにＲＮＡポリメラーゼ、タンパク質合成、および／またはトポイソメラーゼの阻害を含むが、これらに限定されない機構によって、それらの細胞傷害性および細胞静止効果を付与し得る。例となる薬物部分には、メイタンシノイド、ドラスタチン、オーリスタチン、カリケアミシン、ピロロベンゾジアゼピン（ＰＢＤ）、ネモルビシンおよびその誘導体、ＰＮＵ－１５９６８２、アントラサイクリン、デュオカルマイシン、ビンカアルカロイド、タキサン、トリコテセン、ＣＣ１０６５、カンプトテシン、エリナフィド、ならびに細胞傷害性活性を有するそれらの立体異性体、同配体、類似体、および誘導体が含まれるが、これらに限定されない。かかる免疫複合体の非限定的な例が、下にさらに詳細に考察される。

【０２６３】

１．　例となる抗体－薬物複合体

抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）化合物の例となる実施形態は、腫瘍細胞を標的とする抗体（Ａｂ）、薬物部分（Ｄ）、およびＡｂをＤに結合するリンカー部分（Ｌ）を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、リジンおよび／またはシステイン等の１個以上のアミノ酸残基を通じて、リンカー部分（Ｌ）に結合される。

【０２６４】

例となるＡＤＣは、式Ｉ、

$$Ab-(L-D)_p \quad I$$

を有し、式中、ｐは、１～約２０である。いくつかの実施形態において、抗体に複合され得る薬物部分の数は、遊離システイン残基の数によって限定される。いくつかの実施形態において、遊離システイン残基は、本明細書に記載される方法によって抗体アミノ酸配列中に導入される。式Ｉの例となるＡＤＣには、１、２、３、または４個の操作されたシステインアミノ酸を有する抗体が含まれるが、これらに限定されない（Ｌｙｏｎ，Ｒ．ｅｔａｌ（２０１２）Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍ．５０２：１２３－１３８）。いくつかの実施形態において、１個以上の遊離システイン残基が、操作の使用なしに、抗体においてすでに存在しており、その場合、既存の遊離システイン残基を使用して、抗体を薬物に複合してもよい。いくつかの実施形態において、本抗体は、１個以上の遊離システイン残基を生成するために、抗体の複合前に還元条件に曝露される。

【０２６５】

ａ）例となるリンカー

「リンカー」（Ｌ）は、１個以上の薬物部分（Ｄ）を抗体（Ａｂ）に連結して、式Ｉの抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）を形成するために使用することができる、二機能性または多機能性部分である。いくつかの実施形態において、抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）は、薬物および抗体に共有結合するための反応性官能基を有するリンカーを使用して、調製することができる。例えば、いくつかの実施形態において、抗体の（Ａｂ）システインチオールは、リンカーの反応性官能基との結合、または薬物－リンカー中間体を形成して、ＡＤＣを作製することができる。

【０２６６】

一態様において、リンカーは、抗体上に存在する遊離システインと反応して、共有結合を形成することが可能である、官能性を有する。非限定的な例となるかかる反応性官能基には、マレイミド、ハロアセトアミド、α－ハロアセチル、コハク酸イミドエステル、４

－ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル等の活性化エステル、無水物、酸塩化物、塩化スルホニル、イソシアン酸塩、およびイソチオシアン酸塩が含まれる。例えば、Ｋｌｕｓｓｍａｎ，ｅｔ　ａｌ（２００４），Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　１５（４）：７６５－７７３の７６６ページにおける複合方法、およびその中の実施例を参照されたい。

【０２６７】

いくつかの実施形態において、リンカーは、抗体上に存在する求電子基と反応することが可能である、官能性を有する。例となるかかる求電子基には、アルデヒド基およびケトンカルボニル基が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、リンカーの反応性官能基のヘテロ原子は、抗体上の求電子基と反応し、抗体単位との共有結合を形成することができる。非限定的な例となるかかる反応性官能基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボン酸塩、およびアリールヒドラジドが含まれるが、これらに限定されない。

【０２６８】

リンカーは、１つ以上のリンカー構成要素を含んでもよい。例となるリンカー構成要素には、６－マレイミドカプロイル（「ＭＣ」）、マレイミドプロパノイル（「ＭＰ」）、バリン－シトルリン（「ｖａｌ－ｃｉｔ」または「ｖｃ」）、アラニン－フェニルアラニン（「ａｌａ－ｐｈｅ」）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（「ＰＡＢ」）、Ｎ－コハク酸イミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタン酸塩（「ＳＰＰ」）、および４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１カルボン酸塩（「ＭＣＣ」）が含まれる。種々のリンカー構成要素は、当該技術分野で知られており、このうちのいくつかが下に記載される。

【０２６９】

リンカーは、薬物の放出を容易にする「開裂可能リンカー」であってもよい。非限定的な例となる開裂可能リンカーには、酸不安定性リンカー（例えば、ヒドラゾンを含む）、プロテアーゼ感受性（例えば、ペプチダーゼ感受性）リンカー、感光性リンカー、またはジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　５２：１２７－１３１（１９９２）、米国公開特許第５２０８０２０号）が含まれる。

【０２７０】

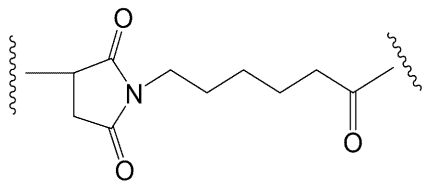
ある特定の実施形態において、リンカーは、次の式ＩＩ、

$$-A_a-W_w-Y_y- \qquad \text{II}$$

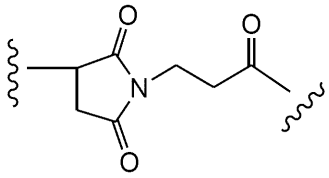
を有し、式中、Ａは、「ストレッチャー（ｓｔｒｅｔｃｈｅｒ）単位」であり、ａは、０～１の整数であり、Ｗは、「アミノ酸単位」であり、ｗは、０～１２の整数であり、Ｙは、「スペーサー単位」であり、ｙは、０、１、または２である。式ＩＩのリンカーを含むＡＤＣは、式Ｉ（Ａ）、すなわちＡｂ－（$Ａ_a$－$Ｗ_w$－$Ｙ_y$－Ｄ）ｐを有し、式中、Ａｂ、Ｄ、およびｐは、式Ｉについて上にあるように定義される。かかるリンカーの例となる実施形態は、米国特許第７，４９８，２９８号に記載され、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０２７１】

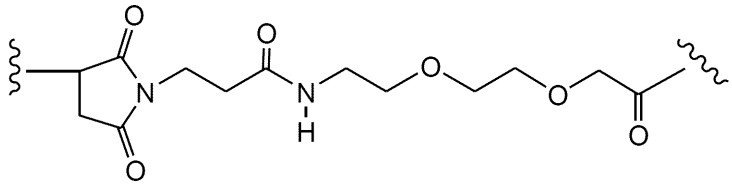
いくつかの実施形態において、リンカー構成要素は、抗体を別のリンカー構成要素にまたは薬物部分に連結する、「ストレッチャー単位」（Ａ）を含む。非限定的な例となるストレッチャー単位が下に示される（ここで波線は、抗体、薬物、または追加のリンカー構成要素への共有結合の部位を示す）：



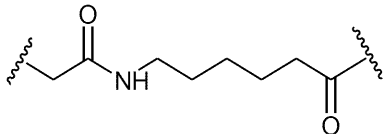
MC



MP



mPEG



。

【０２７２】

いくつかの実施形態において、リンカー構成要素は、「アミノ酸単位」（Ｗ）を含む。いくつかのかかる実施形態において、アミノ酸単位は、プロテアーゼによるリンカーの開裂を可能にし、それによって、リソソーム酵素等の細胞内プロテアーゼへの曝露時に免疫複合体からの薬物の放出を促進する（Ｄｏｒｏｎｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２１：７７８－７８４）。例となるアミノ酸単位には、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、およびペンタペプチドが含まれるが、これらに限定されない。例となるジペプチドには、バリン－シトルリン（ｖｃまたはｖａｌ－ｃｉｔ）、アラニン－フェニルアラニン（ａｆまたはａｌａ－ｐｈｅ）、フェニルアラニン－リジン（ｆｋまたはｐｈｅ－ｌｙｓ）、フェニルアラニン－ホモリジン（ｐｈｅ－ｈｏｍｏｌｙｓ）、およびＮ－メチル－バリン－シトルリン（Ｍｅ－ｖａｌ－ｃｉｔ）が含まれるが、これらに限定されない。例となるトリペプチドには、グリシン－バリン－シトルリン（ｇｌｙ－ｖａｌ－ｃｉｔ）およびグリシン－グリシン－グリシン（ｇｌｙ－ｇｌｙ－ｇｌｙ）が含まれるが、これらに限定されない。アミノ酸単位は、自然発生アミノ酸残基、ならびに／または微量アミノ酸、および／もしくはシトルリン等の非自然発生アミノ酸類似体を含んでもよい。アミノ酸単位は、特定の酵素、例えば、腫瘍関連プロテアーゼ、カテプシンＢ、Ｃ、およびＤ、またはプラスミンプロテアーゼによる、酵素的開裂のために設計し、最適化することができる。

【０２７３】

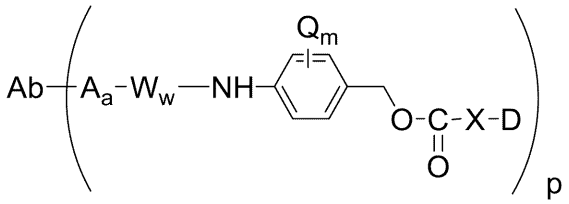
典型的に、ペプチド型リンカーは、２つ以上のアミノ酸および／またはペプチド断片の間にペプチド結合を形成することによって、調製することができる。かかるペプチド結合は、例えば、液相合成法に従って、調製することができる（例えば、Ｅ．Ｓｃｈｒｏｄｅｒ　ａｎｄ　Ｋ．Ｌｕｂｋｅ（１９６５）“Ｔｈｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ”，ｖｏｌｕｍｅ　１，ｐｐ　７６－１３６，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ）。

【０２７４】

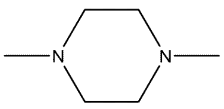
いくつかの実施形態において、リンカー構成要素は、直接、またはストレッチャー単位および／もしくはアミノ酸単位を通じてのいずれかで、抗体を薬物部分に連結する、「スペーサー単位」（Ｙ）を含む。スペーサー単位は、「自己犠牲型（ｓｅｌｆ－ｉｍｍｏｌａｔｉｖｅ）」または「非自己犠牲型」であり得る。「非自己犠牲型」スペーサー単位は、ＡＤＣの開裂時にスペーサー単位の一部または全てが薬物部分に結合したままであるものである。非自己犠牲型スペーサー単位の例としては、グリシンスペーサー単位およびグリシン－グリシンスペーサー単位が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、腫瘍細胞関連プロテアーゼによる、グリシン－グリシンスペーサー単位を含有するＡＤＣの酵素的開裂は、ＡＤＣの残りの部分からのグリシン－グリシン－薬物部分の放出をもたらす。いくつかのかかる実施形態において、グリシン－グリシン－薬物部分は、腫瘍細胞内で加水分解ステップを受け、故にグリシン－グリシンスペーサー単位を薬物部分から開裂する。

【０２７５】

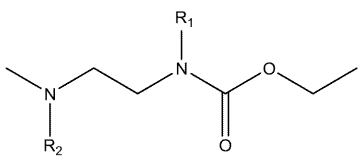
「自己犠牲型」スペーサー単位は、薬物部分の放出を可能にする。ある特定の実施形態において、リンカーのスペーサー単位は、ｐ－アミノベンジル単位を含む。いくつかのかかる実施形態において、ｐ－アミノベンジルアルコールは、アミド結合を介してアミノ酸単位に結合し、カルバミン酸塩、メチルカルバミン酸塩、または炭酸塩が、ベンジルアルコールと薬物との間に作製される（Ｈａｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．（２００５）Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｐａｔｅｎｔｓ（２００５）１５：１０８７－１１０３）。いくつかの実施形態において、スペーサー単位は、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）を含む。いくつかの実施形態において、自己犠牲型リンカーを含むＡＤＣは、構造、



を有し、式中、Ｑは、－Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキル）、－ハロゲン、－ニトロ、または－シアノであり、ｍは、０～４の範囲の整数であり、Ｘは、１つ以上の追加のスペーサー単位であり得るか、または非存在であり得、ｐは、１～約２０の範囲である。いくつかの実施形態において、ｐは、１～１０、１～７、１～５、または１～４の範囲である。非限定的な例となるＸスペーサー単位には、



および



、

が含まれ、式中、Ｒ$_1$およびＲ$_2$は独立して、ＨおよびＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルから選択される。いくつかの実施形態において、Ｒ１およびＲ２は各々、－ＣＨ$_3$である。

【０２７６】

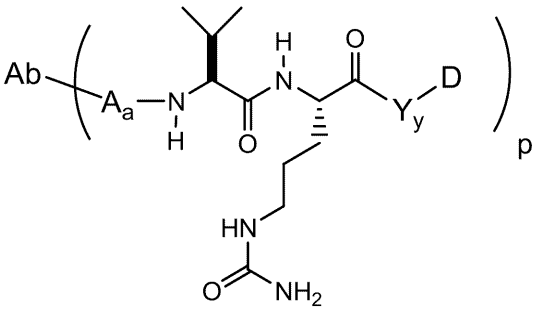
自己犠牲型スペーサーの他の例としては、２－アミノイミダゾール－５－メタノール誘導体等の、ＰＡＢ基と電子工学的に同様である芳香族化合物（米国特許第７，３７５，０７８号、Ｈａｙ　ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．９：２２３７）およびオルト－またはパラ－アミノベンジルアセタールが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、置換および非置換４－アミノ酪酸アミド（Ｒｏｄｒｉｇｕｅｓ　ｅｔ　ａｌ（１９９５）Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｂｉｏｌｏｇｙ２：２２３）、適切に置換されたビシクロ［２．２．１］およびビシクロ［２．２．２］環系（Ｓｔｏｒｍ　ｅｔ　ａｌ（１９７２）Ｊ．Ａｍｅｒ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．９４：５８１５）、ならびに２－アミノフェニルプロピオン酸アミド（Ａｍｓｂｅｒｒｙ，ｅｔ　ａｌ（１９９０）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５５：５８６７）等の、アミド結合加水分解時に環化を経るスペーサーを使用することができる。グリシン残基のα－炭素への薬物の結合は、ＡＤＣにおいて有用であり得る自己犠牲型スペーサーの別の例である（Ｋｉｎｇｓｂｕｒｙ　ｅｔ　ａｌ（１９８４）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２７：１４４７）。

【０２７７】

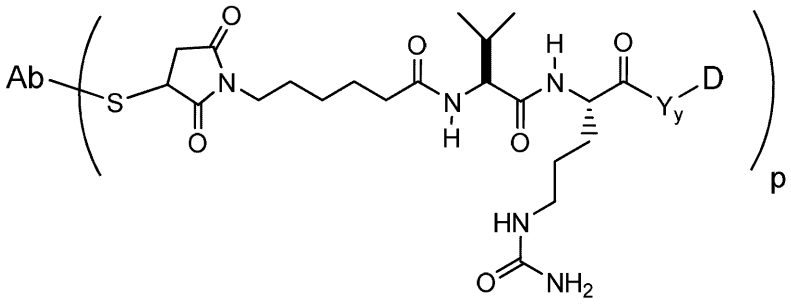
いくつかの実施形態において、リンカーＬは、分岐する多機能性リンカー部分を通じた、抗体への１つ超の薬物部分の共有結合のための、樹状型リンカーであり得る（Ｓｕｎ　ｅｔ　ａｌ（２００２）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｌｅｔｔｅｒｓ　１２：２２１３－２２１５、Ｓｕｎ　ｅｔ　ａｌ（２００３）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　１１：１７６１－１７６８）。樹状リンカーは、ＡＤＣの効力に関連する、薬物対抗体のモル比、すなわち、負荷を増加させることができる。故に、抗体が１個のみの反応性システインチオール基を担持する場合、多数の薬物部分が、樹状リンカーを通じて結合され得る。

【０２７８】

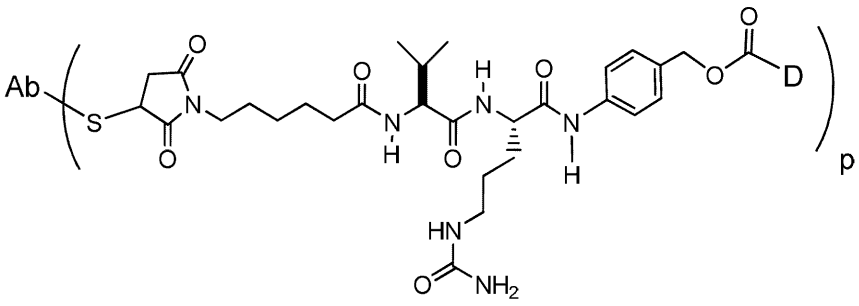
非限定的な例となるリンカーが、式ＩのＡＤＣの関連において下に示される：



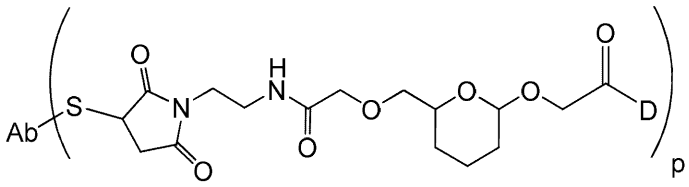
ｖａｌ－ｃｉｔ

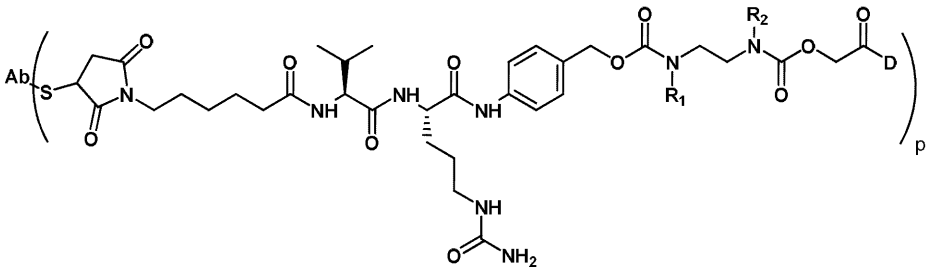


ＭＣ－ｖａｌ－ｃｉｔ



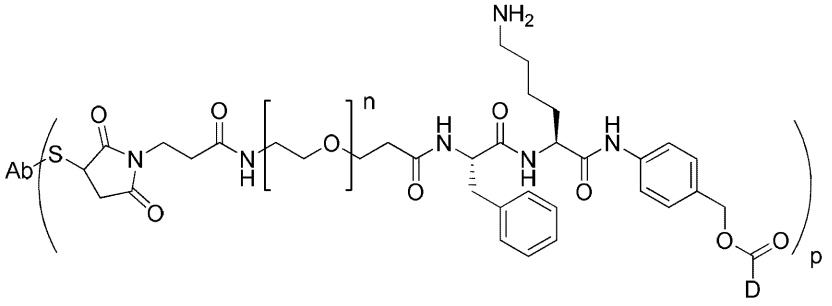
ＭＣ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ





、

（式中、Ｒ$_1$およびＲ$_2$は独立して、ＨおよびＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルから選択される）。いくつかの実施形態において、Ｒ１およびＲ２は各々、－ＣＨ$_3$である。

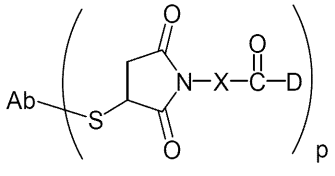


Ｐｈｅ－Ｌｙｓ－ＰＡＢ－Ａｂ、

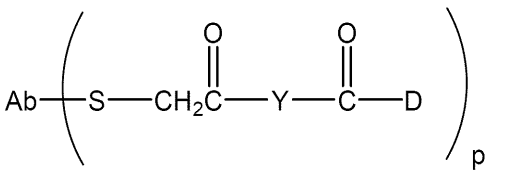
（式中、ｎは、０～１２である）。いくつかの実施形態において、ｎは、２～１０である。いくつかの実施形態において、ｎは、４～８である。

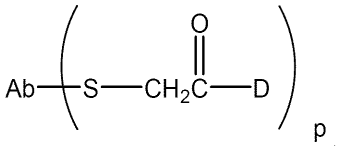
【０２７９】

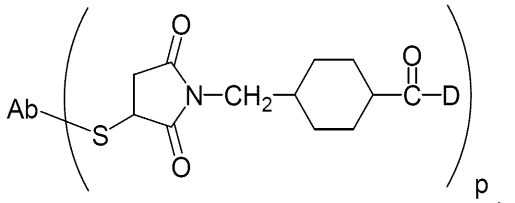
さらなる非限定的な例となるＡＤＣには、次の構造が含まれる：

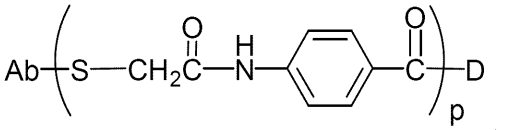


、

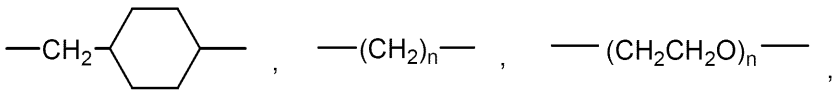

、

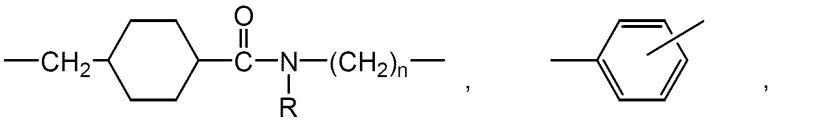

、

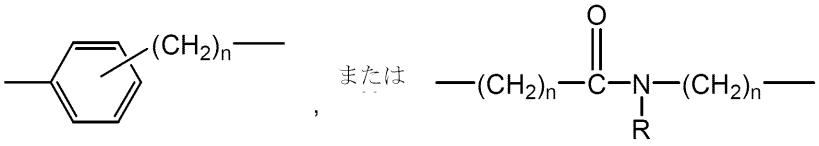

、


、

（式中、Ｘは、







であり、Ｙは、

であり、各Ｒは独立して、ＨまたはＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキルであり、ｎは、１～１２である）。

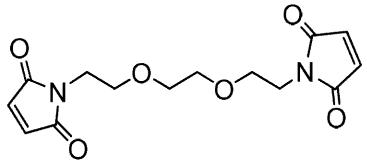
【０２８０】

いくつかの実施形態において、リンカーは、溶解度および／または反応性を調節する基で置換される。非限定的な例として、スルホン酸塩（－ＳＯ$_3^-$）またはアンモニウム等

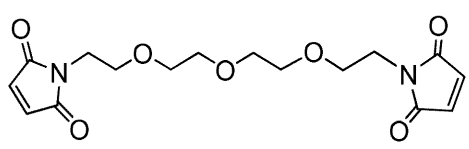
の荷電置換基は、リンカー試薬の水溶性を増加させ、抗体および／もしくは薬物部分とのリンカー試薬のカップリング反応を促進し得るか、またはＡＤＣを調製するために用いられる合成経路に応じて、ＤとのＡｂ－Ｌ（抗体－リンカー中間体）、もしくはＡｂとのＤ－Ｌ（薬物－リンカー中間体）のカップリング反応を促進し得る。いくつかの実施形態において、リンカーの一部分が抗体にカップリングされ、リンカーの一部分が薬物にカップリングされ、次いでＡｂ－（リンカー部分）^{a}が薬物－（リンカー部分）^{b}にカップリングされて、式ＩのＡＤＣを形成する。

【０２８１】

本発明の化合物は、次のリンカー試薬、すなわちビス－マレイミド－トリオキシエチレングリコール（ＢＭＰＥＯ）、Ｎ－（β－マレイミドプロピルオキシ）－Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドエステル（ＢＭＰＳ）、Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）コハク酸イミドエステル（ＥＭＣＳ）、Ｎ－［γ－マレイミドブチリルオキシ］コハク酸イミドエステル（ＧＭＢＳ）、１，６－ヘキサン－ビス－ビニルスルホン（ＨＢＶＳ）、コハク酸イミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシ－（６－アミドカプロン酸塩）（ＬＣ－ＳＭＣＣ）、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドエステル（ＭＢＳ）、４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）酪酸ヒドラジド（ＭＰＢＨ）、コハク酸イミジル３－（ブロモアセトアミド）プロピオン酸塩（ＳＢＡＰ）、コハク酸イミジルヨード酢酸塩（ＳＩＡ）、コハク酸イミジル（４－ヨードアセチル）アミノ安息香酸塩（ＳＩＡＢ）、Ｎ－コハク酸イミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸塩（ＳＰＤＰ）、Ｎ－コハク酸イミジル－４－（２－ピリジルチオ）ペンタン酸塩（ＳＰＰ）、コハク酸イミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボン酸塩（ＳＭＣＣ）、コハク酸イミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）酪酸塩（ＳＭＰＢ）、コハク酸イミジル６－［（β－マレイミドプロピオンアミド）ヘキサン酸塩］（ＳＭＰＨ）、イミノチオラン（ＩＴ）、スルホ－ＥＭＣＳ、スルホ－ＧＭＢＳ、スルホ－ＫＭＵＳ、スルホ－ＭＢＳ、スルホ－ＳＩＡＢ、スルホ－ＳＭＣＣ、およびスルホ－ＳＭＰＢ、ならびにコハク酸イミジル－（４－ビニルスルホン）安息香酸塩（ＳＶＳＢ）を用いて、また次のビス－マレイミド試薬、すなわちジチオビスマレイミドエタン（ＤＴＭＥ）、１，４－ビスマレイミドブタン（ＢＭＢ）、１，４ビスマレイミジル－２，３－ジヒドロキシブタン（ＢＭＤＢ）、ビスマレイミドヘキサン（ＢＭＨ）、ビスマレイミドエタン（ＢＭＯＥ）、ＢＭ（ＰＥＧ）$_{2}$（下に示される）、およびＢＭ（ＰＥＧ）$_{3}$（下に示される）；イミドエステルの二機能性誘導体（アジプイミド酸ジメチルＨＣｌ等）、活性エステル（スベリン酸ジスクシンイミジル等）、アルデヒド（グルタルアルデヒド等）、ビス－アジド化合物（ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン等）、ビス－ジアゾニウム誘導体（ビス－（ｐ－ジアゾニウムンゾイル等）－エチレンジアミン）、ジイソシアン酸塩（トルエン２，６－ジイソシアン酸塩等）、およびビス活性フッ素化合物（１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン等）を含めて、調製される、ＡＤＣを明示的に企図するが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、ビス－マレイミド試薬は、チオール含有薬物部分、リンカー、またはリンカー－薬物中間体への、抗体におけるシステインのチオール基の結合を可能にする。チオール基と反応性である他の官能基には、ヨードアセトアミド、ブロモアセトアミド、ビニルピリジン、ジスルフィド、ピリジルジスルフィド、イソシアン酸塩、およびイソチオシアン酸塩が含まれるが、これらに限定されない。



BM(PEG)$_2$



BM(PEG)$_3$

【０２８２】

ある特定の有用なリンカー試薬は、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ），Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．（Ｂｏｕｌｄｅｒ，ＣＯ）等の、種々の商業的供給源から得るか、または当該技術分野において、例えば、Ｔｏｋｉ ｅｔ ａｌ（２００２）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．６７：１８６６－１８７２、Ｄｕｂｏｗｃｈｉｋ，ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔｅｒｓ，３８：５２５７－６０、Ｗａｌｋｅｒ，Ｍ．Ａ．（１９９５）Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．６０：５３５２－５３５５、Ｆｒｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ（１９９６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．７：１８０－１８６、米国公開特許第６２１４３４５号、国際公開第０２／０８８１７２号、米国公開特許第２００３１３０１８９号、米国公開特許第２００３０９６７４３号、国際公開第０３／０２６５７７号、国際公開第０３／０４３５８３号、および国際公開第０４／０３２８２８号に記載される、手順に従って合成することができる。

【０２８３】

炭素－１４標識１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、抗体への放射性ヌクレオチドの複合のための、例となるキレート剤である。例えば、国際公開第９４／１１０２６号を参照されたい。

【０２８４】

ｂ）例となる薬物部分

（１） メイタンシンおよびメイタンシノイド

いくつかの実施形態において、免疫複合体は、１個以上のメイタンシノイド分子に複合される抗体を含む。メイタンシノイドは、メイタンシンの誘導体であり、チューブリン重合を阻害することによって作用する有糸分裂（ｍｉｔｏｔｏｔｉｃ）阻害剤である。メイタンシンは、東アフリカの低木メイテナス・セラタ（Ｍａｙｔｅｎｕｓ ｓｅｒｒａｔａ）から最初に単離された（米国特許第３８９６１１１号）。その後、ある特定の微生物もまた、メイタンシノールおよびＣ－３メイタンシノールエステル等のメイタンシノイドを産生することが発見された（米国特許第４，１５１，０４２号）。合成メイタンシノイドは、例えば、米国特許第４，１３７，２３０号、同第４，２４８，８７０号、同第４，２５６，７４６号、同第４，２６０，６０８号、同第４，２６５，８１４号、同第４，２９４，７５７号、同第４，３０７，０１６号、同第４，３０８，２６８号、同第４，３０８，２６９号、同第４，３０９，４２８号、同第４，３１３，９４６号、同第４，３１５，９２９号、同第４，３１７，８２１号、同第４，３２２，３４８号、同第４，３３１，５９８号、同第４，３６１，６５０号、同第４，３６４，８６６号、同第４，４２４，２１９号、同第４，４５０，２５４号、同第４，３６２，６６３号、および同第４，３７１，５３３号に開示される。

【０２８５】

メイタンシノイド薬物部分は、それらが、（ｉ）発酵または醗酵産物の化学修飾もしくは誘導体化によって調製するのに比較的利用しやすく、（ｉｉ）抗体への非ジスルフィドリンカーを通じた複合に好適な官能基による誘導体化を受けやすく、（ｉｉｉ）血漿中で安定しており、（ｉｖ）多様な腫瘍細胞株に対して有効であるので、抗体－薬物複合体における魅力的な薬物部分である。

【０２８６】

メイタンシノイド薬物部分として使用するのに好適なある特定のメイタンシノイドは、当該技術分野で知られており、既知の方法に従って天然源から単離するか、または遺伝子操作技術を使用して産生することができる（例えば、Ｙｕ ｅｔ ａｌ（２００２）ＰＮＡＳ ９９：７９６８－７９７３を参照されたい）。メイタンシノイドはまた、既知の方法に従って合成的に調製されてもよい。

【０２８７】

例となるメイタンシノイド薬物部分には、Ｃ－１９－デクロロ（米国特許第４２５６７４６号）（例えば、アンサミトシン（ａｎｓａｍｙｔｏｃｉｎ）Ｐ２の水素化アルミニウムリチウム還元によって調製される）；Ｃ－２０－ヒドロキシ（またはＣ－２０－デメチ

ル）＋／－Ｃ－１９－デクロロ（米国特許第４３６１６５０号および同第４３０７０１６号）（例えば、ストレプトミセスもしくはアクチノミセスを使用したデメチル化、またはＬＡＨを使用した脱塩素によって調製される）；およびＣ－２０－デメトキシ、Ｃ－２０－アシルオキシ（－ＯＣＯＲ）、＋／－デクロロ（米国特許第４，２９４，７５７号）（例えば、塩化アシルを使用したアシル化によって調製される）等の、修飾された芳香族環を有するもの、ならびに芳香族環の他の位置に修飾を有するものが含まれるが、これらに限定されない。

【０２８８】

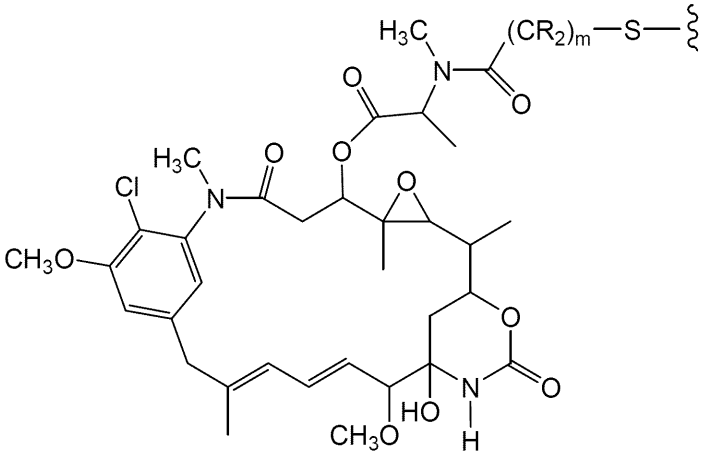
例となるメイタンシノイド薬物部分にはまた、Ｃ－９－ＳＨ（米国特許第４４２４２１９号）（例えば、H_2SまたはP_2S_5とのメイタンシノールの反応によって調製される）；Ｃ－１４－アルコキシメチル（デメトキシ／CH_2OR）（米国公開特許第４３３１５９８号）；Ｃ－１４－ヒドロキシメチルまたはアシルオキシメチル（CH_2OHまたはCH_2OAc）（米国特許第４４５０２５４号）（例えば、ノカルジアから調製される）；Ｃ－１５－ヒドロキシ／アシルオキシ（米国公開特許第４３６４８６６号）（例えば、ストレプトミセスによるメイタンシノールの変換によって調製される）；Ｃ－１５－メトキシ（米国特許第４３１３９４６号および同第４３１５９２９号）（例えば、トレビア・ヌーディフロラ（Ｔｒｅｗｉａ　ｎｕｄｌｆｌｏｒａ）から単離される）；Ｃ－１８－Ｎ－デメチル（米国特許第４３６２６６３号および同第４３２２３４８号）（例えば、ストレプトミセスによるメイタンシノールのデメチル化によって調製される）；および４，５－デオキシ（米国公開特許第４３７１５３３号）（例えば、メイタンシノールの三塩化チタン／ＬＡＨ還元によって調製される）等の、修飾を有するものも含まれる。

【０２８９】

メイタンシノイド化合物上の多くの位置は、結合位置として有用である。例えば、エステル結合は、従来のカップリング技法を使用したヒドロキシル基との反応によって形成され得る。いくつかの実施形態において、反応は、ヒドロキシル基を有するＣ－３位、ヒドロキシメチルで修飾されたＣ－１４位、ヒドロキシル基で修飾されたＣ－１５位、およびヒドロキシル基を有するＣ－２０位において生じ得る。いくつかの実施形態において、結合は、メイタンシノールまたはメイタンシノール類似体のＣ－３位において形成される。

【０２９０】

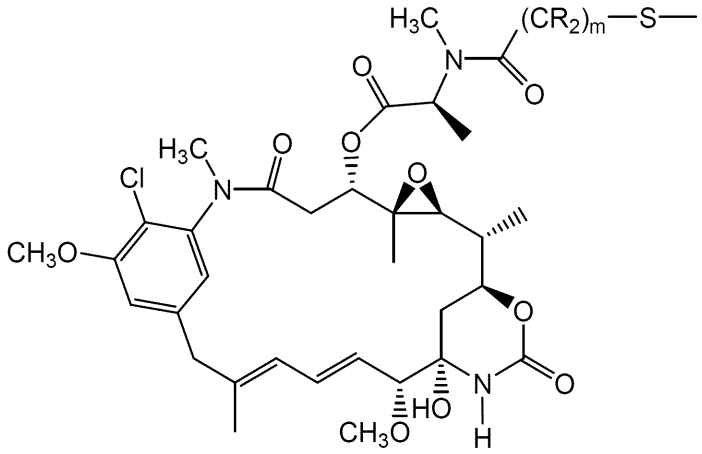
メイタンシノイド薬物部分は、次の構造を有するものを含む：



（式中、波線は、ＡＤＣのリンカーへの、メイタンシノイド薬物部分の硫黄原子の共有結合を示す。各Ｒは独立して、ＨまたはC_1－C_6アルキルであり得る）。アミド基を硫黄原子に結合するアルキレン鎖は、メタニル、エタニル、またはプロピルであり得、すなわち、ｍは、１、２、または３である（米国公開特許第６３３４１０号、米国公開特許第５２０８０２０号、Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ（１９９２）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５２：１２７－１３１、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　ＵＳＡ９３：８６１８－８６２３）。

【０２９１】

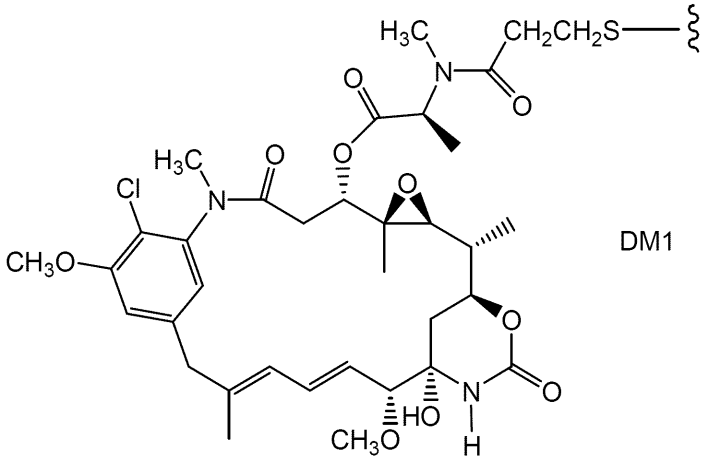
メイタンシノイド薬物部分の全ての立体異性体、すなわちキラル炭素におけるＲおよびＳ配置の任意の組み合わせが、本発明のＡＤＣについて企図される（米国公開特許第７２７６４９７号、米国公開特許第６９１３７４８号、米国公開特許第６４４１１６３号、米国公開特許第６３３４１０号（ＲＥ３９１５１）、米国公開特許第５２０８０２０号、Ｗｉｄｄｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ（２００６）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４９：４３９２－４４０８、参照によりそれらの全体が組み込まれる）。いくつかの実施形態において、メイタンシノイド薬物部分は、次の立体化学を有する：



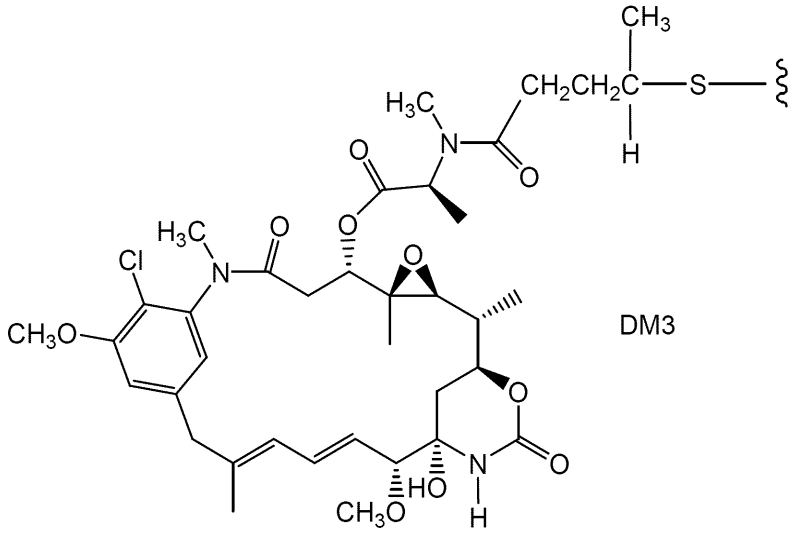
。

【０２９２】

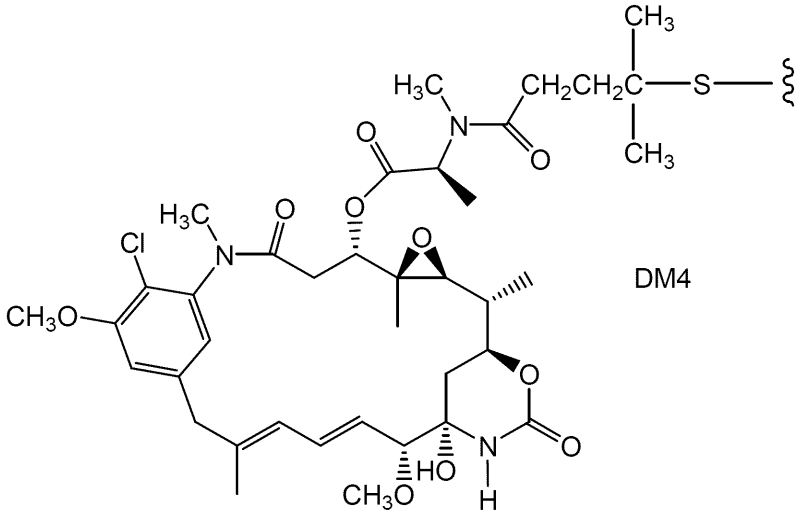
メイタンシノイド薬物部分の例となる実施形態には、次の構造を有する、ＤＭ１、ＤＭ３、およびＤＭ４が含まれるが、これらに限定されない：



DM1



DM3

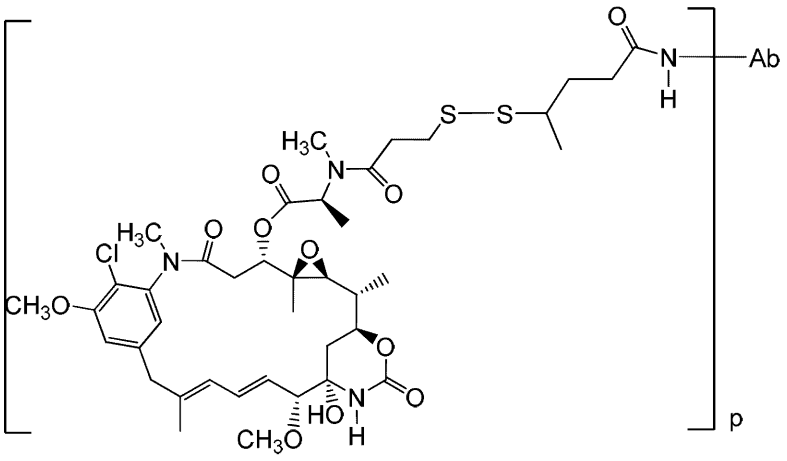


DM4

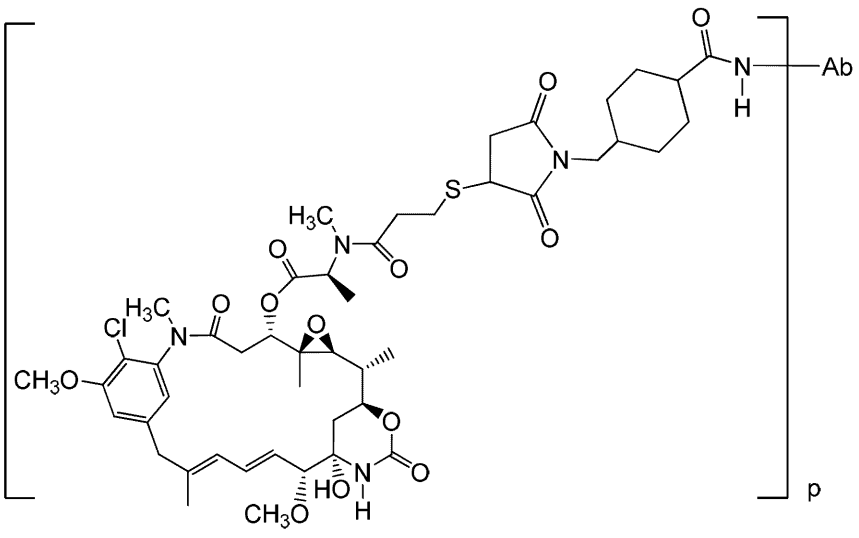
（式中、波線は、抗体－薬物複合体のリンカー（Ｌ）への、薬物の硫黄原子の共有結合を示す）。

【０２９３】

他の例となるメイタンシノイド抗体－薬物複合体は、次の構造および略号を有する（式中、Ａｂは、抗体であり、ｐは、１～約２０である。いくつかの実施形態において、ｐは、１～１０であるか、ｐは、１～７であるか、ｐは、１～５であるか、またはｐは、１～４である）：



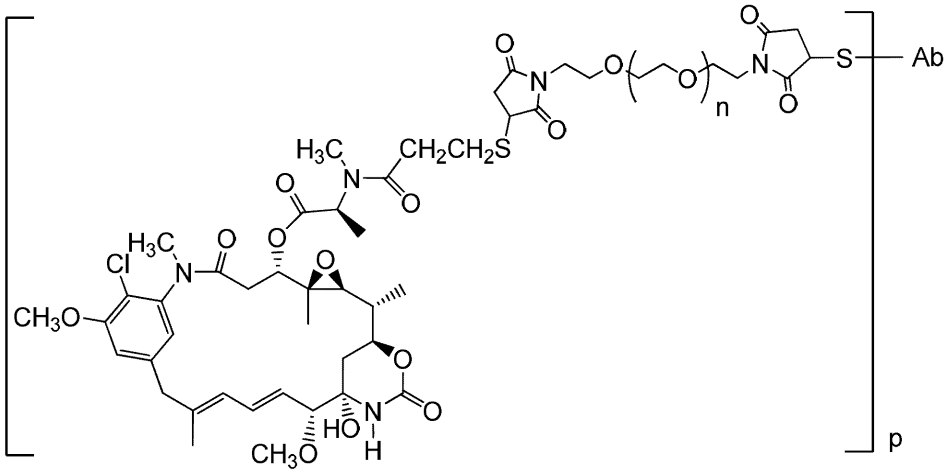
Ａｂ－ＳＰＰ－ＤＭ１



Ａｂ－ＳＭＣＣ－ＤＭ１。

【０２９４】

ＤＭ１がＢＭＰＥＯリンカーを通じて、抗体のチオール基に連結される場合の、例となる抗体－薬物複合体は、次の構造および略号を有する：



（式中、Ａｂは、抗体であり、ｎは、０、１、または２であり、ｐは、１～約２０である）。いくつかの実施形態において、ｐは、１～１０であるか、ｐは、１～７であるか、ｐは、１～５であるか、またはｐは、１～４である。

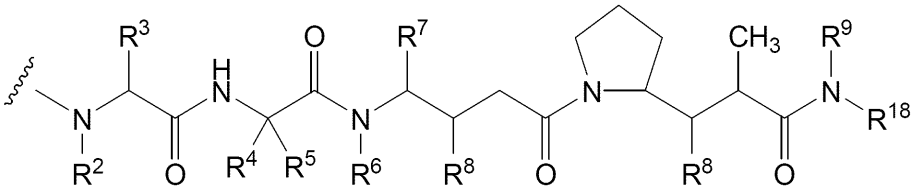
【０２９５】
メイタンシノイドを含有する免疫複合体、それを作製する方法、およびそれらの治療的使用は、例えば、米国特許第５，２０８，０２０号および同第５，４１６，０６４号、米国公開特許第２００５／０２７６８１２　Ａ１号、および欧州特許第ＥＰ　０　４２５　２３５　Ｂ１号に開示され、それらの開示は参照により本明細書に明示的に組み込まれる。また、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３：８６１８－８６２３（１９９６）、およびＣｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　５２：１２７－１３１（１９９２）も参照されたい。

【０２９６】
いくつかの実施形態において、抗体－メイタンシノイド複合体は、抗体またはメイタンシノイド分子のいずれの生物活性も有意に減少させることなく、抗体をメイタンシノイド分子に化学結合することによって調製されてもよい。例えば、米国特許第５，２０８，０２０号を参照されたい（その開示は参照により本明細書に明示的に組み込まれる）。いくつかの実施形態において、１抗体分子当たり平均３～４個のメイタンシノイド分子が複合されたＡＤＣが、抗体の機能または溶解度に悪影響を及ぼすことなく標的細胞の細胞傷害性を増強することにおいて、有効性を示してきた。いくつかの事例において、毒素／抗体の１個の分子でさえも、裸の抗体の使用を上回って細胞傷害性を増強することが予想される。

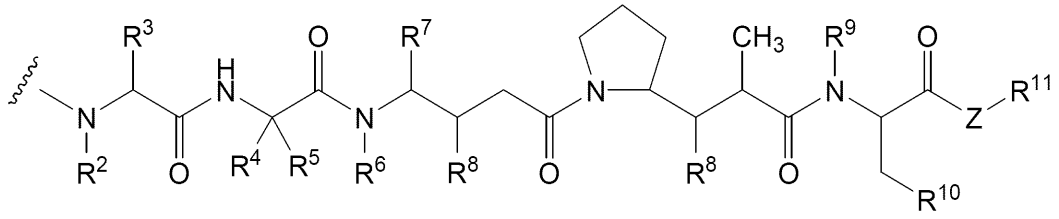
【０２９７】
抗体－メイタンシノイド複合体を作製するための例となる連結基には、例えば、本明細書に記載されるもの、ならびに米国特許第５２０８０２０号、欧州特許第０　４２５　２３５　Ｂ１号Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　５２：１２７－１３１（１９９２）、米国公開特許第２００５／０２７６８１２　Ａ１号、および米国公開特許第２００５／０１６９９３　Ａ１号に開示されるものが含まれ、それらの開示は参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０２９８】
（２）オーリスタチンおよびドラスタチン
薬物部分には、ドラスタチン、オーリスタチン、ならびにそれらの類似体および誘導体が含まれる（米国公開特許第５６３５４８３号、米国公開特許第５７８０５８８号、米国公開特許第５７６７２３７号、米国公開特許第６１２４４３１号）。オーリスタチンは、海洋軟体動物化合物ドラスタチン－１０の誘導体である。いかなる特定の理論にも拘束されることを意図するものではないが、ドラスタチンおよびオーリスタチンは、微小管運動、ＧＴＰ加水分解、ならびに核および細胞分裂に干渉し（Ｗｏｙｋｅ　ｅｔ　ａｌ（２００１）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４５（１２）：３５８０－３５８４）、抗がん（米国公開特許第５６６３１４９号）および抗真菌活性を有すること（Ｐｅｔｔｉｔ　ｅｔ　ａｌ（１９９８）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ　Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４２：２９６１－２９６５）が示されてきた。ドラスタチン／オーリスタチン薬物部分は、ペプチド性薬物部分のＮ（アミノ）末端またはＣ（カルボキシル）末端を通じて抗体に結合し得る（国際公開第０２／０８８１７２号、Ｄｏｒｏｎｉｎａ　ｅｔ　ａｌ（２００３）Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２１（７）：７７８－７８４、Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ　ｅｔ　ａｌ（２００３）Ｂｌｏｏｄ　１０２（４）：１４５８－１４６５）。

【０２９９】
例となるオーリスタチン実施形態には、米国公開特許第７４９８２９８号および米国公開特許第７６５９２４１号に開示される、次のＮ末端連結モノメチルオーリスタチン薬物部分D_EおよびD_Fが含まれ、その開示は参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる：



D_E



D_F

（式中、D_EおよびD_Fの波線は、抗体または抗体－リンカー構成要素への共有結合部位を示し、各場所において独立して、
R^2は、HおよびC_1～C_8アルキルから選択され、
R^3は、H、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環、およびC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され、
R^4は、H、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環、およびC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され、
R^5は、Hおよびメチルから選択されるか、
またはR^4およびR^5は一緒に、炭素環式環を形成し、式－（CR^aR^b）$_n$－を有し、式中、R^aおよびR^bは独立して、H、C_1～C_8アルキル、およびC_3～C_8炭素環から選択され、nは、2、3、4、5、および6から選択され、
R^6は、HおよびC_1～C_8アルキルから選択され、
R^7は、H、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、アリール、C_1～C_8アルキル－アリール、C_1～C_8アルキル－（C_3～C_8炭素環）、C_3～C_8複素環、およびC_1～C_8アルキル－（C_3～C_8複素環）から選択され、
各R^8は独立して、H、OH、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8炭素環、およびO－（C_1～C_8アルキル）から選択され、
R^9は、HおよびC_1～C_8アルキルから選択され、
R^{10}は、アリールもしくはC_3～C_8複素環から選択され、
Zは、O、S、NH、もしくはNR^{12}であり、式中、R^{12}は、C_1～C_8アルキルであり、
R^{11}は、H、C_1～C_{20}アルキル、アリール、C_3～C_8複素環、－（$R^{13}O$）$_m$－R^{14}、もしくは－（$R^{13}O$）$_m$－$CH(R^{15})_2$から選択され、
mは、1～1000の範囲の整数であり、
R^{13}は、C_2～C_8アルキルであり、
R^{14}は、HもしくはC_1～C_8アルキルであり、
R^{15}の各出現は独立して、H、COOH、－（CH_2）$_n$－$N(R^{16})_2$、－（CH_2）$_n$－SO_3H、もしくは－（CH_2）$_n$－SO_3～C_1～C_8アルキルであり、
R^{16}の各出現は独立して、H、C_1～C_8アルキル、もしくは－（CH_2）$_n$－COOHであり、
R^{18}は、－C（R^8）$_2$－C（R^8）$_2$－アリール、－C（R^8）$_2$－C（R^8）$_2$－（C_3～C_8複素環）、および－C（R^8）$_2$－C（R^8）$_2$－（C_3～C_8炭素環）から選択され、

ｎは、０～６の範囲の整数である）。

【０３００】

一実施形態において、R^3、R^4およびR^7は独立して、イソプロピルまたはｓｅｃ－ブチルであり、R^5は、－Ｈまたはメチルである。例となる実施形態において、R^3およびR^4は各々、イソプロピルであり、R^5は、－Ｈであり、R^7は、ｓｅｃ－ブチルである。

【０３０１】

なおも別の実施形態において、R^2およびR^6は各々、メチルであり、R^9は、－Ｈである。

【０３０２】

依然として別の実施形態において、R^8の各出現は、$-OCH_3$である。

【０３０３】

例となる実施形態において、R^3およびR^4は各々、イソプロピルであり、R^2およびR^6は各々、メチルであり、R^5は、－Ｈであり、R^7は、ｓｅｃ－ブチルであり、R^8の各出現は、$-OCH_3$であり、R^9は、－Ｈである。

【０３０４】

一実施形態において、Ｚは、－Ｏ－または－ＮＨ－である。

【０３０５】

一実施形態において、R^{10}は、アリールである。

【０３０６】

例となる実施形態において、R^{10}は、－フェニルである。

【０３０７】

例となる実施形態において、Ｚが－Ｏ－であるとき、R^{11}は、－Ｈ、メチル、またはｔ－ブチルである。

【０３０８】

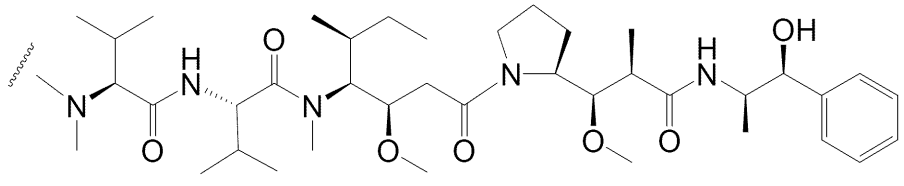
一実施形態において、Ｚが－ＮＨであるとき、R^{11}は、$-CH(R^{15})_2$であり、式中、R^{15}は、$-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$であり、R^{16}は、$-C_1$～C_8アルキルまたは$-(CH_2)_n-COOH$である。

【０３０９】

別の実施形態において、Ｚが－ＮＨであるとき、R^{11}は、$-CH(R^{15})_2$であり、式中、R^{15}は、$-(CH_2)_n-SO_3H$である。

【０３１０】

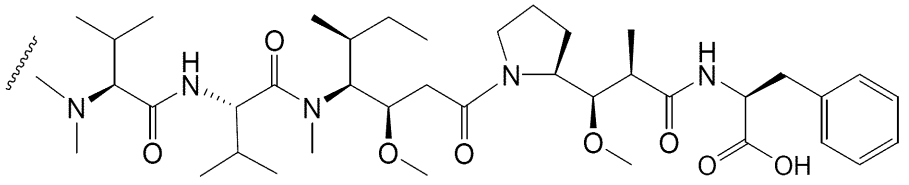
式D_Eの例となるオーリスタチン実施形態は、次のＭＭＡＥであり、式中、波線は、抗体－薬物複合体のリンカー（Ｌ）への共有結合を示す：



MMAE

【０３１１】

式D_Fの例となるオーリスタチン実施形態は、次のＭＭＡＦであり、式中、波線は、抗体－薬物複合体のリンカー（Ｌ）への共有結合を示す：



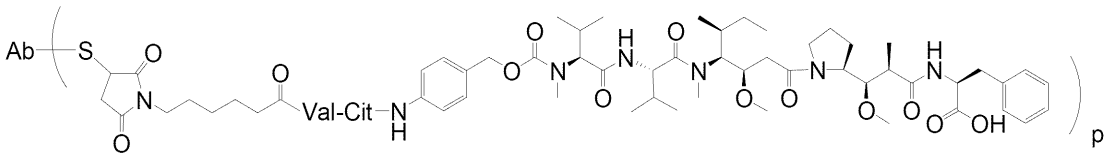
MMAF

【０３１２】

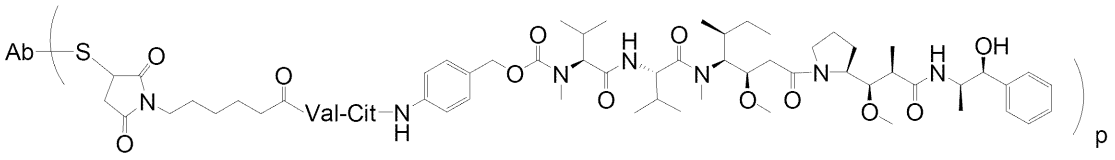
他の例となる実施形態には、ペンタペプチドオーリスタチン薬物部分のＣ末端にフェニルアラニンカルボキシ修飾を有するモノメチルバリン化合物（国際公開第２００７／００８８４８号）、およびペンタペプチドオーリスタチン薬物部分のＣ末端にフェニルアラニン側鎖修飾を有するモノメチルバリン化合物（国際公開第２００７／００８６０３号）が含まれる。

【０３１３】

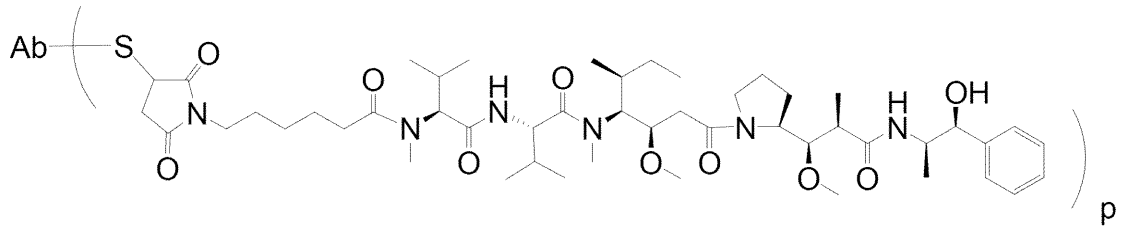
ＭＭＡＥまたはＭＭＡＦおよび種々のリンカー構成要素を含む、式ＩのＡＤＣの非限定的な例となる実施形態は、次の構造および略号を有する（式中、「Ａｂ」は、抗体であり、ｐは、１～約８であり、「Ｖａｌ－Ｃｉｔ」は、バリン－シトルリンジペプチドであり、「Ｓ」は、硫黄原子である：



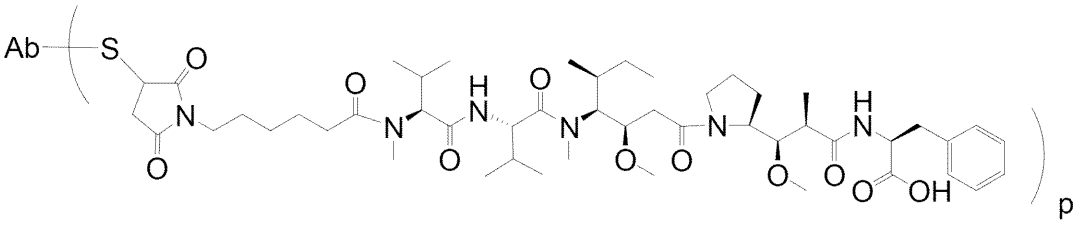
Ａｂ－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦ



Ａｂ－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ



Ａｂ－ＭＣ－ＭＭＡＥ



Ａｂ－ＭＣ－ＭＭＡＦ。

【０３１４】

ＭＭＡＦおよび種々のリンカー構成要素を含む、式ＩのＡＤＣの非限定的な例となる実施形態には、Ａｂ－ＭＣ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦおよびＡｂ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦがさらに含まれる。タンパク分解性に開裂可能でないリンカーによって抗体に結合したＭＭＡＦを含む免疫複合体は、タンパク分解性に開裂可能なリンカーによって抗体に結合したＭＭＡＦを含む免疫複合体に匹敵する活性を保有することが示されてきた（Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．（２００６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１７：１１４－１２４）。いくつかのかかる実施形態において、薬物放出は、細胞内の抗体分解によって達成されると考えられている。

【０３１５】
典型的に、ペプチドベースの薬物部分は、２つ以上のアミノ酸および／またはペプチド断片との間にペプチド結合を形成することによって、調製することができる。かかるペプチド結合は、例えば、液相合成法に従って、調製することができる（例えば、Ｅ．Ｓｃｈｒｏｄｅｒ ａｎｄ Ｋ．Ｌｕｂｋｅ，“Ｔｈｅ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ”，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐｐ ７６－１３６，１９６５，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓを参照されたい）。オーリスタチン／ドラスタチン薬物部分は、いくつかの実施形態において、米国公開特許第７４９８２９８号、米国公開特許第５６３５４８３号、米国公開特許第５７８０５８８号、Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９８９）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１１１：５４６３－５４６５、Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９９８）Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ １３：２４３－２７７、Ｐｅｔｔｉｔ，Ｇ．Ｒ．，ｅｔ ａｌ．Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，１９９６，７１９－７２５、Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ（１９９６）Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｐｅｒｋｉｎ Ｔｒａｎｓ．１ ５：８５９－８６３、およびＤｏｒｏｎｉｎａ（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２１（７）：７７８－７８４の方法に従って調製されてもよい。

【０３１６】
いくつかの実施形態において、ＭＭＡＥ等の式D_E、およびＭＭＡＦ等の式D_Fのオーリスタチン／ドラスタチン薬物部分、ならびにＭＣ－ＭＭＡＦ、ＭＣ－ＭＭＡＥ、ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＦ、およびＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥ等のそれらの薬物－リンカー中間体および誘導体は、米国公開特許第７４９８２９８号、Ｄｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．（２００６）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１７：１１４－１２４、およびＤｏｒｏｎｉｎａ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２１：７７８－７８４に記載される方法を使用して調製されてもよく、次いで目的の抗体に複合されてもよい。

【０３１７】
（３）カリケアミシン
いくつかの実施形態において、免疫複合体は、１個以上のカリケアミシン分子に複合される抗体を含む。抗生物質のカリケアミシンファミリー、およびそれらの類似体は、ピコモル以下の濃度で２本鎖ＤＮＡ切断をもたらすことが可能である（Ｈｉｎｍａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５３：３３３６－３３４２、Ｌｏｄｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９８）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５８：２９２５－２９２８）。カリケアミシンは、細胞内作用部位を有するが、ある特定の事例において、形質膜を容易に通過しない。したがって、抗体媒介性内部移行を通じたこれらの薬剤の細胞取り込みは、いくつかの実施形態において、それらの細胞傷害効果を大幅に増強し得る。カリケアミシン薬物部分との抗体－薬物複合体を調製する非限定的な例となる方法は、例えば、米国公開特許第５７１２３７４号、米国公開特許第５７１４５８６号、米国公開特許第５７３９１１６号、および米国公開特許第５７６７２８５号に記載される。

【０３１８】
（４）ピロロベンゾジアゼピン
いくつかの実施形態において、ＡＤＣは、ピロロベンゾジアゼピン（ＰＢＤ）を含む。いくつかの実施形態において、ＰＤＢ二量体は、具体的なＤＮＡ配列を認識し、それに結合する。天然物アントラマイシンであるＰＢＤは、１９６５年に最初に報告された（Ｌｅｉｍｇｒｕｂｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（１９６５）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，８７：５７９３－５７９５、Ｌｅｉｍｇｒｕｂｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（１９６５）Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，８７：５７９１－５７９３）。それ以来、自然発生および類似体の両方として、いくつかのＰＢＤが、報告されてきており（Ｔｈｕｒｓｔｏｎ，ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．１９９４，４３３－４６５）、三環式ＰＢＤ足場の二量体が含まれる（米国公開特許第６８８４７９９号、米国公開特許第７０４９３１１号、米国公開特許第７０６７５１１号、米国公開特許第７２６５１０５号、米国公開特許第７５１１０３２号、米国公開特許第７５２８１２６号、米国公開特許第７５５７０９９号）

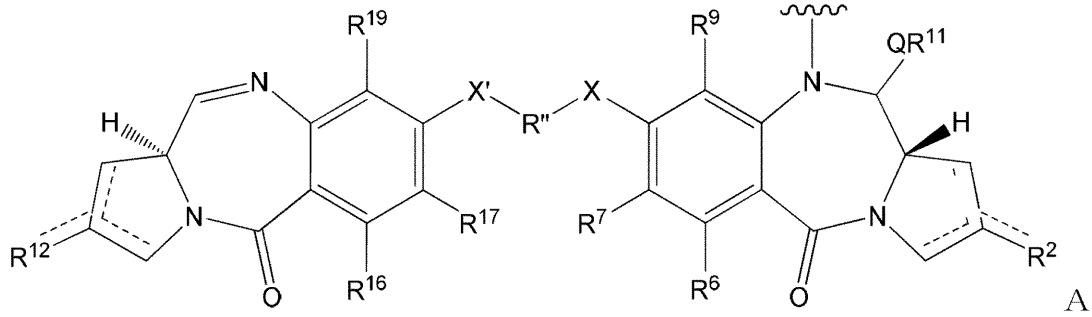
。いかなる特定の理論にも拘束されることを意図せずに、二量体構造が、Ｂ型ＤＮＡの副溝との等螺旋性（ｉｓｏｈｅｌｉｃｉｔｙ）に適切な三次元形状を付与し、結合部位において滑り嵌めをもたらすと考えられている（Ｋｏｈｎ，Ｉｎ Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ ＩＩＩ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．３－１１（１９７５）、Ｈｕｒｌｅｙ ａｎｄ Ｎｅｅｄｈａｍ－ＶａｎＤｅｖａｎｔｅｒ，（１９８６）Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．，１９：２３０－２３７）。Ｃ２アリール置換基を担持する二量体ＰＢＤ化合物は、細胞傷害性薬剤として有用であることが示されてきた（Ｈａｒｔｌｅｙ ｅｔ ａｌ（２０１０）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．７０（１７）：６８４９－６８５８、Ａｎｔｏｎｏｗ（２０１０）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５３（７）：２９２７－２９４１、Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ（２００９）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ａｎｄ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ１９（２２）：６４６３－６４６６）。

【０３１９】

ＰＢＤ二量体は、抗体に複合されており、結果として生じるＡＤＣは、抗がん特性を有することが示されてきた。ＰＢＤ二量体上の非限定的な例となる結合部位には、５員のピロロ環、ＰＢＤ単位の間のテザー、およびＮ１０－Ｃ１１イミン基が含まれる（国際公開第２００９／０１６５１６号、米国公開特許第２００９／３０４７１０号、米国公開特許第２０１０／０４７２５７号、米国公開特許第２００９／０３６４３１号、米国公開特許第２０１１／０２５６１５７号、国際公開第２０１１／１３０５９８号）。

【０３２０】

ＡＤＣの非限定的な例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ、



Ａ

のもの、ならびにその塩および溶媒和物であり、式中、

波線は、リンカーへの共有結合部位を示し、

点線は、Ｃ１とＣ２またはＣ２とＣ３との間の二重結合の任意の存在を示し、

R^2は独立して、Ｈ、ＯＨ、＝Ｏ、＝CH_2、ＣＮ、Ｒ、ＯＲ、＝ＣＨ－R^D、＝Ｃ（R^D）$_2$、Ｏ－SO_2－Ｒ、CO_2Ｒ、およびＣＯＲから選択され、任意に、ハロまたはジハロからさらに選択され、R^Dは独立して、Ｒ、CO_2Ｒ、ＣＯＲ、ＣＨＯ、CO_2Ｈ、およびハロから選択され、

R^6およびR^9は独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ’、NO_2、Me_3Sn、およびハロから選択され、

R^7は独立して、Ｈ、Ｒ、ＯＨ、ＯＲ、ＳＨ、ＳＲ、NH_2、ＮＨＲ、ＮＲＲ’、NO_2、Me_3Sn、およびハロから選択され、

Ｑは独立して、Ｏ、Ｓ、およびＮＨから選択され、

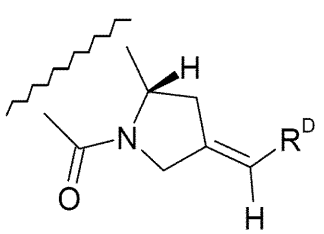
R^{11}は、Ｈ、もしくはＲであるか、または、ＱがＯである場合、SO_3Ｍであるか、のいずれかであり、式中、Ｍは、金属陽イオンであり、

ＲおよびＲ’は各々独立して、任意に置換されるC_{1-8}アルキル、C_{1-12}アルキル、C_{3-8}ヘテロシクリル、C_{3-20}複素環、およびC_{5-20}アリール基から選択され、任意に、基ＮＲＲ’に関して、ＲおよびＲ’は、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４、５、６、または７員の複素環式環を形成し、

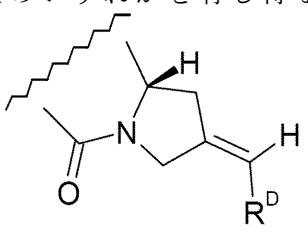
R^{12}、R^{16}、R^{19}、およびR^{17}は、それぞれ、R^2、R^6、R^9、およびR^7について定義される通りであり、

Ｒ″は、C_{3-12}アルキレン基であり、その鎖は、１個以上のヘテロ原子、例えば、Ｏ、Ｓ、Ｎ（Ｈ）、ＮＭｅ、および／または芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジンに

よって分断され得、それらの環は、任意に置換されており、
XおよびX’は独立して、O、S、およびN（H）から選択される。
【０３２１】
いくつかの実施形態において、RおよびR’は各々独立して、任意に置換されるC$_{1-12}$アルキル、C$_{3-20}$複素環、およびC$_{5-20}$アリール基から選択され、任意に、基NRR’に関して、RおよびR’は、それらが結合する窒素原子と一緒に、任意に置換される４、５、６、または７員の複素環式環を形成する。
【０３２２】
いくつかの実施形態において、R^{9}およびR^{19}は、Hである。
【０３２３】
いくつかの実施形態において、R^{6}およびR^{16}は、Hである。
【０３２４】
いくつかの実施形態において、R^{7}は、R^{17}は両方とも、OR^{7A}であり、式中、R^{7A}は、任意に置換されるC$_{1-4}$アルキルである。いくつかの実施形態において、R^{7A}は、Meである。いくつかの実施形態において、R^{7A}は、Ch$_2$Phであり、式中、Phは、フェニル基である。
【０３２５】
いくつかの実施形態において、Xは、Oである。
【０３２６】
いくつかの実施形態において、R^{11}は、Hである。
【０３２７】
いくつかの実施形態において、各単量体単位においてC２とC３との間に二重結合が存在する。
【０３２８】
いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は独立して、HおよびRから選択される。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は独立して、Rである。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は独立して、任意に置換されるC$_{5-20}$アリールまたはC$_{5-7}$アリールまたはC$_{8-10}$アリールである。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は独立して、任意に置換されるフェニル、チエニル、ナプチル（ｎａｐｔｈｙｌ）、ピリジル、キノリニル、またはイソキノリニルである。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は独立して、＝O、＝CH$_2$、＝CH－R^{D}、および＝C（R^{D}）$_2$から選択される。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は各々、＝CH$_2$である。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は各々、Hである。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は各々、＝Oである。いくつかの実施形態において、R^{2}およびR^{12}は各々、＝CF$_2$である。いくつかの実施形態において、R^{2}および／またはR^{12}は独立して、＝C（R^{D}）$_2$である。いくつかの実施形態において、R^{2}および／またはR^{12}は独立して、＝CH－R^{D}である。
【０３２９】
いくつかの実施形態において、R^{2}および／またはR^{12}が＝CH－R^{D}であるとき、各基は独立して、下に示される配置のいずれかを有し得る：



(I)

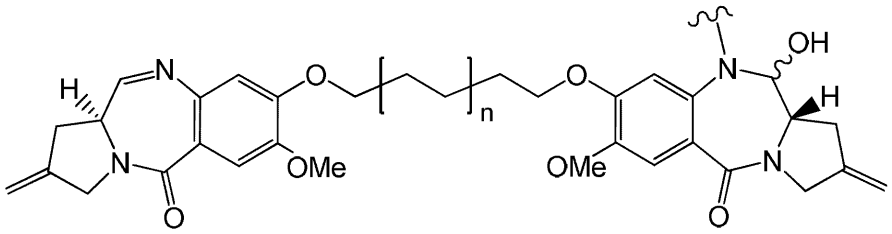


(II)

。

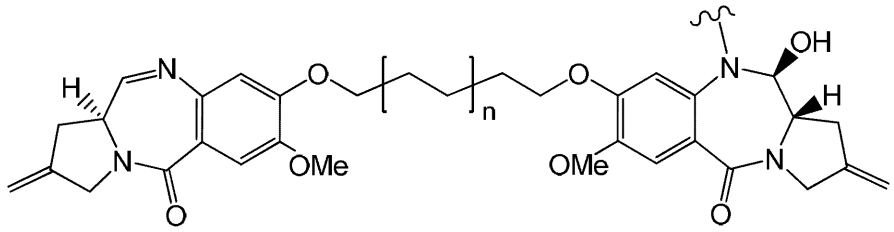
いくつかの実施形態において、＝CH－R^{D}は、配置（Ｉ）にある。

【０３３０】
いくつかの実施形態において、Ｒ″は、Ｃ$_3$アルキレン基またはＣ$_5$アルキレン基である。
【０３３１】
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（Ｉ）、



Ａ（Ｉ）、

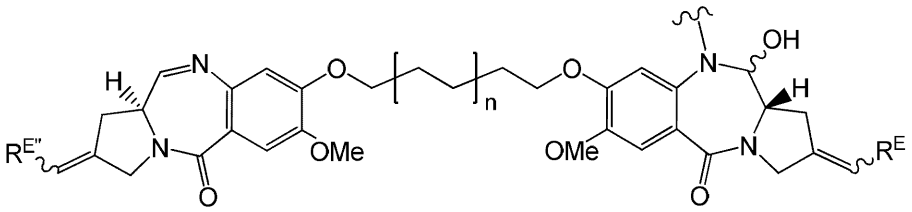
の構造を有し、式中、ｎは、０または１である。
【０３３２】
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（ＩＩ）、



Ａ（ＩＩ）、

の構造を有し、式中、ｎは、０または１である。

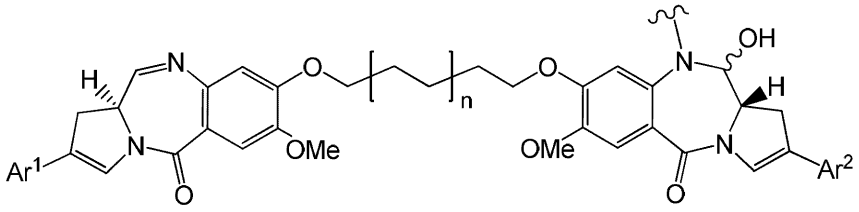
【０３３３】
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（ＩＩＩ）、



Ａ（ＩＩＩ）、

の構造を有し、式中、Ｒ^{E}およびＲ$^{E''}$は各々独立して、ＨまたはＲ^{D}から選択され、式中、Ｒ^{D}は、上にあるように定義され、
ｎは、０または１である。
【０３３４】
いくつかの実施形態において、ｎは、０である。いくつかの実施形態において、ｎは、１である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{E}および／またはＲ$^{E''}$は、Ｈである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{E}およびＲ$^{E''}$は、Ｈである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{E}および／またはＲ$^{E''}$は、Ｒ^{D}であり、式中、Ｒ^{D}は、任意に置換されるＣ$_{1-12}$アルキルである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{E}および／またはＲ$^{E''}$は、Ｒ^{D}であり、式中、Ｒ^{D}は、メチルである。
【０３３５】
いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（ＩＶ

）、

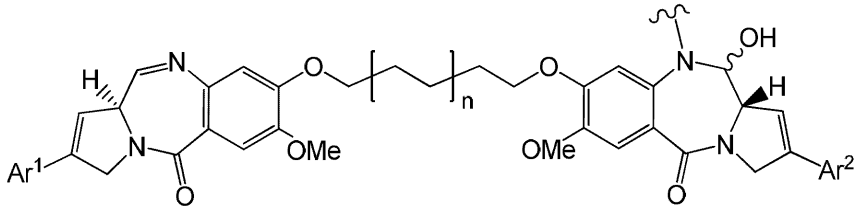


Ａ（ＩＶ）、

の構造を有し、式中、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は各々独立して、任意に置換されるＣ[5－20]アリールであり、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は、同じであっても異なってもよく、
ｎは、０または１である。

【０３３６】

いくつかの実施形態において、ＡＤＣの例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ａ（Ｖ）、



Ａ（Ｖ）、

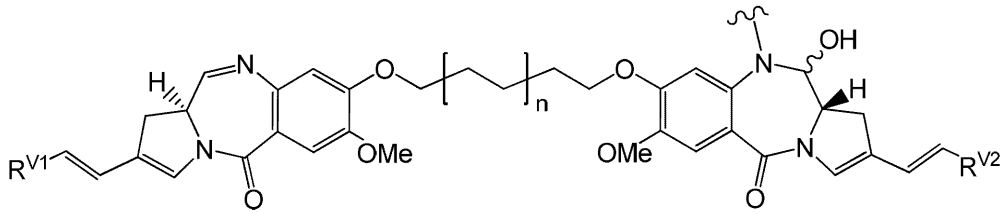
の構造を有し、式中、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は各々独立して、任意に置換されるＣ[5－20]アリールであり、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は、同じであっても異なってもよく、
ｎは、０または１である。

【０３３７】

いくつかの実施形態において、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は各々独立して、任意に置換されるフェニル、フラニル、チオフェニル、およびピリジルから選択される。いくつかの実施形態において、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は各々独立して、任意に置換されるフェニルである。いくつかの実施形態において、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は各々独立して、任意に置換されるチエン－２－イルまたはチエン－３－イルである。いくつかの実施形態において、Ａｒ[1]およびＡｒ[2]は各々独立して、任意に置換されるキノリニルまたはイソキノリニルである。キノリニルまたはイソキノリニル基は、任意の利用可能な環の位置を通じて、ＰＢＤコアに結合されてもよい。例えば、キノリニルは、キノリン－２－イル、キノリン－３－イル、キノリン－４イル、キノリン－５－イル、キノリン－６－イル、キノリン－７－イル、およびキノリン－８－イルであり得る。いくつかの実施形態において、キノリニルは、キノリン－３－イルおよびキノリン－６－イルから選択される。イソキノリニルは、イソキノリン－１－イル、イソキノリン－３－イル、イソキノリン－４イル、イソキノリン－５－イル、イソキノリン－６－イル、イソキノリン－７－イル、およびイソキノリン－８－イルであり得る。いくつかの実施形態において、イソキノリニルは、イソキノリン－３－イルおよびイソキノリン－６－イルから選択される。

【０３３８】

ＡＤＣのさらなる非限定的な例となるＰＢＤ二量体構成要素は、式Ｂ、



Ｂ

のもの、ならびにその塩および溶媒和物であり、式中、

波線は、リンカーへの共有結合部位を示し、
ＯＨに接続された波線は、ＳまたはＲ配置を示し、
R^{V1}およびR^{V2}は独立して、Ｈ、メチル、エチル、およびフェニル（このフェニルは、特に４位において、フルオロで任意に置換されてもよい）、ならびにC_{5-6}ヘテロシクリルから選択され、式中、R^{V1}およびR^{V2}は、同じであっても異なってもよく、
ｎは、０または１である。

【０３３９】

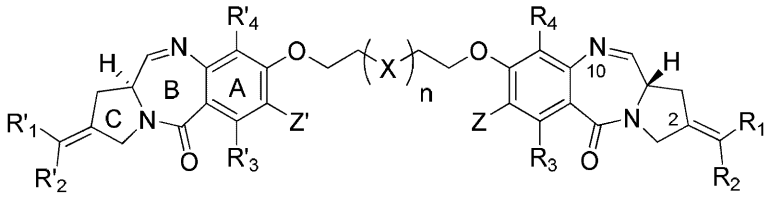
いくつかの実施形態において、R^{V1}およびR^{V2}は独立して、Ｈ、フェニル、および４－フルオロフェニルから選択される。

【０３４０】

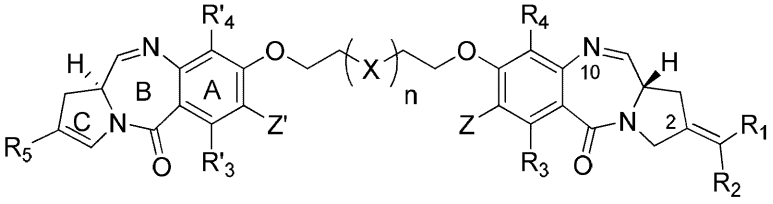
いくつかの実施形態において、リンカーは、Ｂ環のＮ１０イミン、Ｃ環のＣ－２エンド／エキソ位、またはＡ環を連結するテザー単位を含む、ＰＢＤ二量体薬物部分の種々の部位のうちの１つにおいて結合されてもよい（下の構造Ｃ（Ｉ）およびＣ（ＩＩ）を参照されたい）。

【０３４１】

ＡＤＣの非限定的な例となるＰＢＤ二量体構成要素には、式Ｃ（Ｉ）およびＣ（ＩＩ）、



Ｃ（Ｉ）

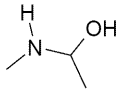
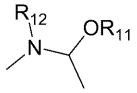


Ｃ（ＩＩ）

が含まれる。

【０３４２】

式Ｃ（Ｉ）およびＣ（ＩＩ）は、それらのＮ１０－Ｃ１１イミン型で示される。例となるＰＢＤ薬物部分にはまた、下の表に示される、カルビノールアミンおよび保護されたカルビノールアミン型も同様に含まれる：

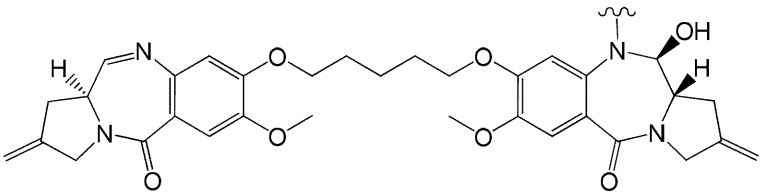
		
イミン	カルビノールアミン	保護されたカルビノールアミン

（式中、
Ｘは、CH_2（ｎ＝１～５）、Ｎ、またはＯであり、
ＺおよびＺ’は独立して、ＯＲおよびNR_2から選択され、式中、Ｒは、１～５個の炭素原子を含有する第一級、第二級、または第三級アルキル鎖であり、
R_1、R'_1、R_2、およびR'_2は各々独立して、Ｈ、C_1～C_8アルキル、C_2～C_8アルケニル、C_2～C_8アルキニル、C_{5-20}アリール（置換アリールを含む）、C_{5-20}ヘテロアリール基、－NH_2、－ＮＨＭｅ、－ＯＨ、および－ＳＨから選択され

、いくつかの実施形態において、アルキル、アルケニル、およびアルキニル鎖は、最大５個の炭素原子を含み、
R_3およびR'_3は独立して、Ｈ、ＯＲ、ＮＨＲ、およびNR_2から選択され、Ｒは、１～５個の炭素原子を含有する第一級、第二級、または第三級アルキル鎖であり、
R_4およびR'_4は独立して、Ｈ、Ｍｅ、およびＯＭｅから選択され、
R_5は、C_1～C_8アルキル、C_2～C_8アルケニル、C_2～C_8アルキニル、C_{5-20}アリール（ハロ、ニトロ、シアノ、アルコキシ、アルキル、ヘテロシクリルによって置換されたアリールを含む）、およびC_{5-20}ヘテロアリール基から選択され、いくつかの実施形態において、アルキル、アルケニル、およびアルキニル鎖は、最大５個の炭素原子を含み、
R_{11}は、Ｈ、C_1～C_8アルキル、または保護基（アセチル、トリフルオロアセチル、ｔ－ブトキシカルボニル（ＢＯＣ）、ベンジルオキシカルボニル（ＣＢＺ）、９－フルオレニルメチレンオキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）、またはバリン－シトルリン－ＰＡＢ等の自己犠牲単位を含む部分等）であり、
R_{12}は、Ｈ、C_1～C_8アルキル、または保護基であり、
R_1、R'_1、R_2、R'_2、R_5、もしくはR_{12}のうちの１つの水素、またはＡ環の間の－OCH_2CH_2（Ｘ）$_n$$CH_2CH_2$Ｏ－スペーサーの水素は、ＡＤＣのリンカーに接続された結合と置き換えられている）。

【０３４３】

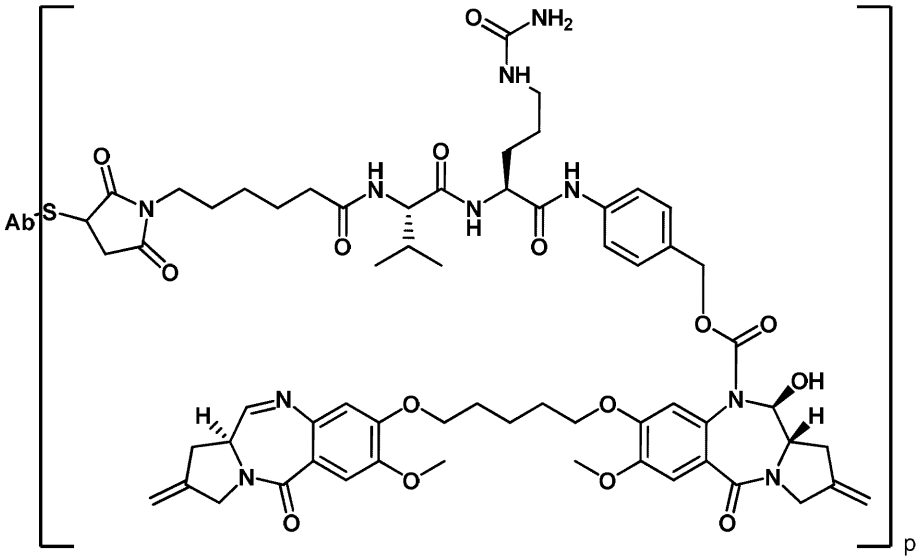
ＡＤＣの例となるＰＤＢ二量体部分には、次のものが含まれるが、これらに限定されない（波線は、リンカーへの共有結合の部位を示す）：



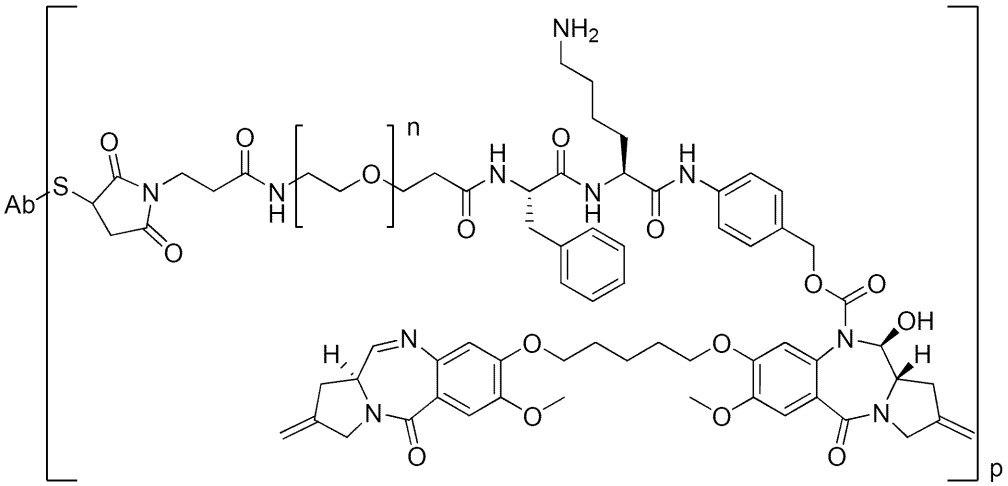
ＰＢＤ二量体、

【０３４４】

ＰＢＤ二量体を含むＡＤＣの非限定的な例となる実施形態は、次の構造を有する：



ＰＢＤ二量体－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、



ＰＢＤ二量体－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ－ＰＡＢ－Ａｂ（式中、
ｎは、０～１２である）。いくつかの実施形態において、ｎは、２～１０である。いくつかの実施形態において、ｎは、４～８である。いくつかの実施形態において、ｎは、４、５、６、７、および８から選択される。

【０３４５】

ＰＢＤ二量体－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＡｂおよびＰＢＤ二量体－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ－ＰＡＢ－Ａｂのリンカーは、プロテアーゼ開裂可能である一方で、ＰＢＤ二量体－マレイミド－アセタールのリンカーは、酸不安定性である。

【０３４６】

ＰＢＤ二量体およびＰＢＤ二量体を含むＡＤＣは、当該技術分野で既知の方法に従って調製されてもよい。例えば、国際公開第２００９／０１６５１６号、米国公開特許第２００９／３０４７１０号、米国公開特許第２０１０／０４７２５７号、米国公開特許第２００９／０３６４３１号、米国公開特許第２０１１／０２５６１５７号、国際公開第２０１１／１３０５９８号を参照されたい。

【０３４７】

（５）アントラサイクリン

いくつかの実施形態において、アントラサイクリンを含むＡＤＣ。アントラサイクリンは、細胞傷害性活性を示す抗生物質化合物である。いかなる特定の理論にも拘束されることを意図するものではないが、試験は、アントラサイクリンが、１）細胞のＤＮＡ中への薬物分子のインターカレーションによって、ＤＮＡ依存性核酸合成を阻害すること、２）薬物により遊離ラジカルが産生され、それが次いで細胞高分子と反応して、細胞への損傷を引き起こすこと、および／または３）薬物分子の細胞膜との相互作用を含む、いくつかの異なる機構によって、細胞を死滅させるように作動し得ることを示してきた（例えば、Ｃ．Ｐｅｔｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｔｒａｎｓｐｏｒｔ Ａｎｄ Ｓｔｏｒａｇｅ Ｏｆ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ Ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｌｅｕｋｅｍｉａ” ｉｎ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｎ．Ｒ．Ｂａｃｈｕｒ，“Ｆｒｅｅ Ｒａｄｉｃａｌ Ｄａｍａｇｅ” 同著書、９７～１０２ページを参照されたい）。それらの細胞傷害性の可能性のために、アントラサイクリンは、白血病、乳がん、肺がん、卵巣腺がん、および肉腫等の多数のがんの治療において使用されてきた（例えば、Ｐ．Ｈ－ Ｗｉｅｒｎｉｋ，ｉｎ Ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ：Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｓｔａｔｕｓ Ａｎｄ Ｎｅｗ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｐ １１を参照されたい）。

【０３４８】

非限定的な例となるアントラサイクリンには、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ダウノマイシン、ネモルビシン、およびそれらの誘導体が含まれる。ダウノルビ

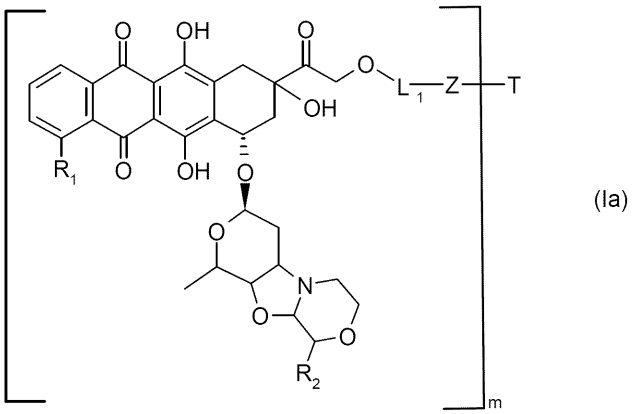
シンおよびドキソルビシンの免疫複合体およびプロドラッグが、調製され、研究されてきた（Ｋｒａｔｚ ｅｔ ａｌ（２００６）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１３：４７７－５２３、Ｊｅｆｆｒｅｙ ｅｔ ａｌ（２００６）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ １６：３５８－３６２、Ｔｏｒｇｏｖ ｅｔ ａｌ（２００５）Ｂｉｏｃｏｎｊ．Ｃｈｅｍ．１６：７１７－７２１、Ｎａｇｙ ｅｔ ａｌ（２０００）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９７：８２９－８３４、Ｄｕｂｏｗｃｈｉｋ ｅｔ ａｌ（２００２）Ｂｉｏｏｒｇ．＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ１２：１５２９－１５３２、Ｋｉｎｇ ｅｔ ａｌ（２００２）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４５：４３３６－４３４３、欧州特許第０３２８１４７号、米国公開特許第６６３０５７９号）。抗体－薬物複合体ＢＲ９６－ドキソルビシンは、腫瘍関連抗原Ｌｅｗｉｓ－Ｙと特異的に反応し、第Ｉ相およびＩＩ相試験において評価されてきた（Ｓａｌｅｈ ｅｔ ａｌ（２０００）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ １８：２２８２－２２９２、Ａｊａｎｉ ｅｔ ａｌ（２０００）Ｃａｎｃｅｒ Ｊｏｕｒ．６：７８－８１、Ｔｏｌｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ（１９９９）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ１７：４７８－４８４）。

【０３４９】

ＰＮＵ－１５９６８２は、ネモルビシンの強力な代謝産物（または誘導体）である（Ｑｕｉｎｔｉｅｒｉ、ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ１１（４）：１６０８－１６１７）。ネモルビシンは、ドキソルビシンのグリコシドアミノ上に２－メトキシモルホリノ基を有する、ドキソルビシンの半合成類似体であって、臨床評価段階にあり（Ｇｒａｎｄｉ ｅｔ ａｌ（１９９０）Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｅａｔ．Ｒｅｖ．１７：１３３、Ｒｉｐａｍｏｎｔｉ ｅｔ ａｌ（１９９２）Ｂｒｉｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ６５：７０３；）、肝細胞がんに対する第ＩＩ／ＩＩＩ相治験が含まれる（Ｓｕｎ ｅｔ ａｌ（２００３）Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｆｏｒ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２２，Ａｂｓ１４４８、Ｑｕｉｎｔｉｅｒｉ（２００３）Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，４４：１ｓｔ Ｅｄ，Ａｂｓ ４６４９、Ｐａｃｃｉａｒｉｎｉ ｅｔ ａｌ（２００６）Ｊｏｕｒ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ２４：１４１１６）。

【０３５０】

ネモルビシンまたはネモルビシン誘導体を含む非限定的な例となるＡＤＣは、式Ｉａ、



(Ia)

に示され、式中、R_1は、水素原子、ヒドロキシ、またはメトキシ基であり、R_2は、C_1～C_5アルコキシ基、またはその薬剤的に許容される塩であり、

L_1およびＺは共に、本明細書に記載されるリンカー（Ｌ）であり、

Ｔは、本明細書に記載される抗体（Ａｂ）であり、

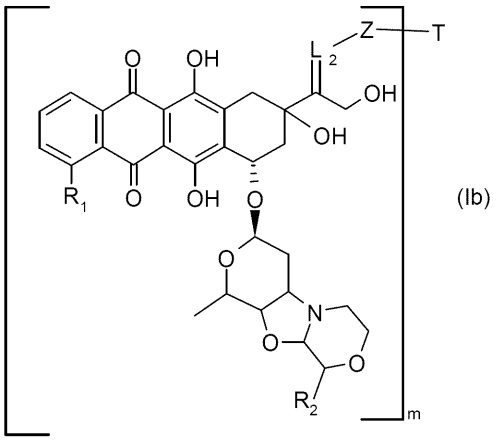
ｍは、１～約２０である。いくつかの実施形態において、ｍは、１～１０、１～７、１～５、または１～４である。

【０３５１】

いくつかの実施形態において、R_1およびR_2は両方とも、メトキシ（－ＯＭｅ）である。

【０３５２】

ネモルビシンまたはネモルビシン誘導体を含むさらなる非限定的な例となるＡＤＣは、式Ｉｂ、



(Ib)

に示され、式中、R_1は、水素原子、ヒドロキシ、またはメトキシ基であり、R_2は、C_1～C_5アルコキシ基、またはその薬剤的に許容される塩であり、

L_2およびＺは共に、本明細書に記載されるリンカー（Ｌ）であり、

Ｔは、本明細書に記載される抗体（Ａｂ）であり、

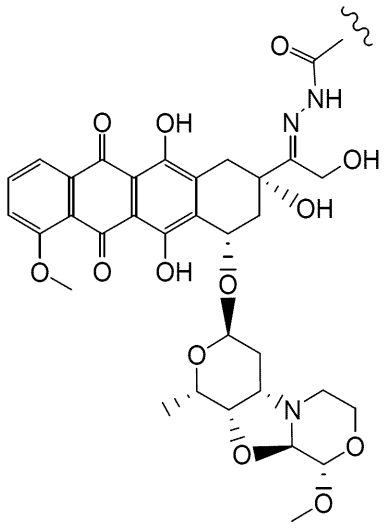
ｍは、１～約２０である。いくつかの実施形態において、ｍは、１～１０、１～７、１～５、または１～４である。

【０３５３】

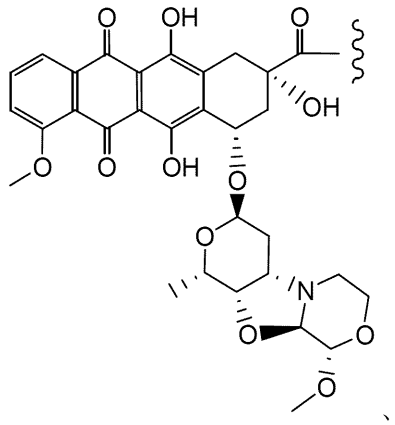
いくつかの実施形態において、R_1およびR_2は両方とも、メトキシ（－ＯＭｅ）である。

【０３５４】

いくつかの実施形態において、ネモルビシン含有ＡＤＣのネモルビシン構成要素は、ＰＮＵ－１５９６８２である。いくつかのかかる実施形態において、ＡＤＣの薬物部分は、次の構造のうちの１つを有し得る：



、または



、

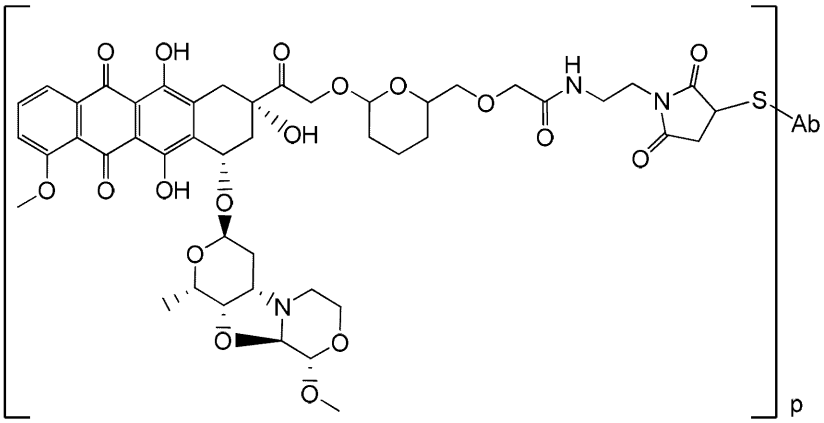
（式中、波線は、リンカー（Ｌ）への結合を示す）。

【０３５５】

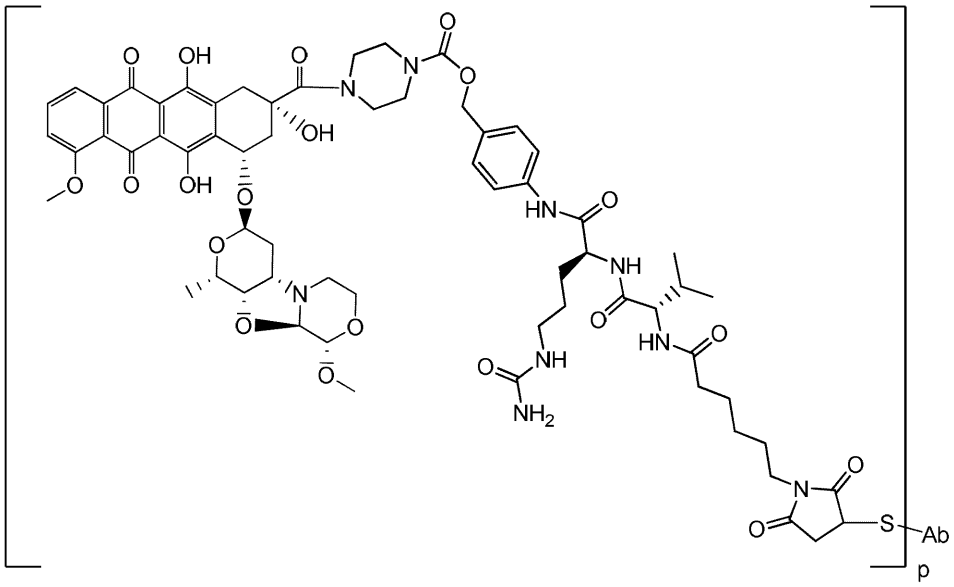
ＰＮＵ－１５９６８２を含む、アントラサイクリンは、数個の結合部位、および本明細書に記載されるリンカーを含む多様なリンカー（米国公開特許第２０１１／００７６２８７号、国際公開第２００９／０９９７４１号、米国公開特許第２０１０／００３４８３７号、国際公開第２０１０／００９１２４号）を通じて、抗体に複合されてもよい。

【０３５６】

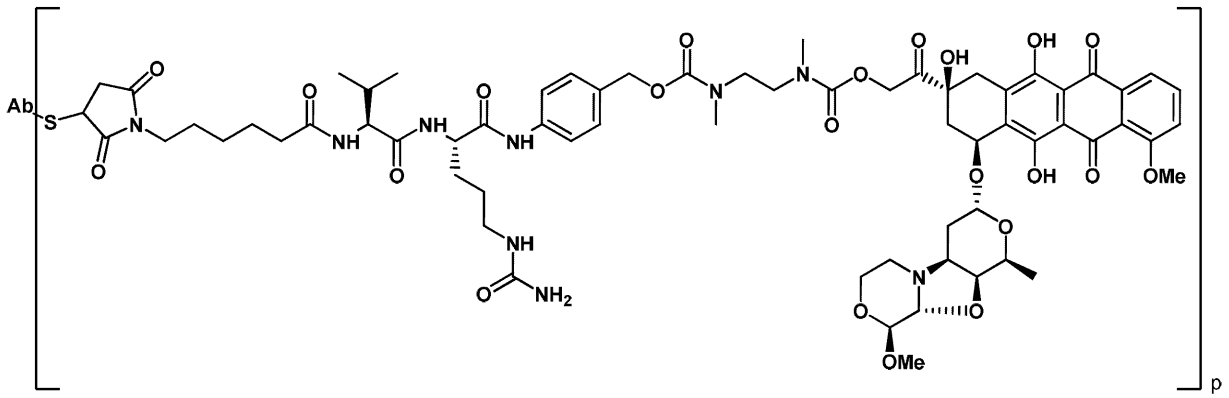
ネモルビシンおよびリンカーを含む例となるＡＤＣには、次のものが含まれるが、これらに限定されない：



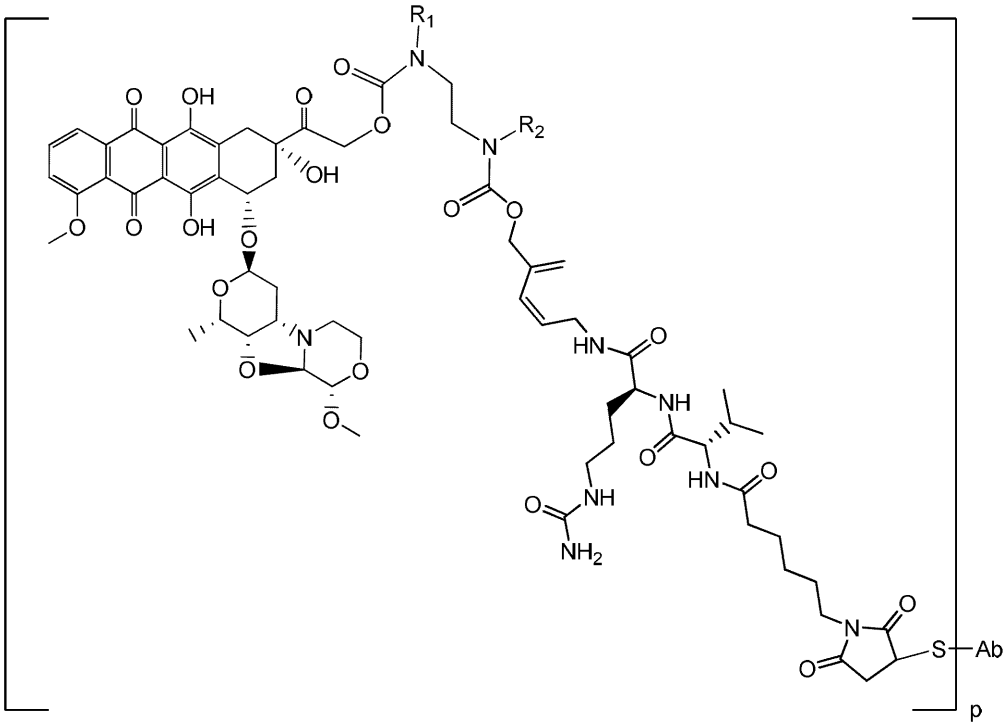
ＰＮＵ－１５９６８２マレイミドアセタール－Ａｂ、



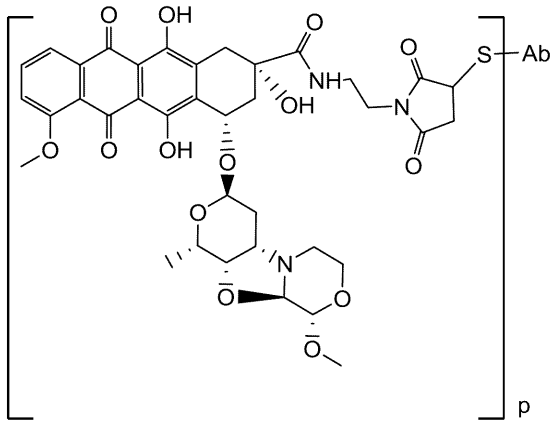
ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、



ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー－Ａｂ、



ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー（Ｒ^{1}Ｒ^{2}）－Ａｂ（式中、
Ｒ$_{1}$およびＲ$_{2}$は独立して、ＨおよびＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルから選択される）、および



ＰＮＵ－１５９６８２－マレイミド－Ａｂ。

【０３５７】

ＰＮＵ－１５９６８２マレイミドアセタール－Ａｂのリンカーは、酸不安定性である一方で、ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－Ａｂ、ＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー－Ａｂ、およびＰＮＵ－１５９６８２－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー（Ｒ^{1}Ｒ^{2}）－Ａｂのリンカーは、プロテアーゼ開裂可能である。

【０３５８】

（６）他の薬物部分

薬物部分にはまた、ゲルダナマイシン（Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ（２０００）Ｊ．Ｎａｔ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．９２（１９）：１５７３－１５８１、Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ（２０００）Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ １０：１０２５－１０２８、Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ（２００２）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１３：７８６－７９１）；ならびにジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒

素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（緑膿菌由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、α－サルシン、シナアブラギリタンパク質、ジアンチン（ｄｉａｎｔｈｉｎ）タンパク質、フィトラカ・アメリカーナ（Ｐｈｙｔｏｌａｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａ）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、およびＰＡＰ－Ｓ）、ニガウリ阻害剤、クルシン（ｃｕｒｃｉｎ）、クロチン（ｃｒｏｔｉｎ）、サパオナリア・オフィシナリス（ｓａｐａｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン（ｇｅｌｏｎｉｎ）、ミトゲリン（ｍｉｔｏｇｅｌｌｉｎ）、レストリクトシン（ｒｅｓｔｒｉｃｔｏｃｉｎ）、フェノマイシン（ｐｈｅｎｏｍｙｃｉｎ）、エノマイシン（ｅｎｏｍｙｃｉｎ）、およびトリコテセン（ｔｒｉｃｏｔｈｅｃｅｎｅ）を含むが、これらに限定されない、それらの酵素活性毒素および断片も含まれる。例えば、国際公開第９３／２１２３２号を参照されたい。

【０３５９】

薬物部分にはまた、核酸分解活性（例えば、リボヌクレアーゼまたはＤＮＡエンドヌクレアーゼ）を有する化合物も含まれる。

【０３６０】

ある特定の実施形態において、免疫複合体は、高放射性原子を含んでもよい。放射性物質複合（ｒａｄｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ）抗体の産生のために、多様な放射性同位体が利用可能である。例としては、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、およびＬｕの放射性同位体が挙げられる。いくつかの実施形態において、免疫複合体が検出に使用されるとき、それは、シンチグラフィー検査のための放射性原子、例えば、Tc^{99}もしくはI^{123}、またはジルコニウム－８９、ヨウ素－１２３、ヨウ素－１３１、インジウム－１１１、フッ素－１９、炭素－１３、窒素－１５、酸素－１７、ガドリニウム、マンガン、もしくは鉄等の、核磁気共鳴（ＮＭＲ）画像法（磁気共鳴画像法、ＭＲＩとしても知られる）のためのスピン標識を含んでもよい。ジルコニウム－８９は、例えば、ＰＥＴ画像法のために、種々の金属キレート剤に複合体化され、抗体に複合される（国際公開第２０１１／０５６９８３号）。

【０３６１】

放射標識または他の標識が、既知の方式で免疫複合体に組み込まれてもよい。例えば、ペプチドは、例えば、１個以上の水素の代わりに１個以上のフッ素－１９原子を含む、好適なアミノ酸前駆体を使用して、生合成または化学合成されてもよい。いくつかの実施形態において、Tc^{99}、I^{123}、Re^{186}、Re^{188}、およびIn^{111}等の標識は、抗体におけるシステイン残基を介して結合することができる。いくつかの実施形態において、イットリウム－９０は、抗体のリジン残基を介して結合することができる。いくつかの実施形態において、ＩＯＤＯＧＥＮ法（Ｆｒａｋｅｒ ｅｔ ａｌ（１９７８）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．８０：４９－５７を使用して、ヨウ素－１２３を組み込むことができる。“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｓｃｉｎｔｉｇｒａｐｈｙ”（Ｃｈａｔａｌ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ １９８９）は、ある特定の他の方法を記載する。

【０３６２】

ある特定の実施形態において、免疫複合体は、プロドラッグ活性化酵素に複合される抗体を含んでもよい。いくつかのかかる実施形態において、プロドラッグ活性化酵素は、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、国際公開第８１／０１１４５号を参照されたい）を、抗がん剤等の活性な薬物に変換する。かかる免疫複合体は、いくつかの実施形態において、抗体依存性酵素媒介性プロドラッグ療法（「ＡＤＥＰＴ」）において有用である。抗体に複合され得る酵素には、リン酸塩含有プロドラッグを遊離薬物へと変換するのに有用である、アルカリホスファターゼ；硫酸塩含有プロドラッグを遊離薬物へと変換するのに有用である、アリールスルファターゼ；非毒性５－フルオロシトシンを抗がん剤５－フルオロウラシルへと変換するのに有用である、シトシンデアミナーゼ；ペプチド含有プロドラッグを遊離薬物へと変換するのに有用である、セラチアプロテアーゼ、サーモリシン、スブチリシン、カルボキシペプチダーゼ、およびカテプシン（カテプシンＢおよ

びＬ等）等のプロテアーゼ；Ｄ－アミノ酸置換基を含有するプロドラッグを変換するのに有用である、Ｄ－アラニルカルボキシペプチダーゼ　；グリコシル化プロドラッグを遊離薬物へと変換するのに有用である、β－ガラクトシダーゼおよびノイラミニダーゼ等の炭水化物開裂酵素；β－ラクタムにより誘導体化された薬物を遊離薬物へと変換するのに有用である、β－ラクタマーゼ；ならびにそれらのアミン窒素においてそれぞれフェノキシアセチル基またはフェニルアセチル基により誘導体された薬物を遊離薬物へと変換するのに有用である、ペニシリンＶアミダーゼおよびペニシリンＧアミダーゼ等のペニシリンアミダーゼが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、酵素は、当該技術分野で周知の組み換えＤＮＡ技術によって、抗体に共有結合されてもよい。例えば、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３１２：６０４－６０８（１９８４）を参照されたい。

【０３６３】

ｃ）薬物負荷

薬物負荷は、式Ｉの分子における１抗体当たりの薬物部分の平均数である、ｐによって表される。薬物負荷は、１抗体当たり１～２０個の薬物部分（Ｄ）の範囲であり得る。式ＩのＡＤＣは、１～２０個の範囲の薬物部分と共に複合された抗体の集団を含む。複合反応からのＡＤＣの調製における、１抗体当たりの薬物部分の平均数は、質量分析法、ＥＬＩＳＡアッセイ、およびＨＰＬＣ等の従来の手段によって特徴付けられてもよい。ｐの単位でのＡＤＣの定量分布がまた決定されてもよい。いくつかの事例において、ｐがある特定の値である同種のＡＤＣの、他の薬物負荷を有するＡＤＣからの分離、精製、および特性評価は、逆相ＨＰＬＣまたは電気泳動等の手段によって達成されてもよい。

【０３６４】

いくつかの抗体－薬物複合体について、ｐは、抗体上の結合部位の数によって限定され得る。例えば、上のある特定の例となる実施形態にあるように、結合がシステインチオールである場合、抗体は、１個のみもしくは数個のシステインチオール基を有し得るか、または、１個のみもしくは数個の十分に反応性のチオール基を有し得、それを通じてリンカーが結合され得る。ある特定の実施形態において、より高い薬物負荷、例えば、５超のｐは、ある特定の抗体－薬物複合体において凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の喪失を引き起こし得る。ある特定の実施形態において、ＡＤＣについての平均薬物負荷は、１～約８、すなわち約２～約６、または約３～約５の範囲である。実際、ある特定のＡＤＣについて、１抗体当たりの薬物部分の最適な比率は、８未満であり得、また約２～約５であり得ることが示されてきた（米国公開特許第７４９８２９８号）。

【０３６５】

ある特定の実施形態において、理論上の最大数よりも少ない薬物部分が、複合反応中に抗体に複合される。抗体は、下に考察されるように、例えば、薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬と反応しないリジン残基を含有し得る。一般に、抗体は、薬物部分に連結し得る多くの遊離および反応性システインチオール基を含有せず、実際、抗体におけるほとんどのシステインチオール残基は、ジスルフィド架橋として存在する。ある特定の実施形態において、抗体は、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）またはトリカルボニルエチルホスフィン（ＴＣＥＰ）等の還元剤により、部分または完全還元条件下で還元されて、反応性システインチオール基を生成し得る。ある特定の実施形態において、本抗体は、リジンまたはシステイン等の反応性求核基を明らかにするために、変性条件に供される。

【０３６６】

ＡＤＣの負荷（薬物／抗体比）は、異なる方式で、ならびに例えば、（ｉ）抗体と比べてモル過剰の薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬を限定すること、（ｉｉ）複合反応時間または温度を限定すること、および（ｉｉｉ）システインチオール修飾のための部分または限定的還元条件によって、制御されてもよい。

【０３６７】

１個を超える求核基が薬物－リンカー中間体またはリンカー試薬と反応する場合、結果として生じる生成物は、１個以上の薬物部分の分布が抗体に結合した、ＡＤＣ化合物の混

合物であることを理解されたい。１抗体当たりのの平均数薬物は、抗体に特異的および薬物に特異的である、二重ＥＬＩＳＡ抗体アッセイによって混合物から算出されてもよい。個々のＡＤＣ分子は、質量分析法によって混合物中で特定され、ＨＰＬＣ、例えば、疎水性相互作用クロマトグラフィーによって、分離されてもよい（例えば、ＭｃＤｏｎａｇｈ　ｅｔ　ａｌ（２００６）Ｐｒｏｔ．Ｅｎｇｒ．Ｄｅｓｉｇｎ＆Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ　１９（７）：２９９－３０７、Ｈａｍｂｌｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ（２００４）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．１０：７０６３－７０７０、Ｈａｍｂｌｅｔｔ，Ｋ．Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．“Ｅｆｆｅｃｔ　ｏｆ　ｄｒｕｇ　ｌｏａｄｉｎｇ　ｏｎ　ｔｈｅ　ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ，ａｎｄ　ｔｏｘｉｃｉｔｙ　ｏｆ　ａｎ　ａｎｔｉ－ＣＤ３０　ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ　ｃｏｎｊｕｇａｔｅ，”Ａｂｓｔｒａｃｔ　Ｎｏ．６２４，Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ　ｆｏｒ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００４　Ａｎｎｕａｌ　Ｍｅｅｔｉｎｇ，Ｍａｒｃｈ　２７－３１，２００４，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　ＡＡＣＲ，Ｖｏｌｕｍｅ　４５，Ｍａｒｃｈ　２００４、Ａｌｌｅｙ，Ｓ．Ｃ．，ｅｔ　ａｌ．“Ｃｏｎｔｒｏｌｌｉｎｇ　ｔｈｅ　ｌｏｃａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｄｒｕｇ　ａｔｔａｃｈｍｅｎｔ　ｉｎ　ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ　ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ，”Ａｂｓｔｒａｃｔ　Ｎｏ．６２７，Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ　ｆｏｒ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００４　Ａｎｎｕａｌ　Ｍｅｅｔｉｎｇ，Ｍａｒｃｈ　２７－３１，２００４，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　ＡＡＣＲ，Ｖｏｌｕｍｅ　４５，Ｍａｒｃｈ　２００４を参照されたい）。ある特定の実施形態において、単一の負荷値を有する同種のＡＤＣが、電気泳動またはクロマトグラフィーによって複合混合物から単離されてもよい。

【０３６８】

ｄ）免疫複合体を調製するある特定の方法

式ＩのＡＤＣは、（１）抗体の求核基を二価リンカー試薬と反応させて、共有結合を介してＡｂ－Ｌを形成し、続いて薬物部分Ｄと反応させることと、（２）薬物部分の求核基を二価リンカー試薬と反応させて、共有結合を介してＤ－Ｌを形成し、続いて抗体の求核基と反応させることとを含む、いくつかの経路によって、当業者に既知の有機化学反応、条件、および試薬を用いて調製されてもよい。後者の経路を介して式ＩのＡＤＣを調製するための例となる方法は、米国公開特許第７４９８２９８号に記載され、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０３６９】

抗体上の求核基には、（ｉ）Ｎ末端アミン基、（ｉｉ）側鎖アミン基、例えば、リジン、（ｉｉｉ）側鎖チオール基、例えば、システイン、および（ｉｖ）抗体がグリコシル化される糖ヒドロキシルまたはアミノ基が含まれるが、これらに限定されない。アミン、チオール、およびヒドロキシル基は、求核性であり、（ｉ）ＮＨＳエステル、ＨＯＢｔエステル、ハロホルメート（ｈａｌｏｆｏｒｍａｔｅ）、および酸ハロゲン化物等の、活性エステル、（ｉｉ）ハロアセトアミド等のアルキルおよびベンジルハロゲン化物、ならびに（ｉｉｉ）アルデヒド、ケトン、カルボキシル、およびマレイミド基を含む、リンカー部分およびリンカー試薬上の求電子基と反応して、共有結合を形成することが可能である。ある特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、抗体が完全または部分還元されるように、ＤＴＴ（ジチオスレイトール）またはトリカルボニルエチルホスフィン（ＴＣＥＰ）等の還元剤での処理によって、リンカー試薬との複合に対して反応性にされ得る。各システイン架橋はこのようにして、理論上、２つの反応性のチオール求核剤を形成するであろう。追加の求核基は、リジン残基の修飾を通じて、例えば、リジン残基を２－イミノチオラン（Ｔｒａｕｔの試薬）と反応させて、アミンのチオールへの変換をもたらすことによって、抗体中に導入することができる。反応性のチオール基もまた、１個、２個、３個、４個、またはそれを超えるシステイン残基を導入することによって（例えば、１個以上の非天然システインアミノ酸残基を含む変異体抗体を調製することによって）、抗体中に導入され得る。

【０３７０】
本発明の抗体－薬物複合体はまた、アルデヒドまたはケトンカルボニル基等の抗体上の求電子基と、リンカー試薬または薬物上の求核基との間の反応によって産生されてもよい。リンカー試薬上の有用な求核基には、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボン酸塩、およびアリールヒドラジドが含まれるが、これらに限定されない。一実施形態において、本抗体は、リンカー試薬または薬物上の求核置換基と反応可能である求電子部分を導入するように修飾される。別の実施形態において、グリコシル化抗体の糖を、例えば、過ヨウ素酸塩酸化試薬で酸化させて、リンカー試薬または薬物部分のアミン基と反応し得るアルデヒドまたはケトン基を形成してもよい。結果として生じるイミンシッフ塩基群は、安定した結合を形成し得るか、または例えば、水素化ホウ素試薬によって還元されて、安定したアミン結合を形成し得る。一実施形態において、グリコシル化された抗体の炭水化物部分の、ガラクトースオキシダーゼまたはメタ過ヨウ素酸ナトリウムのいずれかとの反応は、抗体において、薬物上の適切な基と反応することができるカルボニル（アルデヒドおよびケトン）基を生み出し得る（Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ）。別の実施形態において、Ｎ末端セリンまたはスレオニン残基を含有する抗体は、メタ過ヨウ素酸ナトリウムと反応して、第１のアミノ酸の代わりにアルデヒドの産生をもたらすことができる（Ｇｅｏｇｈｅｇａｎ＆Ｓｔｒｏｈ，（１９９２）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．３：１３８－１４６、米国公開特許第５３６２８５２号）。かかるアルデヒドは、薬物部分またはリンカー求核剤と反応させることができる。

【０３７１】
薬物部分上の例となる求核基には、（ｉ）ＮＨＳエステル、ＨＯＢｔエステル、ハロホルメート、および酸ハロゲン化物等の、活性エステル、（ｉｉ）ハロアセトアミド等のアルキルおよびベンジルハロゲン化物、ならびに（ｉｉｉ）アルデヒド、ケトン、カルボキシル、およびマレイミド基を含む、リンカー部分およびリンカー試薬上の求電子基と反応して、共有結合を形成することが可能な、アミン、チオール、ヒドロキシル、ヒドラジド、オキシム、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボン酸塩、およびアリールヒドラジド基が含まれるが、これらに限定されない。

【０３７２】
ＡＤＣを調製するために使用され得る、非限定的な例となるクロスリンカー試薬は、本明細書における「例となるリンカー」と題される節に記載される。かかるクロスリンカー試薬を使用して、タンパク質性部分および化学部分を含む、２つの部分を連結する方法は、当該技術分野で知られている。いくつかの実施形態において、抗体および細胞傷害性薬剤を含む融合タンパク質は、例えば、組み換え技法またはペプチド合成によって作製されてもよい。組み換えＤＮＡ分子は、互いに隣接しているか、または複合体の所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって隔離されているかのいずれかの、複合体の抗体および細胞傷害性部分をコードする領域を含んでもよい。

【０３７３】
なおも別の実施形態において、抗体は、腫瘍の事前標的化（ｐｒｅ－ｔａｒｇｅｔｉｎｇ）において利用するために「受容体」（ストレプトアビジン等）に複合されてもよく、その腫瘍の事前標的化において抗体－受容体複合体が、患者に投与され、続いて除去剤を使用した血液循環からの非結合複合体の除去、次いで細胞傷害性薬剤（例えば、薬物または放射性ヌクレオチド）に複合されている「リガンド」（例えば、アビジン）の投与が行われる。

【０３７４】
Ｅ．　診断および検出のための方法および組成物
ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体のいずれも、生体試料中のＬｇＲ５の存在を検出するために有用である。本明細書で使用される「検出すること」という用語は、定量または定性検出を包含する。「生体試料」は、例えば、細胞または組織（例えば、がん性のまたはがん性の可能性がある結腸、結腸直腸、小腸、子宮内

膜、膵臓、または卵巣組織を含む、生検材料）を含む。

【０３７５】

一実施形態において、診断または検出方法において使用するための抗ＬｇＲ５抗体が提供される。さらなる態様において、生体試料中のＬｇＲ５の存在を検出する方法が提供される。ある特定の実施形態において、本方法は、生体試料を、本明細書に記載される抗ＬｇＲ５抗体と、ＬｇＲ５への抗ＬｇＲ５抗体の結合を許容する条件下で接触させることと、複合体が、生体試料中で、抗ＬｇＲ５抗体とＬｇＲ５との間で形成されるかどうかを検出することとを含む。かかる方法は、体外方法であっても、体内方法であってもよい。一実施形態において、例えば、ＬｇＲ５が患者の選択のためのバイオマーカーである場合、抗ＬｇＲ５抗体を使用して、抗ＬｇＲ５抗体での治療法にふさわしい対象を選択する。さらなる実施形態において、生体試料は、細胞または組織（例えば、がん性のまたはがん性の可能性がある結腸、結腸直腸、小腸、子宮内膜、膵臓、または卵巣組織を含む、生検材料）である。

【０３７６】

さらなる実施形態において、抗ＬｇＲ５抗体は、例えば、がんを診断する、がんの予後を判定する、もしくはがんを病期分類する、適切な治療過程を決定する、または治療法に対するがんの反応を監視する目的のために、体内で使用されて、例えば、体内画像法によって、対象におけるＬｇＲ５陽性がんを検出する。体内検出のための当該技術分野で既知の１つの方法は、例えば、ｖａｎ Ｄｏｎｇｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ Ｏｎｃｏｌｏｇｉｓｔ １２：１３７９－１３８９（２００７）ａｎｄ Ｖｅｒｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．４４：１２７１－１２８１（２００３）に記載される、免疫－陽電子放出断層撮影（免疫－ＰＥＴ）である。かかる実施形態において、対象においてＬｇＲ５陽性がんを検出するための方法が提供され、本方法は、標識された抗ＬｇＲ５抗体を、ＬｇＲ５陽性がんを有するかまたはそれを有することが疑われる対象に投与することと、対象における標識された抗ＬｇＲ５抗体を検出することとを含み、その標識された抗ＬｇＲ５抗体の検出は、対象におけるＬｇＲ５陽性がんを示す。かかる実施形態のある特定のものにおいて、標識された抗ＬｇＲ５抗体は、^{68}Ｇａ、^{18}Ｆ、^{64}Ｃｕ、^{86}Ｙ、^{76}Ｂｒ、^{89}Ｚｒ、および^{124}Ｉ等の陽電子放出体に複合される抗ＬｇＲ５抗体を含む。特定の実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【０３７７】

さらなる実施形態において、診断または検出方法は、基質に固定化された第１の抗ＬｇＲ５抗体を、ＬｇＲ５の存在について試験されるべき生体試料と接触させることと、その基質を第２の抗ＬｇＲ５抗体に曝露することと、その第２の抗ＬｇＲ５が、生体試料中で、第１の抗ＬｇＲ５抗体とＬｇＲ５との間の複合体に結合されるかどうかを検出することと、を含む。基質は、任意の支持培地、例えば、ガラス、金属、セラミック、ポリマービーズ、スライド、チップ、および他の基質であってもよい。ある特定の実施形態において、生体試料は、細胞または組織（例えば、がん性のまたはがん性の可能性がある結腸、結腸直腸、小腸、子宮内膜、膵臓、または卵巣組織を含む、生検材料）を含む。ある特定の実施形態において、第１または第２の抗ＬｇＲ５抗体は、本明細書に記載される抗体のいずれかである。いくつかのかかる実施形態において、第２の抗ＬｇＲ５抗体は、８Ｅ１１、または例えば、本明細書に記載される、８Ｅ１１に由来する抗体であってもよい。いくつかのかかる実施形態において、第２の抗ＬｇＲ５抗体は、ＹＷ３５３、または例えば、本明細書に記載される、ＹＷ３５３に由来する抗体であってもよい。いくつかの実施形態において、第１または第２の抗ＬｇＲ５抗体は、３Ｇ１２および２Ｈ６、ならびに例えば、本明細書に記載される、３Ｇ１２および／または２Ｈ６に由来する抗体から選択される。

【０３７８】

上の実施形態のいずれかにより診断または検出され得る、例となる障害には、ＬｇＲ５陽性結腸直腸がん（腺がんを含む）、ＬｇＲ５陽性小腸がん（腺がん、肉腫（例えば、平滑筋肉腫）、カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、およびリンパ腫を含む）、ＬｇＲ５陽

性卵巣がん（卵巣漿液性腺がんを含む）、ＬｇＲ５陽性膵臓がん（膵管腺がんを含む）、およびＬｇＲ５陽性子宮内膜がん等の、ＬｇＲ５陽性がんが含まれる。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、本明細書における実施例Ｂに記載される条件下で、「０」（腫瘍細胞の９０％超における非常に弱いまたはゼロの染色に対応する）を超える抗ＬｇＲ５免疫組織化学（ＩＨＣ）またはインサイツハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）スコアを受けるがんである。別の実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、本明細書における実施例Ｂに記載される条件下で定義するとき、１＋、２＋、または３＋レベルでＬｇＲ５を発現する。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、ＬｇＲ５　ｍＲＮＡを検出する逆転写酵素ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）アッセイに従って、ＬｇＲ５を発現するがんである。いくつかの実施形態において、ＲＴ－ＰＣＲは、定量ＲＴ－ＰＣＲである。

【０３７９】

ある特定の実施形態において、標識された抗ＬｇＲ５抗体が提供される。標識には、直接検出される標識または部分（蛍光標識、発色団標識、高電子密度標識、化学発光標識、および放射性標識等）、ならびに例えば、酵素反応または分子相互作用を通じて、間接的に検出される酵素またはリガンド等の部分が含まれるが、これらに限定されない。例となる標識には、放射性同位体^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、および^{131}Ｉ、希土類キレートまたはフルオレセインおよびその誘導体等のフルオロフォア、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ（ｌｕｃｅｒｉｆｅｒａｓｅｓ）、例えば、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖質オキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、およびグルコース－６－リン酸塩デヒドロゲナーゼ、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化させる酵素、例えばＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ、またはマイクロペルオキシダーゼとカップリングされた、ウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼ等の複素環式オキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定した遊離ラジカル等が含まれるが、これらに限定されない。別の実施形態において、標識は、陽電子放出体である。陽電子放出体には、^{68}Ｇａ、^{18}Ｆ、^{64}Ｃｕ、^{86}Ｙ、^{76}Ｂｒ、^{89}Ｚｒ、および^{124}Ｉが挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、陽電子放出体は、^{89}Ｚｒである。

【０３８０】

Ｆ．　医薬製剤

本明細書に記載されるＬｇＲ５抗体または免疫複合体の医薬製剤は、所望の程度の純度を有するかかる抗体または免疫複合体を、１つ以上の任意の薬剤的に許容される担体（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）と混合することによって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、調製される。薬剤的に許容される担体は、一般に、用いられる投薬量および濃度で、受容者に対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム等；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、もしくはベンジルアルコール；メチルもしくはプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；およびｍ－クレゾール等）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免役グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡ等のキレート薬剤；ショ糖、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトール等の糖類；ナトリウム等の塩形成対イオン；金属複合体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）；ならびに／またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）等の非イオン性界面活性剤が含まれるが、これらに

限定されない。本明細書における例となる薬剤的に許容される担体には、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えば、ｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）等のヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖タンパク質等の、介在性（ｉｎｓｔｅｒｓｔｉｔｉａｌ）薬物分散剤がさらに含まれる。ｒＨｕＰＨ２０を含む、ある特定の例となるｓＨＡＳＥＧＰおよび使用方法は、米国特許公開第２００５／０２６０１８６号および同第２００６／０１０４９６８号に記載される。一態様において、ｓＨＡＳＥＧＰは、コンドロイチナーゼ等の１つ以上の追加のグリコサミノグリカナーゼと組み合わされる。

【０３８１】

例となる凍結乾燥抗体または免疫複合体製剤は、米国特許第６，２６７，９５８号に記載される。水性抗体または免疫複合体製剤には、米国特許第６，１７１，５８６号および国際公開第２００６／０４４９０８号に記載されるものが含まれ、後者の製剤はヒスチジン－酢酸緩衝液を含む。

【０３８２】

本明細書における製剤はまた、治療されている特定の適応症に対する必要に応じて、１つ超の活性成分、好ましくは相互に悪影響を及ぼさない相補的活性を有する成分を含有してもよい。例えば、いくつかの事例において、例えば、ＬｇＲ５陽性結腸がんまたはＬｇＲ５陽性結腸直腸がん等のＬｇＲ５陽性がんの治療のために、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）をさらに提供することが望ましい場合がある。

【０３８３】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術によって、または界面重合によって調製される、マイクロカプセル、例えば、それぞれ、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子およびナノカプセル）中またはマクロエマルション中の、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン－マイクロカプセルおよびポリ－（メチルメタクリレート（ｍｅｔｈｙｌｍｅｔｈａｃｙｌａｔｅ））マイクロカプセル中に、封入されてもよい。かかる技術は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）に開示される。

【０３８４】

徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例としては、抗体または免疫複合体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスが挙げられ、そのマトリクスは、造形品、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。

【０３８５】

体内投与のために使用されるべき製剤は、一般に滅菌されている。滅菌状態は、例えば、滅菌濾過膜を通じた濾過によって、容易に遂行され得る。

【０３８６】

Ｇ．　治療方法および組成物

本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体のいずれも、方法、例えば、治療方法において使用され得る。

【０３８７】

一態様において、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体は、ＬｇＲ５陽性細胞の増殖を阻害する方法において使用され、本方法は、細胞を、抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体に、細胞の表面上のＬｇＲ５への抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体の結合を許容する条件下で曝露し、それによって細胞の増殖を阻害することを含む。ある特定の実施形態において、本方法は、体外方法または体内方法である。さらなる実施形態において、細胞は、結腸、結腸直腸、小腸、卵巣、膵臓、または子宮内膜細胞である。

【０３８８】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体は、がんの細胞のうちの少なくとも一部分にＫｒａｓ遺伝子における突然変異および／または大腸腺腫症（ＡＰＣ）遺伝子における突然変異を含む、がんを治療する方法において

使用される。種々の実施形態において、がんは、結腸、結腸直腸、小腸、卵巣、膵臓、および子宮内膜がんから選択される。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体は、がんの細胞のうちの少なくとも一部分にＫｒａｓ遺伝子における突然変異および／またはＡＰＣ遺伝子における突然変異を含む、結腸または結腸直腸がんを治療する方法において使用される。がん（結腸および結腸直腸がんを含む）において見出される、非限定的な例となるＫｒａｓ突然変異には、Ｋｒａｓコドン１２（例えば、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ｓ、およびＧ１２Ａ）、コドン１３（例えば、Ｇ１３ＤおよびＧ１３Ｃ）、コドン６１（例えば、Ｇ６１Ｈ、Ｇ６１Ｌ、Ｇ６１Ｅ、およびＧ６１Ｋ）、およびコドン１４６における突然変異が含まれる。例えば、Ｙｏｋｏｔａ，Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ａｇｅｎｔｓ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，１２：１６３－１７１（２０１２）、Ｗｉｃｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｓｗｉｓｓ Ｍｅｄ．Ｗｋｌｙ，１４０：ｗ１３１１２（２０１０）を参照されたい。がんにおいて見出される、非限定的な例となるＡＰＣ突然変異には、切断型ＡＰＣ遺伝子産物をもたらす停止コドンおよびフレームシフト突然変異等の、突然変異クラスター領域（ＭＣＲ）における突然変異が含まれる。例えば、Ｃｈａｎｄｒａ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ，７：ｅ３４４７９（２０１２）、およびＫｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．，１７：１９７８－１９８７（２００８）を参照されたい。

【０３８９】

いくつかの実施形態において、がんを治療する方法は、抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体を対象に投与することを含み、その対象は、がん細胞のうちの少なくとも一部分にＫｒａｓ突然変異および／またはＡＰＣ突然変異を含むがんを有する。いくつかの実施形態において、がんは、結腸、結腸直腸、小腸、卵巣、膵臓、および子宮内膜がんから選択される。いくつかの実施形態において、がんは、結腸および／または結腸直腸がんである。いくつかの実施形態において、対象は、がん細胞のうちの少なくとも一部分にＫｒａｓ突然変異および／またはＡＰＣ突然変異を含むがんを有することが予め定義されている。いくつかの実施形態において、がんは、ＬｇＲ５陽性である。

【０３９０】

試料中の種々のバイオマーカーの存在は、いくつかの方法論によって分析することができ、このうちの多くは、当該技術分野で知られ、当業者によって理解されており、免疫組織化学（「ＩＨＣ」）、ウェスタンブロット分析、免疫沈降、分子結合アッセイ、ＥＬＩＳＡ、ＥＬＩＦＡ、蛍光標識細胞分取（「ＦＡＣＳ」）、ＭａｓｓＡＲＲＡＹ、プロテオミクス、定量血液系アッセイ（例として血清ＥＬＩＳＡ）、生化学酵素活性アッセイ、インサイツハイブリダイゼーション、サザン分析、ノーザン分析、全ゲノム配列決定、定量リアルタイムＰＣＲ（「ｑＲＴ－ＰＣＲ」）および例えば、分岐鎖ＤＮＡ、ＳＩＳＢＡ、ＴＭＡ等の他の増幅型の検出法を含む、ポリメラーゼ連鎖反応（「ＰＣＲ」）、ＲＮＡ－Ｓｅｑ、ＦＩＳＨ、マイクロアレイ分析、遺伝子発現プロファイリング、および／または遺伝子発現の連鎖解析（「ＳＡＧＥ」）、ならびにタンパク質、遺伝子、および／または組織アレイ分析によって行うことができる多種多様なアッセイのうちの任意のものが含まれるが、これらに限定されない。遺伝子および遺伝子産物の状態の評価のための典型的なプロトコルは、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，１９９５，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ Ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｕｎｉｔｓ ２（Ｎｏｒｔｈｅｒｎ Ｂｌｏｔｔｉｎｇ）、４（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ Ｂｌｏｔｔｉｎｇ）、１５（Ｉｍｍｕｎｏｂｌｏｔｔｉｎｇ）、および１８（ＰＣＲ Ａｎａｌｙｓｉｓ）に見出される。Ｒｕｌｅｓ Ｂａｓｅｄ ＭｅｄｉｃｉｎｅまたはＭｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（「ＭＳＤ」）から利用可能なもの等の、多項目免疫測定法もまた使用され得る。

【０３９１】

体外での細胞増殖の阻害は、Ｐｒｏｍｅｇａ（Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）から市販されている、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（商標）Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ Ｃｅｌｌ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ Ａｓｓａｙを使用してアッセイされてもよい。そのアッセイは、代謝的に

活性な細胞を示す、存在するＡＴＰの定量に基づいて、培養物中の生存細胞の数を決定する。Ｃｒｏｕｃｈ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．１６０：８１－８８、米国特許第６６０２６７７号を参照されたい。アッセイは、自動化高処理スクリーニング（ＨＴＳ）を受けやすくする、９６ウェルまたは３８４ウェル形式で行われてもよい。Ｃｒｅｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９９５）ＡｎｔｉＣａｎｃｅｒ　Ｄｒｕｇｓ　６：３９８－４０４を参照されたい。アッセイ手順は、単一の試薬（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）試薬）を培養細胞に直接添加することを伴う。これは、細胞溶解およびルシフェラーゼ反応によって生み出される発光シグナルの生成をもたらす。発光シグナルは、培養物中に存在する生存細胞の数に直接比例する、存在するＡＴＰの量に比例する。データは、ルミノメーターまたはＣＣＤカメラ画像化デバイスによって記録することができる。発光出力は、相対発光量（ＲＬＵ）として表される。

【０３９２】

別の態様において、薬品として使用するための抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体が提供される。さらなる態様において、治療方法において使用するための抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体が提供される。ある特定の実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんの治療において使用するための抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体が提供される。ある特定の実施形態において、本発明は、ＬｇＲ５陽性がんを有する個体を治療する方法において使用するための抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体を提供し、本方法は、個体に、有効量の抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体を投与することを含む。１つのかかる実施形態において、本方法は、個体に、例えば、下に記載されるような、有効量の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。

【０３９３】

さらなる態様において、本発明は、薬品の製造または調製における、抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体の使用を提供する。一実施形態において、薬品は、ＬｇＲ５陽性がんの治療のためのものである。さらなる実施形態において、薬品は、ＬｇＲ５陽性がんを治療する方法において使用するためのものであり、本方法は、ＬｇＲ５陽性がんを有する個体に、有効量の薬品を投与することを含む。１つのかかる実施形態において、本方法は、個体に、例えば、下に記載されるような、有効量の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。

【０３９４】

さらなる態様において、本発明は、ＬｇＲ５陽性がんを治療するための方法を提供する。一実施形態において、本方法は、かかるＬｇＲ５陽性がんを有する個体に、有効量の抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体を投与することを含む。１つのかかる実施形態において、本方法は、個体に、下に記載されるような、有効量の少なくとも１つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。

【０３９５】

上の実施形態のいずれかによるＬｇＲ５陽性がんは、例えば、ＬｇＲ５陽性結腸または結腸直腸がん（腺がんを含む）、ＬｇＲ５陽性小腸がん（腺がん、肉腫（例えば、平滑筋肉腫）、カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、およびリンパ腫を含む）、ＬｇＲ５陽性卵巣がん（卵巣漿液性腺がんを含む）、ＬｇＲ５陽性膵臓がん（膵管腺がんを含む）、およびＬｇＲ５陽性子宮内膜がんであり得る。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、本明細書における実施例Ｂに記載される条件下で、「０」（腫瘍細胞の９０％超における非常に弱いまたはゼロの染色に対応する）を超える抗ＬｇＲ５免疫組織化学（ＩＨＣ）またはインサイツハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）スコアを受けるがんである。別の実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、本明細書における実施例Ｂに記載される条件下で定義するとき、１＋、２＋、または３＋レベルでＬｇＲ５を発現する。いくつかの実施形態において、ＬｇＲ５陽性がんは、ＬｇＲ５　ｍＲＮＡを検出する逆転写酵素ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）アッセイに従って、ＬｇＲ５を発現するがんである。いくつかの実施形態において、ＲＴ－ＰＣＲは、定量ＲＴ－ＰＣＲである。

【０３９６】

上の実施形態のいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０３９７】

さらなる態様において、本発明は、例えば、上の治療方法のいずれかにおいて使用するための、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体のいずれかを含む、医薬製剤を提供する。一実施形態において、医薬製剤は、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体のいずれかと、薬剤的に許容される担体とを含む。別の実施形態において、医薬製剤は、本明細書に提供される抗ＬｇＲ５抗体または免疫複合体のいずれかと、例えば、下に記載されるような、少なくとも１つの追加の治療剤とを含む。

【０３９８】

本発明の抗体または免疫複合体は、治療法において、単独で、または他の薬剤と組み合わせてのいずれかで使用することができる。例えば、本発明の抗体または免疫複合体は、少なくとも１つの追加の治療剤と同時投与されてもよい。ある特定の実施形態において、追加の治療剤は、例えば、ＬｇＲ５陽性結腸がんまたはＬｇＲ５陽性結腸直腸がん等のＬｇＲ５陽性がんの治療のための、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）（ベバシズマブ）である。

【０３９９】

上述のかかる併用療法は、併用投与（２つ以上の治療剤が同じまたは別個の製剤中に含まれる）、および別個の投与を包含し、別個の投与の場合、本発明の抗体または免疫複合体の投与は、追加の治療剤および／またはアジュバントの投与の前、それと同時、および／またはその後に生じ得る。本発明の抗体または免疫複合体はまた、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

【０４００】

本発明の抗体または免疫複合体（および任意の追加の治療剤）は、非経口、肺内、および鼻腔内、ならびに局所両方のために所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、任意の好適な経路による、例えば、投与が短時間であるか長期的であるかに部分的に応じて、静脈内または皮下注射等の、注射により行うことができる。単回または種々の時点にわたる複数回投与、ボーラス投与、およびパルス注入を含むが、これらに限定されない、種々の投薬スケジュールが本明細書で企図される。

【０４０１】

本発明の抗体または免疫複合体は、良好な医療行為と一致した様式で、製剤化され、投薬され、投与されるであろう。この文脈における考慮の要因には、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床的病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、および医療従事者に既知の他の要因が含まれる。抗体または免疫複合体は、必要ではないが、任意に、問題の障害を予防または治療するために現在使用される１つ以上の薬剤と共に製剤化される。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体または免疫複合体の量、障害または治療の種類、および上に考察された他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投薬量で、本明細書に記載される投与経路により、または本明細書に記載される投薬量の約１～９９％、または適切であると経験的／臨床的に決定される任意の投薬量で、任意の経路によって、使用される。

【０４０２】

疾患の予防または治療のために、本発明の抗体または免疫複合体の適切な投薬量（単独でまたは１つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用されるとき）は、治療対象の疾患の種類、抗体または免疫複合体の種類、疾患の重症度および経過、抗体または免疫複合体が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療法、患者の病歴および抗体または免疫複合体への反応、ならびに主治医の裁量に依存するであろう。抗体または免疫複合体は、患者に、１回で、または一連の治療にわたって、好適に投与される。疾患の種類および重症度に応じて、例えば、１回以上の別個の投与によってであれ、または持続注入によってであれ、約１μｇ／ｋｇ～１５ｍｇ／ｋｇ（例えば、０．１ｍｇ／ｋｇ～１

０ｍｇ／ｋｇ）の抗体または免疫複合体が、患者への投与のための初回の候補投薬量であり得る。１つの典型的な１日投薬量は、上述の要因に応じて、約１μｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ以上の範囲であり得る。病態に応じて数日間またはより長い日数にわたる反復投与について、治療は、一般に、疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続されるであろう。抗体または免疫複合体の１つの例となる投薬量は、約０．０５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲内であろう。故に、約０．５ｍｇ／ｋｇ、２．０ｍｇ／ｋｇ、４．０ｍｇ／ｋｇ、または１０ｍｇ／ｋｇ（またはそれらの任意の組み合わせ）の１回以上の用量が患者に投与されてもよい。かかる用量は、断続的に、例えば、毎週または３週間毎に（例えば、患者が抗体の約２～約２０回、または例えば、約６回用量を受容するように）投与されてもよい。初回よりも高い負荷用量、続いて１回以上のより低い用量が投与されてもよい。しかしながら、他の投薬レジメンが有用であってもよい。この治療法の進行は、従来の技術およびアッセイによって容易に監視される。

【０４０３】

上の製剤または治療方法のうちのいずれも、本発明の免疫複合体および抗ＬｇＲ５抗体の両方を使用して行われ得ることが理解される。

【０４０４】

Ｈ．　製品

本発明の別の態様において、上述の障害の治療、予防、および／または診断に有用な物質を含有する製品が提供される。製品は、容器、および容器上のまたは容器と関連したラベルまたは添付文書を含む。好適な容器には、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、ＩＶ溶液バッグ等が含まれる。容器は、ガラスまたはプラスチック等の多様な材料から形成され得る。容器は、組成物を、それ自体で、または障害を治療する、予防する、および／もしくは診断するのに有効な別の組成物と組み合わせて保有し、また滅菌アクセスポートを有し得る（例えば容器は、静脈注射用溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を有するバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも１つの活性な薬剤は、本発明の抗体または免疫複合体である。標識または添付文書は、組成物が選定した病態を治療するために使用されることを表示する。さらに、製品は、（ａ）組成物がその中に含有された第１の容器（その組成物は本発明の抗体または免疫複合体を含む）、および（ｂ）組成物がその中に含有された第２の容器（その組成物はさらなる細胞傷害性薬剤または治療剤を含む）を含んでもよい。本発明のこの実施形態の製品は、組成物が特定の病態を治療するために使用され得ることを表示する、添付文書をさらに含んでもよい。代替的に、または追加的に、製品は、注射用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝食塩水、リンゲル液またはデキストロース溶液等の、薬剤的に許容される緩衝液を含む、第２の（または第３の）容器をさらに含んでもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、およびシリンジを含む、商業的およびユーザの立場から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。

【実施例】

【０４０５】

ＩＩＩ．　実施例

以下は、本発明の方法および組成物の実施例である。上に提供される一般的説明を考慮すると、種々の他の実施形態が実施され得ることが理解される。

【０４０６】

Ａ．　ヒトＬｇＲ５遺伝子発現

ヒトＬｇＲ５遺伝子発現を、遺伝子発現情報を含む専有のデータベースを使用して分析した（ＧｅｎｅＥｘｐｒｅｓｓ（登録商標）、Ｇｅｎｅ　Ｌｏｇｉｃ　Ｉｎｃ．，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）。ＧｅｎｅＥｘｐｒｅｓｓ（登録商標）データベースのグラフ解析を、マイクロアレイプロフィールビューアを使用して行った。図１は、種々の組織におけるヒトＬｇＲ５遺伝子発現のグラフ表示である。ｙ軸上の目盛りは、ハイブリダイゼーションシグナル強度に基づいた遺伝子発現レベルを示す。列挙される各組織の名称から延長する線の左側および右側の両側に点が見える。線の左側に見える点は、正常な組織における遺伝子発現を表し、線の右側に見える点は、腫瘍および患部組織における遺伝子

発現を表す。図１は、ある特定の腫瘍または患部組織における、それらの正常な対応物と比べて増加したＬｇＲ５遺伝子発現を示す。特に、ＬｇＲ５は、結腸直腸腫瘍、子宮内膜腫瘍および卵巣腫瘍において実質的に過剰発現される。図１の挿入図は、ＬｇＲ５が少なくとも次の結腸腫瘍、すなわち腺がん、良性腫瘍、および転移性結腸腫瘍において、また５０％未満の結腸腫瘍含量（図１の挿入図における「低腫瘍」）を有する組織においても過剰発現されるが、正常な結腸、クローン病、または潰瘍性大腸炎においては過剰発現されないことを示す。ヒトＬｇＲ５発現は、正常な組織においてよりはるかに低く、正常な脳、筋肉、卵巣、および胎盤組織において発現レベルが低い。

【０４０７】

Ｂ．　結腸腫瘍におけるヒトＬｇＲ５の蔓延率

結腸直腸がんにおけるＬｇＲ５の発現を評価するために、５７個の原発性結腸直腸腺がんを複数の源から入手した（Ａｓｔｅｒａｎｄ，Ｄｅｔｒｏｉｔ，ＭＩ、Ｂｉｏ－Ｏｐｔｉｏｎｓ，Ｆｕｌｌｅｒｔｏｎ，ＣＡ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｍｉｃｈｉｇａｎ，Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ，ＭＩ、Ｃｙｔｏｍｙｘ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ、Ｃｏｏｐｅｒａｔｉｖｅ Ｈｕｍａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｎｅｔｗｏｒｋ，Ｎａｓｈｖｉｌｌｅ，ＴＮ、Ｉｎｄｉｖｕｍｅｄ，Ｈａｍｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ、ＰｒｏｔｅｏＧｅｎｅｘ，Ｃｕｌｖｅｒ Ｃｉｔｙ，ＣＡ）。試料の４４パーセントは、男性からのものであり、患者の平均年齢は、６６歳であった（３１～９３歳の範囲）。組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）を、Ｂｕｂｅｎｄｏｒｆ Ｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｐａｔｈｏｌ２００１ Ｓｅｐ；１９５（１）：７２－９に記載される二重コア（ｄｕｐｌｉｃａｔｅ ｃｏｒｅ）を使用して組み立て、それには対症例からの５つの正常な結腸直腸粘膜試料が含まれた。

【０４０８】

ＬｇＲ５発現を、インサイツハイブリダイゼーションによって、表２に示されるオリゴヌクレオチドプローブを使用して決定した。例えば、Ｊｕｂｂ ＡＭ，ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２００６；３２６：２５５－６４を参照されたい。分析前に、β－アクチンについてのＩＳＨを使用して、結腸直腸がん組織におけるｍＲＮＡ完全性を確認した。

表２．同位体インサイツハイブリダイゼーションプローブに対するプライマー配列

遺伝子	Ｇｅｎｂａｎｋ受入	プローブに相補的なヌクレオチド	アンチセンス（ＡＳ）またはセンス（Ｓ）	順方向プライマー（５’～３’）	逆方向プライマー（５’～３’）
Ｌｇｒ５	ＮＭ＿００３６６７	５０８	ＡＳ	ＡＣＣＡＡＣＴＧＣＡＴＣＣＴＡＡＡＣＴＧ（配列番号８３）	ＡＣＣＧＡＧＴＴＴＣＡＣＣＴＣＡＧＣＴＣ（配列番号８４）
Ｌｇｒ５	ＮＭ＿００３６６７	４９６	Ｓ	ＡＣＡＴＴＧＣＣＣＴＧＴＴＧＣＴＣＴＴＣ（配列番号８５）	ＡＣＴＧＣＴＣＴＧＡＴＡＡＣＴＣＡＡＴＣ（配列番号８６）

【０４０９】

訓練された病理学者が、下の分類表に従って、染色の強度（銀色の粒）ならびに幅を考慮して、ＬｇＲ５ハイブリダイゼーション強度をスコア化した。

０（陰性）：腫瘍細胞の９０％超における非常に弱いまたはゼロのハイブリダイゼーション

１＋（軽度）：優勢的なハイブリダイゼーションパターンが弱い

２＋（中程度）：優勢的なハイブリダイゼーションパターンが新生細胞の大部分（５０％超）において中程度に強い
３＋（強）：優勢的なハイブリダイゼーションパターンが新生細胞の大部分（５０％超）において強い
センスプローブを、ハイブリダイゼーションの特異性の対照とするために使用した。

【０４１０】

図２は、１＋、２＋、および３＋レベルの染色を有する、例となる結腸腫瘍切片を示す。上パネルは暗視野画像を示し、下パネルは明視野画像を示す。暗視野画像における銀色の粒の沈着は、プローブのハイブリダイゼーションおよびＬｇＲ５　ｍＲＮＡの発現を示す。分析された結腸腫瘍切片のうちの約７７％（４１／５３）がＬｇＲ５陽性で、１＋、２＋、または３＋レベルの染色を示し、このうち３４％（１８／５３）が２＋または３＋染色を示した。分析された５７個の試料のうちの４個は、ＬｇＲ５発現について情報価値がなかった。

【０４１１】

結腸腫瘍におけるＬｇＲ５発現の有意性を評価するために、結腸直腸腺がんに対する外科的切除を受けたことのある患者の集団ベースの系列を、１９８８年から２００３年までのＳｔ　Ｊａｍｅｓ’　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｈｏｓｐｉｔａｌ（Ｌｅｅｄｓ，ＵＫ）の病理記録から遡及的に集めた。組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）を、Ｂｕｂｅｎｄｏｒｆ　Ｌ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｐａｔｈｏｌ２００１　Ｓｅｐ；１９５（１）：７２－９に記載されるように、１患者当たり正常な粘膜の１つのコアおよび腺がんの３つのコアにより構築した。ＩＳＨを行い、上述のようにスコア化した。同じ腫瘍からの３つのコアにわたる発現の不均一性もまた決定したが、それは３つのコアのうちの１つにおいて特定のレベルの不一致を示した腫瘍の割合として表される。例えば、３つのコアが、＋１、＋３、および＋３のスコアを有した場合、その腫瘍からの３つのコアのうちの１つは、２の差で不一致である。

【０４１２】

図３Ａは、インサイツハイブリダイゼーションによって測定される、結腸腫瘍組織マイクロアレイにおける　０、１＋、２＋、および３＋レベルのＬｇＲ５染色の蔓延率を示す。結腸腫瘍組織の７５％が、１＋、２＋、または３＋レベルの染色を示し、このうち３７％が２＋または３＋染色を示した。図３Ｂは、ＬｇＲ５発現の不均一性を示す。腫瘍の６７％は、３つのコアにわたって不均一性を何ら示さなかった。３２％は、３つのコアのうちの１つにおいて１の不一致を示し、１％のみが１超の不一致を示した。

【０４１３】

Ｃ．　マウスモノクローナル抗体生成

ヒトＬｇＲ５に対するモノクローナル抗体を、次の手順を使用して生成した。Ｃ末端Ｈｉｓ標識Ｆｃを有するヒトＬｇＲ５細胞外ドメイン（ＥＣＤ、アミノ酸２２～５５７）を、バキュロウイルス発現系から発現させ、Ｎｉ－ＮＴＡカラム（Ｑｉａｇｅｎ）により精製し、続いて以前に記載されたように（Ｋｉｒｃｈｈｏｆｅｒｅｔ　ａｌ．、２００３）２０ｍＭのＭＥＳ（ｐＨ６．０）、６ＭグアニジンHCl中、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００カラムによりゲル濾過し、－８０℃での保管のためにＰＢＳ中に透析した。

【０４１４】

１５匹のＢａｌｂ／ｃマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．，Ｈｏｌｌｉｓｔｅｒ，ＣＡ，ＵＳＡ）に、乳酸リンゲル液中のｈｕＬｇＲ５プラスミドＤＮＡ（尾静脈を介して）、または代謝可能なスクアレン（４ｖ／ｖ％）、Ｔｗｅｅｎ　８０（０．２ｖ／ｖ％）、トレハロース６，６－ジミコレート（０．０５ｗ／ｖ％）、およびモノホスホリルリピドＡ（０．０５ｗ／ｖ％、Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ，ＵＳＡ）を含有するアジュバント中の上述の組み換えヒトＬｇＲ５　ＥＣＤ（後足蹠を介して）のいずれかを注射した。６～９回の注射後、血清力価を、標準的な酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）およびＦＡＣＳによって評価した。総計５匹のマウスから採取した脾臓Ｂ細胞を、マウス骨髄腫細胞（Ｘ６３．Ａｇ

８．６５３、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ，ＵＳＡ）と、電気融合（Ｈｙｂｒｉｍｕｎｅ、Ｈａｒｖａｒｄ Ａｐｐａｒａｔｕｓ，Ｉｎｃ．，Ｈｏｌｌｉｓｔｏｎ，ＭＡ，ＵＳＡ）によって融合した。１０～１４日後、ハイブリドーマ上清を、抗体分泌について、ＥＬＩＳＡによってスクリーニングした。全ての陽性クローンを次いで増大させ、ｈｕＬｇＲ５およびｍｕＬｇＲ５への結合について（すなわち、２９３－ｈｕＬＧＲ５および２９３－ｍｕＬＧＲ５細胞への結合について）、ＥＬＩＳＡおよびＦＡＣＳによって再スクリーニングした。ハイブリドーマクローン８Ｅ１１．１．１（ＤＮＡ免疫マウスから特定された）、および２Ｈ６．３．５、および３Ｇ１２．２．１（双方ともタンパク質免疫マウス由来）は、２回のサブクローニング（限界希釈による）後に高い免疫結合を示し、それをＩＮＴＥＧＲＡ ＣＥＬＬｉｎｅ １０００バイオリアクター（ＩＮＴＥＧＲＡ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ ＡＧ，Ｚｉｚｅｒｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）における精製のためにスケールアップした。上清を次いで親和性クロマトグラフィーによって精製し、滅菌濾過し、ＰＢＳ中４℃で保管した。ＩｓｏＳｔｒｉｐマウスｍＡｂアイソタイプ判定キット（Ｒｏｃｈｅ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ，ＵＳＡ）を使用して、ｍＡｂのアイソタイプをＩｇＧ１（カッパ軽鎖）と決定した。

【０４１５】

図４は、ある特定の特性と共に生成される、ある特定のモノクローナル抗体を示し、このうちのいくつかが、下にさらに詳細に記載される。

【０４１６】

Ｄ． マウスモノクローナル抗体のクローニングおよびキメラ化

モノクローナル抗体８Ｅ１１、３Ｇ１２、および２Ｈ６を、次のようにクローニングし、キメラ化した。

【０４１７】

総ＲＮＡを、標準方法を使用して、マウス８Ｅ１１、マウス３Ｇ１２、またはマウス２Ｈ６を産生するハイブリドーマ細胞から抽出した。可変軽（ＶＬ）および可変重（ＶＨ）ドメインを、ＲＴ－ＰＣＲを使用して、重鎖および軽鎖に対する縮重プライマーにより増幅した。順方向プライマーは、ＶＬおよびＶＨ領域のＮ末端アミノ酸配列に特異的であった。それぞれ、ＬＣおよびＨＣ逆方向プライマーを、複数種にわたって高度に保存されている、定常軽（ＣＬ）および定常重ドメイン１（ＣＨ１）における領域に対してアニーリングするように設計した。挿入物のポリヌクレオチド配列を、通例の配列決定方法を使用して決定した。８Ｅ１１ ＶＬおよびＶＨアミノ酸配列が、それぞれ、図５および６に示される（それぞれ、配列番号３および４）。３Ｇ１２および２Ｈ６ ＶＬおよびＶＨアミノ酸配列が、それぞれ、図７および８に示される。抗体３Ｇ１２のＶＬおよびＶＨ配列が、それぞれ、配列番号２１および２２に示され、抗体２Ｈ６のＶＬおよびＶＨ配列が、それぞれ、配列番号２３および２４に示される。

【０４１８】

各抗体を、マウス重鎖可変領域をヒトＩｇＧ１重鎖定常領域上にクローニングし、軽鎖可変領域をヒトカッパ軽鎖定常領域上にクローニングすることによって、キメラ化した。

【０４１９】

Ｅ． ８Ｅ１１のヒト化

モノクローナル抗体８Ｅ１１を下に記載されるようにヒト化した。残基番号は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．，Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１）に従う。

【０４２０】

アクセプターヒトコンセンサスフレームワーク上への直接の可変領域グラフティング

８Ｅ１１のヒト化中に構築された変異体を、ＩｇＧの形態で評価した。マウス８Ｅ１１由来のＶＬおよびＶＨドメインを、ヒトＶＬカッパＩＶ（VL_{KIV}）およびヒトＶＨ下

位集団Ｉ（ＶＨ$_{I}$）コンセンサス配列とアライメントした。マウス８Ｅ１１（ｍｕ８Ｅ１１）抗体由来の超可変領域を、ＶＬ$_{ＫＩＶ}$およびＶＨ$_{I}$アクセプターフレームワーク中へと操作して、８Ｅ１１．ｖ１を生成した。具体的には、ｍｕ８Ｅ１１　ＶＬドメインから、２４～３４（Ｌ１）位、５０～５６（Ｌ２）位、および８９～９７（Ｌ３）位をＶＬ$_{ＫＩＶ}$中にグラフティングした。ｍｕ８Ｅ１１　ＶＨドメインから、２６～３５（Ｈ１）位、４９～６５（Ｈ２）位、および９５～１０２（Ｈ３）位をＶＨ$_{I}$中にグラフティングした。加えて、ＶＨのフレームワークＩＩＩにおける７１位および７８位を、８Ｅ１１．ｖ１においてマウス配列から保持した。それらの残基は、ＣＤＲ構造を調整し、抗原適合を微調整し得る、「バーニア（Ｖｅｒｎｉｅｒ）」ゾーンとして作用するフレームワーク残基の一部であることが見出された。例えば、Ｆｏｏｔｅ　ａｎｄ　Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：４８７－４９９（１９９２）（図５および６）を参照されたい。これらのＣＤＲ定義は、それらの配列超可変性によって定義される位置（Ｗｕ，Ｔ．Ｔ．＆Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．（１９７０）、それらの構造的位置（Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｃ．＆Ｌｅｓｋ，Ａ．Ｍ．（１９８７）、および抗原－抗体接触へのそれらの関与（ＭａｃＣａｌｌｕｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６２：７３２－７４５（１９９６））を含む。

【０４２１】

追加の８Ｅ１１変異体を生成して、軽鎖における６８位、ならびに重鎖における６７位および６９位等の、他のバーニア位の寄与を評価した。ヒト化８Ｅ１１．ｖ２を、重鎖可変領域の６７位および６９位に２個の追加マウス残基を保持することによって生成した。８Ｅ１１．ｖ２および他の変異体についての軽鎖可変領域配列および重鎖可変領域配列が、それぞれ、図５および６に示される。

【０４２２】

８Ｅ１１のヒト化変異体を、Ｋｕｎｋｅｌ突然変異誘発によって、各超可変領域に対して別個のオリゴヌクレオチドを使用して生成した。正しいクローンをＤＮＡ配列決定によって特定した。

【０４２３】

変異体の評価

スクリーニング目的のために、ＩｇＧ変異体を２９３細胞内で最初に産生した。ＶＬおよびＶＨをコードするベクターを、２９３細胞中にトランスフェクトした。ＩｇＧを細胞培養培地から、プロテインＡ親和性クロマトグラフィーによって精製した。

【０４２４】

ヒトＬｇＲ５に対する各８Ｅ１１　ＩｇＧ変異体の親和性を、表面プラスモン共鳴によって、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－３０００を使用して決定した。ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）リサーチグレードＣＭ５チップを、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシコハク酸イミド（ＮＨＳ）試薬により、供給業者の指示に従って活性化した。ヤギ抗ヒトＦｃ　ＩｇＧをチップにカップリングして、各フローセルにおいておよそ１０，０００応答単位（ＲＵ）を達成した。未反応のカップリング基を、１Ｍエタノールアミンによりブロッキングした。動態測定のために、抗ＬＧＲ５抗体を捕捉して、およそ３００のＲＵを達成した。ヒトＬｇＲ５　ＥＣＤ（バキュロウイルス株において発現されたＨｉｓ－Ｆｃに融合されたアミノ酸２２～５５７、またはＣＨＯ細胞から発現されたＦｃに融合されたアミノ酸２２～５５８、１２５ｎＭ～０．４９ｎＭ）の２倍段階希釈液を、ＨＢＳ－Ｐ緩衝液（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．４）、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）中、２５℃で、３０μＬ／分の流速により注射した。会合速度（ｋ$_{ｏｎ}$）および解離速度（ｋ$_{ｏｆｆ}$）を、１：１　Ｌａｎｇｍｕｉｒ結合モデル（ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ第３．２版）を使用して算出した。平衡解離定数（Ｋｄ）は、比率ｋ$_{ｏｆｆ}$／ｋ$_{ｏｎ}$として算出した。

【０４２５】

結果

８Ｅ１１のヒト化のために使用されるヒトアクセプターフレームワークは、ヒトＶＬカッパＩＶコンセンサス（VL_{KIV}）およびアクセプターＶＨフレームワークVH_{I}に基づく。ｍｕ８Ｅ１１の８つのヒト化変異体を産生し、ＬｇＲ５親和性について、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）によって試験した。各々の変異体の軽鎖可変領域および重鎖可変領域が、それぞれ、図５および６に示される。親和性測定の結果が、図９に示される。

【０４２６】

８Ｅ１１．ｖ１の結合親和性を改善するために、軽鎖における６８位ならびに重鎖における６７位および６９位を、ｍｕ８Ｅ１１におけるこれらの位置で見出される残基へと変更した。重鎖における７１位および７８位を、ヒトフレームワークVH_{I}におけるこれらの位置で見出される残基へと変更した。これらの変化させられた軽鎖および重鎖の組み合わせをＩｇＧとして発現させ、上述のように精製し、ヒトＬｇＲ５への結合について、Ｂｉａｃｏｒｅによって評価した（図９）。

【０４２７】

変異体ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２を、ｈｕ８Ｅ１１．ｖ１重鎖の６７位および６９位を、ｍｕ８Ｅ１１におけるそれらの位置で見出される残基へと変更することによって、生成した。ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２の親和性（K_{D}）は、親ｃｈ８Ｅ１１抗体とほぼ同じであることが見出された。

【０４２８】

ヒト化８Ｅ１１．ｖ２に対する変更の概要

６マウス８Ｅ１１　ＣＤＲ（２４～３４（Ｌ１）位、５０～５６（Ｌ２）位および８９～９７（Ｌ３）位、２６～３５（Ｈ１）位、４９～６５（Ｈ２）位、および９３～１０２（Ｈ３）位として定義される）を、ヒトコンセンサスVL_{KIV}およびVH_{I}アクセプターフレームワーク中にグラフティングした。６７位、６９位、７１位、および７８位を、ｍｕ８Ｅ１１由来のマウス残基に戻した。ヒト化８Ｅ１１．ｖ２は、ＬｇＲ５に対してキメラ８Ｅ１１と同等の親和性を有する。

【０４２９】

本出願全体を通じて、マウスモノクローナル抗体８Ｅ１１、２Ｈ６、および３Ｇ１２は、代替形態において、それぞれ、８Ｅ１１、ｍ８Ｅ１１、またはｍｕ８Ｅ１１、および２Ｈ６、ｍ２Ｈ６、またはｍｕ２Ｈ６、および３Ｇ１２、ｍ３Ｇ１２、またはｍｕ３Ｇ１２と称される。キメラモノクローナル抗体８Ｅ１１、２Ｈ６、および３Ｇ１２は、それぞれ、キメラ８Ｅ１１またはｃｈ８Ｅ１１、キメラ２Ｈ６またはｃｈ２Ｈ６、およびキメラ３Ｇ１２またはｃｈ３Ｇ１２と称される。ヒト化モノクローナル抗体８Ｅ１１．ｖ２はまた、８Ｅ１１ｖ２、ｈ８Ｅ１１ｖ．２、またはｈｕ８Ｅ１１ｖ．２と称されてもよい。

【０４３０】

Ｆ．　ファージディスプレイによるヒトモノクローナル抗体の生成

Ｎ末端ＦＬＡＧを含むヒトＬｇＲ５　ＥＣＤ（アミノ酸２２～５５５）を、ＣＨＯ細胞内で発現させ、抗ＦＬＡＧ樹脂上で一晩精製し、次いで０．１Ｍ酢酸（ｐＨ２．７）で溶出した。タンパク質を次いで、ＰＢＳ中、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００カラムによるゲル濾過によって精製し、次いで－８０℃での保管のためにＰＢＳ中に透析した。

【０４３１】

ヒトＩｇＧレパートリーの天然の多様性を模倣する、選択された相補的決定領域（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）における合成の多様性を有するヒトファージ抗体ライブラリを、パンニングに使用した。Ｆａｂ断片を、Ｍ１３バクテリオファージ粒子（ｐａｒｔｉｃａｌｓ）（Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．（２００４）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ３４０，１０７３－９３）の表面上において二価性で提示した。上述のように産生されたヒトＬｇＲ５　ＥＣＤ（アミノ酸２２～５５５）を抗原として使用した。Ｎｕｎｃ　９６ウェルＭａｘｉＳｏｒｐイムノプレート（ｉｍｍｎｏｐｌａｔｅｓ）（Ｎｕｎｃ）を、ＬｇＲ５　ＥＣＤタンパク質（１０μｇ／ｍＬ）により４℃で一晩コーティングし、１％　ＢＳＡを補充したＰＢＳＴ緩衝液（ＰＢＳ、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ　２０）により１時間ブロッキングした。抗体ファージライブラリを添加し、室温で一晩インキュベートした。プレートをＰＢＳＴ緩衝液で

洗浄し、結合されたファージを５０ｍＭのＨＣＬ／５００ｍＭのＮａＣｌ で３０分間溶出し、等体積の１Ｍトリス塩基で中和した。回収したファージを大腸菌ＸＬ－１青色細胞内で増幅した。後続の選択ラウンド中に、ファージ抗体のインキュベーション時間を2時間まで減少させ、プレート洗浄の厳密性を徐々に増加させた（Ｌｉａｎｇ ｅｔ ａｌ．（２００７）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ３６６，８１５－８２９）。ヒトＬｇＲ５ ＥＣＤに結合する固有かつ特異的なファージ抗体を、ファージＥＬＩＳＡおよびＤＮＡ配列決定によって特定した。ＹＷ３５３を含むある特定のクローンを、ＶＬおよびＶＨ領域をそれぞれＬＰＧ３およびＬＰＧ４ベクター中へとクローニングすることによって、完全長ＩｇＧに再配列した。抗体を哺乳動物細胞内において一過性で発現させ、プロテインＡカラム（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８９，４２８５－９）により精製した。

【０４３２】

ヒト抗体ＹＷ３５３についての軽鎖および重鎖可変領域配列が、それぞれ、図１０および１１に示される（配列番号２６および２５）。ヒト抗体ＹＷ３５３についてのＩｇＧ１重鎖およびカッパ軽鎖配列が、それぞれ、配列番号６６および６５に示される。ＹＷ３５３は、ヒト抗体ファージライブラリから生成されたので、「ＹＷ３５３」および「ｈｕＹＷ３５３」という用語は、本明細書で交換可能に使用される。

【０４３３】

Ｇ． 種の交差反応性

モノクローナル抗体を試験して、それらがヒト以外の種由来のＬｇＲ５と交差反応するかどうかを決定した。図１２Ａ～Ｃは、ヒト（配列番号６７）、カニクイザル（配列番号６９）、ラット（配列番号７０）、およびマウス（配列番号７２）ＬｇＲ５の間のアライメントを示す。全ての４つの種の間で同一である残基がアスタリスク（＊）によって示される。図４は、ｇＤエピトープ標識ＬｇＲ５（ヒト、カニクイザル、ラット、またはマウスＬｇＲ５）により安定的にトランスフェクトされ、１０μｇ／ｍＬＹＷ３５３、ｃｈ８Ｅ１１、ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２、２Ｈ６、または３Ｇ１２抗体で染色され、Ｒ－フィコエリトリン複合ヤギ抗ヒト抗体により検出された、２９３細胞のＦＡＣＳ分析の結果を示す。トランスフェクトされていない２９３細胞は、通常、ＬｇＲ５を発現しない。ＹＷ３５３抗体は、ヒトおよびカニクイザルＬｇＲ５に結合するが、ラットまたはマウスＬｇＲ５には結合しない。Ｃｈ８Ｅ１１およびｈｕ８Ｅ１１．ｖ２抗体は、ＬｇＲ５の全ての４つの種に結合するが、ラットＬｇＲ５への結合は、ヒト、カニクイザル、またはマウスＬｇＲ５への結合ほど強力ではない。２Ｈ６抗体は、ヒトおよびマウスＬｇＲ５に結合するが、カニクイザルまたはラットＬｇＲ５への結合については試験されなかった。３Ｇ１２抗体は、ヒトＬｇＲ５への強力な結合、マウスＬｇＲ５へのそれより強力でない結合を示すが、カニクイザルまたはラットＬｇＲ５への結合については試験されなかった。

【０４３４】

Ｈ． 抗体親和性

ヒトＬｇＲ５に対する各抗体の親和性を、表面プラスモン共鳴によって、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－３０００を使用して、実質的に実施例Ｅに上述されるように決定した。

【０４３５】

図４に示されるように、ＹＷ３５３抗体は、ヒトＬｇＲ５に、１．６ｎＭの親和性で結合した。Ｃｈ８Ｅ１１およびｈｕ８Ｅ１１．ｖ２抗体は、ヒトＬｇＲ５に、それぞれ、２．４ｎｍおよび３．１ｎｍの親和性で結合した。２Ｈ６および３Ｇ１２抗体は、ヒトＬｇＲ５に、それぞれ、２０８ｎＭおよび７２ｎＭの親和性で結合した。

【０４３６】

スキャッチャード分析を次の標準手順（Ｈｏｌｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５６：１２０５－１２１０（１９９２））に従って行って、ＹＷ３５３、ｃｈ８Ｅ１１、およびｈｕ８Ｅ１１ｖ２抗体の相対的結合親和性を決定した。

【０４３７】

抗Ｌｇｒ５抗体を、間接的なヨードゲン（Ｉｏｄｏｇｅｎ）法を使用して、［I^{125}

］標識した。［I^{125}］標識された抗Ｌｇｒ５抗体を、ＮＡＰ－５カラム（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用したゲル濾過によって、遊離^{125}Ｉ－Ｎａから精製し、精製されたヨウ素化抗Ｌｇｒ５抗体は、１３．９２～１９．０１μＣｉ／μｇの範囲の特異的活性を有した。固定濃度の［I^{125}］標識抗体および漸減濃度の段階希釈された未標識抗体を含有する、５０μＬ体積の競合アッセイ混合物を、９６ウェルプレート中に配置した。ヒト、ラット、またはマウスＬｇｒ５を安定的に発現する２９３細胞を、増殖培地中で、５％CO_2中、３７℃で培養した。細胞を、Ｓｉｇｍａ細胞解離溶液を使用してフラスコから取り外し、それを２％ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．２）、および０．１％アジ化ナトリウムを含む、ダルベッコ変法イーグル培地中（ＤＭＥＭ）から構成された結合緩衝液で洗浄した。洗浄された細胞を９６ウェルプレートに、０．２ｍＬの結合緩衝液中、２５０，０００細胞の密度で添加した。各ウェル中の［I^{125}］標識抗体の最終濃度は、２００ｐＭであった。競合アッセイにおける未標識抗体の最終濃度は、５００ｎＭから、１０回の２倍希釈ステップを通じて、０ｎＭまでの緩衝液のみのアッセイの範囲であった。競合アッセイを三通りで行った。競合アッセイを室温で２時間インキュベートした。２時間のインキュベーション後、競合アッセイをＭｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｍｕｌｔｉｓｃｒｅｅｎ濾過プレート（Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ，ＭＡ）に移し、結合緩衝液で４回洗浄して、遊離部分を結合された［I^{125}］標識抗体から分離した。フィルターをＷａｌｌａｃ Ｗｉｚａｒｄ１４７０γ計数器（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ Ｌｉｆｅ ａｎｄ Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．；Ｗｅｌｌｅｓｌｅｙ，ＭＡ）により計数した。結合データを、ＭｕｎｓｏｎおよびＲｏｂａｒｄの適合アルゴリズムを使用して抗体の結合親和性を決定する（Ｍｕｎｓｏｎ ａｎｄ Ｒｏｂａｒｄ １９８０）、ＮｅｗＬｉｇａｎｄソフトウェア（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）を使用して評価した。

【０４３８】

図４に示されるように、ＹＷ３５３は、安定的にトランスフェクトされた２９３細胞上で発現されたｇＤ標識ヒトＬｇＲ５に、０．２ｎＭの親和性で結合した。Ｃｈ８Ｅ１１は、安定的にトランスフェクトされた２９３細胞上で発現されたｇＤ標識ヒトＬｇＲ５およびｇＤ標識マウスＬｇＲ５に、それぞれ、０．４ｎＭおよび０．２ｎＭの親和性で結合した。Ｈｕ８Ｅ１１ｖ２は、安定的にトランスフェクトされた２９３細胞上で発現されたｇＤ標識ヒトＬｇＲ５、ｇＤ標識マウスＬｇＲ５、およびｇＤ標識ラットＬｇＲ５に、それぞれ、０．３～０．７ｎＭ、０．５～０．６ｎＭ、および２．４～２．８ｎＭの親和性で結合した。これらのＫｄ値は、一般に、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）によって決定されるものよりも低かった。

【０４３９】

Ｉ．　エピトープマッピング

各抗体によって結合されたＬｇＲ５の領域を決定するために、種々のＮ末端および／またはＣ末端欠失を伴うｇＤエピトープ標識ＬｇＲ５によって一過性でトランスフェクトされた２９３細胞を、１０μｇ／ｍＬＹＷ３５３、ｃｈ８Ｅ１１、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２、２Ｈ６、または３Ｇ１２抗体で染色し、結合をＲ－フィコエリトリン複合ヤギ抗ヒト抗体により検出した。抗体ＹＷ３５３、８Ｅ１１、２Ｈ６、および３Ｇ１２は全て、ｇＤエピトープ標識完全長ＬｇＲ５に結合した。抗体２Ｈ６および３Ｇ１２は、ｇＤエピトープ標識$LgR5_{324\sim907}$（配列番号６７のアミノ酸３２４～９０７）に結合した。抗体ＹＷ３５３および８Ｅ１１は、ｇＤエピトープ標識$LgR5_{324\sim907}$に結合しなかった。抗体ＹＷ３５３のみが、Ｃ末端ＧＰＩアンカーを有するｇＤエピトープ標識$LgR5_{22\sim123}$（配列番号６７のアミノ酸２２～１２３）に結合した。抗体ＹＷ３５３および８Ｅ１１の両方が、Ｃ末端ＧＰＩアンカーを有するｇＤエピトープ標識$LgR5_{22\sim323}$（配列番号６７のアミノ酸２２～３２３）に結合したが、抗体２Ｈ６および３Ｇ１２は、結合しなかった。最後に、抗体のうちのいずれもｇＤエピトープ標識$LgR5_{424\sim907}$（配列番号６７のアミノ酸４２４～９０７）に結合しなかった。

【０４４０】

図４は、「エピトープ領域」と題される欄におけるそれらの結果を要約する。その図に示されるように、抗体ＹＷ３５３は、配列番号６７のアミノ酸２２～１２３の領域におけるエピトープに結合し、抗体８Ｅ１１およびそのヒト化変異体は、配列番号６７のアミノ酸２２～３２３の領域におけるエピトープに結合し、抗体２Ｈ６および３Ｇ１２は、配列番号６７のアミノ酸３２４～４２３の領域におけるエピトープに結合する。

【０４４１】

Ｊ．　抗ＬｇＲ５抗体薬物複合体の産生

より大規模な抗体産生のために、抗体をＣＨＯ細胞内で産生した。ＶＬおよびＶＨをコードするベクターを、ＣＨＯ細胞中にトランスフェクトし、ＩｇＧを、プロテインＡ親和性クロマトグラフィーによって細胞培養培地から精製した。

【０４４２】

抗ＬｇＲ５抗体ＭＭＡＥ複合体

抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）を、ＹＷ３５３（それぞれ配列番号６６および６５に示されるＩｇＧ１重鎖およびカッパ軽鎖配列）、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２（それぞれ配列番号６４および６３に示されるＩｇＧ１重鎖およびカッパ軽鎖配列）、ｍｕ８Ｅ１１、ｃｈ８Ｅ１１、２Ｈ６、ｃｈ２Ｈ６、３Ｇ１２、およびｃｈ３Ｇ１２を、本明細書に描写されている薬物－リンカー部分ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥに複合することによって産生した。便宜上、薬物－リンカー部分ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥはときに、これらの実施例においておよび図において、「ｖｃＭＭＡＥ」または「ＶＣＥ」と称される。複合前に、抗体を、ＴＣＥＰにより、国際公開第２００４／０１０９５７　Ａ２号に記載される手法に従った標準方法を使用して、部分的に還元した。部分的に還元された抗体を、例えば、Ｄｏｒｏｎｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２１：７７８－７８４および米国公開特許第２００５／０２３８６４９Ａ１号に記載される手法に従った標準方法を使用して、薬物－リンカー部分に複合した。簡潔に述べると、部分的に還元された抗体を薬物－リンカー部分と組み合わせて、抗体の還元されたシステイン残基への薬物－リンカー部分の複合を可能にした。複合反応を反応停止処理し、ＡＤＣを精製した。各ＡＤＣについての薬物負荷（１抗体当たりの薬物部分の平均数）を決定し、それは抗ＬｇＲ５抗体について３．３～４．０の間であった。抗体－ｖｃＭＭＡＥ免疫複合体の構造が、図３５Ａに示される（ｐ＝薬物負荷）。

【０４４３】

抗ＬｇＲ５抗体ＰＮＵ複合体

抗ＬｇＲ５抗体－ＰＮＵ薬物複合体（ＡＤＣ）を、ＹＷ３５３　Ａ１１８ＣチオＭａｂ（それぞれ配列番号７８および６５に示されるＩｇＧ１　Ａ１１８Ｃ重鎖およびカッパ軽鎖配列）またはｈｕ８Ｅ１１ｖ２チオＭａｂ（それぞれ配列番号７５および６３に示されるＩｇＧ１　Ａ１１８Ｃ重鎖およびカッパ軽鎖配列）を、ＰＮＵ薬物－リンカー部分に複合することによって産生した。複合前に、抗体をジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元して、ブロッキング基（例えば、システイン）を、チオ－抗体の操作されたシステインから除去した。このプロセスはまた、抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元する。還元された抗体を精製して、放出されたブロッキング基を除去し、鎖間ジスルフィドを、デヒドロアスコルビン酸（ｄｈＡＡ）を使用して再酸化させた。

【０４４４】

ｖａｌ－ｃｉｔリンカーおよびＰＮＵを含む抗体－薬物複合体のために、インタクトな抗体を薬物－リンカー部分ＭＣ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－スペーサー－ＰＮＵ－１５９６８２（「ｖａｌ－ｃｉｔ」はまた、本明細書で「ｖｃ」と称され得る）と組み合わせて、抗体の操作されたシステイン残基への薬物－リンカー部分の複合を可能にした。複合反応を、いずれの遊離リンカー－薬物部分とも反応する過剰のＮ－アセチル－システインを添加することによって反応停止処理し、ＡＤＣを精製した。ＡＤＣについての薬物負荷（１抗体当たりの薬物部分の平均数）は、約１．８～２の範囲内であった。抗体－ｖｃＰＮＵ免疫複合体の構造が、図３５Ｂに示される（ｐ＝薬物負荷）。

【０４４５】

アセタールリンカーおよびＰＮＵを含む抗体－薬物複合体のために、インタクトな抗体を薬物－リンカー部分ＭＣ－アセタール－ＰＮＵ－１５９６８２と組み合わせて、抗体の操作されたシステイン残基への薬物－リンカー部分の複合を可能にした。複合反応を、いずれの遊離リンカー－薬物部分とも反応する過剰のＮ－アセチル－システインを添加することによって反応停止処理し、ＡＤＣを精製した。ＡＤＣについての薬物負荷（１抗体当たりの薬物部分の平均数）は、約１．８～２であった。抗体－アセタール－ＰＮＵ免疫複合体の構造が、図３５Ｃに示される（ｐ＝薬物負荷）。

【０４４６】

開裂不可能なリンカーおよびＰＮＵを含む抗体－薬物複合体のために、インタクトな抗体を薬物－リンカー部分ＭＣ－ＰＮＵ－１５９６８２と組み合わせて、抗体の操作されたシステイン残基への薬物－リンカー部分の複合を可能にした。複合反応を、いずれの遊離リンカー－薬物部分とも反応する過剰のＮ－アセチル－システインを添加することによって反応停止処理し、ＡＤＣを精製した。ＡＤＣについての薬物負荷（１抗体当たりの薬物部分の平均数）は、約１．８～２であった。抗体－ＰＮＵ免疫複合体の構造が、図３５Ｄに示される（ｐ＝薬物負荷）。

【０４４７】

抗ＬｇＲ５抗体ＰＢＤ複合体

抗ＬｇＲ５抗体－ＰＢＤ薬物複合体（ＡＤＣ）を、ＹＷ３５３　Ａ１１８ＣチオＭａｂ（それぞれ配列番号７８および６５に示されるＩｇＧ１　Ａ１１８Ｃ重鎖およびカッパ軽鎖配列）またはｈｕ８Ｅ１１ｖ２チオＭａｂ（それぞれ配列番号７５および６３に示されるＩｇＧ１　Ａ１１８Ｃ重鎖およびカッパ軽鎖配列）を、ＰＢＤ薬物－リンカー部分に複合することによって産生した。複合前に、抗体をジチオスレイトール（ＤＴＴ）により還元して、ブロッキング基（例えば、システイン）を、チオ－抗体の操作されたシステインから除去した。このプロセスはまた、抗体の鎖間ジスルフィド結合を還元する。還元された抗体を精製して、放出されたブロッキング基を除去し、鎖間ジスルフィドを、デヒドロアスコルビン酸（ｄｈＡＡ）を使用して再酸化させた。

【０４４８】

ｖａｌ－ｃｉｔリンカーおよびＰＢＤを含む抗体－薬物複合体のために、インタクトな抗体を薬物－リンカー部分ＭＣ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ－ＰＢＤ（「ｖａｌ－ｃｉｔ」はまた、本明細書で「ｖｃ」と称され得る）と組み合わせて、抗体の操作されたシステイン残基への薬物－リンカー部分の複合を可能にした。複合反応を、いずれの遊離リンカー－薬物部分とも反応する過剰のＮ－アセチル－システインを添加することによって反応停止処理し、ＡＤＣを精製した。ＡＤＣについての薬物負荷（１抗体当たりの薬物部分の平均数）は、約１．８～２の範囲内であった。抗体－ｖｃＰＢＤの構造が、図３５Ｅに示される（ｐ＝薬物負荷）。

【０４４９】

Ｋ．　ラットにおける抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の毒性

抗ＬｇＲ５抗体８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥの毒性の可能性を評価するために、６匹のオスＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットに、１２ｍｇ／ｋｇの８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを週１回、４週間にわたって投与し、６匹のオスＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットに、２０ｍｇ／ｋｇの８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを週１回、２週間にわたって投与した。４匹のオスＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙ対照ラットに、ビヒクル単独を週１回、２週間にわたって投与し、４匹のオスＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙ対照ラットに、ビヒクル単独を週１回、４週間にわたって投与した。２週間群のラットを１２日目に死体解剖し、４週間群のラットを２６日目に死体解剖した。

【０４５０】

簡潔に述べると、８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを投与された全てのラットは、対照ラットと比較して、低減された赤血球（ｒｅｄ　ｃｅｌｌ）量（赤血球（ｒｅｄ　ｂｌｏｏｄ　ｃｅｌｌｓ）、ヘマトクリット、ヘモグロビン、および網状赤血球）、好中球、および血小板を示した。２０ｍｇ／ｋｇの８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを投与されたラット

はまた、対照ラットと比較して、低減された白血球数およびリンパ球も示した。加えて、８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを投与された全てのラットは、対照ラットと比較して、肝臓酵素ＡＬＴ、ＡＳＴ、ＡＬＰ、およびＧＧＴの増加、および増加した総ビリルビン（ｂｉｌｌｉｒｕｂｉｎ）を示した。

【０４５１】

この研究から収集された組織の組織病理学的分析は、８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを投与されたラットにおけるリンパ系および造血性組織の細胞枯渇、ならびに急速に分裂している組織における増加した有糸分裂像を示した。２０ｍｇ／ｋｇの８Ｅ１１．ｖ２－ｖｃＭＭＡＥを投与されたラットはまた、最小の肝臓壊死、最小の増加した有糸分裂像および単細胞の陰窩細胞壊死／アポトーシス、ならびに最小の軽度肺胞組織球症およびＩＩ型細胞過形成も示した。

【０４５２】

観察された病理変化は、他のｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体を投与されたラットにおいて観察された病理と同様であった。消化管におけるＬｇＲ５抗原依存性毒性のいずれの証拠も存在しないようであった。

【０４５３】

Ｌ．　ＬｏＶｏ結腸がん細胞株異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、ＬｏＶｏ結腸がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｏＶｏ細胞は、ＡＰＣ突然変異を有する結腸直腸腺がん細胞株（ＡＴＣＣ番号ＣＣＬ　２２９）である。ＬｇＲ５は、ＬｏＶｏ細胞において高度に発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。ＨＢＳＳ－マトリゲル中、５００万個のＬｏＶｏ細胞（ＹＷ３５３を使用したＦＡＣＳによりＬｇＲ５陽性）をＮＣＲヌードマウスの背側面に皮下注射し、接種から６日後のマウスに、５ｍｇ／ｋｇのマウス抗ｇｐ１２０－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体、ヒト抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、ｍｕ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、ｍｕ２Ｈ６－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、もしくはｍｕ３Ｇ１２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ＰＢＳ）単独による単回静脈内注射を行った。注射の１日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４５４】

図１３に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、試験された全ての４つの抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体により達成された。

【０４５５】

Ｍ．　Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、β－カテニン突然変異を有するＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｇＲ５は、Ｄ５１２４腫瘍において高度に発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。２０～３０mm^3のＤ５１２４腫瘍断片（ＹＷ３５３および８Ｅ１１を使用したＦＡＣＳによりＬｇＲ５陽性）をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植の１８日後、マウスに、６ｍｇ／ｋｇのヒト抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体、３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｃｈ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｃｈ２Ｈ６－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｃｈ３Ｇ１２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５）；図１４における「ＨＢ＃８」）単独による単回静脈内注射を行った。注射の１日および８日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４５６】
図１４に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ、ｃｈ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥ、およびｃｈ３Ｇ１２－ｖｃＭＭＡＥの両方の用量で達成された。実質的な腫瘍成長阻害はまた、６ｍｇ／ｋｇのｃｈ２Ｈ６－ｖｃＭＭＡＥでも達成された。
【０４５７】
ＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥの種々の用量の有効性を次いで、上述のＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデルにおいて試験した。２０～３０ｍｍ^{3}のＤ５１２４腫瘍断片（ＹＷ３５３および８Ｅ１１を使用したＦＡＣＳによりＬｇＲ５陽性）をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植から２３日後のマウスに、０．５ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、もしくは１２ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または１２ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３、または７．２ｍｇ／ｋｇもしくは１４．４ｍｇ／ｋｇのヒト抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５）；図１５における「ＨＢ＃８」）単独による単回静脈内注射を行った。注射の１、４、および１４日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。
【０４５８】
図１５に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、３ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥで達成され、ほぼ完全な腫瘍成長阻害が、６ｍｇ／ｋｇおよび１２ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥで達成された。
【０４５９】
Ｎ．　マウス腸腫瘍発生モデルにおけるｍｕ８Ｅ１１およびｍｕ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥの有効性
ｍｕ８Ｅ１１およびｍｕ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥの有効性を、マウス腸腫瘍発生モデルＡＰＣ$^{ｍｉｎ／＋}$、ＬＳＬ－Ｋｒａｓ^{Ｇ１２Ｄ}、ＶｉｌｌｉｎＣｒｅ（「ＡＫＶマウス」）において調査した。ＡＫＶマウスは、ＡＰＣ$^{ｍｉｎ／＋}$、ＶｉｌｌｉｎＣｒｅ（「ＡＶマウス」）とＬＳＬ－Ｋｒａｓ^{Ｇ１２Ｄ}マウスとの交配の結果得られたものである。ＡＶマウスは、結腸において０～４個の腺種および小腸において１００個の腺種を発症したが、ＡＫＶマウスは、結腸において平均１４０個の腺種および小腸において１００個の腺種を発症した（データは示されず）。ＬｇＲ５　ｍＲＮＡ発現をＡＶおよびＡＫＶマウスの正常な組織およびポリープにおいて測定し、ＬｇＲ５が、ＡＫＶマウスの小腸および結腸の両方からのポリープにおいて有意に過剰発現されることが見出された（図１６）。ＡＫＶマウスの小腸および結腸におけるＬｇＲ５の発現を可視化するために、ＡＫＶマウスを、Ｌｇｒ５遺伝子に位置するヒトジフテリア毒素受容体ｃＤＮＡにインフレームで連結された、高感度緑色蛍光タンパク質（ＥＧＦＰ）を含有するカセットを有するマウスと交配させた。Ｔｉａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，４７８：２５５－２６０（２０１１）を参照されたい。小腸ポリープおよび大腸ポリープにおけるＥＧＦＰ発現の面積を、ＡＫＶＬｇｒ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスにおいて可視化した。その実験の結果が、図２０に示される。ＬｇＲ５発現が、小腸ポリープと結腸ポリープとの間で有意に異ならず、さらに、腫瘍サイズとＬｇＲ５＋面積との間に何ら相関が存在しないことが見出された。腫瘍の平均ＬｇＲ５＋面積は８％であったが、腫瘍間で大幅に異なった。予備結果は、ヒトの結腸直腸腫瘍におけるＬｇＲ５＋面積が、マウスにおけるよりも有意に高い場合があることを示し、これはヒトにおける抗ＬｇＲ５　ＡＤＣ療法の治療指数がマウスにおけるよりもさらに良好であり得ることを示唆している。
【０４６０】
これらの動物内で腸陰窩と腫瘍との間のＬｇｒ５発現差異を評価するために、ＡＫＶＬｇｒ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスからの腸管を得て、組織切片上でＧＦＰの直接可視化を行った。腫瘍および正常な陰窩をその後、各ＧＦＰ陽性（ｐｏｓｔｉｖｅ）ピクセルの強度について定量した。相対的ＧＦＰ強度を決定するために、強度スコアをＧＦＰ＋面積で除する。

図２３に示されるように、ＬｇＲ５発現は、ＡＫＶＬｇｒ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスの腸陰窩におけるよりも、腫瘍においてより高い。

【０４６１】

全体的な生存研究をＡＫＶマウスにより行って、抗ＬｇＲ５抗体が生存期間を増加し得るかどうかを決定した。１０匹のＡＫＶマウスに、１５ｍｇ／ｋｇのｍｕ８Ｅ１１－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥを投与し、６匹のＡＫＶマウスに、１５ｍｇ／ｋｇのｍｕ８Ｅ１１を投与し、９匹のマウスに、１５ｍｇ／ｋｇの対照抗体抗ｇｐ１２０－ＭＣ－ｖｃ－ＭＭＡＥを投与した。抗体およびＡＤＣを、６週齢から開始して、マウスが死亡するか、または瀕死状態（重度の嗜眠、体重減少、および貧血の徴候に関連する標準的な基準によって決定される）であるとされるか、のいずれかまで毎週投与し、瀕死状態の場合、マウスを屠殺した。

【０４６２】

全体的な生存研究の結果が、図１７に示される。無処置の対照データは、２２匹のＡＫＶマウスについての既存の生存率を表す。その実験において、ｍｕ８Ｅ１１またはｍｕ８Ｅ１１－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥのいずれかを投与されたＡＫＶマウスは、無処置のＡＫＶマウスまたは対照ＡＤＣを投与されたＡＫＶマウスよりも有意により長い生存時間を有した。これらの結果に基づいて、追加の動物を上述のように評価した。その実験の結果が、図１９に示される。より大きい実験において、ｍｕ８Ｅ１１－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥを投与されたＡＫＶマウスは、無処置のＡＫＶマウスまたは対照ＡＤＣを投与されたＡＫＶマウスよりも有意により長い生存時間を有し、また、ｍｕ８Ｅ１１を投与されたマウスよりも有意により長い生存時間を有した。死亡した時点で、対照ＡＤＣおよび抗ＬｇＲ５－ＡＤＣを投与されたＡＫＶマウスは、同様の数およびサイズのポリープを有したが、これは抗ＬｇＲ５－ＡＤＣが疾患を緩徐にし、それによって生存時間を延長し得ることを示唆している。

【０４６３】

抗ＬｇＲ５抗体および／または抗ＬｇＲ５　ＡＤＣがＡＫＶマウスの消化器腫瘍においてアポトーシスを引き起したかどうかを決定するために、切断型カスパーゼ３の存在を腫瘍面積の関数として測定した。死亡した時点で収集されたホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）小腸および結腸組織を、切断型カスパーゼ３に対する免疫組織化学染色（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｄａｎｖｅｒｓ，ＭＡ、カタログ番号９６６１Ｌ）に供した。染色されたスライドの画像をＯｌｙｍｐｕｓ　Ｎａｎｏｚｏｏｍｅｒ自動スライド走査プラットフォームによって獲得し、手動で特定された腫瘍特異的面積をＭａｔｌａｂソフトウェアパッケージ（Ｍａｔｈｗｏｒｋｓ，Ｎａｔｉｃｋ，ＭＡ）において分析した。陽（Ｐｏｓｔｉｖｅｌｙ）染された面積および総腫瘍面積を定量した。まれではあるが、切断型カスパーゼ３は、抗ＬｇＲ５　ＡＤＣでの処置後に陰窩において可視的であったが、対照ＡＤＣ処置動物においては観察されず、これはＬｇＲ５発現細胞が特異的に標的とされていることを示唆している。

【０４６４】

その実験の結果が、図１８に示される。抗ＬｇＲ５抗体投与および抗ＬｇＲ５　ＡＤＣ投与の両方が、切断型カスパーゼ３の存在に対して陽性であったＡＫＶマウスにおいて、対照ＡＤＣ処置ＡＫＶマウスと比較して、腫瘍面積の割合の統計的に有意な増加を引き起こした。

【０４６５】

アポトーシスがＬｇＲ５＋細胞内で生じることを実証するために、ＡＫＶＬｇｒ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスに、１５ｍｇ／ｋｇのｍｕ８Ｅ１１－ＭＣ－ｖｃ－ＰＡＢ－ＭＭＡＥまたは１５ｍｇ／ｋｇの対照抗体抗ｇｐ１２０－ＭＣ－ｖｃ－ＭＭＡＥを投与した（１日目）。４日目、マウスを屠殺し、消化管（小腸および大腸）からの腫瘍を、ＥＧＦＰおよび切断型カスパーゼ３の発現について可視化した。総細胞面積当たりのＣＣ３＋ＧＦＰ＋面積の量を次いで決定した。図２１Ａに示されるように、抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ処置マウスは、対照処置マウスよりも高い割合のＣＣ３＋ＧＦＰ＋面積を有する傾向があったが、その実験

において統計的（ｓｔａｓｔｉｃａｌｌｙ）に有意でなかった。図２１Ｂは、対照ＡＤＣ処置マウス（左パネル）および抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ処置マウス（右パネル）からの、例となる免疫組織化学染色を示す。これらの結果は、抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ処置時のＬｇＲ５発現細胞内で増加したアポトーシスへの傾向を実証する。

【０４６６】

ＬｇＲ５発現細胞の細胞増殖が抗ＬｇＲ５処置によって影響を受けるかどうかを決定するために、１細胞面積当たりのＫｉ６７＋面積を、対照－ＡＤＣ処置および抗ＬｇＲ５－ＡＤＣ処置ＡＫＶＬｇｒ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスの消化管からのＥＧＦＰ＋細胞集団およびＥＧＦＰ－細胞集団において測定した。Ｋｉ６７は、細胞増殖に関連する核タンパク質である。免疫組織化学染色のためのＫｉ６７抗体は、Ｎｅｏｍａｒｋｅｒから得た。その実験の結果が、図２２に示される。Ｋｉ６７染色によって測定するとき、対照ＡＤＣよりも抗ＬｇＲ５－ＡＤＣで処置されたＡＫＶＬｇｒ５$^{ＤＴＲ／＋}$マウスからの腫瘍において、ＧＦＰ＋およびＧＦＰ－細胞集団の両方における有意により少ない増殖細胞面積が存在した。これらの結果は、抗ＬｇＲ５－ＡＤＣが増殖性子孫の増殖を低減、および／またはその形成を阻害することを示唆する。

【０４６７】

Ｏ．　Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、β－カテニン突然変異を有するＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｇＲ５は、Ｄ５１２４腫瘍において高度に発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。２０～３０ｍｍ^{3}のＤ５１２４腫瘍断片をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植の２２日後、マウスに、２．６２ｍｇ／ｋｇもしくは５．２３ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｃｈ８Ｅ１１－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または６ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり８匹のマウス）。注射の１日および８日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４６８】

図２４に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、ｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥの両方の用量、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥの両方の用量、および６ｍｇ／ｋｇのｃｈ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥで達成された。

【０４６９】

ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体の種々の用量の有効性を次いで、上述のＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデルにおいて試験した。２０～３０ｍｍ^{3}のＤ５１２４腫瘍断片をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植から２６日後のマウスに、０．５ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、もしくは１２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または１５ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２、または６．３７ｍｇ／ｋｇもしくは１２．７３ｍｇ／ｋｇのヒト抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体、または１５ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ対照抗体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり８匹のマウス）。

【０４７０】

図２５に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、３ｍｇ／ｋｇおよび６ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥで達成され、腫瘍退縮が、１２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥで達成された。

【０４７１】

Ｐ．　ＬｏＶｏＸ１．１結腸がん細胞株異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、ＬｏＶｏ結腸がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｏＶｏ細胞は、ＡＰＣ突然変異を有する結腸直腸腺がん細胞株（ＡＴＣＣ番号ＣＣＬ　２２９）であり、亜系ＬｏＶｏＸ１．１をマウスにおける最適な成長のために誘導した。簡潔に述べると、マウスにＬｏＶｏ細胞を播種した。腫瘍が成長し始めると、望ましい成長速度を有する腫瘍を採取した。腫瘍を分割し、培養により成長させて、細胞株ＬｏＶｏＸ１．１を樹立した。ＬｇＲ５は、ＬｏＶｏＸ１．１細胞において発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。ＨＢＳＳ－マトリゲル中、５００万個のＬｏＶｏＸ１．１細胞をＣ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤマウスの背側面に皮下注射し、接種から１３日後のマウスに、３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、３ｍｇ／ｋｇもしくは６ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、１５ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２抗体、１５ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６対照抗体、または６ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり１０匹のマウス）。

【０４７２】

図２６に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、６ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥおよび６ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥで達成された。

【０４７３】

次いで、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体の種々の用量の有効性を、上述のＬｏＶｏＸ１．１結腸直腸腺がん異種移植片モデルにおいて試験した。ＨＢＳＳ－マトリゲル中、５００万個のＬｏＶｏＸ１．１細胞をＣ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤマウスの背側面に皮下注射し、接種から１０日後のマウスに、１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、もしくは１５ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または１５ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２、または６ｍｇ／ｋｇもしくは１５ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＭＭＡＥ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり９匹のマウス）。注射の１、７、および１４日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４７４】

図２７に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、６ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、および１５ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥで達成された。

【０４７５】

Ｑ．　Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、β－カテニン突然変異を有するＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｇＲ５は、Ｄ５１２４腫瘍において高度に発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。２０～３０mm^3のＤ５１２４腫瘍断片をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植の２６日後、マウスに、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＮＵ抗体－薬物複合体、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ＰＮＵ抗体－薬物複合体、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－アセタール－ＰＮＵ抗体－薬物複合体、または１ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、１ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、または１ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－アセタール－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合

体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり９匹のマウス）。注射の３、７、および１４日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４７６】

図２８に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥおよび１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－アセタール－ＰＮＵにより達成され、ほぼ完全な腫瘍成長阻害が、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＮＵにより達成された。１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－アセタール－ＰＮＵで処置されたマウスのうちの１匹は、完全寛解を示した（すなわち、マウスは、試験の終了時に検出可能な腫瘍を何ら有しなかった）。加えて、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＮＵで処置されたマウスのうちの２匹は、部分寛解（すなわち、０日目の最初の腫瘍量の５０％超の低減）を示した。

【０４７７】

Ｒ．　Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

ｈｕ８Ｅ１１ｖ２抗体－薬物複合体の種々の用量の有効性を、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片モデルにおいて試験した。２０～３０ｍｍ^{3}のＤ５１２４腫瘍断片をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植から２２日後のマウスに、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、または２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＮＵ、または２ｍｇ／ｋｇもしくは１０ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵ、または２ｍｇ／ｋｇもしくは１０ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ＰＮＵ、２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、１０ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－アセタール－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、または１０ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり８匹のマウス）。

【０４７８】

図２９に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵで達成され、ほぼ完全な腫瘍成長阻害が、１０ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵ、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＮＵ、ならびに２ｍｇ／ｋｇおよび１０ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ＰＮＵで達成された。

【０４７９】

Ｓ．　ＬｏＶｏ結腸がん細胞株異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、ＬｏＶｏ結腸がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｏＶｏ細胞は、ＡＰＣ突然変異を有する結腸直腸腺がん細胞株（ＡＴＣＣ番号ＣＣＬ　２２９）であり、亜系ＬｏＶｏＸ１．１をマウスにおける最適な成長のために誘導した。簡潔に述べると、マウスにＬｏＶｏ細胞を播種した。腫瘍が成長し始めると、望ましい成長速度を有する腫瘍を採取した。腫瘍を分割し、培養により成長させて、細胞株ＬｏＶｏＸ１．１を樹立した。ＬｇＲ５は、ＬｏＶｏＸ１．１細胞において発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。ＨＢＳＳ－マトリゲル中、５００万個のＬｏＶｏＸ１．１細胞をＣ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤマウスの背側面に皮下注射し、接種から１１日後のマウスに、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＮＵ、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵ、または２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ＰＮＵ、または２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－アセタール－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、または２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖

、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり１０匹のマウス）。注射の１、７、および１４日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４８０】

図３０に示されるように、この実験において、ある特定の対照抗体は、実質的な腫瘍成長阻害を示すようであった（２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＮＵおよび２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－アセタール－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体を参照されたい）。

【０４８１】

先の実験において対照抗体の非特異的な効果が見られたので、ＬｏＶｏＸ１．１結腸直腸腺がんモデルを、異なる対照抗体－薬物複合体（ＬｏＶｏ細胞の表面上で発現されない異なる抗原に結合する）を用いて、および腫瘍細胞上の可能性のある非特異的な抗体結合部位を遮断するための過剰の抗ｇＤ対照抗体の投与を用いて、試験した。ＨＢＳＳ－マトリゲル中、５００万個のＬｏＶｏＸ１．１細胞をＣ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤマウスの背側面に皮下注射し、接種から７日後のマウスに、１０ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵ抗体－薬物複合体、または１０ｍｇ／ｋｇのチオＡｂ－アセタール－ＰＮＵ対照抗体－薬物複合体、またはビヒクル（５０ｍＭのリン酸ナトリウム、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ２０（ｐＨ７））単独の単回静脈内注射を与えた（ｎ＝１群当たり５匹のマウス）。加えて、マウスに、３０ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ対照抗体（腹腔内）を、試験抗体の投与と同日であるが、その４時間前から開始して、研究の終了まで週１回投与した。

【０４８２】

図３１に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、１０ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－アセタール－ＰＮＵにより達成され、対照抗体は、腫瘍成長を阻害しなかった。

【０４８３】

Ｔ．　Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

ＹＷ３５３抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、β－カテニン突然変異を有するＤ５１２４膵臓がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｇＲ５は、Ｄ５１２４腫瘍において高度に発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。２０～３０ｍｍ^{3}のＤ５１２４腫瘍断片をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植の２６日後、マウスに、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＢＤ抗体－薬物複合体、または１ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＢＤ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり９匹のマウス）。注射の１、７、および１４日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４８４】

図３２に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＭＭＡＥおよび１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＢＤにより達成された。１ｍｇ／ｋｇのｈｕＹＷ３５３－ｖｃＰＢＤで処置されたマウスのうちの１匹は、完全寛解を示した（すなわち、マウスは、試験の終了時に検出可能な腫瘍を何ら有しなかった）。

【０４８５】

別個の実験において、ｈｕ８Ｅ１１ｖ２抗ＬｇＲ５　ＡＤＣを、Ｄ５１２４膵臓がん異種移植片モデルを使用して調査した。２０～３０ｍｍ^{3}のＤ５１２４腫瘍断片をＮＣＲヌードマウスの背側面領域の皮下に埋め込み、移植の２２日後、マウスに、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＢＤ抗体－薬物複合体、または２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＢＤ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭ

のヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり８匹のマウス）。

【０４８６】

図３３に示されるように、実質的な腫瘍成長阻害が、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥにより達成され、腫瘍退縮が、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＢＤにより達成された。

【０４８７】

Ｕ．　ＬｏＶｏＸ１．１結腸がん細胞株異種移植片における抗ＬｇＲ５抗体－薬物複合体の有効性

抗ＬｇＲ５　ＡＤＣの有効性を、ＬｏＶｏＸ１．１結腸がん異種移植片モデルを使用して調査した。ＬｏＶｏ細胞は、ＡＰＣ突然変異を有する結腸直腸腺がん細胞株（ＡＴＣＣ番号ＣＣＬ　２２９）であり、亜系ＬｏＶｏＸ１．１をマウスにおける最適な成長のために誘導した。簡潔に述べると、マウスにＬｏＶｏ細胞を播種した。腫瘍が成長し始めると、望ましい成長速度を有する腫瘍を採取した。腫瘍を分割し、培養により成長させて、細胞株ＬｏＶｏＸ１．１を樹立した。ＬｇＲ５は、ＬｏＶｏＸ１．１細胞において発現され、それをマイクロアレイ、ＴａｑＭａｎ（登録商標）定量ＲＴ－ＰＣＲ、インサイツハイブリダイゼーション、ＦＡＣＳ、およびウェスタンブロットによって確認した。ＨＢＳＳ－マトリゲル中、５００万個のＬｏＶｏＸ１．１細胞をＣ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤマウスの背側面に皮下注射し、接種から１１日後のマウスに、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＭＭＡＥ抗体－薬物複合体、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＢＤ抗体－薬物複合体、または２ｍｇ／ｋｇのヒト化抗ｇＤ　５Ｂ６－ｖｃＰＢＤ対照抗体－薬物複合体の単回静脈内注射、またはビヒクル（ヒスチジン緩衝液：２０ｍＭのヒスチジン酢酸塩、２４０ｍＭのショ糖、０．０２％　Ｔｗｅｅｎ　２０（ｐＨ５．５））単独による単回静脈内注射を行った（ｎ＝１群当たり１０匹のマウス）。注射の１、７、および１４日後、抗体の存在をＰＫ採血によって確認した。

【０４８８】

図３４に示されるように、完全な腫瘍成長阻害が、２ｍｇ／ｋｇのｈｕ８Ｅ１１ｖ２－ｖｃＰＢＤにより達成された。

【０４８９】

上述の発明は、明確な理解のための例示説明および例としてある程度詳細に記載されたが、これらの説明および例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書で引用される全ての特許および科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

配列表

配列番号	説明	配列
1	huκ$_{IV}$	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSS QSVL YSSNNKNYLA WYQQKPGQPP K LLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDF TLT ISSLQAEDVA VYYCQQYYST PF TFGQGTKV EIKR
2	huVH$_1$	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASG YTFT SYYIHWVRQA PGQGLEWIGW I NPGSGNTNY AQKFQGRVTI TRDTSTS TAY LELSSLRSED TAVYYCARFD YW GQGTLVTV SS
3	mu8E11軽鎖可変領域	NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRAS ESVD NYGNSFMHWY QQKPGQPPKL L IYLASNLES GVPARFSGSG SRTDFTL TID PVEADDAATY YCQQNYEDPF TF GSGTKVEI KR
4	mu8E11重鎖可変領域	QVQLQQSGTE LMKPGASVKI SCKATG YTFS AYWIEWIKQR PGHGLEWIGE I LPGSDSTDY NEKFKVKATF SSDTSSN TVY IQLNSLTYED SAVYYCARGG HY GSLDYWGQ GTTLKVSS
5	hu8E11.v1軽鎖可変領域	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRAS ESVD NYGNSFMHWY QQKPGQPPKL L IYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTL TIS SLQAEDVAVY YCQQNYEDPF TF GQGTKVEI KR
6	hu8E11.v1重鎖可変領域	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASG YTFS AYWIEWVRQA PGQGLEWIGE I LPGSDSTDY NEKFKVRVTI TSDTSTS TVY LELSSLRSED TAVYYCARGG HY GSLDYWGQ GTLVTVSS

7	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＧＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
8	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＡＴＦ ＴＳＤＴＳＴＳ ＴＶＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
9	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ３軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＲＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
１０	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ３重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＶＴＩ ＴＳＤＴＳＴＳ ＴＶＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
１１	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ４軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＲＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
１２	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ４重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＡＴＦ ＴＳＤＴＳＴＳ ＴＶＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
１３	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ５軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＧＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
１	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ

4	５重鎖可変領域	ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＶＴＩ ＴＲＤＴＳＴＳ ＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
15	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ６軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＧＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
16	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ６重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＶＴＩ ＴＡＤＴＳＴＳ ＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
17	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ７軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＲＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
18	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ７重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＶＴＩ ＴＲＤＴＳＴＳ ＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
19	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ８軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳ ＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴ ＩＮＣＲＡＳ ＥＳＶＤ ＮＹＧＮＳＦＭＨＷＹ ＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬ Ｌ ＩＹＬＡＳＮＬＥＳ ＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧ ＳＲＴＤＦＴＬ ＴＩＳ ＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹ ＹＣＱＱＮＹＥＤＰＦ ＴＦ ＧＱＧＴＫＶＥＩ ＫＲ
20	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ８重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＶＴＩ ＴＡＤＴＳＴＳ ＴＡＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳ
21	ｍｕ３Ｇ１２軽鎖可変領域	ＤＶＶＭＴＱＴＰＬＳ ＬＰＶＳＬＧＤＱＡＳ ＩＳＣＲＳＳ ＱＳＬＶ ＨＳＮＧＮＴＹＬＱＷ ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＫ Ｌ

		ＬＩＹＫＶＳＮＲＦ ＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳ ＧＳＧＴＤＦＴ ＬＫＩ ＳＲＶＥＡＥＤＬＧＩ ＹＦＣＳＱＳＴＨＦＰ ＹＴ ＦＧＧＧＴＫＬＥ ＩＫＲ
２２	ｍｕ３Ｇ１２重鎖可変領域	ＱＶＱＬＱＱＰＧＡＥ ＭＶＫＰＧＡＳＶＫＬ ＳＣＫＡＳＶ ＤＴＦＮ ＳＹＷＭＨＷＶＫＱＲ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＮＰＳＮＧＲＴＮＹ ＩＥＫＦＫＮＲＡＴＶ ＴＶＤＫＳＳＳ ＴＡＦ ＭＱＬＳＳＬＴＳＥＤ ＳＡＶＹＹＣＡＴＧＷ ＹＦ ＤＶＷＧＡＧＴＴ ＶＴＶＳＳ
２３	ｍｕ２Ｈ６軽鎖可変領域	ＤＩＶＭＴＱＳＰＳＳ ＬＴＶＴＡＧＥＫＶＴ ＭＳＣＫＳＳ ＱＳＬＬ ＮＳＧＮＱＫＮＹＬＴ ＷＦＱＱＫＰＧＱＰＰ Ｋ ＬＬＩＹＷＡＳＴＲ ＥＳＧＶＰＤＲＦＴＧ ＳＧＳＧＴＤＦ ＴＬＴ ＩＳＮＶＱＡＥＤＬＡ ＶＹＹＣＱＮＤＹＳＦ ＰＦ ＴＦＧＱＧＴＫＶ ＥＩＫＲ
２４	ｍｕ２Ｈ６重鎖可変領域	ＥＶＱＬＱＱＳＧＰＥ ＬＶＫＰＧＴＳＭＫＩ ＳＣＫＡＳＧ ＹＳＦＴ ＧＹＴＭＮＷＶＫＱＳ ＨＫＮＧＬＥＷＩＧＬ Ｉ ＮＣＹＮＧＧＴＮＹ ＮＱＫＦＫＧＫＡＴＬ ＴＶＤＫＳＳＳ ＴＡＦ ＭＥＬＬＳＬＴＳＥＤ ＳＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＳＴ ＭＩＴＰＲＦＡＹ ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳ Ｓ
２５	ＹＷ３５３軽鎖可変領域	ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳ ＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴ ＩＴＣＲＡＳ ＱＤＶＳ ＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰ ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳ Ａ ＳＦＬＹＳＧＶＰＳ ＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤ ＦＴＬＴＩＳＳ ＬＱＰ ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱ ＳＹＴＴＰＰＴＦＧＱ ＧＴ ＫＶＥＩＫＲ
２６	ＹＷ３５３重鎖可変領域	ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧ ＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬ ＳＣＡＡＳＧ ＦＴＦＴ ＳＹＳＩＳＷＶＲＱＡ ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＥ Ｉ ＹＰＰＧＧＹＴＤＹ ＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩ ＳＡＤＴＳＫＮ ＴＡＹ ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＫＡＲ ＬＦ ＦＤＹＷＧＱＧＴ ＬＶＴＶＳＳ
２７	ｍｕ８Ｅ１１ ＨＶＲ Ｌ１	ＲＡＳＥＳＶＤＮＹＧ ＮＳＦＭＨ
２８	ｍｕ８Ｅ１１ ＨＶＲ Ｌ２	ＬＡＳＮＬＥＳ
２９	ｍｕ８Ｅ１１ ＨＶＲ Ｌ３	ＱＱＮＹＥＤＰＦＴ
３０	ｍｕ８Ｅ１１ ＨＶＲ Ｈ１	ＧＹＴＦＳＡＹＷＩＥ

31	mu8E11 HVR H2	EILPGSDSTD YNEKFKV
32	mu8E11 HVR H3	GGHYGSLDY
33	Hu8E11軽鎖（LC）フレームワーク1（FR1）	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INC
34	Hu8E11 LC FR2	WYQQKPGQPP KLLIY
35	Hu8E11.v1 LC FR3 Hu8E11.v2 LC FR3 Hu8E11.v5 LC FR3 Hu8E11.v6 LC FR3	GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAED VAVY YC
36	Hu8E11.v3 LC FR3 Hu8E11.v4 LC FR3 Hu8E11.v7 LC FR3 Hu8E11.v8 LC FR3	GVPDRFSGSG SRTDFTLTIS SLQAED VAVY YC
37	Hu8E11 LC FR4	FGQGTKVEIK R
38	Hu8E11重鎖（HC）フレームワーク1（FR1）	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKAS
39	Hu8E11 HC FR2	WVRQAPGQGL EWIG
40	Hu8E11.v1 HC FR3 Hu8E11.v3 HC FR3	RVTITSDTST STVYLELSSL RSEDTA VYYC AR

41	Hu8E11.v2 HC FR3 Hu8E11.v4 HC FR3	RATFTSDTST STVYLELSSL RSEDTAVYYC AR
42	Hu8E11.v5 HC FR3 Hu8E11.v7 HC FR3	RVTITRDTST STAYLELSSL RSEDTAVYYC AR
43	Hu8E11.v6 HC FR3 Hu8E11.v8 HC FR3	RVTITADTST STAYLELSSL RSEDTAVYYC AR
44	Hu8E11 HC FR4	WGQGTLVTVS S
45	mu3G12 HVR L1	RSSQSLVHSN GNTYLQ
46	mu3G12 HVR L2	KVSNRFS
47	mu3G12 HVR L3	SQSTHFPYT
48	mu3G12 HVR H1	VDTFNSYWMH
49	mu3G12 HVR H2	EINPSNGRTN YIEKFKN
50	mu3G12 HVR H3	GWYFDV
51	mu2H6 HVR L1	KSSQSLLNSG NQKNYLT
52	mu2H6 HVR L2	WASTRES
53	mu2H6 HVR L3	QNDYSFPFT
54	mu2H6 HVR H1	GYSFTGYTMN
55	mu2H6 HVR H2	LINCYNGGTN YNQKFKG

56	mu2H6 HVR H3	GGSTMITPRF AY
57	YW353 HVR L1	RASQDVSTAV A
58	YW353 HVR L2	SASFLYS
59	YW353 HVR L3	QQSYTTPPT
60	YW353 HVR H1	GFTFTSYSIS
61	YW353 HVR H2	EIYPPGGYTD YADSVKG
62	YW353 HVR H3	ARLFFDY
63	hu8E11.v2軽鎖	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASESVD NYGNSFMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQNYEDPF TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
64	hu8E11.v2重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFS AYWIEWVRQA PGQGLEWIGE ILPGSDSTDY NEKFKVRATF TSDTSTSTVY LELSSLRSED TAVYYCARGG HYGSLDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP AP

		ＩＥＫＴＩＳＫＡ ＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹ ＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴ ＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶ ＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶ ＥＷＥ ＳＮＧＱＰＥＮ ＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤ ＳＤＧＳＦＦＬＹＳ Ｋ ＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱ ＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨ ＥＡＬＨ ＮＨＹＴＱＫ ＳＬＳＬＳＰＧＫ
６５	ＹＷ３５３軽鎖	ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳ ＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴ ＩＴＣＲＡＳ ＱＤＶＳ ＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰ ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳ Ａ ＳＦＬＹＳＧＶＰＳ ＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤ ＦＴＬＴＩＳＳ ＬＱＰ ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱ ＳＹＴＴＰＰＴＦＧＱ ＧＴ ＫＶＥＩＫＲＴＶ ＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ ＳＤＥＱＬＫＳＧ ＴＡ ＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹ ＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶ ＤＮＡ ＬＱＳＧＮＳＱ ＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤ ＳＴＹＳＬＳＳＴＬ Ｔ ＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫ ＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧ ＬＳＳＰ ＶＴＫＳＦＮ ＲＧＥＣ
６６	ＹＷ３５３重鎖	ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧ ＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬ ＳＣＡＡＳＧ ＦＴＦＴ ＳＹＳＩＳＷＶＲＱＡ ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＥ Ｉ ＹＰＰＧＧＹＴＤＹ ＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩ ＳＡＤＴＳＫＮ ＴＡＹ ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＫＡＲ ＬＦ ＦＤＹＷＧＱＧＴ ＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ ＧＰＳＶＦＰＬＡ ＰＳ ＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡ ＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰ ＥＰＶ ＴＶＳＷＮＳＧ ＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰ ＡＶＬＱＳＳＧＬＹ Ｓ ＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳ ＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮ ＶＮＨＫ ＰＳＮＴＫＶ ＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤ ＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡ ＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦ ＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬ ＭＩＳＲＴＰ ＥＶＴＣ ＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰ ＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ Ｖ ＥＶＨＮＡＫＴＫＰ ＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲ ＶＶＳＶＬＴＶ ＬＨＱ ＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣ ＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰ ＩＥ ＫＴＩＳＫＡＫＧ ＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬ ＰＰＳＲＥＥＭＴ ＫＮ ＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧ ＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷ ＥＳＮ ＧＱＰＥＮＮＹ ＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤ ＧＳＦＦＬＹＳＫＬ Ｔ ＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮ ＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡ ＬＨＮＨ ＹＴＱＫＳＬ ＳＬＳＰＧＫ
６７	ヒトＬｇＲ５前駆体；ＬＧＲ５＿ヒトＮＰ＿００３６５８；シグナル配	ＭＤＴＳＲＬＧＶＬＬ ＳＬＰＶＬＬＱＬＡＴ ＧＧＳＳＰＲ ＳＧＶＬ ＬＲＧＣＰＴＨＣＨＣ ＥＰＤＧＲＭＬＬＲＶ Ｄ ＣＳＤＬＧＬＳＥＬ ＰＳＮＬＳＶＦＴＳＹ ＬＤＬＳＭＮＮ ＩＳＱ ＬＬＰＮＰＬＰＳＬＲ ＦＬＥＥＬＲＬＡＧＮ ＡＬ

	列＝アミノ酸１～２１	ＴＹＩＰＫＧＡＦ ＴＧＬＹＳＬＫＶＬＭ ＬＱＮＮＱＬＲＨ ＶＰ ＴＥＡＬＱＮＬＲＳＬ ＱＳＬＲＬＤＡＮＨＩ ＳＹＶ ＰＰＳＣＦＳＧ ＬＨＳＬＲＨＬＷＬＤ ＤＮＡＬＴＥＩＰＶ Ｑ ＡＦＲＳＬＳＡＬＱＡ ＭＴＬＡＬＮＫＩＨＨ ＩＰＤＹ ＡＦＧＮＬＳ ＳＬＶＶＬＨＬＨＮＮ ＲＩＨＳＬＧＫＫＣＦ ＤＧＬＨＳＬＥＴＬＤ ＬＮＹＮＮＬＤＥＦＰ ＴＡＩＲＴＬ ＳＮＬＫ ＥＬＧＦＨＳＮＮＩＲ ＳＩＰＥＫＡＦＶＧＮ Ｐ ＳＬＩＴＩＨＦＹＤ ＮＰＩＱＦＶＧＲＳＡ ＦＱＨＬＰＥＬ ＲＴＬ ＴＬＮＧＡＳＱＩＴＥ ＦＰＤＬＴＧＴＡＮＬ ＥＳ ＬＴＬＴＧＡＱＩ ＳＳＬＰＱＴＶＣＮＱ ＬＰＮＬＱＶＬＤ ＬＳ ＹＮＬＬＥＤＬＰＳＦ ＳＶＣＱＫＬＱＫＩＤ ＬＲＨ ＮＥＩＹＥＩＫ ＶＤＴＦＱＱＬＬＳＬ ＲＳＬＮＬＡＷＮＫ Ｉ ＡＩＩＨＰＮＡＦＳＴ ＬＰＳＬＩＫＬＤＬＳ ＳＮＬＬ ＳＳＦＰＩＴ ＧＬＨＧＬＴＨＬＫＬ ＴＧＮＨＡＬＱＳＬＩ ＳＳＥＮＦＰＥＬＫＶ ＩＥＭＰＹＡＹＱＣＣ ＡＦＧＶＣＥ ＮＡＹＫ ＩＳＮＱＷＮＫＧＤＮ ＳＳＭＤＤＬＨＫＫＤ Ａ ＧＭＦＱＡＱＤＥＲ ＤＬＥＤＦＬＬＤＦＥ ＥＤＬＫＡＬＨ ＳＶＱ ＣＳＰＳＰＧＰＦＫＰ ＣＥＨＬＬＤＧＷＬＩ ＲＩ ＧＶＷＴＩＡＶＬ ＡＬＴＣＮＡＬＶＴＳ ＴＶＦＲＳＰＬＹ ＩＳ ＰＩＫＬＬＩＧＶＩＡ ＡＶＮＭＬＴＧＶＳＳ ＡＶＬ ＡＧＶＤＡＦＴ ＦＧＳＦＡＲＨＧＡＷ ＷＥＮＧＶＧＣＨＶ Ｉ ＧＦＬＳＩＦＡＳＥＳ ＳＶＦＬＬＴＬＡＡＬ ＥＲＧＦ ＳＶＫＹＳＡ ＫＦＥＴＫＡＰＦＳＳ ＬＫＶＩＩＬＬＣＡＬ ＬＡＬＴＭＡＡＶＰＬ ＬＧＧＳＫＹＧＡＳＰ ＬＣＬＰＬＰ ＦＧＥＰ ＳＴＭＧＹＭＶＡＬＩ ＬＬＮＳＬＣＦＬＭＭ Ｔ ＩＡＹＴＫＬＹＣＮ ＬＤＫＧＤＬＥＮＩＷ ＤＣＳＭＶＫＨ ＩＡＬ ＬＬＦＴＮＣＩＬＮＣ ＰＶＡＦＬＳＦＳＳＬ ＩＮ ＬＴＦＩＳＰＥＶ ＩＫＦＩＬＬＶＶＶＰ ＬＰＡＣＬＮＰＬ ＬＹ ＩＬＦＮＰＨＦＫＥＤ ＬＶＳＬＲＫＱＴＹＶ ＷＴＲ ＳＫＨＰＳＬＭ ＳＩＮＳＤＤＶＥＫＱ ＳＣＤＳＴＱＡＬＶ Ｔ ＦＴＳＳＳＩＴＹＤＬ ＰＰＳＳＶＰＳＰＡＹ ＰＶＴＥ ＳＣＨＬＳＳ ＶＡＦＶＰＣＬ
６８	ヒトＬｇＲ５成熟；シグナル配列を含まない；アミノ酸２２～９０７	ＧＳＳＰＲＳＧＶＬ ＬＲＧＣＰＴＨＣＨＣ ＥＰＤＧＲＭＬ ＬＲＶ ＤＣＳＤＬＧＬＳＥＬ ＰＳＮＬＳＶＦＴＳＹ ＬＤ ＬＳＭＮＮＩＳＱ ＬＬＰＮＰＬＰＳＬＲ ＦＬＥＥＬＲＬＡ ＧＮ ＡＬＴＹＩＰＫＧＡＦ ＴＧＬＹＳＬＫＶＬＭ ＬＱＮ

		NQLRHVP TEALQNLRSL QSLRLDANH I SYVPPSCFSG LHSLRHLWLD DNAL TEIPVQ AFRSLSALQA MTLALNKIHH IPDYAFGNLS SLVVLHLHNN RIHSLG KKCF DGLHSLETLD LNYNNLDEFP T AIRTLSNLK ELGFHSNNIR SIPEKAF VGN PSLITIHFYD NPIQFVGRSA FQ HLPELRTL TLNGASQITE FPDLTGTA NL ESLTLTGAQI SSLPQTVCNQ LPN LQVLDLS YNLLEDLPSF SVCQKLQKI D LRHNEIYEIK VDTFQQLLSL RSLN LAWNKI AIIHPNAFST LPSLIKLDLS SNLLSSFPIT GLHGLTHLKL TGNHAL QSLI SSENFPELKV IEMPYAYQCC A FGVCENAYK ISNQWNKGDN SSMDDLH KKD AGMFQAQDER DLEDFLLDFE ED LKALHSVQ CSPSPGPFKP CEHLLDGW LI RIGVWTIAVL ALTCNALVTS TVF RSPLYIS PIKLLIGVIA AVNMLTGVS S AVLAGVDAFT FGSFARHGAW WENG VGCHVI GFLSIFASES SVFLLTLAAL ERGFSVKYSA KFETKAPFSS LKVIIL LCAL LALTMAAVPL LGGSKYGASP L CLPLPFGEP STMGYMVALI LLNSLCF LMM TIAYTKLYCN LDKGDLENIW DC SMVKHIAL LLFTNCILNC PVAFLSFS SL INLTFISPEV IKFILLVVVP LPA CLNPLLY ILFNPHFKED LVSLRKQTY V WTRSKHPSLM SINSDDVEKQ SCDS TQALVT FTSSSITYDL PPSSVPSPAY PVTESCHLSS VAFVPCL
69	カニクイザルＬｇＲ５部分配列、予測；完全長前駆体のアミノ酸３３～９０７に対応する	GCPTHCHCEP DGRMLLRVDC SDLGLS ELPS NLSVFTSYLD LSMNNISQLL P NPLPSLRFL EELRLAGNAL TYIPKGA FTG LYSLKVLMLQ NNQLRQVPTE AL QNLRSLQS LRLDANHISY VPPSCFSG

	ことが予測される	LH SLRHLWLDDN ALTEIPVQAF RSL SALQAMT LALNKIHHIP DYAFGNLSS L VVLHLHNNRI HSLGKKCFDG LHSL ETLDLN YNNLDEFPTA IRTLSNLKEL GFHSNNIRSI PEKAFVGNPS LITIHF YDNP IQFVGRSAFQ HLPELRTLTL N GASQITEFP DLTGTANLES LTLTGAQ ISS LPQTVCNQLP NLQVLDLSYN LL EDLPSFSV CQKLQKIDLR HNEIYEIK VD TFQQLLSLRS LNLAWNKIAI IHP NAFSTLP SLIKLDLSSN LLSSFPVTG L HGLTHLKLTG NHALQSLISS ENFP ELKIIE MPYAYQCCAF GVCENAYKIS NQWNKGDNSS MDDLHKKDAG MFQVQD ERDL EDFLLDFEED LKALHSVQCS P SPGPFKPCE HLLDGWLIRI GVWTIAV LAL TCNALVTSTV FRSPLYISPI KL LIGVIAVV NMLTGVSSAV LAGVDAFT FG SFARHGAWWE NGVGCQVIGF LSI FASESSV FLLTLAALER GFSVKCSAK F ETKAPFSSLK VIILLCALLA LTMA AVPLLG GSEYGASPLC LPLPFGEPST TGYMVALILL NSLCFLMMTI AYTKLY CNLD KGDLENIWDC SMVKHIALLL F TNCILYCPV AFLSFSSLLN LTFISPE VIK FILLVIVPLP ACLNPLLYIL FN PHFKEDLV SLGKQTYFWT RSKHPSLM SI NSDDVEKQSC DSTQALVTFT SSS IAYDLPP SSVPSPAYPV TESCHLSSV A FVPCL
70	ラットＬｇＲ５前駆体；ＬＧＲ５＿＿ラットＮＰ＿００１１００２５４；シグナル配列＝アミノ酸１～２１	MDTSRVRMLL SLLALLQLVA AGSPPR PDTM PRGCPSYCHC ELDGRMLLRV D CSDLGLSEL PSNLSVFTSY LDLSMNN ISQ LPASLLHRLR FLEELRLAGN AL THIPKGAF AGLHSLKVLM LQNNQLRQ VP EEALQNLRSL QSLRLDANHI SYV

		PPSCFSG LHSLRHLWLD DNALTDVPV Q AFRSLSALQA MTLALNKIHH IADH AFGNLS SLVVLHLHNN RIHSLGKKCF DGLHSLETLD LNYNNLDEFP TAIKTL SNLK ELGFHSNNIR SIPERAFVGN P SLITIHFYD NPIQFVGISA FQHLPEL RTL TLNGASQITE FPDLTGTATL ES LTLTGAKI SSLPQTVCDQ LPNLQVLD LS YNLLEDLPSL SGCQKLQKID LRH NEIYEIK GGTFQQLFNL RSLNLARNK I AIIHPNAFST LPSLIKLDLS SNLL SSFPVT GLHGLTHLKL TGNRALQSLI PSANFPELKI IEMPYAYQCC AFGGCE NVYK IPNQWNKDDS SSVDDLRKKD A GLFQVQDER DLEDFLLDFE EDLKVLH SVQ CSPPPGPFKP CEHLFGSWLI RI GVWTTAVL ALSCNALVAF TVFRTPLY IS SIKLLIGVIA VVDILMGVSS AIL AVVDTFT FGSFAQHGAW WEGGIGCQI V GFLSIFASES SVFLLTLAAL ERGF SVKCSS KFEMKAPLSS LKAIILLCVL LALTIATVPL LGGSEYNASP LCLPLP FGEP STTGYMVALV LLNSLCFLIM T IAYTRLYCS LEKGELENLW DCSMVKH TAL LLFTNCILYC PVAFLSFSSL LN LTFISPEV IKFILLVIVP LPACLNPL LY IVFNPHFKED MGSLGKQTRF WTR AKHPSLL SINSDDVEKR SCDSTQALV S FTHASIAYDL PSDSGSSPAY PMTE SCHLSS VAFVPCL
71	ラットＬｇＲ５成熟；シグナル配列を含まない；アミノ酸２２～９０７	GSPPRPDTM PRGCPSYCHC ELDGRML LRV DCSDLGLSEL PSNLSVFTSY LD LSMNNISQ LPASLLHRLR FLEELRLA GN ALTHIPKGAF AGLHSLKVLM LQN NQLRQVP EEALQNLRSL QSLRLDANH I SYVPPSCFSG LHSLRHLWLD DNAL

		TDVPVQ AFRSLSALQA MTLALNKIHH IADHAFGNLS SLVVLHLHNN RIHSLG KKCF DGLHSLETLD LNYNNLDEFP T AIKTLSNLK ELGFHSNNIR SIPERAF VGN PSLITIHFYD NPIQFVGISA FQ HLPELRTL TLNGASQITE FPDLTGTA TL ESLTLTGAKI SSLPQTVCDQ LPN LQVLDLS YNLLEDLPSL SGCQKLQKI D LRHNEIYEIK GGTFQQLFNL RSLN LARNKI AIIHPNAFST LPSLIKLDLS SNLLSSFPVT GLHGLTHLKL TGNRAL QSLI PSANFPELKI IEMPYAYQCC A FGGCENVYK IPNQWNKDDS SSVDDLR KKD AGLFQVQDER DLEDFLLDFE ED LKVLHSVQ CSPPPGPFKP CEHLFGSW LI RIGVWTTAVL ALSCNALVAF TVF RTPLYIS SIKLLIGVIA VVDILMGVS S AILAVVDTFT FGSFAQHGAW WEGG IGCQIV GFLSIFASES SVFLLTLAAL ERGFSVKCSS KFEMKAPLSS LKAIIL LCVL LALTIATVPL LGGSEYNASP L CLPLPFGEP STTGYMVALV LLNSLCF LIM TIAYTRLYCS LEKGELENLW DC SMVKHTAL LLFTNCILYC PVAFLSFS SL LNLTFISPEV IKFILLVIVP LPA CLNPLLY IVFNPHFKED MGSLGKQTR F WTRAKHPSLL SINSDDVEKR SCDS TQALVS FTHASIAYDL PSDSGSSPAY PMTESCHLSS VAFVPCL
72	マウスＬｇＲ５前駆体；ＬＧＲ５＿＿マウスＮＰ＿０３４３２５；シグナル配列＝アミノ酸１～２１	MDTSCVHMLL SLLALLQLVA AGSSPG PDAI PRGCPSHCHC ELDGRMLLRV D CSDLGLSEL PSNLSVFTSY LDLSMNN ISQ LPASLLHRLC FLEELRLAGN AL THIPKGAF TGLHSLKVLM LQNNQLRQ VP EEALQNLRSL QSLRLDANHI SYV PPSCFSG LHSLRHLWLD DNALTDVPV

		Q AFRSLSALQA MTLALNKIHH IADY AFGNLS SLVVLHLHNN RIHSLGKKCF DGLHSLETLD LNYNNLDEFP TAIKTL SNLK ELGFHSNNIR SIPERAFVGN P SLITIHFYD NPIQFVGVSA FQHLPEL RTL TLNGASHITE FPHLTGTATL ES LTLTGAKI SSLPQAVCDQ LPNLQVLD LS YNLLEDLPSL SGCQKLQKID LRH NEIYEIK GSTFQQLFNL RSLNLAWNK I AIIHPNAFST LPSLIKLDLS SNLL SSFPVT GLHGLTHLKL TGNRALQSLI PSANFPELKI IEMPSAYQCC AFGGCE NVYK ISNQWNKDDG NSVDDLHKKD A GLFQVQDER DLEDFLLDFE EDLKALH SVQ CSPSPGPFKP CEHLFGSWLI RI GVWTTAVL ALSCNALVAL TVFRTPLY IS SIKLLIGVIA VVDILMGVSS AVL AAVDAFT FGRFAQHGAW WEDGIGCQI V GFLSIFASES SIFLLTLAAL ERGF SVKCSS KFEVKAPLFS LRAIVLLCVL LALTIATIPL LGGSKYNASP LCLPLP FGEP STTGYMVALV LLNSLCFLIM T IAYTKLYCS LEKGELENLW DCSMVKH IAL LLFANCILYC PVAFLSFSSL LN LTFISPDV IKFILLVIVP LPSCLNPL LY IVFNPHFKED MGSLGKHTRF WMR SKHASLL SINSDDVEKR SCESTQALV S FTHASIAYDL PSTSGASPAY PMTE SCHLSS VAFVPCL
73	マウスＬｇＲ５成熟；シグナル配列を含まない；アミノ酸２２～９０７	GSSPGPDAI PRGCPSHCHC ELDGRML LRV DCSDLGLSEL PSNLSVFTSY LD LSMNNISQ LPASLLHRLC FLEELRLA GN ALTHIPKGAF TGLHSLKVLM LQN NQLRQVP EEALQNLRSL QSLRLDANH I SYVPPSCFSG LHSLRHLWLD DNAL TDVPVQ AFRSLSALQA MTLALNKIHH

		IADYAFGNLS SLVVLHLHNN RIHSLG KKCF DGLHSLETLD LNYNNLDEFP T AIKTLSNLK ELGFHSNNIR SIPERAF VGN PSLITIHFYD NPIQFVGVSA FQ HLPELRTL TLNGASHITE FPHLTGTA TL ESLTLTGAKI SSLPQAVCDQ LPN LQVLDLS YNLLEDLPSL SGCQKLQKI D LRHNEIYEIK GSTFQQLFNL RSLN LAWNKI AIIHPNAFST LPSLIKLDLS SNLLSSFPVT GLHGLTHLKL TGNRAL QSLI PSANFPELKI IEMPSAYQCC A FGGCENVYK ISNQWNKDDG NSVDDLH KKD AGLFQVQDER DLEDFLLDFE ED LKALHSVQ CSPSPGPFKP CEHLFGSW LI RIGVWTTAVL ALSCNALVAL TVF RTPLYIS SIKLLIGVIA VVDILMGVS S AVLAAVDAFT FGRFAQHGAW WEDG IGCQIV GFLSIFASES SIFLLTLAAL ERGFSVKCSS KFEVKAPLFS LRAIVL LCVL LALTIATIPL LGGSKYNASP L CLPLPFGEP STTGYMVALV LLNSLCF LIM TIAYTKLYCS LEKGELENLW DC SMVKHIAL LLFANCILYC PVAFLSFS SL LNLTFISPDV IKFILLVIVP LPS CLNPLLY IVFNPHFKED MGSLGKHTR F WMRSKHASLL SINSDDVEKR SCES TQALVS FTHASIAYDL PSTSGASPAY PMTESCHLSS VAFVPCL
74	hu8E11.v2 V205Cシステイン操作された軽鎖（Igκ）	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRAS ESVD NYGNSFMHWY QQKPGQPPKL L IYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTL TIS SLQAEDVAVY YCQQNYEDPF TF GQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQ LK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWK VDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSL S STLTLSKADY EKHKVYACEV THQG

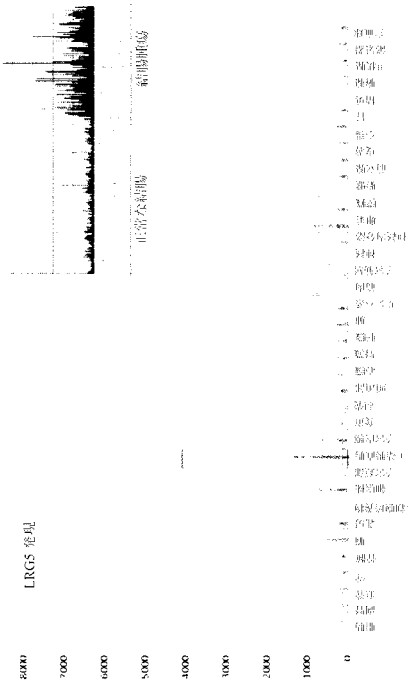
		ＬＳＳＰＣＴ ＫＳＦＮＲＧＥＣ
７５	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２ Ａ１１８Ｃシステイン操作された重鎖（ＩｇＧ１）	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＡＴＦ ＴＳＤＴＳＴＳ ＴＶＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳＣＳ ＴＫＧＰＳＶＦＰ ＬＡ ＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴ ＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹ ＦＰＥ ＰＶＴＶＳＷＮ ＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴ ＦＰＡＶＬＱＳＳＧ Ｌ ＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰ ＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩ ＣＮＶＮ ＨＫＰＳＮＴ ＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳ ＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣ ＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳ ＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤ ＴＬＭＩＳＲ ＴＰＥＶ ＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥ ＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶ Ｄ ＧＶＥＶＨＮＡＫＴ ＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴ ＹＲＶＶＳＶＬ ＴＶＬ ＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰ ＡＰ ＩＥＫＴＩＳＫＡ ＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹ ＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴ ＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶ ＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶ ＥＷＥ ＳＮＧＱＰＥＮ ＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤ ＳＤＧＳＦＦＬＹＳ Ｋ ＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱ ＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨ ＥＡＬＨ ＮＨＹＴＱＫ ＳＬＳＬＳＰＧＫ
７６	ｈｕ８Ｅ１１．ｖ２ Ｓ４００Ｃシステイン操作された重鎖（ＩｇＧ１）	ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥ ＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶ ＳＣＫＡＳＧ ＹＴＦＳ ＡＹＷＩＥＷＶＲＱＡ ＰＧＱＧＬＥＷＩＧＥ Ｉ ＬＰＧＳＤＳＴＤＹ ＮＥＫＦＫＶＲＡＴＦ ＴＳＤＴＳＴＳ ＴＶＹ ＬＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧ ＨＹ ＧＳＬＤＹＷＧＱ ＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳ ＴＫＧＰＳＶＦＰ ＬＡ ＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴ ＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹ ＦＰＥ ＰＶＴＶＳＷＮ ＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴ ＦＰＡＶＬＱＳＳＧ Ｌ ＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰ ＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩ ＣＮＶＮ ＨＫＰＳＮＴ ＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳ ＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣ ＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳ ＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤ ＴＬＭＩＳＲ ＴＰＥＶ ＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥ ＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶ Ｄ ＧＶＥＶＨＮＡＫＴ ＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴ ＹＲＶＶＳＶＬ ＴＶＬ ＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰ ＡＰ ＩＥＫＴＩＳＫＡ ＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹ ＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴ ＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶ ＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶ ＥＷＥ ＳＮＧＱＰＥＮ ＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤ ＣＤＧＳＦＦＬＹＳ Ｋ ＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱ ＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨ ＥＡＬＨ

		NHYTQK SLSLSPGK
77	YW353 V205Cシステイン操作された軽鎖（Igκ）	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRAS QDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS A SFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISS LQP EDFATYYCQQ SYTTPPTFGQ GT KVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSG TA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNA LQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTL T LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSP CTKSFN RGEC
78	YW353 A118Cシステイン操作された重鎖（IgG1）	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASG FTFT SYSISWVRQA PGKGLEWVAE I YPPGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKN TAY LQMNSLRAED TAVYYCAKAR LF FDYWGQGT LVTVSSCSTK GPSVFPLA PS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPV TVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLY S LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHK PSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTP EVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG V EVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTV LHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IE KTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMT KN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESN GQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKL T VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNH YTQKSL SLSPGK
79	YW353 S400Cシステイン操作された重鎖（IgG1）	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASG FTFT SYSISWVRQA PGKGLEWVAE I YPPGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKN TAY LQMNSLRAED TAVYYCAKAR LF FDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLA PS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPV TVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLY S LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHK

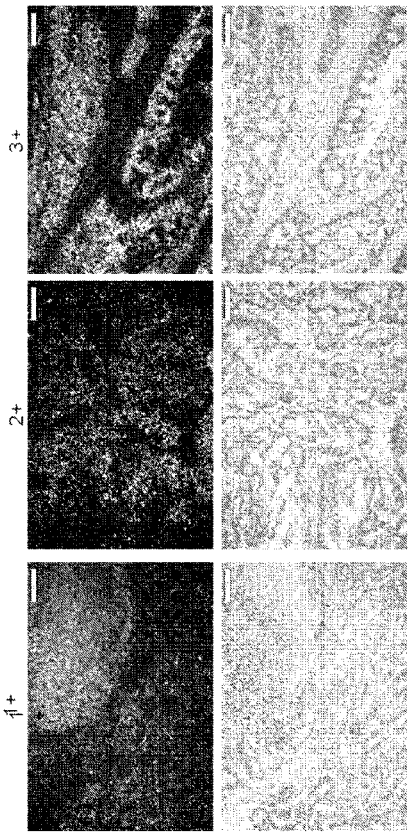
		ＰＳＮＴＫＶ ＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤ ＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡ ＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦ ＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬ ＭＩＳＲＴＰ ＥＶＴＣ ＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰ ＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ Ｖ ＥＶＨＮＡＫＴＫＰ ＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲ ＶＶＳＶＬＴＶ ＬＨＱ ＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣ ＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰ ＩＥ ＫＴＩＳＫＡＫＧ ＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬ ＰＰＳＲＥＥＭＴ ＫＮ ＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧ ＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷ ＥＳＮ ＧＱＰＥＮＮＹ ＫＴＴＰＰＶＬＤＣＤ ＧＳＦＦＬＹＳＫＬ Ｔ ＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮ ＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡ ＬＨＮＨ ＹＴＱＫＳＬ ＳＬＳＰＧＫ
８０	Ｖ２０５Ｃシステイン操作された軽鎖定常領域（Ｉｇκ）	ＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦ ＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧ ＴＡＳＶＶＣ ＬＬＮＮ ＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷ ＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ Ｓ ＱＥＳＶＴＥＱＤＳ ＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴ ＬＴＬＳＫＡＤ ＹＥＫ ＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨ ＱＧＬＳＳＰＣＴＫＳ ＦＮ ＲＧＥＣ
８１	Ａ１１８Ｃシステイン操作された重鎖定常領域（ＩｇＧ１）	ＣＳＴＫＧＰＳＶＦＰ ＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧ ＧＴＡＡＬＧ ＣＬＶＫ ＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ ＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶ Ｈ ＴＦＰＡＶＬＱＳＳ ＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴ ＶＰＳＳＳＬＧ ＴＱＴ ＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳ ＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰ ＫＳ ＣＤＫＴＨＴＣＰ ＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧ ＰＳＶＦＬＦＰＰ ＫＰ ＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰ ＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳ ＨＥＤ ＰＥＶＫＦＮＷ ＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡ ＫＴＫＰＲＥＥＱＹ Ｎ ＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴ ＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫ ＥＹＫＣ ＫＶＳＮＫＡ ＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳ ＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱ ＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥ ＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣ ＬＶＫＧＦＹ ＰＳＤＩ ＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰ ＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶ Ｌ ＤＳＤＧＳＦＦＬＹ ＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷ ＱＱＧＮＶＦＳ ＣＳＶ ＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴ ＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ
８２	Ｓ４００Ｃシステイン操作された重鎖定常領域（ＩｇＧ１）	ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰ ＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧ ＧＴＡＡＬＧ ＣＬＶＫ ＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ ＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶ Ｈ ＴＦＰＡＶＬＱＳＳ ＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴ ＶＰＳＳＳＬＧ ＴＱＴ ＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳ ＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰ ＫＳ ＣＤＫＴＨＴＣＰ ＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧ ＰＳＶＦＬＦＰＰ ＫＰ ＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰ ＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳ ＨＥＤ ＰＥＶＫＦＮＷ ＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡ ＫＴＫＰＲＥＥＱＹ Ｎ ＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴ ＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫ ＥＹＫＣ

		KVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFY PSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV L DCDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFS CSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

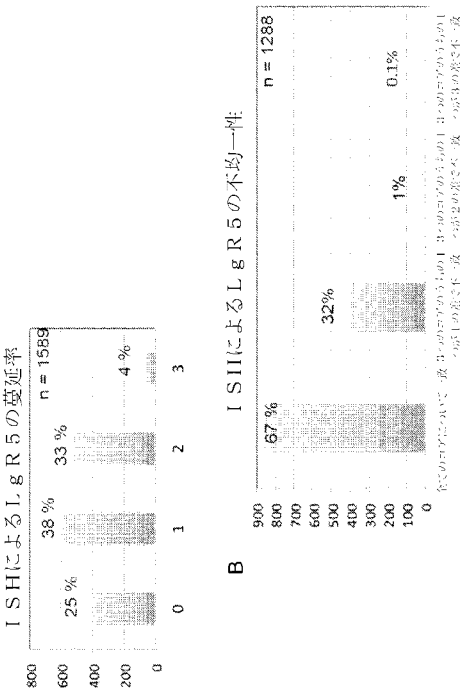
【図１】



【図２】



【図３】



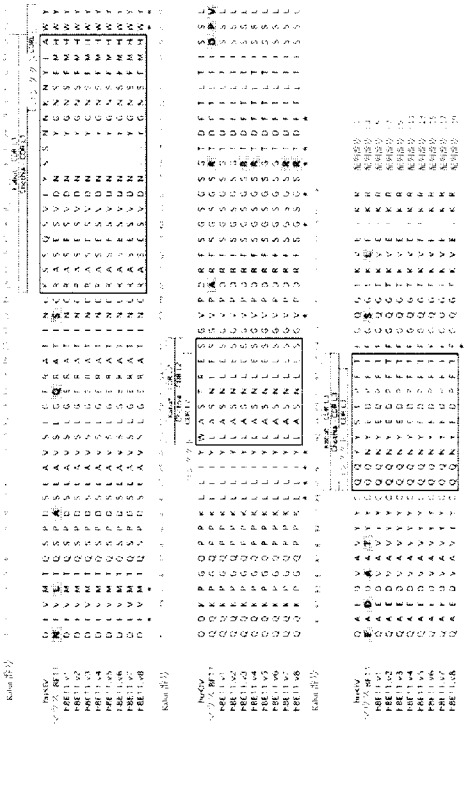
【図４】

抗LgR5モノクローナル抗体

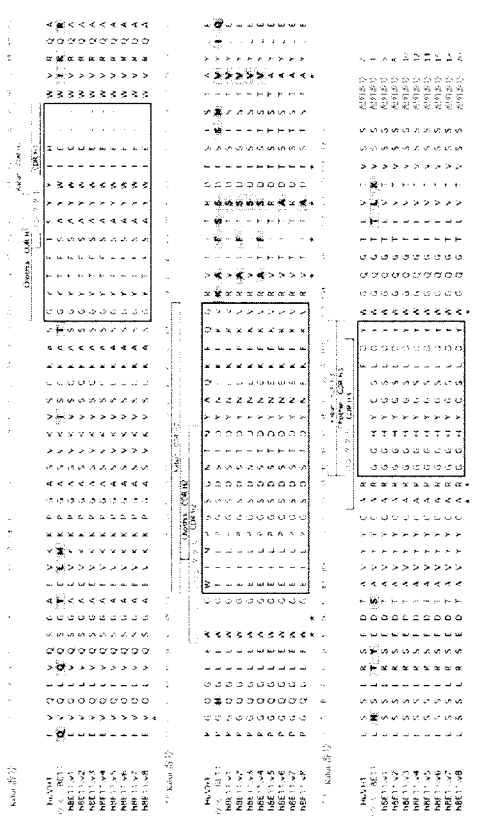
抗体	エピトープ領域	FACS ヒト	FACS カニクイザル	FACS ラット	FACS マウス	IHC	ウェスタンブロット	親和性(Biacore)	親和性(スキャッチャード)
YW353	22-123	+++	+++	陰性	陰性	陰性	弱性	1.6 nM	0.2 nM
ch8E11	22-323	+++	+++	++	+++	陰性	陰性	2.4 nM	0.4 nM (Hu) 0.2 nM (Mu)
hu8E11.v2	22-323	+++	+++	++	+++	陰性	陰性	3.1 nM	0.3-0.7 nM (Hu) 0.6-0.6 nM (Mu) 2.4-2.8 nM (ラット)
2H6	324-423	++	n.d.	n.d.	++	NS	+++	208 nM	n.d.
3G12	324-423	+++	n.d.	n.d.	+	NS	+++	72 nM	n.d.

n. d. = 未決定
NS = 非特異的染色

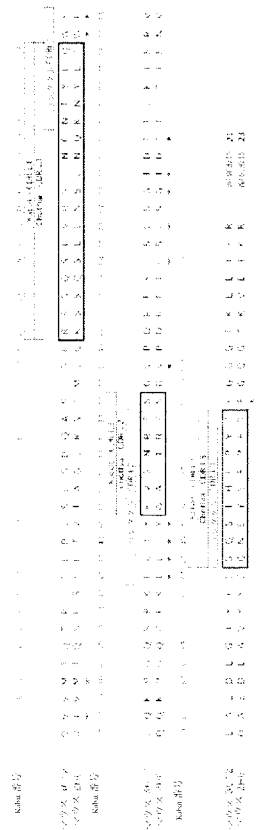
【図５】



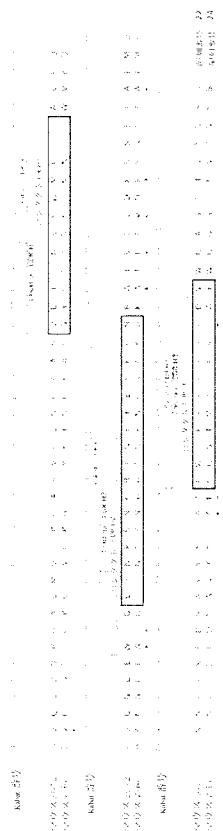
【図６】



【図７】



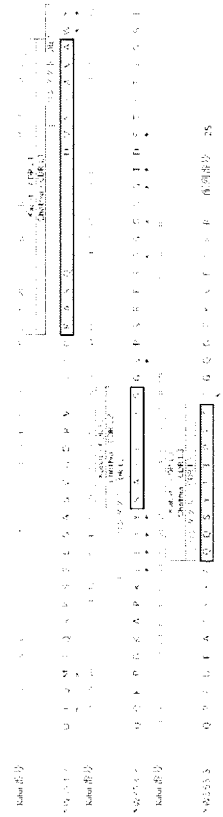
【図８】



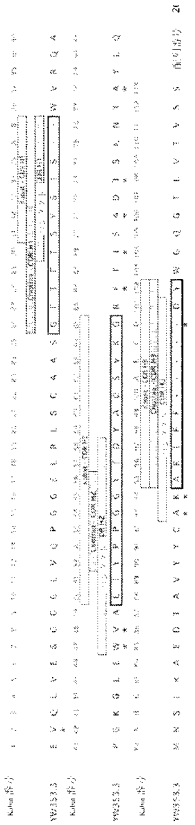
【図９】

	VL	VH	K_{on} ($10^5 M^{-1}S^{-1}$)	K_{off} ($10^{-4}S^{-1}$)	KD(nM)
h8E11.v1	CDR	+ 71S/78V	1.53	7.72	5.05
h8E11.v2	CDR	+ 67A/69F/71S/78V	2.79	8.53	3.10
h8E11.v3	CDR + 68R	CDR + 71S/78V	1.12	5.3	4.73
h8E11.v4	CDR + 68R	CDR + 67A/69F/71S/78V	2.54	9.22	3.63
h8E11.v5	CDR	CDR + 71R/78A	0.65	9.33	14.35
h8E11.v6	CDR	+ 71A/78A	1.43	20.2	14.13
h8E11.v7	CDR + 68R	CDR + 71R/78A	1.17	25.8	22.05
h8E11.v8	CDR + 68R	CDR + 71A/78A	2.42	21.7	8.97
キメラ 8E11	8E11 VL	8E11 VH	2.1	6.4	3.00

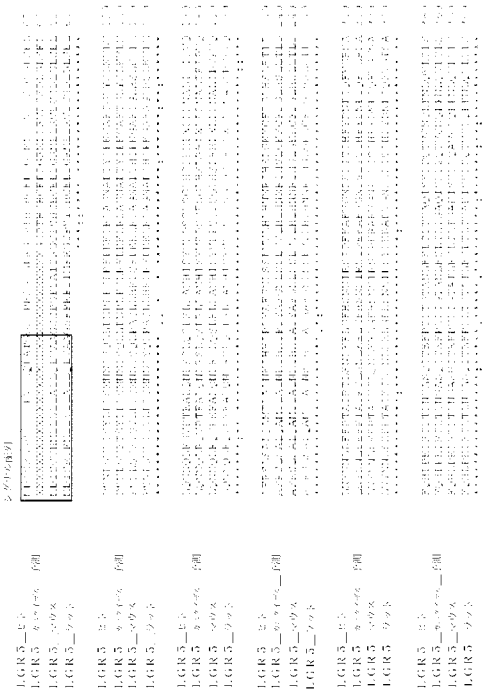
【図１０】



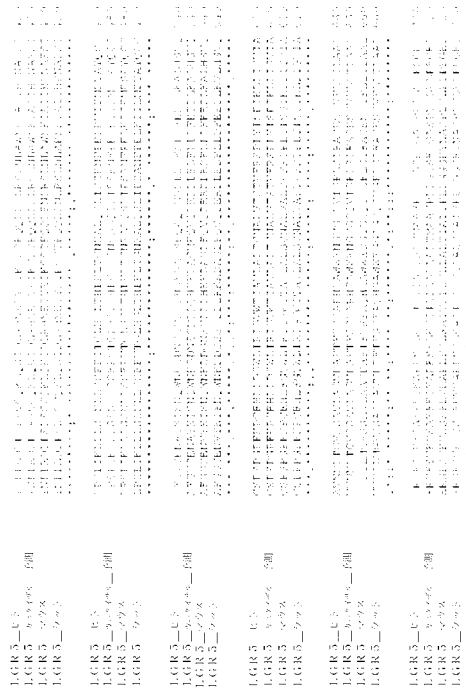
【図１１】



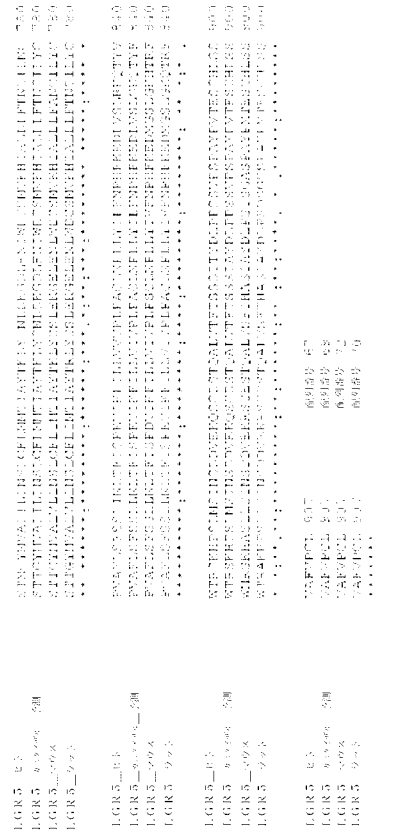
【図１２Ａ】



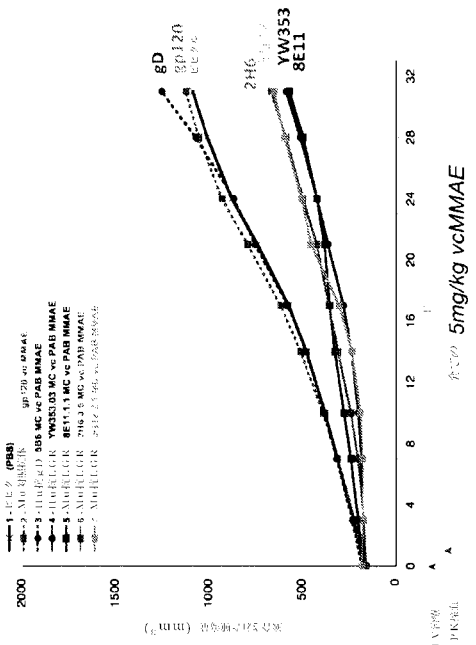
【図１２Ｂ】



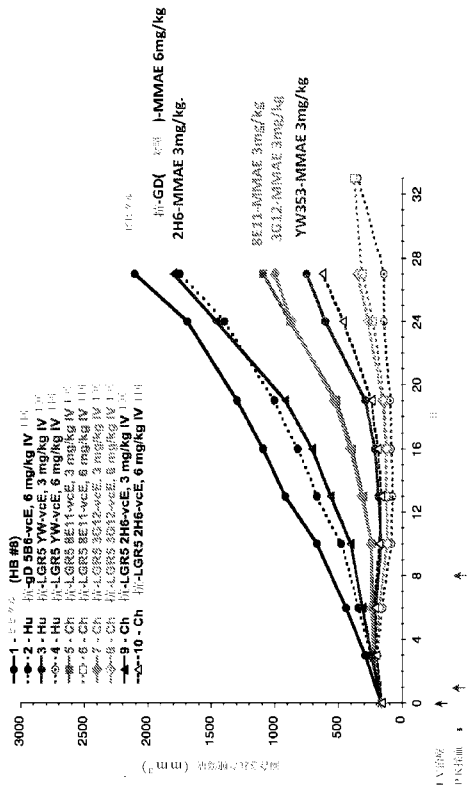
【図１２Ｃ】



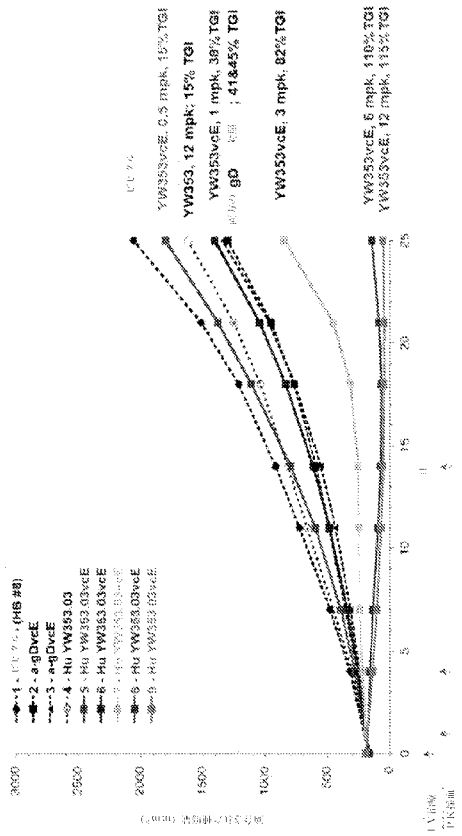
【図１３】



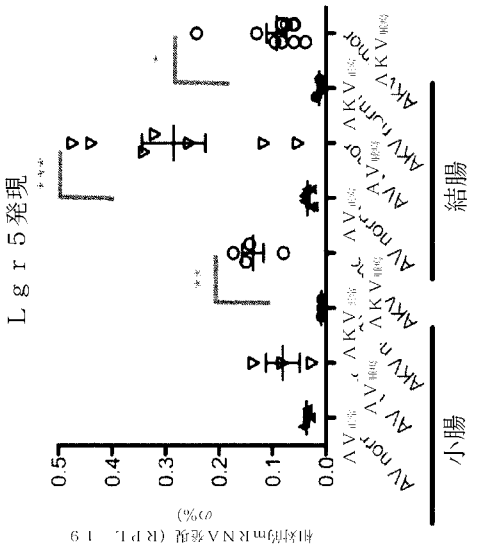
【図１４】



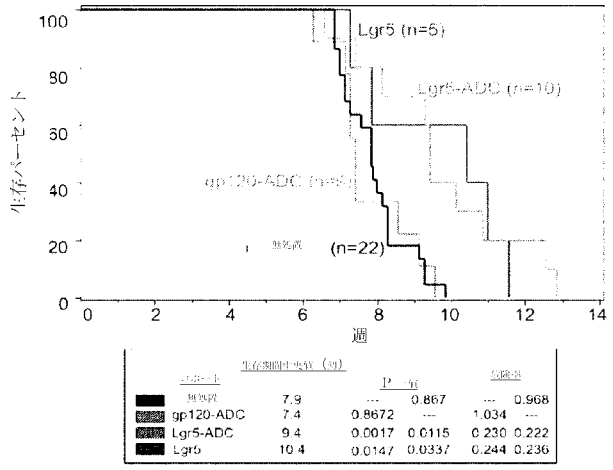
【図１５】



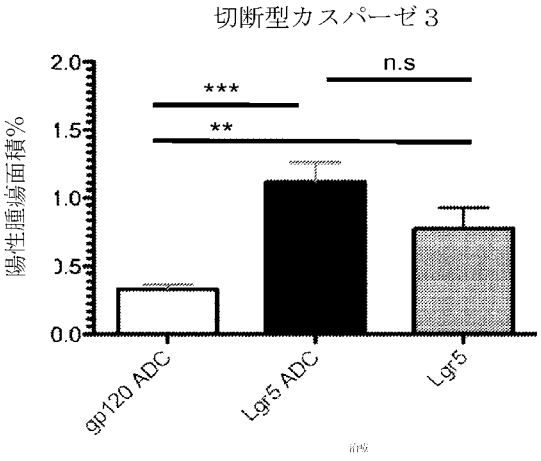
【図１６】



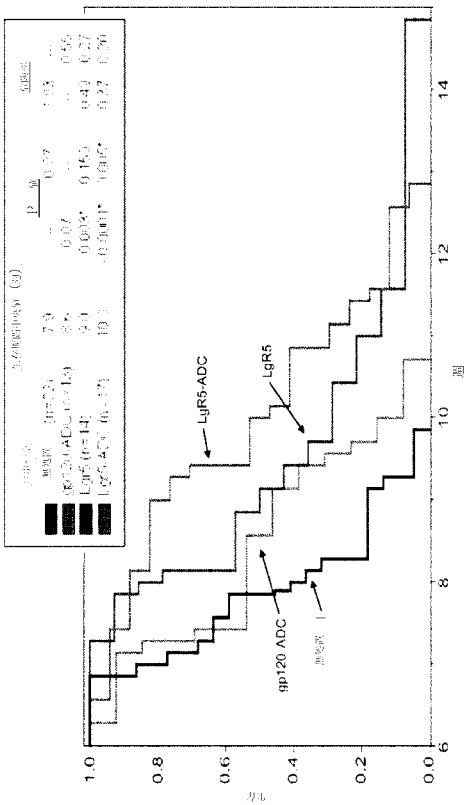
【図１７】



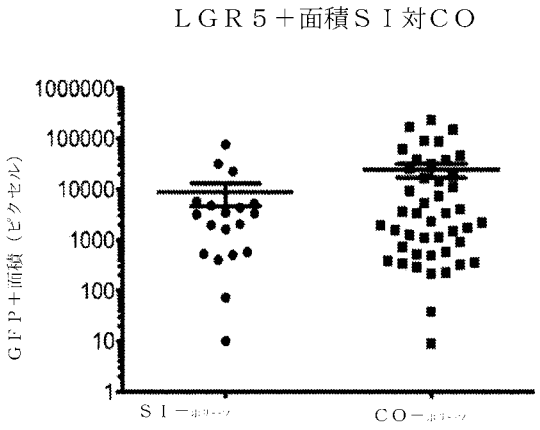
【図１８】



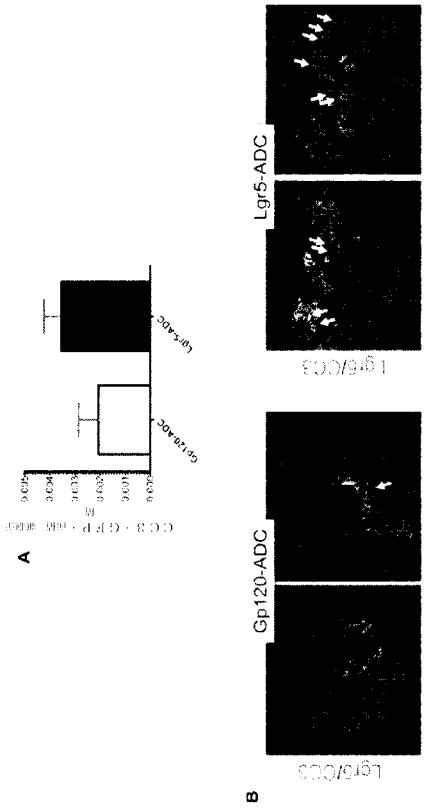
【図１９】



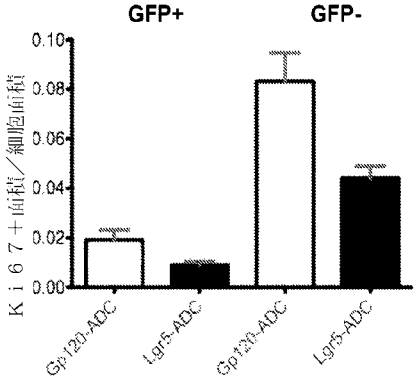
【図２０】



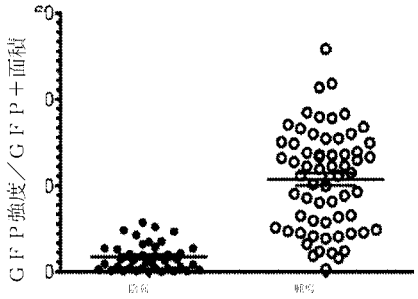
【図２１】



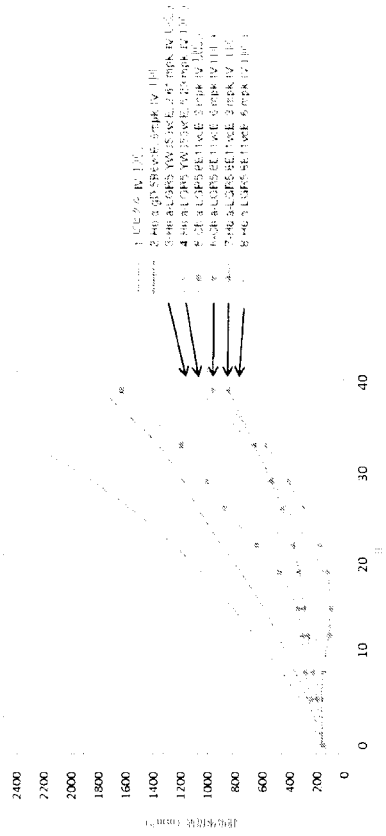
【図２２】



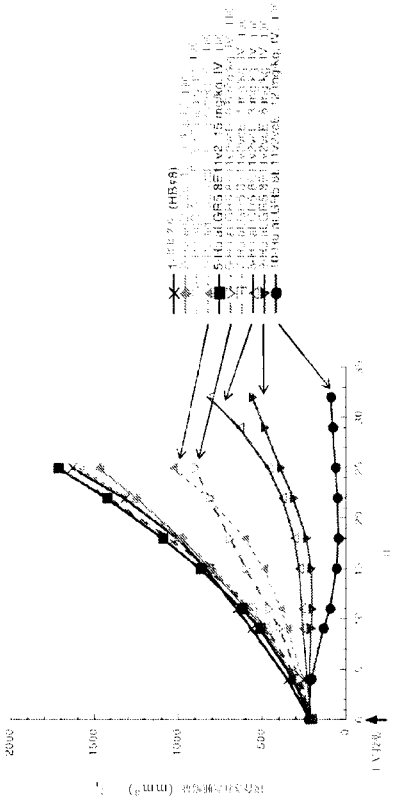
【図２３】



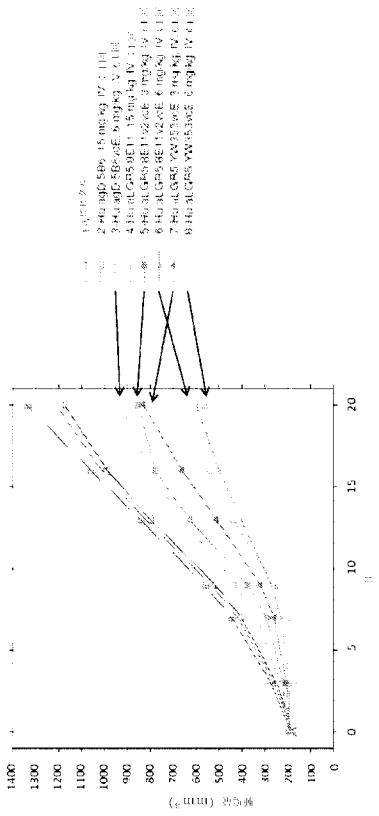
【図２４】



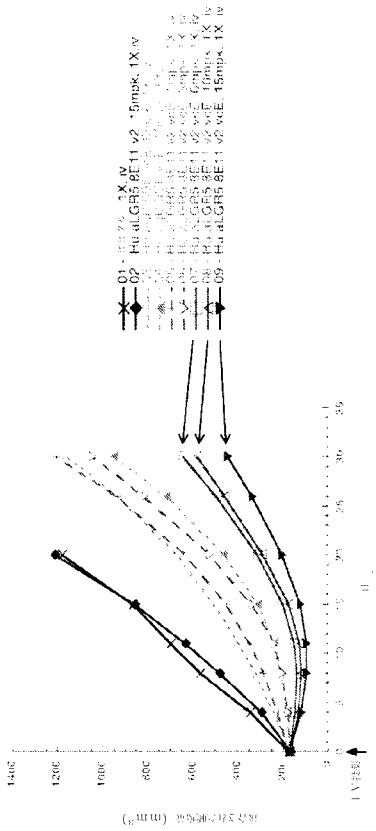
【図２５】



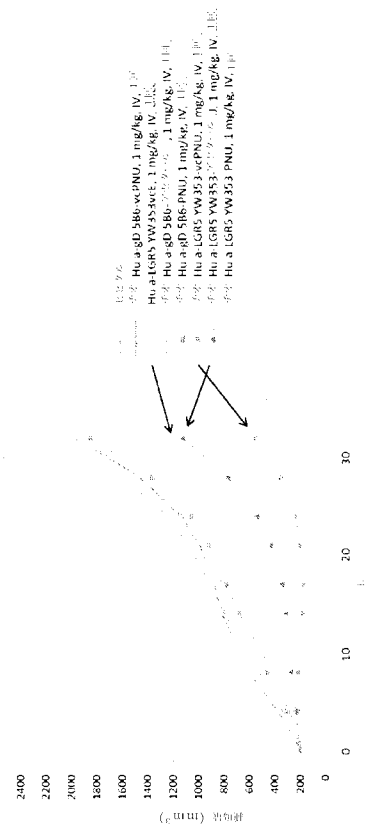
【図２６】



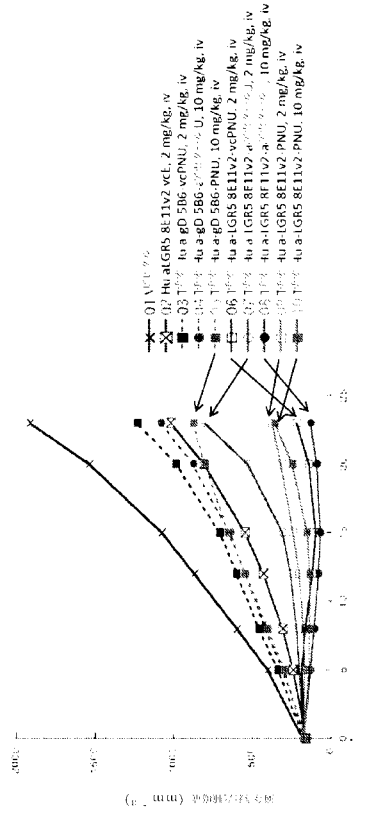
【図２７】



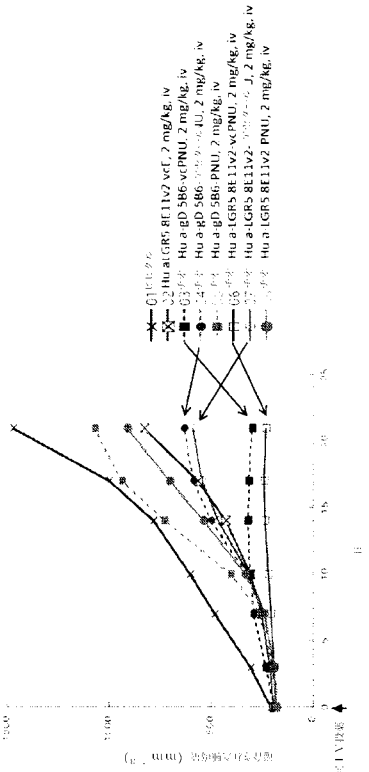
【図２８】



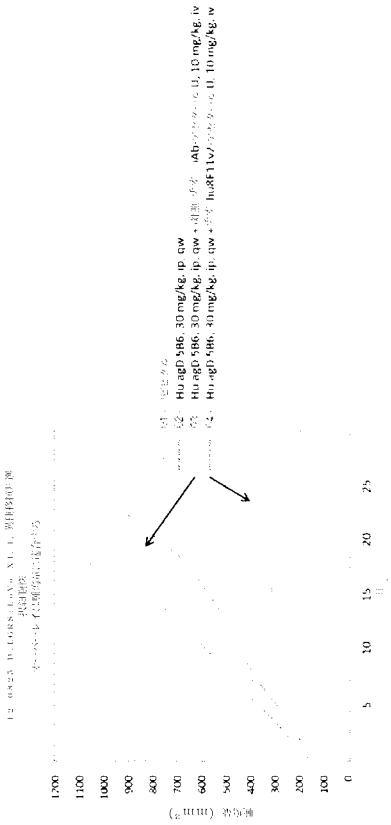
【図２９】



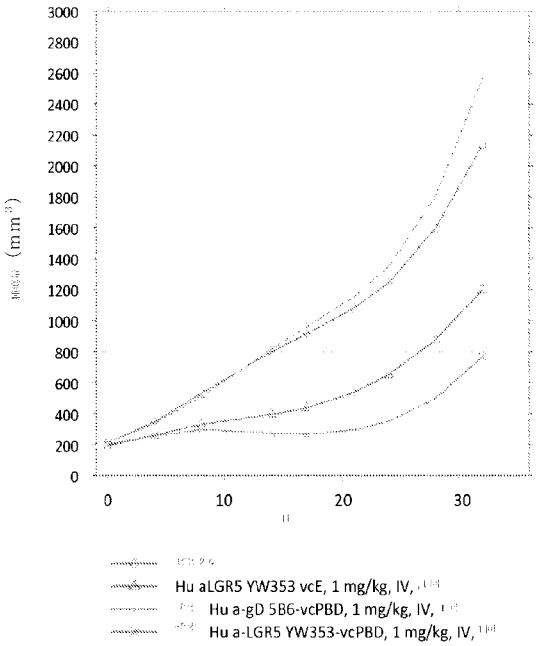
【図３０】



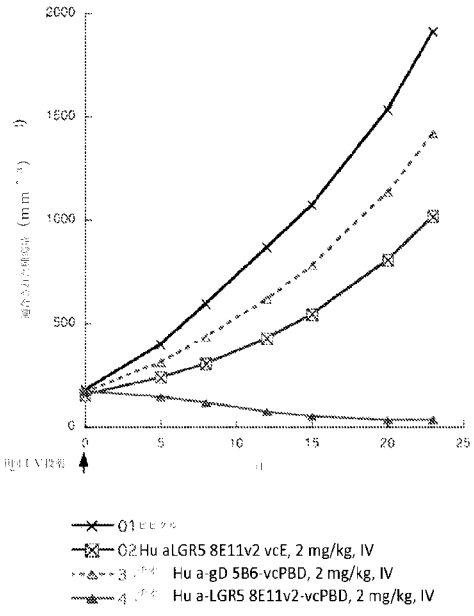
【図３１】



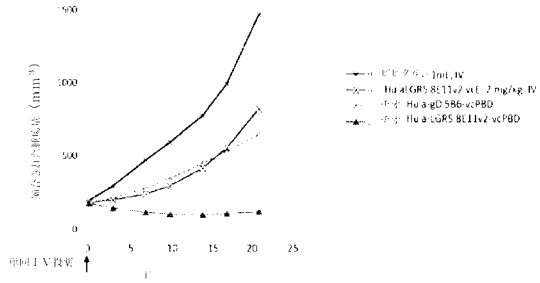
【図３２】



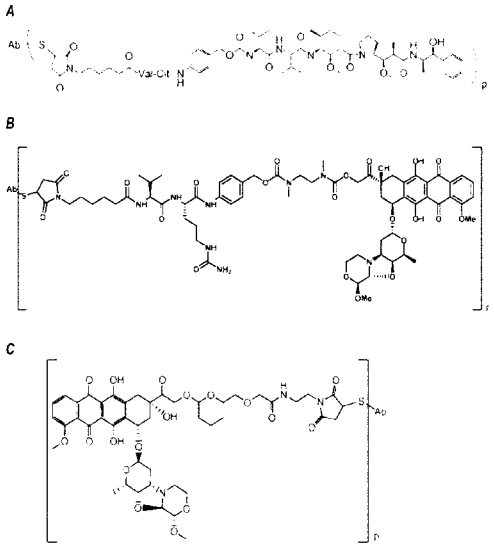
【図３３】



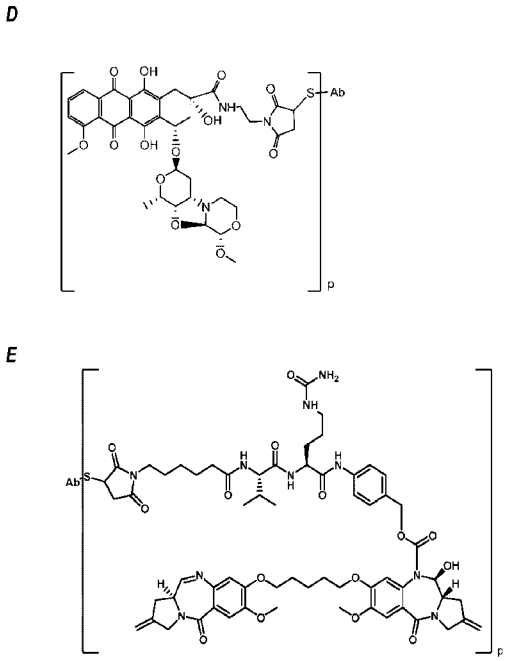
【図３４】



【図３５－１】



【図３５－２】



【配列表】
2015521027000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2013/034629

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61K47/48 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2010/016766 A2 (KONINK NL AKADEMIE VAN WETENSC [NL]; KONINK NL AKADEMIE VAN WETENSC [N) 11 February 2010 (2010-02-11) the whole document ----- -/--	1-59

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
6 August 2013	12/08/2013

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Pérez-Mato, Isabel

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2013/034629

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WIM DE LAU ET AL: "Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling", NATURE: INTERNATIONAL WEEKLY JOURNAL OF SCIENCE, NATURE PUBLISHING GROUP, UNITED KINGDOM , vol. 476, no. 7360 18 August 2011 (2011-08-18), pages 293-297,1, XP002679926, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/NATURE10337 Retrieved from the Internet: URL:http://www.nature.com/nature/journal/v476/n7360/full/nature10337.html [retrieved on 2011-07-04] the whole document	1-59
Y	SASAKI Y ET AL: "Establishment of a novel monoclonal antibody against LGR5", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 394, no. 3, 9 April 2010 (2010-04-09) , pages 498-502, XP002685669, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2010.02.166 [retrieved on 2010-03-01] the whole document	1-59
Y	WO 2009/005809 A2 (ONCOMED PHARM INC [US]; GURNEY AUSTIN [US]) 8 January 2009 (2009-01-08) the whole document	1-59
Y	EP 2 216 344 A1 (FORERUNNER PHARMA RES CO LTD [JP]) 11 August 2010 (2010-08-11) the whole document	1-59
Y	DE 103 39 820 A1 (HINZMANN BERND [DE]; STAUB EIKE [DE]; STEIN ANKE [DE]) 17 March 2005 (2005-03-17) the whole document	1-59
Y	MORITA H ET AL: "Neonatal lethality of LGR5 null mice is associated with ankyloglossia and gastrointestinal distension", MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, vol. 24, no. 22, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 9736-9743, XP002457162, ISSN: 0270-7306, DOI: 10.1128/MCB.24.22.9736-9743.2004 the whole document	1-59
2	-/--	

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2013/034629

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	FRANCESCA WALKER ET AL: "LGR5 Is a Negative Regulator of Tumourigenicity, Antagonizes Wnt Signalling and Regulates Cell Adhesion in Colorectal Cancer Cell Lines", PLOS ONE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US , vol. 6, no. 7 1 July 2011 (2011-07-01), pages e22733.1-e22733.20, XP002679452, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0022733 Retrieved from the Internet: URL:http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0022733 [retrieved on 2011-07-28] the whole document	1-59
Y	STEPHEN C ALLEY ET AL: "Antibody-drug conjugates: targeted drug delivery for cancer", CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY, vol. 14, no. 4, 1 August 2010 (2010-08-01) , pages 529-537, XP055042125, ISSN: 1367-5931, DOI: 10.1016/j.cbpa.2010.06.170 the whole document	20-24, 31-35
Y	IYER U ET AL: "Antibody drug conjugates Trojan horses in the war on cancer", JOURNAL OF PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL METHODS, ELSEVIER, NEW YORK, NY, US, vol. 64, no. 3, 28 July 2011 (2011-07-28), pages 207-212, XP028117525, ISSN: 1056-8719, DOI: 10.1016/J.VASCN.2011.07.005 [retrieved on 2011-08-06] the whole document	20-24, 31-34
Y	RICART A D ET AL: "Technology Insight: Cytotoxic drug immunoconjugates for cancer therapy", NATURE CLINICAL PRACTICE ONCOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, US, vol. 4, no. 4, 1 April 2007 (2007-04-01), pages 245-255, XP009134780, ISSN: 1743-4254, DOI: 10.1038/NCPONC0774 the whole document	20-24,35
Y	US 2011/256157 A1 (HOWARD PHILIP WILSON [GB] ET AL) 20 October 2011 (2011-10-20) cited in the application the whole document	20,21, 25-28,36

-/--

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2013/034629

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011/076287 A1 (COHEN ROBERT L [US] ET AL) 31 March 2011 (2011-03-31) cited in the application the whole document -----	20,21, 29,30,37
Y	US 2005/276812 A1 (EBENS ALLEN J JR [US] ET AL) 15 December 2005 (2005-12-15) cited in the application the whole document -----	20,21, 31,32

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2013/034629

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010016766 A2	11-02-2010	NONE	
WO 2009005809 A2	08-01-2009	AU 2008270972 A1	08-01-2009
		CA 2691378 A1	08-01-2009
		EP 2173379 A2	14-04-2010
		JP 2010532169 A	07-10-2010
		US 2009074782 A1	19-03-2009
		US 2009191205 A1	30-07-2009
		US 2013115206 A1	09-05-2013
		US 2013121993 A1	16-05-2013
		WO 2009005809 A2	08-01-2009
EP 2216344 A1	11-08-2010	AU 2008321840 A1	22-05-2009
		CA 2705509 A1	22-05-2009
		CN 102112492 A	29-06-2011
		EP 2216344 A1	11-08-2010
		US 2011176995 A1	21-07-2011
		WO 2009063970 A1	22-05-2009
DE 10339820 A1	17-03-2005	DE 10339820 A1	17-03-2005
		EP 1602930 A2	07-12-2005
US 2011256157 A1	20-10-2011	AU 2011239507 A1	01-11-2012
		CA 2793890 A1	20-10-2011
		CN 102933236 A	13-02-2013
		CR 20120522 A	13-02-2013
		EA 201290727 A1	30-04-2013
		EP 2528625 A1	05-12-2012
		JP 2013523895 A	17-06-2013
		KR 20130040835 A	24-04-2013
		PE 03422013 A1	20-04-2013
		SG 184859 A1	29-11-2012
		TW 201139443 A	16-11-2011
		US 2011256157 A1	20-10-2011
		US 2013028917 A1	31-01-2013
		WO 2011130598 A1	20-10-2011
US 2011076287 A1	31-03-2011	EP 2240495 A1	20-10-2010
		US 2011076287 A1	31-03-2011
		WO 2009099741 A1	13-08-2009
US 2005276812 A1	15-12-2005	AU 2005249490 A1	15-12-2005
		BR PI0510883 A	26-12-2007
		CA 2567520 A1	15-12-2005
		CN 102973947 A	20-03-2013
		EP 1753463 A2	21-02-2007
		EP 2286844 A2	23-02-2011
		JP 2008501029 A	17-01-2008
		JP 2012036202 A	23-02-2012
		KR 20070037575 A	05-04-2007
		KR 20120064120 A	18-06-2012
		NZ 551180 A	30-10-2009
		NZ 579482 A	25-02-2011
		RU 2006147264 A	20-07-2008
		US 2005276812 A1	15-12-2005
		US 2008171040 A1	17-07-2008
		US 2009202536 A1	13-08-2009
		WO 2005117986 A2	15-12-2005

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2013/034629

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
---	---	---	---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
Ｃ０７Ｋ 16/28	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/28		４Ｃ０８４
Ｃ０７Ｋ 16/46	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/46		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ 39/395	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ	４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ 35/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｋ 45/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｋ 38/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	
Ｃ０７Ｄ 519/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	37/02		
Ｃ０７Ｄ 413/12	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	519/00	３１１	
Ｃ０７Ｄ 413/14	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	413/12		
Ｇ０１Ｎ 33/53	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	413/14		
Ｇ０１Ｎ 33/574	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｄ	
Ｃ１２Ｐ 21/08	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/574	Ａ	
Ｃ０７Ｋ 19/00	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08		
		Ｃ０７Ｋ	19/00		

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＵＮＩＸ
２．ＡＬＩＧＮ

(72)発明者 マオ, ウェイコアン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 ポラキス, ポール
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 ポルソン, アンドリュー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 ヴィジ, ラジェッシュ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 ウー, イェン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 リャン, ウェイ－チーン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA44 CA02 DA02 DA03 EA02 EA04 GA11
4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA91X AA91Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46
4C063 AA01 AA03 AA05 BB08 CC54 DD78 EE01
4C072 MM01 UU01
4C084 AA02 AA19 BA01 BA23 BA32 BA41 BA50 CA59 MA02 NA05
NA15 NA20 ZB261 ZB262
4C085 AA14 AA16 AA25 BB36 CC23 DD62 EE01
4H045 AA11 BA09 BA41 BA51 DA76 EA22 FA74

专利名称(译)	抗lgr5抗体和免疫复合物		
公开(公告)号	JP2015521027A	公开(公告)日	2015-07-27
申请号	JP2015503644	申请日	2013-03-29
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	ホンゴジョアン マオウェイコアン ポラキスポール ポルソンアンドリュー ヴィジラジェッシュ ウーイェン リャンウェイチーン		
发明人	ホンゴ, ジョ-アン マオ, ウェイコアン ポラキス, ポール ポルソン, アンドリュー ヴィジ, ラジェッシュ ウー, イェン リャン, ウェイ-チーン		
IPC分类号	C12N15/09 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/28 C07K16/46 A61K39/395 A61P35/00 A61K45/00 A61K38/00 C07D519/00 C07D413/12 C07D413/14 G01N33/53 G01N33/574 C12P21/08 C07K19/00		
CPC分类号	A61K47/6803 A61K47/6809 A61K47/6817 A61K47/6849 A61K47/6859 A61K47/6863 A61K2039/505 C07K16/28 C07K16/30 C07K16/3046 C07K2317/24 C07K2317/33 C07K2317/73 C07K2317/92 G01N33/6893 A61K47/50		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C07K16/28 C07K16/46 A61K39/395.T A61P35/00 A61K45/00 A61K39/395.N A61K37/02 C07D519/00.311 C07D413/12 C07D413/14 G01N33/53.D G01N33/574.A C12P21/08 C07K19/00		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/CA02 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C063/AA01 4C063/AA03 4C063/AA05 4C063/BB08 4C063/CC54 4C063/DD78 4C063/EE01 4C072/MM01 4C072/UU01 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/BA01 4C084/BA23 4C084/BA32 4C084/BA41 4C084/BA50 4C084/CA59 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA15 4C084/NA20 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/AA25 4C085/BB36 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/BA09 4H045/BA41 4H045/BA51 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/FA74		
优先权	61/618232 2012-03-30 US 61/683048 2012-08-14 US 61/778710 2013-03-13 US		
其他公开文献	JP6404811B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供抗LgR5抗体和免疫缀合物及其使用方法。

(21)出願番号　特願2015-503644 (P2015-503644)
(86)(22)出願日　平成25年3月29日 (2013.3.29)
(85)翻訳文提出日　平成26年11月28日 (2014.11.28)
(86)国際出願番号　PCT/US2013/034629
(87)国際公開番号　WO2013/149159
(87)国際公開日　平成25年10月3日 (2013.10.3)
(31)優先権主張番号　61/618,232
(32)優先日　平成24年3月30日 (2012.3.30)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/683,048
(32)優先日　平成24年8月14日 (2012.8.14)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/778,710
(32)優先日　平成25年3月13日 (2013.3.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　１
(74)代理人　100109726
弁理士　園田　吉隆
(74)代理人　100101199
弁理士　小林　義教
(72)発明者　ホンゴ，　ジョーアン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１

最終頁に続く