

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4776843号
(P4776843)

(45) 発行日 平成23年9月21日(2011.9.21)

(24) 登録日 平成23年7月8日(2011.7.8)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 31/282
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/337
A 6 1 K 31/395 (2006.01)	A 6 1 K 31/395
A 6 1 K 31/475 (2006.01)	A 6 1 K 31/475

請求項の数 28 (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-527762 (P2001-527762)	(73) 特許権者	502116335
(86) (22) 出願日	平成12年9月29日 (2000.9.29)		イムノゲン インコーポレーティッド
(65) 公表番号	特表2003-528034 (P2003-528034A)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
(43) 公表日	平成15年9月24日 (2003.9.24)		4 5 1 ウォルサム, ウィンター ストリ
(86) 国際出願番号	PCT/US2000/026800		ート 8 3 0
(87) 国際公開番号	W02001/024763	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開日	平成13年4月12日 (2001.4.12)		弁理士 清水 初志
審査請求日	平成15年10月15日 (2003.10.15)	(74) 代理人	100119507
審査番号	不服2007-26909 (P2007-26909/J1)		弁理士 刑部 俊
審査請求日	平成19年10月2日 (2007.10.2)	(74) 代理人	100128048
(31) 優先権主張番号	60/157,051		弁理士 新見 浩一
(32) 優先日	平成11年10月1日 (1999.10.1)	(74) 代理人	100129506
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 小林 智彦
		(74) 代理人	100130845
			弁理士 渡邊 伸一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫複合体及び化学療法剤を用いる癌治療用組成物及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体の治療有効量を含む、治療を必要とする患者において癌を治療するための医薬組成物であって、免疫複合体が少なくとも1種の、モノクローナル抗体もしくはその断片に連結されたメイタンシノイド化合物を含み、モノクローナル抗体もしくはその断片は癌細胞により発現される抗原に結合し、化学療法剤はタキサン化合物、エポシロン化合物、白金化合物、エピポドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、またはこれら2種以上の混合物である医薬組成物。

【請求項2】

癌が、乳房、結腸、肺、前立腺、腎臓、膵臓、脳、骨、卵巣、精巣、又はリンパ系器官の癌である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項3】

癌が肺癌である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項4】

肺癌が小細胞肺癌である、請求項3記載の医薬組成物。

【請求項5】

癌が結腸癌である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項6】

メイタンシノイドがDM1である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項7】

モノクローナル抗体又はその断片が、ヒト化されたモノクローナル抗体又はその断片である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 8】

モノクローナル抗体又はその断片が、CD56抗原に結合することが可能である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 9】

モノクローナル抗体又はその断片が、ヒト化N901又はヒト化C242である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 10】

モノクローナル抗体又はその断片が、Fv、Fab、Fab'又はF(ab')₂である、請求項1記載の医薬組成物。

10

【請求項 11】

化学療法剤がタキサン化合物である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 12】

タキサン化合物がパクリタキセル(paclitaxel)又はドセタキセル(docetaxel)である、請求項11記載の医薬組成物。

【請求項 13】

化学療法剤が、タキサン機序を介して作用する化合物である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 14】

20

タキサン機序を介して作用する化合物が、エポシロン化合物である、請求項13記載の医薬組成物。

【請求項 15】

エポシロン化合物が、エポシロンA、エポシロンB、エポシロンC、エポシロンD、エポシロンE又はエポシロンFである、請求項14記載の医薬組成物。

【請求項 16】

化学療法剤が白金化合物である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 17】

白金化合物が、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、又はテトラプラチンである、請求項16記載の医薬組成物。

30

【請求項 18】

化学療法剤が更に、少なくとも1種のエピポドフィロトキシン化合物を含有する、請求項16記載の医薬組成物。

【請求項 19】

エピポドフィロトキシン化合物が、エトポシド又はテニポシドである、請求項18記載の医薬組成物。

【請求項 20】

化学療法剤が、カンプトテシン化合物である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 21】

カンプトテシン化合物が、カンプトテシン、トポテカン、イリノテカン又は9-アミノカンプトテシンである、請求項20記載の医薬組成物。

40

【請求項 22】

化学療法剤が、DNAトポイソメラーゼIを阻害する化合物である、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 23】

免疫複合体が、約100ng/体重kg～約10mg/体重kgの量で週1回投与される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 24】

免疫複合体及び化学療法剤が個別に投与される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 25】

50

免疫複合体及び化学療法剤が、単独の組成物の成分として投与される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項26】

免疫複合体及び化学療法剤が、非経口投与される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項27】

免疫複合体及び化学療法剤が、静脈内投与される、請求項26記載の医薬組成物。

【請求項28】

少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体から成るキットであって、免疫複合体が少なくとも1種の、モノクローナル抗体もしくはその断片に連結されたメイタンシノイド化合物を含み、モノクローナル抗体もしくはその断片は癌細胞により発現される抗原に結合し、化学療法剤はタキサン化合物、エポシロン化合物、白金化合物、エビポドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、またはこれら2種以上の混合物であるキット。

10

【発明の詳細な説明】

【0001】

関連出願

本出願は、1999年10月1日に出願された米国仮特許出願第60/157,051号に優先し請求するものである。

【0002】

発明の分野

20

本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種の化学療法剤の投与が、予想外の癌の優れた治療を提供するという発見を基にしている。本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種の化学療法剤を含有する組成物、並びに少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種の化学療法剤の治療有効量を用いて癌を治療する方法に関する。更に本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種の化学療法剤の治療有効量を用い選択された細胞集団の増殖を変調する方法にも関する。

【0003】

発明の背景

米国において毎年診断された全肺癌症例の20~25%が、小細胞肺癌(SCLC)である。現在の小細胞肺癌の治療法は、手術、放射線療法、並びにパクリタキセル(paclitaxel)又はエト

30

ポシド及びシスプラチンの併用などの化学療法である。これらの治療選択肢にもかかわらず、診断時に転移性疾患の臨床証拠を有する患者における5年生存率はわずかに1~5%である。グリッソン(Glisson)ら、Journal of Clinical Oncology、17(8):2309-2315(1999年8月)。

前臨床試験は、更に小細胞肺癌が、モノクローナル抗体及びメイタンシノイドを含有する免疫複合体によって治療することができることを明らかにしている。リウ(Liu)ら、「癌研究のための米国合同紀要(Proceedings of the American Association for Cancer Research)」、38:29(要約190)(1997)。この試験において、メイタンシノイドはDM1であり、かつモノクローナル抗体はヒト化されたN901であった。ヒト化モノクローナル抗体N901は、実質的に全ての小細胞肺癌上で発現されるCD56を標的としている。

40

【0004】

癌治療の新規かつより効果的な方法が、当技術分野において必要とされている。本発明は、これらに加え、他の重要な目的を目指している。

【0005】

発明の概要

本発明は、少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体の使用が、癌治療において予想外に優れた結果を生じるという発見を基にしている。

【0006】

本発明は、少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体の治療有効量を患

50

者に投与することにより、それが必要な患者において癌を治療する方法を説明している。この化学療法剤は、例えば、タキサン化合物、タキサン機序を介して作用する化合物、白金化合物、エピポドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、又はそれらのいずれかの組合せを含む当技術分野においていずれか公知のものであることができる。この免疫複合体は、細胞結合物質及び選択された細胞集団を殺傷する少なくとも1種の治療物質を含有することができる。この細胞結合物質は、モノクローナル抗体又はそれらの断片であることが好ましく、かつ選択された細胞集団を殺傷する治療物質は、例えばメイタンシノイド、ビンカ (Vinca) アルカロイド、ドラスタチン又はクリプトフィシンのような有糸分裂阻害剤が好ましい。特に好ましい態様において、この免疫複合体は、メイタンシノイドDM1及びヒト化N901モノクローナル抗体を含む。この化学療法剤及び免疫複合体は、個別に又は同一組成物の成分として投与することができる。

10

【0008】

本発明は更に、少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体を治療有効量投与することにより、癌細胞のような選択された細胞集団の増殖を変調する方法を説明している。この化学療法剤は、例えば、タキサン化合物、タキサン機序を介して作用する化合物、白金化合物、エピポドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、又はそれらのいずれかの組合せを含む当技術分野においていずれか公知のものであることができる。免疫複合体は、細胞結合物質及び選択された細胞集団の殺傷のための少なくとも1種の治療的物質を含有することができる。細胞結合物質は、好ましくはモノクローナル抗体又はそれらの断片であり、かつ選択された細胞集団の殺傷のための治療的物質は、好ましくは有糸分裂阻害剤、例えばメイタンシノイド、ビンカアルカロイド、ドラスタチン、又はクリプトフィシンである。特に好ましい態様において、免疫複合体は、メイタンシノイドDM1及びヒト化N901モノクローナル抗体を含有する。この化学療法剤及び免疫複合体は、個別に又は同一組成物の成分として投与することができる。

20

【0009】

本発明は更に、少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体を含有する組成物にも関する。この化学療法剤は、例えば、タキサン化合物、タキサン機序を介して作用する化合物、白金化合物、エピポドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、又はそれらのいずれかの組合せを含む当技術分野においていずれか公知のものであることができる。免疫複合体は、細胞結合物質及び選択された細胞集団の殺傷のための少なくとも1種の治療的物質を含有することができる。細胞結合物質は、好ましくはモノクローナル抗体又はそれらの断片であり、かつ選択された細胞集団の殺傷のための治療的物質は、好ましくは有糸分裂阻害剤、例えばメイタンシノイド、ビンカアルカロイド、ドラスタチン、又はクリプトフィシンである。特に好ましい態様において、免疫複合体は、メイタンシノイドDM1及びヒト化N901モノクローナル抗体を含有する。この組成物は、薬学的に許容できる担体、賦形剤又は希釈剤を含有することができる。

30

【0010】

本明細書において、これらの及び他の本発明の局面を詳細に説明する。

【0011】

発明の詳細な説明

40

本発明は、少なくとも1種の化学療法剤及び少なくとも1種の免疫複合体の投与が、癌の治療において優れた結果をもたらすという予想外の発見を基にしている。適当な化学療法剤及び免疫複合体が本明細書に記されている。

【0012】

本発明の免疫複合体は、細胞結合物質に連結された選択された細胞集団を殺傷するための少なくとも1種の治療的物質を含有している。選択された細胞集団を殺傷するための治療的物質は、好ましくは有糸分裂阻害剤である。当技術分野において公知の有糸分裂阻害剤は、チューブリン重合を阻害し、その結果微小管を形成を阻害することにより、細胞を殺傷する。例えば、メイタンシノイド、ビンカアルカロイド、ドラスタチン、クリプトフィシン及びノ又はチューブリン重合を阻害することにより細胞を殺傷するいずれか他の物質

50

を含む、当技術分野において公知の有糸分裂阻害剤のいずれかを、本発明において使用することができる。好ましい有糸分裂阻害剤は、メイタンシノイドである。

【0013】

細胞結合物質に連結されることが可能である修飾されたメイタンシノイドを生成するために、本発明において使用することができるメイタンシノイドは当技術分野において周知であり、かつ公知の方法により天然の供給源から単離されるかもしくは公知の方法に従い合成により調製され得る。好ましいメイタンシノイドは、例えば米国特許第5,208,020号に開示されており、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【0014】

適当なメイタンシノイドは、メイタンシノール及びメイタンシノール類似体を含む。適当なメイタンシノール類似体の例は、修飾された芳香環を有するもの及び他の位置に修飾を有するものを含む。修飾された芳香環を有するメイタンシノールの適当な類似体の具体例は、以下を含む：C-19-デクロロ(米国特許第4,256,746号)(アンサミトシン(ansamitocin)P-2のLAH還元により生成)；C-20-ヒドロキシ(又はC-20-デメチル)+/-C-19-デクロロ(米国特許第4,361,650号及び第4,307,016号)(ストレプトマイセス又はアクチノミセスの脱メチル化もしくはLAHを用いる脱塩素化により生成)；及び、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)(塩化アシルを用いるアシル化により生成)。

【0015】

他の位置に修飾を有するメイタンシノールの適当な類似体の具体例は、以下を含む：C-9-SH(米国特許第4,424,219号)(メイタンシノールの H_2S 又は P_2S_5 との反応により生成)；C-14-アルコキシメチル(デメトキシ/CH₂OR)(米国特許第4,331,598号)；C-14-ヒドロキシメチル又はアシルオキシメチル(CH₂OH又はCH₂OAc)(米国特許第4,450,254号)(ノカルジア(Nocardia)から調製)；C-15-ヒドロキシ/アシルオキシ(米国特許第4,364,866号)(ストレプトマイセスによるメイタンシノールの転化により生成)；C-15-メトキシ(米国特許第4,313,946号及び第4,315,929号)(トレウィアヌドロフローラ(Trewia nudiflora)より単離)；C-18-N-デメチル(米国特許第4,362,663号及び第4,322,348号)(ストレプトマイセスによるメイタンシノールの脱メチル化により生成)；及び、4,5-デオキシ(米国特許第4,371,533号)(メイタンシノールの三塩化チタン/LAH還元により生成)。

【0016】

メイタンシノイドを細胞結合物質に連結するためには、メイタンシノイドは修飾されなければならない、かつ連結基を使用することができる。適当な連結基が当技術分野において公知であり、例えば、ジスルフィド基、チオエーテル基、酸に不安定な基、光に不安定な基、ペプチダーゼに不安定な基及びエステラーゼに不安定な基を含む。ジスルフィド基及びチオエーテル基が好ましい。

【0017】

この連結基は、従来の方法によりメイタンシノイドに共有結合している化学基の一部である。好ましい態様において、この化学基は、エステル結合を介して、メイタンシノイドに共有結合することができる。

【0018】

メイタンシノイド上の多くの位置が、連結の種類に応じた連結位置として有用である。例えば、エステル連結を形成するためには、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、ヒドロキシで修飾されたC-15位、及びヒドロキシ基を有するC-20位が全て有用であると予想される。C-3位が好ましく、かつメイタンシノールのC-3位が特に好ましい。同じくメイタンシノール又はその類似体のN-メチル-アラニン含有C-3エステル及びN-メチル-システイン含有C-3エステルも好ましい。

【0019】

連結基を有するメイタンシノールのエステルの合成は、米国特許第5,208,020号に開示されている。連結基を有するメイタンシノールのエステルの合成はチオール及びジスルフィド連結基に関して本明細書において記されているが、当業者は、他のメイタンシノイドで

10

20

30

40

50

できるように、本発明において他の連結基も使用することができることを理解するであろう。

【0020】

メイトンシノイド誘導体の合成は、図1、2、3、4a及び4bを参照し説明されているが、ここではジスルフィド含有メイトンシノイドエステルは、メイトンシノール1bの新たに生成したジスルフィド基を含有するN-メチル-L-アラニン又はN-メチル-L-システイン誘導体との縮合により生成される。

【0021】

様々な長さの鎖を有する α -メルカプト-カルボン酸は、メチルメタンチオスルホネート又はジフェニルスルフィド及び環置換されたジフェニルジスルフィドのようなアリールジスルフィド並びに2,2-ジチオピリジンのような複素環式ジスルフィドと反応することにより、それらは各々、例えば3a-3dのように(式中、 $n=1\sim 10$ 、分枝した及び環式脂肪族を含む)などのメチル-ジチオ誘導体、又は例えば4a-4bのようなアリール-ジチオ誘導体に転化することができる。カルボン酸は活性化され、かつその後N-メチル-L-アラニンと反応され、例えば5a-5fのような、メイトンシノール1bとの縮合のために望ましいカルボン酸化合物を生成する。

【0022】

メイトンシノール1b又は類似体のカルボン酸5a-5fによるエステル化は、ジスルフィド含有メイトンシノイド6a-6fを生じる。ジチオスレイトールによる6a-6fのジスルフィド基の切断は、チオール含有メイトンシノイド7a-7cを生成し、これはジスルフィド又はチオエーテル連結を介して細胞結合物質に容易に連結される。N-メチル-L-アラニンは、文献(Fuら、J. Amer. Chem. Soc.、75:1953)に説明されたように調製するか；もしくは、市販されている(シグマ ケミカルズ (Sigma Chemical) 社)。

【0023】

別の態様において、N-メチル-システイン又はN-メチルホモシステインは、各々ジスルフィド誘導体8(各々、 $n=1$ 及び2)に転化され、その後アシル化され、所望のカルボン酸9(各々、 $n=1$ 及び2)が生じる。次にメイトンシノールは、9($n=1$)でエステル化され、ジスルフィド含有エステル10を生成する。7bについて説明されたようなジチオスレイトールによる10aの還元は、細胞結合物質に複合することができるチオール含有メイトンシノイド11を生成する。N-メチル-システインは、アンドヘイム (Undheim) ら、Acta Chem. Scand.、23:3129-3133(1970)に記されたように生成することができる。

【0024】

より詳細に述べると、メイトンシノール1bは、水素化アルミニウムリチウムなどにより還元されるメイトンシン1a又はメイトンシノールの他のエステルに由来している。(Kupchanら、J. Med. Chem.、21:31-37(1978)；米国特許第4,360,462号)。微生物ノカルジアからメイトンシノールを単離することも可能である(米国特許第4,151,042号)。その後メイトンシノールは、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)及び触媒量の塩化亜鉛のような適当な物質を用い、様々なエステル誘導体6a~6f及び10に転化される(米国特許第4,137,230号及び第4,260,609号；Kawaiら、Chem. Pharm. Bull.、32:3441-3951(1984))。D-アミノアシル側鎖及びL-アミノアシル側鎖を有する2種のジアステレオマー生成物を生じる。これらのジアステレオマーメイトンシノイドエステルは、シリカゲル上の分取TLCにより容易に分離することができる。例えばAnaltech GFプレート(1000 μm)を用いかつクロロホルムを溶媒とする6%メタノールで発色し、明瞭なバンドを得て：望ましいバンドを、プレートから採取し(scrap)、かつ前述の生成物を酢酸エチルで抽出する(Kupchan、J. Med. Chem.、21:31-37(1978)及び米国特許第4,360,462号)。

【0025】

ジスルフィド含有メイトンシノイドの対応するメルカプト-メイトンシノイド7a、7b、7c及び11への還元は、ジチオスレイトール(DTT)による処理及びWatersラジアルパックC-18カラムを用いるHPLCによる精製及び H_2O を溶媒とするアセトニトリルの55%~80%の直線勾配による流速1.5ml/分での10分間かけた溶離により達成される。

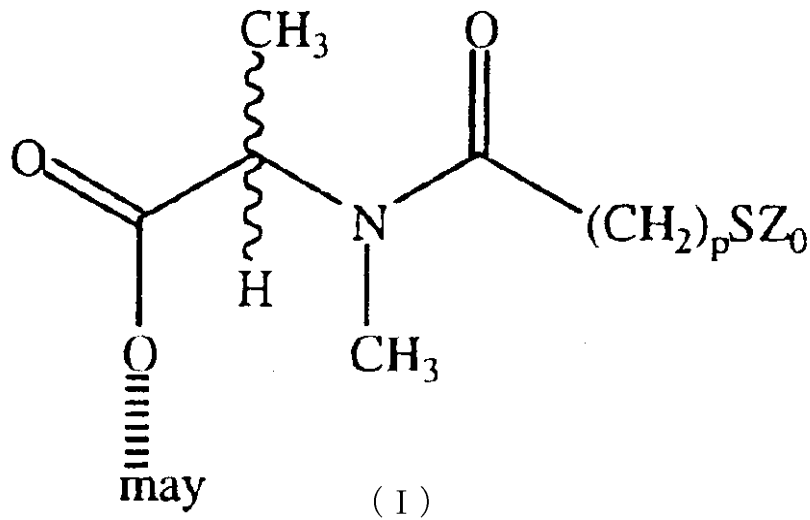
【0026】

ジスルフィド含有メイタンシノイドエステルの類似体生成のための出発材料としてメイタンシノール類似体を使用される場合、これらの類似体は、N-メチル-L-アラニン誘導体又はN-メチル-L-システイン誘導体との反応の前に生成される。

【0027】

本発明において有用なN-メチル-L-アラニン含有メイタンシノイド誘導体の一例は、下記式(I)で表される：

【化1】



10

20

(式中、 Z_0 は、H又はSRを示し、ここでRは、メチル、直鎖アルキル、分枝鎖アルキル、環式アルキル、単純もしくは置換されたアリール又は複素環式基を表し；

p は、1~10の整数を表し；及び

「may」は、メイタンシノイドを表す。)

【0028】

好ましい式(I)の化合物の態様において、 Z_0 はSRを表し、Rはメチルを表し、及び p は整数2

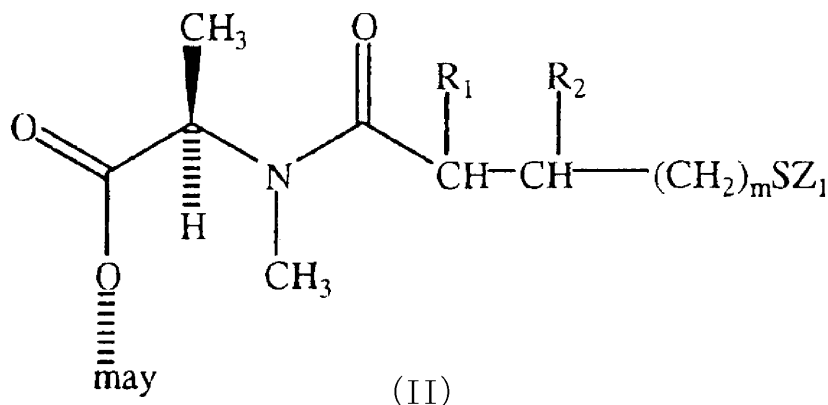
30

を表す。

【0029】

本発明において有用なN-メチル-L-アラニン含有メイタンシノイド誘導体の別の例は、下記式(II)で表される：

【化2】



40

(式中、 R_1 及び R_2 は、同じ又は異なることができ、H、 CH_3 又は CH_2CH_3 を表し；

Z_1 は、H又は SR_3 を表し、ここで R_3 は、メチル、直鎖アルキル、分枝鎖アルキル、環式アルキル、単純もしくは置換されたアリール又は複素環式基を表し；

m は、0、1、2又は3を表し；及び

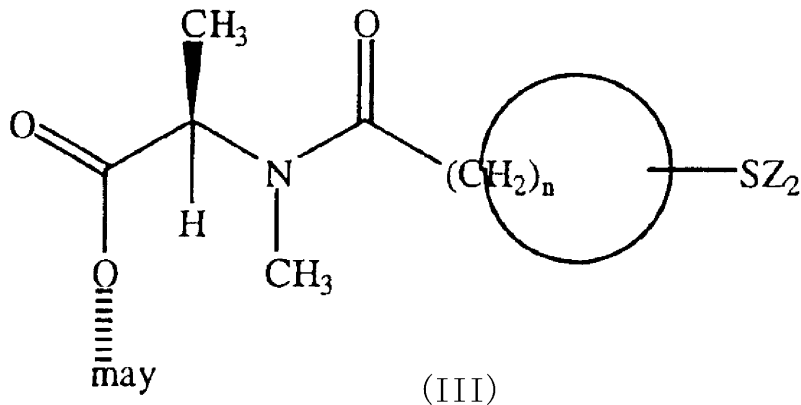
50

「may」はメイタンシノイドを表す。)

【0030】

本発明において有用なN-メチル-アラニン含有メイタンシノイド誘導体の別の例は、下記式(III)で表される：

【化3】



10

(式中、 Z_2 は、H又は SR_4 を表し、ここで R_4 は、メチル、直鎖アルキル、分枝鎖アルキル、環式アルキル、単純もしくは置換されたアリール又は複素環式基を表し；

n は、3~8の整数を表し；及び

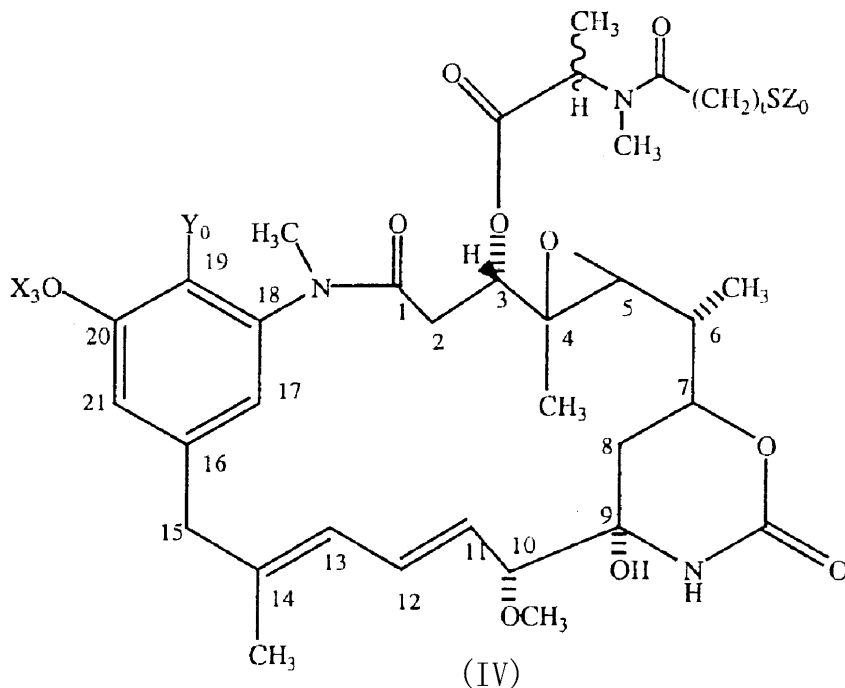
「may」はメイタンシノイドを表す。)

20

【0031】

本発明において有用なN-メチル-L-アラニン含有メイタンシノイド誘導体の更に別の例は、下記式(IV)で表される：

【化4】



30

(式中、 Z_0 は、H又は SR を示し、ここで R は、メチル、直鎖アルキル、分枝鎖アルキル、環式アルキル、単純もしくは置換されたアリール又は複素環式基を表し；

t は、1、2又は3を表し；

Y_0 は、Cl又はHを表し；及び

X_3 は、H又は CH_3 を表す。)

40

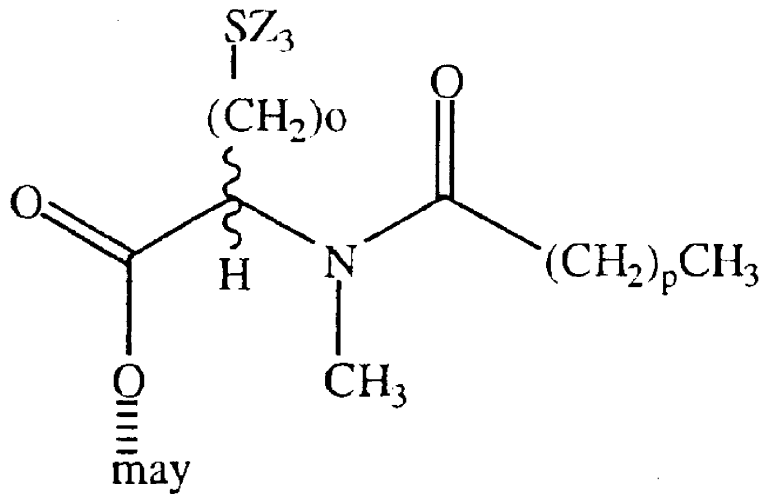
【0032】

本発明において有用なN-メチル-システイン含有メイタンシノイド誘導体の具体例は、下

50

記式(V)で表される：

【化5】



10

(V)

(式中、 Z_3 は、H又は SR_5 を示し、ここで R_5 は、メチル、直鎖アルキル、分枝鎖アルキル、環式アルキル、単純もしくは置換されたアリール又は複素環式基を表し；

20

o は、1、2又は3を表し；

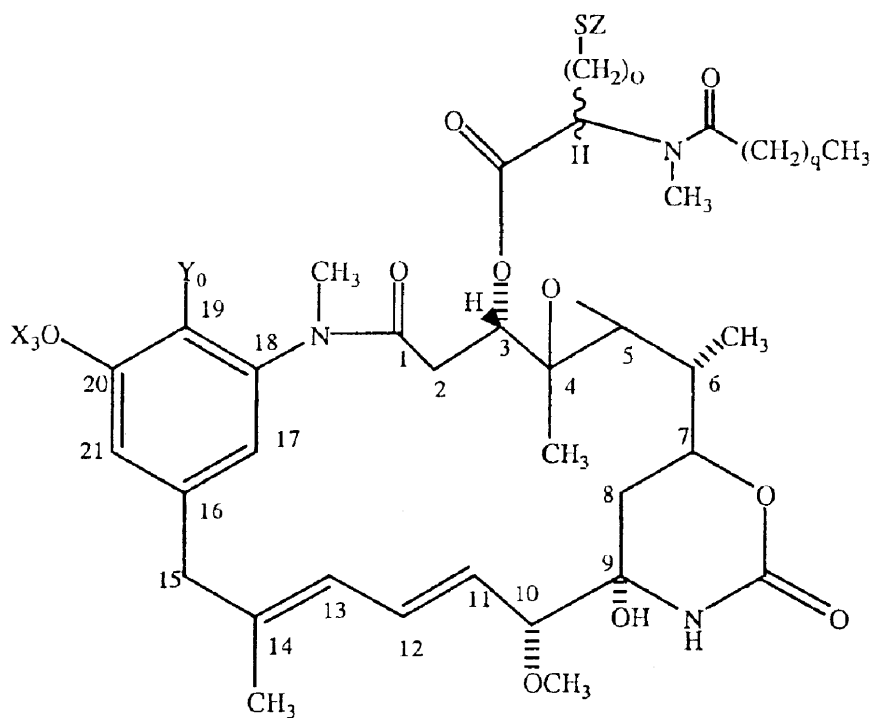
p は、0又は1～10の整数を表し；及び

「may」は、メイタンシノイドを表す。)

【0033】

本発明において有用なN-メチル-システイン含有メイタンシノイド誘導体の別の具体例は、下記式(VI)で表される：

【化6】



30

40

(VI)

50

(式中、 Z_3 は、H又は SR_5 を示し、ここで R_5 は、メチル、直鎖アルキル、分枝鎖アルキル、環式アルキル、単純もしくは置換されたアリール又は複素環式基を表し；

o は、1、2又は3を表し；

q は、0又は1～10の整数を表し；

Y_0 は、Cl又はHを表し；及び

X_3 は、H又は CH_3 を表す。)

【0034】

直鎖アルキルの例は、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、及びヘキシルを含む。分枝鎖アルキルの例は、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、イソペンチル及び1-エチル-プロピルを含む。環式アルキルの例は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、及びシクロヘキシルを含む。単純なアリールの例は、フェニル、及びナフチルを含む。置換されたアリールの例は、アルキル基による、Cl、Br、Fのようなハロゲン、ニトロ基、アミノ基、スルホン酸基、カルボン酸基、ヒドロキシ基およびアルコキシ基により置換された上記のもののようなアリールを含む。複素環式基の例は、ヘテロ原子がO、N及びSから選択され、かつピロリル、ピリジル、フリル、及びチオフェンを含むような化合物である。

10

【0035】

細胞結合物質に連結することが可能な修飾されたピンカアルカロイドを生成するために、本発明で使用することができるピンカアルカロイドは、当技術分野において周知である。このようなピンカアルカロイドは、例えば、「腫瘍学における癌の仕組みと実際 (Cancer Principles and Practice in Oncology)」、第4版、デヴィータ (DeVita) ら編集、J.B. Lippincott社、フィラデルフィア、PA(1993)及びモーリス (Morris) ら、J. Clin. Oncol.、16:1094-1098(1998)に記されたものを含み、これらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。ピンカアルカロイドの例は、ピンクリスチン、ピンプラスチン、ピンデシン、ナベルピン(ピノレルピン)などを含む。本発明において使用することができる他のピンカアルカロイドは、例えば米国特許第

20

5,369,111,

4,952,408, 5,395,610, 4,522,750, 5,888,537, 5,891,724, 5,795,589, 4,172,077, 5,714,163,

5,436,243, 3,932,417, 5,869,620, 5,795,575, 5,780,446, 5,676,978, 5,604,237, 5,171,217,

4,831,038, 4,828,831, 4,765,972, 4,375,432, 4,309,415, 5,939,455, 5,874,402, 5,767,260,

5,763,733, 5,728,687, 5,716,928, 5,660,827, 5,541,232, 5,346,897, 5,220,016, 5,208,238,

5,190,949, 4,479,957, 4,160,767, 4,159,269, 4,096,148, RE 30,561, RE 30,560, 5,935,955,

5,922,340, 5,886,025, 5,866,679, 5,863,538, 5,855,866, 5,817,321, 5,783,178, 5,776,427,

5,767,110, 5,753,507, 5,723,625, 5,698,178, 5,686,578, 5,667,764, 5,654,287, 5,646,124,

5,635,515, 5,635,218, 5,606,017, 5,597,830, 5,595,756, 5,583,052, 5,561,136, 5,547,667,

5,543,152, 5,529,076, 5,491,285, 5,482,858, 5,455,161, 5,430,026, 5,403,574, 5,399,363,

5,397,784, 5,387,578, 5,364,843, 5,300,282, 5,182,368, 5,162,115, 5,147,294, 5,108,987,

5,100,881, 5,047,528, 5,030,620, 5,004,593, 4,946,833, 4,931,468, 4,923,876, 4,801,688,

4,737,586, 4,667,030, 4,617,305, 4,578,351, 4,476,026, 4,399,069, 4,279,817, 4,208,414,

4,199,504, 4,070,358, 4,029,663, 3,965,254, 3,954,773, 3,944,554, 3,887,565, 6,120,800,

6,071,947, 6,071,930, 6,069,146, 6,063,911, 5,994,367, 5,962,216, および 5,945,315号

30

40

に開示されているものを含み、これらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【0036】

ピンカアルカロイドは、抗体のような細胞結合物質に、酸に不安定なヒドラジド連結を介して連結することができ、その方法は例えば、ラガッツァ (Laguzza) ら、J. Med. Chem.、

50

32:548-555(1989)、スカラップ (Schrappe) ら、Cancer Res.、52:3838-3844(1992)、及びアベルグレン (Apelgren) ら、Cancer Res.、50:3540-3544(1990)に説明されており、これらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。好ましい方法は、ピンカアルカロイドの細胞結合物質へのジスルフィド結合を介した連結である。ピンプラスチン、ピンクリスチン及びナベルピンのC-3位のカルボキシエステルは、標準の化学法を用い、対応するカルボン酸に加水分解することができる。ピンデシンにおいて、C-3のカルボキシアミド基は、加水分解され、遊離のカルボキシ基となることができる。各々のピンカアルカロイドの遊離のカルボキシ基は、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)又はエチルジメチルアミン-プロピルカルボジイミド(EDC)のようなカップリング剤の存在下での保護されたシステアミン(例えばメチルジチオシステアミン)との反応により、末端ジスルフィド基を含むアミド化合物に転化することができる。ピンカアルカロイドを含有する得られるジスルフィドは、ジチオスレイトールのような還元剤により還元され、チオール含有化合物を生成する。このチオール含有ピンカアルカロイドは、細胞結合物質に、抗体-メイタンシノイド複合体の生成について本明細書に記されたようなジスルフィド交換を介して共役することができる。

【0037】

細胞結合物質に連結することが可能な修飾されたドラスタチンを生成するために本発明において使用することができるドラスタチンは、当技術分野において周知である。このようなドラスタチンは、例えば、ピトット (Pitot) ら、J. Clin. Cancer Res.、5:525-531(1999)及びヴィッラローナ-カレロ (Villalona-Calero) ら、J. Clin. Oncol.、16:2770-2779(1998)に記されたものを含み、これらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。ドラスタチンの例は、ドラスタチン10、ドラスタチン15などを含む。本発明において使用することができる別のドラスタチンは、例えば、米国特許第

5,945,543, 5,939,527, 5,886,147, 5,886,025, 5,883,120,
5,856,324, 5,840,699, 5,831,002, 5,821,222, 5,807,984, 5,780,588, 5,767,237, 5,750,713,
5,741,892, 5,665,860, 5,663,149, 5,654,399, 5,635,483, 5,626,864, 5,599,902, 5,554,725,
5,530,097, 5,521,284, 5,504,191, 5,502,032, 5,410,024, 5,410,024, 5,378,803, 5,352,804,
5,138,036, 5,091,368, 5,076,973, 4,986,988, 4,978,744, 4,879,278, 4,816,444, 4,486,414,
4,414,205, 6,103,913, 6,103,698, 6,096,757, 6,034,065, 6,020,495, 6,017,890, 6,004,934,
5,985,837, 5,965,700, および 5,965,537 号

に開示されたものであり、これらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【0038】

その内容は全体が本明細書に参照として組入れられているペティット (Pettit) らの論文 (J. Am. Chem. Soc.、111:5463-5465(1989))にドラスタチン10について説明された合成法を、わずかな変更を加え行い、抗体のような細胞結合物質へジスルフィド結合を介して連結することができるチオール含有ドラスタチンを生成することができる。ドラスタチン10のC末端におけるドルフェニン残基中のフェニルアラニン部分は、メチルジチオ-置換基含有アミノ酸により置き換えられる。従ってチロシンは、標準の化学法を用い、1,3-ジプロモブタンのような市販のジプロモアルカンとの反応により、エーテルへ転化することができる。得られるプロモ化合物は、チオ酢酸カリウムと反応され、引き続き加水分解され、チオール含有チロシンを生成する。転化は、前掲のPettitの論文に記されたように実行される。チオール含有ドラスタチンは、細胞結合物質に、抗体-メイタンシノイド複合体の調製についての本明細書に記されたようなジスルフィド交換を介して共役することができる。

【0039】

細胞結合物質に連結することが可能な修飾されたクリプトフィシンを生成するために本発明において使用することができるクリプトフィシンは、当技術分野において周知である。

このようなクリプトフィシンは、例えば、スミス (Smith) ら、Cancer Res.、54:3779-3783(1994)、パンダ (Panda) ら、Proc. Natl. Acad. Sci.、95:9313-9318(1998)及びバイ (Bai) ら、Cancer Res.、56:4398-4406(1996)に記載されているものを含み、これらの内容はその全体が本明細書に参照として組入れられている。クリプトフィシンの例は、クリプトフィシン52、クリプトフィシン1などがある。その他の本発明において使用することができるクリプトフィシンは、例えば英国特許第2220657号；欧州特許第870506号、第870501号、第861838号、第861839号、第792875号及び第870510号；米国特許第6,103,913号、第6,046,177号、第6,020,512号、第6,013,626号、第5,977,387号、第5,955,423号、第5,952,298号、第5,945,315号、第5,886,025号及び第5,833,994号；並びに、国際公開公報第98/38178号、第98/38164号、第98/08829号、第98/08506号、第98/08505号、第97/31632号、第97/08334号、第97/07798号、第98/09601号、第97/23211号、第98/46581号、第98/38158号、第98/09988号、第98/09974号、第98/08812号、及び第98/09955号に開示されており、それらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

10

【0040】

クリプトフィシン中の芳香族メトキシ基は、フェノール誘導体を生成する標準の化学法又は酵素法により加水分解することができる。フェノール基は、標準の化学法を用いて、1,3-ジブロモブタンのような市販のジブロモアルカンとの反応により、エーテルに転化することができる。得られる臭素化合物は、チオ酢酸カリウムと反応され、その後加水分解され、チオール含有クリプトフィシンを生成する。チオール含有クリプトフィシンは、抗体-メイタンシノイド複合体の調製について本明細書に説明されたようなジスルフィド交換を介して細胞結合物質へ共役することができる。

20

【0041】

本発明のジスルフィド含有及びメルカプト含有メイタンシノイド(又はピンカアルカロイドもしくはドラスタチン又はクリプトフィシン)薬物は、インビボ活性を推定する上で当技術分野において一般に許容されているインビトロ法を用い、様々な望ましくない細胞株の増殖を抑制するそれらの能力について評価することができる。例えば、ヒト類表皮癌株KB、ヒト乳癌株SKBR3及びパーキットリンパ腫株ナマルワ (Namalwa) のような細胞株は、これらの化合物の細胞毒性の評価のために容易に使用することができる。評価されるべき細胞は、これらの化合物に24時間曝露され、かつ細胞の生存画分が公知の方法による直接アッセイにおいて測定される。その後これらのアッセイの結果から、 IC_{50} 値を算出することができる。

30

【0042】

治療的物質としての免疫複合体の効果は、適当な細胞結合物質の慎重な選択によって左右される。細胞結合物質は、現在わかっている又はわかりつつあるいずれかの種類であることができ、かつペプチド及び非ペプチドを含む。一般にこれらは、抗体(特にモノクローナル抗体)、リンホカイン、ホルモン、成長因子、栄養素輸送分子(トランスフェリンなど)、又はいずれか他の細胞結合分子又は物質であることができる。

【0043】

使用することができる細胞結合物質のより詳細な例は、以下を含む：モノクローナル抗体；抗体断片、例えばFv、Fab、Fab'、及び $F(ab')_2$ など(Parham、J. Immunol.、131:2895-2902(1983)；Springら、J. Immunol.、113:470-478(1974)；Nisonoffら、Arch. Biochem. Biophys.、89:230-244(1960))；インターフェロン(例えば、 α 、 β 、 γ)；リンホカイン、例えばIL-2、IL-3、IL-4、IL-6など；ホルモン、例えばインスリン、TRH(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン)、MSH(メラニン細胞刺激ホルモン)、アンドロゲン及びエストロゲンのようなステロイドホルモン；成長因子及びコロニー刺激因子、例えばEGF、TGF- α 、G-CSF、M-CSF及びGM-CSF(Burgess、Immunology Today、5:155-158(1984))；並びに、トランスフェリン(O'Keefeら、J. Biol. Chem.、260:932-937(1985))。

40

【0044】

モノクローナル抗体法は、特異的モノクローナル抗体の形状で、極めて特異的な細胞結合物質の生成を可能にする。特に当技術分野において周知の技術は、マウス、ラット、ハム

50

スター、又は他の哺乳類の、無傷の標的細胞、標的細胞から単離された抗原、ウイルス全体、弱毒化したウイルス全体、及びウイルスコートタンパク質のようなウイルスタンパク質などの関心のある抗原によるいずれかの免疫感作によるモノクローナル抗体の作成技術である。増感されたヒト細胞も使用することができる。

【 0 0 4 5 】

適当な細胞結合物質の選択は、標的化される特定の細胞集団によって決まる選択事項であるが、一般には、適当なものが利用できるならば、モノクローナル抗体が好ましい。

【 0 0 4 6 】

例えば、モノクローナル抗体J5は、共通急性リンパ球性白血病抗原(CALLA)に特異的なマウスのIgG_{2a}抗体であり(Ritzら、Nature、283:583-585(1980))、かつ急性リンパ芽球性リンパ腫疾患のように標的細胞がCALLAを発現する場合に使用することができる。同様に、モノクローナル抗体抗B4はマウスのIgG₁であり、これはB細胞上のCD19抗原に結合し(Nadlerら、J. Immunol.、131:244-250(1983))、かつ標的細胞がB細胞又は非ホジキン性リンパ腫又は慢性リンパ芽球性白血病のようにこの抗原を発現している罹患した細胞である場合に使用することができる。

【 0 0 4 7 】

更に、骨髓細胞に結合するGM-CSFは、急性骨髄性白血病由来の罹患細胞への細胞結合物質として使用することができる。活性化されたT細胞に結合するIL-2は、移植片拒絶反応の予防、移植片対宿主病の治療及び予防、及び急性T細胞白血病の治療のために使用することができる。メラニン細胞に結合するMSHは、メラノーマの治療に使用することができる。

【 0 0 4 8 】

乳癌及び精巣癌は、各々、細胞結合物質としてのエストロゲン(又はエストロゲン類似体)又はアンドロゲン(又はアンドロゲン類似体)により、うまく標的化することができる。

【 0 0 4 9 】

好ましい態様において、抗体又はその断片は、肺癌に、好ましくは小細胞肺癌に特異的なものである。小細胞肺癌に特異的な抗体又はその断片は、ドリア(Doria)ら、Cancer、62:1939-1945(1988)のような、当技術分野において説明された方法により決定することができる。好ましくは、この抗体又はそれらの断片は、実質的に全ての小細胞肺癌上に発現されているCD56抗原のエピトープに結合する。例えば、N901は、CD56と反応性であるIgG1マウスモノクローナル抗体(抗N901とも称される)であり、これは小細胞肺癌のような、神経内分泌系起源の腫瘍上に発現される。その説明の全体が本明細書に参照として組入れられている、グリフィン(Griffin)ら、Immunol.、130:2947-2951(1983)、及びログスカ(Roguska)ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、91:969-973(1994)を参照のこと。

【 0 0 5 0 】

好ましい小細胞肺癌に特異的な抗体又はそれらの断片は、N901、NKH-1、Leu-7、抗Leu-7などを含むが、これらに限定されるものではない(Doriaら、Cancer、62:1939-1945(1988); Kibbelaarら、Journal of Pathology、159:23-28(1989))。その他の本発明において使用するのに適した抗体又はそれらの断片は、例えば、S-L 3-5、S-L 4-20、S-L 7-3、S-L 11-14、TFS-4、MOC-1、MOC-21、MOC-31、MOC-32、MOC-52、123A8、123C3、UJ13A、B10/B12、SWA4、SWA20、SWA21、SWA22、SWA23、LAM-8、534F8、703D4704A1及びSM1であり、これは更にLung Cancer、4:15-36(1988)に発表された「小細胞肺ガン抗原についての第1回国際ワークショップ紀要(the Proceedings of the First International Workshop on Small Cell Lung Antigens)」(ロンドン、1987年)の第3章表Iにも記されており、その説明は全体が本明細書に参照として組入れられている。最も好ましい態様において、抗体は、CD56抗原上のエピトープに結合するN901、またはその断片、例えばFv、Fab'及びF(ab')₂である。モノクローナル抗体又はそれらの断片は、N901と同じ特異性を持つ、CD56抗原に結合するいずれか他の抗体であることができる。「同じ特異性」とは、抗体又はそれらの断片が、N901との競合結合アッセイにより示されたものと同じように抗原に結合することができることを意味する。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 1 】

本発明において有用な好ましい別の抗体又はその断片は、C242(キャンエージー ダイアゴノスティクス AB社 (CanAg Diagnostics AB)、スウェーデンより市販)である。C242は同じく、米国特許第5,552,293号に開示されており、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【 0 0 5 2 】

別の好ましい態様において、本明細書に記された抗体は、ヒト化抗体又はその断片であり、その理由はヒト化抗体又はその断片は、ヒトにおいて免疫応答を惹起するとは考えられないからである。概して、抗体は、例えば米国特許第5,225,539号、第5,585,089号、及び第5,639,641号に開示されているような、様々なヒト化技術の適用を通じヒト化することができ、その説明は全体が本明細書に参照として組入れられている。ヒト化されたN901の様々な変種の調製は、例えば、ロガスカ (Roguska) ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、9 1:969-973(1994)、及びロガスカ (Roguska) ら、Protein Eng.、9:895-904(1996)に記されており、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。ヒト化された抗体を表すために、抗体名の前に、文字「hu」又は「h」を記す。例えば、ヒト化されたN901は、huN901又はhN901とも記される。

【 0 0 5 3 】

本発明のメイタンシノイド誘導体及び細胞結合物質の複合体は、現在公知の又は今後開発される技術のいずれかを用いて形成することができる。メイタンシノイドエステルは、修飾し、遊離のアミノ基を生成し、次に酸に不安定なリンカー、もしくは光に不安定なリンカーにより抗体又は他の細胞結合物質に連結することができる。メイタンシノイドエステルは、ペプチドと縮合され、かつ引き続き細胞結合物質に連結され、ペプチダーゼに不安定なリンカーを生成する。メイタンシノイドエステルは処理され、第一級ヒドロキシル基を生じ、これはスクシニル化されかつ細胞結合物質に連結され、細胞内エステラーゼにより切断され遊離の薬物を放出するような複合体を生成することができる。最も好ましくは、メイタンシノイドエステルが処理され、遊離又は保護されたチオール基を生成し、次に1個又は複数のジスルフィド又はチオール含有メイタンシノイド誘導体が細胞結合物質に(複数の)ジスルフィド結合を介して共有結合される。

【 0 0 5 4 】

本発明の代表的な複合体は、抗体/メイタンシノイド誘導体、抗体断片/メイタンシノイド誘導体、上皮成長因子(EGF)/メイタンシノイド誘導体、メラノサイト刺激ホルモン(MSH)/メイタンシノイド誘導体、甲状腺刺激ホルモン(TSH)/メイタンシノイド誘導体、エストロゲン/メイタンシノイド誘導体、エストロゲン類似体/メイタンシノイド誘導体、アンドロゲン/メイタンシノイド誘導体、アンドロゲン類似体/メイタンシノイド誘導体がある。

【 0 0 5 5 】

抗体、抗体断片、タンパク質ホルモン、タンパク質成長因子及びその他のタンパク質のメイタンシノイド複合体は、同じ方法で作成される。例えば、ペプチド及び抗体は、架橋剤、例えばN-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)-ペンタノエート(SPP)、4-スクシンイミジル-オキシカルボニル-メチル-(2-ピリジルジチオ)トルエン(SMPT)、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)-ブチレート(SDPB)、2-イミノチオラン、又は無水アセチルコハク酸などにより、公知の方法で修飾することができる(米国特許第4,563,304号; Carlssonら、Biochem. J.、1 73:723-737(1978); Blattlerら、Biochem.、24:1517-1524(1985); Lambertら、Biochem.、22:3913-3920(1983); Klotzら、Arch. Biochem. Biophys.、96:605(1962); 及び、Liuら、Biochem.、18:690(1979)、Blakey及びThorpe、Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals、1:1-16(1988); Worrellら、Anti-Cancer Drug Design、1:179-184(1986)、これらは全体が本明細書に参照として組入れられている)。こうして得られた遊離又は保護されたチオール基を有する細胞結合物質は、次にジスルフィド含有又はチオール含有メイタンシノイドと反応し、複合体を生成する。この複合体は、HPLC又はゲル濾過に

10

20

30

40

50

より精製することができる。

【0056】

同様に、例えば、エストラジオール及びアンドロステンジオールのような、エストロゲン及びアンドロゲン細胞結合物質は、縮合剤として適当なジスルフィド含有カルボン酸、例えばジシクロヘキシルカルボジイミドにより、C-17ヒドロキシ基でエステル化され得る。このような使用することができるカルボン酸の例は、3-(2-ピリジルジチオ)プロパン酸、3-メチルジチオプロパン酸、3-フェニルジチオプロパン酸、及び4-(2-ピリジルジチオ)ペンタン酸がある。同じくC-17ヒドロキシ基のエステル化は、適宜保護されたチオール基含有カルボン酸クロリド、例えば、3-S-アセチルプロパノイルクロリドなどとの反応により実行することもできる。文献に記されたような他のエステル化法も使用することができる (Haslam, Tetrahedron, 36:2400-2433(1980))。次に保護された又は遊離のチオール含有

10

【0057】

好ましくは、モノクローナル抗体又は細胞結合物質/メイタンシノイド複合体は、前述のように、メイタンシノイド分子の送達が可能であるような、ジスルフィド結合により一緒にされたものである。このような細胞結合複合体は、モノクローナル抗体のスクシンイミジルピリジルジチオプロピオネート(SPDP)又はSPPによる修飾のような、公知の方法により生成される (Carlssonら、Biochem. J., 173:723-737(1978))。得られるチオピリジル基は次に、チオール含有メイタンシノイドによる処理により置換され、ジスルフィド結合された複合体を生成する。または、アリアルジチオメイタンシノイドの場合、細胞結合複合体の生成は、メイタンシノイドのアリアル-チオールの、抗体分子に先に導入されたスルフヒドリル基による直接置換により行われる。ジスルフィド橋を介して1~10個のメイタンシノイド薬を含有する複合体は、いずれかの方法により容易に調製される。

20

【0058】

より詳細に述べると、2mM EDTAを含有する0.05Mリン酸カリウム緩衝液及び0.05M塩化ナトリウム(pH6.5)を溶媒とするジチオピリジルで修飾された抗体の濃度2.5mg/mlの溶液は、チオール含有メイタンシノイド(1.7モル当量/ジチオピリジル基)で処理される。修飾された抗体からのピリジン-2-チオンの放出は、分光光度法により343nmでモニタリングされる。この反応は、最長18時間進行することができる。この抗体-メイタンシノイド複合体は精製され、かつ未反応の薬物及び他の低分子量材料が、Sephacryl S-300カラムを通るゲル濾過により遊離される。1個の抗体分子に結合されたメイタンシノイドの数は、252nm及び280nmでの吸光度の比を測定することにより決定することができる。平均1~10個のメイタンシノイド分子/抗体分子が、本方法によるジスルフィド結合を介した連結である。

30

【0059】

切断不能の連結を伴う抗体-メイタンシノイド複合体も生成することができる。この抗体は、文献に記されたように、スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、スルホ-SMCC、マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)、スルホ-MBS又はスクシンイミジル-イオドアセテートのような架橋剤により修飾し、1~10個の反応基を導入することができる (Yoshitakeら、Eur. J. Biochem., 101:395-399(1979); Hashidaら、J. Applied Biochem., 56-63(1984); 及び、Liuら、Biochem., 18:690-697(1979))。その後修飾された抗体は、チオール含有メイタンシノイド誘導体と反応し、複合体を生成する。この複合体は、Sephacryl S-300カラムを通したゲル濾過により精製することができる。

40

【0060】

修飾された抗体は、チオール含有メイタンシノイド(1.25モル当量/マレイミド基)で処理される。この混合物は、約4 で一晩インキュベーションされる。この抗体-メイタンシノイド複合体は、セファデックス (Sephadex) G-25カラムを通すゲル濾過により精製される。典型的には、1個の抗体につき平均1~10個のメイタンシノイドが連結される。

50

【0061】

好ましい方法は、抗体をスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)で修飾し、マレイミド基を導入し、その後修飾した抗体を、チオール含有メイタンシノイドと反応し、チオエーテル-連結した複合体を生成する。同じく抗体分子1個につき1~10個の薬物分子を伴う複合体が得られる。

【0062】

本明細書に記されたように、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種の化学療法剤の使用が、癌治療において優れた結果をもたらすという予想外の発見を基にしている。当技術分野において公知の任意の化学療法剤を、本発明の免疫複合体と組合わせて使用し、本明細書に説明しかつ明らかにした予想外の優れた結果を得ることができる。好ましい化学療法剤は、タキサン化合物、タキサン機序を介して作用する化合物、白金化合物、エピドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、及び/又はいずれかのそれらの組合せである。当技術分野において公知であるように、白金化合物及びエピドフィロトキシン化合物は、通常癌治療のために併用される。

【0063】

ある態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種のタキサン化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種のタキサン機序を介して作用する化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体及び少なくとも1種の白金化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体、少なくとも1種の白金化合物、及び少なくとも1種のエピドフィロトキシン化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体、少なくとも1種の白金化合物、及び任意に少なくとも1種のエピドフィロトキシン化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。更に別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体、少なくとも1種のタキサン化合物、及び任意に少なくとも1種の白金化合物、及び任意に少なくとも1種のエピドフィロトキシン化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。更に別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体、少なくとも1種のタキサン化合物、少なくとも1種の白金化合物、及び任意に少なくとも1種のエピドフィロトキシン化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。更に別の態様において、本発明は、少なくとも1種の免疫複合体、少なくとも1種のタキサン機序を介して作用する化合物、及び少なくとも1種のカンプトテシン化合物を投与することにより、癌を治療し及び/又は選択された細胞集団(例えば癌細胞)の増殖を変調する方法を提供する。当業者は、本発明において説明された方法は、タキサン化合物、タキサン機序を介して作用する化合物、白金化合物、エピドフィロトキシン化合物、カンプトテシン化合物、及びDNAトポイソメラーゼIを阻害することができる化合物からなる群より選択される1種またはそれ以上の化学療法剤と共に少なくとも1種の免疫複合体を投与することを包含していることを理解するであろう。本発明の方法において、免疫複合体及び化学療法剤は、同時点で、もしくは異なる時点で同時投与することができるか、もしくは単独の組成物の成分とすることができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 4 】

タキサン化合物は、細胞機能において重要な役割を果たしている、微小管と称される細胞構造に作用することにより、癌細胞の増殖を阻害する。正常な細胞増殖において、微小管は、細胞が分裂を開始した時点で形成される。一旦細胞が分裂を停止すると、微小管は分解又は破壊される。タキサン化合物は、微小管の分解を止め、その結果癌細胞が微小管に詰まり(clog)し始め、これらは増殖も分裂もできなくなる。

【 0 0 6 5 】

タキサン化合物は当技術分野において公知であり、かつ例えば、パクリタキセル(TAXOL(登録商標)としてプリストール・マイヤーズ スクイップ (Bristol-Myers Squibb) 社、プリンストン、NJから入手できる)、ドセタキセル(docetaxel)(TAXOTERE(登録商標)としてAventis社から入手できる)などがある。その他の米国食品医薬品局(FDA)及び外国の当該局から認可されつつあるタキサン化合物も、本発明の方法及び組成物において使用することが好ましい。本発明において使用することができる他のタキサン化合物は、例えば、第10回NCI-EORTC癌治療に関する新薬シンポジウム、アムステルダム、100頁、第382号及び第383号(1998年6月16-19日) ; 及び、米国特許第

4,814,470, 5,721,268, 5,714,513, 5,739,362, 5,728,850,
5,728,725, 5,710,287, 5,637,484, 5,629,433, 5,580,899, 5,549,830, 5,523,219, 5,281,727,
5,939,567, 5,703,117, 5,480,639, 5,250,683, 5,700,669, 5,665,576, 5,618,538, 5,279,953,
5,243,045, 5,654,447, 5,527,702, 5,415,869, 5,279,949, 5,739,016, 5,698,582, 5,478,736,
5,227,400, 5,516,676, 5,489,601, 5,908,759, 5,760,251, 5,578,739, 5,547,981, 5,547,866,
5,344,775, 5,338,872, 5,717,115, 5,620,875, 5,284,865, 5,284,864, 5,254,703, 5,202,448,
5,723,634, 5,654,448, 5,466,834, 5,430,160, 5,407,816, 5,283,253, 5,719,177, 5,670,663,
5,616,330, 5,561,055, 5,449,790, 5,405,972, 5,380,916, 5,912,263, 8,808,113, 5,703,247,
5,618,952, 5,367,086, 5,200,534, 5,763,628, 5,705,508, 5,622,986, 5,476,954, 5,475,120,
5,412,116, 5,916,783, 5,879,929, 5,861,515, 5,795,909, 5,760,252, 5,637,732, 5,614,645,
5,599,820, 5,310,672, RE 34,277, 5,877,205, 5,808,102, 5,766,635, 5,760,219, 5,750,561,
5,637,723, 5,475,011, 5,256,801, 5,900,367, 5,869,680, 5,728,687, 5,565,478, 5,411,984,
5,334,732, 5,919,815, 5,912,264, 5,773,464, 5,670,673, 5,635,531, 5,508,447, 5,919,816,
5,908,835, 5,902,822, 5,880,131, 5,861,302, 5,850,032, 5,824,701, 5,817,867, 5,811,292,
5,763,477, 5,756,776, 5,686,623, 5,646,176, 5,621,121, 5,616,739, 5,602,272, 5,587,489,
5,567,614, 5,498,738, 5,438,072, 5,403,858, 5,356,928, 5,274,137, 5,019,504, 5,917,062,
5,892,063, 5,840,930, 5,840,900, 5,821,263, 5,756,301, 5,750,738, 5,750,562, 5,726,318,
5,714,512, 5,686,298, 5,684,168, 5,681,970, 5,679,807, 5,648,505, 5,641,803, 5,606,083,
5,599,942, 5,420,337, 5,407,674, 5,399,726, 5,322,779, 4,924,011, 5,939,566, 5,939,561,
5,935,955, 5,919,455, 5,854,278, 5,854,178, 5,840,929, 5,840,748, 5,821,363, 5,817,321,
5,814,658, 5,807,888, 5,792,877, 5,780,653, 5,770,745, 5,767,282, 5,739,359, 5,726,346,
5,717,103, 5,710,099, 5,698,712, 5,683,715, 5,677,462, 5,670,653, 5,665,761, 5,654,328,
5,643,575, 5,621,001, 5,608,102, 5,606,068, 5,587,493, 5,580,998, 5,580,997, 5,576,450,
5,574,156, 5,571,917, 5,556,878, 5,550,261, 5,539,103, 5,532,388, 5,470,866, 5,453,520,
5,384,399, 5,364,947, 5,350,866, 5,336,684, 5,296,506, 5,290,957, 5,274,124, 5,264,591,
5,250,722, 5,229,526, 5,175,315, 5,136,060, 5,015,744, 4,924,012, 6,118,011, 6,114,365,
6,107,332, 6,072,060, 6,066,749, 6,066,747, 6,051,724, 6,051,600, 6,048,990, 6,040,330,
6,030,818, 6,028,205, 6,025,516, 6,025,385, 6,018,073, 6,017,935, 6,011,056, 6,005,138,
6,005,138, 6,005,120, 6,002,023, 5,998,656, 5,994,576, 5,981,564, 5,977,386, 5,977,163,
5,965,739, 5,955,489, 5,939,567, 5,939,566, 5,919,815, 5,912,264, 5,912,263, 5,908,835,
および5,902,822号

に開示されたものを含み、これらの説明は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【 0 0 6 6 】

本発明において使用することができる他の化合物は、タキサン機序を介して作用するものである。タキサン機序を介して作用する化合物は、腫瘍細胞又は他の過増殖性細胞疾患のような急激に増殖している細胞に対し、微小管安定化作用及び細胞毒性を発揮する能力を有する化合物を含む。このような化合物は、例えば、エポシロン化合物、例えば、エポシ

10

20

30

40

50

ロンA、B、C、D、E及びF、並びにそれらの誘導体を含む。FDA又は外国のその当該局から認可されつつあるその他のタキサン機序を介して作用する化合物(例えばエポシロン化合物)も、本発明の方法及び組成物において使用することが好ましい。エポシロン化合物及びそれらの誘導体は、当技術分野において公知であり、かつ例えば米国特許第6,121,029号、第6,117,659号、第6,096,757号、第6,043,372号、第5,969,145号及び第5,886,026号；並びに国際公開公報第97/19086号、国際公開公報第98/08849号、国際公開公報第98/22461号、国際公開公報第98/25929号、国際公開公報第98/38192号、国際公開公報第99/01124号、国際公開公報第99/02514号、国際公開公報第99/03848号、国際公開公報第99/07692号、国際公開公報第99/27890号、及び国際公開公報第99/28324号に開示されており、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

10

【0067】

本発明において使用することができる他の化合物は、白金化合物であり、例えば、シスプラチン(PLATINOL(登録商標)としてプリストール・マイヤーズ スクィップ社、プリンストン、NJから入手)、カルボプラチン(PARAPLATIN(登録商標)としてプリストール・マイヤーズ スクィップ社、プリンストン、NJから入手)、オキサリプラチン(ELOXATINE(登録商標)としてSanofi社、仏国から入手)、イプロプラチン(iproplatin)、オルマプラチン(ormaplatin)、テトラプラチンなどがある。FDA又は外国のその当該局から認可されつつあるその他の化合物も、本発明の方法及び組成物において使用することが好ましい。癌治療において使用することができる白金化合物は、当技術分野において公知であり、かつ例えば米国特許第

20

4,994,591, 4,906,646, 5,902,610, 5,053,226, 5,789,000,
 5,871,710, 5,561,042, 5,604,095, 5,849,790, 5,705,334, 4,863,902, 4,767,611, 5,670,621,
 5,384,127, 5,084,002, 4,937,262, 5,882,941, 5,879,917, 5,434,256, 5,393,909, 5,117,022,
 5,041,578, 5,843,475, 5,633,243, 5,178,876, 5,866,169, 5,846,725, 5,646,011, 5,527,905,
 5,844,001, 5,832,931, 5,676,978, 5,604,112, 5,562,925, 5,541,232, 5,426,203, 5,288,887,
 5,041,581, 5,002,755, 4,946,954, 4,921,963, 4,895,936, 4,686,104, 4,594,238, 4,581,224,
 4,250,189, 5,829,448, 5,690,905, 5,665,771, 5,648,384, 5,633,016, 5,460,785, 5,395,947,
 5,256,653, 5,132,323, 5,130,308, 5,106,974, 5,059,591, 5,026,694, 4,992,553, 4,956,459,
 4,956,454, 4,952,676, 4,895,935, 4,892,735, 4,843,161, 4,760,156, 4,739,087, 4,720,504,
 4,544,759, 4,515,954, 4,466,924, 4,462,998, 4,457,926, 4,428,943, 4,325,950, 4,291,027,
 4,291,023, 4,284,579, 4,271,085, 4,234,500, 4,234,499, 4,200,583, 4,175,133, 4,169,846,
 5,922,741, 5,922,674, 5,922,302, 5,919,126, 5,910,102, 5,876,693, 5,871,923, 5,866,617,
 5,866,615, 5,866,593, 5,864,024, 5,861,139, 5,859,034, 5,855,867, 5,855,748, 5,849,770,
 5,843,993, 5,824,664, 5,821,453, 5,811,119, 5,798,373, 5,786,354, 5,780,478, 5,780,477,
 5,776,925, 5,770,593, 5,770,222, 5,747,534, 5,739,144, 5,738,838, 5,736,156, 5,736,119,
 5,723,460, 5,697,902, 5,693,659, 5,688,773, 5,674,880, 5,670,627, 5,665,343, 5,654,287,
 5,648,362, 5,646,124, 5,641,627, 5,635,218, 5,633,257, 5,632,982, 5,622,977, 5,622,686,
 5,618,393, 5,616,613, 5,612,019, 5,608,070, 5,595,878, 5,585,112, 5,580,888, 5,580,575,
 5,578,590, 5,575,749, 5,573,761, 5,571,153, 5,563,132, 5,561,136, 5,556,609, 5,552,156,
 5,547,982, 5,542,935, 5,525,338, 5,519,155, 5,498,227, 5,491,147, 5,482,698, 5,469,854,
 5,455,270, 5,443,816, 5,415,869, 5,409,915, 5,409,893, 5,409,677, 5,399,694, 5,399,363,
 5,380,897, 5,340,565, 5,324,591, 5,318,962, 5,302,587, 5,292,497, 5,272,056, 5,258,376,
 5,238,955, 5,237,064, 5,213,788, 5,204,107, 5,194,645, 5,182,368, 5,130,145, 5,116,831,
 5,106,858, 5,100,877, 5,087,712, 5,087,618, 5,078,137, 5,057,302, 5,049,396, 5,034,552,
 5,028,726, 5,011,846, 5,010,103, 4,985,416, 4,970,324, 4,936,465, 4,931,553, 4,927,966,
 4,912,072, 4,906,755, 4,897,384, 4,880,832, 4,871,528, 4,822,892, 4,783,452, 4,767,874,
 4,760,155, 4,687,780, 4,671,958, 4,665,210, 4,645,661, 4,599,352, 4,594,418, 4,593,034,
 4,587,331, 4,575,550, 4,562,275, 4,550,169, 4,482,569, 4,431,666, 4,419,351, 4,407,300,
 4,394,319, 4,335,087, 4,329,299, 4,322,391, 4,302,446, 4,287,187, 4,278,660, 4,273,755,
 4,255,417, 4,255,347, 4,248,840, 4,225,529, 4,207,416, 4,203,912, 4,177,263, 4,151,185,
 4,140,707, 4,137,248, 4,115,418, 4,079,121, 4,075,307, 3,983,118, 3,870,719, 再発行 33,071,
 6,087,392, 6,077,864, 5,998,648, および 5,902,610 号

30

40

に開示されており、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

50

【 0 0 6 8 】

当技術分野において公知であるように、白金化合物は、例えばエトポシド(VP-16としても公知)(VEPESID(登録商標)としてプリストール・マイヤーズ スクイップ社、プリンストン、NJから入手)、テニポシド(VM-26としても公知)(VUMON(登録商標)としてプリストール・マイヤーズ スクイップ、プリンストン、NJから入手)などのような、少なくとも1種のエピポドフィロトキシン化合物と併用されることが好ましい。FDA又は外国のその当該局から認可されつつあるその他のエピポドフィロトキシン化合物も、本発明の方法及び組成物において使用することが好ましい。本発明において使用することができる他のエピポドフィロトキシン化合物は、例えば米国特許第

3,524,844,
5,643,885, 5,066,645, 5,081,234, 5,891,724, 5,489,698, 5,821,348, 5,571,914, 4,997,931,
4,547,567, 5,536,847, 5,326,753, 5,120,862, 5,011,948, 4,895,727, 4,795,819, 4,644,072,
5,688,926, 5,676,978, 5,660,827, 5,395,610, 5,346,897, 5,208,238, 5,190,949, 5,086,182,
4,965,348, 4,958,010, 4,874,851, 4,866,189, 4,853,467, 4,728,740, 4,716,221, 5,935,955,
5,863,538, 5,855,866, 5,776,427, 5,747,520, 5,739,114, 5,622,960, 5,606,060, 5,605,826,
5,541,223, 5,459,248, 5,455,161, 5,364,843, 5,300,500, 5,041,424, 5,036,055, 5,034,380,
4,935,504, 4,916,217, 4,912,204, 4,904,768, 4,900,814, 4,888,419, 4,567,253, 再発行 35,524,
6,107,284, 6,063,801, および 6,051,230 号

10

に開示されており、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【 0 0 6 9 】

本発明において使用することができる他の化合物は、カンプトテシン化合物を含む。カンプトテシン化合物は、DNAトポイソメラーゼIを阻害することが可能である。カンプトテシン化合物はカンプトテシン、カンプトテシン誘導体及びカンプトテシン類似体を含む。カンプトテシン化合物は当技術分野において公知であり、かつ例えば、カンプトテシン、トポテカン(HYCAMTIN(登録商標)としてスミスクリン ビーカム ファーマシューティカルズ(SmithKline Beecham Pharmaceuticals)社から入手)、CPT-11(イリノテカンとも称される)、9-アミノカンプトテシンなどを含む。FDA又は外国のその当該局から認可されつつあるその他のカンプトテシン化合物(又は他のDNAトポイソメラーゼIを阻害することが可能である化合物)も、本発明の方法及び組成物において使用することが好ましい。本発明において使用することができる他のカンプトテシン化合物は、例えば、J. Med. Chem.、29:2358-2363(1986) ; J. Med. Chem.、23:554(1980) ; J. Med. Chem.、30:1774(1987) ; 欧州特許出願第0 418 099号、第0 088 642号、及び第0 074 770号 ; 並びに、米国特許第

20

5,633,016, 5,004,758, 4,604,463, 4,473,692, 4,545,880, 4,513,138, 4,399,276,
6,121,451, 6,121,278, 6,121,277, 6,121,275, 6,121,263, 6,107,486, 6,100,273, 6,096,336,
6,093,721, 6,063,801, 6,046,209, 6,040,313, 6,034,243, 6,028,078, 5,998,426, 5,990,120,
5,985,888, 5,981,542, 5,972,955, 5,968,943, 5,958,937, 5,955,467, 5,948,797, 5,935,967,
5,932,709, 5,932,588, 5,922,877, 5,916,897, 5,916,896, 5,910,491, 5,900,419, 5,892,043,
5,889,017, 5,880,133, 5,859,023, 5,859,022, 5,856,333, 5,843,954, 5,840,899, 5,837,673,
5,834,012, 5,807,874, 5,801,167, 5,786,344, 5,773,522, 5,767,142, 5,744,605, 5,734,056,
5,731,316, 5,726,181, 5,677,286, 5,674,874, 5,674,873, 5,670,500, 5,633,177, 5,652,244,
5,646,159, 5,633,260, 5,614,628, 5,604,233, 5,602,141, 5,597,829, 5,559,235, 5,552,154,
5,541,327, 5,525,731, 5,496,952, 5,475,108, 5,468,859, 5,468,754, 5,459,269, 5,447,936,
5,446,047, 5,401,747, 5,391,745, 5,364,858, 5,340,817, 5,244,903, 5,227,380, 5,200,524,
5,191,082, 5,180,722, 5,162,532, 5,122,606, 5,122,526, 5,106,742, 5,061,800, 5,053,512,
5,049,668, 5,004,758, 4,981,968, 4,943,579, 4,939,255, 4,914,205, 4,894,456, 再発行 32,518,
4,604,463, 4,513,138, 4,473,692, 4,399,282, 4,399,276, および 4,031,098 号

40

に開示されたものを含み、これらの内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。

【 0 0 7 0 】

本発明の免疫複合体及び化学療法剤は、例えば、肺、乳房、結腸、前立腺、腎臓、脾臓、脳、骨、卵巣、精巣、及びリンパ系器官の癌 ; 全身性狼瘡、リウマチ様関節炎及び多発性

50

硬化症のような、自己免疫疾患；腎移植拒絶反応、肝移植拒絶反応、肺移植拒絶反応、心移植拒絶反応及び骨髄移植拒絶反応のような、移植片拒絶反応；移植片対宿主病；CMV感染症、HIV感染症、及びAIDSのような、ウイルス感染症；並びに、ランブル鞭毛虫症、アメーバ症、住血吸虫症のような寄生体感染症などに関し、患者を治療し及び/又は選択された細胞集団の増殖を変調するために、インビトロ、インビボ及び/又はエキソビボで投与することができる。好ましくは、本発明の免疫複合体及び化学療法剤は、例えば、肺、乳房、結腸、前立腺、腎臓、膵臓、脳、骨、卵巣、精巣、及びリンパ系器官の癌を含み；より好ましくは、肺癌又は結腸癌を含む、患者の癌の治療及び/又は癌細胞増殖の変調のために、インビトロ、インビボ及び/又はエキソビボで投与することができる。最も好ましい態様において、肺癌は、小細胞肺癌(SCLC)である。

10

【0071】

「選択された細胞集団の増殖の変調」は、より多くの細胞を作成するための分裂から選択された細胞集団(例えば、SCLC細胞、NCI N417細胞、SW-2細胞、NCI-H441細胞、HT-29細胞など)の増殖を阻害すること；例えば未処理の細胞と比較して、細胞分裂の増加率を低下すること；選択された細胞集団を殺傷すること；及び/又は、選択された細胞集団(癌細胞)などの転移防止することを含む。選択された細胞集団の増殖は、インビトロ、インビボ又はエキソビボにおいて変調することができる。

【0072】

本発明の方法において、免疫複合体及び化学療法剤は、インビトロ、インビボ、又はエキソビボにおいて個別に又は同じ組成物の成分として投与することができる。この免疫複合体及び化学療法剤は、周知の適当な薬学的に許容できる担体、希釈剤、及び/又は賦形剤と共に使用することができ、かつ当業者は臨床の状況を根拠に決定することができる。適当な担体、希釈剤及び/又は賦形剤の例は以下を含む：(1)ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水、pH約6.5、これは約1mg/ml～25mg/mlのヒト血清アルブミンを含有、(2)0.9%生理食塩水(0.9%w/v NaCl)、及び(3)5%(w/v)デキストロース。

20

【0073】

本明細書に記された化合物及び組成物は、適当な形状で、好ましくは非経口、より好ましくは静脈内投与することができる。非経口投与については、この化合物又は組成物は、水性又は非水性の滅菌液剤、懸濁剤又は乳剤であることができる。プロピレングリコール、植物油及び注射可能な有機エステル、例えばオレイン酸エチルなどを、溶剤又はビヒクルとして使用することができる。この組成物は更に、アジュバント、乳化剤、又は分散剤を含有することもできる。この組成物は、滅菌水又は他の注射可能な滅菌媒質中に溶解又は分散することができるような、滅菌固形組成物の形状であることもできる。

30

【0074】

本明細書に記された化学療法剤及び免疫複合体の「治療有効量」は、選択された細胞集団の増殖の阻害及び/又は患者の疾患の治療のための投与様式を意味し、かつこれは、患者の年齢、体重、性別、食事及び健康状態、疾患の重症度、投与経路、並びに使用される特定の化合物の活性、効能、薬物動態学及び毒性プロフィールのような薬学的考察の様々な要因に従い選択される。「治療有効量」は更に、「医師向け医薬品便覧(Physicians Desk Reference)1999(53版)」のような標準の医学書により決定することができ、その内容は全体が本明細書に参照として組入れられている。患者は好ましくは動物であり、より好ましくは哺乳類であり、最も好ましくはヒトである。患者は、男性又は女性であり、かつ幼児、小児又は成人であることができる。

40

【0075】

適当な免疫複合体投与プロトコールの例は、以下のものである。免疫複合体は、毎日各静脈内ポータスの約5日間として、又は約5日間の連続注入としてのいずれかで、約5日間投与することができる。または、これらは、週1回、6週間またはそれ以上にわたり、投与することができる。別法として、これらは、2週間又は3週間毎に1回投与することができる。ポータス用量は、約5ml～約10mlのヒト血清アルブミンが添加された通常の生理食塩水約50ml～約400ml中に入れて投与される。連続注入は、ヒト血清アルブミン約25ml～約50ml

50

Iが添加された通常の生理食塩水約250ml～約500ml中に入れて、24時間毎に投与される。用量は、経静脈的に1人につき約10 μ g/kg～約1000mg/kg(約100ng/kg～約10mg/kgの範囲)である。治療後約1～約4週間で、患者は2回目の治療を受ける。投与経路、賦形剤、希釈剤、用量及び時間に関する具体的な臨床プロトコールは、当業者は、臨床状況を根拠に決定することができる。

【0076】

本発明はさらに、1種またはそれ以上の免疫複合体及び1種またはそれ以上の化学療法剤を含む、本発明の薬学的化合物及び/又は組成物の成分が1種またはそれ以上入った1個またはそれ以上の容器を含む、薬学的キットも提供する。このようなキットは、更に例えば他の化合物及び/又は組成物、本化合物及び/又は組成物の投与のための(複数の)装置、並びに医薬品又は生物学的製品の製造、使用又は販売を規制している政府当局により指定された様式の添付文書も備えることができる。

10

【0077】

実施例

次の実施例は、説明するためのものであり、発明または特許請求の範囲の領域を制限するものではない。

【0078】

実施例1

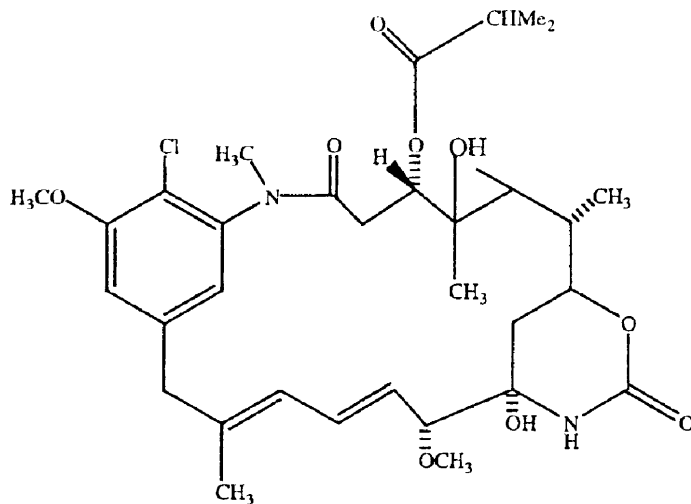
メイタンシノイドDM1はヒト化モノクローナル抗体N901に結合させた。

【0079】

本明細書および参照として完全に本明細書に組み入れられて開示されている米国特許第5,208,020号に記載のように、タケダ(大阪、日本)の提供によるアンサミトシンP-3は、ジスルフィドを含むメイタンシノイドDM1へ転化させた。

20

【化7】

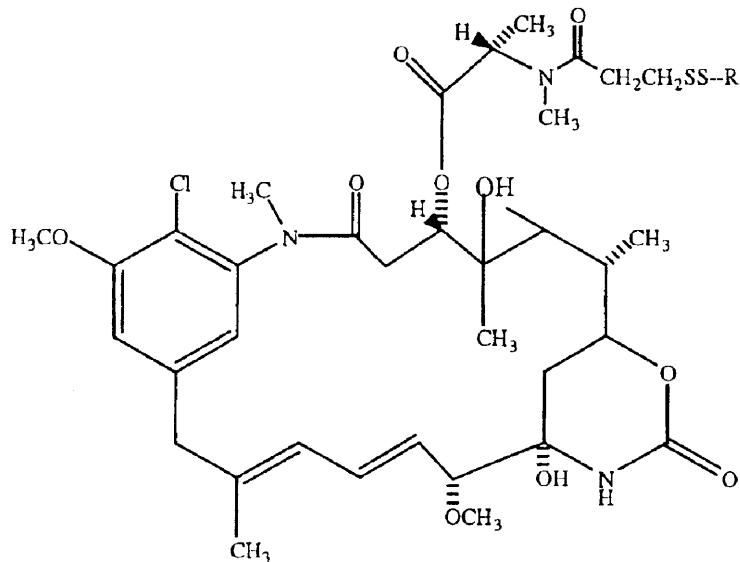


30

アンサミトシン P-3

40

【化8】



DM1: R = CH₃
 huN901-DM1: R = huN901

10

20

【 0 0 8 0 】

ヒト化N901は、すべてのヒト小細胞肺癌(SCLC)組織、神経芽腫およびカルチノイド腫瘍に発現したCD56抗原に結合する抗体である(Doriaら、Cancer 62:1839-1845 (1988); Kibbeaarら、Eur. J. Cancer、27:431-435 (1991); Rygaardら、Br. J. Cancer、65:573-577 (1992))。

【 0 0 8 1 】

ヒト化N901は、N-サクシニミジル-4-[2-ピリジルジチオ]-ペンタノエート(SPP)で修飾してジチオピリジル基を導入した。または、N-サクシニミジル-3-[2-ピリジルジチオ]-プロパノエート(SPDP)が使用できる。NaCl(50 mM)およびEDTA(2 mM)を含むリン酸カリウム緩衝液(pH 6.5) 50 mM中のその抗体(8 mg/mL)をSPP(エタノール中に5.6モル当量)で処理した。最終エタノール濃度は、5% (v/v)であった。周囲温度で90分後、反応混合物は、上記の緩衝液で平衡化されたセファデックスG25カラムを通してゲルろ過した。抗体を含む画分はプールされ、試料をジチオスレイトールで処理し343 nmでの吸光度における変化を測定する($\epsilon_{343\text{nm}} = 8,080 \text{ M}^{-1}$ である2-メルカプトピリジンの放出)ことにより、修飾の程度を測った。抗体の回収は典型的には90%で、抗体分子あたり4.8個のピリジルジチオ基が結合されていた。

30

【 0 0 8 2 】

修飾された抗体は、NaCl(50 mM)およびEDTA(2 mM)を含むリン酸カリウム緩衝液(pH 6.5) 50 mMで希釈され、最終濃度を2.5 mg/mLとした。それから、ジメチルアセトアミド(DMA、最終反応混合物において3% v/v)中のDM1(1.7 当量)をその修飾された抗体の溶液へ加えた。その反応は周囲温度で、アルゴン下、20時間、進められた。

40

【 0 0 8 3 】

この反応混合物は、それから、リン酸緩衝生理食塩水(PBS、pH 6.5)で平衡化されたセファクシルS300ゲルろ過カラムにのせられた。主なピークはhu901-DM1の単量体を含んでいた。抗体分子あたり結合しているDM1薬剤分子の数は、252 nmおよび280 nmでの吸光度を測定することにより測られ、抗体分子あたり3.9のDM1分子であることがわかった。

【 0 0 8 4 】

実施例2

この実験においては、huN901-DM1は低量の治療用ではない投与量で、パクリタキセル(シグマケミカル社、セントルイス、MO)の最適の投与量とともに使用した。SCIDマウス(ゲル

50

ープあたり7動物)にNCI N417細胞(8×10^6 細胞/動物)を皮下に接種した。腫瘍が十分定着した(平均の腫瘍の大きさが約 100 mm^3 であった)後、動物の1グループは、huN901-DM1で処置され、 $75 \text{ }\mu\text{g/kg/d} \times 5$ のDM1の用量で毎日、静脈注射で投与された。動物の第2グループは、パクリタキセルで処置され、 $10 \text{ mg/kg/d} \times 5$ の用量で毎日、腹腔内注射で投与された。動物の第3グループは、huN901-DM1およびパクリタキセルで処置され、個々の薬剤として使用されるのと同じ投与量およびスケジュールを用いた。動物の第4の対照グループは、未処置のままにしておいた。腫瘍の大きさはリウ(Liu)ら、Proc. Natl. Acad. Sci., 93:8618-8623 (1996)に記載のように測定された。動物はまた、毒性の徴候の指標として、体重の減少についてもモニターされた。

【0085】

実験結果は、図5に示す。動物の対照グループにおいて、腫瘍は、腫瘍接種後28日で、約 900 mm^3 の大きさまで急速に増殖した。huN901-DM1またはパクリタキセルのいずれか一方で処置された動物においては、それぞれの場合、腫瘍の増殖が4日遅れるという、ささやかな抗腫瘍効果があった。huN901-DM1およびパクリタキセルで処置された動物においては、腫瘍が、完全な後退が58日間続き、消えた。重要なことには、該動物において毒性の形跡が見られなかった。これらのデータは、huN901-DM1およびパクリタキセルによる処置は、予期しない卓越した(たとえば、相乗作用)抗腫瘍効果をもつことを示している。

【0086】

実施例3

この実験においては、huN901-DM1は低量の治療用ではない投与量で、シスプラチン(cisplatin)(シグマケミカル社(Sigma Chemical co.)、セントルイス、MO)およびエトポシド(etoposide)(シグマケミカル社、セントルイス、MO)の最適の投与量とともに使用した。SCIDマウス(グループあたり7動物)にNCI N417細胞(8×10^6 細胞/動物)を皮下に接種した。腫瘍が十分定着した(平均の腫瘍の大きさが約 100 mm^3 であった)後、動物の1グループは、huN901-DM1で処置され、 $75 \text{ }\mu\text{g/kg/d} \times 5$ のDM1の用量で毎日、静脈注射で投与された。動物の第2グループは、シスプラチン($2 \text{ mg/kg/d} \times 3$ の用量で、一日おきに静脈注射で投与)およびエトポシド($8 \text{ mg/kg/d} \times 3$ の用量で、一日おきに投与)で処置された。動物の第3グループは、huN901-DM1、シスプラチンおよびエトポシドで処置され、個々の薬剤として使用されるのと同じ投与量およびスケジュールを用いた。動物の第4の対照グループは、未処置のままにしておいた。腫瘍の大きさはリウ(Liu)ら、Proc. Natl. Acad. Sci., 93:8618-8623 (1996)に記載のように測定された。動物はまた、毒性の徴候の指標として、体重の減少についてもモニターされた。

【0087】

実験結果は、図6に示す。動物の対照グループにおいて、腫瘍は、腫瘍接種後28日で、約 900 mm^3 の大きさまで急速に増殖した。huN901-DM1、または、シスプラチンおよびエトポシドのいずれか一方で処置された動物においては、それぞれの場合、腫瘍の増殖が4日遅れるという、ささやかな抗腫瘍効果があった。huN901-DM1、シスプラチンおよびエトポシドで処置された動物においては、腫瘍の増殖に12日の遅れがあったが、それは、個々の化合物の付加的な抗腫瘍効果として予想するものより50%長い。重要なことには、その動物において毒性の形跡が見られなかった。これらのデータは、huN901-DM1、シスプラチンおよびエトポシドによる処置は、予期しない卓越した(たとえば、相乗作用)抗腫瘍効果をもつことを示している。

【0088】

実施例4

低用量のhuN901-DM1およびドセタキセル(アベンティス(Aventis)からTAXOTERE(登録商標)として入手可能)の組合せの抗腫瘍効果は、確立された小細胞肺癌の皮下の異種移植モデルにおいて評価を行った。SCIDマウス(24動物)にヒト小細胞肺癌SW-2細胞(8×10^6 細胞/動物)をマウスの右わき腹へ皮下注射して接種した。腫瘍が約 100 mm^3 の大きさに達した時(腫瘍細胞接種後10日)、マウスを無作為に4つのグループ(グループあたり6動物)に分けた。マウスの第1グループは、ドセタキセル($5 \text{ mg/kg} \times 5$ 、2日毎)を静脈注射で投与す

10

20

30

40

50

る処置を行った。動物の第2グループは、huN901-DM1(DM1の投与量が75 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 5$ 、毎日)を静脈注射で投与する処置を行った。マウスの第3グループは、ドセタキセルおよびhuN901-DM1の組合せを受け、第1グループおよび第2グループと同じ投与量およびスケジュールを用いた。動物の対照グループは、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を第2グループの動物と同じスケジュールを用いて処置を受けた。腫瘍の増殖は、週に2回、腫瘍の大きさを測定することによりモニターされた。腫瘍の大きさは、式：長さ \times 幅 \times 高さ $\times 1/2$ で計算された。

【0089】

腫瘍の大きさの変化は、図7に示す。動物の対照グループにおいては、腫瘍は26日間で、約1000 mm^3 まで急速に増殖した。ドセタキセル単独、またはhuN901-DM1単独の低用量での処置は、それぞれ、腫瘍の増殖が8日遅れと20日遅れの結果となった。対照的に、ドセタキセルおよびhuN901-DM1の組合せでの処置は、すべての処置された動物において、完全な腫瘍後退が生じるといって顕著な抗腫瘍効果を示した。この処置グループの6動物のうち3動物においては、腫瘍は撲滅し、200日間以上に渡って治癒の状態が続く結果であった。このグループの残りの3動物においては、腫瘍の増殖に52日の遅れがあったが、それは計算された付加的な効果より24日長い。このように、ドセタキセルおよびhuN901-DM1の組合せは、このヒトSCLC異種移植モデルにおいて予期しない卓越した(たとえば、相乗作用)抗腫瘍効果を示している。

【0090】

実施例5

低用量のhuN901-DM1、およびヒトの小細胞肺癌(SCLC)の治療のための認可されている薬剤の一つであるトポテカン(スミスクラインビーチャム製薬(Smithkline Beecham Pharmaceuticals)からHYCAMTIN(登録商標)として入手可能)の組合せの抗腫瘍効果は、確立されたSCLCの皮下の異種移植モデルにおいて評価を行った。SCIDマウス(24動物)にヒト小細胞肺癌SW-2細胞(8×10^6 細胞/動物)をマウスの右わき腹へ皮下注射して接種した。腫瘍が約80 mm^3 の大きさに達した時、マウスを無作為に4つのグループ(グループあたり6動物)に分けた。マウスの第1グループは、トポテカン(1.4 $\text{mg}/\text{kg} \times 5$ 、毎日)を静脈注射で投与する処置を行った。動物の第2グループは、huN901-DM1(DM1の投与量が100 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 5$ 、毎日)を静脈注射で投与する処置を行った。マウスの第3グループは、トポテカンおよびhuN901-DM1の組合せを受け、第1グループおよび第2グループと同じ投与量およびスケジュールを用いた。動物の対照グループは、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を第2グループの動物と同じスケジュールを用いて処置を受けた。腫瘍の増殖は、週に2回、腫瘍の大きさを測定することによりモニターされた。腫瘍の大きさは、式：長さ \times 幅 \times 高さ $\times 1/2$ を使って計算された。

【0091】

腫瘍の大きさの変化は図8に示す。動物の対照グループにおいては、腫瘍は44日間で約800 mm^3 まで増殖した。トポテカン単独での処置では、腫瘍の増殖が12日遅れという結果であった。huN901-DM1単独の低用量での処置では、6動物のうち3動物において腫瘍増殖の34日の遅れという結果であった。このグループの残りの3動物は、完全な腫瘍後退があった。トポテカンおよびhuN901-DM1の組合せでの処置では、処置された6動物のうち5動物において完全な腫瘍後退を生じるといって顕著な抗腫瘍効果が示された。これらの動物は、最後の測定ポイントである78日目において、腫瘍はなかった。このように、トポテカンおよびhuN901-DM1の組合せは、このヒトSCLC異種移植モデルにおいて、単独の薬剤と比較する場合、予期しないことに卓越している(たとえば、相乗作用)。

【0092】

実施例6

低用量のhuC242-DM1(米国特許第5,208,020号に記載の工程に従い、イミュノジェン社により製造されている。その米国特許の開示については、参照として完全に本明細書に組み入れられており、実施例1においてもまた記載されている。)およびパクリタキセル(シグマケミカル社、セントルイス、MO)の組合せの抗腫瘍効果は、確立された非小細胞肺癌の皮

10

20

30

40

50

下の異種移植モデルにおいて評価を行った。SCIDマウス(24動物)にヒト肺腺癌NCI-H441細胞(8×10^6 細胞/動物)をマウスの右わき腹へ皮下注射して接種した。腫瘍が約 125 mm^3 の大きさに達した時(腫瘍細胞接種後4日)、マウスを無作為に4つのグループ(グループあたり6動物)に分けた。マウスの第1グループは、パクリタキセル($15 \text{ mg/kg} \times 5$ 、二日毎)を腹腔内注射で投与する処置を行った。動物の第2グループは、huC242-DM1(DM1の投与量が $75 \text{ } \mu\text{g/kg} \times 5$ 、毎日)を静脈注射で投与する処置を行った。マウスの第3グループは、パクリタキセルおよびhuC242-DM1の組合せを受け、第1グループおよび第2グループと同じ投与量およびスケジュールを用いた。その組合せのグループにおいては、huC242-DM1複合体は、パクリタキセルの投与の2時間後に、投与された。動物の対照グループは、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を第2グループの動物と同じスケジュールを用いて受けた。腫瘍の増殖は、週に2回、腫瘍の大きさを測定することによりモニターされた。腫瘍の大きさは、式：長さ x 幅 x 高さ x 1/2を使って計算された。

【 0 0 9 3 】

腫瘍の大きさの変化は図9に示す。動物の対照グループにおいては、腫瘍は32日間で約 1000 mm^3 まで急速に増殖した。パクリタキセル単独での処置では、腫瘍の増殖に4日の小さな遅れを生じた。huC242-DM1での処置では、腫瘍の収縮を生じたが、処置された6動物のいずれも完全な腫瘍後退を示さなかった。パクリタキセルおよびhuC242-DM1の組合せでの処置では、完全な腫瘍後退を生じるといふ、より強い抗腫瘍効果を示し、6動物のうち3動物については、腫瘍の形跡はなかった。このグループの残りの3動物は、腫瘍の著しい収縮を示した。このように、パクリタキセルおよびhuC242-DM1の組合せは、このヒトSCLC肺腺癌異種移植モデルにおいて、予期しないことに卓越している(たとえば、相乗作用)。

【 0 0 9 4 】

実施例7

低用量のhuC242-DM1(米国特許第5,208,020号に記載の方法に従い、イミュノジェン社(Immunogen, Inc.)により製造されている。その米国特許の開示については、参照として完全に本明細書に組み入れられており、実施例1においてもまた記載されている。)およびパクリタキセル(シグマケミカル社、セントルイス、MO)の組合せの抗腫瘍効果は、確立された非小細胞肺癌の皮下の異種移植モデルにおいて評価を行った。SCIDマウス(32動物)にヒト結腸癌HT-29細胞(8×10^6 細胞/動物)をマウスの右わき腹へ皮下注射して接種した。腫瘍が約 80 mm^3 の大きさに達した時、マウスを無作為に4つのグループ(グループあたり8動物)に分けた。マウスの第1グループは、CPT-11($50 \text{ mg/kg} \times 2$ 、3日毎)を静脈注射で投与する処置を行った。動物の第2グループは、マウスC242-DM1(DM1の投与量が $75 \text{ } \mu\text{g/kg} \times 5$ 、毎日)を静脈注射で投与する処置を行った。マウスの第3グループは、CPT-11およびC242-DM1の組合せを受け、第1グループおよび第2グループと同じ投与量およびスケジュールを用いた。動物の対照グループは、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を第2グループの動物と同じスケジュールを用いて受けた。腫瘍の増殖は、週に2回、腫瘍の大きさを測定することによりモニターされた。腫瘍の大きさは、式：長さ x 幅 x 高さ x 1/2を使って計算された。

【 0 0 9 5 】

腫瘍の大きさの変化は図10に示す。動物の対照グループにおいては、腫瘍は31日間で約 1000 mm^3 まで急速に増殖した。CPT-11単独での処置では、腫瘍の増殖に6日の小さな遅れを生じた。C242-DM1での処置では、腫瘍の増殖に22日の遅れを生じた。CPT-11およびC242-DM1の組合せでの処置では、腫瘍の増殖に38日の遅れを生じ、それは計算される付加的な効果より10日長く、予期しない卓越した抗腫瘍効果を示した。このように、CPT-11およびC242-DM1の組合せは、このヒト結腸癌異種移植モデルにおいて、予期しないことに卓越している(たとえば、相乗作用)。

【 0 0 9 6 】

本明細書に引用されている各特許および出版物は、参照として本明細書に完全に組み入れられている。

【 0 0 9 7 】

10

20

30

40

50

本明細書に記載されているものに加えて、本発明のさまざまな変形は、前記の説明から当業者にとって明らかであると思われる。そのような変形は、従属クレームの範囲の中に含まれるものとする。

【図面の簡単な説明】

【図1】 メイタンシン(1a)およびメイタンシノール(1b)を示す。

【図2】 ジスルフィドを含むN-メチル-L-アラニンの誘導体の合成を示す。

【図3】 ジスルフィドおよびチオールを含む、メイタンシノイドの合成を示し、それはジスルフィドまたはチオエーテル結合もしくはチオエステル結合のような任意の他の硫黄を含む結合を介して、細胞結合剤に結合させることができる。この合成は、図2の中間体から始まる。

10

【図4A】 ジスルフィドおよびチオールを含むN-メチル-L-システインの誘導体の合成を示す。

【図4B】 図4aの中間体からのジスルフィドおよびチオールを含むメイタンシノイドの合成を示し、それはジスルフィドまたはチオエーテル結合もしくはチオエステル結合のような任意の他の硫黄を含む結合を介して、細胞結合剤に結合させることができる。

【図5】 SCIDマウスにおける小細胞肺癌異種移植片に対する、(i)対照、(ii)huN901-DM1、(iii)パクリタキセル、および(iv)huN901-DM1およびパクリタキセルの組合せの抗腫瘍活性を比較するグラフである。

【図6】 SCIDマウスにおける小細胞肺癌異種移植片に対する、(i)対照、(ii)huN901-DM1、(iii)シスプラチンおよびエトポシド、および(iv)huN901-DM1、シスプラチンおよびエトポシドの組合せの抗腫瘍活性を比較するグラフである。

20

【図7】 SCIDマウスにおける小細胞肺癌異種移植片に対する、(i)対照、(ii)huN901-DM1、(iii)ドセタキセル、および(iv)huN901-DM1およびドセタキセルの組合せの抗腫瘍活性を比較するグラフである。

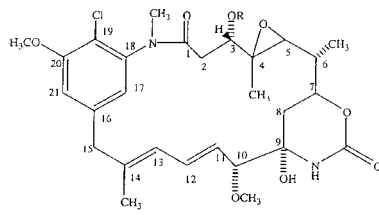
【図8】 SCIDマウスにおける小細胞肺癌異種移植片に対する、(i)対照、(ii)huN901-DM1、(iii)トポテカン、および(iv)huN901-DM1およびトポテカンの組合せの抗腫瘍活性を比較するグラフである。

【図9】 SCIDマウスにおけるヒト肺腺癌異種移植片に対する、(i)対照、(ii)huC242-DM1、(iii)パクリタキセル、および(iv)huC242-DM1およびパクリタキセルの組合せの抗腫瘍活性を比較するグラフである。

30

【図10】 SCIDマウスにおけるヒト結腸癌異種移植片に対する、(i)対照、(ii)huC242-DM1、(iii)CPT-11(イリノテカンとも呼ばれる)、および(iv)huC242-DM1およびCPT-11の組合せの抗腫瘍活性を比較するグラフである。

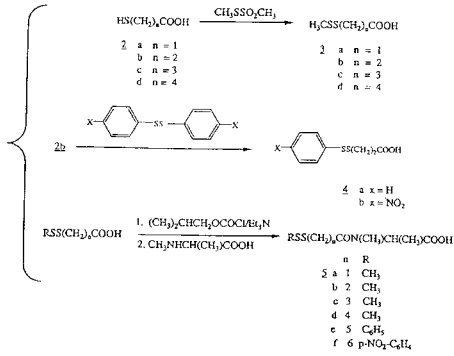
【 図 1 】



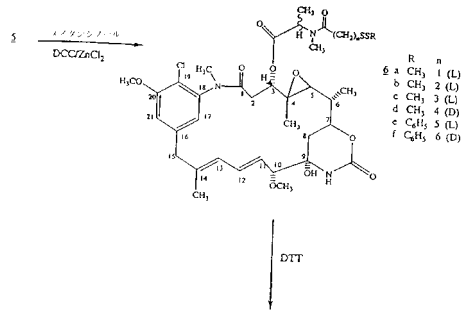
1a COCH(CH₃)N(CH₃)COCH₃

1b H

【 図 2 】

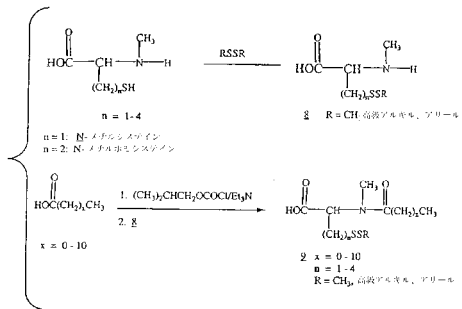


【 図 3 】

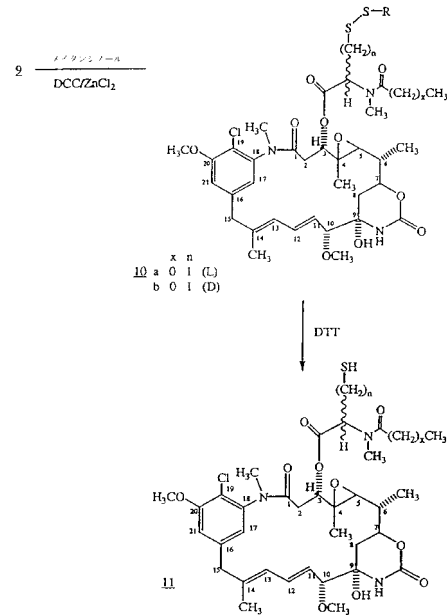


7 a 1 (L)
 b 2 (L)
 c 3 (L)

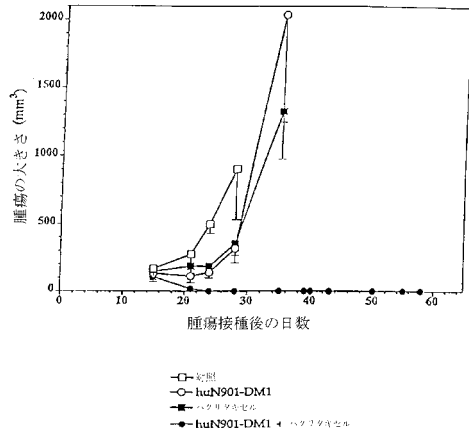
【 図 4 A 】



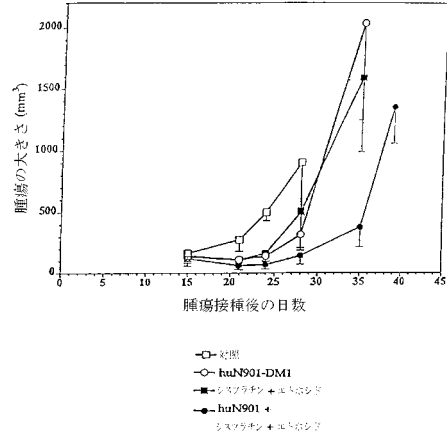
【 図 4 B 】



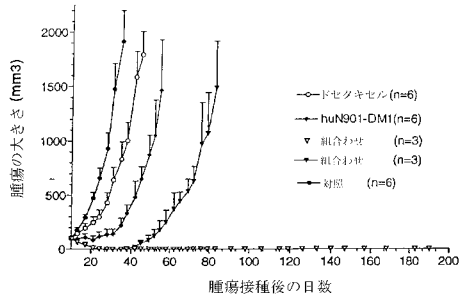
【 図 5 】



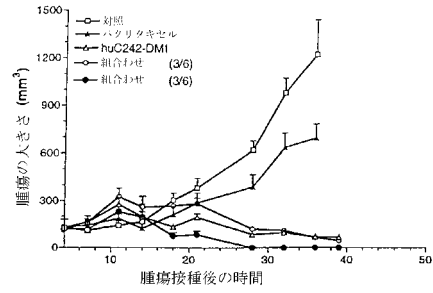
【 図 6 】



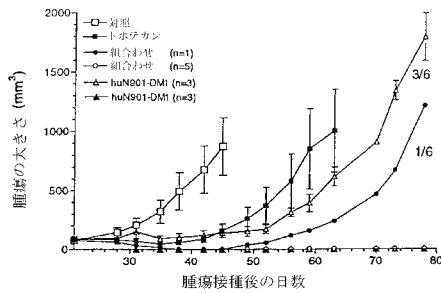
【 図 7 】



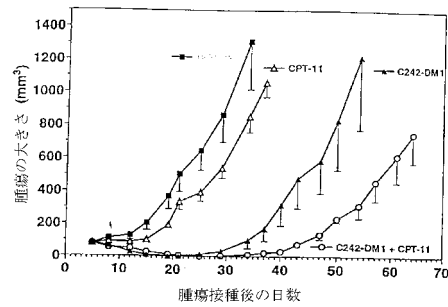
【 図 9 】



【 図 8 】



【 図 10 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 31/537	(2006.01)	A 6 1 K 31/537
A 6 1 K 31/7048	(2006.01)	A 6 1 K 31/7048
A 6 1 K 33/24	(2006.01)	A 6 1 K 33/24
A 6 1 K 38/00	(2006.01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/02	(2006.01)	A 6 1 P 37/02
C 0 7 K 16/32	(2006.01)	C 0 7 K 16/32

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(72)発明者 チャリー ラビ プイ. ジエイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ニュートン ウィンチェスター ストリート 174

合議体

審判長 内田 淳子

審判官 森井 隆信

審判官 穴吹 智子

(56)参考文献 特開昭62-195387(JP,A)
 国際公開第98/08506(WO,A1)
 特開昭58-167592(JP,A)
 特表2003-503365(JP,A)
 特表2002-543093(JP,A)
 特表2002-541088(JP,A)
 Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1996年8月,Vol.93,8618-8623
 Chest,1998年1月,Vol.113,86S-91S
 MEDICINAL RESEACH REVIEWS,1998年,Vol.18,No.4,
 259-296

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)

A61K 39/395

A61K 31/475

A61P 35/00

CAPLUS(STN)

MEDLINE(STN)

EMBASE(STN)

BIOSIS(STN)