

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年1月4日(04.01.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/005123 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61K 31/5513 (2006.01) C07D 519/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C12N 15/13 (2006.01)

PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2023/024125

(22) 国際出願日: 2023年6月29日(29.06.2023)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2022-105374 2022年6月30日(30.06.2022) JP

(71) 出願人: 東レ株式会社 (TORAY INDUSTRIES, INC.) [JP/JP]; 〒1038666 東京都中央区日本橋室町2丁目1番1号 Tokyo (JP).

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(72) 発明者: 岡野 文義 (OKANO Fumiyoshi); 〒2488555 神奈川県鎌倉市手広6丁目10番1号 東レ株式会社 基礎研究センター内 Kanagawa (JP). 齋藤 孝則 (SAITO Takanori); 〒2488555 神奈川県鎌倉市手広6丁目10番1号 東レ株式会社 基礎研究センター内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 岩見 知典 (IWAMI, Tomonori); 〒5208558 滋賀県大津市園山1丁目1番1号 株式会社東レ知的財産センター Shiga (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING AND/OR PREVENTING CANCER

(54) 発明の名称: 癌の治療及び/又は予防用医薬組成物

(57) Abstract: A conjugate, in which an antibody or a fragment thereof having immunological reactivity with a CAPRIN-1 protein that has an amino acid sequence represented by any one of the even numbered SEQ ID NOS: 2 to 30 or an amino acid sequence having 80% or more sequence identity with the aforesaid amino acid sequence is linked to a benzodiazepine, is useful as an antibody-drug conjugate (ADC).

(57) 要約: 配列番号2~30のうち偶数の配列番号のいずれかで表されるアミノ酸配列又は、該アミノ酸配列と80%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメントと、ベンゾジアゼピンが結合されるコンジュゲートは、抗体-薬物複合体(ADC)として有用である。



WO 2024/005123 A1

明 細 書

発明の名称： 癌の治療及び／又は予防用医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、CAPRIN-1タンパク質に対する抗体又はそのフラグメントとベンゾジアゼピンとのコンジュゲートと、それを用いた癌の治療及び／又は予防剤等としての医薬用途に関する。

背景技術

[0002] 癌細胞上の特異的抗原タンパク質を標的にした、各種抗体医薬は、その癌特異性から、副作用が少ない癌治療薬として癌治療に適用されている。例えば、多くの固形癌の細胞膜表面には、Cytopasmic-activation and proliferation-associated protein 1 (CAPRIN-1) が発現しており、このCAPRIN-1タンパク質に対する抗体が癌の治療及び／又は予防用医薬用途として有望であることが知られている（特許文献1）。

[0003] また、ベンゾジアゼピンは、特定のDNAの配列を認識して副溝 (DNA minor groove) へ結合し、DNAの合成を妨げて細胞の増殖を阻害することで抗腫瘍活性を発揮するものがあることが知られており、具体例として、ピロロベンゾジアゼピン (PBD)、インドリノベンゾジアゼピン (IGN)、ピリジノベンゾジアゼピン (PDD) が挙げられる。

[0004] 近年、癌に対する抗体医薬の薬効を増強する検討が進められ、特に、細胞に対して直接的に強い殺傷能力を有する薬物と抗体をコンジュゲートした、抗体-薬物複合体 (ADC) の開発が盛んに進められている（非特許文献1及び2）。ベンゾジアゼピンを用いたADCの成功例は数少ないが、CD19に対する抗体にPBDの誘導体の一つであるTesirine (SG3249の誘導体) が連結されたADCとしてZYNLONTA™ (loncastuximab tesirine-lypl) が大細胞型B細胞リンパ腫への適用が認められており、再発・難治性のびまん性大細胞型B細胞リン

パ腫（DLBCL）に対して48%以上の完全もしくは部分奏功が得られている。その他、DLL-3に対する抗体にTesirineが連結されたRovalpituzumab Tesirine、CD33に対する抗体にTalirineが連結されたVadastuximab Talirine（SGN-CD33A）、CD25に対する抗体にTesirineが連結されたCamidanlumab Tesirine（Cami）、CD70aに対する抗体にSGD-1882が結合されたSGN-CD70aなどが開発されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：WO2010/016526

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Lancet Oncol. 2016；17：e256-62

非特許文献2：Pharm Res. 2015 Nov；32（11）：3526-40

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 前述の通り、癌に対する抗体医薬の薬効を増強する目的でベンゾジアゼピンを利用したADCは既に実用化されているものの、成功例は一部の癌を対象としたものに限られており、また、抗腫瘍効果も限定的であった。

[0008] そこで、本発明はベンゾジアゼピンを利用したADCにおいて従来技術よりも抗腫瘍効果を増強することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者は鋭意研究の結果、CAPRIN-1タンパク質に対する抗体とベンゾジアゼピンとのコンジュゲートが、CAPRIN-1タンパク質に対する抗体又はそのフラグメント単独に比べて極めて強い抗腫瘍効果を発揮すること、さらにはCAPRIN-1タンパク質に対する抗体又はそのフラグ

メントにベンゾジアゼピンをコンジュゲートした場合の抗腫瘍効果の増強効果が、既存の癌抗体医薬にベンゾジアゼピンをコンジュゲートした場合の抗腫瘍効果の増強効果と比較して顕著に優れることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0010] 具体的には、本発明は以下の(1)～(15)の特徴を有する。

(1) 配列番号2～30のうち偶数の配列番号のいずれかで表されるアミノ酸配列又は、該アミノ酸配列と80%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメントと、ベンゾジアゼピンが結合されてなるコンジュゲート。

(2) 前記抗体又はそのフラグメントが、配列番号31～35、296～299、308、309のいずれかで表されるアミノ酸配列、あるいは該アミノ酸配列と80%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する、(1)に記載のコンジュゲート。

(3) 前記抗体がモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である、請求項1又は2に記載のコンジュゲート。

(4) 前記抗体又はそのフラグメントが以下の(A)～(M)のいずれかである、(1)～(3)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(A) 配列番号36、37及び38の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号40、41及び42の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント

(B) 配列番号44、45及び46の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号48、49及び50の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント

(C) 配列番号52、53及び54の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号56、57及び58の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント

(D) 配列番号60、61及び62の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号64、65及び66の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント

(E) 配列番号170、171及び172の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号173、174及び175の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(F) 配列番号176、177及び178の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号179、180及び181の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(G) 配列番号182、183及び184の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号185、186及び187の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(H) 配列番号188、189及び190の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号191、192及び193の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3

) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(I) 配列番号146、147及び148の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号149、150及び151の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(J) 配列番号272、273及び274の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号275、276及び277の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(K) 配列番号290、291及び292の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号293、294及び295の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(L) 配列番号301、302及び303の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号305、306及び307の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(M) 配列番号134、135及び136の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号137、138及び139の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(5) 前記抗体又はそのフラグメントが以下の(a)～(a1)のいずれか

である、(1)～(4)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(a) 重鎖可変領域が配列番号39のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号43のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(b) 重鎖可変領域が配列番号47のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号51のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(c) 重鎖可変領域が配列番号55のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号59のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(d) 重鎖可変領域が配列番号63のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号67のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(e) 重鎖可変領域が配列番号68のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号69のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(f) 重鎖可変領域が配列番号70のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号71のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(g) 重鎖可変領域が配列番号72のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号73のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(h) 重鎖可変領域が配列番号74のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号75のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(i) 重鎖可変領域が配列番号76のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号77のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(j) 重鎖可変領域が配列番号78のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号79のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(k) 重鎖可変領域が配列番号80のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号81のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(l) 重鎖可変領域が配列番号82のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号83のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(m) 重鎖可変領域が配列番号84のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号85のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(n) 重鎖可変領域が配列番号86のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変

領域が配列番号 87 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(o) 重鎖可変領域が配列番号 88 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 89 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(p) 重鎖可変領域が配列番号 90 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 91 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(q) 重鎖可変領域が配列番号 92 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 93 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(r) 重鎖可変領域が配列番号 94 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 95 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(s) 重鎖可変領域が配列番号 96 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 97 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(t) 重鎖可変領域が配列番号 98 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 99 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(u) 重鎖可変領域が配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 101 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(v) 重鎖可変領域が配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 103 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(w) 重鎖可変領域が配列番号 104 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 105 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(x) 重鎖可変領域が配列番号 106 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 107 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(y) 重鎖可変領域が配列番号 108 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 109 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(z) 重鎖可変領域が配列番号110のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号111のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a a) 重鎖可変領域が配列番号112のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号113のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a b) 重鎖可変領域が配列番号114のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号115のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a c) 重鎖可変領域が配列番号116のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号117のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a d) 重鎖可変領域が配列番号118のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号119のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a e) 重鎖可変領域が配列番号120のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号121のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a f) 重鎖可変領域が配列番号122のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号123のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a g) 重鎖可変領域が配列番号124のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号125のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a h) 重鎖可変領域が配列番号126のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号127のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a i) 重鎖可変領域が配列番号128のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖

可変領域が配列番号129のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(aj) 重鎖可変領域が配列番号130のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号131のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(ak) 重鎖可変領域が配列番号132のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号133のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(al) 重鎖可変領域が配列番号300のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号304のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(6) 前記抗体が、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体又は単鎖抗体である、(1)～(5)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(7) 前記抗体又はそのフラグメントとベンゾジアゼピンがリンカーを介して結合する、(1)～(6)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(8) 前記ベンゾジアゼピンが、抗腫瘍活性を有するベンゾジアゼピンである、(1)～(7)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(9) 前記抗腫瘍活性を有するベンゾジアゼピンが、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、インドリノベンゾジアゼピン(IGN)、ピリジノベンゾジアゼピン(PDD)又はイソキノリジノベンゾジアゼピン(IQB)である、(1)～(8)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(10) 前記ベンゾジアゼピンが、DSB-120、SJG-136(SG2000)、DC-81、DSB-120、SJG-136、SG2057、SG2202、SG2285、SGD-1882、SGD-1910、SG3199、SG3249、SG2219、IMGN779、IMGN632、(S)-N-(4-アミノフェニル)-4-(4-(4-(4-(2-メトキシ-1,2-オキソ-6a,7,8,9,10,12-ヘキサヒドロベンゾ[e]ピリド[1,2-a][1,4]ジアゼピン-3-イル)オキ

シ) ブタンアミド) -1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド) フェニル) -1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド、D211、D221、D231、GWL-78、KMR-28-39又はその誘導体である、(1)~(9)のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(11) 前記誘導体が、Tesirine (SG3249の誘導体)、Tallirine (SGD-1910の誘導体)、SG3364、SG3227、SG3140 (MC-Phe-Lys-PAB-SG2057)、SG3170、SG3203 (MC-Phe-Lys-PAB-SG2057)、SG3231、SG3400、SG3376、DGN642、DGN549、FGX5-67、FGX-2-62又はFGX11-38である、(10)に記載のコンジュゲート。

(12) (1)~(11)のいずれか1項に記載のコンジュゲートを有効成分として含む、癌の治療及び/又は予防のための医薬組成物。

(13) 前記癌がCAPRIN-1タンパク質を細胞膜表面に発現する癌である、(12)に記載の医薬組成物。

(14) 前記癌が、乳癌、腎癌、膵臓癌、大腸癌、肺癌、脳腫瘍、胃癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌、食道癌、白血病、リンパ腫、肝臓癌、胆嚢癌、胆管癌、肉腫、肥満細胞腫、メラノーマ、副腎皮質癌、ユーイング腫瘍、ホジキンリンパ腫、中皮腫、多発性骨髄腫、睾丸癌、甲状腺癌、頭頸部癌又は尿路上皮癌である、(12)又は(13)に記載の医薬組成物。

(15) (1)~(11)のいずれか1項に記載のコンジュゲート、又は、(12)~(14)のいずれか1項に記載の医薬組成物を、被験者に投与することを含む、癌の治療及び/又は予防方法。

発明の効果

[0011] 本発明に係るコンジュゲートは、CAPRIN-1タンパク質に対する抗体又はそのフラグメント単独に比べて極めて強い抗腫瘍効果を発揮するだけでなく、これまで知られている癌抗体医薬とベンゾジアゼピンとのコンジュゲートよりも顕著に優れた抗腫瘍効果を有する。また、CAPRIN-1タ

ンパク質に対する抗体又はそのフラグメントにベンゾジアゼピンをコンジュゲートさせることによる抗腫瘍効果の増強効果は、既存の癌抗体医薬にベンゾジアゼピンをコンジュゲートさせた場合の抗腫瘍効果の増強効果と比較しても顕著に優れる。したがって、本発明に係るコンジュゲートは癌の治療や予防に有効である。

発明を実施するための形態

- [0012] 本発明で用いられるCAPRIN-1タンパク質に対する抗体又はそのフラグメント（以下、「抗CAPRIN-1抗体」という。）とベンゾジアゼピンとのコンジュゲートの抗腫瘍活性は、後述するように生体内で担癌動物に対する腫瘍増殖の抑制を調べることによって評価することができる。
- [0013] 本発明において「コンジュゲート」とは、抗体とベンゾジアゼピンとが共有結合によって連結されたものをいう。抗体とベンゾジアゼピンとの結合にリンカーが介されたものであってもよい。
- [0014] 本発明に係る上記コンジュゲートを形成する抗CAPRIN-1抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体であってもよいが、好ましくはモノクローナル抗体である。また、本発明のコンジュゲートは、抗腫瘍活性を発揮しうる限り、いかなる種類の抗体であってもよく、組換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、非ヒト動物抗体であってもよい。
- [0015] 本発明に係る上記コンジュゲートを形成するベンゾジアゼピンは、特定のDNAの配列を認識して副溝（DNA minor groove）へ結合し、DNAの合成を妨げて細胞の増殖を阻害する作用によって癌細胞に対して毒性を有する物質のひとつとして知られている。
- [0016] また、本発明における癌の治療及び／又は予防の対象である被験者は、ヒト、ペット動物、家畜類、競技用動物等の哺乳動物であり、好ましい被験者はヒトである。
- [0017] 以下に本発明に関する、抗CAPRIN-1抗体、ベンゾジアゼピン、抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンとのコンジュゲート、コンジュゲートを用いた医薬組成物並びに癌の治療及び／又は予防方法について説明す

る。

[0018] <抗CAPRIN-1抗体>

本発明で用いられる抗CAPRIN-1抗体と免疫学的反応性を有する、配列番号2~30のうち偶数の配列番号のいずれかで表されるアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質のうち、配列番号6、8、10、12及び14で示されるアミノ酸配列はイヌのCAPRIN-1タンパク質のアミノ酸配列であり、配列番号2及び4で示されるアミノ酸配列はヒトのCAPRIN-1タンパク質のアミノ酸配列であり、配列番号16で示されるアミノ酸配列はウシのCAPRIN-1タンパク質のアミノ酸配列であり、配列番号18で示されるアミノ酸配列はウマのCAPRIN-1タンパク質のアミノ酸配列であり、配列番号20~28で示されるアミノ酸配列はマウスのCAPRIN-1タンパク質のアミノ酸配列であり、配列番号30で示されるアミノ酸配列はニワトリのCAPRIN-1タンパク質のアミノ酸配列である。

[0019] また、本発明で用いられる抗CAPRIN-1抗体は、前記配列番号2~30のうち偶数の配列番号のいずれかで表されるアミノ酸配列と80%以上、好ましくは90%以上、より好ましくは95%以上、さらに好ましくは99%以上の配列同一性を有するCAPRIN-1タンパク質のバリエーションと免疫学的反応性を有するものであってもよい。ここでいう「%配列同一性」は、2つの配列を、ギャップを導入するか又はギャップを導入しないで、最大の類似度となるようにアラインメント（整列）したとき、アミノ酸（又は塩基）の総数に対する同一アミノ酸（又は塩基）のパーセンテージ（%）を意味する。

[0020] 本発明においてコンジュゲートを作製するために用いる抗CAPRIN-1抗体とは、抗原であるCAPRIN-1タンパク質の全長又はその断片と免疫学的反応性を有する抗体又はその抗原結合性フラグメントを意味する。ここで、「免疫学的反応性」とは、生体内で抗体とCAPRIN-1タンパク質又はその部分ポリペプチドとが結合する特性を意味する。

- [0021] 本発明に用いる抗CAPRIN-1抗体は、モノクローナル抗体あるいはポリクローナル抗体であってもよい。
- [0022] CAPRIN-1タンパク質の全長又はその断片と免疫学的反応性を有するポリクローナル抗体（抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体）は、例えば天然のCAPRIN-1タンパク質、あるいはGSTなどとの融合タンパク質、又はその部分ペプチドをマウス、ヒト抗体産生マウス、ラット、ウサギ、ニワトリなどに免疫し、血清を得る。得られた血清を硫酸沈殿、プロテインA、プロテインG、DEAEイオン交換カラム、CAPRIN-1タンパク質や部分ペプチドを結合させたアフィニティーカラムなどにより得ることができる。
- [0023] 上記免疫に用いるCAPRIN-1タンパク質の全長又はその断片は、CAPRIN-1及びそのホモログの塩基配列及びアミノ酸配列は、例えば、GenBank（米国NCBI）にアクセスし、BLAST、FASTA等のアルゴリズム（Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:5873-5877, 1993; Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997）を利用することによって入手することができる。また、そのCAPRIN-1タンパク質の作製方法はWO2014/012479を参照することによって得ることができるし、CAPRIN-1タンパク質を発現する細胞等を用いることもできる。
- [0024] CAPRIN-1タンパク質の全長又はその断片と免疫学的反応性を有するモノクローナル抗体（抗CAPRIN-1モノクローナル抗体）は、例えば、CAPRIN-1を発現する乳癌細胞SK-BR-3やCAPRIN-1タンパク質の全長あるいはその断片などをマウスに投与して免疫し、同マウスより分離した脾臓細胞とミエローマ細胞を融合し、得られた融合細胞（ハイブリドーマ）から抗CAPRIN-1モノクローナル抗体を産生するクローンを選択することで得ることができる。選択されたハイブリドーマから産生される抗体は、前述したポリクローナル抗体の精製方法と同様の方法で

得ることができる。

[0025] 本発明に用いる抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、非ヒト動物抗体が含まれる。

[0026] ヒト抗体は、EBウイルスに感染したヒトリンパ球を、タンパク質、タンパク質発現細胞又はその溶解物で感作し、感作リンパ球をヒト由来のU266細胞などのミエローマ細胞と細胞融合させ、得られた融合細胞からCAPRI N-1タンパク質の全長又はその断片と免疫学的反応性を有する抗体を得ることができる。

[0027] ヒト化抗体とは、再構成 (reshaped) ヒト抗体とも称される改変抗体である。ヒト化抗体は、免疫動物由来の抗体の相補性決定領域を、ヒト抗体の相補性決定領域へ移植することによって構築される。その一般的な手法としての遺伝子組換え手法もよく知られた技術である。具体的には、例えば、マウス抗体、ウサギ抗体の相補性決定領域とヒト抗体のフレームワーク領域を連結するように設計したDNA配列を、末端部にオーバーラップする部分を有するように作製した数個のオリゴヌクレオチドからPCR法により合成する。得られたDNAを、ヒト抗体の定常領域をコードするDNAと連結して、発現ベクターに組み込んで、これを宿主に導入して産生させることによって得られる (EP239400、WO96/02576を参照)。相補性決定領域を介して連結されるヒト抗体のフレームワーク領域は、相補性決定領域が良好な抗原結合部位を形成するものが選択される。必要に応じ、再構成ヒト抗体の相補性決定領域が適切な抗原結合部位を形成するように抗体の可変領域におけるフレームワーク領域のアミノ酸を置換してもよい (Sato K. et al., Cancer Research 1993, 53:851-856)。また、様々なヒト抗体由来のフレームワーク領域に置換してもよい (WO99/51743を参照)。

[0028] 抗体は、通常少なくとも2本の重鎖及び2本の軽鎖を含むヘテロ多量糖タンパク質である。抗体は、2本の同一の軽鎖及び、2本の同一の重鎖で構成される。重鎖は一方の端に重鎖可変領域を有し、それにいくつかの定常領域

が続く。軽鎖は一方の端に軽鎖可変領域を有し、それにいくつかの定常領域が続く。可変領域は相補性決定領域（CDR）と呼ばれる特定の可変領域を示して抗体に結合特異性を付与する。可変領域に相対的に保存されている部分はフレームワーク領域（FR）と呼ばれている。完全な重鎖及び軽鎖の可変領域は、それぞれ3つのCDR（CDR1～CDR3）により連結された4つのFRを含む。

[0029] なお、ヒト由来重鎖及び軽鎖の定常領域及び可変領域の配列は、NCBI（米国：GenBank、UniGene等）から入手可能であり、例えば、ヒトIgG1の重鎖定常領域は、登録番号J00228、ヒトIgG2の重鎖定常領域は、登録番号J00230、ヒト軽鎖κ定常領域については登録番号V00557、X64135、X64133等、ヒト軽鎖λ定常領域については、登録番号X64132、X64134等の配列を参照することができる。

[0030] キメラ抗体は、異なる動物由来の配列を組み合わせて作製される抗体であり、例えば、マウス抗体の重鎖可変領域と軽鎖可変領域とヒト抗体の重鎖可変領域と軽鎖可変領域の定常領域からなる抗体等である。キメラ抗体の作製は公知の方法を用いて行うことができ、例えば、抗体V領域をコードするDNAとヒト抗体のC領域をコードするDNAを連結し、これを発現ベクターに組み込んで宿主に導入し産生させることにより得られる。

[0031] 非ヒト動物抗体は、公知の方法に従って、感作抗原を動物に免疫する、一般的な方法として、感作抗原をマウスなどの動物の腹腔内又、皮内あるいは皮下に注射することにより得られる。感作抗原を注射する際には、CFA（フロイント完全アジュバント）をはじめとする各種アジュバントと適量混合して動物に複数回投与する。動物を免疫し、血清中に抗CAPRIN-1抗体が含まれていることを確認した後に血清を得て、前述の通り、硫酸沈殿、プロテインA、プロテインG、DEAEイオン交換カラム、CAPRIN-1タンパク質や部分ペプチドを結合させたアフィニティーカラムなどにより得ることができる。また、非ヒト動物からモノクローナル抗体を得る場合に

は、免疫した動物から免疫細胞を採取し、ミエローマ細胞と細胞融合に付することで得ることができる。前記免疫細胞とミエローマ細胞との細胞融合は公知の方法に準じて行うことができる (Kohler, G. and Milstein, C. *Methods Enzymol.* (1981) 73, 3-46を参照)。

[0032] 本発明で用いる抗体は、抗体遺伝子をハイブリドーマからクローニングし、適当なベクターに組み込んで、これを宿主に導入して、遺伝子組換え技術を用いて産生させた遺伝子組換え型抗体としても得ることができる (Carl, A. K., Borrebaeck, James, W. Larrick, *THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES*, Published in the United Kingdom by MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990を参照)。

[0033] 本発明のコンジュゲートを得るために用いる抗CAPRIN-1抗体は、可変領域 (例えば、FR) や定常領域中のアミノ酸を他のアミノ酸に置換されたものであってもよい。アミノ酸置換は、1もしくは複数個、例えば、15未満、10未満、8以下、6以下、5以下、4以下、3以下又は2以下のアミノ酸、好ましくは1~9アミノ酸の置換であり、置換された抗体は、未置換抗体に比べて、抗原へ特異的に結合する性質、抗原への結合親和性が同等あるいはそれ以上であり、ヒトへの適用時に拒絶反応を起こさない抗体であるべきである。

[0034] 本発明で用いる抗CAPRIN-1抗体は、癌細胞表面上のCAPRIN-1タンパク質との結合親和性が高いほうが、より強い抗腫瘍効果が期待できる。結合定数 (親和定数) K_a (k_{on}/k_{off}) が、好ましくは、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{12} M^{-1}$ 、あるいは、少なくとも $10^{13} M^{-1}$ であることが

望ましい。

- [0035] 本発明に用いる抗CAPRIN-1抗体は、抗体の重鎖定常領域のアミノ酸を1個、2個もしくは数個置換する、あるいは、重鎖定常領域に結合するN-グリコシド結合糖鎖中のN-アセチルグルコサミンに結合しているフコースを除去することで、抗CAPRIN-1抗体のエフェクター細胞に対する結合力を向上させることができる。上記はアミノ酸置換単独であってもよいし、また、フコースが結合している抗体との組成物であってもよい。
- [0036] 重鎖定常領域のアミノ酸を1個、2個もしくは数個置換された抗体は、例えばWO2004/063351、WO2011/120135、米国特許8388955、WO2011/005481、米国特許6737056、WO2005/063351を参照して作製することができる。
- [0037] 重鎖定常領域中のN-グリコシド結合糖鎖中のN-アセチルグルコサミンに付加しているフコースが除去された抗体又はその産生細胞は、米国特許6602684号、欧州特許1914244、米国特許7579170を参照して作製することができる。重鎖定常領域に結合するN-グリコシド結合糖鎖中のN-アセチルグルコサミンに結合しているフコースを除去した抗体とフコースが結合している抗体の組成物又はその産生細胞は、例えば、米国特許8642292号を参照して作製することができる。
- [0038] 本発明で用いられる抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体、抗CAPRIN-1モノクローナル抗体、抗体の作製方法、精製方法及び免疫に用いるCAPRIN-1タンパク質あるいはその部分ポリペプチドの作製方法は、WO2010/016526、WO2011/096517、WO2011/096528、WO2011/096519、WO2011/096533、WO2011/096534、WO2011/096535、WO2013/018886、WO2013/018894、WO2013/018892、WO2013/018891、WO2013/018889、WO2013/018883、WO2013/125636、WO2013/125654、WO2013/125630、WO2013/125640、

WO2013/147169、WO2013/147176及びWO2015/020212を参照して得ることができる。

[0039] 本発明における抗CAPRIN-1抗体の具体例としては、前述のWO2010/016526、WO2011/096517、WO2011/096528、WO2011/096519、WO2011/096533、WO2011/096534、WO2011/096535、WO2013/018886、WO2013/018894、WO2013/018892、WO2013/018891、WO2013/018889、WO2013/018883、WO2013/125636、WO2013/125654、WO2013/125630、WO2013/125640、WO2013/147169、WO2013/147176及びWO2015/020212に記載の抗CAPRIN-1抗体が挙げられるが、好ましい抗CAPRIN-1抗体としては以下のものが挙げられる。

[0040] 配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列あるいは該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、よりさらに好ましくは99%以上）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。

[0041] 配列番号31で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは配列番号36、37及び38の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号40、41及び42の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント、あるいは、配列番号140、141及び142の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCD

R 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 1 4 3、1 4 4 及び 1 4 5 の相補性決定領域 (それぞれ C D R 1、C D R 2 及び C D R 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、C A P R I N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント、あるいは、配列番号 1 6 4、1 6 5 及び 1 6 6 の相補性決定領域 (それぞれ C D R 1、C D R 2 及び C D R 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 1 6 7、1 6 8 及び 1 6 9 の相補性決定領域 (それぞれ C D R 1、C D R 2 及び C D R 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、C A P R I N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント、あるいは、重鎖可変領域が配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 7 1 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント、あるいは、重鎖可変領域が配列番号 7 8 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 7 9 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0042] 配列番号 3 3 で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と 8 0 % 以上 (好ましくは 8 5 % 以上、より好ましくは 9 0 % 以上、さらに好ましくは 9 5 % 以上) の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する C A P R I N-1 タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは、配列番号 6 0、6 1 及び 6 2 の相補性決定領域 (それぞれ C D R 1、C D R 2 及び C D R 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 6 4、6 5 及び 6 6 の相補性決定領域 (それぞれ C D R 1、C D R 2 及び C D R 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、C A P R I N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0043] 配列番号 3 2 で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と 8 0 % 以上 (好ましくは 8 5 % 以上、より好ましくは 9 0 % 以上、さらに好ましくは 9 5

%以上)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは、配列番号52、53及び54の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号56、57及び58の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号55のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号59のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0044] 配列番号34で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上(好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは、配列番号170、171及び172の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号173、174及び175の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント、あるいは、配列番号176、177及び178の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号179、180及び181の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号80のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号81のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント、あるいは、重鎖可変領域が配列番号82のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号83のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0045] 配列番号35で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上(

好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは、配列番号182、183及び184の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号185、186及び187の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント、あるいは、配列番号188、189及び190の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号191、192及び193の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号84のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号85のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント、あるいは、重鎖可変領域が配列番号86のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号87のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0046] 配列番号44、45及び46の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号48、49及び50の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは、重鎖可変領域が配列番号47のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号51のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0047] 配列番号296で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上(好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグ

メント。好ましくは配列番号146、147及び148の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号149、150及び151の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号72のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号73のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0048] 配列番号297で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは配列番号272、273及び274の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号275、276及び277の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号114のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号115のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0049] 配列番号298で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは配列番号290、291及び292の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号293、294及び295の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましく

は、重鎖可変領域が配列番号120のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号121のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0050] 配列番号299で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは配列番号301、302及び303の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号305、306及び307の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号300のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号304のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0051] 配列番号308で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは配列番号134、135及び136の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む重鎖可変領域と配列番号137、138及び139の相補性決定領域（それぞれCDR1、CDR2及びCDR3）を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号68のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号69のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0052] 配列番号309で表されるアミノ酸配列又は該アミノ酸配列と80%以上（好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは9

5%以上)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。好ましくは配列番号134、135及び136の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号137、138及び139の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント。より好ましくは、重鎖可変領域が配列番号68のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号69のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0053] また、以下の抗CAPRIN-1抗体も好ましく用いられる。

[0054] 重鎖可変領域が配列番号68のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号69のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0055] 重鎖可変領域が配列番号70のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号71のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0056] 重鎖可変領域が配列番号72のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号73のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0057] 重鎖可変領域が配列番号74のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号75のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0058] 重鎖可変領域が配列番号76のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号77のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0059] 重鎖可変領域が配列番号78のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号79のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0060] 重鎖可変領域が配列番号80のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号81のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0061] 重鎖可変領域が配列番号82のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号83のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0062] 重鎖可変領域が配列番号84のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号85のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

- [0063] 重鎖可変領域が配列番号 86 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 87 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0064] 重鎖可変領域が配列番号 88 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 89 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0065] 重鎖可変領域が配列番号 90 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 91 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0066] 重鎖可変領域が配列番号 92 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 93 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0067] 重鎖可変領域が配列番号 94 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 95 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0068] 重鎖可変領域が配列番号 96 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 97 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0069] 重鎖可変領域が配列番号 98 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 99 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- [0070] 重鎖可変領域が配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 101 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- 。
- [0071] 重鎖可変領域が配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 103 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- 。
- [0072] 重鎖可変領域が配列番号 104 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 105 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- 。
- [0073] 重鎖可変領域が配列番号 106 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 107 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。
- 。
- [0074] 重鎖可変領域が配列番号 108 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 109 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

-
- [0075] 重鎖可変領域が配列番号110のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号111のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0076] 重鎖可変領域が配列番号112のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号113のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0077] 重鎖可変領域が配列番号114のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号115のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0078] 重鎖可変領域が配列番号116のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号117のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0079] 重鎖可変領域が配列番号118のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号119のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0080] 重鎖可変領域が配列番号120のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号121のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0081] 重鎖可変領域が配列番号122のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号123のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0082] 重鎖可変領域が配列番号124のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号125のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-
- [0083] 重鎖可変領域が配列番号126のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号127のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント
-

[0084] 重鎖可変領域が配列番号128のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号129のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0085] 重鎖可変領域が配列番号130のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号131のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0086] 重鎖可変領域が配列番号132のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号133のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0087] 重鎖可変領域が配列番号300のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号304のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント。

[0088] 後述の実施例では、CAPRIN-1タンパク質の全長、癌細胞の細胞膜表面に発現する領域の一部のポリペプチドに対する上記ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体を用いて微小管調節剤とのコンジュゲートが作製され、その強い抗腫瘍効果が確認された。

[0089] <ベンゾジアゼピン>

ベンゾジアゼピンには、特定のDNAの配列を認識して副溝 (DNA minor groove) へ結合し、DNAの合成を妨げて細胞の増殖を阻害することによって抗腫瘍効果を発揮しうるものがあることが知られており、本発明ではこのような抗腫瘍活性を有するベンゾジアゼピンが好ましく用いられる。

[0090] 抗腫瘍活性を有するベンゾジアゼピンの具体例としては、ピロロベンゾジアゼピン (PBD)、インドリノベンゾジアゼピン (IGN)、ピリジノベンゾジアゼピン (PDD) 又はイソキノリジノベンゾジアゼピン (IQB) が挙げられる。

[0091] PBDは、芳香環A (A ring)、環B (B ring)、ピロロ環C (C ring) を有しており、環BではN10-N11の位置がイミン

(N=C)、カルビノールアミン(NH-CH(OH))又はカルビノールアミンメチルエーテル(NH-CH(OMe))のいずれかとなっている。また、PBDは、C2-不飽和PBD二量体、C2アリール置換をもつPBD二量体、ポリピロール-PBDといった構造をとりうる。PBDには、DNAの特定の配列を認識して結合する能力があり、好ましい配列は、5' PuG Pu 3' である。

[0092] PBDの具体例としては、抗腫瘍性の抗生物質である Anthramycin (アントラマイシン) とその類似体が挙げられる。アントラマイシンの類似体には、Abbeymycin (アベイマイシン)、Chicamycin (チカマイシン)、Mazethramycin (マゼトラマイシン)、Neothramycin A (ネオトラマイシンA)、Meothramycin B (ネオトラマイシンB)、Porothramycin (ポロトラマイシン)、Prothracarcin (プロトラカルシン)、Sibanomicin (シバノミシン) (DC-102)、Sibiromycin (シビロマイシン) ならびに Tomamycin (トママイシン)、Didehydroanhydroanthramycin、Spadicomycin、DC-81 が含まれる。

[0093] また、PBDの具体例としては、“Mantaj, J et al. 2016 Angew. Chem. Int Ed. 55, 2-29; D. Antonow and D. Thurston, Chem. Rev. 2011”、“Leanna et al. J. Med. Chem. 2020, 63, 9603-9622”、“Jhon et al. Expert Opinion on Biological Therapy Vol 21, 2021, 931-943”、“Julia et al. Angew Chem Int Ed Engl. 2017 Jan 9; 56 (2) : 462-488” に記載の化合物が挙げられる。

[0094] PBDとリンカーの複合化合物の具体例としては、WO1993/018045、WO2000/046228、WO2002/083682、WO

2005/040170、WO2005/110423、WO2005/085251、WO2006/135687、WO2010/043880、WO2013/055990、WO2013/055993、WO2014/057072、WO2014/159981、WO2014/057120、WO2015/052532、WO2015/181559、WO2017/020972、WO2017/059289、WO2017/137555、WO2017/137556、WO2017/186894、WO2018/031662、WO2018/069490、WO2018/091646、WO2018/146188、WO2018/146189、WO2018/18234、WO2018/192944、WO2019/034764、WO2019/065964、WO2019/096788、WO2019/104289、WO2019/126691、WO2019/224340、WO2020/006722、WO2020/079229、WO2020/079239、WO2020/100954、WO2020/141923、WO2020/152462、WO2020/1964474、WO2020/196712、WO2021/137646、WO2022/063853、WO2016/083468、WO2014/057073、WO2014/057113、WO2014/057114、WO2014/057115、WO2014/057117、WO2014/057118、WO2014/057119、WO2014/057120、WO2014/057122、米国特許4316900、WO2020/245283、WO2019/197602、WO2004/043963、WO2005/085260、WO2006/111759、WO2010/010347、WO2010/043877、WO2011/128650、WO2011/130598、WO2011/130613、WO2011/130616、WO2013/041606、WO2013/053871、WO2013/053873、WO2013/055987、WO2013/053872、WO2013/164593、WO20

13/164592、WO2014/096368、WO2014/140862、WO2014/140174、WO2015/052322、WO2015/052532、WO2015/052533、WO2015/052534、WO2015/052535、WO2016/038383、WO2016/037644、WO2016/044560、WO2017/137553、WO2017/129652、WO2017/223275、WO2018/146199、WO2018/182341に記載の化合物が挙げられる。

[0095] IGNおよびIGNとリンカーの複合化合物としては、WO2017/015495、WO2017/015496、WO2012/128868、WO2012/112687、WO2012/112708、WO2016/036801、WO2017/015502、WO2012/112708、WO2018/140435、WO2018/195245、WO2018/098258、WO2010/091150、WO2016/036804、WO2019/133652、WO2020102051、WO2020/102053、WO2020/205564に記載の化合物が挙げられる。

[0096] PDDおよびPDDとリンカーの複合化合物としては、WO2012/152915、WO2015/166289、WO2017/032983、WO2016/198869、WO2017/194960、WO2019/043417、WO2020/049286、WO2020/157491、WO2022/023735に記載の化合物が挙げられる。

[0097] IQBおよびIQBとリンカーの複合化合物としては、WO2016/149546、WO2018/071455、WO2018/053552、WO2017/011803、WO2017/091615、米国特許9974864、米国特許9504694、米国特許10350218に記載の化合物が挙げられる。

[0098] 本発明で用いられるベンゾジアゼピンは、モノマーであっても、ダイマー

であってよい。ダイマーの場合、ホモダイマーの他に、他の抗腫瘍性化合物とのヘテロダイマーであってもよい。そのダイマーは、ベンゾジアゼピンの8番目、7番目又は2番目の炭素を介して互いに結合するダイマーであってもよい。

[0099] 本発明で好ましく用いられるベンゾジアゼピンとしては、DSB-120、SJG-136 (SG2000)、DC-81、DSB-120、SJG-136、SG2057、SG2202、SG2285、SGD-1882、SGD-1910、SG3199、SG3249、SG2219、IMGN779、IMGN632、(S)-N-(4-アミノフェニル)-4-(4-(4-(4-(2-メトキシ-12-オキソ-6a, 7, 8, 9, 10, 12-ヘキサヒドロベンゾ[e]ピリド[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-3-イル)オキシ)ブタンアミド)-1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド)フェニル)-1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド、D211、D221、D231、GWL-78、KMR-28-39又はその誘導体である。

[0100] また、前記誘導体としては、前記化合物にリンカーが結合した誘導体であることが好ましく、具体例としては、Tesirine (SG3249の誘導体)、Talirine (SGD-1910の誘導体)、SG3364、SG3227、SG3140 (MC-Phe-Lys-PAB-SG2057)、SG3170、SG3203 (MC-Phe-Lys-PAB-SG2057)、SG3231、SG3400、SG3376、DGN642、DGN549、FGX5-67、FGX-2-62、FGX11-38が挙げられる。

[0101] <抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンのコンジュゲート>

本発明において、抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンのコンジュゲートにおける抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンの結合の形態は、癌に対する抗腫瘍活性を維持しうる形態であれば特に制限はないが、抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンとの間にリンカー構造が形成される

結合の形態であることが好ましい。

- [0102] ここで、リンカーとは、抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンを結合しうる化合物を意味する。各種公知のリンカーを用いてもよいし、活性化因子側の構造に適当な化学修飾が施し、直接結合してもよい。
- [0103] リンカーの種類及び結合方法の詳細は公知の方法に準じて行うことができる（例えば、Greg T. Hermanson Bioconjugate Techniques, Third Edition、WO2004/010957、WO2014/012479を参照）。
- [0104] 本発明の実施形態において、抗CAPRIN-1抗体、ベンゾジアゼピン及びリンカーに付属する反応基には、以下のものが挙げられる。
- [0105] 抗体のアミノ酸配列あるいはアミノ酸に修飾されている糖タンパク質に付属する反応基としては、特別な化学的修飾がなされていない限り、第一級アミン（ ϵ -アミノ）、カルボキシル、チオール（スルフヒドリル）、カルボニル（ケトン又はアルデヒド）及びヒドロキシルが挙げられる。第一級アミンは、ポリペプチドのN末端や、リジン残基の側鎖に存在し、生理的条件下で正電荷であり、通常はタンパク質の外側に存在しているためタンパク質の構造を変成させずに結合に用いることができる。カルボキシルは、ポリペプチドのC末端や、アスパラギン酸及びグルタミン酸の側鎖に存在する。スルフヒドリルは、システインの側鎖に存在し、タンパク質の高次構造を維持するジスルフィド結合を形成している。ケトン又はアルデヒドは、メタ過ヨウ素酸ナトリウムでグリコシルを酸化させることによって糖タンパク質中で作製される。
- [0106] 本発明のコンジュゲートは、抗体にある前記反応基に結合させたリンカーにベンゾジアゼピンを結合させる、ベンゾジアゼピンに結合させたリンカーにベンゾジアゼピンを結合させる、あるいは直接抗体へベンゾジアゼピンを結合させることによって作製される。
- [0107] PBD及びリンカーに付属する前記反応基の具体例としては以下のものが挙げられる。

- [0108] アミンへ反応しうる反応基であるN-ヒドロキシスクシニミド (NHS) エステル、イミドエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、ヒドロキシメチルホスフィン、イソチオシアネート、イソシアネート、アシルアジド、N-ヒドロキシルエステル、スルホニルクロリド、アルデヒド、グリオキサール、エポキシド、オキシラン、カーボネート、アリール、カルボジイミド及び無水カルボン酸。
- [0109] カルボキシル及びアミンへ反応しうる反応基であるカルボジイミド、ジアゾアルカン、ジアゾアセチル化合物、カルボニルジイミダゾール。
- [0110] チオールへ反応しうる反応基であるマレイミド、ハロアセトアミド、ピリジルジスルフィド、チオスルホン、ビニルスルホン、ヘイローアセチル、アジリジン、アクリロイル、アリール。
- [0111] アルデヒドへ反応しうる反応基であるヒドラジド、アルコキシアミン。ヒドロキシルへ反応しうる反応基であるエポキシ、オキシラン、カルボニルジイミダゾール、N, N' -ジスクシイミジルカーボネート、N-ヒドロキシスクシニイミジルクロロホルメート、イソシアネート。
- [0112] ヒドロキシルへ反応しうる反応基であるイソシアネート。
- [0113] 光反応性の反応基としてジアジリン、アリールアジド、アリール、ベンゾフェノール、ジアゾ化合物。
- [0114] 上記反応基を有するリンカーとしては、具体的に以下のものが挙げられる。
- [0115] 同一の反応基末端を有するリンカーとして、N-ヒドロキシスクシイミドエステルを反応基とするリンカー (例えば、Disuccinimidyl Glutarate (DSG)、Disuccinimidyl Suberate (DSS)、Bis(sulfosuccinimidyl) Suberate (BS3)、Tris-(Succinimidyl) Amino triacetate (TSAT)、PEGylated Bis(Sulfosuccinimidyl) Suberate (BS(PEG)₅、BS(PEG)₉)、Dithiobis(Succinimidyl

Propionate) (DSP)、3, 3'-dithiobis(sulfosuccinimidyl propionate) (DTSSP)、ethylene glycol bis(succinimidyl succinate) (EGS)、Sulfo-ethylene glycol bis(succinimidyl succinate) (Sulfo-EGS)、Dimethyl adipimidate·2HCl (DMA)、Dimethyl pimelimidate·2HCl (DMP)、Dimethyl suberimidate·2HCl (DMS)、Dimethyl 3, 3'-dithiobispropionimidate·2HCl (DTBP)、1, 5-difluoro-2, 4-dinitrobenzene (DFDNB)、Disuccinimidyl tartrate (DST)、Bis[2-(Succinimidoxycarbonyloxy)ethyl] Sulfone (BSOCOES) 及びマレイミドを反応基とするリンカー（例えばBismaleimidoethane (BMOE)、1, 4-bismaleimidobutane (BMB)、Bismaleimidohexane (BMH)、Tris(2-maleimidoethyl) amine (TMEA)、1, 8-bismaleimido-(PEG)₂ (BM(PEG)₂)、1, 8-bismaleimido-(PEG)₃ (BM(PEG)₃)、Dithiobismaleimidoethane (DTME) が用いられる。

[0116] 異なる反応基末端を有する主なリンカーとしては、NHSエステルとマレイミドを反応基とするリンカー（例えば、AMAS、BMPS、GMBS、Sulfo-MBS、MBS、Sulfo-MBS、SMCC、Sulfo-SMCC、EMCS、Sulfo-EMCS、SMPB、Sulfo-SMPB、SMPH、LC-SMCC、Sulfo-KMUS、SM(PEG)₂、SM(PEG)₄、SM(PEG)₆、SM(PEG)₈、SM(PEG)₁₂、SM(PEG)₂₄)、NHSエステルとピリジルジチオールを反応基とするリンカー（例えば、SPDP、LC-SPDP、Sulfo-LC-

SPDP、SMPT、(PEG)₄SPDP、PEG12-SPDP)、NHSEステルとハロアセチルを反応基とするリンカー(例えば、SIA、SBAP、SIAB、Sulfo-SIAB)、NHSEステルとアリアルジドを反応基とするリンカー(例えば、ANB-NOS、Sulfo-SANPAH、ATFB)、NHSEステルとジアジリンを反応基とするリンカー(例えば、SDA、Sulfo-SDA、LC-SDA、SDAD、Sulfo-SDAD)、カルボジイミドを反応基とするリンカー(例えば、DCC、EDC、EDAC、NHS、Sulfo-NHS)、マレイミドとヒドラジドを反応基とするリンカー(例えば、BMPH、EMCH、MPBH、KMUH)、ピリジルジチオールとヒドラジドを反応基とするリンカー(例えば、PDPH)、イソシアネートとマレイミドを反応基とするリンカー(例えば、PMP1)及びNHSEステルとソラレンを反応基とするリンカー(例えば、SPB)が用いられる。

[0117] その他のリンカーとして、ポリペプチドを含むリンカー、例えばFmoc-Ala-Ala-Asn-PAB、Fmoc-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB、Fmoc-PEG₃-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB、Fmoc-PEG₄-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB、Fmoc-Ala-Ala-Asn-PAB-PNP、Fmoc-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB-PNP、Fmoc-PEG₃-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB-PNP、Azide-PEG₄-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB-PNP、Mal-PEG₄-Ala-Ala-Asn(Trt)-PAB-PNP、Fmoc-Val-Cit-PAB-OH、Val-Cit-PAB-OH、Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP、MC-Val-Cit-PAB、MC-Val-Cit-PAB-PNPなどが用いられる。

[0118] また、Bis-PEG-acid、PEG Acid(例えば、Acid-PEG-TEMPO、Amino-PEG-acid、Amino-PEG-CH₂CO₂H、Aminoxy-PEG-acid、Azido-PE

G-acid, Carboxy-PEG-sulfonic acid, Fmoc-N-amido-PEG-acid, Fmoc-N-amido-PEG-CH₂CO₂H, Fmoc-aminooxy-PEG-acid, Hydroxy-PEG-acid, Hydroxy-PEG-CH₂CO₂H, m-PEG-acid, m-PEG-(CH₂)₃-acid, Methoxytrityl-N-PEG-acid, N-methyl-N-(t-Boc)-PEG-acid, Propargyl-PEG-acid, Propargyl-PEG-CH₂CO₂H, Propargyl-PEG-(CH₂)₃-acid, t-Boc-N-amido-PEG-acid, t-Boc-N-amido-PEG-CH₂CO₂H, t-Boc-Aminoxy-PEG-acid, Acid-PEG-PFP ester, Miscellaneous PEG acid,) , PEG PFP ester (例えば、Acid-PEG-PFP ester, Bis-PEG-PFP ester), Bis-PEG-NHS, PEG Aldehyde (例えば、m-PEG-aldehyde, m-PEG-benzaldehyde, Ald-PEG-acid, Ald-PEG-amine, Ald-PEG-azide, Ald-PEG-NH-Boc, Ald-PEG-NHS ester, Ald-PEG-TFP ester, Ald-PEG-t-butyl ester), PEG Tosylate (例えば、Azido-PEG-Tos, Hydroxy-PEG-Tos, m-PEG-Tos, t-Boc-Aminoxy-PEG-Tos, Trifluoroethyl-PEG-Tos, Tos-PEG-acid, Tos-PEG-CH₂CO₂H, Tos-PEG-alkyne, Tos-PEG-t-butyl ester, Tos-PEG-CH₂CO₂tBu, Tos-PEG-Tos, S-acetyl-PEG₆-Tos, N-Tos-N-(t-butoxycarbonyl)-aminoxy-PEG₄-Tos, Ms-PEG-Ms, Ms-PEG-t-butyl ester, PEG-Ms, Propargyl-PEG-Ms), Boc

-PEG (例えば、Amino-PEG-t-Boc-Hydrazide、Azido-PEG-t-Boc-Hydrazide、Boc-NH-PEG-NH-Boc、Bromoacetamido-PEG-Boc-amine、m-PEG-ONHBoc、Mal-Alkyl-t-Boc-amine、N-Boc-PEG-alcohol、N-Boc-PEG-bromide、N-methyl-N-(t-Boc)-PEG-acid、t-Boc-N-amido-PEG-acid、t-Boc-N-amido-PEG-CH₂CO₂H、t-Boc-N-Amido-PEG-amine、t-Boc-N-amido-PEG-azide、t-Boc-N-amido-PEG-NHS ester、t-Boc-N-amido-PEG-sulfonic acid)、PEG NHS ester (例えば、Acid-PEG-NHS ester、Azido-PEG-NHS ester、Bis-PEG-NHS、Fmoc-PEG-NHS ester、m-PEG-NHS ester、m-PEG-NHS Carbonate、Mal-PEG-NHS ester、Propargyl-PEG-NHS ester、t-Boc-N-amido-PEG-NHS ester、t-Butoxycarbonyl-PEG-NHS ester)、Fmoc-PEG (例えば、Fmoc-N-amido-PEG-acid、Fmoc-NH-PEG-CH₂CO₂H、Fmoc-PEG-NHS ester)、Biotin PEG (例えば、Biotin PEG-acid、Biotin PEG-alcohol、Biotin PEG-alkyne、Biotin PEG-amine、Biotin PEG-azide、Biotin PEG-DBCO、Biotin PEG-hydrazide、Biotin-PEG-Mal、Biotin-PEG-NHS、Biotin-EDA-PEG-NHS、Biotin-PEG-oxyamine、Biotin-PEG-PFP、Biotin-EDA-PEG-PFP、Biotin-PEG-Tetrazine、Biotin-PEG-TFP、Azide-SS-b

iotin, Biotin-PEG₃-SS-azide, DBCO-S-S-PEG₃-Biotin, Dde Biotin-PEG₄-Alkyne, Dde Biotin-PEG₄-Azide, Dde Biotin-PEG₄-DBCO, Diazo Biotin-PEG₃-Alkyne, Diazo Biotin-PEG₃-Azide, Diazo Biotin-PEG₃-DBCO, Diol Biotin-PEG₃-Alkyne, Diol Biotin-PEG₃-Azide, PC Biotin-PEG₃-Alkyne, PC-Biotin-PEG₄-PEG₄-Alkyne, PC-Biotin-PEG₄-PEG₄-Alkyne, PC Biotin-PEG₃-Azide, PC-Biotin-PEG₄-PEG₃-Azide, PC-Biotin-PEG₄-NHS carbonate, PC DBCO-PEG₃-Biotin, WSPC Biotin-PEG₃-DBCO, Fmoc-Lys (biotin-PEG)-OH, Fmoc-N-amido-(PEG-biotin)-acid, TAMRA-Azide-PEG-Biotin, PEG Phosphonate, Aminooxy PEG (例えば、Aminooxy-PEG-acid, Aminooxy-PEG-alcohol, Aminooxy-PEG-azide, Aminooxy-PEG-bromide, Aminooxy-PEG-methane, Aminooxy-PEG-Propargyl, Aminooxy-PEG-t-butyl ester, Aminooxy-PEG-Thiol, Bis-(Aminooxy)-PEG, t-Boc-Aminooxy-PEG-acid, t-Boc-Aminooxy-PEG-alcohol, t-Boc-Aminooxy-PEG-amine, t-Boc-Aminooxy-PEG-Azide, t-Boc-Aminooxy-PEG-Bromide, t-Boc-aminoxy-PEG-Methane, t-Boc-aminoxy-PEG-Propargyl, t-Boc-aminoxy-PEG-S-Ac, t-Boc-Aminooxy-PEG-Thiol, t-Bo

c-Aminoxy-PEG-Tos, Fmoc-aminoxy-PEG-acid, Trifluoroethyl-PEG-Aminoxy), Alkyne PEG (例えば、endo-BCN-PEG, exo-BCN-PEG, Propargyl-PEG-acid, Propargyl-PEG-CH₂CO₂H, Propargyl-PEG-(CH₂)₃-acid, Propargyl-PEG-(CH₂)₃-methyl ester, Propargyl-PEG-Acrylate, Propargyl-PEG-alcohol, Propargyl-PEG-amine, Propargyl-PEG-methylamine, Aminoxy-PEG-Propargyl, Propargyl-PEG-azide, Propargyl-PEG-bromide, Propargyl-PEG-Maleimide, Propargyl-PEG-Ms, Propargyl-PEG-NHS ester, Propargyl-PEG-sulfonic acid, Propargyl-PEG-t-butyl ester, Propargyl-PEG-CH₂CO₂tBu, Propargyl-PEG-thiol, Propargyl-PEG-5-nitrophenyl carbonate, t-Boc-aminoxy-PEG-Propargyl, Bis-Propargyl-PEG, m-PEG-Propargyl), Azido PEG (例えば、Azido-PEG-acid, Azido-PEG-CH₂CO₂H, Azido-PEG-(CH₂)₃-methyl ester, Azido-PEG-Acrylate, Azido-PEG-alcohol, Azido-PEG-(CH₂)₃OH, Azido-PEG-amine, Azido-PEG-azide, Azido-PEG-Maleimide, Azido-PEG-methylamine, Azido-PEG-methyl ester, Azido-PEG-NHS ester, Azido-PEG-CH₂CO₂-NHS, Azido-PEG-oxazolidin-2-one, Azido-PEG-PFP ester, Azido-P

EG-phosphonic acid, Azido-PEG-phosphonic acid ethyl ester, Azido-PEG-sulfonic acid, Azido-PEG-t-Boc-Hydrazide, Azido-PEG-t-butyl ester, Azido-PEG-CH₂CO₂-t-butyl ester, Azido-PEG-TFP ester, Azido-PEG-Tos, Aminoxy-PEG-azide, Bromo-PEG-azide, Bromoacetamido-PEG-azide, Carboxyrhodamine 110-PEG-Azide, Isothiocyanato-PEG-Azide, Isothiocyanato-PEG-Azide, m-PEG-azide, Propargyl-PEG-azide, TAMRA-PEG-Azide, t-Boc-N-Amido-PEG-Azide, t-Boc-Aminoxy-PEG-Azide, Thiol-PEG-Azide, Trifluoroethyl-PEG-Azide, Azido-PEG-amino acid, Azido-PEG₄-4-nitrophenyl carbonate, S-Acetyl-PEG₃-Azido, Azide, Trityl-PEG₁₀-Azide), Alkyne PEG, DBCO-PEG, BCN-PEG, Propargyl-PEG, Bis-PEG-acid, Bis-PEG-NHS, Bis-PEG-PFP, Bis-Propargyl-PEG, Amine-PEG-Amine, Azido-PEG-azide, Bromo-PEG, Mal PEGが用いられる。

[0119] また、別な実施形態として、WO2015/057699、WO2017/165851に記載のポリエチレングリコール（PEG）を用いることで、生体内での動態をより良好にすることが期待されるコンジュゲートを得ることができる。

[0120] 抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンの間に介するリンカーは、単一種で構成されていても複数種で構成されていてもよい。

- [0121] 抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンのコンジュゲートを作製する方法としては、抗体のリジン側鎖の ϵ -アミノ基を用いてベンゾジアゼピンを結合する方法や、抗体のジスルフィド結合を形成しているシステイン残基を還元処理により形成されるチオールを用いて結合する方法がある。
- [0122] 抗体のリジン残基の ϵ -アミノ基を用いる場合には、例えば活性エステル（例えばN-ヒドロキシスクシンイミドエステル）を反応させてアミド結合を形成させる方法が用いられる。この場合、抗体には多くのリジン残基が存在することから、その結合は非特異的に反応が進む。
- [0123] 抗体のシステインの側鎖に存在するジスルフィド結合を形成しているチオールを用いる場合には、抗体上にあるジスルフィド結合をメルカプトエタノールなどの還元剤を用いてチオールを生成させてマレイミドあるいは α -ハロアミドと反応させる方法が用いられる。また、チオールを介した結合を安定化させるためには、例えばスルホンフェニルオキサジアゾール、4-シアノエチニルオキシ誘導体などを用いる方法がある。これらの結合はシステインのマレイミドへの共益付加反応による結合よりも長時間安定である。また、チオール基がマレイミドに付加したイミド環が加水分解によって開環し、アミド結合となると安定性が向上するので、イミド基の近傍にアミノ基を有するリンカーを用いることもできる。また、抗体にあるシステインのチオールはジスルフィド結合を形成しており、2つのチオールを介して、その間にベンゾジアゼピンを結合させる方法もある。例としては、 β 位に2つのスルホンをもつアミド基から生じさせることができる2つのジスルフィド結合部位をもつリンカーあるいはジブロモマレイミドを用いて架橋型の結合を形成させることが可能である。
- [0124] 本発明のコンジュゲートは、例えば、抗体の特定の部分に、決まった数のチオール基を導入できる方法であるTHIOMAB（商標）技術（Nature Biotechnology 26, 925-932 (2008)を参照）、あるいは、ThioBridge（商標）技術を用いる方法（Methods Mol Biol. 2078:113-129 (2020)を

参照)、RESPECT (商標) 技術 (M A b s . 9 (6) : 9 0 7 - 9 1 5 (2 0 1 7) を参照) を用いて作製することができる。

[0125] 本発明のコンジュゲートは、例えば、抗体を還元剤ジチオレイトール (D T T) を用いてリン酸緩衝液中にて還元させることによってチオール反応基を有する抗体を得て、ベンゾジアゼピンとのコンジュゲートを形成させることができる。還元剤を用いる方法の他に、トラウト試薬 (2-Imino thioliolane や N-Succinimidyl S-Acetylthioacetate (SATA)) を導入することによって抗体のリジン残基にある第一級アミンヘチオール基を付加することで得ることができる。

[0126] 抗体に付加されたチオール量は、例えば 5, 5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) と SH 基を含む試料溶液をリン酸緩衝液 (pH 8.0) と蒸留水を混合して、リン酸緩衝液、グッド緩衝液あるいはトリス緩衝液に溶解した DTNB 溶液を添加し、一定時間インキュベートした後に、412 nm の吸光度を測定することによって定量できる (G. L. Ellman, Arch. Biochem. Biophys., 82, 70 (1959) を参照)。

[0127] 還元処理によって抗体のジスルフィド結合が切断されて付加されたチオール基は、再度ジスルフィド結合が形成されるのを防ぐための処理 (キャッピング) を行うことが好ましい。キャッピングは例えば N-エチルマレイミド (NEM) やヨードアセトアミド (2-iodoacetamide (IAA)) を用いることができる。

[0128] 抗体に付加されたチオール基を用いてベンゾジアゼピンを結合させてコンジュゲートを形成させるためには公知の方法により行うことができる。具体的には、例えば、還元処理した抗体のチオール基と特異的に結合するリンカー試薬として、マレイミド基を有するもの、ブロモアセトアミド基を有するリンカー試薬を用いることで結合することができる。例えば、マレイミド基を有するリンカーとして N-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) が用いられる。

この場合、ベンゾジアゼピンにアミノ基が存在することでSMCCのN-スクシンイミド基とアミド結合を形成することでコンジュゲートを得ることができる。

[0129] 他の実施形態として、先に活性化因子に存在するアミノ基にSMCCを用いてアミド結合を形成させ、その後に抗体側に付加したチオール基とベンゾジアゼピンが結合したSMCCのマレイミド基とを反応させてコンジュゲートを得ることができる。

[0130] また、他の実施形態としては、2つのリンカーを用いることで抗体とベンゾジアゼピンとのコンジュゲートを形成することも可能である。例えば、抗体側のリジン残基に存在する第一級アミノ基とSATA（N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート）のN-スクシンイミド基とをアミド結合させたものを作製して抗体にチオール基を付加し、ベンゾジアゼピンにアミノ基が存在するものあるいは定法に従い、アミノ基を付加したものにSMCCを反応させてSMCCにあるN-スクシンイミド基とアミド結合を形成させたものを合成し、ベンゾジアゼピンが結合したSMCCにあるマレイミド基と抗体が結合したSATAにあるチオール基との反応によりコンジュゲートを得ることができる。

[0131] 他の実施形態として、抗体とベンゾジアゼピンとのコンジュゲートの作製には、例えば、マレイミドカプロイル-バリリン-シトルリン-p-アミノベンジルオキシカルボニル (mc-Val-Cit-PAB) をリンカーとして用いる方法が挙げられる。mc-Val-Cit-PAB (mc-vc-PAB) は、細胞内のプロテアーゼ（例えばカテプシンB）により切断可能なリンカーである。リン酸緩衝液中に溶解した抗体へDTTなどを用いてチオール基を付加しておく。一方でアミノ基を有するベンゾジアゼピンにmc-Val-Cit-PABにあるベンジルオキシカルボニル (PAB) を反応させ、mc-Val-Cit-PABを結合させたベンゾジアゼピンを作製し、前述のチオールを付加した抗体へと反応させてコンジュゲートを得ることができる。

- [0132] さらに別な実施形態としては、抗体のリジン残基にある一級アミノ基に S A T A を結合させてチオール基を付加し、一方でスクシンイミジル 3 - (2 - ピリジリジチオ) プロピオネート (S P D P) を、アミノ基を有するベンゾジアゼピンと反応させ、 S P D P にある N - スクシンイミド基とアミド結合させたものが含まれる。
- [0133] 本発明で用いられるリンカーは細胞内条件下で切断可能であり、細胞内でベンゾジアゼピンあるいはベンゾジアゼピンとリンカーの一部を含む、抗腫瘍活性を有する物質が遊離する。例えば、細胞内のペプチダーゼやプロテアーゼによって切断されるリンカーである。好ましくは、リソソーム、エンドソームプロテアーゼ、カテプシン B、カテプシン D、プラスミンによって切断されるリンカーである。例えばカテプシン B によって切断可能なポリペプチド (V a l - C i t、P h e - L e u 又は G l y - P h e - L e u - G l y) を含むリンカーが挙げられる。さらに詳細には米国特許 6, 2 1 4, 3 4 5 に記載のリンカーを用いることが可能である。
- [0134] さらに、別な実施形態として、本発明のコンジュゲートの血中での安定性と溶解性と代謝性及びベンゾジアゼピンの抗 C A P R I N - 1 抗体への結合性を向上させるための手段として、例えば、W O 2 0 0 7 / 0 7 1 1 9 6 8 に記載のグルクロン酸 (好ましくは、 β - D - グルクロニド) を有するリンカーを用いることができる。あるいは、W O 2 0 1 3 / 1 7 3 3 3 7、W O 2 0 1 5 / 0 9 5 7 5 5、W O 2 0 1 5 / 1 2 3 6 7 9、W O 2 0 1 8 / 0 3 1 6 9 0 に記載の手段を用いることができる。
- [0135] さらに、別な実施形態として、ベンゾジアゼピンを部位特異的に抗 C A P R I N - 1 抗体へ結合させるためには、例えば、W O 2 0 0 6 / 6 5 5 3 3、W O 2 0 1 8 / 1 6 0 6 8 3 に記載の手段を用いて得ることが可能である。
- [0136] また、さらに別な実施形態としては、ベンゾジアゼピンを含む 2 個以上の薬物が結合した抗 C A P R I N - 1 抗体とのコンジュゲートは、W O 2 0 1 8 / 1 1 2 2 5 3 に記載の方法をもって得ることが可能である。

[0137] 本発明の抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンのコンジュゲートを含んだ組成物を得るためには、例えばゲル濾過クロマトグラフィーなどに供することで、リンカーを結合する前の抗体と比較して、より高分子化したピークを分取することで得ることができる。インタクトな2価の抗体を維持した状態でコンジュゲートの質量を検出するには、例えば、WO2013/049410に記載の方法を用いることが可能である。

[0138] 本発明の抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンのコンジュゲートの1抗体当たりに結合したベンゾジアゼピンの数は、質量分析法、ELISA法、電気泳動法及びHPLCなどのクロマトグラフィー法公知の方法に従って定量することができる。

[0139] <コンジュゲートの抗腫瘍効果>

本発明の抗CAPRIN-1抗体とベンゾジアゼピンとのコンジュゲートは、インビトロあるいはインビボで、抗腫瘍活性を有する。抗腫瘍活性とは、標的となる癌細胞の減少、排除、増殖の抑制、アポトーシス、ネクローシスあるいは殺傷を意味する。よって本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果は、癌に対する抗腫瘍活性を調べることによって知ることが可能である。

[0140] インビボにおいて抗腫瘍効果を知るためには、癌を有する生体へコンジュゲートを投与し、投与後の腫瘍の大きさを計測して、癌の大きさを経時的に調べる事によって評価できる。本発明の抗腫瘍効果は、生存率を調べる事によっても評価できる。また、サイトカインあるいはケモカインの産生能を調べる事によっても評価できる。本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果は、さらに癌の予防、転移の予防あるいは再発の予防を調べる事によって知ることができる。

[0141] 本発明のコンジュゲートは、癌細胞表面上のCAPRIN-1タンパク質との結合親和性が高いほうが、より強い抗腫瘍効果が期待できる。結合定数（親和定数） K_a (k_{on}/k_{off}) が、好ましくは、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも 5×10

$10^{-10}M^{-1}$ 、少なくとも $10^{-11}M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{-11}M^{-1}$ 、少なくとも $10^{-12}M^{-1}$ 、あるいは、少なくとも $10^{-13}M^{-1}$ であることが望ましい。

[0142] 本発明のコンジュゲートがCAPRIN-1に結合する能力は、例えば、表面プラズモン共鳴法（SPR法）、ELISA法、ウエスタンブロット法、免疫蛍光及びフローサイトメトリー法等を用いた結合アッセイを利用して特定することができる。

[0143] 本発明のコンジュゲートは、前述の通り抗CAPRIN-1抗体単独よりも抗腫瘍効果が増強するが、その増強率は、好ましくは30%以上、より好ましくは40%以上、さらに好ましくは50%以上、さらにより好ましくは55%以上、さらにより好ましくは60%以上、さらにより好ましくは65%以上、最も好ましくは70%以上である。本発明のコンジュゲートの抗CAPRIN-1抗体単独に対する抗腫瘍効果の増強率は、それぞれ有効量を担癌マウスに同条件で投与し、投与開始後、10日目以降における腫瘍体積を比較することで算出することができる。

[0144] <医薬組成物、癌の治療及び／又は予防方法>

本発明の癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物の標的は、CAPRIN-1タンパク質を発現する癌（細胞）であれば特に限定されない。

[0145] 本明細書で使用される「腫瘍」及び「癌」という用語は、悪性新生物を意味し、互換的に用いられる。

[0146] 本発明において対象となる癌としては、CAPRIN-1タンパク質を細胞膜表面上に発現している癌であればいかなる癌であってもよい。好ましくは前述の乳癌、腎癌、膵臓癌、大腸癌、肺癌、脳腫瘍、胃癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌、食道癌、白血病、リンパ腫、肝臓癌、胆嚢癌、肉腫、肥満細胞腫、メラノーマ、副腎皮質癌、ユーイング腫瘍、ホジキンリンパ腫、中皮腫、多発性骨髄腫。睾丸癌、甲状腺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌である。

[0147] 前記癌は、より具体的には、例えば、乳線癌、複合型乳腺癌、乳腺悪性混合腫瘍、乳管内乳頭状腺癌、再発転移性乳癌、肺腺癌、非小細胞肺癌（NS

C L C)、扁平上皮非小細胞肺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、大細胞癌、神経上皮組織性腫瘍である神経膠腫、膠芽腫、神経芽腫、脳室上衣腫、神経細胞性腫瘍、胎児型の神経外胚葉性腫瘍、神経鞘腫、神経線維腫、髄膜腫、慢性型リンパ球性白血病、リンパ腫、消化管型リンパ腫、消化器型リンパ腫、小～中細胞型リンパ腫、盲腸癌、上行結腸癌、下行結腸癌、横行結腸癌、S状結腸癌、直腸癌、卵巣上皮癌、胚細胞腫瘍、間質細胞腫瘍、膵管癌、浸潤性膵管癌、膵臓癌の腺癌、転移性腺癌、腺房細胞癌、腺扁平上皮癌、巨細胞腫、膵管内乳頭粘液性腫瘍、粘液性嚢胞腺癌、膵芽腫、膵頭細胞腫、F r a n t s腫瘍、漿液性嚢胞腺癌、固体乳頭状癌、ガストリノーマ、グルカゴノーマ、インスリノーマ、多発性内分泌腺腫症1 (W e r m e r症候群)、非機能性島細胞腫、ソマトスタチノーマ、V I P産生腫瘍、子宮頸癌、子宮体癌、線維肉腫、骨・関節肉種、ユーイング肉腫、ウィルムス腫瘍、肝芽腫、軟部肉腫、急性白血病、慢性白血病、脊髄腫瘍、軟部悪性腫瘍、奇形腫群腫瘍、頭頸部癌には、下咽頭癌、中咽頭癌、舌癌、上咽頭癌、口腔癌、口唇癌、副鼻腔癌、喉頭癌、再発脳腫瘍等が包含されるが、これらに限定されない。

[0148] また、対象となる好ましい被験者（患者）は、哺乳動物であり、例えば霊長類、ペット動物、家畜類、競技用動物等を含む哺乳動物であり、特にヒト、イヌ及びネコが好ましい。

[0149] 本発明で用いられるコンジュゲートを医薬組成物として用いる場合には、当業者に公知の方法で製剤化することが可能である。例えば、水もしくはそれ以外の薬学的に許容しうる液との無菌性溶液、又は懸濁液剤の注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、薬理学上許容される担体又は媒体、具体的には、滅菌水や生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定剤、芳香剤、賦形剤、結合剤等と適宜組み合わせ、一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製剤化することが考えられる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

[0150] 本発明のコンジュゲートを医薬組成物として用いる場合には、任意の塩、

界面活性剤、緩衝剤、糖、凍結防止剤（一部の糖を含む）を含み、凍結乾燥した状態で製剤化することが可能である。

[0151] 注射のための無菌組成物は注射用蒸留水のようなベヒクルを用いて通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水溶液としては、例えば生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液、例えばD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、塩化ナトリウムが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えばアルコール、具体的にはエタノール、ポリアルコール、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、非イオン性界面活性剤、例えばポリソルベート80（TM）、HCO-60と併用してもよい。油性液としてはゴマ油、大豆油があげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールと併用してもよい。また、緩衝剤、例えばリン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液、無痛化剤、例えば、塩酸プロカイン、安定剤、例えばベンジルアルコール、フェノール、酸化防止剤と配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填させる。油性液としてはゴマ油、大豆油があげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールと併用してもよい。また、緩衝剤、例えばリン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液、無痛化剤、例えば、塩酸プロカイン、安定剤、例えばベンジルアルコール、フェノール、酸化防止剤と配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填させる。

[0152] 投与は、経口又は非経口であり、好ましくは非経口投与であり、具体的には、注射剤型、経鼻投与剤型、経肺投与剤型、経皮投与型などが挙げられる。注射剤型の例としては、例えば、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、皮下注射、腫瘍内注射などにより全身又は局部的に投与することができる。

[0153] また、患者の年齢、体重、性別、症状などにより適宜投与方法を選択することができる。抗体又は抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する医薬組成物の投与量としては、例えば、一回につき体重1kgあたり0.0001mgから1000mgの範囲で、例えば一回につき体重1kgあたり0.5mg、1mg、2mg、3mg、5mg、10mg、20mg、50mg

、75mg、100mg、200mg、500mg又は1000mgの投与量を選ぶことが可能である。あるいは、例えば、患者あたり0.001~100000mg/bodyの範囲で投与量を選ぶことができるが、これらの数値に必ずしも制限されるものではない。

[0154] 投与量、投与方法は、患者の体重、年齢、性別、症状などにより変動するが、当業者であれば適宜選択することが可能である。

[0155] 本発明のコンジュゲートを有効成分として含む癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物を被験者に投与することによって、前述のCAPRIN-1を細胞膜表面に発現する癌、好ましくは乳癌、腎癌、膵臓癌、大腸癌、肺癌、脳腫瘍、胃癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌、食道癌、白血病、リンパ腫、肝臓癌、胆嚢癌、肉腫、肥満細胞腫、メラノーマ、副腎皮質癌、ユーイング腫瘍、ホジキンリンパ腫、中皮腫、多発性骨髄腫、睾丸癌、甲状腺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌を治療及び／又は予防することができる。

実施例

[0156] 以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの具体例によって制限されないものとする。

[0157] (実施例1) 抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体

本発明のコンジュゲートに用いるCAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体は、WO2010/016526の実施例3に従って作製した配列番号2および配列番号4で示されるヒトCAPRIN-1組換えタンパク質1mgを等容量の不完全フロイントアジュバント(IFA)溶液と混合し、これを2週間毎に4回、ウサギの皮下に投与を行った。その後血液を採取し、ポリクローナル抗体を含む抗血清を得た。得られた抗血清を、プロテインG担体(GEヘルスケアバイオサイエンス)を用いて精製し、CAPRIN-1タンパク質に対するポリクローナル抗体(抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1)を得た。また、抗原を投与していないウサギの血清を上記と同様にしてプロテインG担体を用いて精製したものをウサギコントロール抗体とした。

- [0158] また、CAPRIN-1タンパク質に対する上記ポリクローナル抗体の作製方法と同様の方法にて、以下のCAPRIN-1の部分ポリペプチドに対するポリクローナル抗体#2～#6を得た。
- [0159] 配列番号CAPRIN-1タンパク質WO2011/096528に記載されている配列番号37（本明細書の配列番号31）で表される部分ポリペプチドに対する抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2。
- [0160] WO2013/018894に記載されている配列番号5（本明細書の配列番号32）で表される部分ポリペプチドに対する抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#3。
- [0161] WO2013/125654に記載されている配列番号5（本明細書の配列番号33）で表される部分ポリペプチドに対する抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#4。
- [0162] WO2011/096533に記載されている配列番号37（本明細書の配列番号34）で表される部分ポリペプチドに対する抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#5。
- [0163] WO2011/096534に記載されている配列番号37（本明細書の配列番号35）で表される部分ポリペプチドに対する抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#6。
- [0164] （実施例2）抗CAPRIN-1モノクローナル抗体
本発明のコンジュゲートに用いる抗CAPRIN-1モノクローナル抗体は以下のものを用いた。
- [0165] WO2011/096528に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、重鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号36、配列番号37及び配列番号38のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号40、配列番号41及び配列番号42ならなる抗体（例えば、前記重鎖可変領域のCDR1～3を含む、配列番号39で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、前記軽鎖可変領域のCDR1～3を含む、配列番号43で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列と

を含む抗体)。

[0166] WO 2015/020212に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号44、配列番号45及び配列番号46のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号48、配列番号49及び配列番号50ならなる抗体(例えば、前記重鎖可変領域のCDR1~3を含む、配列番号47で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、前記軽鎖可変領域のCDR1~3を含む、配列番号51で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体)。

[0167] WO 2011/096519に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号52、配列番号53及び配列番号54のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号56、配列番号57及び配列番号58ならなる抗体(例えば、前記重鎖可変領域のCDR1~3を含む、配列番号55で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、前記軽鎖可変領域のCDR1~3を含む、配列番号59で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体)。

[0168] WO 2013/125654に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号60、配列番号61及び配列番号62のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号64、配列番号65及び配列番号66ならなる抗体(例えば、前記重鎖可変領域のCDR1~3を含む、配列番号63で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、前記軽鎖可変領域のCDR1~3を含む、配列番号67で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体)。

[0169] WO 2011/096517に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号68のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号69のアミノ酸配列で表される軽鎖可

変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0170] WO 2011/096528に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号70のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号71のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号72のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号73のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号74のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号75のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号76のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号77のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号78のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号79のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0171] WO 2011/096533に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号80のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号81のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号82のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号83のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0172] WO 2011/096534に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号84のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号85のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号86のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号87のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0173] WO 2010/016526に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号88のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号89のアミノ酸配列で表される軽鎖可

変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号90のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号91のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号92のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号93のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号94のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号95のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号96のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号97のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号98のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号99のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号100のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号101のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0174] WO2013/018894に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号102のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号103のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号104のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号105のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0175] WO2013/018892に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号106のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号107のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0176] WO2013/018891に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号108のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号109のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

- [0177] WO 2013/018889に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号110のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号111のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。
- [0178] WO 2013/018883に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号112のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号113のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。
- [0179] WO 2013/125636に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号114のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号115のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。
- [0180] WO 2013/125654に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号116のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号117のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号118のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号119のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。
- [0181] WO 2013/125630に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号120のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号121のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。
- [0182] WO 2015/020212に記載されているCAPRIN-1に対するモノクローナル抗体であって、配列番号122のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号123のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号124のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号125のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号126のアミ

ノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号127のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号128のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号129のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号130のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号131のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体、配列番号132のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号133のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体。

[0183] 上記の抗CAPRIN-1モノクローナル抗体のうち、重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号36、配列番号37及び配列番号38のアミノ酸配列からなり、フレームワーク領域がヒト抗体の配列を含む重鎖可変領域を発現できるように、塩基配列を設計し、これをヒトIgG1の重鎖定常領域が挿入された哺乳類発現用ベクターに挿入した。同様にして、軽鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号40、配列番号41及び配列番号42からなり、フレームワーク領域がヒト抗体の配列を含む軽鎖可変領域を発現できるように、塩基配列を設計し、これをヒトIgG1の軽鎖定常領域が挿入された哺乳類発現用ベクターに挿入した。上記2つの組換え発現ベクターを常法に従って哺乳類細胞に導入して、重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号36、配列番号37及び配列番号38のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号40、配列番号41及び配列番号42からなるCAPRIN-1に対するヒト化モノクローナル抗体#1（ヒト化抗体#1）を含む培養上清を得た。

[0184] 同様にして、重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号44、配列番号45及び配列番号46のアミノ酸配列からなり、フレームワーク領域がヒト抗体の配列を含む配列番号47で表される重鎖可変領域を発現できるように、塩基配列を設計し、これをヒトIgG1の重鎖定常領域が挿入された哺乳類発現用ベクターに挿入した。同様にして、軽鎖可変領域のCDR1~

3がそれぞれ配列番号48、配列番号49及び配列番号50のアミノ酸配列からなり、フレームワーク領域がヒト抗体の配列を含む配列番号51で表される重鎖可変領域を発現できるように、塩基配列を設計し、これをヒトIgG1の重鎖定常領域が挿入された哺乳類発現用ベクターに挿入し、上記2つの組換え発現ベクターを常法に従って哺乳類細胞に導入して、重鎖可変領域のCDR1～3が配列番号44、配列番号45及び配列番号46のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号48、配列番号49及び配列番号50のアミノ酸配列とからなるヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#2（ヒト化抗体#2）を含む培養上清を得た。

[0185] 同様にして、重鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号52、配列番号53及び配列番号54のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号56、配列番号57及び配列番号58とからなるヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#3（ヒト化抗体#3）を含む培養上清を得た。

[0186] 同様にして、重鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号60、配列番号61及び配列番号62のアミノ酸配列からなり、軽鎖可変領域のCDR1～3がそれぞれ配列番号64、配列番号65及び配列番号66とからなるヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#4（ヒト化抗体#4）を含む培養上清を得た。

[0187] 同様にして、以下のヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#9～#41（ヒト化抗体#9～#41）を含む培養上清を得た。

[0188] 配列番号68のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号69のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体#9（ヒト化抗体#9）。

[0189] 配列番号70のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号71のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体#10（ヒト化抗体#10）。

[0190] 配列番号72のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、

配列番号 73 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 11 (ヒト化抗体 # 11)。

[0191] 配列番号 74 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 75 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 12 (ヒト化抗体 # 12)。

[0192] 配列番号 76 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 77 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 13 (ヒト化抗体 # 13)。

[0193] 配列番号 78 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 79 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 14 (ヒト化抗体 # 14)。

[0194] 配列番号 80 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 81 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 15 (ヒト化抗体 # 15)。

[0195] 配列番号 82 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 83 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 16 (ヒト化抗体 # 16)。

[0196] 配列番号 84 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 85 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 17 (ヒト化抗体 # 17)。

[0197] 配列番号 86 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 87 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 18 (ヒト化抗体 # 18)。

[0198] 配列番号 88 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 89 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む抗体ヒト化モノクローナル抗体 # 19 (ヒト化抗体 # 19)。

[0199] 配列番号 90 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 91 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含む

むヒト化モノクローナル抗体 # 20 (ヒト化抗体 # 20)。

[0200] 配列番号 92 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 93 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 21 (ヒト化抗体 # 21)。

[0201] 配列番号 94 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 95 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 22 (ヒト化抗体 # 22)。

[0202] 配列番号 96 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 97 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 23 (ヒト化抗体 # 23)。

[0203] 配列番号 98 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 99 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 24 (ヒト化抗体 # 24)。

[0204] 配列番号 100 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 101 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 25 (ヒト化抗体 # 25)。

[0205] 配列番号 102 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 103 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 26 (ヒト化抗体 # 26)。

[0206] 配列番号 104 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 105 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 27 (ヒト化抗体 # 27)。

[0207] 配列番号 106 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 107 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 28 (ヒト化抗体 # 28)。

[0208] 配列番号 108 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 109 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 29 (ヒト化抗体 # 29)。

- [0209] 配列番号 110 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 111 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 30 (ヒト化抗体 # 30)。
- [0210] 配列番号 112 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 113 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 31 (ヒト化抗体 # 31)。
- [0211] 配列番号 114 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 115 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 32 (ヒト化抗体 # 32)。
- [0212] 配列番号 116 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 117 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 33 (ヒト化抗体 # 33)。
- [0213] 配列番号 118 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 119 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 34 (ヒト化抗体 # 34)。
- [0214] 配列番号 120 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 121 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 35 (ヒト化抗体 # 35)。
- [0215] 配列番号 122 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 123 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 36 (ヒト化抗体 # 36)。
- [0216] 配列番号 124 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 125 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 37 (ヒト化抗体 # 37)。
- [0217] 配列番号 126 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号 127 のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体 # 38 (ヒト化抗体 # 38)。
- [0218] 配列番号 128 のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と

、配列番号129のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体#39（ヒト化抗体#39）。

[0219] 配列番号130のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号131のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体#40（ヒト化抗体#40）。

[0220] 配列番号132のアミノ酸配列で表される重鎖可変領域のアミノ酸配列と、配列番号133のアミノ酸配列で表される軽鎖可変領域のアミノ酸配列とを含むヒト化モノクローナル抗体#41（ヒト化抗体#41）。

[0221] また、上記の抗CAPRI N-1モノクローナル抗体のうち、ヒト化抗体#1について重鎖可変領域重鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号36、配列番号37及び配列番号38のアミノ酸配列からなり、フレームワーク領域がヒト抗体の配列を含む重鎖可変領域を発現できるように、塩基配列を設計し、これを、EUナンバリング239番目のアミノ酸であるセリン（Ser）がアスパラギン酸（Asp）に置換されており、且つEUナンバリング332番目のアミノ酸であるイソロイシン（Ile）がグルタミン酸（Glu）に置換されたヒトIgG1の重鎖定常領域が挿入された哺乳類発現用ベクターに挿入した。また、軽鎖可変領域のCDR1~3がそれぞれ配列番号40、配列番号41及び配列番号42からなり、フレームワーク領域がヒト抗体の配列を含む軽鎖可変領域のアミノ酸配列を発現できるように塩基配列を設計し、これをヒトIgG1の軽鎖定常領域が挿入された哺乳類発現用ベクターに挿入した。上記2つの組換え発現ベクターを常法に従って哺乳類細胞に導入して、上記で作製した重鎖可変領域とEUナンバリング239番目のアミノ酸であるセリン（Ser）がアスパラギン酸（Asp）に置換されており、且つEUナンバリング332番目のアミノ酸であるイソロイシン（Ile）がグルタミン酸（Glu）に置換されたヒトIgG1の重鎖定常領域からなる重鎖全長アミノ酸配列と、上記で作製した軽鎖可変領域とヒト軽鎖定常領域からなる軽鎖全長アミノ酸配列とからなるヒト化CAPRI N-1に対するモノクローナル抗体#5（ヒト化抗体#5）を含む培養上

清を得た。

[0222] 同様にして、上記で作製したヒト化抗体#2の重鎖可変領域のアミノ酸配列と、軽鎖可変領域のアミノ酸配列とからなるヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#6（ヒト化抗体#6）を含む培養上清を得た。

[0223] 同様にして、上記で作製したヒト化抗体#3の重鎖可変領域のアミノ酸配列と、軽鎖可変領域のアミノ酸配列とからなるヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#7（ヒト化抗体#7）を含む培養上清を得た。

[0224] 同様にして、上記で作製したヒト化抗体#4の重鎖可変領域のアミノ酸配列と、軽鎖可変領域のアミノ酸配列とからなるヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#8（ヒト化抗体#8）を含む培養上清を得た。

[0225] 同様にして、上記で作製したヒト化抗体#9～#41のそれぞれの重鎖可変領域のアミノ酸配列と、軽鎖可変領域のアミノ酸配列とからなるヒト化抗CAPRIN-1抗体#42～#74（ヒト化抗体#42～#74）をそれぞれ含む培養上清を得た。

[0226] 得られたヒト化抗CAPRIN-1モノクローナル抗体#1～#74を含む培養上清を常法に従ってHitrap Protein A Sepharose FF（GEヘルスケア社製）を用いて精製し、PBS（-）に置換して0.22μmのフィルター（ミリポア社製）で濾過したものを調製した。

[0227] （実施例3）抗CAPRIN-1抗体とPBD誘導体（SGD-1910）とのコンジュゲートの作製

実施例1に記載の抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1～#6とSGD-1910（CAS#1342820-51-2）とのコンジュゲートを定法に従い作製した。精製された抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1を10mg/mlの濃度でPBS（-）に溶解されたものを調製した。前記ポリクローナル抗体#1を含む溶液へ、100mMのEDTA、50mMのL-Cysteineを含んだPBS（-）溶液を1/10の割合で添加して、その後、4℃にて1時間、還元反応を行った。還元後、Zeba（

商標) Spin Desalting Column (MWCO70k又は40k)を用いて1mMのEDTAを含むPBS(-)へ溶液を置換し、18時間~72時間室温にて静置してポリクローナル抗体を再酸化させた。再酸化後のポリクローナル抗体#1にプロピレングリコールを50%となるように添加した。前記ポリクローナル抗体#1を含む溶液へ、DMSOに溶解された10mMのSGD-1910を、抗体とSDG-1910のモル比が1:5となるように添加して室温において1時間以上反応させた。反応後、Zeba(商標) Spin Desalting Column (MWCO70k又は40k)を用いて抗体へ結合しなかったSGD-1910を除去し、PBS(-)へ溶媒を置換した(2回実施)。緩衝液をPBS(-)へ置換後、0.22 μ mの滅菌用濾過膜を用いて濾過し、本発明の抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1-SDG-1910(コンジュゲート1)を含む溶液を得た。抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2~#6についても同様にSDG-1910を用いたコンジュゲートを含む溶液を得た(抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2を用いた上記コンジュゲート:コンジュゲート2、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#3を用いた上記コンジュゲート:コンジュゲート3、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#4を用いた上記コンジュゲート:コンジュゲート4、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#5を用いた上記コンジュゲート:コンジュゲート5、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#6を用いた上記コンジュゲート:コンジュゲート6)。また、上記と同様の方法を用いて、実施例2に記載の抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#4を用いて、SDG-1910とのコンジュゲート(コンジュゲート10)を含む溶液を得た。上記と同様の操作で、CAPRIN-1タンパク質には反応しない実施例1に記載のウサギコントロール抗体についても同様の方法でSDG-1910リンカーとのコンジュゲート(コントロールコンジュゲート1)を含む溶液を得た。

[0228] さらに、実施例2に記載の抗CAPRIN-1モノクローナル抗体である

ヒト化抗体#1とSGD-1910 (CAS#1342820-51-2)とのコンジュゲートを定法に従い作製した。精製されたヒト化抗体#1を10mg/mLの濃度でPBS(-)に溶解されたものを調製した。前記ヒト化抗体#1を含む溶液へ、最終濃度が10mMのTCEPを含んだPBS(-)溶液を添加し、その後、常温にて1時間、還元反応を行った。還元後、Zeba(商標)Spin Desalting Column(MWCO70k又は40k)を用いて1mMのEDTAを含むPBS(-)へ溶液を置換後、プロピレングリコールを等量添加した。前記ヒト化抗体#1を含む溶液へ、DMSOに溶解された10mMのSGD-1910を、抗体とSDG-1910のモル比が1:3なるように添加して室温において1時間以上反応させた。反応後、Zeba(商標)Spin Desalting Column(MWCO70k又は40k)を用いて抗体へ結合しなかったSGD-1910を除去し、PBS(-)へ溶媒を置換した(2回実施)。緩衝液をPBS(-)へ置換後、0.22 μ mの滅菌用濾過膜を用いて濾過し、本発明のヒト化抗体#1-SDG-1910(コンジュゲート7)を含む溶液を得た。同様に、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2~#6ならびにヒト化抗体#2、#3、#5~#74についても同様にSDG-1910を用いたコンジュゲートを含む溶液を得た(コンジュゲート8、コンジュゲート9、コンジュゲート11~コンジュゲート53)。上記と同様の操作で、CAPRIN-1タンパク質には反応しないヒトIgGコントロール抗体についても同様の方法でSDG-1910リンカーとのコンジュゲート(コントロールコンジュゲート2)を含む溶液を得た。

[0229] (実施例4) コンジュゲートのCAPRIN-1タンパク質及びCAPRIN-1発現癌細胞への特異的反応性

実施例3にて作製したコンジュゲート(抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲート)のCAPRIN-1タンパク質への特異的反応性と、CAPRIN-1タンパク質が発現しているヒト癌細胞及びマウス癌細胞の細胞膜表面に反応性を示すことを評価した。

[0230] CAPRIN-1タンパク質への特異的反応性はELISA法を用いて確認した。CAPRIN-1タンパク質溶液 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ を96穴プレート1ウェル当たり $100\mu\text{L}$ 添加し、 4°C にて18時間静置した。各ウェルをPBS-Tで3回洗浄後、0.5% Bovine Serum Albumin (BSA) 溶液を1ウェル当たり $400\mu\text{L}$ 添加して室温にて3時間静置した。溶液を除いて、1ウェル当たり $400\mu\text{L}$ のPBS-Tでウェルを3回洗浄後、コンジュゲート1~6、コントロールコンジュゲート1を含んだ溶液をそれぞれ1ウェル当たり $100\mu\text{L}$ 添加し、室温にて2時間静置した。PBS-Tで各ウェルを3回洗浄した後、PBSで5000倍に希釈したHRP標識抗ウサギIgG抗体を1ウェル当たり $100\mu\text{L}$ 添加して室温にて1時間静置した。PBS-Tでウェルを3回洗浄した後、TMB基質溶液を1ウェル当たり $100\mu\text{L}$ 添加して15~30分間静置して発色反応を行った。発色後、1規定硫酸を1ウェル当たり $100\mu\text{L}$ 添加して反応を停止させ、吸光度計を用いて 450nm と 595nm の吸光度値を測定した。その結果、コンジュゲート1~6は、陰性コントロールであるコントロールコンジュゲート1に比べて吸光度値が高く、CAPRIN-1タンパク質に特異的に反応を示すことが確認できた。

[0231] 同様に、実施例3にて作製したヒト化抗体#1~#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートについて、HRP標識抗ヒト抗体を用いてELISA法にてCAPRIN-1タンパク質に対する特異的な反応を検出した。その結果、陰性コントロールとして用いたヒトIgG (SIGMA社) ならびにコントロールコンジュゲート2に比べて吸光度値は高く、CAPRIN-1タンパク質に特異的に反応することが確認できた。

[0232] 次に、CAPRIN-1が発現している癌細胞の、細胞膜表面への反応性は、フローサイトメトリー法にて確認した。 2×10^5 個のヒト乳癌細胞BT-474 (ATCCから入手) 及びマウス乳癌細胞4T1 (ATCCから入手) を 1.5mL 容のマイクロ遠心チューブにて遠心分離し、これにコンジュ

ゲート1～6、コントロールコンジュゲート1を含んだ溶液100 μ Lをそれぞれ別のチューブに添加し、4 $^{\circ}$ Cにて1時間静置した。PBSで洗浄した後、0.5%のFBSを含むPBS(-) (0.5% FBS-PBS(-))で100倍希釈したAlexa488標識抗ウサギIgG(H+L)を添加し、4 $^{\circ}$ Cにて1時間静置した。0.5% FBS-PBS(-)で洗浄後、BD Horizon Fixable Viability Stain (FVS) Reagents (FVS450、ベクトン・ディッキンソンアンドカンパニー)を反応させ、死細胞を染めた後、FACS Fortessa (商標) (ベクトン・ディッキンソンアンドカンパニー)で蛍光強度を測定した。その結果、抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲート(コンジュゲート1～6)は、陰性コントロールであるコントロールコンジュゲート1に比べて蛍光強度が高く、すなわちCAPRIN-1が発現しているヒト癌細胞BT474の細胞表面に強く反応することが確認できた。

[0233] 同様に、ヒト化抗体#1～#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートについて、Alexa488標識抗ヒトIgG(H+L)抗体を用いてCAPRIN-1発現癌細胞であるヒト癌細胞BT474及びマウス癌細胞4T1への特異的反応性を検出した。その結果、ヒト化抗体#1～#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートは、陰性コントロールであるコントロールコンジュゲート2に比べて蛍光強度が高く、すなわちCAPRIN-1が発現しているヒト癌細胞BT474、4T1の細胞表面に強く反応することが確認できた。

[0234] 同様に、実施例3で作製した抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体ならびにヒト化抗体#1～#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートについて、各種ヒト癌細胞及びマウス癌細胞への反応性を確認した。CAPRIN-1の遺伝子の発現が確認されていて、CAPRIN-1の癌細胞の細胞膜表面での発現が確認されているヒト癌細胞である、乳癌細胞(BT-474)、大腸癌細胞(HT-29、HCT116、

LoVo)、肺癌細胞(A549)、胃癌細胞(NCI-N87)、子宮癌細胞(HEC-1-A)、前立腺癌細胞(22Rv1)、膵臓癌細胞(Panc10.5)、肝臓癌細胞(HepG2)、卵巣癌細胞(MCAS、SKOV3、TOV112D)、腎癌細胞(Caki-2)、脳腫瘍細胞(U87MG)、膀胱癌細胞(T24、UMUC3)、胆管癌細胞(KKU213)、線維肉腫細胞(HT-1080)、食道癌細胞(OE33)、白血病細胞(OCI-AML5)、リンパ腫細胞(Ramos)、胆嚢癌細胞(TGBC14TKB)、メラノーマ細胞(Malme-3M)、頭頸部癌細胞(Fadu)、CAPRIN-1の遺伝子の発現が確認されているマウス腎癌細胞(Renca)、マウス乳癌細胞(4T1)に対して実施例3で作製した抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートは、いずれも陰性コントロールであるコントロールコンジュゲート1ならびにコントロールコンジュゲート2に比べて蛍光強度が強く、CAPRIN-1が発現している癌細胞の細胞膜表面に強く反応することが確認された。

[0235] (実施例5) 内在化

実施例3で作製した抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体ならびにヒト化抗体#1~#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートの癌細胞への内在化(インターナライズ)をインビトロで評価した。前記、抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートを $4\mu\text{g}/\text{mL}$ とIncucyte(商標)Human Fabfluor-pH Antibody Labeling Dyeを $2\mu\text{g}/\text{mL}$ を等量に混和し、 37°C にて1時間静置して、抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートとHuman Fabfluor-pH Antibody Labeling Dyeとの複合化を行った。同複合体 $100\mu\text{L}$ を 2×10^5 個の癌細胞HT29へ添加し、 37°C で6時間反応した。反応後、定法に従い、フローサイトメトリー法にて蛍光強度を測定することによって内在化を評価した。評価の結果、抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートは、陰性コントロール(抗CAPRIN-1抗体-

SDG-1910コンジュゲートのみを反応させたHT29)の蛍光強度に比べて、強い蛍光強度を示した。本結果から、抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートは、ヒト癌細胞へ内在化することが示された。同様に、HER2に対する抗体であるTrastuzumab、EGFRに対する抗体であるCetuximab、ネクチン-4を標的としたADCであるEnfortumab vedotin、TROP2を標的としたADCであるSacituzumab govitecanについても、HT29に対する内在化をフローサイトメトリー法で評価した結果、抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートの方が、いずれの抗体よりも強い蛍光強度であった。

[0236] (実施例6) コンジュゲートの抗腫瘍活性

実施例3で作製した抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体ならびにヒト化抗体#1~#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートの癌細胞に対する抗腫瘍活性をインビトロで評価した。実施例4にて、CAPRIN-1の癌細胞の細胞膜表面での発現が確認されているヒト癌細胞である、乳癌細胞(BT-474)、大腸癌細胞(HT-29、HCT116)、胃癌細胞(NCI-N87)、子宮癌細胞(Ishikawa)、膵臓癌細胞(Panc10.5)、卵巣癌細胞(MCAS、TOV112D)、頭頸部癌細胞(Fadu)に対する抗腫瘍活性を評価した。

[0237] 標準的方法により培養された上記癌細胞を細胞培養可能な黒色96ウェルプレート(96 well optical Btm Plt PolymerBase Black w/Lid Cell Culture Sterile PS 165305, Thermo社)に1ウェルあたり $1 \sim 4 \times 10^4$ 個を $90 \mu\text{L}$ /ウェルとなるように播種し、5% CO_2 、 37°C のインキュベーター内で18~24時間培養した。その後、 $10^{-2} \mu\text{g}/\text{mL} \sim 10^2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲となるよう、実施例3で作製した抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体ならびにヒト化抗体#1~#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートを1ウェルあたり 10μ

L添加して5% CO₂、37℃のインキュベーター内でインキュベートした。インキュベートを開始してから3日後ないし4日後の細胞生存率をCell Titer Glow Luminescent Cell Viability Assay (#7573, Promega社)を用いて計測した。1ウェルあたり100μLの基質を添加し、プレートシェーカーを用いて2分間振盪し、10分間静置後、SpectraMax (登録商標) iD3 (MOLECULAR DEVICE社)を用いて発光シグナル強度を計測して生存している細胞のATP含量を算出した。

[0238] その結果、本発明に記載の抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体ならびにヒト化抗体#1~#74を用いた抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートは、コンジュゲート非添加のウェル内で生存していた癌細胞を100%とした場合、1μg/mL以上の濃度範囲において生存していた癌細胞は70%以下であった。以上の結果から、CAPRIN-1に対する抗体とPBDとのコンジュゲートは、癌細胞に対して抗腫瘍活性を示すことが明らかとなった。

[0239] (実施例7) コンジュゲートの担癌マウスでの抗腫瘍効果

実施例3で作製した抗CAPRIN-1抗体-SDG-1910コンジュゲートである、コンジュゲート7、コンジュゲート10について、担癌マウス生体内における抗腫瘍効果を評価した。CAPRIN-1タンパク質を発現するヒト由来の癌細胞を移植したNOD-SCIDマウスを用いて、本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果を検討した。1匹あたり10⁷個のヒト大腸癌細胞HT29をマトリゲル(SIGMA)と混合して皮下に移植し、腫瘍が50mm³以上になるまで成長させた担癌マウスを作製した。HT29は、細胞膜表面にCAPRIN-1タンパク質が発現しており、実施例4にて示した通り、コンジュゲート7、コンジュゲート10はHT29に結合する。コンジュゲート7、コンジュゲート10をHT29を担癌したマウスへ尾静脈を介して0.3mg/kgを1週間に1度、合計2回投与した。また、実施例3に記載の方法に従い、トラスツズマブ(中外製薬株式会社)とSDG

−1910とのコンジュゲートを含む溶液をCAPRIN-1に対する抗体を用いた前記コンジュゲートと同程度の薬物が結合するように作製し、比較対照として上記の担癌マウスへ同量投与した。HT29は、細胞膜表面にトラスツズマブの標的抗原であるHER2タンパク質が発現しており、上記のトラスツズマブとPBDとのコンジュゲートが特異的に結合する。陰性コントロールの担癌マウスへはPBS(−)を投与した。

[0240] 投与後の担癌マウスの癌の大きさを経時的にノギスを用いて計測し、腫瘍体積は、定法に従い、計算式： $(\text{癌の長径の長さ}) \times (\text{癌の短径の長さ})^2 \times 0.5$ にて算出した。評価の結果、投与を開始して7日目において、陰性コントロールの腫瘍体積を100%としたとき、コンジュゲート7ならびにコンジュゲート10を投与したマウスではいずれも50%未満の腫瘍体積であった。上記コンジュゲートで用いたCAPRIN-1に対する抗体のみを投与した担癌マウスの腫瘍体積を100%とした場合、上記コンジュゲートを投与した担癌マウスの腫瘍体積は50%未満であった。一方、比較対照としたトラスツズマブとPBDとのコンジュゲートを含む溶液を投与したマウスの腫瘍体積は、陰性コントロールに対して80%以上であった。さらに、トラスツズマブのみを投与した担癌マウスの腫瘍体積を100%とした場合、上記コンジュゲートを投与した担癌マウスの腫瘍体積は75%未満であった。

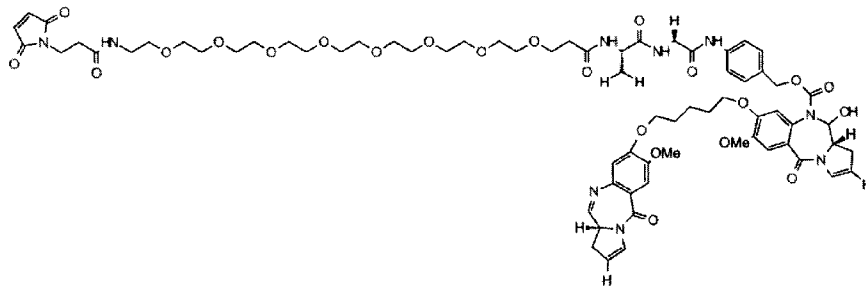
[0241] 本評価の結果、CAPRIN-1に対する抗体を用いて実施例3にて作製したSDG-1910とのコンジュゲートは、陰性コントロール(無治療対照群)に比べて顕著に強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。さらに比較対照として作製したトラスツズマブとSDG-1910とのコンジュゲートに対して顕著に強い抗腫瘍効果を有することが示された。

[0242] (実施例8) 抗CAPRIN-1抗体とPBD誘導体(Tesirine)とのコンジュゲートの作製

および以下の化学実施例3と同様、定法に従い、実施例1に記載の抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1のリジン残基にスペーサーとしてSA

TAを結合させた後に、PBD誘導体の一つである以下の化学構造で示されるTesirineをマレイミド基を介して抗体に結合させてコンジュゲートを含む溶液（コンジュゲート54）を得た。同様に、実施例2に記載の抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#1と前記Tesirineとのコンジュゲートを作製し、コンジュゲートを含む溶液（コンジュゲート60）を得た。同様に、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2～#6ならびに抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#2～#47について、Tesirine誘導体とのコンジュゲートを作製した。上記と同様の操作で、CAPRIN-1タンパク質には反応しない実施例1に記載のウサギコントロール抗体、ヒトIgGコントロール抗体についても同様の方法で前記Tesirineとのコンジュゲートを含む溶液を得た（コントロールコンジュゲート3、コントロールコンジュゲート4）。作製した上記コンジュゲートについて、実施例4～6と同様に評価したところ、コンジュゲートのCAPRIN-1タンパク質及びCAPRIN-1発現癌細胞への特異的反応性、内在化、コンジュゲートの抗腫瘍活性を示すことを確認した。

[0243] [化1]



[0244] （実施例9）抗CAPRIN-1抗体とPBD誘導体（Tesirine）とのコンジュゲートの担癌マウスでの抗腫瘍効果

実施例8で作製したコンジュゲート60、コンジュゲート63について、担癌マウス生体内における抗腫瘍効果を評価した。CAPRIN-1タンパク質を発現するヒト由来の癌細胞を移植したNOD-SCIDマウスを用いて、本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果を検討した。1匹あたり 10^7 個の

ヒト大腸癌細胞HT29をマトリゲル(SIGMA)と混合して皮下に移植し、腫瘍が100~200mm³以上になるまで成長させた担癌マウスを作製した。HT29は、細胞膜表面にCAPRIN-1タンパク質が発現しており、コンジュゲート60、コンジュゲート63はHT29に結合する。HT29を担癌したマウスへ、コンジュゲート60、コンジュゲート63をそれぞれ尾静脈を介して2mg/kgならびに6mg/kgにて1回投与した。陰性コントロールの担癌マウスへはPBS(-)を投与した。

[0245] 投与後の担癌マウスの癌の大きさを経時的にノギスを用いて計測し、腫瘍体積は、定法に従い、計算式： $(\text{癌の長径の長さ}) \times (\text{癌の短径の長さ})^2 \times 0.5$ にて算出した。評価の結果、投与を開始して7日目以降において、陰性コントロールの腫瘍体積を100%としたとき、コンジュゲート60ならびにコンジュゲート63を2mg/kg投与したマウスの腫瘍体積はそれぞれ50%未満の腫瘍体積であった。一方、コンジュゲート60ならびにコンジュゲート63を6mg/kg投与した担癌マウスでは、腫瘍が退縮した。

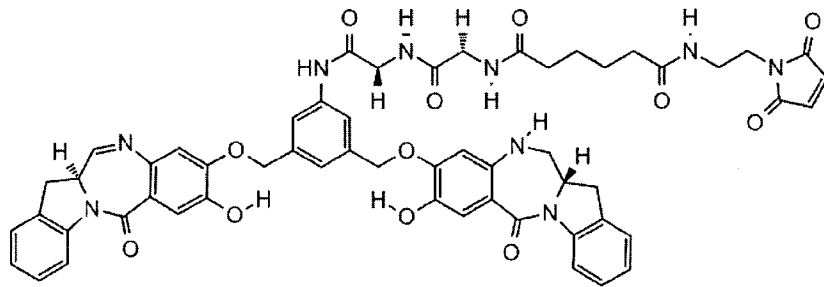
[0246] 本評価の結果、CAPRIN-1に対する抗体を用いて実施例8にて作製したTesirineとのコンジュゲートは、陰性コントロール(無治療対照群)に比べて顕著に強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。

[0247] (実施例10) 抗CAPRIN-1抗体とIGN誘導体(DGN549)とのコンジュゲートの作製

および実施例3と同様、定法に従い、実施例1に記載の抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1のリジン残基にスペーサーとしてSATAを結合させた後に、IGN誘導体の一つである以下の化学構造で示されるDGN549をマレイミド基を介して抗体に結合させてコンジュゲートを含む溶液(コンジュゲート107)を得た。同様にして、実施例2に記載の抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#1と前記DGN549とのコンジュゲートを作製し、コンジュゲートを含む溶液(コンジュゲート113)を得た。同様にして、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2~#6ならびに抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#2~

47 について、DGN549 とのコンジュゲートを作製した。上記と同様の操作で、CAPRIN-1 タンパク質には反応しない実施例 1 に記載のウサギコントロール抗体、ヒト IgG コントロール抗体についても同様の方法で DGN549 とのコンジュゲートを含む溶液を得た（コントロールコンジュゲート 5、コントロールコンジュゲート 6）。作製した上記コンジュゲートについて、実施例 4～6 と同様に評価したところ、コンジュゲートの CAPRIN-1 タンパク質及び CAPRIN-1 発現癌細胞への特異的反応性、内在化、コンジュゲートの抗腫瘍活性を示すことを確認した。

[0248] [化2]



[0249] (実施例 11) 抗 CAPRIN-1 抗体と IGN (DGN549) とのコンジュゲートの担癌マウスでの抗腫瘍効果 1

実施例 10 で作製したコンジュゲート 107、コンジュゲート 113 について、担癌マウス生体内における抗腫瘍効果を評価した。CAPRIN-1 タンパク質を発現するヒト由来の癌細胞を移植した NOD-SCID マウスを用いて、本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果を検討した。1 匹あたり 10^7 個のヒト頭頸部癌細胞 FaDu をマトリゲル (SIGMA) と混合して皮下に移植し、腫瘍が $100 \sim 200 \text{ mm}^3$ 以上になるまで成長させた担癌マウスを作製した。FaDu は、細胞膜表面に CAPRIN-1 タンパク質が発現しており、コンジュゲート 107、コンジュゲート 113 は FaDu に結合する。FaDu を担癌したマウスへ、コンジュゲート 107、コンジュゲート 113 を、それぞれ尾静脈を介して 2 mg/kg ならびに 6 mg/kg にて 1 回投与した。陰性コントロールの担癌マウスへは PBS (-) を投与した。

[0250] 投与後の担癌マウスの癌の大きさを経時的にノギスを用いて計測し、腫瘍体積は、定法に従い、計算式： $(\text{癌の長径の長さ}) \times (\text{癌の短径の長さ})^2 \times 0.5$ にて算出した。評価の結果、投与を開始して7日目以降において、陰性コントロールの腫瘍体積を100%としたとき、コンジュゲート103ならびにコンジュゲート117を2mg/kg投与したマウスの腫瘍体積はそれぞれ50%未満の腫瘍体積であった。一方、コンジュゲート103ならびにコンジュゲート117を6mg/kg投与した担癌マウスでは、腫瘍が退縮した。

[0251] 本評価の結果、CAPRIN-1に対する抗体を用いて実施例10にて作製したDGN549とのコンジュゲートは、陰性コントロール（無治療対照群）に比べて顕著に強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。

[0252] （実施例12）抗CAPRIN-1抗体とIGN（DGN549）とのコンジュゲートの担癌マウスでの抗腫瘍効果2

実施例10で作製したコンジュゲート107、コンジュゲート113について、担癌マウス生体内における抗腫瘍効果を評価した。CAPRIN-1タンパク質を発現するヒト由来の癌細胞を移植したC. B-17SCIDマウスを用いて、本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果を検討した。1匹あたり 5×10^6 個のヒト卵巣癌細胞TOV112Dをマトリゲル（SIGMA）と混合して皮下に移植し、腫瘍が平均150~200mm³以上になるまで成長させた担癌マウスを作製した。TOV112Dは、細胞膜表面にCAPRIN-1タンパク質が発現しており、コンジュゲート107、コンジュゲート113はTOV112Dに結合する。TOV112Dを担癌したマウスへ、コンジュゲート107、コンジュゲート113を、それぞれ尾静脈を介して0.5mg/kgにて1回投与した。陰性コントロールの担癌マウスへはPBS（-）を投与した。

[0253] 投与後の担癌マウスの癌の大きさを経時的にノギスを用いて計測し、腫瘍体積は、定法に従い、計算式： $(\text{癌の長径の長さ}) \times (\text{癌の短径の長さ})^2 \times 0.5$ にて算出した。評価の結果、投与を開始して15日以降において、陰

性コントロールの腫瘍体積を100%としたとき、コンジュゲート103ならびにコンジュゲート117を投与した担癌マウスの腫瘍体積は13%以下であった。

[0254] 本評価の結果、CAPRIN-1に対する抗体を用いて実施例10にて作製したDGN549とのコンジュゲートは、陰性コントロール（無治療対照群）に比べて顕著に強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。

[0255] （実施例13）抗CAPRIN-1抗体とIGN（DGN549）とのコンジュゲートの担癌マウスでの抗腫瘍効果3

実施例10で作製したコンジュゲート107、コンジュゲート113について、担癌マウス生体内における抗腫瘍効果を評価した。CAPRIN-1タンパク質を発現するヒト由来の癌細胞を移植したBalb/c-nu/nu（Balb/cヌード）マウスを用いて、本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果を検討した。1匹あたり 5×10^6 個のヒト膀胱癌細胞UMUC3をマトリゲル（SIGMA）と混合して皮下に移植し、腫瘍が平均120~150mm³になるまで成長させた担癌マウスを作製した。UMUC3は、細胞膜表面にCAPRIN-1タンパク質が発現しており、コンジュゲート107、コンジュゲート113はUMUC3に結合する。UMUC3を担癌したマウスへ、コンジュゲート107、コンジュゲート113を、それぞれ尾静脈を介して0.5mg/kgにて1回投与した。陰性コントロールの担癌マウスへはPBS（-）を投与した。

[0256] 投与後の担癌マウスの癌の大きさを経時的にノギスを用いて計測し、腫瘍体積は、定法に従い、計算式： $(\text{癌の長径の長さ}) \times (\text{癌の短径の長さ})^2 \times 0.5$ にて算出した。評価の結果、投与を開始して15日以降において、陰性コントロールの腫瘍体積を100%としたとき、コンジュゲート103ならびにコンジュゲート117を投与した担癌マウスの腫瘍体積は11%以下であった。

[0257] 本評価の結果、CAPRIN-1に対する抗体を用いて実施例10にて作製したDGN549とのコンジュゲートは、陰性コントロール（無治療対照

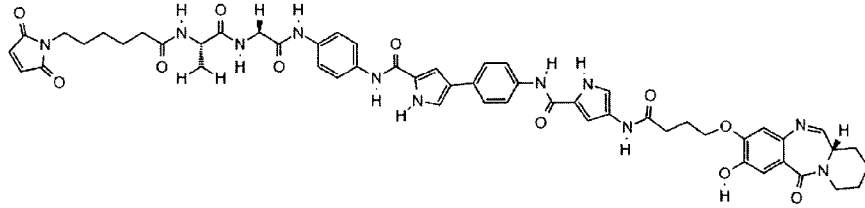
群) に比べて顕著に強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。

[0258] (実施例14) 抗CAPRIN-1抗体とPDD誘導体とのコンジュゲートの作製

実施例3と同様、定法に従い、実施例1に記載の抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#1のリジン残基にスペーサーとしてSATAを結合させた後に、PDDの一つである米国特許10975072B2の実施例41に記載の化合物((S)-N-(4-アミノフェニル)-4-(4-(4-(4-(2-メトキシ-1,2-オキソ-6a,7,8,9,10,12-ヘキサヒドロベンゾ[e]ピリド[1,2-a][1,4]ジアゼピン-3-イル)オキシ)ブタンアミド)-1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド)フェニル)-1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド)にマレイミド基を付加したリンカーを結合させた以下の化学構造の化合物を、マレイミド基を介して抗体に結合させてコンジュゲートを含む溶液(コンジュゲート160)を得た。同様に、実施例2に記載の抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#1と前記化合物とのコンジュゲートを作製し、コンジュゲートを含む溶液(コンジュゲート166)を得た。同様に、抗CAPRIN-1ポリクローナル抗体#2~#6ならびに抗CAPRIN-1モノクローナル抗体であるヒト化抗体#2~#47について、前記化合物とのコンジュゲートを作製した。上記と同様の操作で、CAPRIN-1タンパク質には反応しない実施例1に記載のウサギコントロール抗体、ヒトIgGコントロール抗体についても同様の方法でPDD誘導体とのコンジュゲートを含む溶液を得た(コントロールコンジュゲート7、コントロールコンジュゲート8)。作製した上記コンジュゲートについて、実施例4~6と同様に評価したところ、コンジュゲートのCAPRIN-1タンパク質及びCAPRIN-1発現癌細胞への特異的反応性、内在化、コンジュゲートの抗腫瘍活性を示すことを確認した。

[0259]

[化3]



[0260] (実施例15) 抗CAPRIN-1抗体とPDD誘導体とのコンジュゲートの担癌マウスでの抗腫瘍効果

実施例12で作製したコンジュゲート160、コンジュゲート166について、担癌マウス生体内における抗腫瘍効果を評価した。CAPRIN-1タンパク質を発現するヒト由来の癌細胞を移植したNOD-SCIDマウスを用いて、本発明のコンジュゲートの抗腫瘍効果を検討した。1匹あたり 10^7 個のヒト頭頸部癌細胞FaDuをマトリゲル(SIGMA)と混合して皮下に移植し、腫瘍が $100\sim 200\text{mm}^3$ 以上になるまで成長させた担癌マウスを作製した。FaDuは、細胞膜表面にCAPRIN-1タンパク質が発現しており、コンジュゲート160、コンジュゲート166はFaDuに結合する。FaDuを担癌したマウスへ、コンジュゲート160、コンジュゲート166を、それぞれ尾静脈を介して $6\text{mg}/\text{kg}$ ならびに $12\text{mg}/\text{kg}$ にて1回投与した。陰性コントロールの担癌マウスへはPBS(-)を投与した。

[0261] 投与後の担癌マウスの癌の大きさを経時的にノギスを用いて計測し、腫瘍体積は、定法に従い、計算式： $(\text{癌の長径の長さ}) \times (\text{癌の短径の長さ})^2 \times 0.5$ にて算出した。評価の結果、投与を開始して30日目以降において、陰性コントロールの腫瘍体積を100%としたとき、コンジュゲート160ならびにコンジュゲート166を $6\text{mg}/\text{kg}$ 投与したマウスの腫瘍体積はそれぞれ50%未満の腫瘍体積であった。一方、コンジュゲート160ならびにコンジュゲート166を $12\text{mg}/\text{kg}$ 投与した担癌マウスでは30%未満の腫瘍体積であった。

[0262] 本評価の結果、CAPRIN-1タンパク質に対する抗体を用いて実施例

12にて作製したPDD誘導体とのコンジュゲートは、陰性コントロール（無治療対照群）に比べて顕著に強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。

請求の範囲

- [請求項1] 配列番号2～30のうち偶数の配列番号のいずれかで表されるアミノ酸配列又は、該アミノ酸配列と80%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメントと、ベンゾジアゼピンが結合されるコンジュゲート。
- [請求項2] 前記抗体又はそのフラグメントが、配列番号31～35、296～299、308、309のいずれかで表されるアミノ酸配列、あるいは該アミノ酸配列と80%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCAPRIN-1タンパク質の部分ポリペプチドと免疫学的反応性を有する、請求項1に記載のコンジュゲート。
- [請求項3] 前記抗体がモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である、請求項1又は2に記載のコンジュゲート。
- [請求項4] 前記抗体又はそのフラグメントが以下の(A)～(M)のいずれかである、請求項1～3のいずれか1項に記載のコンジュゲート。
- (A) 配列番号36、37及び38の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号40、41及び42の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント
- (B) 配列番号44、45及び46の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号48、49及び50の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント
- (C) 配列番号52、53及び54の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号56、57及び58の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びC

DR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント

(D) 配列番号60、61及び62の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号64、65及び66の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はフラグメント

(E) 配列番号170、171及び172の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号173、174及び175の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(F) 配列番号176、177及び178の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号179、180及び181の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(G) 配列番号182、183及び184の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号185、186及び187の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRIN-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(H) 配列番号188、189及び190の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号191、192及び193の相補性決定領域(それぞれCDR1、C

DR 2 及び CDR 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRI N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(I) 配列番号 146、147 及び 148 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 149、150 及び 151 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRI N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(J) 配列番号 272、273 及び 274 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 275、276 及び 277 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRI N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(K) 配列番号 290、291 及び 292 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 293、294 及び 295 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRI N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(L) 配列番号 301、302 及び 303 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む重鎖可変領域と配列番号 305、306 及び 307 の相補性決定領域 (それぞれ CDR 1、CDR 2 及び CDR 3) を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRI N-1 タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

(M) 配列番号 134、135 及び 136 の相補性決定領域 (それぞ

れCDR1、CDR2及びCDR3)を含む重鎖可変領域と配列番号137、138及び139の相補性決定領域(それぞれCDR1、CDR2及びCDR3)を含む軽鎖可変領域とを含み、かつ、CAPRI N-1タンパク質と免疫学的反応性を有する抗体又はそのフラグメント

[請求項5]

前記抗体又はそのフラグメントが以下の(a)～(a1)のいずれかである、請求項1～4のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

(a) 重鎖可変領域が配列番号39のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号43のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(b) 重鎖可変領域が配列番号47のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号51のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(c) 重鎖可変領域が配列番号55のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号59のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(d) 重鎖可変領域が配列番号63のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号67のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(e) 重鎖可変領域が配列番号68のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号69のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(f) 重鎖可変領域が配列番号70のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号71のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(g) 重鎖可変領域が配列番号72のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号73のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(h) 重鎖可変領域が配列番号74のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号75のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(i) 重鎖可変領域が配列番号76のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号77のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(j) 重鎖可変領域が配列番号78のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号79のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(k) 重鎖可変領域が配列番号80のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号81のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(l) 重鎖可変領域が配列番号82のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号83のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(m) 重鎖可変領域が配列番号84のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号85のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(n) 重鎖可変領域が配列番号86のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号87のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(o) 重鎖可変領域が配列番号88のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号89のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(p) 重鎖可変領域が配列番号90のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号91のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(q) 重鎖可変領域が配列番号92のアミノ酸配列を含み、かつ、軽

鎖可変領域が配列番号 93 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(r) 重鎖可変領域が配列番号 94 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 95 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(s) 重鎖可変領域が配列番号 96 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 97 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(t) 重鎖可変領域が配列番号 98 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 99 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(u) 重鎖可変領域が配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 101 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(v) 重鎖可変領域が配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 103 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(w) 重鎖可変領域が配列番号 104 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 105 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(x) 重鎖可変領域が配列番号 106 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 107 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(y) 重鎖可変領域が配列番号 108 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 109 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(z) 重鎖可変領域が配列番号 110 のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号 111 のアミノ酸配列を含んでなる抗体又は

そのフラグメント

(a a) 重鎖可変領域が配列番号112のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号113のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a b) 重鎖可変領域が配列番号114のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号115のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a c) 重鎖可変領域が配列番号116のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号117のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a d) 重鎖可変領域が配列番号118のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号119のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a e) 重鎖可変領域が配列番号120のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号121のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a f) 重鎖可変領域が配列番号122のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号123のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a g) 重鎖可変領域が配列番号124のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号125のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a h) 重鎖可変領域が配列番号126のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号127のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a i) 重鎖可変領域が配列番号128のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号129のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a j) 重鎖可変領域が配列番号130のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号131のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a k) 重鎖可変領域が配列番号132のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号133のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

(a l) 重鎖可変領域が配列番号300のアミノ酸配列を含み、かつ、軽鎖可変領域が配列番号304のアミノ酸配列を含んでなる抗体又はそのフラグメント

[請求項6] 前記抗体が、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体又は単鎖抗体である、請求項1～5のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

[請求項7] 前記抗体又はそのフラグメントとベンゾジアゼピンがリンカーを介して結合する、請求項1～6のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

[請求項8] 前記ベンゾジアゼピンが、抗腫瘍活性を有するベンゾジアゼピンである、請求項1～7のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

[請求項9] 前記ベンゾジアゼピンが、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、インドリノベンゾジアゼピン(IGN)、ピリジノベンゾジアゼピン(PDD)又はイソキノリジノベンゾジアゼピン(IQB)である、請求項1～8のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

[請求項10] 前記ベンゾジアゼピンが、DSB-120、SJG-136(SG2000)、DC-81、DSB-120、SJG-136、SG2057、SG2202、SG2285、SGD-1882、SGD-1910、SG3199、SG3249、SG2219、IMGN779、IMGN632、(S)-N-(4-アミノフェニル)-4-(4-(4-(4-(2-メトキシ-12-オキソ-6a, 7, 8, 9, 10, 12-ヘキサヒドロベンゾ[e]ピリド[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-3-イル)オキシ)ブタンアミド)-1-メ

チル-1H-ピロール-2-カルボキサミド)フェニル)-1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド、D211、D221、D231、GWL-78、KMR-28-39又はその誘導体である、請求項1~9のいずれか1項に記載のコンジュゲート。

[請求項11] 前記誘導体が、Tesirine (SG3249の誘導体)、Talirine (SGD-1910の誘導体)、SG3364、SG3227、SG3140 (MC-Phe-Lys-PAB-SG2057)、SG3170、SG3203 (MC-Phe-Lys-PAB-SG2057)、SG3231、SG3400、SG3376、DGN642、DGN549、FGX5-67又はFGX-2-62、FGX11-38である、請求項10に記載のコンジュゲート。

[請求項12] 請求項1~11のいずれか1項に記載のコンジュゲートを有効成分として含む、癌の治療及び/又は予防のための医薬組成物。

[請求項13] 前記癌がCAPRIN-1タンパク質を細胞膜表面に発現する癌である、請求項12に記載の医薬組成物。

[請求項14] 前記癌が、乳癌、腎癌、膵臓癌、大腸癌、肺癌、脳腫瘍、胃癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌、食道癌、白血病、リンパ腫、肝臓癌、胆嚢癌、胆管癌、肉腫、肥満細胞腫、メラノーマ、副腎皮質癌、ユーイング腫瘍、ホジキンリンパ腫、中皮腫、多発性骨髄腫、睾丸癌、甲状腺癌、頭頸部癌又は尿路上皮癌である、請求項12又は13に記載の医薬組成物。

[請求項15] 請求項1~11のいずれか1項に記載のコンジュゲート、又は、請求項12~14のいずれか1項に記載の医薬組成物を、被験者に投与することを含む、癌の治療及び/又は予防方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/024125

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<p>A61K 39/395(2006.01)i; A61K 31/5513(2006.01)i; A61K 47/68(2017.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; C07D 519/00(2006.01)n; C07K 16/28(2006.01)n; C12N 15/13(2006.01)n FI: A61K39/395 L; A61K31/5513; A61K39/395 C; A61K39/395 D; A61K39/395 N; A61K47/68; A61P35/00; A61P35/02; C07D519/00 311; C07K16/28 ZNA; C12N15/13</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K39/395; A61K31/5513; A61K47/68; A61P35/00; A61P35/02; C07D519/00; C07K16/28; C12N15/13		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2013/018894 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 07 February 2013 (2013-02-07) claims 12-14, paragraph [0008]	1-15
Y	WO 2015/020212 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 12 February 2015 (2015-02-12) claims 15, 20-21, paragraph [0005]	1-15
Y	THOMAS, Anish et al. Antibody–Drug Conjugates for Cancer Therapy. The Lancet Oncology. 2016, vol. 17, issue 6, e254-e262 abstract, p. e255, right column, p. e259, left column, table 2	1-15
Y	JAIN, Nareshkumar et al. Current ADC Linker Chemistry. Pharm Res. 2015, vol. 32, pp. 3526-3540 abstract, p. e255, right column, p. e259, left column	1-15
A	WO 2018/079740 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 03 May 2018 (2018-05-03) claims, examples, etc.	1-15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 01 September 2023		Date of mailing of the international search report 12 September 2023
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

“In the form of an Annex C/ST.25 text file” above should be understood as “in ST.26 format”.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/JP2023/024125

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2013/018894	A1	07 February 2013	US 2014/0186359 A1 claims 12-14, paragraph [0017] EP 2740796 A1 CN 103717740 A KR 10-2014-0054185 A	

WO	2015/020212	A1	12 February 2015	US 2016/0297889 A1 claims 15, 20-21, paragraph [0023] EP 3031826 A1 CN 105452294 A KR 10-2016-0038892 A	

WO	2018/079740	A1	03 May 2018	US 2020/0054762 A1 claims, examples EP 3533466 A1 CN 109890417 A KR 10-2019-0075921 A	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>A61K 39/395(2006.01)i; A61K 31/5513(2006.01)i; A61K 47/68(2017.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; C07D 519/00(2006.01)n; C07K 16/28(2006.01)n; C12N 15/13(2006.01)n FI: A61K39/395 L; A61K31/5513; A61K39/395 C; A61K39/395 D; A61K39/395 N; A61K47/68; A61P35/00; A61P35/02; C07D519/00 311; C07K16/28 ZNA; C12N15/13</p>																				
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K39/395; A61K31/5513; A61K47/68; A61P35/00; A61P35/02; C07D519/00; C07K16/28; C12N15/13</p> <p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2023年</td> </tr> </table> <p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2023年	日本国実用新案登録公報	1996-2023年	日本国登録実用新案公報	1994-2023年										
日本国実用新案公報	1922-1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971-2023年																			
日本国実用新案登録公報	1996-2023年																			
日本国登録実用新案公報	1994-2023年																			
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2013/018894 A1 (東レ株式会社) 07.02.2013 (2013-02-07) 請求項12-14, 段落0008</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2015/020212 A1 (東レ株式会社) 12.02.2015 (2015-02-12) 請求項15, 20-21, 段落0005</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>THOMAS Anish et al., Antibody-drug conjugates for cancer therapy, The Lancet Oncology, 2016, Volume 17, Issue 6, e254-e262 Abstract, e255頁右欄、e259頁左欄、Table 2</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JAIN, Nareshkumar et al., Current ADC Linker Chemistry, Pharm Res., 2015, vol. 32, p. 3526-3540 Abstract, e255頁右欄、e259頁左欄</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018/079740 A1 (東レ株式会社) 03.05.2018 (2018-05-03) 特許請求の範囲、実施例等</td> <td>1-15</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	Y	WO 2013/018894 A1 (東レ株式会社) 07.02.2013 (2013-02-07) 請求項12-14, 段落0008	1-15	Y	WO 2015/020212 A1 (東レ株式会社) 12.02.2015 (2015-02-12) 請求項15, 20-21, 段落0005	1-15	Y	THOMAS Anish et al., Antibody-drug conjugates for cancer therapy, The Lancet Oncology, 2016, Volume 17, Issue 6, e254-e262 Abstract, e255頁右欄、e259頁左欄、Table 2	1-15	Y	JAIN, Nareshkumar et al., Current ADC Linker Chemistry, Pharm Res., 2015, vol. 32, p. 3526-3540 Abstract, e255頁右欄、e259頁左欄	1-15	A	WO 2018/079740 A1 (東レ株式会社) 03.05.2018 (2018-05-03) 特許請求の範囲、実施例等	1-15
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																		
Y	WO 2013/018894 A1 (東レ株式会社) 07.02.2013 (2013-02-07) 請求項12-14, 段落0008	1-15																		
Y	WO 2015/020212 A1 (東レ株式会社) 12.02.2015 (2015-02-12) 請求項15, 20-21, 段落0005	1-15																		
Y	THOMAS Anish et al., Antibody-drug conjugates for cancer therapy, The Lancet Oncology, 2016, Volume 17, Issue 6, e254-e262 Abstract, e255頁右欄、e259頁左欄、Table 2	1-15																		
Y	JAIN, Nareshkumar et al., Current ADC Linker Chemistry, Pharm Res., 2015, vol. 32, p. 3526-3540 Abstract, e255頁右欄、e259頁左欄	1-15																		
A	WO 2018/079740 A1 (東レ株式会社) 03.05.2018 (2018-05-03) 特許請求の範囲、実施例等	1-15																		
<p><input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>																				
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</p> <p>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p> <p>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>																				
<p>国際調査を完了した日</p> <p>01.09.2023</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>12.09.2023</p>																			
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>堂畑 厚志 4U 7880</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3439</p>																			

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
- a. 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- 紙形式又はイメージファイル形式
- b. 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)
2. さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見:
- 上記「附属書 C/ST.25テキストファイル形式」は「ST.26形式」と読み替える。

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/024125

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2013/018894	A1	07.02.2013	US	2014/0186359	A1	
					Claims 12-14, [0017]		
				EP	2740796	A1	
				CN	103717740	A	
				KR	10-2014-0054185	A	

WO	2015/020212	A1	12.02.2015	US	2016/0297889	A1	
					Claims 15, 20-21, [0023]		
				EP	3031826	A1	
				CN	105452294	A	
				KR	10-2016-0038892	A	

WO	2018/079740	A1	03.05.2018	US	2020/0054762	A1	
					Claims, Examples		
				EP	3533466	A1	
				CN	109890417	A	
				KR	10-2019-0075921	A	
