

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-525925
(P2014-525925A)

(43) 公表日 平成26年10月2日(2014.10.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 L	4 B O 2 4
A 6 1 K 31/7076 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	4 B O 6 4
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 K 31/7076	4 C O 8 5
C O 7 K 7/06 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 C O 8 6
C O 7 K 7/08 (2006.01)	C O 7 K 7/06 Z N A	4 H O 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-525432 (P2014-525432)
 (86) (22) 出願日 平成24年8月14日 (2012. 8. 14)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年4月8日 (2014. 4. 8)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2012/065904
 (87) 国際公開番号 W02013/024095
 (87) 国際公開日 平成25年2月21日 (2013. 2. 21)
 (31) 優先権主張番号 11177660.5
 (32) 優先日 平成23年8月16日 (2011. 8. 16)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 61/523, 862
 (32) 優先日 平成23年8月16日 (2011. 8. 16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 502247787
 モルフォシス・アー・ゲー
 ドイツ連邦共和国 8 2 1 5 2 ・マルティン
 スリード／プラネッグ, レナークリストー
 シュトラーセ 4 8
 (74) 代理人 110001302
 特許業務法人北青山インターナショナル
 (72) 発明者 アメルスドルファー, ユタ
 ドイツ連邦共和国 マルティンスリード／
 プラネッグ 8 2 1 5 2, レナークリスト
 ーシュトラーセ 4 8
 (72) 発明者 シュタイドル, シュテファン
 ドイツ連邦共和国 ミュンヘン 8 1 2 4
 1, エバンベックシュトラーセ 2 5

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗-CD19抗体とプリン類似体の併用治療

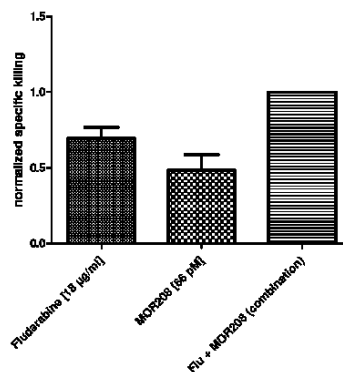
(57) 【要約】

本開示は、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、及び/又は、急性リンパ芽球性白血病の地要用の、抗-CD19抗体とプリン類似体の薬剤組合せに関する。

【選択図】 図5

Figure 5

Normalized specific killing; SD; MEC-1 target cells pretreated with Fludarabine (Flu) for 72 h before ADCC; pool of 3 independent experiments with 3 different effector cell donors



The figure shows the averages from the data shown in Table 2.

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C D 1 9 に特異的な抗体の相乗的組合せにおいて、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、及び/又は、急性リンパ芽球性白血病の治療に用いる、配列 S Y V M H (配列番号: 1) の H C D R 1 領域と、配列 N P Y N D G (配列番号: 2) の H C D R 2 領域と、配列 G T Y Y Y G T R V F D Y (配列番号: 3) の H C D R 3 領域と、配列 R S S K S L Q N V N G N T Y L Y (配列番号: 4) の L C D R 1 領域と、配列 R M S N L N S (配列番号: 5) の L C D R 2 領域と、配列 M Q H L E Y P I T (配列番号: 6) の L C D R 3 領域と、フルダラピンを含む抗体と交差競合する抗体を含むことを特徴とする組合せ。

10

【請求項 2】

請求項 1 に記載の組合せにおいて、前記抗体が、配列 S Y V M H (配列番号: 1) の H C D R 1 領域と、配列 N P Y N D G (配列番号: 2) の H C D R 2 領域と、配列 G T Y Y Y G T R V F D Y (配列番号: 3) の H C D R 3 領域と、配列 R S S K S L Q N V N G N T Y L Y (配列番号: 4) の L C D R 1 領域と、配列 R M S N L N S (配列番号: 5) の L C D R 2 領域と、配列 M Q H L E Y P I T (配列番号: 6) の L C D R 3 領域を含む抗体と同じエピトープに結合する抗体を含むことを特徴とする組合せ。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の組合せにおいて、前記抗体が、配列 S Y V M H (配列番号: 1) の H C D R 1 領域と、配列 N P Y N D G (配列番号: 2) の H C D R 2 領域と、配列 G T Y Y Y G T R V F D Y (配列番号: 3) の H C D R 3 領域と、配列 R S S K S L Q N V N G N T Y L Y (配列番号: 4) の L C D R 1 領域と、配列 R M S N L N S (配列番号: 5) の L C D R 2 領域と、配列 M Q H L E Y P I T (配列番号: 6) の L C D R 3 領域を含むことを特徴とする組合せ。

20

【請求項 4】

請求項 1 乃至 3 のいずれか 1 項に記載の組合せにおいて、前記抗体が、配列

EVQLVESGGGLV KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSS (配列番号: 10)

30

の可変重鎖と、配列

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (配列番号: 11).

の可変軽鎖を含むことを特徴とする組合せ。

【請求項 5】

請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組合せにおいて、前記抗体が、配列

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSQVH
TFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELL
GGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK. (配列番号: 12)

40

の重鎖定常領域を含むことを特徴とする組合せ。

【請求項 6】

請求項 1 乃至 5 のいずれか 1 項に記載の組合せにおいて、C D 1 9 に特異的な前記抗体とフルダラピンが別個に投与されることを特徴とする組合せ。

50

【請求項 7】

請求項 1 乃至 6 のいずれか 1 項に記載の組合せにおいて、前記フルダラビンが、前記 CD 19 に特異的な抗体の投与の前に投与されることを特徴とする組合せ。

【請求項 8】

請求項 1 乃至 7 のいずれか 1 項に記載の組合せにおいて、当該組合せが、単離した P B M C s の存在下で A D C C による M E C - 1 細胞の死滅を、フルダラビン単独の場合より少なくとも 2 倍の効率で死滅できることを特徴とする組合せ。

【請求項 9】

非ホジキンリンパ球種の治療に用いる請求項 1 乃至 8 のいずれか 1 項に記載の組合せにおいて、この非ホジキンリンパ球腫が、濾胞性リンパ腫、小リンパ球腫リンパ腫、粘膜関連リンパ組織、辺縁帯}、びまん性大細胞型 B 細胞、パーキット、及び外套細胞からなる群から選択されることを特徴とする組合せ。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[クロスリファレンス]

本発明は、ここに引用により組み込まれている、2011年8月16日に提出した米国暫定特許出願第61/523,862号の利益を請求する。

【0002】

本開示は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血球を治療するための抗-CD19抗体とプリン類似体の薬学的組合せに関する。

20

【背景技術】

【0003】

B細胞は、液性免疫反応において大きな役割を果たすリンパ球である。この細胞は、ほとんどの哺乳類の骨髄中で作られ、循環するリンパ球プールの5-15%を占める。B細胞の主な作用は、様々な抗原に対する抗体を作ることであり、適応免疫系の必須要素である。

【0004】

免疫系の調整におけるその重要な役割のために、B細胞の異常調節は、リンパ腫や白血病など様々な疾患に関連している。これらの疾患には、非ホジキンリンパ腫(NHL)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、及び急性リンパ球性白血病(ALL)が含まれる。

30

【0005】

NHLは、リンパ球由来の異種悪性腫瘍である。米国では、その発生率は65,000/年、死亡率は約20,000と推定されている。(米国がん学会、2006;及びSEER Cancer Statistics Review)。この疾患はすべての年齢で生じ、通常は40歳以上の成人に始まり、年齢に伴って発生率が上がる。NHLは、リンパ節、血液、骨髄、脾臓に蓄積したリンパ球のクローン増殖によって特徴づけられるが、あらゆる主な器官が関係する。病理学者や医師が用いている現在の分類システムは、腫瘍の世界保健機構(WHO)分類であり、この分類は、NHLを前駆体又は成熟B-細胞又はT-細胞腫瘍に分類している。PDQは、現在、臨床試験への参加にあたり、NHLを無痛又は悪性に分けている。無痛NHLグループは、主に、小胞亜型、小リンパ球性リンパ腫、MALT(粘膜関連リンパ組織)、及び辺縁帯からなり、無痛性は、新たに診断されたB-細胞NHL患者の約50%に及ぶ。悪性NHLは、主にびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBL、DLBCL、又はDLCL)(新たに診断された全患者の40%がびまん性大細胞型細胞を有する)、パーキット型細胞、および外套細胞の組織学的診断を受けた患者を含む。NHLの臨床経過は極めて価値がある。臨床経過の主たる決定要因は組織学的亜型である。ほとんどの無痛型のNHLは、不治の疾患であると考えられている。患者は初期には、化学療法又は抗体療法に反応するが、ほとんどが再発する。これまでの研究は、治療介入による生存率の改善を示していない。無症状の患者では、患者が症状を示すようになるか、あるいは、疾患の進み具合が加速して見えるまで「成り行

40

50

きを見守る」ことを受け入れることができる。時間がたつと、疾患がより悪性の組織構造に変化する。平均生存期間は8乃至10年であり、無痛の患者は、通常、その疾患の治療段階で3回又はそれ以上の治療を受ける。症候性無痛NHL患者の初期治療は、過去においては、併用化学療法であった。最も普通に使用されている薬剤には：シクロホスファミド、ビンクリスチン、プレドニゾン（CVP）；又は、シクロホスファミド、アドリアミン、ビンクリスチン、プレドニゾン（CHOP）がある。患者の約70%乃至80%が、この初期の化学療法に反応し、寛解期間は2 - 3年のオーダーで終わる。最終的には、ほとんどの患者が再発する。抗-CD20抗体である、リツキシマブの発見と臨床的使用は、反応率と生存率を有意に改善した。ほとんどの患者の現在の治療標準は、リツキシマブ+CHOP（R-CHOP）又はリツキシマブ+CVP（R-CVP）である。アルキル化剤と併用して、NHLの初期治療にインターフェロンを用いることが認められているが、米国における使用は制限されていた。リツキシマブ治療は、いくつかのタイプのNHLに効果があることが示されており、現在は、無痛（濾胞性リンパ腫）と悪性NHL（びまん性大細胞型B細胞リンパ腫）の両方の第一線治療として認められている。しかしながら、抗-CD20モノクローナル抗体（mAb）には、一次耐性（再発した無痛患者では50%の応答）、獲得性耐性（再治療時に50%の応答率）、まれな完全応答（再発した者の完全応答率2%）、及び再発の継続パターンといった、大きな限界がある。最終的には、多くのB細胞がCD20を発現せず、したがって、ほとんどのB細胞疾患は、抗CD20抗体治療では治療できない。

10

20

【0006】

NHLに加えて、B細胞の調節異常に起因するいくつかのタイプの白血病がある。慢性リンパ球性白血病（「CLL」ともいう）は、Bリンパ球の異常蓄積によって生じるある種の成人白血病である。CLLでは、悪性リンパ球が正常かつ成熟して見えるが、これらのリンパ球は、感染に対して有効に戦うことができない。CLLは、成人白血病の最も普通の型のものである。男性はCLLの発現が女性の2倍である。しかしながら、重要なリスク要因は年齢である。新たな例ケースの75%異常が、50歳を超えた患者に診断されている。毎年10,000例以上が診断されており、死亡率は1年で約5,000人である（米国癌学会、2006；及びSEER Cancer Statistics Review）。CLLは不治の病であるが、多くの場合進行が遅い。CLLにかかった多くの人は、何年も正常で活動的な生活を送っている。発現がゆっくりであるため、初期のCLLへの治療介入は、生存期間や生活の質を改善しないと考えられているため、初期のCLLでは通常治療が行われない。代わりに、時間をかけて症状を観察する。初期のCLLの治療は、正しい診断と、疾病の進行具合によって異なる。CLL治療に使用される薬は数多くある。FCR（フルダラビン、シクロホスファミド、及びリツキシマブ）と、BR（フルダラビンとリツキシマブ）といった、併用化学療法レジメは、新規に診断されたCLLと、再発したCLLの両方に有効である。同種骨髄（幹細胞）移植は、リスクがあるため、CLLの最初に使う治療として稀に使用される。

30

【0007】

もう一つのタイプの白血病は、急性リンパ芽球性白血病（ALL）であり、急性リンパ性白血病として知られている。ALLは、骨髄中の悪性で未成熟な白血球（リンパ芽球ともいう）の過剰産生と連続増殖が特徴である。「急性」とは、分化していない未成熟な状態の循環リンパ球（芽球）を意味し、治療を受けなければ、数週間乃至数か月の平均余命で疾病が急激に進行することを意味する。ALLは、発生のピークが4乃至5歳であり、小児期に良く見られる。12歳乃至16歳の小児は、他よりも容易に死亡する。現在、小児ALLの少なくとも80%が治療可能であると考えられている。4,000例を下回る診断が毎年なされ、死亡率は年間1,500例である（米国癌学会、2006；及びSEER Cancer Statistics Review）。

40

【0008】

ヒトCD19分子は、限定するものではないが、プレB細胞、初期発生段階のB細胞（すなわち、未成熟B細胞）、プラズマ細胞に最終分化する間の成熟B細胞、及び悪性B細胞

50

を含む、ヒトB細胞の表面に発現した構造的に異なる細胞表面レセプタである。CD19は、ほとんどのプレB急性リンパ芽球白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病(CLL)、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、通常の急性リンパ球性白血病、及びいくつかのヌル細胞型急性リンパ芽球白血病によって、発現する。(Nadler et al., J. Immunol., 131:244-250(1983), Loken et al., Blood, 70:1316-1324(1987), Uckun et al., Blood, 71:13-29(1988), Anderson et al., 1984, Blood, 63:1424-1433(1984), Scheuermann, Leuk. Lymphoma, 18:385-397(1995))。プラズマ細胞でのCD19の発現は、更に、多発性骨髄腫、形質細胞腫、ヴァルデンストレーム腫瘍などの、分化したB細胞腫瘍に発現することを示唆している(Grossbard et al., Br. J. Haematol, 102:509-15(1998); Treon et al., Semin. Oncol, 30:248-52(2003))。

10

【0009】

したがって、CD19抗原は、非ホジキンリンパ腫(ここに記載した各サブタイプを含む)、慢性リンパ球性白血病、及び/又は急性リンパ芽球白血病、の治療における免疫治療ターゲットである。CD19は、ここに引用により組み込まれているWO2000074718号において、自己免疫疾患の治療における免疫治療ターゲットとしても示唆されている。

20

【0010】

CD19治療を以下に示すCD3-及びCD28分子の両方を含む抗CD19キメラ抗原受容体(CAR)を発現するT細胞を、濾胞性リンパ腫を罹患している患者に投与した。Kochenderfer et al., Eradication of B lineage cell and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19, Blood, vol. 116, no:20(November 2010)。ここに引用により全体が組み込まれているSadelain et al., The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, no. 2, 2 April 2009も、抗CD19キメラ抗原受容体(CARs)について述べている。ここに引用により全体が組み込まれているRosenberg et al., Treatment of B cell Malignancies with T cells expressing an anti-CD19 chimeric receptor: A assessment of the Impact of Lymphocyte Depletion Prior to T cell Transfer(September 2008), www.gemcris.od.nih.gov/Abstracts/940_s.pdf(2012年1月13日検索)は、フルダラピンを用いた抗CD19キメラ抗原受容体(CARs)について述べている。また、Eshhar et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, National Academy of Science, Washington, D.C., vol. 90, no. 2(15 January 1993)参照。しかしながら、Kochenderfer et al., Sadelain et al., Rosenberg et al., ばかりでなくEshhar et al., も、本明細書で例示したようなフルダラピンと組合せたCD19に特異的抗体については記載していない。

30

40

【0011】

CLLの治療における治療としてのフルダラピンは、Montserrat et a

50

l., Chronic lymphocytic leukemia treatment, Blood Review, Churchill Livingstone, vol. 7, no. 3 (1 Sept. 1993)に記載されているが、ここに例示したようなフルダラビンと組合せたCD19に特異的な抗体は示唆していない。

【0012】

B細胞疾患におけるCD19の使用は、引用により全体が組み込まれているUS2011104150号に、潜在的な併用パートナーの長いリストにあるフルダラビンの大雑把な記載と共に議論されているが、これは例示的抗体も、ここに例示されている非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病の治療における併用の相乗効果も、教示も示唆もしていない。

10

【0013】

非特異的B細胞リンパ腫へのCD19の使用が、引用により全体が組み込まれているWO2007076950号に、潜在的な併用パートナーの長いリストにあるフルダラビンの大雑把な記載と共に議論されているが、これは例示的抗体も、ここに例示されている非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病の治療における併用の相乗効果も、教示も示唆もしていない。

【0014】

白血病とリンパ腫におけるCD19抗体の使用は、引用により全体が組み込まれているWO2005012493号で、潜在的な併用パートナーの長いリストにあるフルダラビンの大雑把な記載と共に議論されているが、ここに例示されている非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病の治療における併用の相乗効果も、教示も示唆もしていない。

20

【0015】

CLL、NHL及びALLにおけるCD19抗体の使用は、引用により全体が組み込まれている、Scheuermann et al., CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)に記載されているが、ここに例示されている組合せを示唆するものではない。

【0016】

CD19に特異的な更なる抗体は、WO2005012493 (US7109304)、WO2010053716 (US12/266,999) (ImmunoMedics); WO2007002223 (US8097703) (Medarex); WO2008022152 (12/377,251) 及びWO2008150494 (Xencor)、WO2008031056 (US11/852,106) (Medimmune); WO2007076950 (US11/648,505) (Merck Patent GmbH); WO2009/052431 (US12/253,895) (Seattle Genetics); 及びWO2010095031 (12/710,442) (Glenmark Pharmaceuticals)に記載されている。これらはすべて引用により全体が組み込まれている。

30

40

【0017】

CD19に特異的な抗体と、その他の薬剤の組合せは、WO2010151341 (US13/377,514) (The Feinstein Institute); US5686072 (University of Texas)、及びWO2002022212 (PCT/US01/29026) (IDEC Pharmaceuticals)に記載されている。これらはすべて、引用により全体が組み込まれている。

【0018】

抗ガン剤の発見と開発における近年の進歩にもかかわらず、CD19発現腫瘍を含む多くの形の癌の予後が良いことは明らかである。したがって、これらの形の癌を治療するための改善された組成物と方法が求められている。

50

【発明の概要】

【0019】

単用にしろ併用にしろ、従来技術には非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病の治療において例示した抗体とフルダラビンの組合せの相乗効果を示唆するものはない。

【0020】

一の態様では、本開示は、CD19に特異的な抗体とプリン類似体の相乗的組合せに関する。このような組合せは、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病といった、B細胞悪性腫瘍の治療に有用である。

【0021】

インビトロ及びインビボモデルは、ある化合物又は化合物の組合せがヒトにおいてどのように挙動するかを表すと考えられている。更に、化合物をインビトロ又はインビボで組合せると、その組合せが相加効果のみを有すると思われる。驚いたことに、発明者らは、特定のCD19に特異的な抗体とフルダラビンの組合せが、その抗体と、フルダラビン単独の場合に比べて、慢性B細胞白血病細胞株(MEC-1)で、ある相乗レベルの特定の細胞死滅を仲介することを発見した。このインビトロモデルは、ヒトの慢性リンパ球腫白血病(CLL)の治療において、この組合せがどのように作用するかを表している。更に、また、予想外に、発明者らは、特定のCD19に特異的な抗体とフルダラビンの組合せが、その抗体とフルダラビン単用の場合に比べて、パーキットリンパ球腫SCIDマウスモデルで相乗的に腫瘍の成長を阻害し、相乗的に平均生存日数を延ばすことを発見した。これらのインビトロモデルは、ヒトの非ホジキンリンパ球腫の治療においてどのように作用するかを示している。すなわち、例示した抗CD19抗体とフルダラビンの組合せは、NHLとCLLに罹患したモデルにおいて相乗的に作用した。NHLもCLLもB細胞関連疾患であり、CD19は、B細胞に多く発現するので、例示した組合せは、同じ作用機序を有し、例えば、ALLなどのその他のB細胞関連疾患においても相乗的に作用するであろう。

【0022】

したがって、例示したCD19に特異的な抗体とフルダラビンの組合せは、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病のヒトの治療に有効である。更に、本明細書で例示したCD19に特異的な抗体は、すでに臨床試験に入っており、このような組合せをヒトで確認することができる。

【0023】

フルダラビン及びその他のプリン類似体の作用機序は同様であるため、プリン類似体が核酸の合成を妨げ、したがって、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病を罹患しているヒトを、例示した抗CD19抗体とフルダラビン以外のプリン類似体の組合せで治療するときにも、相乗性がみられると考えられる。

【0024】

例示した抗CD19抗体とその他の抗CD19抗体は、CD19に結合するので、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病を罹患しているヒトを、なんらかの抗CD19抗体と、例えばフルダラビンなどのプリン類似体の組合せで治療する場合にも、相乗性がみられると考えられる。

【0025】

例示した抗CD19抗体は、CD19の特定のエピトープに結合するため、例示した抗体と交差競合する抗体、または、例示した抗体と同じエピトープに結合する抗体は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病を罹患している人を、例えばフルダラビンなどのプリン類似体と組合せて治療する場合にも、相乗的に作用すると考えられる。

【0026】

本開示の一の態様は、相乗的組合せを具え、この組合せでは、CD19に特異的な抗体が、配列SYVMH(配列番号:1)のHCDR1領域と、配列NPYNDG(配列番号

10

20

30

40

50

: 2) の H C D R 2 領域と、配列 G T Y Y Y G T R V F D Y (配列番号: 3) の H C D R 3 領域と、配列 R S S K S L Q N V N G N T Y L Y (配列番号: 4) の L C D R 1 領域と、配列 R M S N L N S (配列番号: 5) の L C D R 2 領域と、配列 M Q H L E Y P I T (配列番号: 6) の L C D R 3 領域と、フルダラピンを含む。好ましい態様では、この組合せが、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球腫白血病、及び/又は、急性リンパ球腫白血病の治療に使用される。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】図1は、MEC-1細胞におけるMOR208とフルダラピンを単用及び併用した場合の細胞毒性効果を示す。

10

【図2】図2は、MEC-1細胞におけるMOR208とフルダラピンの組合せのADC投与応答曲線を示す。

【図3】図3は、MOR208の可変ドメインのアミノ酸配列を示す。

【図4】図4は、MOR208のFc領域のアミノ酸配列を示す。

【図5】図5は、フルダラピン(Flu)で72時間前処理を行ったMEC-1ターゲット細胞の正規化した特定の死滅を示す。

【図6】図6は、実施例2で説明したMOR208、FLU、及び組合せ(MOR208/FLU)SCIDマウスモデル群の平均腫瘍成長を示す。

【図7】図7は、実施例3で説明したMOR208、FLU、及び組合せ(MOR208/FLU)SCIDマウスモデル群の平均生存時間を示す。

20

【発明を実施するための形態】

【0028】

「相乗効果(synergy)、相乗作用(synergism)、相乗的(synergistic)は、組合せの期待された相加効果以上であることを意味する。組合せの相乗効果(synergy)、相乗作用(synergism)、相乗的(synergistic)は、ここでは、Chou et al., Clarke et al. 及び/又は、Webb et al. の方法によって決定する。Tin-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681(2006)参照。これは、引用によって全体が組み込まれている。また、Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278(1997)参照。これは、引用によって全体が組み込まれている。また、Webb, J. L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, New York参照。これは、引用によって全体が組み込まれている。

30

40

【0029】

用語「抗体」は、モノクローナル抗体を意味し、IgG、IgM、IgA、IgD及びIgEなどのアイソタイプを含む。IgG抗体は、ジスルフィド結合によって結合した二つの同じ重鎖と二つの同じ軽鎖からなる。各重鎖及び軽鎖は、定常領域と可変領域を含む。各可変領域は、「相補性決定領域(CDRs)」、又は、「超可変領域」と呼ばれる3つのセグメントを含む。これらの領域は、光源のエピトープとの結合を担っている。これらの領域は、CDR1、CDR2及びCDR3と呼ばれ、N末端から順に番号が付けられている。CDRsの他に最も高度に保存された部分は、「骨格領域」と呼ばれる。「抗体フラグメント」は、Fv、scFv、dsFv、Fab、Fab'F(ab')₂断片、又は、少なくとも一方の可変重鎖又は可変軽鎖を含むその他の断片を意味し、各々がCD

50

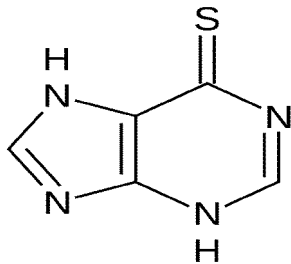
R s 及び骨格領域を含む。

【 0 0 3 0 】

プリン類似体は、プリン代謝構造に似た代謝拮抗物質であり、これによって核酸の合成を阻害する。フルダラビンは、例えば、プリン核酸、アデニン及びグアニンの代用をすることによって、RNAとDNAに組み込むことができる。プリン類似体は、例えば、がん細胞、骨髄細胞又は、消化管に存在する細胞といった、人の急速に増殖する細胞の成長を阻害する。プリン類似体は、メルカプトプリン、アザチオプリン、チオグアニン及びフルダラビンを含む。

【 0 0 3 1 】

メルカプトプリンは、急性白血病、リンパ腫、関節リウマチ、及び、クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患の治療に用いられる。メルカプトプリンは、以下の化学構造を有する。

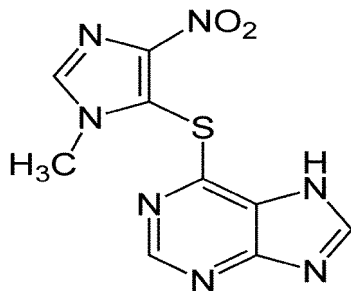


10

20

【 0 0 3 2 】

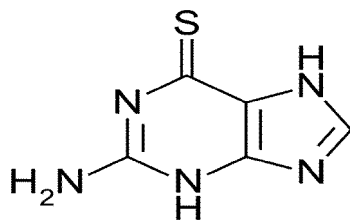
アザチオプリンは主な免疫抑制細胞毒性物質である。これは、拒絶反応を制御する移植に広く使用されている。アザチオプリンは、6-メルカプトプリンに非酵素的に開裂して、プリン類似体及びDNA合成の抑制剤として作用する。免疫反応の誘導期におけるリンパ球のクローン性増殖を抑制することによって、細胞と液性免疫の双方に影響する。アザチオプリンは、以下の化学構造を有する。



30

【 0 0 3 3 】

チオグアニンは、小児急性リンパ球性白血病 (ALL) の初期及び / 又は後期の強化治療に使用されるが、6-メルカプトプリンは、主に、治療の別の時点、すなわち、ALLの維持療法の間、使用される。チオグアニンは以下の化学構造を有する。



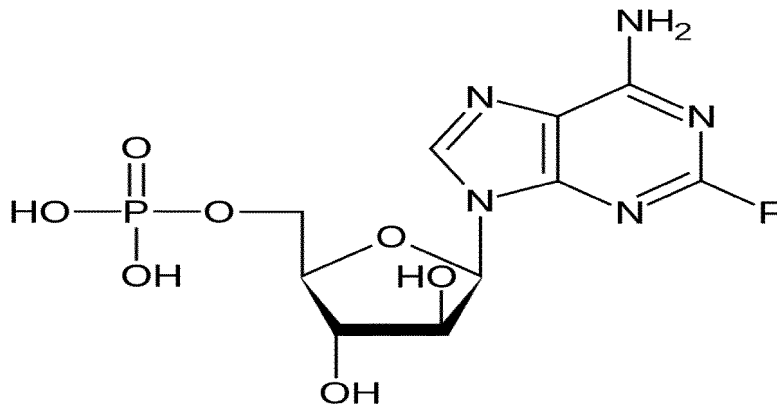
40

【 0 0 3 4 】

フルダラビンはリン酸フルダラビン (Fludara (登録商標)) は、慢性リンパ球腫白血病と無痛性非ホジキンリンパ腫の治療に使用する化学療法薬である。フルダラビンは、プリン類似体の一つである。フルダラビンは、リボヌクレアーゼ還元酵素とDNA

50

ポリメラーゼを阻害することによって、DNAの合成を阻害するとともに、S期に特異的である（これらの酵素が、DNAの複製が行われる間に非常に活性があるため）。フルダラビンは、以下の化学構造を有する。



10

【0035】

ここで使用する「FLU」は、フルダラビンを意味する。

【0036】

「VH」は、抗体、又は抗体断片の免疫グロブリン重鎖の可変領域を意味する。「VL」は、抗体、又は抗体断片の免疫グロブリン軽鎖の可変領域を意味する。

20

【0037】

用語「CD19」は、CD19として知られているタンパク質を意味し、以下と同義であるB4、B-リンパ球抗原CD19、B-リンパ球表面抗原B4、CVI D3、分化抗原CD19、MGC12802、及びT-細胞表面抗原Leu-12。

【0038】

ヒトCD19は、以下のアミノ酸配列を有する：

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFKLKSL
GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG
GLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEWEGEPPCLPPRDSL NQSL SQDLTMAPGS
TLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGP KSLLSLELKDDRPARDMWV METGLLLPRATAQDAGK
YYCHRG NLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRK
RMTDPTRRRFFKVT PPPGSGPQNQYGNVLSLPTPT SGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQA
DGALGSRSPPGVGP EEEEEGEGYE EPDSEEDSEFYENDSNL GQDQLSQD GSGYENPEDEPLGPE
DEDSFSNAESYENEDELTQP VARTMDFLSPHGS AWDP SREATSLG SQSYEDMRGILYAAPQLR
SIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMG TWSTR. (配列番号:7)

30

【0039】

「MOR208」は、抗CD19抗体である。可変ドメインのアミノ酸配列が図3に示されている。MOR208の重鎖及び軽鎖Fc領域のアミノ酸配列が図4に示されている。「MOR208」と「XmAb5574」は、図3及び図4に示す抗体と同義に用いられている。MOR208抗体は、米国特許出願第12/377,251号に記載されており、これは引用によって全体が組み込まれている。

40

【0040】

CD19に特異的な更なる抗体は、引用によって全体が組み込まれている米国特許第7,109,304号(Immunomedics);引用によって全体が組み込まれている米国特許出願第11/917,750号(Medar ex);引用によって全体が組み込まれている米国特許出願第11/852,106号(Medimmune);引用によって全体が組み込まれている米国特許出願第11/648,505号(Merck Patent GmbH);引用によって全体が組み込まれている米国特許第7,968,687号(Seattle Genetics);引用によって全体が組み込まれている米国特許出願第12/710,442号(Glenmark Pharmaceutical

50

s) ; に記載されている。

【0041】

「Fc領域」は、抗体の定常領域を意味し、ヒトでは、IgG1, 2, 3, 4サブクラスあるいはその他である。ヒトFc領域の配列は、IMGT, ヒトIGHC-REGIONS, http://www.imgt.org/MGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHCallgenes.html (2011年5月16日検索) で入手可能である。

【0042】

「RefmAb33」は、抗体であり、そのアミノ酸配列は以下のとおりである：
Fc領域を含む重鎖：

10

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGVIRQPPGKALEWLADIWWDDKHH
YNPSLKDRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGGQTTTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
(配列番号: 8)

Fc領域を含む軽鎖

20

DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCSASSRVGYMHWYQQKPKAPKLLIYDTSKLASGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSYGYPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYAC
EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号: 9)

【0043】

RefmAb33はRSVに特異的であり、MOR208と同じFc領域を共有しているため、イソタイプ対照として使用される。

【0044】

「組合せ」は、例えば、抗体とフルダラビンの化合物など、一以上のアイテムを意味する。

30

【0045】

本開示は、また、組合せ、この組合せを含む薬剤及び医薬組成物に関する。例えば、CD19に特異的な抗体とフルダラビンといった、本発明の相乗的組合せの二つの成分は、一緒に、同時に、あるいは別々に投与してもよい。一緒に投与した場合、二つの成分は、一つの医薬組成物中で一緒に調整することができる。この組成物は、薬学的に許容可能なキャリア又は賦形剤を含んでいてもよい。代替的に、二つの成分は、異なる医薬組成物中で整してもよい。この場合、二つの成分は、同時にあるいは連続して投与することができる。一実施例では、フルダラビンを、例えば、MOR208などのCD19に特異的な抗体の投与の前に、及び/又は、この投与と別に投与している。

【0046】

40

医薬組成物は、例えばヒトの治療的使用のための抗体などの活性成分を含む。医薬組成物は、許容可能なキャリアまたは賦形剤を含んでいてもよい。

【0047】

「投与した」又は「投与」は、限定するものではないが、例えば、静脈投与、筋肉投与、皮内投与、皮下投与ルートといった注入可能な形で、あるいは、例えば、鼻スプレー、吸入用エアロゾルといった粘膜ルートで、又は摂取可能な溶液、カプセル、又は錠剤による送達を含む。

【0048】

化合物又は組合せの「治療的有効量」は、所定の疾病又は疾患及びその合併症を治癒する、緩和する、あるいは部分的に停止させるのに十分な量を意味する。特定の治療目的に

50

有効な量は、疾病又は損傷の重症度、並びに、対象の重量及び全身状態による。適宜の投与量は、日常の実験を使用して、マトリックス値を構築し、このマトリックスの様々なポイントを試験することで、決定する。これらはすべて訓練を受けた医師又は臨床科学者の当業者レベルにある。

【0049】

本明細書の「CDRs」は、Chothia et al. 又は Kabat et al. によって定義されている。Chothia C, Lesk AM. (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J Mol Biol., 196 (4): 901 - 17 参照。これは、引用により全体が組み込まれている。Kabat E. A, Wu T. T., Perry H. M., Gottesman K. S. and Foeller C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC 参照。これは、引用により全体が組み込まれている。

10

【0050】

「交差競合」は、標準競合結合アッセイにおける CD19 に対するその他の抗体又は結合剤の結合を防ぐ、抗体又はその他の結合剤の能力を意味する。この能力又は、抗体又はその他の結合剤が、別の抗体又は結合分子の CD19 に対する結合を妨害できる範囲、したがって、本発明に係る交差競合といえるかどうかは、標準的な競合結合アッセイを用いて決定できる。適当なアッセイの一つでは、Biacore 技術（例えば、BIAcore 3000 器具（Biacore, Uppsala, Sweden）による）を使用しており、表面プラズモン共鳴技術を使用した相互作用の範囲を測定することができる。交差競合を測定するもう一つのアッセイは、ELISA ベースの方法を使用している。交差競合に基づく「エピトープマッピング」の高スループット工程が、WO2003/48731 号に記載されている。

20

【0051】

「エピトープ」は、抗体に特異的に結合できる、あるいは、分子と相互作用できる、あらゆるタンパク質決定因子を含む。エピトープの決定因子は、一般的に、アミノ酸、炭水化物、又は糖側鎖といった分子の化学的活性表面グループからなり、特定の三次元構造特性、並びに、特定の電荷特性を有する。エピトープは、リニアであっても、立体配座であってもよい。「リニアエピトープ」は、タンパク質と、その相互作用分子（抗体など）間のすべての作用ポイントが、そのタンパク質の一時アミノ酸配列に沿って線形に生じる（連続的）。「立体配座エピトープ」は、互いに三次元構造を成し絵いるアミノ酸が不連続的であるエピトープを意味する。立体配座エピトープでは、相互作用するポイントが、互いに離れているタンパク質上のアミノ酸残基の上で生じる。

30

【0052】

「～と同じエピトープに結合」とは、抗体又はその他の結合剤が、CD19 に結合して、例示した抗体と同じエピトープを有する能力を意味する。CD19 に対する例示した抗体又はその他の結合剤のエピトープは、標準的なエピトープマッピング技術を用いて決定できる。エピトープマッピング技術は、この分野では良く知られており、Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey 中のエピトープマッピングプロトコルを含む。例えば、リニアエピトープは、例えば、多数のペプチドを個相支持体上で同時に合成するなどによって、決定できる。このペプチドは、タンパク質分子の一部に相当し、支持体に付いたままで抗体を有するペプチドと反応する。このような技術は、この分野では公知であり、例えば、米国特許第 4,708,871 号; Geysen et al., (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8: 3998 - 4002; Geysen et al., (198

40

50

5) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen et al., (1986) Mol. Immunol. 12:709-715などに記載されている。同様に、立体配座エピトープは、例えば、水素/デューテリウム交換、X線結晶学、及び二次元核磁気共鳴などによる、アミノ酸の空間構造を決定することによって、すでに同定されている。例えば、Epitope Mapping Protocols, supra. 参照。タンパク質の抗原性領域も、例えば、Oxford Molecular Groupから入手可能なOmega version 1.0ソフトウェアプログラムを用いて計算したものなど、標準的な抗原性及び水治療法プロットを用いて同定されている。このコンピュータプログラムは、抗原性プロファイルの決定にHopp/Woods method, Hopp et al., (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828を用いるとともに、水治療法プロットには、Kyte-Doolittle technique, Kyte et al., (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132を用いている。

10

【実施例】

【0053】

本開示の一態様は、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、及び/又は急性リンパ芽球性白血病の治療に用いるCD19に特異的な抗体とプリン類似体の組合せを含む。実施例において、この組合せは相乗的である。

【0054】

ここで、例示した抗CD19抗体とフルダラビンの組合せは、NHL及びCLL罹患しているインビトロ及びインビボモデルにおいて、相乗的に作用する。NHLもCLLも、B-細胞関連の疾患であり、CD19がB細胞に多く発現しているため、例示した組合せは、同じ作用機序を持ち、例えば、ALLなどのその他のB細胞関連の疾患の治療において相乗的に作用する。したがって、例示したCD19に特異的な抗体とフルダラビンの組合せは、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、急性リンパ芽球性白血病のヒトの治療に有効である。

20

【0055】

フルダラビンとその他のプリン類似体の作用機序が同じであるので、プリン類似体が核酸の合成を阻害して、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、急性リンパ芽球性白血病にかかっているヒトを、例示した抗CD19抗体と、例えば、メルカプトプリン、アザチオプリン、及びチオグアニンなどのフルダラビン以外のプリン類似体の組合せを用いて治療する際に相乗性がみられると考えられている。

30

【0056】

例示した抗CD19抗体とその他の抗CD19抗体は、CD19に結合するので、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、及び/又は、急性リンパ芽球性白血病に罹患しているヒトを、抗CD19抗体とプリン類似体の合せで治療する際に、相乗性がみられると考えられている。この場合、抗CD19抗体は、例えば、米国特許出願第12/377,251号(Xencor); WO2005012493号、WO2010053716号(Immunomedics); WO2007002223(Medarex); WO2008022152号(Xencor); WO2008031056号(Medimmune); WO2007/076950号(Merck Patent GmbH); WO2009/052431号(Seattle Genetics); 及びWO2010095031号(Glenmark Pharmaceuticals)に記載されている。これらは、すべて、引用により全体が組み込まれている。

40

【0057】

実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列SYVMH(配列番号:1)のHCDR1領域と、配列NPYNDG(配列番号:2)のHCDR2領域と、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号:3)のHCDR3領域と、配列RSSKSLQNVNGNTYL(配列番号:4)のLCDR1領域と、配列RMSNLNS(配列番号:5)のLCDR2領域と、配列MQHLEYPIT(配列番号:6)のLCDR3領域とを有する抗体

50

と、交差競合する抗体を含む。

【0058】

実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列SYVMH（配列番号：1）のHCDR1領域と、配列NPYNDG（配列番号：2）のHCDR2領域と、配列GTYYYGTRVFDY（配列番号：3）のHCDR3領域と、配列RSSKSLQNVNGNTYLY（配列番号：4）のLCDR1領域と、配列RMSNLNS（配列番号：5）のLCDR2領域と、配列MQHLEYPIT（配列番号：6）のLCDR3領域とを有する抗体と同じエピトープに結合する抗体を含む。

【0059】

実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列SYVMH（配列番号：1）のHCDR1領域と、配列NPYNDG（配列番号：2）のHCDR2領域と、配列GTYYYGTRVFDY（配列番号：3）のHCDR3領域と、配列RSSKSLQNVNGNTYLY（配列番号：4）のLCDR1領域と、配列RMSNLNS（配列番号：5）のLCDR2領域と、配列MQHLEYPIT（配列番号：6）のLCDR3領域を含む。

10

【0060】

実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列

EVQLVESGGGLVKGPGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSS (配列番号: 10)

20

の可変重鎖と、配列

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (配列番号:11).

の可変軽鎖を含む。

【0061】

実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK. (配列番号: 12)

30

の重鎖定常領域を含む。

【0062】

実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC. (配列番号: 13)

40

の軽鎖定常領域を含む。

【0063】

実施例では、プリン類似体がフルダラピンである。

【0064】

実施例では、前記組合せの成分である、CD19に特異的な抗体とフルダラピンを、別々に投与している。一実施例では、フルダラピンを、CD19に特異的な抗体を投与する前に投与する。

【0065】

50

実施例では、前記組合せが、医薬組成物である。いくつかの実施例では、この組成物が許容可能なキャリアを含む。いくつかの実施例では、この組合せを有効投与量で投与する。

【0066】

別の態様では、配列SYVMH（配列番号：1）のHCDR1領域と、配列NPYNDG（配列番号：2）のHCDR2領域と、配列GTYYYGTRVFDY（配列番号：3）のHCDR3領域と、配列RSSKSLQNVNGNTYLY（配列番号：4）のLCDR1領域と、配列RMSNLS（配列番号：5）のLCDR2領域と、配列MQHLEYPIT（配列番号：6）のLCDR3領域と、フルダラピンを含むCD19に特異的な抗体の相乗的組合せが、フルダラピン単独の場合より、単離したヒトPBMCsの存在下におけるADCCによるMEC-1細胞の死滅を少なくとも2倍、3倍、4倍、あるいは5倍効果的に仲介することができる。

10

【0067】

本開示の態様は、非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、及び/又は、急性リンパ芽球性白血病の治療に用いる、配列SYVMH（配列番号：1）のHCDR1領域と、配列NPYNDG（配列番号：2）のHCDR2領域と、配列GTYYYGTRVFDY（配列番号：3）のHCDR3領域と、配列RSSKSLQNVNGNTYLY（配列番号：4）のLCDR1領域と、配列RMSNLS（配列番号：5）のLCDR2領域と、配列MQHLEYPIT（配列番号：6）のLCDR3領域とフルダラピンを含むCD19に特異的な抗体の相乗的組合せを含む。実施例では、非ホジキンリンパ球種は、濾胞性リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織、辺縁帯、びまん性大細胞型B細胞、パーキット細胞、外套細胞からなる群から選択される。

20

【0068】

別の態様は、治療が必要な固体における非ホジキンリンパ球種、慢性リンパ球性白血病、及び/又は、急性リンパ芽球性白血病の治療方法であり、この方法は、CD19に特異的な抗体とプリン類似体を投与するステップを具える。この方法の実施例では、CD19に特異的な抗体が、配列SYVMH（配列番号：1）のHCDR1領域と、配列NPYNDG（配列番号：2）のHCDR2領域と、配列GTYYYGTRVFDY（配列番号：3）のHCDR3領域と、配列RSSKSLQNVNGNTYLY（配列番号：4）のLCDR1領域と、配列RMSNLS（配列番号：5）のLCDR2領域と、配列MQHLEYPIT（配列番号：6）のLCDR3領域を含む。この方法の実施例では、抗体が、例示したCD19に特異的な抗体を含む。この方法の実施例では、プリン類似体がフルダラピンである。

30

【0069】

実施例

実施例1：MOR208とフルダラピンを単独で、及び組合せて使用したMEC-1細胞増殖の抑制

【0070】

材料

MEC-1細胞：慢性B細胞白血病細胞株DSMZ#ACC497；細胞培地：Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM) with GlutaMAX（商標）、Invitrogen, Cat No. : 31980-048, 20% FCS；PBMCs：10%のFCSを加えたRPMI1640, with stabile Glutamine, PAN Biotech GmbH, Cat No. : P04-13500；Biochrome AG CAT No. : L6115 LOT No. : 1050T；フルダラピン：Bayer, 25mg/ml in ddH₂O, LOT No. : 9100ST；及び、MOR208として同じFc領域を持つRefmAb33 (anti-RSV)。

40

【0071】

方法

50

MOR208とフルダラピン単独で、及び組合せて細胞毒性をMEC-1細胞中で試験した。FLUは、プリン類似体であり、したがって、MEC-1細胞中の直接細胞毒性を介して機能する。MOR208は、CD19をターゲットとしており、追加的に、MEC-1を死滅させる際にADCCを介して機能する。以下の群について、MEC-1細胞死滅を測定した：18 µg/mlのFLU；66 pmのMOR208、及び66 pmのMOR208と18 µg/mlのFLUの組合せ。これらの濃度は、MOR208及びFLUについて、EC50近辺又はEC50である場合に選択した。

【0072】

FLUグループとMOR208+FLU組合せグループの両方において、ADCCアッセイ測定に先立ってFLUで72時間、MEC-1細胞をインキュベートした。MEC-1細胞を、1 mg/mlのカルセインAMで染色し、次いで計数して、 2×10^5 / mlに調整した。PBMCsを計数して、 6×10^6 / mlに調整した。ADCCアッセイを以下の通り行った：96ウエルプレートを使用して、MEC-1細胞の100 µl細胞懸濁液をウエルに加え、各ウエルにPBMCsの100 µl細胞懸濁液を加えて、E:T比を30:1とした。培地中で、抗体を1 µg/mlに希釈した。細胞を遠心分離して再懸濁させた。ターゲット：エフェクタ細胞ペレットに、100 µlの抗体溶液又は対照溶液を加えた。混合物を37 °CのCO₂インキュベータ中で4時間インキュベートした。ADCC測定を以下の通り行った：インキュベートした細胞溶液（~100 µl）をFACS管に移して、各管に200 µlのFACSバッファ（DPBS+3%FCS）と0.5 µlのPIストック溶液を加えた。FACS-Caliburを用いた。死滅したMEC-1細胞を、ヨウ化物で染色した。表1と図1は、生のデータを示す。

10

20

【0073】

表1

	対照	MOR208 66pm	FLU 18µg/ml	FLU+MOR208 組合せ
実施例 1	11	35,2	36,39	52,14
実施例 2	19,5	29,8	38,48	46,9
実施例 3	29,9	47,01	57,27	65,63

30

【0074】

これらの値は、死滅細胞のパーセンテージを示す。各実験は、異なるドナーからのPBMCを表す。各実験で使用した対象は、Ref Mab 33単独である。

【0075】

表2は、特定の死滅用に正規化した表1の生データと、相乗性の決定に使用したChou計算結果を示す。

【0076】

表 2

	フルダラビン 18 µg/ml	MOR208 66 pM	Flu + MOR208 (組合せ)	Chou 指数
実施例 1	0,6	0,6	1,0	0,03
実施例 2	0,7	0,4	1,0	0,3
実施例 3	0,8	0,5	1,0	0,3
平均	0,7	0,5	1,0	0,2

10

【 0 0 7 7 】

表 2 に示す値は、以下の通り計算する：1) 表 1 に示す生データ (死滅細胞%) から、バックグラウンド (対照) を差し引いて、各治療グループについての特定の死滅の値を、MOR 208 + FLU の組合せを 1 に設定して、正規化する。表 2 の平均値を図 5 に示す。MOR 208 + FLU の組合せの Chou ファクタ計算に用いる、例示的 ADC C 投与応答曲線を、図 2 に示す。

【 0 0 7 8 】

Chou インデックス (CI) 計算を行って、MOR 208 と FLU 単独の場合と、例示した抗 CD 19 抗体とフルダラビンの組合せの相乗性を決定した。このような計算は、全体が引用により組み込まれている Ting - Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev. 58: 621 - 681 (2006) と、全体が引用により組み込まれている Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22: 27 - 55 に記載されている。Chou - Talalay の方法は、CI - isobol 法を用いておこなわれる。

20

30

【 0 0 7 9 】

インヒビタ (薬剤など) の効果についての半数効果方程式モデルは、 $F_a / F_u = (D / D_{50})^m$ 、ここで D が当量、 F_a 及び F_u は、当量 D ($F_a + F_u = 1$) によって影響されたまた影響されていないシステムの一部であり； D_{50} は、半数効果 (例えば、 IC_{50} 、 ED_{50} 、 LD_{50}) を生み出す当量である。直線回帰計算に Excel Fit のソフトウェアを用いて、パラメータ m 及び D_{50} を推定した。

【 0 0 8 0 】

MEC - 1 細胞へのこの組合せの効果は、上述した通り細胞死滅のパーセンテージで測定される。処理を行った細胞株の細胞死滅パーセンテージの、対象に露出させた細胞株の細胞死滅パーセンテージに対する比率である画分 F_u を決定する。すなわち：

40

$$F_u = \text{細胞死パーセンテージ (処理細胞株)} / \text{細胞死パーセンテージ (非処理細胞株)}$$

【 0 0 8 1 】

細胞株の細胞死パーセンテージは、半数効果方程式の定数 D_{50} であり、これは上述の直線回帰により推測できる。

【 0 0 8 2 】

CI - isobol 法

CI - isobol 法は、薬剤間の相乗性の定量評価を行う。組合せインデックス (CI) は、単一又は組合せた薬剤治療の染料効果データから推測する。1 より小さい CI の

50

値は、相乗性を表しており、CI = 1 は、相加効果を表しており、CI > 1 は、拮抗を表している。薬剤の相互作用（相乗性又は拮抗性）が大きいほど、CI の値は 1 から遠くなる。

【0083】

形式的には、組合せ薬剤治療の組合せインデックス（CI）は、

$$CI = D_1 / D_{x1} + D_2 / D_{x2}$$

と規定されている。ここで、D₁ 及び D₂ は、それぞれ組合せの薬剤 1 と薬剤 2 の当量であり；D_{x1} と D_{x2} は、組合せの効果と同じ効果を与えるであろう薬剤 1 と薬剤 2 のみでの処置の当量である。この当量 D_{x1} と D_{x2} は、単一の薬剤処置の染料効果データから推測する必要がある。本質的に、半量効果方程式は、各薬剤のデータに合致している。ある薬剤の半量効果方程式から、効果（すなわち、Fa、Fu）を生み出すのに必要な当量（すなわち、D）を推測することができる。加法線からポイントが遠くなるにつれて、1 と CI との差が大きくなり、（相乗又は拮抗）効果が強くなる。

10

【0084】

結果

表 2 に示すように、Chou インデックス値は、MOR 208 及びフルダラビン単独の場合に比べて、MEC - 1 細胞の特定の死滅に関する MOR 208 とフルダラビンの組合せの明白な相乗性を示している。この結論は、3 つの実験の各々の Chou 計算値である 0.03、0.3 及び 0.3 に基づいており、この値は、平均 0.21 である。ここで、CI < 1 は、相乗性を示している。したがって、MOR 208 とフルダラビンの組合せが、ヒトの非ホジキンリンパ球種（NHL）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、及び/又は、急性リンパ芽球性白血病（ALL）の治療において相乗的に挙動する。

20

【0085】

上記 Chou 計算の結果を確認するために、表 2 の正規化したデータの統計的優位性を、ボンフェローニ多重比較法を用いて評価した。James, et al., Antibody-mediated B-cell depletion before adoptive immunotherapy with T cells expressing CD20-specific chimeric T-cell receptors facilitates eradication of leukemia in immunocompetent mice, Blood, 114 (27) : 5454 - 63 (Epub 2009 Oct 30) 参照。これは、引用により全体が組み込まれている。結果を表 3 に示す。

30

【0086】

表 3

ボンフェローニ 多重比較法	平均差	T 値	有意か? (P < 0.05)	サマリ
フルダラビン (18µg/ml) vs. FLU + MOR 208 組合せ	-0.3067	5.039	Yes	**
MOR208 (66pM) vs. FLU + MOR208 組合せ	-0.5167	8.490	Yes	***

40

** p < 0,01

*** p < 0,001

50

【 0 0 8 7 】

結果

表 3 に示すように、ボンフェローニ多重比較法は、FLU + MOR 208 の併用処置が、FLU と MOR 208 の単用処置より、MEC - 1 を特異的死滅において、統計的により有効であることを示している。

【 0 0 8 8 】

実施例 2 :

皮下移植 (SC) したヒトの Ramos Burkitt's B 細胞リンパ腫腫瘍成長モデルにおける MOR 208 と FLU の単用と併用

【 0 0 8 9 】

材料

RAMOS ヒトバーキットリンパ腫細胞 (ATCC 番号 CRL - 1596、lot # 3953138) ; ビークル対照 : 0.9% 塩化ナトリウム、25 mg/ml マンニトール、pH 7.0 ; SCID マウス (University of Adelaide, Waite Campus, Urrbarraie, SA, Australia, Strain C.B. - 17 - lgh - 1^b - Prkdc^{scid}) 。

【 0 0 9 0 】

方法

6 乃至 7 週齢のメス、C.B. - 17 SCID マウスに、RAMOS 細胞 (~ 5 × 10⁶ 細胞 / マウス) を皮下移植した。植菌後 14 日目にマウスを 8 匹ずつ 10 グループに分けた。各グループが比較的同じサイズの大きさの腫瘍を持つようにした。14 日目に処置を開始した。治療計画を表 4 に示す。研究期間は 63 日であった。

【 0 0 9 1 】

表 4

動物番号	被験物質	当量 (mg/kg)	治療ルートと スケジュール
8	フルダラビン	125	IP, Q1Dx5
8	フルダラビン	250	IP, Q1Dx5
8	MOR208	1*->10	Dys 14*, 17*, 21*, 24, 28, 31, 35, 及び 38
8	ビークル		IP, Q1Dx5
8	MOR208/フルダラビン	1*->10/ 125	Dys 14*, 17*, 21*, 24, 28, 31, 35, 及び 38/ IP, Q1Dx5

【 0 0 9 2 】

MOR 208 と、フルダラビンを、体重 10 g あたり 0.1 mL 投与した。初期の読み出しは、腫瘍の成長、特に、研究第 38 日目の腫瘍の体積であった。腫瘍の重量を、式 (I × w²) / 2 を用いて計算した。ここで、I と w は、より大きい及びより小さい寸法を意味する。

【 0 0 9 3 】

結果を表 5 に示し、平均値を図 6 に示す。

【 0 0 9 4 】

10

20

30

40

表 5

研究38日目の腫瘍体積 [mm ³]					
	ビークル対照	MOR208 10 mg/kg	フルダラビン 125 mg/kg	フルダラビン 250 mg/kg	組合せ: MOR208/FLU 125
群 1	2890	2138	1666	1352	1268
群 2	4400	2025	2560	1352	750
群 3	4200	3179	864	2816	726
群 4	4152	1764	1913	1764	446
群 5	3791	1862	3564	650	936
群 6	4513	3402	2560	787	1268
群 7	4152	2560	2025	1800	787
群 8		2816	1437	787	
平均	4014	2468	2073	1413	883

10

20

【 0 0 9 5 】

研究第38日目の腫瘍体積の評価項目に加えて、1) 第38日目の腫瘍成長パーセンテージの低減、及び2) 4000mgの腫瘍になるまでの時間の延長のパラメータを評価した。結果を表6に示す。

【 0 0 9 6 】

表 6

治療群	研究38日目の腫瘍成長の低下 (%)	4000mgまでの時間増加 [%]
MOR208	38.5	17.52
FLU 125	48.3	22.37
FLU 250	64.8	30.19
MOR208とFLU 125の組合せ	78	59.3
対照	0	0

30

【 0 0 9 7 】

表6の評価項目は両方とも、フラクショナルプロダクト法 (Fractional Product Concept: FPC) を用いて評価して、MOR208とFLU単独の場合に比べて、MOR208とFLUの組合せの治療に相乗性が存在するかどうかを調べた。組合せの治療群が、FPC計算より一層有効であれば、相乗性が存在する。フラクショナルプロダクト法は、引用により全体が組み込まれている、Webb, J. L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, New Yorkに記載された、式 $1 - [(1 - A) * (1 - B)] = fpc (%)$ を用いて計算した。FPC計算が終了した後、結果としてのFPC値と表6からの値を、FPC値を1に設定して正規化した。これらの計算結果を表7に示す。

40

【 0 0 9 8 】

表 7

	MOR208 [10 mg/kg]	フルダラビン [125 mg/kg]	フルダラビン [250 mg/kg]	フラクシオン プロダクト 組合せ	MOR208 + FLU 125 組合せ	効果
研究38日目の腫瘍成長の低下(%)	0.57	0.75	0,9	1	1.15	相乗
4000mgまでの時間増加[%]	0.48	0.62	0,8	1	1.65	相乗

10

【 0 0 9 9 】

結果

両評価項目は、腫瘍成長の阻害手段であり、両評価項目において、第38日目で腫瘍成長(%)が下がり、4000mgに達した時間(%)が延びた。MOR208 + FLU125の組合せは、MOR208とFLU単独の場合に比べて、明らかな相乗性を示した。

20

【 0 1 0 0 】

上述のFPC計算の結果を確認するために、研究38日目における、平均腫瘍体積[m^3]のデータ(表5に示す)を、ボンフェローニの多重比較法を用いて、統計的有意性について評価した。その結果を表8に示す。

【 0 1 0 1 】

表 8

治療群	ボンフェローニ多重比較法; p値
FLU125 対 FLU125 + MOR208 (組合せ)	p < 0.01
FLU250 対 FLU125 + MOR208 (組合せ)	n.s.
MOR208 対 FLU125 + MOR208 (組合せ)	p < 0.001
対照 対 FLU125	p < 0.001
対照 対 FLU250	p < 0.001
対照 対 FLU125 + MOR208 (組合せ)	p < 0.001
対照 対 MOR208	p < 0.001

30

40

【 0 1 0 2 】

0.05未満のP値は、統計的有意性を示す。

【 0 1 0 3 】

表5及び6に示すように、MOR208とフルダラビンの組合せ125mg/kgは、MOR208とフルダラビン単独の場合より、インビボでの腫瘍成長の阻害がより効果的であった。この、MOR208とフルダラビン単独の場合に比べてインビボでの腫瘍成長抑制におけるMOR208とフルダラビンの組合せ125mg/kgの有効性の増加は、表8に示すように統計的に有意であることが確認された。更に、表7に示すようにフラク

50

シヨナルプロダクト法の計算が、MOR208とフルダラビン単独の場合に比べてインビボでの腫瘍成長抑制におけるMOR208とフルダラビンの組合せ125mg/kgの相乗性を明らかに示している。したがって、MOR208とフルダラビンの組合せは、ヒトの非ホジキンリンパ腫(NHL)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、及び急性リンパ球性白血病(ALL)の治療において相乗的に作用する。

【0104】

更に、MOR208とフルダラビンの組合せ125mg/kgは、より高い当量のフルダラビン単独の250mg/kgより、インビボでの腫瘍成長抑制がより効果的であった。フルダラビンは、より高い当量で有意な副作用を指名しているため、この結果は、より安全で、より効果的な、高い当量のフルダラビンの代替が、MOR208とフルダラビンの組合せであることを示している。

10

【0105】

実施例3

SCIDマウスのヒト非ホジキンRAMOS腫瘍におけるMOR208とフルダラビンの単用と併用、生存モデル

【0106】

材料

シクロホスファミド(Fluka, Buchs Switzerland, Lot.No. 07551661); ビークル対照: 0.9%塩化ナトリウム、25mg/mlマンニトール、pH7.0; SCIDマウス(University of Adelaide, Waite Campus, Urrbarraie, SA, Australia, Strain C.B.-17-1gh-1^b-Prkdc^{scid}); RAMOSヒトリンパ腫細胞(ATCC number CRL-2638)。

20

【0107】

方法

RAMOS細胞に植菌を行う前の2日間、SCIDマウスにシクロホスファミドで前処理を行った(5日前と4日前)。植菌を行う日(3日前)に、マウスを8匹ずつ10群に分け、尾静脈に静脈内注射によって、 1×10^6 RAMOS細胞を植菌した。各群に対する投与計画を表9に示し、0日目に実行した。研究期間は3週間であった。

30

【0108】

表9: 投与レジメ

群	化合物	治療	目標スケジュール
A	フルダラビン	125 mg/kg, i.p, in 10 mL/kg	1日1回 (0-5日)
B	MOR208	3 mg/kg, i.v., in 10 mL/kg	1週2回、3週間
C	ビークル対照	i.p., 10 mL/kg	1日1回 (0-5日)
AB	フルダラビン /MOR208	125 mg/kg, i.p; 3 mg/kg, i.v. in 10 mL/kg;	1日1回 (0-5日)/ 1週2回、3週間
E	フルダラビン	250 mg/kg, i.p, in 10 mL/kg	1日1回 (0-5日)

40

【0109】

読み出しは、数日の平均生存時間であった。個々の治療群に比べた時の組合せの効果

50

が相乗的であるかどうかを評価するために、Clark et al.の方法を用いた。

【0110】

Clark et al. 相乗性

この方法は、ここに引用により全体が組み込まれている、Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278(1997)、Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other modelsに記載されている。

【0111】

以下の通りに、データを分析した。

拮抗 (A/B) / C < (A/C) x (B/C)

相加 (A/B) / C = (A/C) x (B/C)

相乗 (A/B) / C > (A/C) x (B/C)

ここで、Aは、MOR208を用いた治療であり；Bは、FLUを単用した治療であり；Cは、治療ピークルに対する応答であり；ABは治療AとBの組合せである。各研究群についての数日の平均生存時間と、Clarke et al.分析を表10に示す。

【0112】

表10

	平均生存時間(日数)
A = MOR208治療に対する応答	23,5
B = FLU治療に対する応答	22
C = ピークル治療に対する応答	18,5
AB = 治療AとBの組合せ	31
(AB)/C	1,675675676
	より長い
(A/C) x (B/C)	1,510591673
	= 相乗

【0113】

結果

MOR208とFLUの組合せは、MOR208とFLUの単用の場合に比べて、平均生存に数において明らかな相乗性を示した。

【0114】

上記相乗性の計算結果を確認するために、MOR208とフルダラビン125mg/kgの組合せの平均生存日数を、Mantel-Haenszel法(P値)と、Gehan-Wilcoxon法(P値)を用いて、MOR208及びフルダラビン単用の場合と比較した。結果を表11に示す。

【0115】

10

20

30

40

表 11

治療群	Mantel-Haenszel 法 [P 値]	Gehan-Wilcoxon 法 [P 値]
FLU/MOR 対 FLU 125	0,0008	0,0012
FLU/MOR 対 MOR	0,0001	0,0004
FLU/MOR 対 FLU250	0,0011	0,0016
FLU/MOR 対 対照	0,0001	0,0004
対照 対 FLU125	0,0061	0,0162
対照 対 FLU250	0,0061	0,0162
対照 対 MOR208	< 0.0001	0,0002

10

【 0 1 1 6 】

結果

表 10 は、MOR 208 とフルダラビン組合せ 125 mg / kg が、MOR 208 とフルダラビン単用の場合に比べて、パーキットリンパ腫 SCID マウスモデルにおいて、平均生存時間が相乗的に伸びたことを示す。表 11 に示すように、インビボで MOR 208 とフルダラビン 125 mg / kg を併用した場合の平均生存時間の増加が、MOR 208 とフルダラビン単用の場合に比べて、統計的に有意であることを確認した。したがって、MOR 208 とフルダラビンの組合せは、ヒトの非ホジキンリンパ腫 (NHL)、慢性リンパ球腫白血病 (CLL)、及び/又は、急性リンパ球腫白血病 (ALL) の治療においても、相乗的に作用すると考えられる。

20

【 0 1 1 7 】

更に、MOR 208 とフルダラビンの組合せ 125 mg / kg は、より多い投与量のフルダラビン 250 mg / kg 単用の場合に比べて、インビボでの平均生存時間の増加により効果があった。フルダラビンは、投与量が多い場合に効果はあるが有意な副作用を示すので、この結果は、高い投与量のフルダラビンに対してより安全で、より効果的な代替が、MOR 208 とフルダラビンの組合せであることを示している。

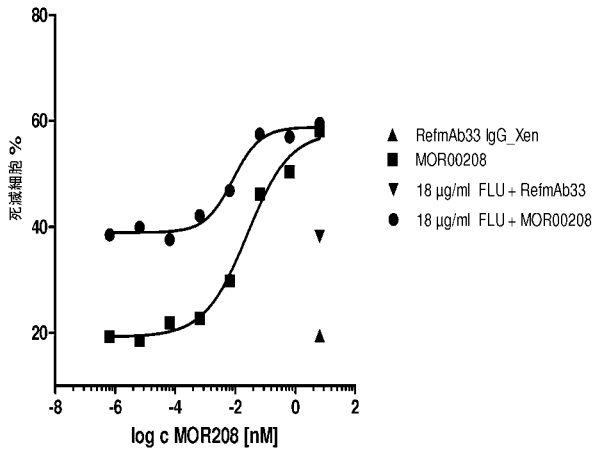
30

【 0 1 1 8 】

発明の説明、特定の実施例、及びデータは、例示的な実施例を示しているが、説明のためのものであり、本発明を限定するものではないと解するべきである。本発明の範囲内における様々な変更や変形は、ここに含まれている議論、開示、及びデータから当業者に明らかになり、したがって、本発明の一部であると考えられる。

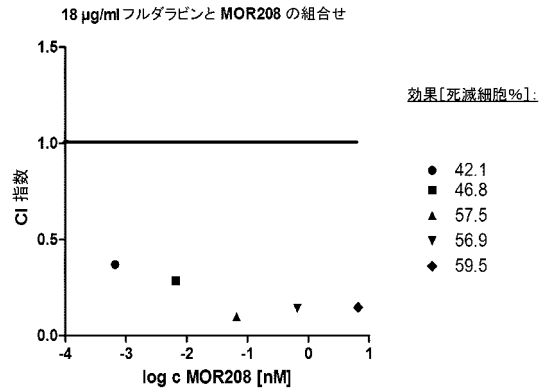
【 図 1 】

Figure 1
MOR208 と FLU : 単用と併用の細胞毒性



【 図 2 】

Figure 2
ADCC 用量反応曲線



【 図 3 】

Figure 3

MOR208 可変重鎖領域のアミノ酸配列:
(CDR は太字で下線)

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYFTF**SYVMH**HWVRQAPGKGLIEWIGYIN**NPY**
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCAR**G**TYYYG**TRV**FDYWG
QGTLVTVSS (配列番号: 10)

MOR208 可変軽鎖領域のアミノ酸配列:
(CDR は太字で下線)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RSSKSLQ**NVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIY**R**
MSNLNSGV^{PDR}FGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYC**MQHLEY**PITFGAGTKLEIK (配列
番号: 11)

MOR208 HCDR1 のアミノ酸配列: SYVMH (配列番号: 1)

MOR208 HCDR2 のアミノ酸配列: NPYNDG (配列番号: 2)

MOR208 HCDR3 のアミノ酸配列: GTYYGTRVFDY (配列番号: 3)

MOR208 LCDR1 のアミノ酸配列: RSSKSLQNVNGNTYLY (配列番号: 4)

MOR208 LCDR2 のアミノ酸配列: RMSNLNS (配列番号: 5)

MOR208 LCDR3 のアミノ酸配列: MQHLEYFIT (配列番号: 6)

【 図 4 】

Figure 4

Fc 領域の配列

MOR208 重鎖 Fc 領域のアミノ酸配列:

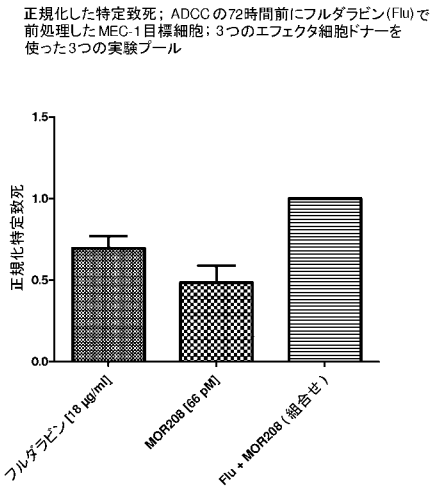
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGQLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSWTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPDVFLFPPPKD^TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQD^WLNGKEYCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFC^SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号: 12)

MOR208 軽鎖 Fc 領域のアミノ酸配列:

RTVAAPS^VFI^FPPSDEQLKSGTASV^VCLLN^FY^PREAKVQ^WKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSK^DSTYLS^STL^TL^SKADY^EKHKVY^ACEV^THQGL^SSPV^TK^SFN^RGEC (配列番号: 13)

【 図 5 】

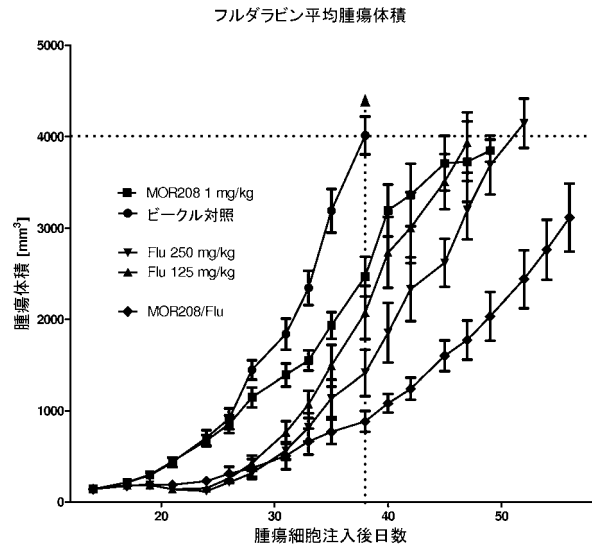
Figure 5



この図は、表2のデータからの平均を示す

【 図 6 】

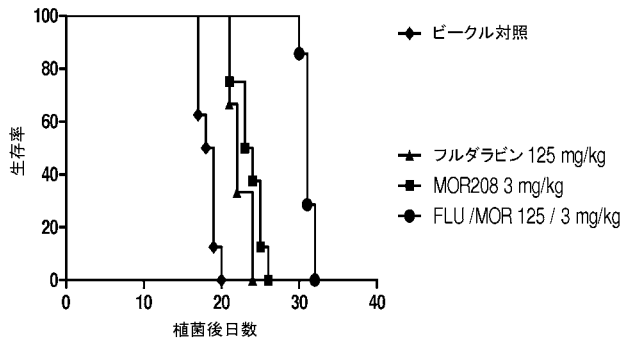
Figure 6



【 図 7 】

Figure 7

SCIDマウスモデルの平均生存時間



【配列表】

2014525925000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2012/065904

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 A61K39/395 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, FSTA, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011/104150 A1 (TEDDER THOMAS F [US] ET AL) 5 May 2011 (2011-05-05) cited in the application the whole document -----	1-9
X	WO 2007/076950 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]; SUPER MICHAEL [US]; DAVIS JONATHAN H [US]; STE) 12 July 2007 (2007-07-12) cited in the application page 41 -----	1-9
X	WO 2007/064911 A1 (BIOGEN IDEC INC [US]; DUNN ROBERT JOSEPH [US]; MERTSCHING ELISABETH [U] 7 June 2007 (2007-06-07) page 76 ----- -/--	1-9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 October 2012		Date of mailing of the international search report 29/10/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Sirim, Pinar

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/065904

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ESHAR Z ET AL: "Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC; US, vol. 90, no. 2, 15 January 1993 (1993-01-15), pages 720-724, XP002579936, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.90.2.720 cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-9
A	<p>SCHEUERMANN R H ET AL: "CD19 antigen in leukemia and lymphoma diagnosis and immunotherapy.", LEUKEMIA & LYMPHOMA AUG 1995 LNKD- PUBMED:8528044, vol. 18, no. 5-6, August 1995 (1995-08), pages 385-397, XP009155469, ISSN: 1042-8194 cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-9
A	<p>MONTERRAT E ET AL: "Chronic lymphocytic leukaemia treatment", BLOOD REVIEWS, CHURCHILL LIVINGSTONE, vol. 7, no. 3, 1 September 1993 (1993-09-01), pages 164-175, XP022954383, ISSN: 0268-960X, DOI: 10.1016/0268-960X(93)90003-M [retrieved on 1993-09-01] cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/065904

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011104150	A1	05-05-2011	NONE
WO 2007076950	A1	12-07-2007	AT 509954 T 15-06-2011 AU 2006332155 A1 12-07-2007 BR P10620795 A2 22-11-2011 CA 2635623 A1 12-07-2007 CN 101351477 A 21-01-2009 DK 1966245 T3 18-07-2011 EA 200870132 A1 30-12-2008 EP 1966245 A1 10-09-2008 EP 2270050 A1 05-01-2011 ES 2365046 T3 21-09-2011 JP 2009521912 A 11-06-2009 KR 20080090485 A 08-10-2008 PT 1966245 E 31-08-2011 US 2007154473 A1 05-07-2007 WO 2007076950 A1 12-07-2007 ZA 200806609 A 25-11-2009
WO 2007064911	A1	07-06-2007	US 2007136826 A1 14-06-2007 WO 2007064911 A1 07-06-2007
WO 2005012493	A2	10-02-2005	CA 2534639 A1 10-02-2005 EP 1648512 A2 26-04-2006 EP 2216342 A1 11-08-2010 JP 4733635 B2 27-07-2011 JP 2007528209 A 11-10-2007 JP 2011144191 A 28-07-2011 US 2005070693 A1 31-03-2005 US 2006257398 A1 16-11-2006 WO 2005012493 A2 10-02-2005
WO 0074718	A1	14-12-2000	AT 439860 T 15-09-2009 AU 782160 B2 07-07-2005 AU 2005220209 A1 03-11-2005 AU 2005220211 A1 03-11-2005 AU 2005220212 A1 03-11-2005 CA 2375912 A1 14-12-2000 DE 05075555 T1 08-02-2007 DK 1194167 T3 16-11-2009 EP 1194167 A1 10-04-2002 EP 2289551 A1 02-03-2011 ES 2331644 T3 12-01-2010 HK 1046635 A1 09-10-2009 JP 4286483 B2 01-07-2009 JP 2003501401 A 14-01-2003 PT 1194167 E 23-10-2009 US 7074403 B1 11-07-2006 US 2003133930 A1 17-07-2003 US 2005191300 A1 01-09-2005 US 2006051349 A1 09-03-2006 US 2007020265 A1 25-01-2007 US 2011286918 A1 24-11-2011 US 2011311531 A1 22-12-2011 US 2012114556 A1 10-05-2012 WO 0074718 A1 14-12-2000

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
C 0 7 K 16/30	(2006.01)		C 0 7 K	7/08		
C 1 2 N 15/02	(2006.01)		C 0 7 K	16/30		
C 1 2 P 21/08	(2006.01)		C 1 2 N	15/00	C	
			C 1 2 P	21/08		

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

(72) 発明者 ウィンデルリッヒ, マーク
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン 8 1 3 7 1, インペラシュトラッセ 5 2

(72) 発明者 クローン, スザンヌ
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン 8 1 2 4 1, ハイデルヴェーク 2 2 アー

(72) 発明者 ロイックジャー, リサ
スイス連邦 ヘディンゲン ツェーハー - 8 9 0 8, フロームスシュトラッセ 3 8 ハー

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA45 HA01
4B064 AG27 BJ12 CA10 CC24 DA01
4C085 AA14 AA34 BB42 CC23
4C086 AA01 AA02 EA18 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB27
4H045 AA11 AA30 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA50 BA51 CA40
DA50 DA76 EA20 FA74