

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202391436 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.08.30(22) Дата подачи заявки
2021.11.10

(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/55 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО С АНТИ-SIRP α АНТИТЕЛОМ

(31) 2020-188084

(32) 2020.11.11

(33) JP

(86) PCT/JP2021/041255

(87) WO 2022/102634 2022.05.19

(71) Заявитель:

ДАЙИТИ САНКИО КОМПАНИ,
ЛИМИТЕД (JP)

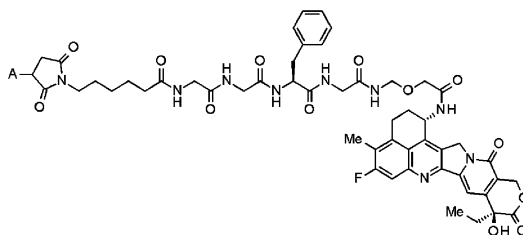
(72) Изобретатель:

Суе Маюми, Цубаки Такуя, Исимото
Йоко (JP)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Представлены фармацевтическая композиция и способ лечения, обладающие отличным противоопухолевым эффектом и безопасностью. Фармацевтическая композиция и способ лечения, где конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором лекарственное средство-линкер и антитело связаны тиоэфирной связью, представленный следующей формулой (A) представляет собой положение связывания с антителом), и ингибитор взаимодействия SIRP α -CD47, такой как анти-SIRP α антитело, вводятся в комбинации. Альтернативно, фармацевтическая композиция и способ лечения, где указанный конъюгат антитело-лекарственное средство и ингибитор взаимодействия SIRP α -CD47, такой как анти-SIRP α антитело, вводятся в комбинации и используются для лечения заболевания, улучшение которого достигается за счет действия, направленного на активацию противоопухолевого иммунитета.



A1

202391436

202391436

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578195EA/55

КОМБИНАЦИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО С АНТИ-SIRP α АНТИТЕЛОМ

[Область техники, к которой относится изобретение]

[0001]

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, в которой специфический конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело вводятся в комбинации, и/или способу лечения, включающему введение субъекту специфического конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела в комбинации.

[Предпосылки создания изобретения]

[0002]

SIRP α (SHPS-1) представляет собой одиночную трансмембранную молекулу, принадлежащую к суперсемейству Ig, присутствующую в миелоидных клетках, таких как макрофаги, дендритные клетки и нейтрофилы, а также в глиальных клетках (Непатентный документ 1). Его внеклеточная область состоит из одного домена IgV и двух доменов IgC. Сообщается, что домен IgV, который является положением связывания с CD47, имеет 10 вариантов у человека (Непатентный документ 2). С другой стороны, его внутриклеточная область содержит иммунорецепторные тирозиновые ингибирующие мотивы (ITIM). Когда ITIM связывается с CD47, индуцируется связывание с дефосфорилирующими тирозин ферментами, SHP-1 и SHP-2, и передается супрессивный сигнал.

[0003]

Сообщается, что взаимодействие SIRP α -CD47 вызывает физиологический феномен, т.е. CD47 на эритроцитах связывается с SIRP α на макрофагах для передачи сигнала «не ешь меня», в результате чего можно избежать нежелательного фагоцитоза посредством эритроцитов (Непатентный документ 3). Кроме того, предполагается, что в микроокружении опухоли, когда CD47, который в высокой степени экспрессируется на опухолевых клетках, связывается с SIRP α на макрофагах и дендритных клетках, фагоцитарная активность по поглощению опухолевых клеток подавляется. Когда фагоцитарная активность подавляется, последующая презентация опухолевого антигена Т-клеткам и дальнейший последующий опухолеспецифический иммунный ответ будут подавляться. Таким образом, иммунный феномен, то есть фагоцитоз опухолевых клеток, рассматривается как контрольная точка проникновения опухолевого антигена.

[0004]

SIRP α -CD47 является единственной верифицированной на сегодняшний день молекулой, подавляющей фагоцитоз. Ожидается, что ингибирующее антитело против этой молекулы может служить новым ингибитором контрольных точек против мишеней, отличных от Т-клеток, и быть широко эффективным у пациентов, резистентных к обычным ингибиторам иммунных контрольных точек.

[0005]

В последнее время о патентах, относящихся к анти-SIRP α антителам, одна за другой сообщают различные компании (Патентная литература 1, 2 и 3). В примерах отдельных ссылочных документов раскрыты различия в активности связывания с различными вариантами и молекулами семейства (например, SIRP β 1, SIRP γ) и различия в подклассах IgG антител. Например, OSE-172, представляющее собой антитело IgG4Pro, связывается с SIRP α V1 и SIRP β 1, но не связывается ни с SIRP α V2, ни с SIRP γ ; KWAR23, представляющее собой антитело IgG1N279A, связывается со всеми 10 типами молекул SIRP α варианта и семейства, SIRP β 1 и SIRP γ ; и ADU-1805, представляющее собой антитело IgG2, связывается со всеми 10 типами SIRP α варианта и SIRP γ . До сих пор неизвестно, какое из антител является наиболее подходящим в качестве лекарственного средства. Предпринимаются усилия по получению превосходного антитела. В качестве примера таких усилий можно привести антитело, описанное в Патентной литературе 4.

[0006]

Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий лекарственное средство с цитотоксичностью, конъюгированное с антителом, способным к связыванию с антигеном, экспрессируемым на поверхности раковых клеток, и к клеточной интернализации, может доставлять лекарственное средство селективно к раковым клеткам, и, таким образом, можно ожидать, что это приведет к накоплению лекарственного средства в раковых клетках и уничтожению раковых клеток.

В качестве одного из таких конъюгатов антитело-лекарственное средство известен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий в качестве компонентов антитело и производное экзатекана, которое является ингибитором топоизомеразы I (Патентная литература 5-11, Непатентный документ 4-7).

[0007]

В патентных документах 5-11 раскрывается, что конъюгат антитело-лекарственное средство, указанный выше, можно вводить в комбинации с любым из различных противораковых терапевтических средств.

[0008]

Однако до сих пор не опубликовано ни результатов испытаний, показывающих превосходный комбинированный эффект, когда вышеуказанный конъюгат антитело-лекарственное средство используется в комбинации с анти-SIRP α антителом, ни каких-либо научных оснований для предположения о таком результате испытания.

[Перечень цитируемых документов]

[Патентный документы]

[0009]

[Патентный документ 1] Международная публикация № WO 2017/178653

[Патентный документ 2] Международная публикация № WO 2018/026600

[Патентный документ 3] Международная публикация № WO 2018/190719

[Патентный документ 4] Международная публикация № WO 2020/013170

[Патентный документ 5] Международная публикация № WO 2014/057687
 [Патентный документ 6] Международная публикация № WO 2014/061277
 [Патентный документ 7] Международная публикация № WO 2015/098099
 [Патентный документ 8] Международная публикация № WO 2015/115091
 [Патентный документ 9] Международная публикация № WO 2015/146132
 [Патентный документ 10] Международная публикация № WO 2015/155976
 [Патентный документ 11] Международная публикация № WO 2015/155998
 [Непатентные документы]

[0010]

[Непатентный документ 1] Matozaki et al. Trends in cell biol. 2009 (19) 2, 72-80

[Непатентный документ 2] Takenaka et al. Nat Immunol. 2007 (8) 12, 1313-1323

[Непатентный документ 3] Matozaki et al. J. Biochem. 2014 (155) 6, 335-344

[Непатентный документ 4] Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22 (20), 5097-5108.

[Непатентный документ 5] Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046.

[Непатентный документ 6] Doi T, et al., Lancet Oncol 2017; 18: 1512-22.

[Непатентный документ 7] Takegawa N, et al., Int. J. Cancer: 141, 1682-1689 (2017)

[Сущность изобретения]

[Техническая задача]

[0011]

Было подтверждено, что конъюгаты антитело-лекарственное средство, используемые в настоящем изобретении (конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие производное экзатекана в качестве компонента), проявляют превосходный противоопухолевый эффект даже в качестве отдельно используемого средства. Однако существует потребность в способе лечения, который может подавлять рост раковых клеток различным образом и проявлять еще более превосходный противоопухолевый эффект за счет использования конъюгата антитело-лекарственное средство в комбинации с другим противораковым средством, обладающим другим механизмом действия.

[0012]

Целью настоящего изобретения является обеспечение фармацевтической композиции, в которой специфический конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело вводятся в комбинации, и/или способа лечения, включающего введение субъекту специфического конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела в комбинации.

[Решение задачи]

[0013]

В результате кропотливых исследований для решения вышеуказанных задач авторы настоящего изобретения обнаружили, что комбинированное применение специфического конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела дает превосходный комбинированный эффект, и, таким образом было создано настоящее изобретение.

[0014]

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает следующее [1]-[232]

[0015]

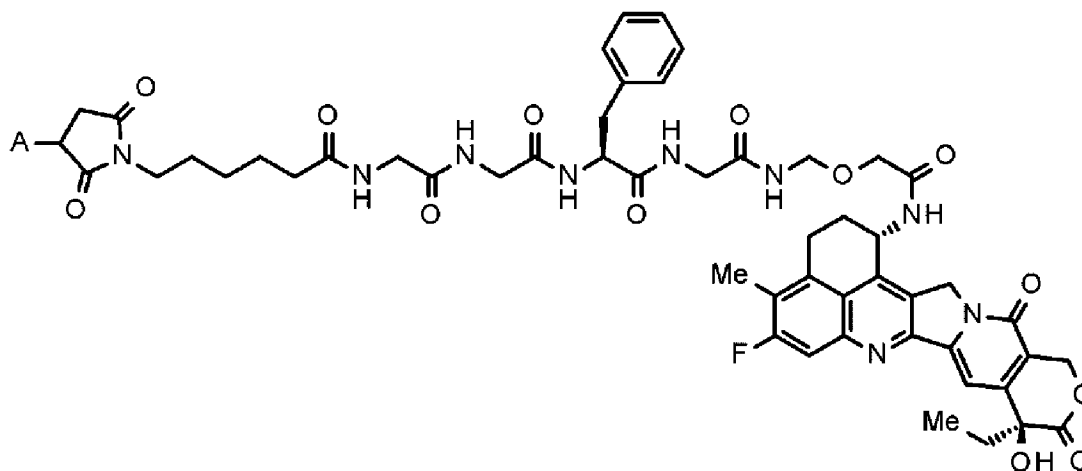
[1]

Фармацевтическая композиция, в которой конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело вводятся в комбинации, и

конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0016]

[Формула 1]



[0017]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь.

[2]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [1], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[3]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [2], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[4]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [3], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[5]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [3], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[6]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [3]-[5], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[7]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [2], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[8]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [7], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[9]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [8], где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[10]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [7]-[9], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[0018]

[11]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [2], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[12]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [11], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[13]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [12], где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[14]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [11]-[13], где среднее

количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[15]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [2], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[16]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [15], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[17]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [16], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[18]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [15]-[17], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[19]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [2], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[20]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [19], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

[0019]

[21]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [20], где анти-GPR20 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[22]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [19]-[21], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[23]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [2], где антитело в конъюгате

антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[24]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [23], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[25]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [24], где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[26]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [23]-[25], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[27]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [1]-[26], где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[28]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [1]-[27], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное

время.

[29]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [1]-[28], где композиция предназначена для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциномы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

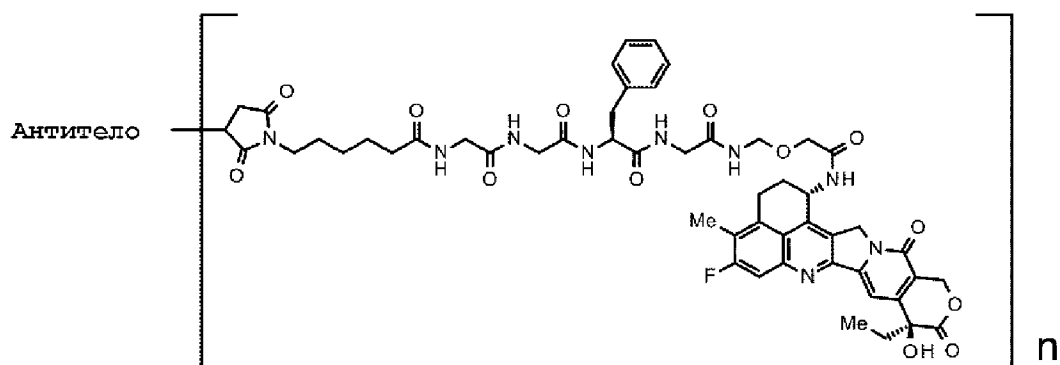
[30]

Фармацевтическая композиция, в которой конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRPα антитело вводятся в комбинации, и

конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный следующей формулой:

[0020]

[Формула 2]



[0021]

где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

[0022]

[31]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [30], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[32]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [31], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[33]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [32], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной аминокислотными остатками 1-214 SEQ ID NO: 2.

[34]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [32], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[35]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [32]-[34], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[36]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [31], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[37]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [36], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[38]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [37], где анти-HER3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[39]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [36]-[38], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[40]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [31], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[0023]

[41]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [40], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[42]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [41], где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[43]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [40]-[42], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[44]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [31], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[45]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [44], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[46]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [45], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[47]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [44]-[46], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[48]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [31], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[49]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [48], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

[50]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [49], где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[0024]

[51]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [48]-[50], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[52]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [31], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[53]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [52], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[54]

Фармацевтическая композиция в соответствии с [53], где анти-CDH6 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[55]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [52]-[54], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[56]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [30]-[55], где анти-SIRPα антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из

аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[57]

Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [30]-[56], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[58]

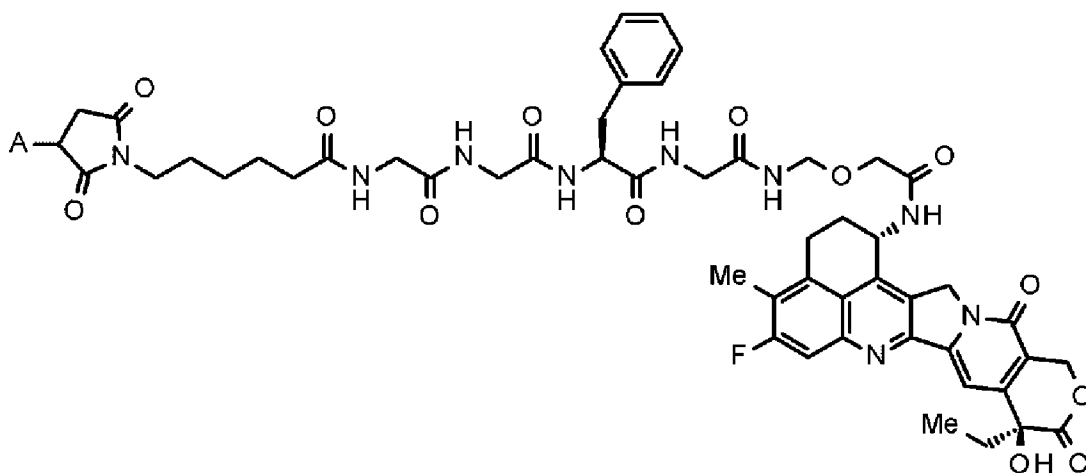
Фармацевтическая композиция в соответствии с любым из [30]-[57], где композиция предназначена для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

[59]

Способ лечения, включающий введение конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела в комбинации субъекту, нуждающемуся в лечении, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0025]

[Формула 3]



[0026]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь.

[60]

Способ лечения в соответствии с [59], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[0027]

[61]

Способ лечения в соответствии с [60], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[62]

Способ лечения в соответствии с [61], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[63]

Способ лечения в соответствии с [61], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[64]

Способ лечения в соответствии с любым из [61]-[63], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[65]

Способ лечения в соответствии с [60], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[66]

Способ лечения в соответствии с [65], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[67]

Способ лечения в соответствии с [66], где анти-HER3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[68]

Способ лечения в соответствии с любым из [65]-[67], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[69]

Способ лечения в соответствии с [60], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[70]

Способ лечения в соответствии с [69], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[0028]

[71]

Способ лечения в соответствии с [70], где анти-TROP2 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[72]

Способ лечения в соответствии с любым из [69]-[71], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[73]

Способ лечения в соответствии с [60], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[74]

Способ лечения в соответствии с [73], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[75]

Способ лечения в соответствии с [74], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[76]

Способ лечения в соответствии с любым из [73]-[75], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[77]

Способ лечения в соответствии с [60], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[78]

Способ лечения в соответствии с [77], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234

SEQ ID NO: 10.

[79]

Способ лечения в соответствии с [78], где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[80]

Способ лечения в соответствии с любым из [77]-[79], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[0029]

[81]

Способ лечения в соответствии с [60], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[82]

Способ лечения в соответствии с [81], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[83]

Способ лечения в соответствии с [82], где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[84]

Способ лечения в соответствии с любым из [81]-[83], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[85]

Способ лечения в соответствии с любым из [59]-[84], где анти-SIRPα антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[86]

Способ лечения в соответствии с любым из [59]-[85], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[87]

Способ лечения в соответствии с любым из [59]-[86], где способ предназначен для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциномы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

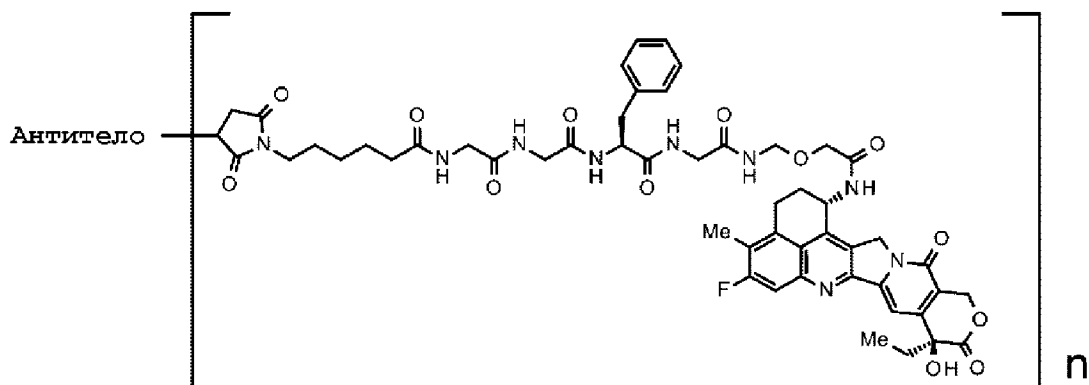
[88]

Способ лечения, включающий введение конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела в комбинации субъекту, нуждающемуся в лечении, где

конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный формулой:

[0030]

[Формула 4]



[0031]

где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

[89]

Способ лечения в соответствии с [88], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[90]

Способ лечения в соответствии с [89], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[0032]

[91]

Способ лечения в соответствии с [90], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[92]

Способ лечения в соответствии с [90], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[93]

Способ лечения в соответствии с любым из [90]-[92], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[94]

Способ лечения в соответствии с [89], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[95]

Способ лечения в соответствии с [94], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[96]

Способ лечения в соответствии с [95], где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[97]

Способ лечения в соответствии с любым из [94]-[96], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[98]

Способ лечения в соответствии с [89], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[99]

Способ лечения в соответствии с [98], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[100]

Способ лечения в соответствии с [99], где анти-TROP2 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[0033]

[101]

Способ лечения в соответствии с любым из [98] или [100], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[102]

Способ лечения в соответствии с [89], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[103]

Способ лечения в соответствии с [102], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[104]

Способ лечения в соответствии с [103], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[105]

Способ лечения в соответствии с любым из [102]-[104], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[106]

Способ лечения в соответствии с [89], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[107]

Способ лечения в соответствии с [106], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234

SEQ ID NO: 10.

[108]

Способ лечения в соответствии с [107], где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[109]

Способ лечения в соответствии с любым из [106]-[108], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[110]

Способ лечения в соответствии с [89], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[0034]

[111]

Способ лечения в соответствии с [110], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[112]

Способ лечения в соответствии с [111], где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[113]

Способ лечения в соответствии с любым из [110]-[112], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[114]

Способ лечения в соответствии с любым из [88]-[113], где анти-SIRPα антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[115]

Способ лечения в соответствии с любым из [88]-[114], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRPα антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[116]

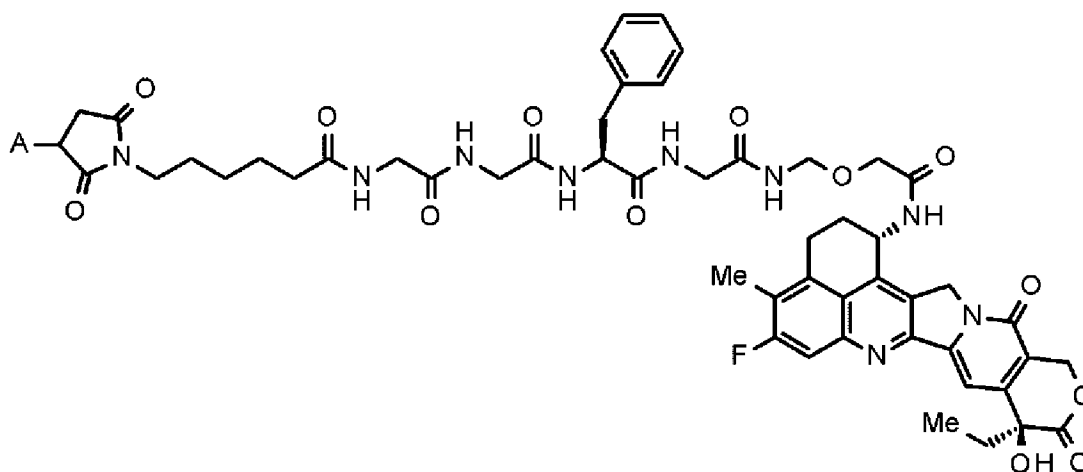
Способ лечения в соответствии с любым из [88]-[115], где способ предназначен для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Пэджета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

[117]

Конъюгат антитело-лекарственное средство для лечения заболевания путем его введения в комбинации с анти-SIRPα антителом, где соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0035]

[Формула 5]



[0036]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь в конъюгате антитело-

лекарственное средство.

[118]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [117], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[119]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [118], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело

[120]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [119], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[0037]

[121]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [119], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2

[122]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [119]-[121], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[123]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [118], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[124]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [123], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[125]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [124], где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[126]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [123]-[125], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете

на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[127]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [118], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[128]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [127], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[129]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [128], где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[130]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [127]-[129], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[0038]

[131]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [130], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[132]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [131], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[133]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [132], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[134]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [131]-[133], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[135]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [118], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[136]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [135], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

[137]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [136], где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[138]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [135]-[137], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[139]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [118], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[140]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [139], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[0039]

[141]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [140], где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[142]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [139]-[141], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[143]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [117]-[142], где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной

последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[144]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [117]-[143], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[145]

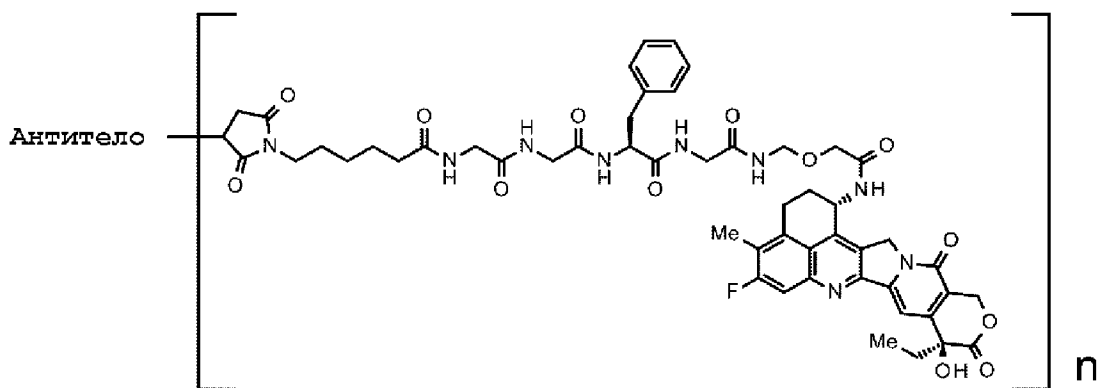
Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [117]-[144], где конъюгат предназначен для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

[146]

Конъюгат антитело-лекарственное средство для лечения заболевания путем его введения в комбинации с анти-SIRP α антителом, и представленный следующей формулой:

[0040]

[Формула 6]



[0041]

где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

[147]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [146], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[148]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [147], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[149]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [148], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[150]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [148], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[0042]

[151]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [148]-[150], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[152]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [147], где антитело в

конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[153]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [152], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[154]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [153], где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[155]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [152]-[154], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[156]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [147], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[157]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [156], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[158]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [157], где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[159]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [156]-[158], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[160]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [147], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[0043]

[161]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [160], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из

аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[162]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [161], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[163]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [160]-[162], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[164]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [147], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[165]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [164], где анти-GPR20 представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

[166]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [165], где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[167]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [164]-[166], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[168]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [147], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[169]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [168], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[170]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с [169], где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[0044]

[171]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [168]-[170], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[172]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [146]-[171], где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[173]

Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [146]-[172], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[174]

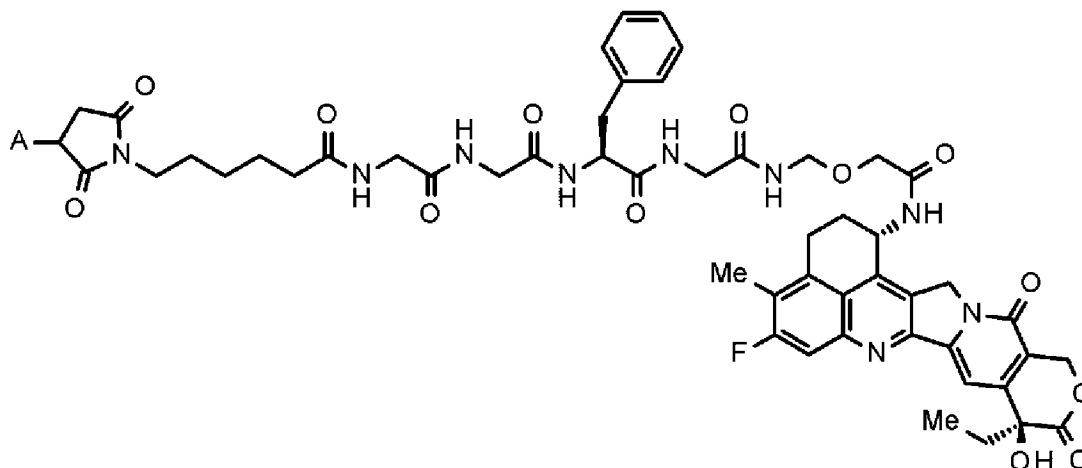
Конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с любым из [146]-[173], где конъюгат предназначен для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

[175]

Применение конъюгата антитело-лекарственное средство для получения лекарственного средства для лечения заболевания путем его введения в комбинации с анти-SIRP α антителом, где соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0045]

[Формула 7]



[0046]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь в конъюгате антитело-лекарственное средство.

[176]

Применение в соответствии с [175], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[177]

Применение в соответствии с [176], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[178]

Применение в соответствии с [177], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[179]

Применение в соответствии с [177], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной

последовательности, представленной SEQ ID NO: 2

[180]

Применение в соответствии с любым из [177]-[179], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[0047]

[181]

Применение в соответствии с [176], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[182]

Применение в соответствии с [181], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[183]

Применение в соответствии с [182], где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[184]

Применение в соответствии с любым из [181]-[183], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[185]

Применение в соответствии с [176], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[186]

Применение в соответствии с [185], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[187]

Применение в соответствии с [186], где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[188]

Применение в соответствии с любым из [185]-[187], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[189]

Применение в соответствии с [176], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[190]

Применение в соответствии с [189], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[0048]

[191]

Применение в соответствии с [190], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[192]

Применение в соответствии с любым из [189]-[191], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[193]

Применение в соответствии с [176], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[194]

Применение в соответствии с [193], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

[195]

Применение в соответствии с [194], где анти-GPR20 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[196]

Применение в соответствии с любым из [193]-[195], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[197]

Применение в соответствии с [176], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[198]

Применение в соответствии с [197], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[199]

Применение в соответствии с [198], где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[200]

Применение в соответствии с любым из [197]-[199], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[0049]

[201]

Применение в соответствии с любым из [175]-[200], где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[202]

Применение в соответствии с любым из [175]-[201], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[203]

Применение в соответствии с любым из [175]-[202], где применение предназначено для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной

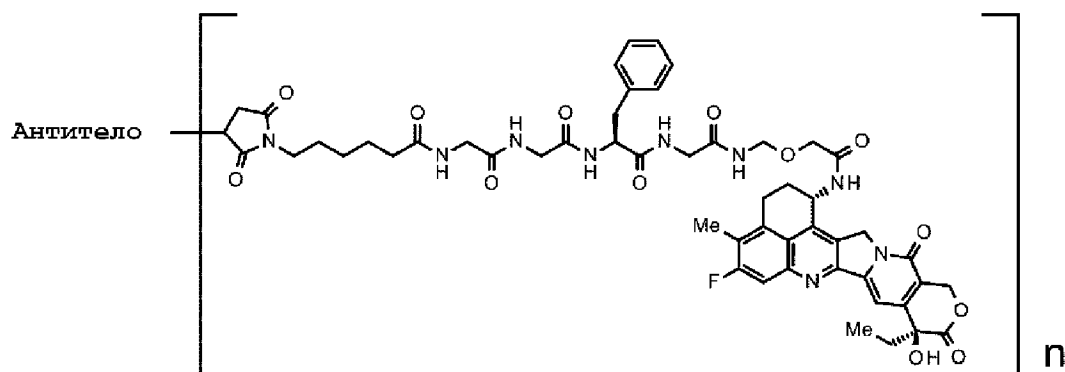
железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

[204]

Применение конъюгата антитело-лекарственное средство для получения лекарственного средства для лечения заболевания путем его введения в комбинации с анти-SIRP α антителом, и представленного следующей формулой:

[0050]

[Формула 8]



[0051]

где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

[205]

Применение в соответствии с [204], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

[206]

Применение в соответствии с [205], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

[207]

Применение в соответствии с [206], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

[208]

Применение в соответствии с [206], где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[209]

Применение в соответствии с любым из [206]-[208], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[210]

Применение в соответствии с [205], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

[0052]

[211]

Применение в соответствии с [210], где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

[212]

Применение в соответствии с [211], где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[213]

Применение в соответствии с любым из [210]-[212], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[214]

Применение в соответствии с [205], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

[215]

Применение в соответствии с [214], где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

[216]

Применение в соответствии с [215], где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[217]

Применение в соответствии с любым из [214]-[216], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[218]

Применение в соответствии с [205], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[219]

Применение в соответствии с [218], где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

[220]

Применение в соответствии с [219], где анти-B7-H3 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[0053]

[221]

Применение в соответствии с любым из [218]-[220], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

[222]

Применение в соответствии с [205], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

[223]

Применение в соответствии с [222], где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

[224]

Применение в соответствии с [223], где анти-GPR20 антитело не содержит лизинового остатка на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[225]

Применение в соответствии с любым из [222]-[224], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средства-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[226]

Применение в соответствии с [205], где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

[227]

Применение в соответствии с [226], где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

[228]

Применение в соответствии с [227], где анти-CDH6 антитело не содержит

лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[229]

Применение в соответствии с любым из [226]-[228], где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

[230]

Применение в соответствии с любым из [204]-[229], где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[0054]

[231]

Применение в соответствии с любым из [204]-[230], где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

[232]

Применение в соответствии с любым из [204]-[231], где применение предназначено для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, и карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического

синдрома.

[Полезные эффекты изобретения]

[0055]

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, в которой специфический конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело вводятся в комбинации, и/или способ лечения, включающий введение субъекту специфического конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела в комбинации.

[Краткое описание чертежей]

[0056]

[Фиг. 1] Фиг. 1 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи анти-HER2 антитела (SEQ ID NO: 1).

[Фиг. 2] Фиг. 2 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи анти-HER2 антитела (SEQ ID NO: 2).

[Фиг. 3] Фиг. 3 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи анти-HER3 антитела (SEQ ID NO: 3).

[Фиг. 4] Фиг. 4 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи анти-HER3 антитела (SEQ ID NO: 4).

[Фиг. 5] Фиг. 5 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи анти-TROP2 антитела (SEQ ID NO: 5).

[Фиг. 6] Фиг. 6 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи анти-TROP2 антитела (SEQ ID NO: 6).

[Фиг. 7] Фиг. 7 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи анти-B7-H3 антитела (SEQ ID NO: 7).

[Фиг. 8] Фиг. 8 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи анти-B7-H3 антитела (SEQ ID NO: 8).

[Фиг. 9] Фиг. 9 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи анти-GPR20 антитела (SEQ ID NO: 9).

[Фиг. 10] Фиг. 10 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи анти-GPR20 антитела (SEQ ID NO: 10).

[Фиг. 11] Фиг. 11 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи анти-CDH6 антитела (SEQ ID NO: 11).

[Фиг. 12] Фиг. 12 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи анти-CDH6 антитела (SEQ ID NO: 12).

[Фиг. 13] Фиг. 13 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи hH1 гуманизованного анти-SIRP α антитела D13 (SEQ ID NO: 13).

[Фиг. 14] Фиг. 14 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи hH2 гуманизованного анти-SIRP α антитела D13 (SEQ ID NO: 14).

[Фиг. 15] Фиг. 15 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи hL2 гуманизированного анти-SIRP α антитела D13 (SEQ ID NO: 15).

[Фиг. 16] Фиг. 16 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи hL3 гуманизированного анти-SIRP α антитела D13 (SEQ ID NO: 16).

[Фиг. 17] Фиг. 17 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность легкой цепи hL4 гуманизированного анти-SIRP α антитела D13 (SEQ ID NO: 17).

[Фиг. 18] Фиг. 18 представляет диаграмму, показывающую последовательности CDR анти-SIRP α антитела cD13 (SEQ ID NO: 18-23).

[Фиг. 19] Фиг. 19 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи антитела OSE-172 (OSE-172_hG4Pro) (SEQ ID NO: 24) и аминокислотную последовательность его легкой цепи (OSE-172_hK) (SEQ ID NO: 25).

[Фиг. 20] Фиг. 20 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи антитела KWAR23 (KWAR23_hG4Pro) (SEQ ID NO: 26) и аминокислотную последовательность его легкой цепи (KWAR23_hK) (SEQ ID NO: 27).

[Фиг. 21] Фиг. 21 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи антитела ADU-1805 (ADU-1805_hG2) (SEQ ID NO: 28) и аминокислотную последовательность его легкой цепи (ADU-1805_hK) (SEQ ID NO: 29).

[Фиг. 22] Фиг. 22 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи антитела 5C12 против мышиногo SIRP α (SEQ ID NO: 30) и аминокислотную последовательность его легкой цепи (SEQ ID NO: 31).

[Фиг. 23]

Фиг. 23 представляет диаграмму, показывающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи антимышиного человеческого анти-PD-L1 антитела YW243.55S70 (SEQ ID NO: 32) и аминокислотную последовательность его легкой цепи (SEQ ID NO: 33).

[Фиг. 24] Фиг. 24 включает графики, показывающие высвобождение АТФ и HMGB1 при индукции ICD соединением (A) *in vitro*.

[Фиг. 25] Фиг. 25 представляет график, показывающий экспрессию кальретикулина (CRT) на клеточной поверхности при индукции ICD соединением (A) *in vitro*.

[Фиг. 26] Фиг. 26 представляет график, показывающий высвобождение HMGB1 при индукции ICD соединением (A) *in vitro*. Клетки колоректального рака мыши, в которых была индуцирована ICD, инокулированы мыши в исследовании, показанном на Фиг. 27.

[Фиг. 27] Фиг. 27 включает изображения, показывающие формирование иммунологической памяти (эффект вакцинации) в отношении опухоли посредством индукции ICD соединением (A) *in vivo*.

[Фиг. 28] Фиг. 28 представляет график, показывающий количество IFN γ -продуцирующих клеток селезенки в селезенке, вырезанной у мыши, которой были

инокулированы мышинные клетки колоректального рака в исследовании, показанном на Фиг. 27.

[Фиг. 29] Фиг. 29 включает графики, показывающие результаты анализа популяции Т-клеток в селезенке, вырезанной у мыши, которой были инокулированы мышинные клетки колоректального рака и которой вводили PBS в исследовании, показанном на Фиг. 27.

[Фиг. 30] Фиг. 30 включает графики, показывающие результаты анализа популяции Т-клеток в селезенке, вырезанной у мыши, которой были инокулированы мышинные клетки колоректального рака в исследовании, показанном на Фиг. 27.

[Фиг. 31]

(Фиг. 31A) Фиг. 31A представляет график, показывающий ADCP активность анти-SIRP α антитела и/или конъюгата антитело-лекарственное средство (1) в отношении клеток рака желудка человека.

(Фиг. 31B) Фиг. 31B представляет график, показывающий ADCP активность анти-SIRP α антитела и/или конъюгата антитело-лекарственное средство (2) в отношении клеток рака желудка человека.

(Фиг. 31C) Фиг. 31C представляет график, показывающий усиление ADCP активности анти-SIRP α антитела и конъюгата антитело-лекарственное средство (1) в клетках рака желудка человека зависимым от концентрации анти-SIRP α антитела образом.

(Фиг. 31D) Фиг. 31D представляет график, показывающий усиление ADCP активности анти-SIRP α антитела и конъюгата антитело-лекарственное средство (2) в клетках рака желудка человека зависимым от концентрации анти-SIRP α антитела образом.

[Фиг. 32] Фиг. 32 включает изображения, показывающие противоопухолевый эффект анти-SIRP α антитела, анти-PD-L1 антитела и/или конъюгата антитело-лекарственное средство (1) у мыши, которой были инокулированы HER2-экспрессирующие мышинные клетки рака молочной железы.

[Фиг. 33] Фиг. 33 включает изображения, показывающие противоопухолевый эффект анти-SIRP α антитела и/или конъюгата антитело-лекарственное средство (2) у мыши, которой были инокулированы TROP2-экспрессирующие мышинные клетки колоректального рака.

[Фиг. 34] Фиг. 34 включает изображения, показывающие противоопухолевый эффект анти-SIRP α антитела и/или конъюгата антитело-лекарственное средство (3) у мыши, которой были инокулированы HER3-экспрессирующие мышинные клетки колоректального рака.

[Описание вариантов осуществления]

[0057]

Далее описаны предпочтительные способы осуществления настоящего изобретения. Варианты осуществления, описанные ниже, представлены исключительно для иллюстрации одного примера типичного варианта осуществления настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

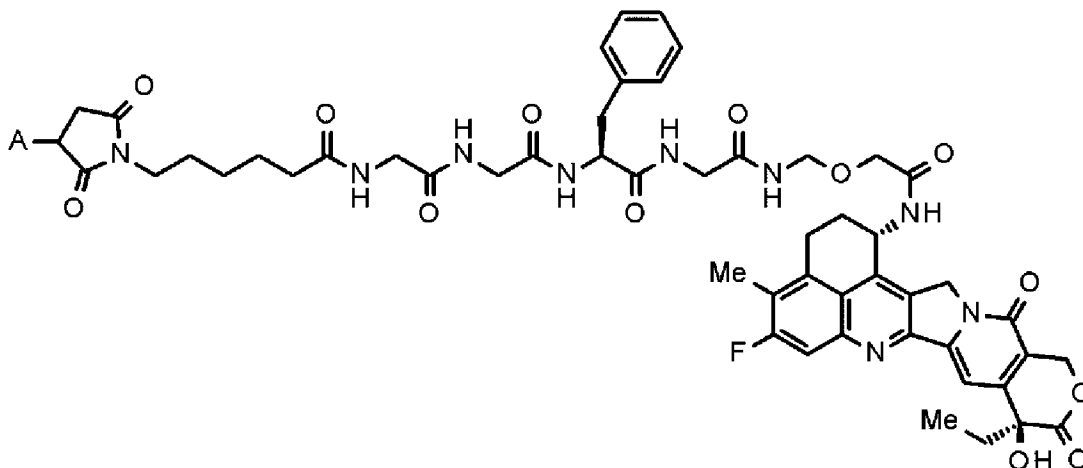
[0058]

1. Конъюгат антитело-лекарственное средство

Конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0059]

[Формула 9]



[0060]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь.

[0061]

В настоящем изобретении частичная структура, состоящая из линкера и лекарственного средства, в конъюгате антитело-лекарственное средство указана как "лекарственное средство-линкер". Лекарственное средство-линкер соединен с тиольной группой (другими словами, атомом серы цистеинового остатка), образованной на участке межцепочечной дисульфидной связи (два сайта между тяжелыми цепями и два сайта между тяжелой цепью и легкой цепью) в антителе.

[0062]

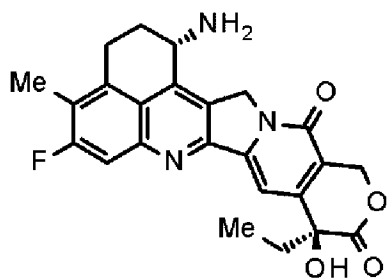
Лекарственное средство-линкер по настоящему изобретению включает, в качестве компонента, экзатекан (IUPAC название: (1S,9S)-1-амино-9-этил-5-фтор-1,2,3,9,12,15-гексагидро-9-гидрокси-4-метил-10H,13H-бензо[de]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13-дион, (также имеющий химическое название: (1S,9S)-1-амино-9-этил-5-фтор-2,3-дигидро-9-гидрокси-4-метил-1H,12H-бензо[de]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13(9H,15H)-дион)), который является ингибитором топоизомеразы I.

[0063]

Экзатекан представляет собой камптотециновое производное, обладающее противоопухолевым эффектом, представленное следующей формулой:

[0064]

[Формула 10]

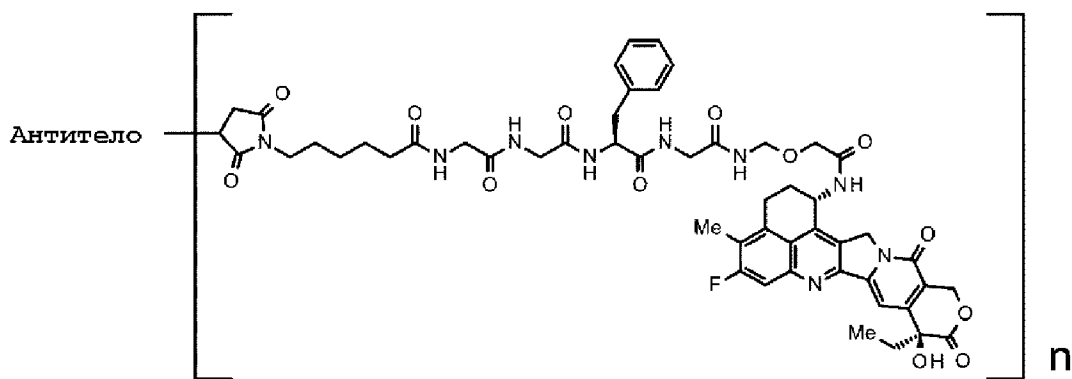


[0065]

Конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, также может быть представлен следующей формулой:

[0066]

[Формула 11]



[0067]

где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь. Значение n является таким, как то, что называется средним количеством конъюгированных молекул лекарственного средства (DAR; отношение лекарственного средства к антителу), и указывает среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

[0068]

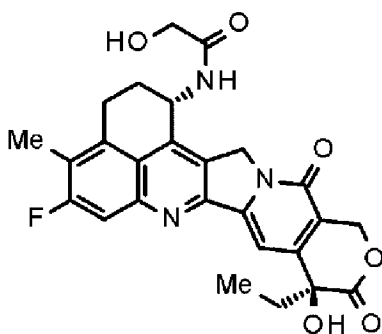
После попадания в раковые клетки конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, расщепляется в линкерной части с высвобождением соединения, представленного следующей формулой

[0069]

(далее указано как соединение (A)):

[0070]

[Формула 12]



[0071]

Подразумевается, что указанное выше соединение является основным источником противоопухолевой активности конъюгата антитело-лекарственное средство, используемого в настоящем изобретении, и, как было подтверждено, обладает эффектом ингибирования топоизомеразы I (Ogitani Y. et al., *Clinical Cancer Research*, 2016, Oct 15;22 (20) :5097-5108, Epub 2016 Mar 29.)

[0072]

Топоизомераза I представляет собой фермент, который расщепляет отдельные нити ДНК и воссоединяет расщепленные фрагменты, тем самым трансформируя структуру ДНК более высокого порядка для участия в синтезе ДНК. Таким образом, лекарственное средство, обладающее эффектом ингибирования топоизомеразы I, ингибирует синтез ДНК для прекращения клеточного деления во время S-фазы (фаза синтеза ДНК) клеточного цикла и индуцирует апоптоз (гибель клеток) для подавления пролиферации раковых клеток.

[0073]

Также известно, что конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, обладает эффектом свидетеля (Ogitani Y. et al., *Cancer Science* (2016) 107, 1039-1046).

[0074]

Эффект свидетеля проявляется в процессе, когда конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, интернализуется раковыми клетками, экспрессирующими мишень, и вышеуказанное соединение высвобождается, а затем проявляет противоопухолевый эффект также в отношении раковых клеток, которые присутствуют вокруг и не экспрессируют мишень.

[0075]

Эффект свидетеля также проявляется как отличный противоопухолевый эффект, когда конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с настоящим изобретением используют в комбинации с анти-SIRPα антителом.

[0076]

2. Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство

Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство, используемое в настоящем изобретении, может быть получено от любого вида, и предпочтительно антитело получено от человека, крысы, мыши или кролика. В случаях, когда антитело происходит от вида,

отличного от человека, его предпочтительно подвергают химеризации или гуманизации с использованием хорошо известного метода. Антитело по настоящему изобретению может представлять собой поликлональное антитело или моноклональное антитело, и предпочтительно представляет собой моноклональное антитело.

[0077]

Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство, используемом в настоящем изобретении, представляет собой антитело, предпочтительно обладающее способностью нацеливаться на раковые клетки, и предпочтительно представляет собой антитело, обладающее, например, свойством узнавать раковую клетку, свойством связываться с раковой клеткой, свойством интернализироваться в раковой клетке и/или цитотоксической активностью против раковых клеток.

[0078]

Связывающую активность антитела против раковых клеток можно подтвердить с использованием проточной цитометрии. Интернализация антитела в опухолевые клетки может быть подтверждена с использованием (1) анализа визуализации включенного в клетки антитела под флуоресцентным микроскопом с использованием вторичного антитела (флуоресцентно меченного), связывающегося с терапевтическим антителом (Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761), (2) анализа измерения интенсивности флуоресценции, включенной в клетки, с использованием вторичного антитела (флуоресцентно меченного), связывающегося с терапевтическим антителом (Molecular Biology of the Cell, Vol. 15, 5268-5282, December 2004), или (3) анализа Mab-ZAP с использованием иммунотоксина, связывающегося с терапевтическим антителом, где токсин высвобождается при включении в клетки для ингибирования клеточного роста (Bio Techniques 28: 162-165, January 2000). В качестве иммунотоксина можно использовать рекомбинантный комплексный белок каталитического домена дифтерийного токсина и G-белка.

[0079]

Противоопухолевую активность антитела можно подтвердить *in vitro* путем определения ингибирующей активности в отношении клеточного роста. Например, культивируют линию раковых клеток, сверхэкспрессирующих белок-мишень для антитела, и антитело добавляют в различных концентрациях в систему культивирования для определения ингибирующей активности в отношении образования очагов, образования колоний и роста сфероидов. Противоопухолевую активность можно подтвердить *in vivo*, например, путем введения антитела бестимусной мыши с инокулированной линией раковых клеток, в высокой степени экспрессирующей белок-мишень, и определения изменений в раковых клетках.

[0080]

Поскольку соединение, конъюгированное в конъюгате антитело-лекарственное средство, проявляет противоопухолевый эффект, предпочтительно, но не обязательно, чтобы антитело само обладало противоопухолевым эффектом. Для специфического и селективного проявления цитотоксической активности противоопухолевого соединения в

отношении раковых клеток важно, а также предпочтительно, чтобы антитело обладало свойством интернализироваться и мигрировать в раковые клетки.

[0081]

Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство, используемом в настоящем изобретении, можно получить с использованием процедуры, известной в данной области. Например, антитело по настоящему изобретению можно получить с использованием способа обычно осуществляемого в данной области, который включает иммунизацию животных антигенным полипептидом и сбор и очистку антител, продуцируемых *in vivo*. Происхождение антигена не ограничивается человеком, и животных можно иммунизировать антигеном, происходящим от отличного от человека животного, такого как мышь, крыса и т.п. В этом случае можно проверить перекрестную реактивность антител, связывающихся с полученным гетерологичным антигеном, с антигенами человека для скрининга на антитело, примененного при заболевании человека.

[0082]

Альтернативно, антитело-продуцирующие клетки, которые продуцируют антитела против антигена, сливают с миеломными клетками в соответствии со способом, известным в данной области (например, Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p.495-497; Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p.365-367, Plenum Press, N.Y. (1980)), для установления гибридом, из которых, в свою очередь, могут быть получены моноклональные антитела.

[0083]

Антиген можно получить методом генетической инженерии, применяемым в отношении клеток-хозяев для продукции гена, кодирующего антигенный белок. В частности, получают векторы, которые обеспечивают экспрессию гена антигена, и переносят в клетки-хозяева, чтобы ген экспрессировался. Экспрессированный таким образом антиген может быть очищен. Антитело также может быть получено методом иммунизации животных описанными выше генно-инженерными антиген-экспрессирующими клетками или клеточной линией, экспрессирующей антиген.

[0084]

Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство, используемом в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой рекомбинантное антитело, полученное путем искусственной модификации с целью снижения гетерологичной антигенности по отношению к человеку, такое как химерное антитело или гуманизированное антитело, или предпочтительно представляет собой антитело, имеющее только последовательность гена антитела, происходящего от человека, то есть человеческое антитело. Эти антитела могут быть получены с использованием известного способа.

[0085]

В качестве химерного антитела можно указать в качестве примера антитело, в котором переменная и константная области антитела происходят от разных видов, например, химерное антитело, в котором полученная от мыши или крысы переменная область антитела соединена с человеческой константной областью антитела (Proc. Natl.

Acad. Sci. USA, 81, 6851-6855, (1984)).

[0086]

В качестве гуманизированного антитела можно указать в качестве примера антитело, полученное путем интегрирования только определяющей комплементарности области (CDR) гетерологичного антитела в антитело человеческого происхождения (Nature (1986) 321, pp. 522-525), антитело, полученное путем прививки части аминокислотных остатков каркаса гетерологичного антитела, а также последовательности CDR гетерологичного антитела к человеческому антителу методом CDR-прививки (WO 90/07861), и антитело, гуманизированное с использованием стратегии мутагенеза с генной конверсией (патент США № 5821337).

[0087]

В качестве человеческого антитела можно указать в качестве примера антитело, полученное путем использования мыши, продуцирующей человеческие антитела, имеющей фрагмент хромосомы человека, включающий гены тяжелой цепи и легкой цепи человеческого антитела (см. Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, p.133-143; Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p.3447-3448; Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999; Tomizuka, K. et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, p.722-727, etc.). В качестве альтернативы можно указать в качестве примера антитело, полученное методом фагового дисплея, антитело, выбираемое из библиотеки человеческих антител (см. Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43 (7), p.2301-2308; Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1 (2), p.189-203; Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology (2002) 109 (3), p.427-431, etc.).

[0088]

Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство, используемом в настоящем изобретении, также включает модифицированные варианты антитела. Модифицированный вариант относится к варианту, полученному путем химической или биологической модификации антитела по настоящему изобретению. Примеры химически модифицированного варианта включают варианты, включающие присоединение химического фрагмента к аминокислотному скелету, варианты, включающие присоединение химического фрагмента к N- или O-связанной углеводной цепи, и т.д. Примеры биологически модифицированного варианта включают варианты, полученные путем посттрансляционной модификации (например, N- или O-гликозилирование, N- или C-концевой процессинг, дезамидирование, изомеризация аспарагиновой кислоты или окисление метионина), и варианты, в которых был добавлен метиониновый остаток к N-концу путем экспрессии в прокариотической клетке-хозяине. Кроме того, антитело, меченное таким образом, чтобы обеспечить возможность детекции или выделения антитела или антигена в соответствии с настоящим изобретением, например фермент-меченное антитело, флуоресцентно-меченное антитело и меченное аффинной меткой антитело, также включено в смысловое значение модифицированного варианта. Такой модифицированный

вариант антитела по настоящему изобретению полезен для улучшения стабильности и удержания антитела в крови, снижения его антигенности, детекции или выделения антитела или антигена и т.д.

[0089]

Кроме того, регулируя модификацию гликана, который связан с антителом по настоящему изобретению (гликозилирование, дефукозилирование и т.д.), можно усилить антитело-зависимую клеточную цитотоксическую активность. В качестве метода регулирования модификации гликана антител известны Международная публикация № WO 99/54342, Международная публикация № WO 00/61739, Международная публикация № WO 02/31140, Международная публикация № WO 2007/133855 и Международная публикация № WO 2013/120066 и т.д. Однако метод этим не ограничивается. В антитело по настоящему изобретению также включены антитела, в которых регулируется модификация гликана.

[0090]

Известно, что лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, продуцируемого в культивируемой клетке млекопитающего, делетирован (Journal of Chromatography A, 705: 129-134 (1995)), и также известно, что два аминокислотных остатка (глицин и лизин) на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, продуцируемого в культивируемой клетке млекопитающего, делетированы, а новый появившийся пролиновый остаток на карбоксильном конце амидирован (Analytical Biochemistry, 360: 75-83 (2007)). Однако такая делеция и модификация последовательности тяжелой цепи не влияют на аффинность связывания с антигеном и эффекторную функцию (активация комплемента, антитело-зависимая клеточная цитотоксичность и т.д.) антитела. Следовательно, в антитело по настоящему изобретению также включены антитела, подвергнутые такой модификации, и функциональные фрагменты антитела, а также делеционные варианты, в которых одна или две аминокислоты делетированы на карбоксильном конце тяжелой цепи, делеционные варианты, содержащие амидированный остаток (например, тяжелая цепь, в которой амидирован пролиновый остаток на карбоксильном конце) и т.п. Тип делеционного варианта, имеющего делецию на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела по настоящему изобретению, не ограничивается указанными выше вариантами при условии сохранения аффинности связывания с антигеном и эффекторной функции. Две тяжелые цепи, составляющие антитело по настоящему изобретению, могут быть одного типа, выбранного из группы, состоящей из полноразмерной тяжелой цепи и вышеописанного делеционного варианта, или могут быть двух типов в комбинации, выбранной из них. На соотношение количества каждого делеционного варианта может влиять тип культивируемых клеток млекопитающих, которые продуцируют антитело по настоящему изобретению, и условия культивирования; однако предпочтительным примером может служить антитело, в котором делетирован один аминокислотный остаток на карбоксильном конце в обеих из двух тяжелых цепей антитела по настоящему изобретению.

[0091]

В качестве изоформ антитела в соответствии с настоящим изобретением можно указать, например, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), и в качестве предпочтительного примера можно указать IgG1, IgG2 или IgG4.

[0092]

Примеры антител в конъюгатах антитело-лекарственное средство, используемых в настоящем изобретении, могут включать, но конкретно не ограничиваются этим, анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-CD3 антитело, анти-CD30 антитело, анти-CD33 антитело, анти-CD37 антитело, анти-CD56 антитело, анти-CD98 антитело, анти-DR5 антитело, анти-EGFR антитело, анти-EPHA2 антитело, анти-FGFR2 антитело, анти-FGFR4 антитело, анти-FOLR1 антитело, анти-VEGF антитело, анти-CD20 антитело, анти-CD22 антитело, анти-CD70 антитело, анти-PSMA антитело, анти-CEA антитело, анти-Mesothelin антитело, анти-A33 антитело, анти-CanAg антитело, анти-Cripto антитело, анти-G250 антитело, анти-MUC1 антитело, анти-GPNMB антитело, антитело к Интегрину, антитело к Тенасцину-С, анти-SLC44A4 антитело, анти-GPR20 антитело и анти-CDH6 антитело, и предпочтительными являются анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело и анти-CDH6 антитело.

[0093]

В настоящем изобретении термин "анти-HER2 антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с HER2 (Рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2 типа; ErbB-2), и предпочтительно обладает активностью интернализации в HER2-экспрессирующих клетках путем связывания с HER2.

[0094]

Примеры анти-HER2 антитела включают трастузумаб (патент США № 5821337) и пертузумаб (Международная публикация № WO 01/00245), и предпочтительным примером является трастузумаб.

[0095]

В настоящем изобретении термин "анти-HER3 антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с HER3 (Рецептор человеческого эпидермального фактора роста 3 типа; ErbB-3), и предпочтительно обладает активностью интернализации в HER3-экспрессирующих клетках путем связывания с HER3.

[0096]

Примеры анти-HER3 антитела включают патритумаб (U3-1287), U1-59 (Международная публикация № WO 2007/077028), MM-121 (серлибантумаб), анти-ERBB3 антитело, описанное в Международной публикации № WO 2008/100624, RG-7116 (лумретузумаб) и LJM-716 (элгемтумаб), и предпочтительными являются патритумаб и U1-59.

[0097]

В настоящем изобретении термин "анти-TROP2 антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с TROP2 (TACSTD2: Опухоль-ассоциированный

трансдуктор кальциевого сигнала 2; EGP-1), и предпочтительно обладает активностью интернализации в TROP2-экспрессирующих клетках путем связывания с TROP2.

[0098]

Примеры анти-TROP2 антитела включают hTINA1-H1L1 (Международная публикация № WO 2015/098099).

[0099]

В настоящем изобретении термин "анти-B7-H3 антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с B7-H3 (гомолог 3 В-клеточного антигена #7; PD-L3; CD276), и предпочтительно обладает активностью интернализации в B7-H3-экспрессирующих клетках путем связывания с B7-H3.

[0100]

Примеры анти-B7-H3 антитела включают M30-H1-L4 (Международная публикация № WO 2014/057687).

[0101]

В настоящем изобретении термин "анти-GPR20 антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с GPR20 (связанный с G-белком рецептор 20), и предпочтительно обладает активностью интернализации в GPR20-экспрессирующих клетках путем связывания с GPR20.

[0102]

Примеры анти-GPR20 антитела включают h046-H4e/L7 (Международная публикация № WO 2018/135501).

[0103]

В настоящем изобретении термин "анти-CDH6 антитело" относится к антителу, которое специфически связывается с CDH6 (Кадгерин-6), и предпочтительно обладает активностью интернализации в CDH6-экспрессирующих клетках путем связывания с CDH6.

[0104]

Примеры анти-CDH6 антитела включают H01L02 (Международная публикация № WO 2018/212136).

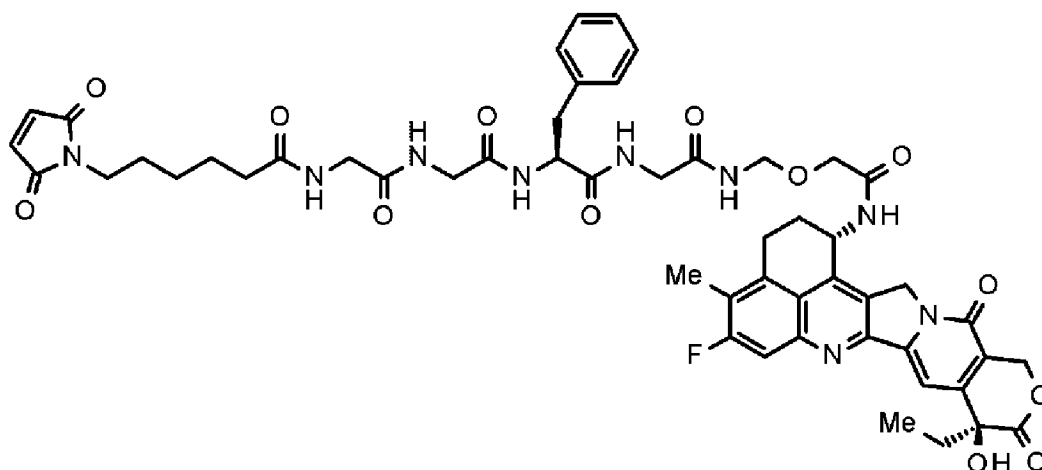
[0105]

3. Получение конъюгата антитело-лекарственное средство

Промежуточное соединение лекарственное средство-линкер для применения в получении конъюгата антитело-лекарственное средство в соответствии с настоящим изобретением представлено следующей формулой.

[0106]

[Формула 13]



[0107]

Промежуточное соединение лекарственное средство-линкер может быть представлено под химическим названием N-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексаноил]глицилглицил-L-фенилаланил-N-[(2-((1S,9S)-9-этил-5-фтор-9-гидрокси-4-метил-10,13-диоксо-2,3,9,10,13,15-гексагидро-1H,12H-бензо[de]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-1-ил)амино)-2-оксоэтокси)метил]глицинамид и может быть получено со ссылкой на описания в Международной публикации № WO 2014/057687, Международной публикации № WO 2015/098099, Международной публикации № WO 2015/115091, Международной публикации № WO 2015/155998 и Международной публикации № WO 2019/044947.

[0108]

Конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно получить путем взаимодействия вышеописанного промежуточного соединения лекарственное средство-линкер и антитела, содержащего тиольную группу (альтернативно указана как сульфгидрильная группа).

[0109]

Антитело, содержащее сульфгидрильную группу, можно получить способом, хорошо известным в данной области (Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp. 56-136, pp. 456-493, Academic Press (1996)). Например, путем использования 0,3-3 молярных эквивалентов восстановителя, такого как трис(2-карбоксиэтил)фосфин гидрохлорид (ТСЕР), на межцепочечный дисульфид в антителе и взаимодействия с антителом в буферном растворе, содержащем хелатирующий агент, такой как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), можно получить антитело, содержащее сульфгидрильную группу с частично или полностью восстановленными межцепочечными дисульфидными в антителе.

[0110]

Кроме того, путем использования 2-20 молярных эквивалентов промежуточного соединения лекарственное средство-линкер на антитело, содержащее сульфгидрильную группу, можно получить конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором

конъюгированы 2-8 молекул лекарственного средства на молекулу антитела.

[0111]

Среднее количество конъюгированных молекул лекарственного средства на молекулу антитела в полученном конъюгате антитело-лекарственное средство можно определить, например, путем расчета, основанного на измерении УФ-поглощения для конъюгата антитело-лекарственное средство и предшественника конъюгации при двух длинах волн 280 нм и 370 нм (УФ метод), или путем расчета, основанного на количественном определении на основании ВЭЖХ измерений для фрагментов, полученных путем обработки конъюгата антитело-лекарственное средство восстановителем (метод ВЭЖХ).

[0112]

Конъюгацию между антителом и промежуточным соединением лекарственное средство-линкер и расчет среднего количества конъюгированных молекул лекарственного средства на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство можно осуществить, руководствуясь описаниями в Международной публикации № WO 2014/057687, Международной публикации № WO 2015/098099, Международной публикации № WO 2015/115091, Международной публикации № WO 2015/155998, Международной публикации № WO 2018/135501 и Международной публикации № WO 2018/212136, и т.д.

[0113]

В настоящем изобретении "конъюгат анти-HER2 антитело-лекарственное средство" представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство в соответствии с изобретением представляет собой анти-HER2 антитело.

[0114]

Анти-HER2 антитело предпочтительно представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, включающую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 26-33 SEQ ID NO: 1, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 51-58 SEQ ID NO: 1, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 97-109 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, включающую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 27-32 SEQ ID NO: 2, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 50-52 SEQ ID NO: 2, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 89-97 SEQ ID NO: 2, и более предпочтительно антитело, включающее тяжелую цепь, включающую переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-120 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, включающую переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-107 SEQ ID NO: 2, и еще более предпочтительно

антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2; или антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

[0115]

Среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате анти-HER2 антитело-лекарственное средство предпочтительно составляет 2-8, более предпочтительно 3-8, еще более предпочтительно 7-8, еще более предпочтительно 7,5-8 и еще более предпочтительно около 8.

[0116]

Конъюгат анти-HER2 антитело-лекарственное средство можно получить, руководствуясь описанием в Международной публикации № WO 2015/115091 и т.д.

[0117]

В настоящем изобретении термин "конъюгат анти-HER3 антитело-лекарственное средство" относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство в соответствии с изобретением представляет собой анти-HER3 антитело.

[0118]

Анти-HER3 антитело предпочтительно представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, включающую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 26-35 SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 50-65 SEQ ID NO: 3, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 98-106 SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, включающую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 24-39 SEQ ID NO: 4, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 56-62 SEQ ID NO: 4, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 95-103 SEQ ID NO: 4;

более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, которая включает переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-117 SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, которая включает переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-113 SEQ ID NO: 4; и

еще более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4, или вариант антитела, в котором лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи

делетирован.

[0119]

Среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате анти-HER3 антитело-лекарственное средство предпочтительно составляет 2-8, более предпочтительно 3-8, еще более предпочтительно 7-8, еще более предпочтительно 7,5-8 и еще более предпочтительно около 8.

[0120]

Конъюгат анти-HER3 антитело-лекарственное средство можно получить, руководствуясь описанием в Международной публикации № WO 2015/155998 и т.д.

[0121]

В настоящем изобретении термин "конъюгат анти-TROP2 антитело-лекарственное средство" относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство в соответствии с изобретением представляет собой анти-TROP2 антитело.

[0122]

Анти-TROP2 антитело предпочтительно представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, включающую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 50-54 SEQ ID NO: 5, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 69-85 SEQ ID NO: 5, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 118-129 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, включающую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 44-54 SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 70-76 SEQ ID NO: 6, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 109-117 SEQ ID NO: 6;

более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, которая включает переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-140 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, которая включает переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-129 SEQ ID NO: 6; и

еще более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6, или вариант антитела, в котором лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи deletирован.

[0123]

Среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате анти-TROP2 антитело-лекарственное средство предпочтительно составляет 2-8, более предпочтительно 3-5, еще более предпочтительно

3,5-4,5, и еще более предпочтительно около 4.

[0124]

Конъюгат анти-TROP2 антитело-лекарственное средство можно получить, руководствуясь описанием в Международной публикации № WO 2015/098099 и т.д.

[0125]

В настоящем изобретении термин "конъюгат анти-B7-H3 антитело-лекарственное средство" относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство в соответствии с изобретением представляет собой анти-B7-H3 антитело.

[0126]

Анти-B7-H3 антитело предпочтительно представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, включающую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 50-54 SEQ ID NO: 7, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 69-85 SEQ ID NO: 7, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 118-130 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, включающую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 44-53 SEQ ID NO: 8, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 69-75 SEQ ID NO: 8, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 108-116 SEQ ID NO: 8;

более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, которая включает переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-141 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, которая включает переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-128 SEQ ID NO: 8; и

еще более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8, или вариант антитела, в котором лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи делегирован.

[0127]

Среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате анти-B7-H3 антитело-лекарственное средство предпочтительно составляет 2-8, более предпочтительно 3-5, еще более предпочтительно 3,5-4,5 и еще более предпочтительно около 4.

[0128]

Конъюгат анти-B7-H3 антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно получить, руководствуясь описанием в Международной публикации № WO 2014/057687 и т.д.

[0129]

В настоящем изобретении термин "конъюгат анти-GPR20 антитело-лекарственное средство" относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство в соответствии с изобретением представляет собой анти-GPR20 антитело.

[0130]

Анти-GPR20 антитело предпочтительно представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, включающую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 45-54 SEQ ID NO: 9, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 69-78 SEQ ID NO: 9, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 118-131 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, включающую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 44-54 SEQ ID NO: 10, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 70-76 SEQ ID NO: 10, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 109-117 SEQ ID NO: 10;

более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, которая включает переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-142 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, которая включает переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-129 SEQ ID NO: 10; и

еще более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10, или вариант антитела, в котором лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи делегирован.

[0131]

Среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате анти-GPR20 антитело-лекарственное средство предпочтительно составляет 2-8, более предпочтительно 3-8, еще более предпочтительно 7-8, еще более предпочтительно 7,5-8 и еще более предпочтительно около 8.

[0132]

Конъюгат анти-GPR20 антитело-лекарственное средство можно получить, руководствуясь описанием в Международной публикации № WO 2018/135501 и т.д.

[0133]

В настоящем изобретении термин "конъюгат анти-CDH6 антитело-лекарственное средство" относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство в соответствии с изобретением представляет собой анти-CDH6 антитело.

[0134]

Анти-CDH6 антитело предпочтительно представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, включающую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 45-54 SEQ ID NO: 11, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 69-78 SEQ ID NO: 11, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 118-130 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, включающую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 44-54 SEQ ID NO: 12, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 70-76 SEQ ID NO: 12, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 109-116 SEQ ID NO: 12;

более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, которая включает переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-141 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, которая включает переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-128 SEQ ID NO: 12; и

еще более предпочтительно, антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12, или вариант антитела, в котором лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи делегирован.

[0135]

Среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате анти-CDH6 антитело-лекарственное средство предпочтительно составляет 2-8, более предпочтительно 3-8, еще более предпочтительно 7-8, еще более предпочтительно 7,5-8 и еще более предпочтительно около 8.

[0136]

Конъюгат анти-CDH6 антитело-лекарственное средство можно получить, руководствуясь описанием в Международной публикации № WO 2018/212136 и т.д.

[0137]

4. Анти-SIRPα антитело

SIRPα (сигнальный регуляторный белок α) представляет собой одиночную трансмембранную молекулу, принадлежащую к суперсемейству Ig, присутствующую в миелоидных клетках, таких как макрофаги, дендритные клетки и нейтрофилы, а также в глиальных клетках. Его внеклеточная область состоит из одного домена IgV и двух доменов IgC. Сообщается, что домен IgV, в котором присутствует положение связывания с CD47, имеет 10 вариантов V1-V10 у человека. Внеклеточный домен IgV белка SIRPα является одним из трех внеклеточных Ig-подобных доменов, составляющих белок SIRPα. Из этих доменов V1 и V2 являются основными вариантами. Анти-SIRPα антитело по настоящему

изобретению связывается со всеми вариантами, включая основные варианты V1 и V2. В настоящем изобретении "SIRP α " иногда будет указан как "SIRPA".

[0138]

Аминокислотная последовательность человеческого белка SIRP α раскрыта в GenBank Accession No.: NP_001035111.

[0139]

Анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, можно получить таким же способом, как описано в "2. Антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство".

[0140]

Моноклональное антитело, используемое в настоящем изобретении, можно получить путем иммунизации млекопитающего, такого как мышь, крыса, кролик, хомяк, морская свинка, лошадь, обезьяна, собака, свинья, корова, коза или овца, SIRP α или его фрагментом, используемым в качестве иммуногена, слияния клеток селезенки и клеток миеломы с получением гибридомы и обеспечения возможности, чтобы гибридома продуцировала и секретировала антитело. Гибридома может быть получена способом, известным в данной области.

[0141]

SIRP α , служащий в качестве иммуногена, может быть химически синтезирован на основании информации о последовательности, или может быть получен в виде рекомбинантного белка, который получают на основании последовательности ДНК, кодирующей белок, и в соответствии со способом, известным в данной области.

[0142]

Антитело можно скринировать любым способом; предпочтительно методом Cell-ELISA с использованием клеток животного, трансфицированных ДНК, кодирующей SIRP α .

[0143]

Анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, ингибирует связывание между SIRP α и CD47.

[0144]

Опухолевые клетки экспрессируют высокие уровни CD47. Когда SIRP α , экспрессируемый на фагоцитах, обладающих фагоцитарной активностью, связывается с CD47 и они взаимодействуют, на фагоциты передается сигнал "не ешь меня". Таким образом, опухолевые клетки избегают фагоцитоза фагоцитами. Анти-SIRP α антитело ингибирует связывание между SIRP α и CD47, тем самым ингибируя передачу сигнала "не ешь меня" от опухолевых клеток к фагоцитам, усиливая таким образом фагоцитоз для поглощения фагоцитами опухолевых клеток. В результате может проявляться противоопухолевый эффект. Примеры фагоцитов, обладающих фагоцитарной активностью, включают макрофаги, такие как макрофаги M1 и M2, и дендритные клетки, такие как незрелые дендритные клетки (imDC).

[0145]

В этом случае, когда анти-SIRP α антитело, обладающее эффекторной функцией, связывается с Fc-рецептором, таким как Fc γ рецепторы эффекторных клеток, таких как фагоциты (например, макрофаги), природные киллерные клетки и Т-клетки, анти-SIRP α антитело атакует аутологичные эффекторные клетки, такие как РВМС (мононуклеарные клетки периферической крови) и макрофаги, благодаря ADCC (антитело-зависимой клеточной цитотоксичности) и ADCP (антитело-зависимому клеточному фагоцитозу).

[0146]

Во избежание атаки на аутологичные клетки эффекторная функция анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, снижена. В результате анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, выполняет только функцию подавления связывания между SIRP α и CD47 и не связывается с Fc-рецептором эффекторных клеток; то есть эффекторная функция не проявляется.

[0147]

Анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, поскольку оно не атакует аутологичные иммунные клетки, может безопасно применяться в качестве лекарственного средства, не имеющего побочных эффектов.

[0148]

Однако анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, поскольку его эффекторная функция снижена, не оказывает достаточного противоопухолевого действия, если его применяют отдельно. Таким образом, анти-SIRP α антитело используется в комбинации с другим противоопухолевым средством.

[0149]

Для снижения эффекторной функции необходимо, чтобы Fc-часть анти-SIRP α антитела не связывалась с Fc-рецепторами макрофагов и Т-клеток. По этой причине подкласс анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, заменен подклассом, полученным из IgG4. Как правило, среди подклассов IgG человека IgG4 известен как подкласс с низкой эффекторной функцией, такой как ADCC активность, CDC активность и/или ADCP активность (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361, 1987). IgG4 используется в качестве одного из форматов IgG для предотвращения токсичности из-за повреждения клеток посредством эффекторной функции, когда терапевтическое антитело используется для нацеливания на молекулу, экспрессируемую в здоровом органе (например, Opdivo). Следует заметить, что эффекторная функция подкласса IgG4 низкая, но не нулевая. Затем в анти-SIRP α антителе, используемом в настоящем изобретении, мутацию, например мутацию, которая может дополнительно снижать эффекторную функцию, более конкретно, мутацию, такую как замена по меньшей мере одной аминокислотой для снижения ADCC и/или ADCP активности, вводят в константную область тяжелой цепи. Примеры такой мутации включают замену фенилаланина на аланин в положении 234 (F234A) в соответствии с EU-индексом по Kabat et al. (Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 1991 Fifth edition), и замену лейцина аланином в положении 235 (L235A) (Parekh et al., mAbs, 310-318, 2012). Такая мутация

антитела называется FALA мутацией.

[0150]

В IgG4 связь S-S между тяжелыми цепями антител не образуется стабильно. Для повышения стабильности вводят мутацию, стимулирующую S-S связь между тяжелыми цепями антитела. Примеры мутации включают замену серина пролином в положении 228 (S228P) в соответствии с EU-индексом по Kabat et al. (ANGAL et.al., *Molecular Immunology*, 105-108, 1993). Эта мутация антитела называется PRO мутацией.

[0151]

В константную область анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, могут быть одновременно введены вышеуказанная FALA мутация и PRO мутация (Vafa et.al., *Methods*, 65, 114-126, 2014). Тяжелая цепь IgG4, имеющая как FALA мутацию, так и Pro мутацию, обозначается как тяжелая цепь "IgG4proFALA", тяжелая цепь "IgG4PFALA" или тяжелая цепь "IgG4pf".

[0152]

Среди подклассов IgG человека IgG1 человека обладает очень сильной эффекторной функцией, такой как CDC активность посредством связывания комплемента и антителозависимая клеточная цитотоксическая активность (Bruggemann et al., *J. Exp. Med.*, 1351-1361, 1987), и используется в качестве формата IgG, проявляющего терапевтический эффект, способствуя гибели раковых клеток из-за повреждения клеток посредством эффекторной функции, когда терапевтическое антитело используется для нацеливания на молекулу, экспрессирующуюся на высоком уровне при раке (например, трастузумаб, ритуксимаб). При использовании IgG1 в качестве изотипа анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, эффекторную функцию можно контролировать путем замены части аминокислотных остатков константной области (см. WO 88/007089, WO 94/28027, WO 94/29351). Примеры IgG1 мутантов с ослабленной эффекторной функцией включают IgG1 LALA (IgG1-L234A, L235A) и IgG1 LAGA (IgG1-L235A, G237A). В качестве константной области анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, может использоваться константная область тяжелой цепи IgG1, имеющая эти введенные в нее мутации.

[0153]

Среди подклассов IgG человека человеческий IgG2 обладает очень слабой эффекторной функцией, такой как CDC активность посредством связывания комплемента и антителозависимая клеточная цитотоксическая активность (Bruggemann et al., *J. Exp. Med.*, 1351-1361, 1987), и используется в качестве одного из форматов IgG для предотвращения токсичности из-за повреждения клеток за счет эффекторной функции, когда терапевтическое антитело используется для нацеливания на молекулу, экспрессируемую в здоровом органе (например, деносумаб, эволокумаб, бродалумаб). В качестве константной области анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, можно использовать константную область тяжелой цепи IgG2.

[0154]

В анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, также включены модифицированные варианты антитела. Модифицированный вариант относится к варианту, полученному путем химической или биологической модификации анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении. Примеры химически модифицированного варианта включают варианты, имеющие связь химического фрагмента с аминокислотным скелетом, и варианты, имеющие связь химического фрагмента с N-связанной или O-связанной углеводной цепью. Примеры биологически модифицированного варианта включают варианты, полученные путем посттрансляционной модификации (такой как N-связанное или O-связанное гликозилирование, N- или C-концевой процессинг, деаμιдирование, изомеризация аспарагиновой кислоты или окисление метионина), и варианты, в которых метиониновый остаток добавлен к N-концу путем экспрессии с использованием прокариотической клетки-хозяина. Кроме того, антитело, меченное таким образом, чтобы обеспечить возможность детекции или выделения анти-SIRP α антитела или антигена, используемых в настоящем изобретении, например меченное ферментом антитело, флуоресцентно-меченое антитело и аффинно-меченое антитело, также входит в значение модифицированного варианта. Такой модифицированный вариант анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, полезен, например, для улучшения стабильности и удерживания в крови антитела, снижения его антигенности и для детекции или выделения антитела или антигена.

[0155]

Следует отметить, что известно, что лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, продуцируемого в культивируемой клетке млекопитающего, делетирован (*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134 (1995)). Также известно, что два аминокислотных остатка (глицин и лизин) на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, продуцируемого в культивируемой клетке млекопитающего, делетированы, а новый появившийся пролиновый остаток на карбоксильном конце амидирован (*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83 (2007)). Однако такая делеция и модификация последовательности тяжелой цепи не влияют на аффинность связывания антигена и эффекторную функцию (например, активацию комплемента, антителозависимую клеточную цитотоксичность) антитела. Следовательно, в анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, также включены антитела, подвергнутые такой модификации, и их функциональные фрагменты, а также делеционные варианты, в которых одна или две аминокислоты делетированы на карбоксильном конце тяжелой цепи, делеционные варианты, имеющие амидированный остаток (например, тяжелая цепь, в которой амидирован пролиновый остаток на карбоксильном конце). Следует отметить, что тип делеционного варианта, имеющего делецию на карбоксильном конце тяжелой цепи анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, не ограничивается вышеуказанными вариантами при условии, что аффинность связывания антигена и эффекторная функция сохраняются. Две тяжелые цепи, составляющие анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, могут быть выбраны из группы, состоящей из полноразмерной тяжелой цепи

и описанной выше тяжелой цепи, имеющей делецию, или могут быть двух выбранных из них типов в комбинации. На соотношение количества каждого делеционного варианта может влиять тип культивируемых клеток млекопитающих, которые продуцируют анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, и условия культивирования; однако предпочтительным примером может служить антитело, в котором делетирован один аминокислотный остаток на карбоксильном конце в обеих из двух тяжелых цепей анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении.

[0156]

Анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, включает химерное антитело, модифицированное для снижения гетерогенной антигенности для человека, и гуманизированное антитело. Гуманизированное антитело также указано как CDR-трансплантированное антитело.

[0157]

Химерное антитело относится к антителу, состоящему из вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи антитела отличного от человека животного, и константной области легкой цепи и константной области тяжелой цепи человеческого антитела. Химерное антитело можно получить путем выделения кДНК, кодирующей вариабельную область легкой цепи, и кДНК, кодирующей вариабельную область тяжелой цепи, из гибридомы, продуцирующей анти-SIRP α антитело, и встраивания этих кДНК в вектор экспрессии, содержащий кДНК, кодирующую константную область легкой цепи и константную область тяжелой цепи человеческого антитела, для конструирования вектора экспрессии химерного антитела, введения вектора экспрессии химерного антитела в клетки-хозяева и обеспечения экспрессии антитела.

[0158]

Константная область тяжелой цепи образуется из трех доменов C_H1, C_H2 и C_H3. В анти-SIRP α антителе, используемом в настоящем изобретении, человеческая константная область тяжелой цепи химерного антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG4-подкласса, имеющую Pro мутацию и FALA мутацию, т.е. константную область тяжелой цепи IgG4proFALA. Константная область легкой цепи может быть подходящей, если она относится к Ig человека, и представляет собой константную область к или λ .

[0159]

Примеры химерного антитела, анти-SIRP α антитела, используемого в настоящем изобретении, включают химерное антитело, описанное в Патентной литературе 4 (Международная публикация № WO 2020/013170), имеющее вариабельную область крысиного моноклонального антитела D13 к человеческому SIRP α , т.е. антитела cD13. Антитело cD13 представляет собой антитело, обладающее высокой связывающей активностью для связывания с человеческим SIRP α и обладающее высокой ингибиторной активностью против связывания между SIRP α и CD47.

[0160]

Антитело сD13 включает, в качестве CDR (определяющих комплементарность областей) вариабельной области легкой цепи, CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности (GASKSVRTYMH), представленной SEQ ID NO: 21, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности (SASNLEA), представленной SEQ ID NO: 22, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности (QQSNEPPYT), представленной SEQ ID NO: 23, и кроме того, в качестве CDR вариабельной области тяжелой цепи, CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности (GFTFSDYGMI), представленной SEQ ID NO: 18, и CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности (SISSSSSYIY), представленной SEQ ID NO: 19, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности (RYYGFNYPFDY), представленной SEQ ID NO: 20 (Фиг. 18).

[0161]

Более конкретно, анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, представляет собой антитело, включающее CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 21, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 22, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 23, и, в качестве CDR вариабельной области тяжелой цепи, CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 18, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 19, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 20.

[0162]

Указанные выше CDR включают CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей, имеющих делецию, замену и/или добавление одной или нескольких аминокислот, предпочтительно одной или двух аминокислот, и более предпочтительно одной аминокислоты в каждой из аминокислотных последовательностей CDR.

[0163]

Гуманизированное антитело (антитело с трансплантированными CDR) относится к антителу, полученному путем трансплантации аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи антитела животного, отличного от человека, в соответствующие положения вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи человеческого антитела.

[0164]

Гуманизированное анти-SIRP α антитело по настоящему изобретению может быть получено путем конструирования кДНК, кодирующей вариабельные области, которые получают трансплантацией аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи антитела отличного от человека животного, полученного из гибридомы, продуцирующей моноклональное антитело, связывающееся с SIRP α человека для ингибирования связывания между SIRP α и CD47, тем самым усиливая фагоцитоз макрофагов, в каркасные (FR) области вариабельной области

легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи человеческого антитела; встраивания кДНК в вектор экспрессии клетки животного, содержащий гены, кодирующие константную область легкой цепи и константную область тяжелой цепи человеческого антитела, для конструирования вектора экспрессии гуманизированного антитела; введения вектора в клетки животных; и экспрессии кДНК.

[0165]

Более конкретно, может быть синтезирована последовательность ДНК, сконструированная таким образом, чтобы CDR антитела сD13 были связаны с каркасными областями человеческого антитела. Каркасные области человеческого антитела, которые должны быть связаны через CDR, выбирают таким образом, чтобы CDR образовывали соответствующие положения связывания антигена. При необходимости, аминокислота каркасной области в вариабельной области антитела может быть заменена таким образом, чтобы CDR гуманизированного антитела образовывали соответствующее положение связывания антигена. Гуманизированное антитело можно получить путем трансплантации CDR-областей в соответствии с методом CDR-прививки, известным в данной области.

[0166]

В качестве примера тяжелой цепи гуманизированного антитела, имеющего CDR (6 CDR, образованных из аминокислот, представленных SEQ ID NO: 18-23) вариабельных областей тяжелой цепи и легкой цепи антитела сD13, которое получено в соответствии с описанным выше способом и имеет замену части аминокислот в каркасных областях вариабельной области, можно указать тяжелую цепь гуманизированного антитела hH1 и тяжелую цепь гуманизированного антитела hH2, описанные в Патентной литературе 4 (Международная публикация № WO 2020/013170). В качестве примера легкой цепи гуманизированного антитела, имеющего CDR вариабельной области легкой цепи антитела D13 и имеющего замену части аминокислот в каркасных областях вариабельной области, можно указать легкую цепь гуманизированного антитела hL2, легкую цепь гуманизированного антитела hL3 и легкую цепь гуманизированного антитела hL4, описанные в Патентной литературе 4 (Международная публикация № WO 2020/013170).

[0167]

Полноразмерная аминокислотная последовательность тяжелой цепи hH1 гуманизированного антитела представлена SEQ ID NO: 13. Полноразмерная аминокислотная последовательность тяжелой цепи hH2 гуманизированного антитела представлена SEQ ID NO: 14. В SEQ ID NO: 13 и 14 аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков с 1-го по 19-й, представляет собой аминокислотную последовательность сигнальной последовательности; аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков с 20-го по 139-й, представляет собой аминокислотную последовательность вариабельной области; и аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков с 140-го по 466-й, представляет собой аминокислотную последовательность константной области.

[0168]

Анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, включает антитело, имеющее переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 139-й SEQ ID NO: 13 или 14, и константную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотных остатков с 140-го по 466-й такой последовательности.

[0169]

Полноразмерная аминокислотная последовательность легкой цепи hL2 гуманизированного антитела представлена SEQ ID NO: 15. Полноразмерная аминокислотная последовательность легкой цепи hL3 гуманизированного антитела представлена SEQ ID NO: 16. Полноразмерная аминокислотная последовательность легкой цепи hL4 гуманизированного антитела представлена SEQ ID NO: 17. В SEQ ID NO: 15, 16 и 17 аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков с 1-го по 20-й, представляет собой аминокислотную последовательность сигнальной последовательности; аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков с 21-го по 127-й, представляет собой аминокислотную последовательность переменной области; и аминокислотная последовательность, состоящая из аминокислотных остатков с 128-го по 234-й, представляет собой аминокислотную последовательность константной области.

[0170]

Анти-SIRP α антитело, используемое в настоящем изобретении, включает антитело, имеющие переменные области легких цепей, состоящие из аминокислотных остатков с 21-го по 127-й SEQ ID NO: 15, 16 и 17, и константные области легких цепей, состоящие из аминокислотных остатков с 128-го по 234-й этих последовательностей.

[0171]

Константная область тяжелой цепи гуманизированного антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG4- подкласса, более конкретно, константную область тяжелой цепи IgG4proFALA, имеющего Pro мутацию и FALA мутацию.

[0172]

Примеры антитела, обладающего высокой активностью связывания с человеческим SIRP α и высокой ингибиторной активностью против связывания между SIRP α и CD47, включают антитело, состоящее из тяжелой цепи hH1 гуманизированного антитела и легкой цепи hL3 гуманизированного антитела (hD13_H1L3 антитело); антитело, состоящее из тяжелой цепи hH1 гуманизированного антитела и легкой цепи hL4 гуманизированного антитела (hD13_H1L4 антитело); антитело, состоящее из тяжелой цепи hH2 гуманизированного антитела и легкой цепи hL2 гуманизированного антитела (hD13_H2L2 антитело); и антитело, состоящее из тяжелой цепи hH2 гуманизированного антитела и легкой цепи hL3 гуманизированного антитела (hD13_H2L3 антитело).

[0173]

hD13_H1L3 антитело представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 466-й SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 234-й SEQ ID NO: 16.

[0174]

hD13_H1L4 антитело представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 466-й SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 234-й SEQ ID NO: 17.

[0175]

hD13_H2L2 антитело представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 466-й SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 234-й SEQ ID NO: 15.

[0176]

hD13_H2L3 антитело представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 466-й SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 234-й SEQ ID NO: 16.

[0177]

В качестве примера других анти-SIRP α антител, используемых в настоящем изобретении, можно указать антитела, описанные в Патентной литературе 1-3.

[0178]

В качестве примера одного из антител, описанных в Патентной литературе 1 (Международная публикация № WO 2017/178653), можно указать OSE-172. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи OSE-172 показана в SEQ ID NO: 24 перечня последовательностей; тогда как аминокислотная последовательность легкой цепи OSE-172 показана в SEQ ID NO: 25. OSE-172 представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 466-й SEQ ID NO: 24, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 239-й SEQ ID NO: 25.

[0179]

В качестве примера одного из антител, описанных в Патентной литературе 2 (Международная публикация № WO 2018/026600), можно указать KWAR23. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи KWAR23 показана в SEQ ID NO: 26; тогда как аминокислотная последовательность легкой цепи KWAR23 показана в SEQ ID NO: 27. KWAR23 представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 459-й SEQ ID NO: 26, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 235-й SEQ ID NO: 27.

[0180]

В качестве примера одного из антител, описанных в Патентной литературе 3 (Международная публикация № WO 2018/190719), можно указать ADU-1805. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи ADU-1805 показана в SEQ ID NO: 28; тогда как аминокислотная последовательность легкой цепи ADU-1805 показана в SEQ ID NO: 29. ADU-1805 представляет собой антитело, имеющее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 20-го по 467-й SEQ ID NO: 28, и легкую цепь, состоящую из аминокислотных остатков с 21-го по 234-й SEQ ID NO: 29.

[0181]

Следует отметить, что известно, что в антителе, продуцируемом в культивируемой клетке млекопитающего, лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи делегирован (Tsubaki et.al., *Int. J. Biol. Macromol.*, 139-147, 2013). Однако делеция в последовательности тяжелой цепи не влияет на аффинность связывания антигена и эффекторную функцию (например, на активацию комплемента и антителозависимую клеточную цитотоксичность) антитела. Таким образом, в настоящее изобретение включено антитело не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

[0182]

Противораковое терапевтическое средство, используемое в настоящем изобретении, может содержать терапевтически эффективное количество анти-SIRP α антитела и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, солюбилизатор, эмульгатор, консервант, вспомогательный агент и др. «Фармацевтически приемлемый носитель» и т.п. могут быть подходящим образом выбраны из широкого диапазона в соответствии с типом целевого заболевания и лекарственной формой лекарственного средства. Можно соответствующим образом выбрать способ введения противоопухолевого средства по настоящему изобретению, например, можно выбрать введение путем инъекции. Примеры инъекций, которые можно использовать, включают местную инъекцию, интраперитонеальную инъекцию, селективную внутривенную инъекцию, внутривенную инъекцию, подкожную инъекцию и инъекцию жидкости для перфузии органа. Раствор для инъекций можно получить с использованием носителя, состоящего из солевого раствора, раствора глюкозы или смеси солевого раствора и раствора глюкозы и различных буферов. Альтернативно, раствор для инъекций можно приготовить путем получения порошкообразного препарата и смешивания порошкообразного препарата с указанным выше жидким носителем, когда он используется.

[0183]

Другие способы введения могут быть соответствующим образом выбраны вместе с разработкой композиций. Например, для перорального введения могут применяться пероральные жидкости, порошки, пилюли, капсулы и таблетки. В случае пероральной жидкости, пероральный жидкий препарат, такой как суспензия и сироп, может быть получен с использованием воды; сахара, такого как сахароза, сорбит и фруктоза; гликоля, такого как полиэтиленгликоль; масла, такого как кунжутное масло и соевое масло; консерванта, такого как алкилпарагидроксибензоат; и ароматизатора, такого как клубничный ароматизатор и ароматизатор “мята перечная”. Порошки, пилюли, капсулы и таблетки могут быть получены с использованием, например, эксципиента, такого как лактоза, глюкоза, сахароза и маннит; разрыхлителя, такого как крахмал и альгинат натрия; смазывающего вещества, такого как стеарат магния и тальк; связующего, такого как поливиниловый спирт, гидроксипропилцеллюлоза и желатин; поверхностно-активного вещества, такого как сложный эфир жирной кислоты; и пластификатора, такого как глицерин. Таблетки и капсулы легко вводить. В этом отношении они являются предпочтительными стандартными лекарственными формами композиции по

изобретению. При производстве таблеток и капсул используется твердый стандартный носитель.

[0184]

5. Взаимосвязь между иммуногенной клеточной гибелью и анти-SIRP α антителом

Иммуногенная клеточная гибель (ICD) представляет собой клеточную гибель, характеризующуюся массивным высвобождением внутриклеточных молекул, таких как АТФ и HMGB1 (белок группы box1 высокой подвижности), и экспозицией кальретикулина (CRT) на клеточной поверхности. Это сигналы опасности, которые активируют иммунные клетки. Сообщается, что АТФ отвечает за привлечение и активацию дендритных клеток (DC) и макрофагов; HMGB1 отвечает за усиление продукции воспалительных цитокинов, таких как IFN типа I; а CRT служит сигналом «съешь меня» и усиливает поглощение антигена из мертвых клеток (Nature Reviews Immunology. 2017, 17, 97-111). Вкратце, когда происходит ICD раковых клеток, может быть индуцирован иммунитет (противоопухолевый иммунитет) против раковых клеток. В качестве противоракового агента, индуцирующего ICD, например, известны антрациклиновый препарат, оксалиплатин и циклофосфамид; однако, например, не подтверждено, что доцетаксел и митомицин C индуцируют ICD. Присутствие или отсутствие эффекта ICD можно оценить не только *in vitro* на основании того, выявляется или нет сигнал опасности при добавлении агента, но и *in vivo* на основании анализа вакцинации. В последнем случае раковые клетки обрабатывают агентом и инокулируют иммунокомпетентной мыши. Через неделю раковые клетки, не обработанные агентом, инокулируют на противоположной стороне. В это время, если иммунологическая память уже сформирована раковыми клетками, которые вызвали ICD, приживление и пролиферация привитых раковых клеток ингибируется (Cancer Research, 2017, 77, 2686-2698).

[0185]

Для формирования иммунологической памяти посредством ICD важно, чтобы миелоидные клетки, такие как дендритные клетки и макрофаги, поглощали раковый антиген. В этот момент, как предполагается, сигнал «не ешь меня» передается между миелоидными клетками и раковыми клетками посредством SIRP α -CD47. Если вводят анти-SIRP α антитело, передача сигнала может подавляться, а фагоцитоз усиливается. В результате поглощение ракового антигена может быть усилено. Раковый антиген, поглощаемый дендритными клетками и/или макрофагами, внутриклеточно процессируется в 8-30-мерные пептидные фрагменты, которые презентуются на МНС. МНС имеет два класса: класс I и класс II. Примерно 9-мерный антигенный пептид, презентуемый МНС класса I, активирует CD8⁺ Т-клетки; тогда как примерно 15-мерный антигенный пептид, презентуемый МНС класса II, активирует CD4⁺Т. Как правило, чужеродный антиген процессируется в миелоидных клетках и презентуется МНС класса II; однако часть субпопуляций DC презентует чужеродный антиген МНС класса I и активирует CD8⁺Т, оказывая цитотоксическое действие на раковые клетки; иными словами, часть субпопуляций DC обладает способностью к перекрестной презентации.

DC имеет субпопуляции cDC1 и cDC2. cDC1 отрицательна в отношении SIRP α и обладает способностью к перекрестной презентации; тогда как cDC2 положительна в отношении SIRP α и не обладает способностью к перекрестной презентации. Недавно на научном семинаре сообщалось, что в противоопухолевом исследовании с использованием мышинной сингенной модели количество субпопуляций cDC1 увеличивается при введении анти-SIRP α антитела, и что способность к перекрестной презентации CD8+Т-клеткам усиливается при добавления анти-SIRP α антитела в систему совместного культивирования раковых клеток с DC и Т-клетками. Исходя из вышеизложенного, введение анти-SIRP α антитела не только способствует фагоцитозу раковых клеток и поглощению ракового антигена, но также усиливает способность к перекрестной презентации, в результате чего может повышаться индукция CD8+Т-клеток, играющих ключевую роль в противоопухолевом иммунитете.

[0186]

О взаимосвязи конъюгата антитело-лекарственное средство, в который интегрировано лекарственное средство, обладающее цитотоксической активностью, и индукции ICD, сообщалось ранее в связи с конъюгатами антитело-лекарственное средство, содержащими тубулизин, пирролобензодиазепин (PBD) и MMAE, интегрированный в них (Cancer Research, 2017, 77, 2686-2698 или ONCOIMMUNOLOGY, 2019, 8(4), e1565859). Что касается конъюгата антитело-лекарственное средство, используемого в настоящем изобретении, содержащего ингибитор ТроI, соединение (A), в качестве полезной нагрузки, сообщалось только о том, что HMGB1 высвобождается из клеток, обработанных соединением (A), и проявляется ограниченный противоопухолевый эффект, вызванный вакцинацией обработанных клеток (Clin. Invest. 2020: 130(1): 374-388). На этот раз обнаружено следующее: 1) соединение (A) индуцирует высвобождение не только HMGB1, но и других сигналов опасности от погибающих раковых клеток; 2) соединение (A) активирует иммунные клетки, присутствующие в микроокружении рака, и усиливает популяцию специфических к оаковому антигену Т-клеток для индукции противоопухолевого иммунитета; и 3) иммунный ответ, индуцируемый соединением (A), усиливается анти-SIRP α антителом.

[0187]

6. Лечение

Далее будут описаны фармацевтическая композиция и способ лечения в соответствии с настоящим изобретением, где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело вводят в комбинации.

[0188]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут быть такими, в которых конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время, или могут быть такими, в которых конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся в качестве активных

компонентов и вводятся в одной композиции.

[0189]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут использоваться для лечения рака, предпочтительно для лечения по меньшей мере одного заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка (также называемого аденокарциномой желудка), колоректального рака (также называемого раком толстой и прямой кишки и включающего рак толстой кишки и рак прямой кишки), рака легких (включая мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого), рака пищевода, рака головы и шеи (включая рак слюнных желез и рак глотки), аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчных путей (включая рак желчных протоков), рака желчного пузыря, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичников, карциномы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, рака эндометрия, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака полового члена, лейкоза, лимфомы, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, миелодиспластического синдрома, опухоли головного мозга, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы и меланомы; более предпочтительно для лечения по меньшей мере одного ракового заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы и карциномы матки; и еще более предпочтительно для лечения по меньшей мере одного ракового заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, рака легкого и рака яичника.

[0190]

Среди конъюгатов антитело-лекарственное средство, используемых в настоящем изобретении, тип антитела, предпочтительно используемый в конъюгате антитело-лекарственное средство, можно определить путем исследования типа рака и опухолевых маркеров. Например, если при раке обнаружена экспрессия HER2, предпочтительно можно использовать конъюгат анти-HER2 антитело-лекарственное средство; если при раке обнаружена экспрессия HER3, предпочтительно можно использовать конъюгат анти-HER3 антитело-лекарственное средство; если при раке обнаружена экспрессия TROP2, предпочтительно можно использовать конъюгат анти-TROP2 антитело-лекарственное средство; если при раке обнаружена экспрессия B7-H3, предпочтительно можно использовать конъюгат анти-B7-H3 антитело-лекарственное средство; если при раке обнаружена экспрессия GPR20, предпочтительно можно использовать конъюгат анти-GPR20 антитело-лекарственное средство; если при раке обнаружена экспрессия CDH6, предпочтительно можно использовать конъюгат анти-CDH6 антитело-лекарственное средство.

[0191]

Присутствие или отсутствие HER2, HER3, TROP2, B7-H3, GPR20 и CDH6, а также других опухолевых маркеров можно проверить, например, путем сбора опухолевой ткани у онкологического больного и исследования фиксированного формалином и залитого парафином (FFPE) образца на уровень продукта гена (белка), например, методом иммуногистохимии (ИHC), проточной цитометрии или вестерн-блоттинга, или исследования на уровень трансляции генов, например, методом гибридизации *in situ* (ISH), методом количественной ПЦР (к-ПЦР) или анализом на микрочипах, или, в качестве альтернативы, также можно проверить путем сбора бесклеточной циркулирующей в крови опухолевой ДНК (цДНК) у больного раком и подвергнуть ее исследованию, в котором используется такой метод, как секвенирование следующего поколения (NGS).

[0192]

Фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению предпочтительно можно применять для млекопитающих, и более предпочтительно можно применять для человека.

[0193]

Противоопухолевый эффект фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению можно подтвердить, например, путем создания модели, в которой раковые клетки инокулируют подопытному животному, и измерения уменьшения объема опухоли, эффектов продления жизни вследствие применения фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению. Кроме того, сравнение с противоопухолевым эффектом отдельного введения каждого из конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела, используемых в настоящем изобретении, может обеспечить подтверждение комбинированного эффекта конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела, используемых в настоящем изобретении.

[0194]

Кроме того, противоопухолевый эффект фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению может быть подтвержден в клиническом исследовании с использованием метода оценки, такого как критерии оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), метод оценки ВОЗ, метод оценки Макдональда, измерение массы тела и другие методы; и может определяться на основании таких показателей, как полный ответ (CR), частичный ответ (PR), прогрессирование заболевания (PD), частота объективного ответа (ORR), продолжительность ответа (DoR), выживаемость без прогрессирования (PFS) и общая выживаемость (OS).

[0195]

Вышеуказанные способы могут обеспечить подтверждение превосходства в том, что касается противоопухолевого эффекта фармацевтической композиции и способа лечения по настоящему изобретению по сравнению с существующими фармацевтическими композициями и способами лечения рака.

[0196]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут замедлять рост раковых клеток, подавлять их пролиферацию и, кроме того, могут убивать раковые клетки. Эти эффекты могут позволить больным раком избавиться от симптомов, вызванных раком, или достичь улучшения качества жизни больных раком и достичь терапевтического эффекта за счет поддержания жизни больных раком. Даже если фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению не обеспечивают уничтожения раковых клеток, они могут обеспечить более высокое качество жизни раковых больных при достижении более длительного выживания за счет ингибирования или контроля роста раковых клеток.

[0197]

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может проявлять терапевтический эффект при применении в качестве системной терапии у пациентов и, кроме того, при местном нанесении на раковые ткани.

[0198]

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один фармацевтически подходящий ингредиент. Фармацевтически подходящий ингредиент можно соответствующим образом выбрать и применять из добавок для составления композиций или т.п., которые обычно используются в данной области техники, с учетом дозировки, вводимой концентрации или т.п. конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела, используемых в настоящем изобретении. Например, конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно вводить в виде фармацевтической композиции, содержащей буфер, такой как гистидиновый буфер, эксципиент, такой как сахароза или трегалоза, и поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 80 или 20. Фармацевтическую композицию, содержащую конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, предпочтительно можно применять в виде инъекции, более предпочтительно можно применять в виде водной инъекции или лиофилизированной инъекции, и еще более предпочтительно можно применять в виде лиофилизированной инъекции.

[0199]

В случае, когда фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой водную инъекцию, ее предпочтительно можно разбавить подходящим разбавителем и затем ввести в виде внутривенной инфузии. В качестве примера разбавителя можно указать раствор декстрозы, физиологический раствор и т.п., и предпочтительно можно указать раствор декстрозы, а более предпочтительно можно указать 5% раствор декстрозы.

[0200]

В случае, если фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой лиофилизированную инъекцию, ее предпочтительно можно растворить в воде для

инъекций, затем необходимое количество можно разбавить подходящим разбавителем и затем вводить в виде внутривенной инфузии. В качестве примера разбавителя можно указать раствор декстрозы, физиологический раствор и т.п., и предпочтительно можно указать раствор декстрозы, а более предпочтительно можно указать 5% раствор декстрозы.

[0201]

Примеры пути введения, который можно использовать для введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают внутривенный, внутрикожный, подкожный, внутримышечный и интраперитонеальный пути; и предпочтительно включают внутривенный путь.

[0202]

Конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно вводить человеку с интервалом 1-180 дней, и предпочтительно можно вводить раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели или раз в 4 недели, и еще более предпочтительно можно вводить раз в 3 недели. Также, конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, можно вводить в дозе около 0,001-100 мг/кг и предпочтительно можно вводить в дозе 0,8-12,4 мг/кг. В случае, если конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой конъюгат анти-HER2 антитело-лекарственное средство, его предпочтительно можно вводить раз в 3 недели в дозе 0,8 мг/кг, 1,6 мг/кг, 3,2 мг/кг, 5,4 мг/кг, 6,4 мг/кг, 7,4 мг/кг или 8 мг/кг. В случае, если конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой конъюгат анти-HER3 антитело-лекарственное средство, его предпочтительно можно вводить раз в 3 недели в дозе 1,6 мг/кг, 3,2 мг/кг, 4,8 мг/кг, 5,6 мг/кг, 6,4 мг/кг, 8,0 мг/кг, 9,6 мг/кг или 12,8 мг/кг. В случае, если конъюгат антитело-лекарственное средство, используемый в настоящем изобретении, представляет собой конъюгат анти-TROP2 антитело-лекарственное средство, его предпочтительно можно вводить раз в 3 недели в дозе 0,27 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг, 6,0 мг/кг, 8,0 мг/кг или 10,0 мг/кг. Анти-SIRP α антитело в соответствии с настоящим изобретением можно вводить человеку с интервалом 1-180 дней, и предпочтительно можно вводить раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели или раз в 4 недели. Также анти-SIRP α антитело в соответствии с настоящим изобретением можно вводить в дозе около 0,001-100 мг/кг на дозу.

[0203]

Фармацевтическая композиция и способ лечения по настоящему изобретению могут дополнительно включать противораковое терапевтическое средство, отличное от конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела по настоящему изобретению. Фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению также можно применять в комбинации с другим противораковым терапевтическим средством, усиливая тем самым противоопухолевый эффект. Другие противораковые терапевтические средства, используемые для такой цели, можно вводить субъекту одновременно, отдельно или последовательно с фармацевтической композицией

по настоящему изобретению, или их можно вводить с варьированием интервала между введением каждого из этих средств. Такие противораковые терапевтические средства не ограничиваются при условии, что они являются средствами, обладающими противоопухолевой активностью, и могут быть представлены по меньшей мере одним, выбранным из группы, состоящей из иринотекана (СРТ-11), цисплатина, карбоплатина, оксалиплатина, фторурацила (5-FU), гемцитабина, капецитабина, доксорубицина, эпирубицина, циклофосамида, митомицина С, комбинации тегафур-гимерацил-отарацил, панитумумаба, бевацизумаба, рамуцирумаба, регорафениба, комбинации трифлуридин-типирацил, гифитиниба, эрлотиниба, афатиниба, метотрексата, пеметрекседа, тамоксифена, торемифена, фулвестранта, лейпрорелина, гозерелина, летрозоло, анастрозоло, препарата прогестерона и лапатиниба.

[0204]

В фармацевтической композиции и способе лечения по настоящему изобретению могут дополнительно содержаться ингибиторы контрольных точек иммунного ответа и лекарственные средства на основе антител, специфически связывающиеся с раковым антигеном и обладающие ADCC и/или ADCP активностью, в качестве используемого в комбинации противоракового терапевтического средства, отличного от конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела по настоящему изобретению. Примером ингибитора контрольной точки иммунного ответа является ингибитор связывания между PD-1 и его лигандом PD-L1 или ингибитор CTLA4. Их конкретные примеры включают анти-PD-1 антитело (ниволумаб, пембролизумаб, цемиплимаб, спартализумаб, PDR-001 или BI 754091), анти-PD-L1 антитело (атезолизумаб, авелумаб или дурбарумаб) и анти-CTLA4 антитело (ипилиумаб или тремелиумаб). Примеры антитела, специфически связывающегося с раковым антигеном и обладающего ADCC и/или ADCP активностью, включают анти-CD20 антитело (ритуксимаб), анти-HER2 антитело (трастузумаб или пертузумаб), анти-EGFR антитело (цетуксимаб) и анти-CD52 антитело (алемутузумаб).

[0205]

ADCC относится к клеточно-опосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические клетки (например, NK-клетки, нейтрофилы и макрофаги), экспрессирующие Fc γ рецептор, распознают антитело, связанное с клеткой-мишенью, и затем вызывают лизис клетки-мишени. В NK-клетках, которые являются основными ответственными за ADCC клетками, экспрессируются Fc γ RIIC и Fc γ RIIIA. В моноцитах экспрессируются Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIIC и Fc γ RIIIA. С другой стороны, ADCP относится к клеточно-опосредованной реакции, при которой фагоциты (например, макрофаги, нейтрофилы), экспрессирующие Fc-рецептор, распознают антитело, связанное с клеткой-мишенью, и затем эти клетки поглощают клетку-мишень. В моноцитах, которые являются основными ответственными за ADCP клетками, экспрессируются Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIIC и Fc γ RIIIA.

[0206]

Фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению также можно использовать в сочетании с лучевой терапией. Например, больной раком может получать лучевую терапию до и/или после или одновременно с получением терапии фармацевтической композицией по настоящему изобретению.

[0207]

Фармацевтическую композицию и способ лечения по настоящему изобретению также можно использовать в качестве адъювантной химиотерапии в сочетании с хирургической процедурой. Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить с целью уменьшения размера опухоли перед хирургической процедурой (называется предоперационной адъювантной химиотерапией или неоадъювантной терапией) или ее можно вводить после хирургической процедуры с целью предотвращения рецидива опухоли (называется послеоперационной адъювантной химиотерапией или адъювантной терапией).

[Примеры]

[0208]

Настоящее изобретение конкретно описано с учетом приведенных ниже примеров. Однако настоящее изобретение этим не ограничивается. Кроме того, его ни в коем случае нельзя интерпретировать ограниченным образом.

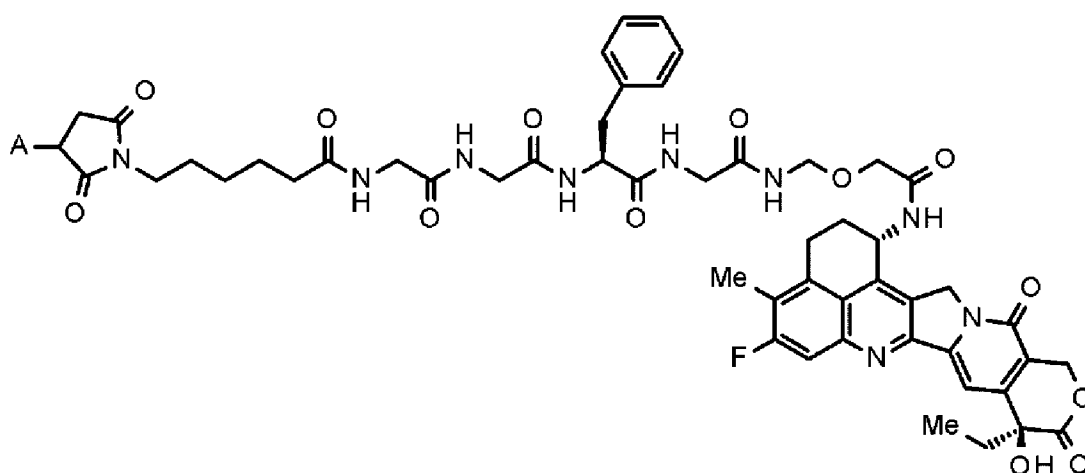
[0209]

Пример получения 1: Получение конъюгата антитело-лекарственное средство (1)

В соответствии со способом получения, описанным в Международной публикации № WO 2015/115091, с использованием гуманизированного анти-HER2 антитела (антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2, далее указано как гуманизированное анти-HER2 антитело (1)"), получали конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0210]

[Формула 14]



[0211]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с анти-HER2 антителом через тиоэфирную связь (далее указан как "конъюгат антитело-лекарственное средство (1)"). DAR конъюгата антитело-лекарственное средство (1) составляет 7,7 или 7,8.

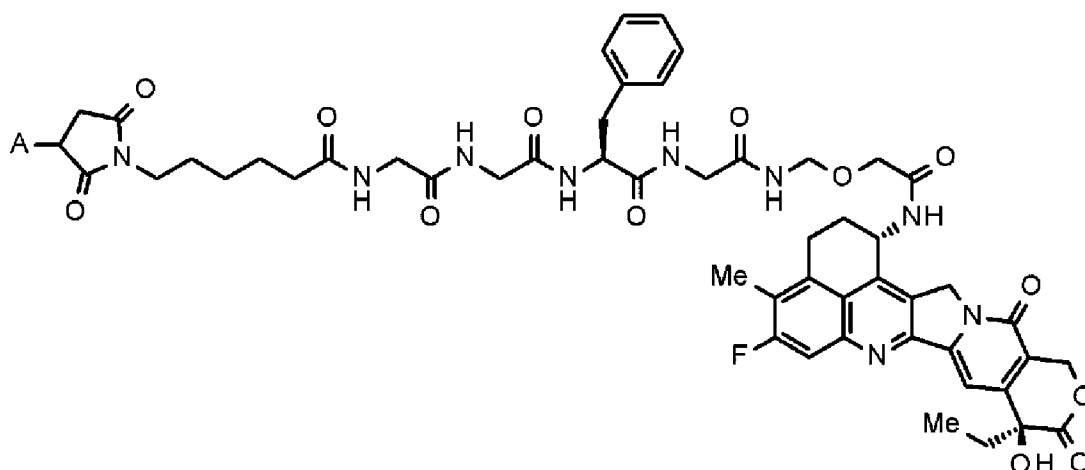
[0212]

Пример получения 2: Получение конъюгата антитело-лекарственное средство (2)

В соответствии со способом получения, описанным в Международных публикациях №№ WO 2015/098099 и 2017/002776, с использованием гуманизированного анти-TROP2 антитела (антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6, далее будет указано как гуманизированное анти-TROP2 антитело (1)), получали конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0213]

[Формула 15]



[0214]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с анти-TROP2 антителом через тиоэфирную связь (далее указан как "конъюгат антитело-лекарственное средство (2)"). Хотя DAR конъюгата антитело-лекарственное средство (2) можно контролировать в пределах 0-8, был получен конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий среднее количество конъюгированных молекул лекарственного средства 3,5-4,5.

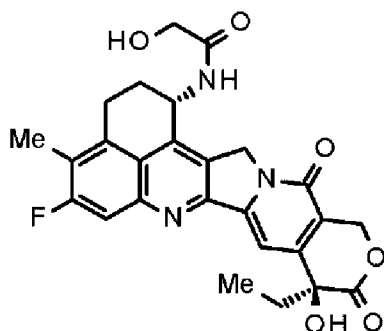
[0215]

Пример получения 3: Получение Соединения (А)

В соответствии со способом получения, описанным в Международной публикации № WO 2014/057687, получали соединение, представленное следующей формулой:

[0216]

[Формула 16]



[0217]

(Соединение (А)).

[0218]

Пример получения 4: Получение антитела против мышиногo SIRPα (клон: 5C12)

Антитело 5C12 против мышиногo SIRPα получали следующим способом. Для иммунизации использовали крыс WKY/Izm или самок крыс Wister (Japan SLC, Inc.). Белок SIRPα мыши (изготовитель Sino Biological Inc.) и полный адъювант Фрейнда (изготовитель Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) смешивали и вводили подкожно в хвост крысы. Лимфатический узел крысы брали и использовали для получения гибридомы.

[219]

Клетки лимфоузла и клетки мышинoй миеломы SP2/0-ag14 (ATCC: CRL-1581) сливали в соответствии со способом с использованием полиэтиленгликоля. Слитые клетки суспендировали в селективной среде НАТ и культивировали в соответствии с методом предельных разведений. Появившиеся колонии гибридом собирали. Таким образом, были получены моноклональные гибридомы. Собранные колонии гибридом культивировали. С использованием полученного культурального супернатанта гибридом отбирали антитело-продуцирующую гибридому на основании активности связывания с мышиным белком SIRPα в качестве показателя. Таким образом, был отобран клон: 5C12.

[0220]

Для амплификации кДНК, кодирующей переменную область 5C12, полную РНК получали из 5C12-продуцирующей гибридомы с использованием реагента TRIzol (Ambion, Inc.). На основе полной РНК амплифицировали кДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, с использованием набора SMARTer RACE 5'/3' (Clontech, Inc.). кДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, амплифицированную методом 5'-RACE ПЦР, клонировали в плазмиду. Затем анализировали нуклеотидную последовательность кДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи. Аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи 5C12 показаны в SEQ ID NO: 30 и 31, соответственно.

[0221]

Гомология между SIRP α человека и SIRP α мыши составляет всего 60%. Сообщается, что у людей имеется 10 типов вариантов IgV-домена SIRP α , который является сайтом взаимодействия с CD47; а мыши имеют по меньшей мере 4 типа вариантов из-за различий в генетическом фоне. Из-за этого вероятно трудно получить функциональное антитело, обладающее перекрестной реактивностью с ортологом человека и мыши, при котором можно ингибировать взаимодействие SIRP α -CD47. Действительно, у крыс, иммунизированных человеческим антигеном, еще не были обнаружены функциональные антитела, обладающие перекрестной реактивностью в отношении мыши.

[0222]

SIRP α представляет собой молекулу, которая присутствует в миелоидных клетках, таких как макрофаги и дендритные клетки. В случае лекарственного средства, непосредственно проявляющего противораковый эффект в отношении рака, как правило, лекарственное средство можно оценить с использованием модели ксенотрансплантата, полученной путем инокуляции раковой клеточной линии человека иммунодефицитной мыши. Однако для оценки противоопухолевого эффекта целевой молекулы, такой как SIRP α , экспрессируемой в иммунных клетках хозяина, следует использовать любой из следующих способов: (1) использование модели, которую получают путем инокуляции иммунокомпетентной мыши раковой клеточной линии, имеющей совместимый генетический фон, и суррогатного антитела, имеющего перекрестную реактивность с мышинным SIRP α ; (2) использование модели, которую получают путем введения гена SIRP α человека иммунодефицитной мыши и путем инокуляции ей человеческой раковой клеточной линии и антитела против человеческого SIRP α ; (3) использование мышинной модели, которую получают путем инокуляции мышинной раковой клеточной линии, имеющей экспрессируемый в ней человеческий CD47 ген, иммунокомпетентной мыши, имеющей целевой ген SIRP α , введенный ей, и антитела против человеческого SIRP α . Из них способ (2) имеет проблему, заключающуюся в том, что, поскольку используют иммунодефицитную мышь с дефектом Т-клеток, невозможно оценить эффект на приобретенную иммунную систему (иммунный ответ, в основном за счет Т-клеток) при ингибировании SIRP α ; способ (3) имеет недостаток, заключающийся в том, что подготовка

занимает много времени, и нелегко оценить эффект, например, контроля уровня экспрессии гена SIRP α на противоопухолевый эффект. С другой стороны, в случае способа (1) с использованием суррогатного антитела можно осуществлять оценку на обычной мышинной модели; кроме того, сообщалось, что комбинированный эффект достигается при его использовании в комбинации с противораковым антителом и антителом к иммунной контрольной точке в клонах, таких как MY-1 и P84 (Международная публикация № WO 2017/178653 или Yanagita et al., JCI Insight, 2017 (2)1, 1-15). Исходя из этого, в этом эксперименте клон 5C12 был получен в виде антитела против мышинного SIRP α и был оценен противоопухолевый эффект. 5C12 обладает высокой аффинностью связывания с мышинным антигеном SIRP α . Подтверждено, что аффинность связывания находится на том же уровне, что и аффинность связывания антитела hD13_H1L3 против человеческого SIRP α с антигеном SIRP α человека. Следует отметить, что множество уже имеющихся на рынке антител к PD-1 оценивали с использованием суррогатного антитела в неклинических фармакологических исследованиях, после чего эффект антител был подтвержден клинически. Исходя из вышеизложенного, можно ожидать, что можно будет экстраполировать результаты иммунологического анализа и результаты противоопухолевых исследований с использованием суррогатного анти-SIRP α антитела на результаты у людей.

[0223]

Пример получения 5: Получение гуманизированного анти-SIRP α антитела (клон: hD13_H1L3)

В соответствии со способом получения, описанным в Международной публикации № WO 2020/013170, получали гуманизированное анти-SIRP α антитело (клон: hD13_H1L3).

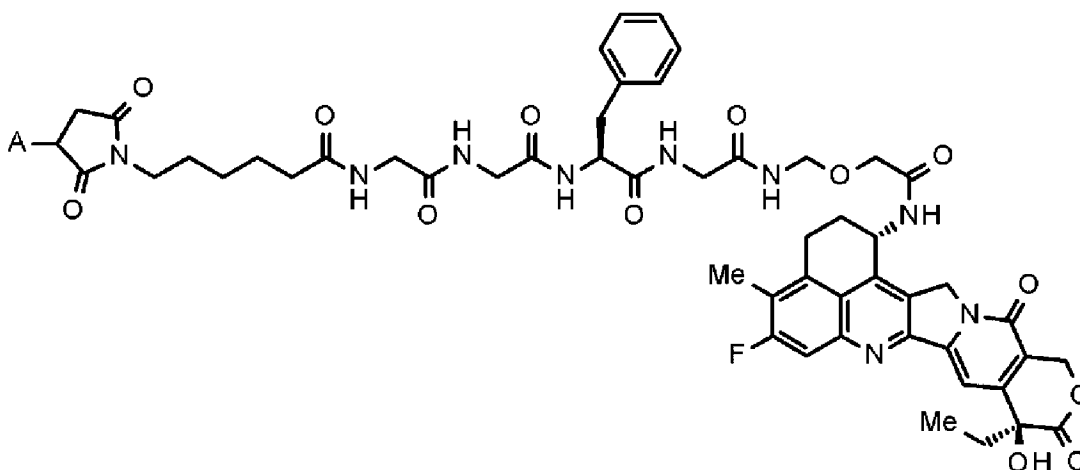
[0224]

Пример получения 6: Получение конъюгата антитело-лекарственное средство (3)

В соответствии со способом получения, описанным в Международной публикации № WO 2015/155998, с использованием гуманизированного анти-HER3 антитела (антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из SEQ ID NO: 4, далее указано как гуманизированное анти-HER3 антитело (1)), получали конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[0225]

[Формула 16]



[0226]

где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с анти-HER3 антителом через тиоэфирную связь (далее указан как "конъюгат антитело-лекарственное средство (3)"). DAR конъюгата антитело-лекарственное средство (3) составляет 7,7 или 7,8.

[0227]

Пример 1: Оценка индукции ICD (in vitro): Измерение АТФ/НМGB1 в культуральном супернатанте

В раковых клетках, обработанных различными соединениями, измеряли уровень АТФ и уровень экспрессии НМGB1, которые служат в качестве показателя иммуногенной клеточной гибели (ICD). Клетки мышинной клеточной линии колоректального рака СТ26.WT высевали в 6-луночный планшет и культивировали в течение ночи. После удаления супернатанта клетки промывали два раза PBS. Соединение (А) растворяли в культуральном растворе RPMI1640, содержащем 10% FBS (R10), с получением растворов, имеющих конечную концентрацию 0, 1, 4 и 16 мкМ. В качестве положительного контроля митоксантрон (MTX) растворяли в DMSO и добавляли при конечной концентрации 0,4, 1,5 и 6 мкМ. К контролю (0 мкМ) добавляли DMSO в таком же количестве, как и соединение (А) (R10-DMSO). Через двадцать четыре часа культуральный супернатант собирали и измеряли уровни АТФ и НМGB1. Уровень АТФ измеряли путем добавления культурального супернатанта в 96-луночный белый планшет, добавления такого же количества Back titer-Glo (изготовитель Promega Corporation) и определения количества люминесценции с использованием планшет-ридера. Уровень НМGB1 определяли с использованием набора для ELISA НМGB1 (изготовитель Shino-Test Corporation) в соответствии с сэндвич-методом ELISA. В планшет, обеспечиваемый в наборе, добавляли тест-буфер, а затем добавляли стандартный раствор НМGB1, разбавленный тест-буфером, и культуральный супернатант. Планшет оставляли выстаиваться при 37°C в течение 24 часов. После удаления супернатанта клетки промывали пять раз PBS/Tween 20 (200 мкл/лунка), добавляли раствор вторичного антитела, обеспечиваемый в наборе, в количестве 100 мкл/лунка. Планшет оставляли выстаиваться при комнатной температуре в

течение 2 часов. После удаления супернатанта клетки промывали пять раз PBS/Tween 20 (200 мкл/лунка). Затем добавляли проявляющий цвет раствор, обеспечиваемый в наборе, в количестве 100 мкл/лунка. Планшет оставляли выстаиваться при комнатной температуре в течение 30 минут. Добавляли стоп-раствор (100 мкл/лунка) и перемешивали. Поглощение измеряли при 405 нм с использованием планшет-ридера. Результаты контрольной группы и группы обработки соединением (A) сравнивали в соответствии с критерием Даннетта. Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой. Результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые.

[0228]

Результаты показаны на Фиг. 24A-D. В группах обработки MTX было подтверждено высвобождение АТФ максимально примерно в 4 раза больше, чем у контроля (0 мкМ); и высвобождение HMGB1 максимально примерно в 3 раза больше, чем у контроля (0 мкМ), в культуральном супернатанте через 24 часа ($P < 0,0001$). С другой стороны, в группах обработки соединением (A) было подтверждено высвобождение АТФ и HMGB1 максимально примерно в 4,6 раза больше, чем в группах R10 или R10-DMSO ($P < 0,0001$).

[0229]

На основании вышеизложенного было сделано предположение, что соединение (A) значительно повышает высвобождение АТФ и HMGB1, которые служат в качестве показателя индукции ICD, из раковых клеток *in vitro*.

[0230]

Пример 2: Оценка индукции ICD (*in vitro*): Измерение кальретикулина (CRT) на клеточной поверхности

В раковых клетках, обработанных различными соединениями, измеряли уровень экспрессии кальретикулина (CRT), который служит в качестве показателя иммуногенной клеточной гибели (ICD). Клетки мышинной клеточной линии колоректального рака CT26.WT высевали в 6-луночный планшет и культивировали в течение ночи. После удаления супернатанта клетки промывали два раза PBS. В культуральный раствор RPMI1640, содержащий 10% FBS (R10), добавляли соединение (A) (4 мкМ) или митоксантрон (MTX) (1 мкМ). В качестве контроля добавляли DMSO в таком же количестве, как и соединение (A) (R10-DMSO). После завершения лекарственной обработки CT26.WT клетки собирали и суспендировали в PBS, а затем высевали в 96-луночный (круглодонный) планшет при 1×10^6 клеток/лунка. После центрифугирования при 1200 об/мин в течение 3 минут супернатант удаляли, и затем набор LIVE/DEAD Fixable Violet Dead Cell Stain (изготовитель Thermo Fisher Scientific Inc.) и блокатор мышинового FcγR (изготовитель Biolegend, Inc.) разбавляли PBS до 1/1000 и 1/50 и добавляли при 100 мкл/лунка соответственно. После выстаивания при комнатной температуре в течение 30 минут осуществляли центрифугирование при 1200 об/мин в течение 3 минут. Супернатант удаляли, добавляли Mildform (изготовитель Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) в количестве 100 мкл/лунка и давали выстаиваться при 37°C в течение 10 минут. После центрифугирования супернатант удаляли. Клетки промывали один раз FACS буфером (1

мМ EDTA, 5% FBS) (200 мкл/лунка). После центрифугирования супернатант удаляли. Раствор первичного антитела, разбавленный FACS буфером (анти-CRT, меченное PE или AF647: изготовитель Abcam plc.), добавляли в количестве 50 мкл/лунка. После выстаивания в темном месте при 4°C в течение 25 минут осуществляли центрифугирование при 1200 об/мин в течение 3 минут. Супернатант удаляли. Клетки промывали два раза FACS буфером (200 мкл/лунка) и осуществляли центрифугирование. После удаления супернатанта клетки суспендировали в Stabilizing Fixative (изготовитель Becton, Dickinson and Company) и давали выстояться при комнатной температуре в течение 10 минут. Уровень экспрессии CRT на раковых клетках измеряли методом проточной цитометрии (FACS CantoII: изготовитель Becton, Dickinson and Company). Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo (изготовитель TreeStar Inc). Следует отметить, что LIVE/DEAD Fixable Violet-положительные клетки были определены как мертвые клетки и исключены из анализа. Рассчитывали среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) CRT. Значение, которое было получено путем вычитания MFI клеток, обработанных изотипическим контролем, из MFI окрашенных клеток, определяли как скорректированную MFI. Следует отметить, что эксперимент осуществляли в трех повторах. Результаты контрольной группы (0 мкМ) и групп обработки лекарственным средством сравнивали в соответствии с критерием Даннетта. Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой. Результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые (***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$).

[0231]

Результаты показаны на Фиг. 25. На поверхности CT26.WT клеток через 24 часа было подтверждено значительное повышение экспрессии CRT. Экспрессия CRT в образце, обработанном MTX, была примерно в 2,6 раза ($P < 0,0001$) больше, чем в контрольной группе. Экспрессия CRT в образце, обработанном соединением (A), была примерно в 12,7 раза ($P < 0,0001$) больше, чем в контрольной группе.

[0232]

С учетом вышеизложенного было продемонстрировано, что соединение (A) существенным образом промотирует индукцию ICD раковых клеток *in vitro*, на основании экспозиции CRT на клеточной поверхности.

[0233]

Пример 3: Оценка индукции ICD *in vivo*

Клетки мышинной клеточной линии колоректального рака CT26.WT высевали в колбу для культивирования клеток и культивировали в течение ночи. Супернатант удаляли и клетки промывали два раза PBS. Для индукции ICD добавляли соединение (A) (4 мкМ) или MTX (1 мкМ) в культуральном растворе RPMI1640, содержащем 10% FBS (R10). Через двадцать четыре часа измеряли HMGB1 в культуральном супернатанте в соответствии со способом, показанным в Примере 1, для подтверждения индукции ICD.

[0234]

Как показано на Фиг. 26, было подтверждено, что HMGB1 высвобождался в

культуральном супернатанте через 24 часа в группах обработки лекарственным средством.

Для оценки ICD *in vivo* культуральный супернатант удаляли из каждой из колб для культивирования, обработанных лекарственными средствами, и клетки промывали два раза PBS и затем клетки собирали. Супернатант удаляли и клетки промывали один раз PBS с получением суспензии, содержащей $5,0 \times 10^6$ клеток/мл. В качестве контроля получали суспензию путем добавления CT26.WT клеток, которые культивировали в культуральном растворе RPMI1640, содержащем 10% FBS без лекарственного средства, в количестве $5,0 \times 10^6$ клеток/мл таким же способом, как описано выше. После центрифугирования супернатант удаляли. Клетки подвергали процессу замораживания-размораживания три раза и снова суспендировали в PBS с получением клеток с некротической клеточной гибелью (NCD).

[0235]

Клетки ($5,0 \times 10^6$ клеток) каждой группы, указанной выше, инокулировали подкожно в правую подмышечную впадину каждой из самок 6-недельных мышей BALB/c (BALB/c AnNCr1Cr1j) (разводимых в CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC.) (инокуляция, День 0). Анти-SIRP α -антитело (клон: 5C12) или анти-CD47-антитело (клон: MIAP410, изготовитель Bio X Cell, Inc.) вводили интраперитонеально в дозе 10 мг/кг в День 1 и 5 (в общей сложности два раза). В качестве контроля вводили такое же количество PBS. Спустя семь дней клетки CT26.WT ($3,0 \times 10^6$ клеток), не обработанные лекарственным средством, подкожно инокулировали в левую подмышечную впадину каждой из мышей (повторное заражение, день 0). В День 14 измеряли объемы опухоли для оценки эффекта вакцинации. Следует отметить, что количество мышей в группе составляло 6. Результаты группы NCD-PBS и отдельных групп сравнивали в соответствии с критерием Даннета, Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой. Результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые.

[0236]

На Фиг. 27А показана оценка индукции ICD *in vivo*. На графике Фиг. 27В вертикальная ось представляет объем опухоли (мм^3), а горизонтальная ось представляет названия отдельных групп. Группы обработки MTX были положительным контролем, а группы обработки NCD были отрицательным контролем. На Фиг. 27С показана общая информация об отдельных группах обработки и количестве особей с CR. Как показано на Фиг. 27В, в каждой из групп NCD, которым повторно вводили клетки CT26.WT, наблюдался рост опухоли. С другой стороны, в группе введения MTX-PBS, которой повторно вводили клетки CT26.WT, приживление опухоли отторгалось в 2/6 случаев (CR). В группе введения MTX-анти-SIRP α -антитела количество особей с CR значительно увеличилось до 4/6 ($P=0,0486$) по сравнению с NCD. В группе обработки соединением (А)-PBS, которой повторно вводили клетки CT26.WT, 5/6 особей показали CR ($P=0,0362$) по сравнению с NCD. В группе введения соединения (А)-анти-SIRP α -антитела или в группе введения анти-CD47 антитела во всех случаях наблюдается CR (в обеих группах $P=0,0325$). Количество особей с CR значительно увеличилось.

[0237]

Как описано выше, HMGB1, который служит показателем ICD, высвобождался из клеток CT26.WT при обработке клеток соединением (A) или MTX. Далее было продемонстрировано, что эффект вакцинации (формируется иммунологическая память опухоли) возникает при инокуляции клеток, в которых была индуцирована ICD этими препаратами, у мышей, а эффект вакцинации усиливается при введении анти-SIRP α -антитела или анти-CD47 антитела.

[0238]

Пример 4: анализ ELISPOT

Количество CT26.WT-реактивных Т-клеток в клетках селезенки мыши определяли с использованием одноцветного ферментативного анализа ELISPOT мышинового IFN γ (изготовитель CELLULAR TECHNOLOGY LIMITED), более конкретно, путем подсчета количества пятен IFN γ , продуцируемых отдельными клетками селезенки. У каждой из мышей, использованных в примере 3, собирали селезенку и доводили количество клеток селезенки до $1,0 \times 10^6$ клеток/мл с использованием тест-среды CTL. Клетки CT26.WT обрабатывали 10 мкг/мл митомицина С в течение 2 часов и промывали. После этого клетки собирали, доводили до $1,0 \times 10^6$ клеток/мл с использованием тест-среды CTL и использовали в качестве антигена. Клетки селезенки и антиген добавляли по 100 мкл/лунка в планшет с мембраной PVDF, предварительно покрытой анти-IFN γ антителом, и совместно культивировали при 37°C в течение 24 часов. После этого с использованием прикрепленного антитела и красящего реагента проявляли цвет и определяли количество клеток селезенки, продуцирующих IFN γ . Сравнение между группой инокуляции клеток NCD и группой обработки соединением (A) или MTX осуществляли в соответствии с критерием суммы рангов Уилкоксона. Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой, и результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), определяли как значимые.

[0239]

Результаты показаны на Фиг. 28. В клетках селезенки мыши [соединение (A)_PBS], которая представляет собой «группу инокуляции обработанных соединением (A)клеток CT26.WT-введения PBS», количество IFN γ -продуцирующих клеток селезенки показало тенденцию к увеличению по сравнению с группой инокуляции клеток NCD-введения PBS [NCD_PBS]. В клетках селезенки мыши, получавшей обработку соединением (A)_анти-SIRP α -антителом, количество клеток селезенки, продуцирующих IFN γ , значительно увеличилось ($P=0,0043$) по сравнению с клетками селезенки группы, получавшей NCD_PBS. Сравнение группы соединение (A)_PBS с группой, получавшей соединение (A)_ α SIRP α , показало, что количество клеток селезенки, продуцирующих IFN γ , значительно увеличивалось ($P=0,013$).

[0240]

На основании результатов у мышей, обработанных соединением (A), было сделано предположение, что были индуцированы Т-клетки, распознающие происходящий из клеток

CT26.WT антиген. Количество Т-клеток значительно увеличивалось при введении анти-SIRP α -антитела. Индукция антигенспецифических Т-клеток показала тенденцию к дальнейшему усилению в группе обработки соединением (А) по сравнению с группой обработки MTX.

[0241]

Пример 5: FCM анализ клеток селезенки

У каждой из мышей, используемых в Примере 3, вырезали селезенку и клетки селезенки получали с использованием PBS и высевали в 96-луночный (круглодонный) планшет при 1×10^6 клеток/лунка. После центрифугирования при 1200 об/мин в течение 3 минут удаляли супернатант. Блокатор человеческого Fc γ R (изготовитель Biolegend, Inc.) при разведении в PBS до 1/20 добавляли в количестве до 100 мкл/лунка. После выстаивания при комнатной температуре в течение 30 минут осуществляли центрифугирование при 1200 об/мин в течение 3 минут. Супернатант удаляли и растворы первичных антител (FITC анти-CD3 ϵ антитела, PerCP анти-CD4 антитела, PE/Cy7 анти-CD8 α антитела, APC анти-CD62L антитела и APC/Cy7 анти-CD44 антитела: все от Biolegend, Inc.) разбавляли FACS буфером (1 mM EDTA, 5% FBS) и добавляли в количестве 50 мкл/лунка. После выстаивания в темном месте при 4°C в течение 25 минут осуществляли центрифугирование при 1200 об/мин в течение 3 минут, а затем удаляли супернатант. Промывку осуществляли два раза FACS буфером (200 мкл/лунка). После центрифугирования супернатант удаляли. Суспензию получали с использованием Stabilizing Fixative (изготовитель Becton, Dickinson and Company) и давали выстояться при комнатной температуре в течение 10 минут. Измерение осуществляли методом проточной цитометрии (FACS CantoII: изготовитель Becton, Dickinson and Company). Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo (изготовитель TreeStar Inc). Сравнение между NCD группой и каждой из групп обработки лекарственным средством, или сравнение между группой введения PBS, группой введения анти-SIRP α антитела и группой введения анти-CD47 антитела в каждой из групп клеточной обработки осуществляли в соответствии с критерием множественного сравнения Даннетта. Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой, и результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые.

Следует отметить, что отдельные популяции в CD4-положительных Т-клетках и CD8-положительных Т-клетках были идентифицированы в следующих условиях.

Tcm: Т-клетки центральной памяти [CD44(+) CD62L(+)]

[0242]

Результаты показаны на Фиг. 29 и 30. Как показано на Фиг. 29А, доля, занимаемая Tcm в CD4-положительных Т-клетках, в группе обработки MTX ($P=0,0005$) или группе обработки соединением (А) ($P < 0,0001$) существенно повышалась по сравнению с группой NCD обработки.

[0243]

Как показано на Фиг. 29В, доля, занимаемая Tcm в CD8-положительных Т-клетках,

в группе обработки MTX ($P=0,0004$) или группе обработки соединением (A) ($P < 0,0001$) существенно повышалась по сравнению с группой NCD обработки.

[0244]

Как показано на Фиг. 30А, доля, занимаемая Tcm в CD4-положительных Т-клетках, показала тенденцию к увеличению в группе обработки MTX_анти-SIRP α антителом или в группе обработки MTX_анти-CD47 антителом по сравнению с группой обработки MTX_PBS. Доля в группе обработки соединением (A)_анти-SIRP α антителом показала тенденцию к увеличению; тогда как доля в группе обработки соединением (A)_анти-CD47 антителом существенно снижалась ($P=0,0002$) по сравнению с группой обработки соединением (A)_PBS.

[0245]

Как показано на Фиг. 30В, доля, занимаемая Tcm в CD8-положительных Т-клетках, существенно повышалась в группе обработки MTX_анти-SIRP α антителом и показала тенденцию к увеличению ($P=0,035$) в группе обработки MTX_анти-CD47 антителом по сравнению с группой обработки MTX_PBS. Доля в группе обработки соединением (A)_анти-SIRP α антителом показывает по существу такое же значение; тогда как доля в группе обработки соединением (A)_анти-CD47 антителом существенно снижалась ($P=0,0017$) по сравнению с группой обработки соединением (A)_PBS.

[0246]

Как показано на Фиг. 30С, доля, занимаемая CD8-положительными Т-клетками в клетках в целом существенно повышалась в группе обработки MTX-введения анти-SIRP α антитела ($P=0,015$); тогда как доля в группе введения соединения (A)_анти-SIRP α антитела показала тенденцию к увеличению. Доля, занимаемая CD4-положительными Т-клетками в клетках в целом показала тенденцию к увеличению в группе обработки MTX_введения анти-SIRP α антитела; тогда как доля существенно повышалась в группе обработки соединением (A)_введения анти-SIRP α антитела ($P=0,029$).

[0247]

Когда наивные CD4-положительные Т-клетки/CD8-положительные Т-клетки распознают раковые клетки антиген-специфическим образом, Т-клетки активируются для дифференцировки в CD4-положительные Teff клетки, которые служат в качестве контрольного пункта широкого спектра иммунных ответов, или CD8-положительные Teff клетки, оказывающие цитотоксическое действие на клетки-мишени. Клетки Tcm представляют собой CD4/CD8-положительные Т-клетки, в которых Teff клетки частично сохраняют способность реагировать на клетки-мишени и приобретают способность выживать в течение длительного времени. Эти клетки сохраняют память о встреченном антигене и быстро и эффективно вызывают иммунный ответ при воздействии того же антигена.

[0248]

На основании этих результатов было продемонстрировано, что число долгоживущих CD4/CD8-положительных клеток Tcm значительно увеличивается при обработке MTX или

соединением (A) (Фиг. 29); и что можно индуцировать популяцию Т-клеток, которая может поддерживать противоопухолевый иммунитет *in vivo* в течение длительного времени.

[0249]

Эти эффекты могут быть усилены введением анти-SIRP α антитела. Таким образом, было продемонстрировано, что анти-SIRP α антитело выгодно для индукции противоопухолевого иммунитета, если его используют в комбинации с соединением (A).

[0250]

На основании результатов Примеров 3, 4 и 5 было продемонстрировано, что соединение (A), используемое в настоящем изобретении, действует на опухолевые клетки, стимулируя продукцию, например, HMGB1 и АТФ, индуцирует ICD и последующую экспрессию CRT на клеточных поверхностях и ускоряет формирование иммунологической памяти *in vivo* за счет индукции молекулы ICD. Было также продемонстрировано, что эти эффекты усиливаются при введении анти-CD47-антитела и анти-SIRP α антитела и заметно усиливаются особенно при введении анти-SIRP α антитела. Таким образом, было продемонстрировано, что анти-SIRP α антитело выгодно для индукции противоопухолевого иммунитета, если его используют в комбинации с соединением (A).

[0251]

Пример 6: ADCP активность конъюгата антитело-лекарственное средство с соединением (A) и антитела против человеческого SIRP α , проявляемая в отношении раковой клеточной линии

6-1 Получение клеток-мишеней

CD47, HER2 и TROP2-положительные клетки линии клеток рака желудка человека AGS собирали, дважды промывали PBS и ресуспендировали в PBS. Количество живых клеток подсчитывали в соответствии с тестом на исключение пигмента трипанового синего. Добавляли раствор CellTrace Far Red (изготовитель Thermo Fisher Scientific Inc.) в объеме 1 мкл на 1×10^6 клеток/мл. Смесь оставляли выстаиваться при комнатной температуре в течение 10 минут. К смеси добавляли 20 мл культуральной среды RPMI1640, содержащей 10% FBS (R10/изготовитель Thermo Fisher Scientific Inc.). Смеси давали выстаиваться в течение 5 минут. Затем добавляли 20 мл R10 и дважды промывали. Клетки ресуспендировали до достижения концентрации 1×10^6 клеток/мл и использовали в качестве клеток-мишеней.

[0252]

6-2 Получение эффекторных клеток

В пробирки SepMate-50 (изготовитель STEMCELL Technologies Inc.) добавляли Ficoll-Paque PLUS (изготовитель GE) в количестве 15 мл/пробирка. Накладывали цельную кровь, разведенную 2-кратно в PBS, содержащем 2% FBS, в количестве 17 мл/пробирка. Центрифугирование осуществляли при комнатной температуре при 1200 g в течение 10 минут. Супернатант, содержащий PBMC, собирали в свежие 50-мл пробирки путем декантации и центрифугировали при комнатной температуре при 1200 об/мин в течение 8 минут. После удаления супернатанта добавляли 25 мл PBS, содержащего 2% FBS.

Центрифугирование осуществляли при комнатной температуре и 300 g в течение 8 минут для осуществления промывки. Осуществляли суспендирование в 1 мл буфера RoboSep (STEMCELL Technologies Inc.) и затем подсчитывали количество живых клеток PBMC в соответствии с тестом на исключение пигмента трипанового синего. Получение осуществляли с использованием буфера RoboSep (изготовитель STEMCELL Technologies Inc.) до достижения концентрации 5×10^7 клеток/мл, и добавлялся коктейль для обогащения моноцитами человека EasySep из набора для обогащения моноцитами человека без истощения CD16 (изготовитель STEMCELL Technologies Inc.) в количестве 50 мкл на мл суспензии клеток PBMC. После взаимодействия при 4°C в течение 10 минут к суспензии клеток PBMC добавляли магнитные частицы EasySep в количестве 50 мкл на мл. После взаимодействия при 4°C в течение 5 минут добавляли буфер RoboSep (изготовитель STEMCELL Technologies Inc.) до 2,5 мл перед установкой на EasySep Magnet. Через две минуты и 30 секунд супернатант собирали. Центрифугирование осуществляли при 1200 об/мин $\times$ 5 минут и затем собирали фракции моноцитов. Добавляли R10; и осуществляли промывку один раз; добавляли R10, содержащий 20 нг/мл M-CSF (изготовитель PEPROTEC, Inc.). Посев осуществляли в качалочную 225-см² колбу (изготовитель Sumitomo Bakelite Co., Ltd.). Культивирование осуществляли в условиях 37°C и 5% CO₂ в течение 11 дней. Культуральный супернатант удаляли, добавляли R10, содержащий 20 нг/мл IL-10 и 20 нг/мл M-CSF (изготовитель PEPROTEC, Inc.). Культивирование осуществляли еще двое суток. Через тринадцать дней к макрофагам, индуцированным дифференцировкой, добавляли TrypLE Express (изготовитель Life Technology). Реакцию осуществляли при 37°C в течение 15 минут, макрофаги удаляли. Добавляли R10 (25 мл) и осуществляли сбор. Дважды промывали PBS и ресуспендировали с использованием PBS до достижения 1×10^6 клеток/мл. В качестве стандартного раствора добавляли 1 мкл/10⁶ клеток/мл раствора CFSE (изготовитель Thermo Fisher Scientific Inc.), затем оставляли выстаиваться при комнатной температуре в течение 10 минут. Добавляли R10 (20 мл) и осуществляли промывку два раза. Клетки ресуспендировали до достижения 1×10^6 клеток/мл и использовали в качестве эффекторных клеток.

[0253]

6-3 Оценка ADCP активности

Клетки-мишени (50 мкл/лунка), полученные в соответствии со способом стадии 6-1, добавляли в 96-луночный (U-донный) микропланшет (изготовитель Sumitomo Bakelite Co., Ltd.), имеющий поверхность со сверхнизкой адгезивной способностью. В планшет добавляли конъюгат антитело-лекарственное средство (1) или (2), гуманизированное анти-HER2 (1) антитело или гуманизированное анти-TROP2 антитело (1), или каждое из различных контрольных антител, разбавленное R10, таким образом, чтобы достигалась конечная концентрация от 0 до 1000 нг/мл, в количестве 50 мкл/лунка. В группах отдельной обработки добавляли R10 в количестве 50 мкл/лунка; тогда как в группах комбинированной обработки добавляли гуманизированное анти-SIRP α антитело (клон: hD13_H1L3), разбавленное R10 (в конечной концентрации 2000 нг/мл), в количестве 50 мкл/лунка. В

другом эксперименте добавляли конъюгат антитело-лекарственное средство (1) или (2), анти-HER2 антитело или анти-TROP2 антитело и каждое из различных контрольных антител, разбавленное R10, таким образом, чтобы достигалась конечная концентрация 1000 нг/мл, в количестве 50 мкл/лунка. В группах отдельной обработки R10 добавляли в количестве 50 мкл/лунка; тогда как в группах комбинированной обработки гуманизированное анти-SIRP α антитело R10 (в конечной концентрации 2000 нг/мл), добавляли в количестве 50 мкл/лунка. В лунки добавляли эффекторные клетки (1×10^6 клеток/мл), полученные на стадии 6-2, в количестве 50 мкл/лунка, после этого давали выстояться в условиях 37°C и 5% CO₂ в течение 4 часов. После центрифугирования при 4°C и 1200 об/мин в течение 5 минут супернатант удаляли. Клетки промывали FACS буфером (200 мкл/лунка) и суспендировали с использованием 50 мкл/лунка 1 $\times$ BD Stabilizing Fixative (изготовитель Becton, Dickinson and Company), после этого давали выстояться при комнатной температуре в течение 10 минут. Измерение осуществляли методом проточной цитометрии (AttuneNXT: изготовитель Thermo Fisher Scientific Inc.). Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo (изготовитель TreeStar Inc.). После проявления методом FSC (прямое светорассеяние)/SSC (боковое светорассеяние) рассчитывали количество APC-положительных клеток (A), а также положительных и по APC и по FITC клеток (B). Положительные и по APC и по FITC клетки (B) определяли в качестве клеток-мишеней, захватываемых эффекторными клетками. Процент клеток, поглощенных посредством фагоцитоза за счет ADCP активности, рассчитывали в соответствии со следующей формуле:

[0254]

$$\text{Процент поглощенных клеток (\%)} = B / (A + B) \times 100$$

[0255]

Как показано на Фиг. 31A-D, конъюгат антитело-лекарственное средство (1) или (2) показал ADCP активность в отношении CD47-, HER2- и TROP2-положительных клеток человеческой клеточной линии рака желудка AGS зависимым от концентрации антитела (добавляемого к ним) образом (Фиг. 31A, B) и показал более высокую ADCP активность, когда гуманизированное анти-SIRP α антитело hD13_H1L3 использовали в комбинации (Фиг. 31A, B). Поскольку эти эффекты не наблюдались в Контроле_конъюгате антитело-лекарственное средство, они оба были продемонстрированы как эффекты, индуцированные мишень-специфическим образом. Следует отметить, что проявление ADCP активности было на том же уровне или выше, как у исходного антитела, т.е. гуманизированного анти-HER2 антитела (1) или гуманизированного анти-TROP2 антитела (1), которое не было конъюгировано с лекарственным средством. На основании вышеизложенного было сделано предположение, что конъюгация с лекарственным средством не приводит к неблагоприятному эффекту. С другой стороны, как показано на Фиг. 31C и D, когда исследовали концентрацию гуманизированного анти-SIRP α антитела hD13_H1L3, в то время как концентрация конъюгата антитело-лекарственное средство (1) или (2) подверживалась постоянной, ADCP активность повышалась зависимым от концентрации

анти-SIRP α антитела образом.

[0256]

Пример 7: Исследование противоопухолевого эффекта (1)

Мыши: В экспериментах использовали самок 6-недельных BALB/c мышей (BALB/c AnNCr1Cr1j) (разводимых в CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC.).

[0257]

Измерение и формула расчета: длинный диаметр и короткий диаметр опухолей измеряли два раза в неделю с использованием электронного цифрового штангенциркуля (CD15-CX, изготовитель Mitutoyo Corporation) и рассчитывали объемы опухолей (мм³).

Формула расчета приведена ниже:

[0258]

Объем опухоли (мм³) = $0,5 \times \text{Длинный диаметр (мм)} \times [\text{Короткий диаметр (мм)}]^2$

[0259]

Особи с объемом опухоли более 3000 мм³ умерщвлялись с этической точки зрения, когда это касается экспериментов на животных.

[0260]

Конъюгат антитело-лекарственное средство (1) (отношение лекарственного средства к антителу: 7,6) разбавляли PBS и дозу 10 мл/кг вводили внутривенно в хвостовую вену. Антитело против мышинового SIRP α (клон: 5C12) и антитело против PD-L1 (клон: YW243.55S70, получено в соответствии с публикацией патента США, US 2013/0045201 A1) разбавляли PBS и дозу 10 мл/кг вводили интраперитонеально.

[0261]

Линию клеток рака молочной железы мыши 4T1 (CRL-2539), полученную из Американской коллекции типовых культур, трансфицировали человеческим/мышиним химерным геном HER2 с использованием лентивирусного вектора для получения клеток 4T1-hmHER2, которые затем использовали. Клетки экспрессируют человеческий/мышиный химерный белок HER2 на клеточной мембране. Затем клетки 4T1-hmHER2 суспендировали в PBS и $1,0 \times 10^6$ клеток инокулировали подкожно в правую подмышечную впадину каждой из мышей BALB/c (День 0). Через четыре дня мышей случайным образом разделяли на группы (День 4). Конъюгат антитело-лекарственное средство (1) вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг в День 4 и 11 (всего два раза) в хвостовую вену. Анти-SIRP α антитело (клон: 5C12) или анти-PD-L1 антитело (клон: YW243.55S70) вводили интраперитонеально в дозе 10 мг/кг в День 5, 8 и 12 (всего три раза). Устанавливали группу комбинированного введения конъюгата антитело-лекарственное средство (1), анти-SIRP α антитела и анти-PD-L1 антитела; и группу введения PBS в качестве контрольной группы. Количество мышей в группе составляло 5. Измерение объема опухоли продолжали вплоть до Дня 21. Сравнение между контрольной группой, каждой из групп отдельного введения и группами комбинированного введения, или сравнение между группой введения конъюгата антитело-лекарственное средство (1) и каждой из групп комбинированного введения осуществляли в соответствии с критерием множественного сравнения Даннетта.

P-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой, и результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые.

[0262]

Результаты показаны на Фиг. 32. На Фиг. 32А в общем виде показано исследование противоопухолевого эффекта. На Фиг. 32В показаны кривые роста опухоли для отдельных групп введения. Вертикальная ось представляет объем опухоли (мм^3), а горизонтальная ось представляет количество дней после инокуляции опухоли. На Фиг. 32С показаны общие данные групп обработки, ингибирование роста опухоли (TGI/%) и количество субъектов с CR. В День 21 группа, получавшая конъюгат антитело-лекарственное средство (1) ($P < 0,0001$), и группа, получавшая анти-SIRP α антитело ($P=0,0087$), продемонстрировали значительно более сильный противоопухолевый эффект по сравнению с контрольной группой. Группа комбинированного введения конъюгата антитело-лекарственное средство (1)-анти-SIRP α антитела или группа комбинированного введения трех препаратов показали значительно более сильный противоопухолевый эффект (в обоих случаях $p < 0,0001$) по сравнению с контрольной группой. Группа комбинированного введения конъюгата антитело-лекарственное средство (1)-анти-SIRP α антитела ($P=0,0497$) и группа комбинированного введения трех препаратов ($P=0,0237$) продемонстрировали значительно более сильный противоопухолевый эффект по сравнению с группой введения конъюгата антитело-лекарственное средство (1). Во всех группах эксперимента не наблюдалось никакой потери массы тела мышей. На основании вышеизложенного было подтверждено, что противоопухолевый эффект возникает при отдельном введении каждого из конъюгата антитело-лекарственное средство (1) или анти-SIRP α антитела и значительно усиливается при их комбинированном введении.

[0263]

Пример 8: Исследование противоопухолевого эффекта (2)

Мыши: В экспериментах использовали самок 6-недельных BALB/c мышей (BALB/c AnNCrI CrIj) (разводимых в CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC.).

[0264]

Измерение и формула расчета: длинный диаметр и короткий диаметр опухолей измеряли два раза в неделю с использованием электронного цифрового штангенциркуля (CD15-CX, изготовитель Mitutoyo Corporation) и рассчитывали объемы опухолей (мм^3). Формула расчета приведена ниже:

[0265]

Объем опухоли (мм^3) = $0,5 \times \text{Длинный диаметр (мм)} \times [\text{Короткий диаметр (мм)}]^2$

[0266]

Особи с объемом опухоли более 3000 мм^3 умерщвлялись с этической точки зрения, когда это касается экспериментов на животных.

[0267]

Конъюгат антитело-лекарственное средство (2) (отношение лекарственного средства к антителу: 4) разбавляли PBS и дозу 10 мл/кг вводили внутривенно в хвостовую

вену. Анти-SIRP α антитело (клон: 5C12) разбавляли PBS и дозу 10 мл/кг вводили интраперитонеально.

[0268]

Мышиную клеточную линию колоректального рака CT26.WT (CRL2638), полученную из Американской коллекции типовых культур, трансфицировали человеческим геном TROP2 с использованием лентивирусного вектора для получения клеток CT26.WT-hTROP2, которые затем использовали. Клетки экспрессируют человеческий белок TROP2 на клеточной мембране. Клетки CT26.WT-hTROP2 суспендировали в физиологическом растворе и $2,0 \times 10^6$ клеток инокулировали подкожно в правую подмышечную впадину каждой из мышей BALB/c (День 0). Через семь дней мышей случайным образом разделяли на группы (День 7). Конъюгат антитело-лекарственное средство (2) вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг в День 7 и 12 (всего два раза) в хвостовую вену. Анти-SIRP α антитело (клон: 5C12) вводили интраперитонеально в дозе 10 мг/кг в День 8, 11 и 13 (всего три раза). Была установлена группа комбинированного введения конъюгата антитело-лекарственное средство (2) и анти-SIRP α антитела, а группа введения PBS была установлена в качестве контрольной группы. Количество мышей в группе составляло 6. Измерение объема опухоли продолжали вплоть до Дня 18. Сравнение между контрольной группой, каждой из групп отдельного введения и группами комбинированного введения осуществляли в соответствии с критерием множественного сравнения Даннетта. Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой, и результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые.

[0269]

Результаты показаны на Фиг. 33. На Фиг. 33А в общем виде показано исследование противоопухолевого эффекта. На Фиг. 33В показаны кривые роста опухоли для отдельных групп введения. Вертикальная ось представляет объем опухоли (мм^3), а горизонтальная ось представляет количество дней после инокуляции опухоли. На Фиг. 33С показаны общие данные групп обработки и ингибирование роста опухоли (TGI/%). Вертикальная ось представляет объем опухоли (мм^3), а горизонтальная ось представляет количество дней после первого дня инокуляции опухоли. В День 18 группа, получавшая конъюгат антитело-лекарственное средство (2), и группа, получавшая анти-SIRP α антитело, продемонстрировали частичный противоопухолевый эффект по сравнению с контрольной группой. Группа комбинированного введения показала значительно более сильный противоопухолевый эффект ($p < 0,0007$). Во всех группах эксперимента не наблюдалось никакой потери массы тела мышей. На основании вышеизложенного было подтверждено, что противоопухолевый эффект возникает при отдельном введении каждого из лекарственных средств и усиливается при их комбинированном введении.

[0270]

Пример 9: Исследование противоопухолевого эффекта (3)

Мыши: В экспериментах использовали самок 6-недельных BALB/c мышей (BALB/c AnNCrI CrIj) (разводимых в CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC.).

[0271]

Измерение и формула расчета: длинный диаметр и короткий диаметр опухолей измеряли два раза в неделю с использованием электронного цифрового штангенциркуля (CD15-CX, изготовитель Mitutoyo Corporation) и рассчитывали объемы опухолей (мм³). Формула расчета приведена ниже:

[0272]

Объем опухоли (мм³) = $0,5 \times \text{Длинный диаметр (мм)} \times [\text{Короткий диаметр (мм)}]^2$

[0273]

Особь с объемом опухоли более 3000 мм³ умерщвлялись с этической точки зрения, когда это касается экспериментов на животных.

[0274]

Конъюгат антитело-лекарственное средство (3) (отношение лекарственного средства к антителу: 8) и анти-SIRPα антитело (клон: 5C12) разбавляли PBS и использовали для введения.

[0275]

Мышиную клеточную линию колоректального рака CT26.WT (CRL2638), полученную из Американской коллекции типовых культур, трансфицировали человеческим геном HER3 с использованием лентивирусного вектора для получения клеток CT26.WT-HER3, которые затем использовали. Клетки экспрессируют человеческий белок HER3 на клеточной мембране. Клетки CT26.WT-HER3 суспендировали в физиологическом растворе и $2,0 \times 10^6$ клеток инокулировали подкожно в правую подмышечную впадину каждой из мышей BALB/c (День 0). Через семь дней мышей случайным образом разделяли на группы (День 7). Конъюгат антитело-лекарственное средство (3) вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг в День 7 и 14 (всего два раза) в хвостовую вену. Анти-SIRPα антитело (клон: 5C12) вводили интраперитонеально в дозе 10 мг/кг в День 8, 11 и 15 (всего три раза). Была установлена группа комбинированного введения конъюгата антитело-лекарственное средство (3) и анти-SIRPα антитела, а группа введения PBS была установлена в качестве контрольной группы. Количество мышей в группе составляло 6. Измерение объема опухоли продолжали вплоть до Дня 18. Сравнение между контрольной группой, каждой из групп отдельного введения и группами комбинированного введения осуществляли в соответствии с критерием множественного сравнения Даннетта. Р-значение выражали с точностью до четырех знаков после запятой, и результаты, удовлетворяющие $P < 0,05$ (двусторонний критерий), были определены как значимые.

[0276]

Результаты показаны на Фиг. 34. На Фиг. 34А в общем виде показано исследование противоопухолевого эффекта. На Фиг. 34В показаны кривые роста опухоли для отдельных групп введения. Вертикальная ось представляет объем опухоли (мм³), а горизонтальная ось представляет количество дней после инокуляции опухоли. На Фиг. 34С показаны общие данные групп обработки и ингибирование роста опухоли (TGI/%). В День 18 группа введения только анти-SIRPα антитела не показала никакого терапевтического эффекта, а

группа, получавшая конъюгат антитело-лекарственное средство (3), показала частичный противоопухолевый эффект по сравнению с контрольной группой. Кроме того, группа комбинированного введения показала значительно более сильный противоопухолевый эффект ($p < 0,046$) по сравнению с группой введения только анти-SIRP α антитела и продемонстрировала тенденцию к повышению противоопухолевой эффективности по сравнению с группой введения конъюгата антитело-лекарственное средство (3). Во всех группах эксперимента не наблюдалось никакой потери массы тела мышей.

[Промышленная применимость]

[0277]

На основании результатов экспериментов, приведенных выше, было определено, что конъюгат антитело-лекарственное средство в соответствии с настоящим изобретением показывает отличный противоопухолевый эффект при введении в комбинации с анти-SIRP α антителом.

[Свободный текст перечня последовательностей]

[0278]

SEQ ID NO: 1 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-HER2 антитела

SEQ ID NO: 2 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-HER2 антитела

SEQ ID NO: 3 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-HER3 антитела

SEQ ID NO: 4 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-HER3 антитела

SEQ ID NO: 5 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-TROP2 антитела

SEQ ID NO: 6 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-TROP2 антитела

SEQ ID NO: 7 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-B7-H3 антитела

SEQ ID NO: 8 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-B7-H3 антитела

SEQ ID NO: 9 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-GPR20 антитела

SEQ ID NO: 10 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-GPR20 антитела

SEQ ID NO: 11 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-CDH6 антитела

SEQ ID NO: 12 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-CDH6 антитела

SEQ ID NO: 13 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи hN1

гуманизированного анти-SIRP α антитела hD13

SEQ ID NO: 14 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи hH2
гуманизированного анти-SIRP α антитела hD13

SEQ ID NO: 15 - Аминокислотная последовательность легкой цепи hL2
гуманизированного анти-SIRP α антитела hD13

SEQ ID NO: 16 - Аминокислотная последовательность легкой цепи hL3
гуманизированного анти-SIRP α антитела hD13

SEQ ID NO: 17 - Аминокислотная последовательность легкой цепи hL4
гуманизированного анти-SIRP α антитела hD13

SEQ ID NO: 18 - Аминокислотная последовательность CDR-H1 химерного анти-SIRP α антитела cD13

SEQ ID NO: 19 - Аминокислотная последовательность CDR-H2 химерного анти-SIRP α антитела cD13

SEQ ID NO: 20 - Аминокислотная последовательность CDR-H3 химерного анти-SIRP α антитела cD13

SEQ ID NO: 21 - Аминокислотная последовательность CDR-L1 химерного анти-SIRP α антитела cD13

SEQ ID NO: 22- Аминокислотная последовательность CDR-L2 химерного анти-SIRP α антитела cD13

SEQ ID NO: 23 - Аминокислотная последовательность CDR-L3 химерного анти-SIRP α антитела cD13

SEQ ID NO: 24 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела OSE-172 (OSE-172_hG4Pro)

SEQ ID NO: 25 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела OSE-172 (OSE-172_hK)

SEQ ID NO: 26 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела KWAR23 (KWAR23_hG4Pro)

SEQ ID NO: 27 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела KWAR23 (KWAR23_hK)

SEQ ID NO: 28 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела ADU-1805 (ADU-1805_hG2)

SEQ ID NO: 29 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела ADU-1805 (ADU-1805_hK)

SEQ ID NO: 30 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела 5C12 против мышиногo SIRP α

SEQ ID NO: 31 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела 5C12 против мышиногo SIRP α

SEQ ID NO: 32 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антимышиного человеческого анти-PD-L1 антитела YW243.55S70

SEQ ID NO: 33 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антимышиного

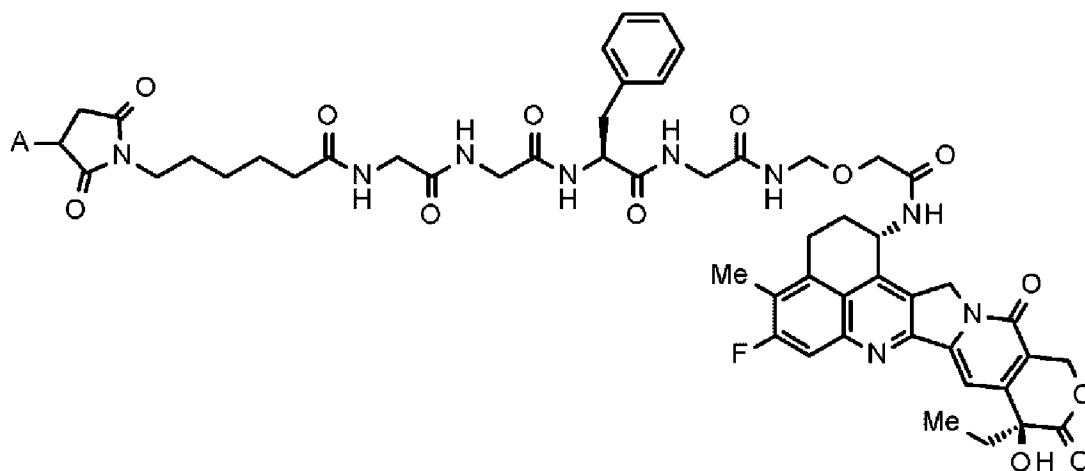
человеческого анти-PD-L1 антитела YW243.55S70

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, в которой конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело вводятся в комбинации, и

конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[Формула 1]



где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

3. Фармацевтическая композиция по п. 2, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

4. Фармацевтическая композиция по п. 3, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

5. Фармацевтическая композиция по п. 3, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 3-5, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

7. Фармацевтическая композиция по п. 2, где антитело в конъюгате антитело-

лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

8. Фармацевтическая композиция по п. 7, где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

9. Фармацевтическая композиция по п. 8, где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 7-9, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

11. Фармацевтическая композиция по п. 2, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

12. Фармацевтическая композиция по п. 11, где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

13. Фармацевтическая композиция по п. 12, где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 11-13, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

15. Фармацевтическая композиция по п. 2, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

16. Фармацевтическая композиция по п. 15, где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 15-17, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

19. Фармацевтическая композиция по п. 2, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из

аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

21. Фармацевтическая композиция по п. 20, где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 19-21, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

23. Фармацевтическая композиция по п. 2, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

24. Фармацевтическая композиция по п. 23, где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

25. Фармацевтическая композиция по п. 24, где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 23-25, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-26, где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27, где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных

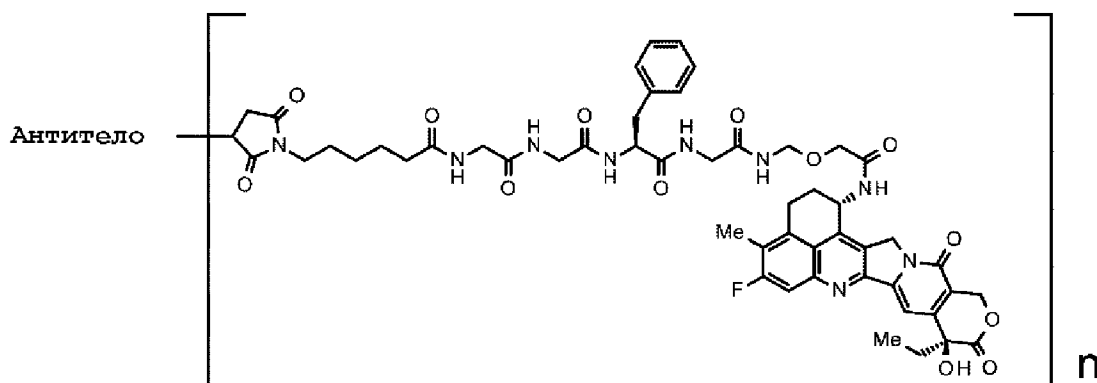
компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-28, где композиция предназначена для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака матки, саркомы, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

30. Фармацевтическая композиция, в которой конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRPα антитело вводятся в комбинации, и

конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный следующей формулой:

[Формула 2]



где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

31. Фармацевтическая композиция по п. 30, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

33. Фармацевтическая композиция по п. 32, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

34. Фармацевтическая композиция по п. 32, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной

последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

35. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 32-34, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

36. Фармацевтическая композиция по п. 31, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

37. Фармацевтическая композиция по п. 36, где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

38. Фармацевтическая композиция по п. 37, где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

39. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 36-38, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

40. Фармацевтическая композиция по п. 31, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

41. Фармацевтическая композиция по п. 40, где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

42. Фармацевтическая композиция по п. 41, где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

43. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 40-42, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

44. Фармацевтическая композиция по п. 31, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

45. Фармацевтическая композиция по п. 44, где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

46. Фармацевтическая композиция по п. 45, где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

47. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-46, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

48. Фармацевтическая композиция по п. 31, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

49. Фармацевтическая композиция по п. 48, где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

50. Фармацевтическая композиция по п. 49, где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 48-50, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

52. Фармацевтическая композиция по п. 31, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

53. Фармацевтическая композиция по п. 52, где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

54. Фармацевтическая композиция по п. 53, где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

55. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 52-54, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

56. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 30-55, где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

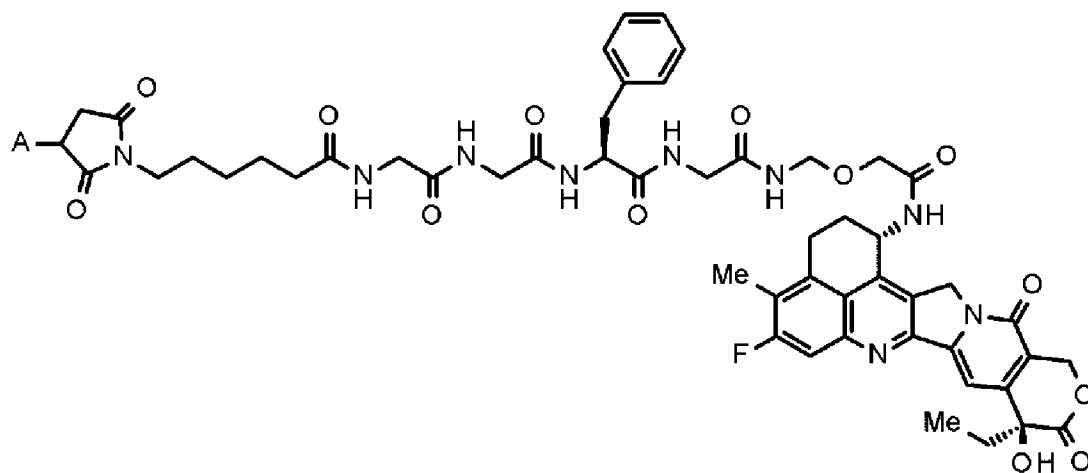
(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

57. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 30-56, где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

58. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 30-57, где композиция предназначена для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака матки, саркомы, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

59. Способ лечения, включающий введение конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитела в комбинации субъекту, нуждающемуся в лечении, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, в котором соединение лекарственное средство-линкер, представленное следующей формулой:

[Формула 3]



где А представляет собой положение связывания с антителом, конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь.

60. Способ лечения по п. 59, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

61. Способ лечения по п. 60, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

62. Способ лечения по п. 61, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

63. Способ лечения по п. 61, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

64. Способ лечения по любому из пп. 61-63, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

65. Способ лечения по п. 60, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

66. Способ лечения по п. 65, где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

67. Способ лечения по п. 66, где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

68. Способ лечения по любому из пп. 65-67, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

69. Способ лечения по п. 60, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

70. Способ лечения по п. 69, где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

71. Способ лечения по п. 70, где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

72. Способ лечения по любому из пп. 69-71, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственного средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

73. Способ лечения по п. 60, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

74. Способ лечения по п. 73, где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую

из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

75. Способ лечения по п. 74, где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

76. Способ лечения по любому из пп. 73-75, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

77. Способ лечения по п. 60, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

78. Способ лечения по п. 77, где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

79. Способ лечения по п. 78, где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

80. Способ лечения по любому из пп. 77-79, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

81. Способ лечения по п. 60, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

82. Способ лечения по п. 81, где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

83. Способ лечения по п. 82, где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

84. Способ лечения по любому из пп. 81-83, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

85. Способ лечения по любому из пп. 59-84, где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из

аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

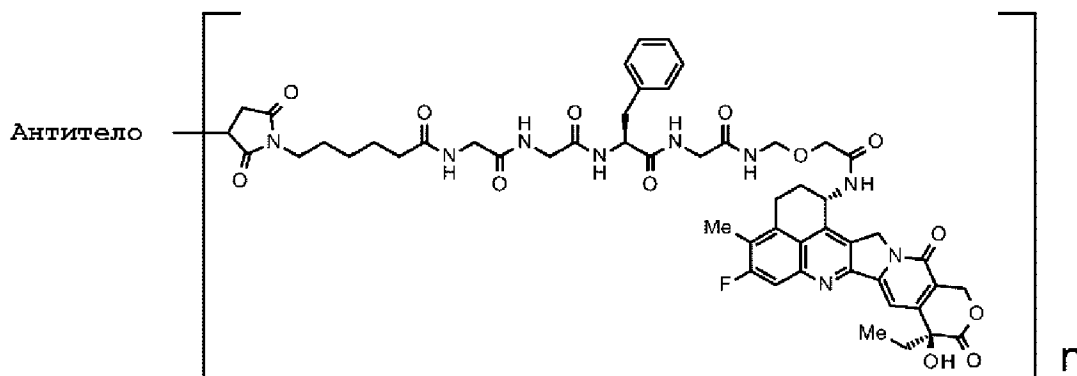
(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

86. Способ лечения по любому из пп. 59-85, где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRPα антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

87. Способ лечения по любому из пп. 59-86, где способ предназначен для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Пэджета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака матки, саркомы, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

88. Способ лечения, включающий введение конъюгата антитело-лекарственное средство и анти-SIRPα антитела в комбинации субъекту, нуждающемуся в лечении, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный следующей формулой:

[Формула 4]



где соединение лекарственное средство-линкер конъюгировано с антителом через тиоэфирную связь; и n представляет собой среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела.

89. Способ лечения по п. 88, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело, анти-HER3 антитело, анти-TROP2 антитело, анти-B7-H3 антитело, анти-GPR20 антитело или анти-CDH6 антитело.

90. Способ лечения по п. 89, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER2 антитело.

91. Способ лечения по п. 90, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-449 SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-214 SEQ ID NO: 2.

92. Способ лечения по п. 90, где анти-HER2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 2.

93. Способ лечения по любому из пп. 90-92, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

94. Способ лечения по п. 89, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-HER3 антитело.

95. Способ лечения по п. 94, где анти-HER3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной SEQ ID NO: 4.

96. Способ лечения по п. 95, где анти-HER3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

97. Способ лечения по любому из пп. 94-96, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

98. Способ лечения по п. 89, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-TROP2 антитело.

99. Способ лечения по п. 98, где анти-TROP2 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-470 SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 6.

100. Способ лечения по п. 99, где анти-TROP2 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

101. Способ лечения по любому из пп. 98-100, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

102. Способ лечения по п. 89, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-B7-H3 антитело.

103. Способ лечения по п. 102, где анти-B7-H3 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 8.

104. Способ лечения по п. 103, где анти-B7-H3 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

105. Способ лечения по любому из пп. 102-104, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 3,5 до 4,5.

106. Способ лечения по п. 89, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-GPR20 антитело.

107. Способ лечения по п. 106, где анти-GPR20 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-472 SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 10.

108. Способ лечения по п. 107, где анти-GPR20 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

109. Способ лечения по любому из пп. 106-108, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

110. Способ лечения по п. 89, где антитело в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой анти-CDH6 антитело.

111. Способ лечения по п. 110, где анти-CDH6 антитело представляет собой антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-471 SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-233 SEQ ID NO: 12.

112. Способ лечения по п. 111, где анти-CDH6 антитело не содержит лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

113. Способ лечения по любому из пп. 110-112, где среднее количество конъюгированных единиц лекарственное средство-линкер в расчете на молекулу антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство находится в диапазоне от 7 до 8.

114. Способ лечения по любому из пп. 88-113, где анти-SIRP α антитело представляет собой любое из следующих антител (1)-(5):

(1) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16;

(2) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 17;

(3) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 15;

(4) антитело, включающее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 20-466 SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 21-234 SEQ ID NO: 16; и

(5) антитело в соответствии с любым из (1)-(4), не содержащее лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи.

115. Способ лечения по любому из пп. 88-114, где конъюгат антитело-лекарственное средство и анти-SIRP α антитело содержатся отдельно в качестве активных компонентов в разных композициях, и их вводят одновременно или в разное время.

116. Способ лечения по любому из пп. 88-115, где способ предназначен для лечения по меньшей мере одного, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака слюнной железы, аденокарциномы гастроэзофагеального соединения, рака желчевыводящих путей, болезни Пэджета, рака поджелудочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, карциносаркомы матки, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака, рака шейки матки, опухоли головного мозга, глиомы, опухоли глаза, рака щитовидной железы, рака тимуса, рака желчного пузыря, лимфомы, лейкоза и миелодиспластического синдрома.

ФИГ. 1

SEQ ID NO: 1 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-HER2 антитела

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIDKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGY
TRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 2

SEQ ID NO: 2 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-HER2 антитела

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG
VPSRFSGSRSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

ФИГ. 3

SEQ ID NO: 3 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-HER3 антитела

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKLEWIGEINHSGST
NYNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 4

SEQ ID NO: 4 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-HER3 антитела

DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPELLIYWA
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

ФИГ. 5

SEQ ID NO: 5 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-TROP2 антитела

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVR
QAPGQGLEWMGWINTHSGVPKYAEDFKGRVTISADTSTSTAYLQLSSLKSEDTAVYY
CARSGFGSSYWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

сигнальная последовательность (1-19), переменная область (20-140), кон-
стантная область (141-470)

ФИГ. 6

SEQ ID NO: 6 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-TROP2 антитела

MVLQQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQ
QKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQHYIT
PLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-129), кон-
стантная область (130-234)

ФИГ. 7

SEQ ID NO: 7 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-В7-Н3 антитела

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYVMHWVR
QAPGQGLEWMGYINPYNDDVKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYY
CARWGYYGSPLYFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

сигнальная последовательность (1-19), переменная область (20-141), кон-
стантная область (142-471)

ФИГ. 8

SEQ ID NO: 8 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-В7-Н3 антитела

MVLQQTQVFISLLLWISGAYGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSRLIYMHWYQQ
KPGQAPRPLIYATSNLASGIPARFSGSGGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQWNSNP
PTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-128), кон-
стантная область (129-233)

ФИГ. 9

SEQ ID NO: 9 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-GPR20 антитела

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIISWIR
QAPGQGLKYMGFINPGSGHTNYNEKFKGRVTITADKSSSTATMELSSLRSEDTAVYY
CARGAGGFLRIITKFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

сигнальная последовательность (1-19), переменная область (20-142), кон-
стантная область (143-472)

ФИГ. 10

SEQ ID NO: 10 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-GPR20 антитела

MVLQQTQVFISLLLWISGAYGDTQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSVSTYIHWYQ
QKPGKQPKLLIYSAGNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFANYCQQINEL
PYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-129), кон-
стантная область (130-234)

ФИГ. 11

SEQ ID NO: 11 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-CDH6 антитела

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTRNFMHWVR
QAPGQGLEWMGWIYPGDGETEYAQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYY
CARGVYGGFAGGYFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

сигнальная последовательность (1-19), переменная область (20-141), кон-
стантная область (142-471)

ФИГ. 12

SEQ ID NO: 12 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-CDH6 антитела

MVLQQTQVFISLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNIYKNLAWYQ
QKPGKAPKLLIYDANTLQGTGVPSTRFSGSGSGSDFTLTISLQPEDFATYFCQQYYS
WAFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYFPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-128), кон-
стантная область (129-233)

ФИГ. 13

SEQ ID NO: 13 - Аминокислотная последовательность hH1

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYGMIVVR
QAPGKGLEWVASISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN SKNRLYLQMNSLRAEDTAVYY
CARRYYGFNYPFDYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNVDHKP
SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSLGK

сигнальная последовательность (1-19), переменная область (20-139), кон-
стантная область (140-466)

ФИГ. 14

SEQ ID NO: 14 - Аминокислотная последовательность hH2

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYGMIVVR
QAPGKGLEWVASISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY
CARRYYGFNYPFDYWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNVDHKP
SNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSLGK

сигнальная последовательность (1-19), переменная область (20-139), кон-
стантная область (140-466)

ФИГ. 15

SEQ ID NO: 15 - Аминокислотная последовательность hL2

MVLQTQVFISLLLWISGAYGAIQLTQSPSSLSASVGQRVTITCGASKSVRTYMHWYQ
QKPGKAPKLLIYSASNLEAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEP
PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-127), кон-
стантная область (128-234)

ФИГ. 16

SEQ ID NO: 16 - Аминокислотная последовательность hL3

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDTQLTQSPSSLSASVGQRVTITCGASKSVRTYMHWYQ
QKPGKQPKLLIYSASNLEAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNEP
PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-127), кон-
стантная область (128-234)

ФИГ. 17

SEQ ID NO: 17 - Аминокислотная последовательность hL4

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDTVLTQSPDSLAVSLGQRATINCGASKSVRTYMHWYQ
QKPGQQPKLLIYSASNLEAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSNEP
PYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

сигнальная последовательность (1-20), переменная область (21-127), кон-
стантная область (128-234)

10/23

ΦИГ. 18

SEQ ID NO: 18: D13 CDRH1

GFTFSDYGMI

SEQ ID NO: 19: D13 CDRH2

SISSSSSYIY

SEQ ID NO: 20: D13 CDRH3

RYYGFNYPFDY

SEQ ID NO: 21: D13 CDRL1

GASKSVRTYMH

SEQ ID NO: 22: D13 CDRL2

SASNLEA

SEQ ID NO: 23: D13 CDRL3

QQSNEPPYT

ФИГ. 19

SEQ ID NO: 24 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела
OSE-172 (OSE-172_hG4Pro)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKASGYSFTSYVHWVR
QMPGKGLEWMGNIDPSDSDTHYSPSFQGHVTLSDKSISTAYLQLSSLKASDTAMYY
CVRGGTGTLAYFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP
SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK*

SEQ ID NO: 25 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела
OSE-172 (OSE-172_hK)

MVLQTQVFISLLWISGAYGDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSYGNTY
LYWFQQRPGQSPRLLIYRVSNRFSQVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCF
QGTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC*

ФИГ. 20

SEQ ID NO: 26 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела
KWAR23 (KWAR23_hG4Pro)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYIHWVQ
QRTEQGLEWIGRIDPEDGETKYAPKFQDKATITADTSSNTAYLHLSSLTSEDVAVYY
CARWGAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK
RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
LGK*

SEQ ID NO: 27 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела
KWAR23 (KWAR23_hK)

MVLQTQVFISLLWLWISGAYGQIVLTQSPAISASPGEKVTLTCSASSSVSSSYLYWY
QQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAASYFCHQWSS
YPRTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC*

ФИГ. 21

SEQ ID NO: 28 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела
ADU-1805 (ADU-1805_hG2)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGSTFTSYWMHWVK
QAPGQGLEWIGAIYPVNSDTTYNQKFKGKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYY
CTRSFYYSLDAAWFVYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDH
KPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK*

SEQ ID NO: 29 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела
ADU-1805 (ADU-1805_hK)

MVLQQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGSRLNWLQ
QKPGKAPKRLIYATSSLD SGVPSRFS GSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYYCLQYASS
PFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC*

ФИГ. 22

SEQ ID NO: 30 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела
5C12 против SIRP α мыши 5C12_mlgD265A

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYDMAWVR
QAPTKGLEWVASISTRGGSSYYRDSVKGRFTVSRDNAKSTLYLQMDSLRS EDTATYY
CARHPGDYFDYWGQGVMVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTK
VDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFI FPPKPKDVL TITLTPKVTCVVVAISKDDPE
VQFSWFVDDDEVHTAQ TQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFP
APIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQ
PAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSH
SPGK*

SEQ ID NO: 31 - Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела
5C12 против SIRP α мыши 5C12_mlgD265A

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDTVLTQSPALAVSPGERVTISCRASESVSTLIHWYQQ
KPGQQPKLLIYLTSHLESGVPARFSGSGSGTDFTLTIDPVEADDTATYYCQQSWTHP
WTFGGGTKLELKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDG
SERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF
NRNEC*

ФИГ. 23

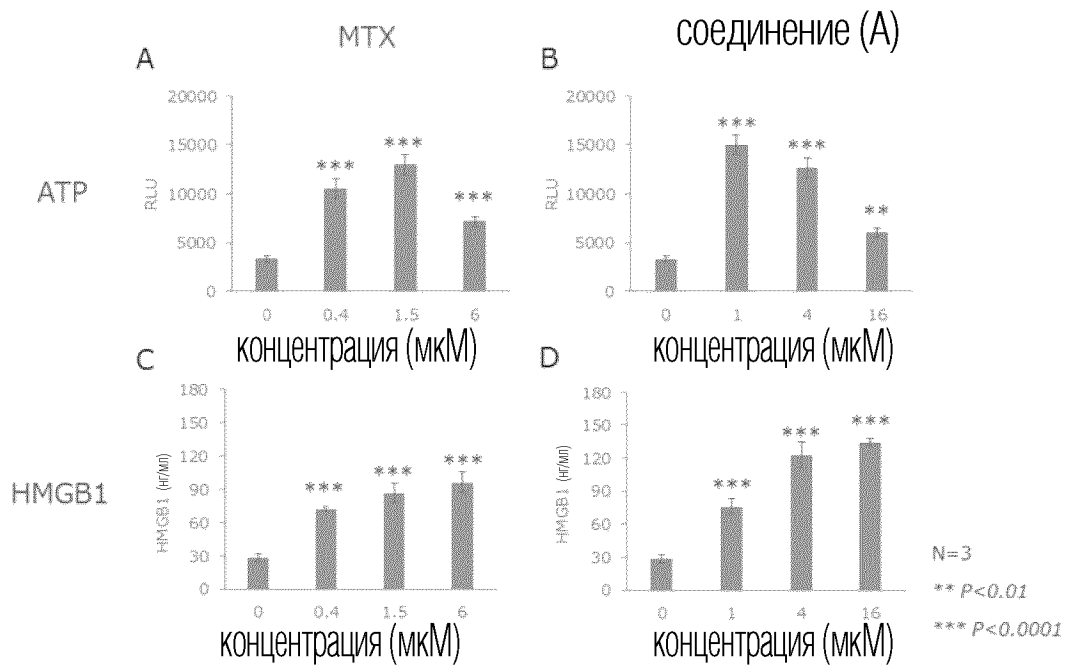
SEQ ID NO: 32 - Аминокислотная последовательность тяжелой цепи анти-PD-L1 антитела YW243.55S70_mlgG1

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVR
QAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY
CARRHWPGGFDYWGQGLTVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFP
EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASST
KVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFI FPPKPKDVL TITLTPKVT CVVVDISKDDP
EVQFSWFVDDDEVHTAQ TQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAF
PAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVS LTCMITDFFPEDITVEWQWNG
QPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHT EKSLS
HSPGK*

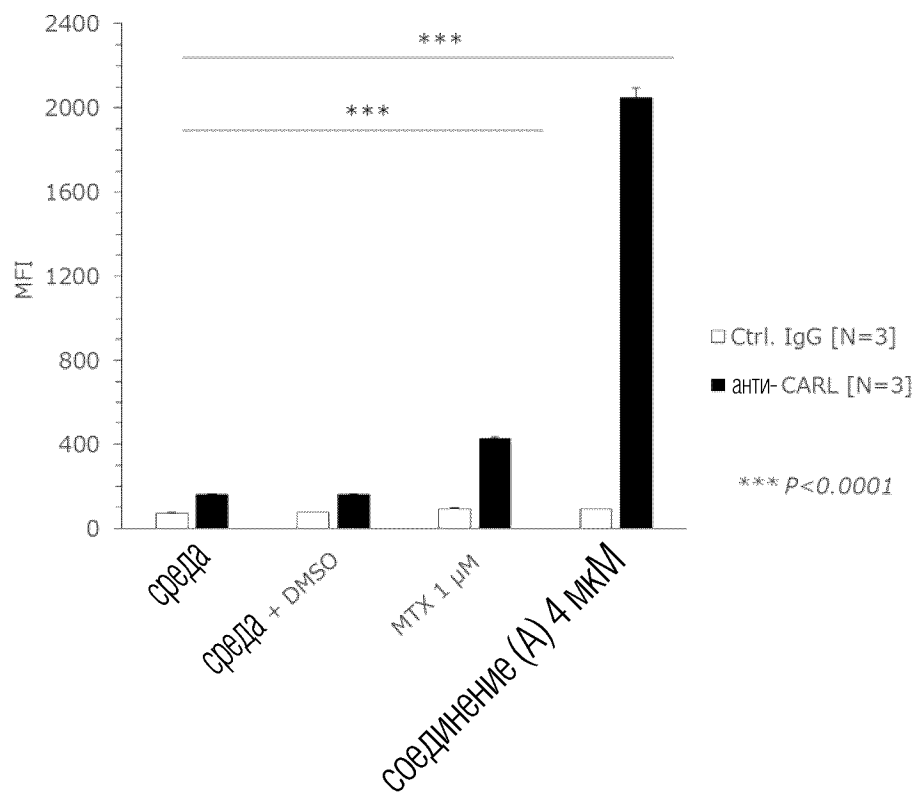
SEQ ID NO: 33 - Аминокислотная последовательность легкой цепи анти-PD-L1 антитела YW243.55S70_mlgG1

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQ
QKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYH
PATFGQGTKVEIKRADAAPTVSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKID
GSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS
FNRNEC*

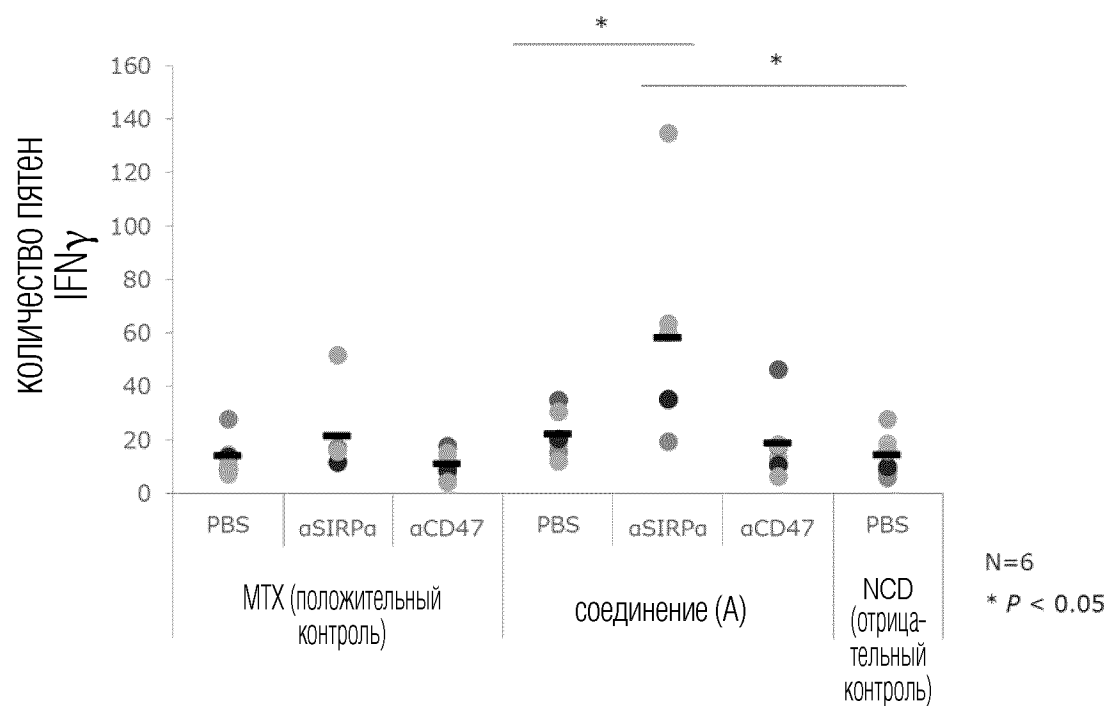
ФИГ. 24



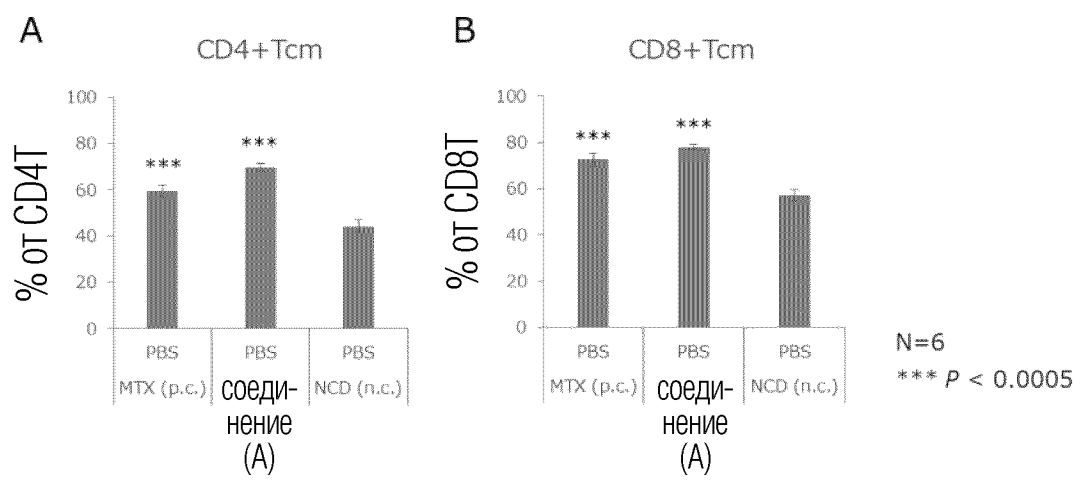
ФИГ. 25



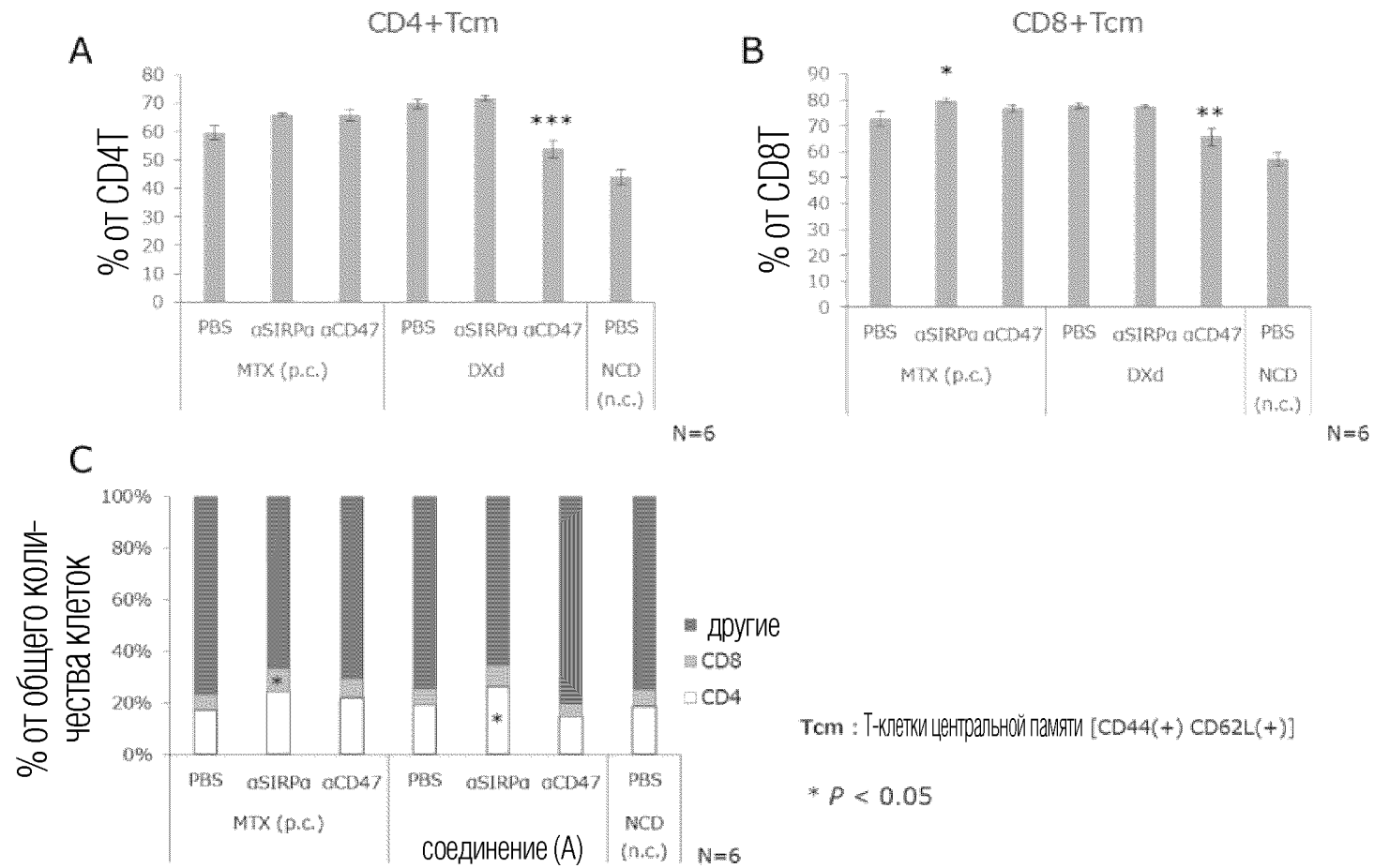
ФИГ. 28



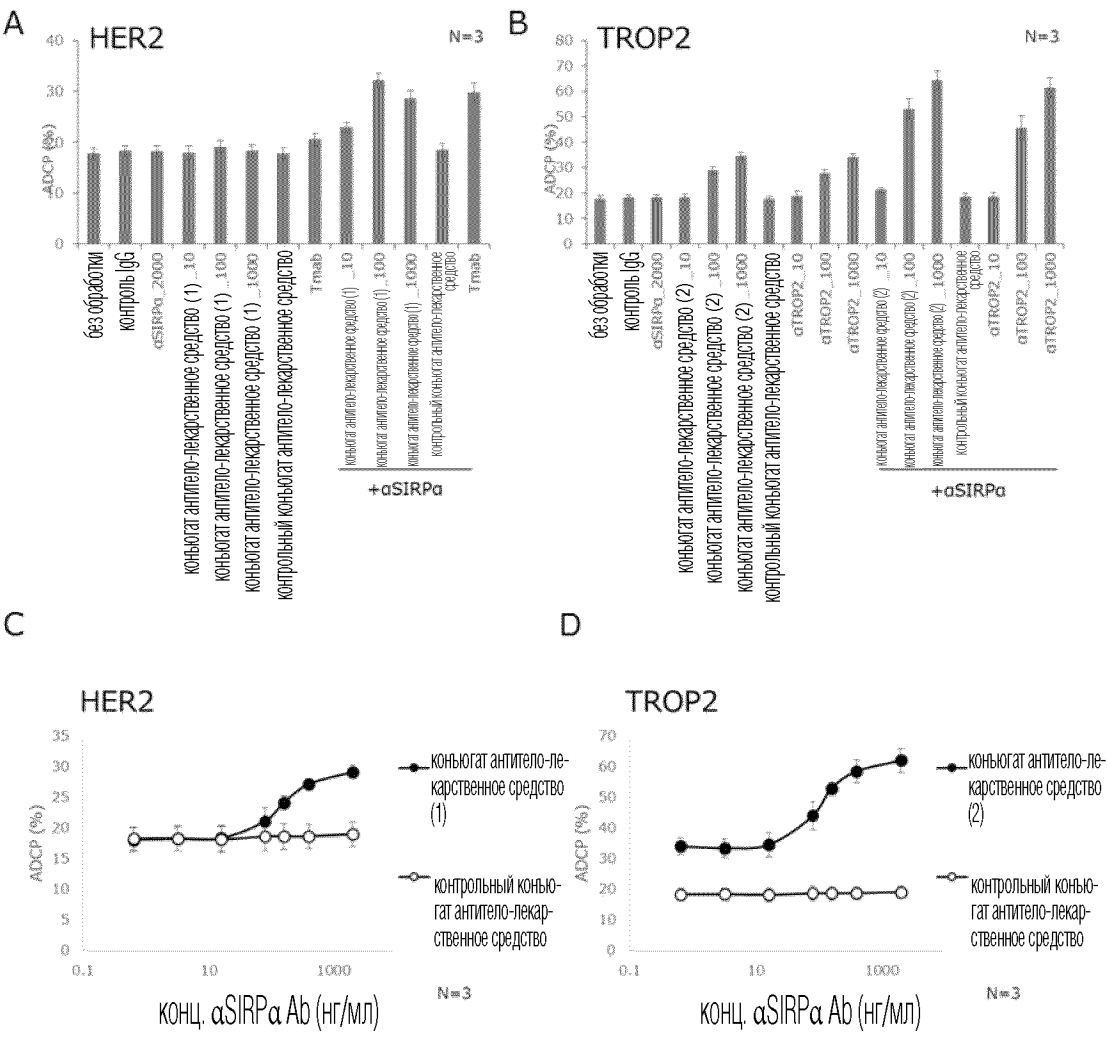
ФИГ. 29



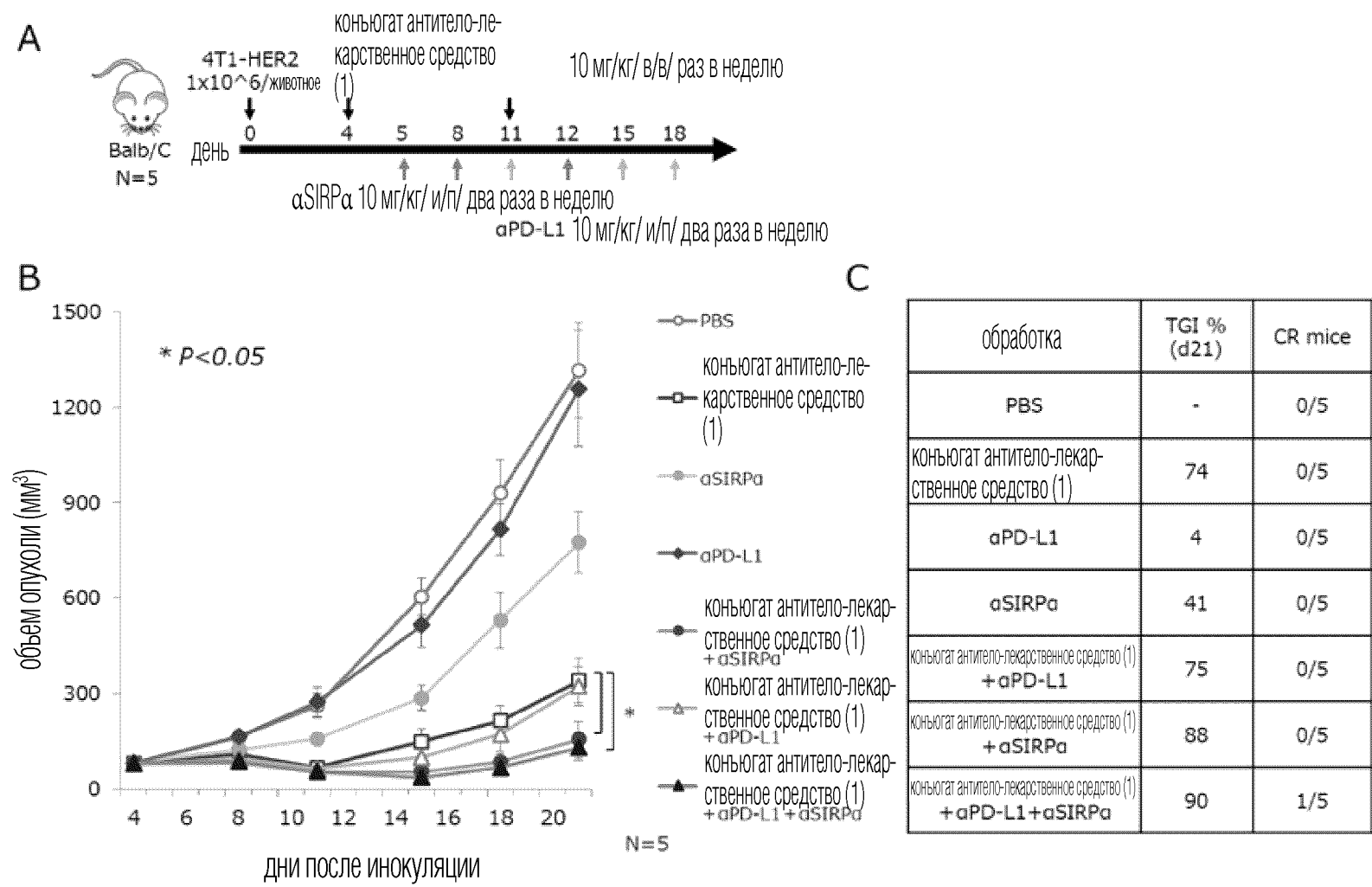
ФИГ. 30



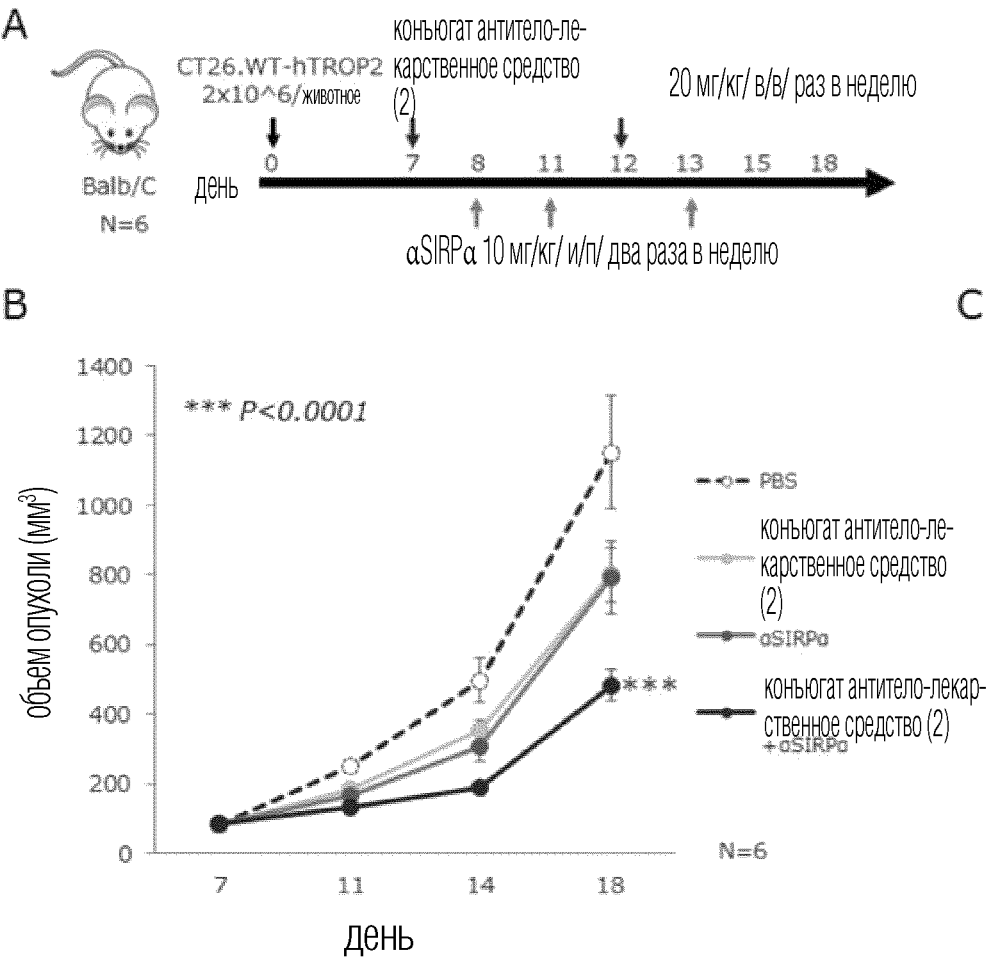
ФИГ. 31



ФИГ. 32

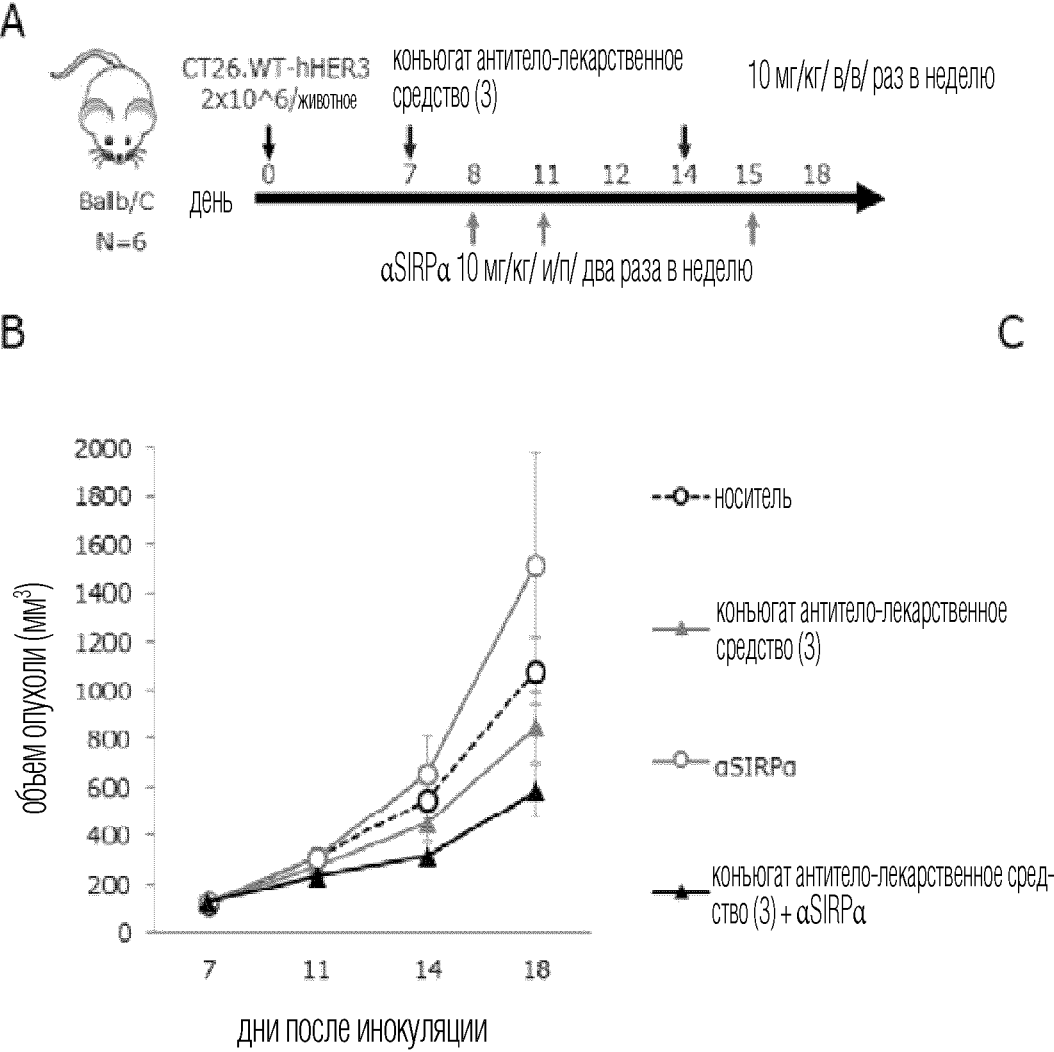


ФИГ. 33



обработка	TGI %(d18)
PBS	-
конъюгат антитело-лекарственное средство (2)	31
α SIRP α	31
конъюгат антитело-лекарственное средство (2) + α SIRP α	58

ФИГ. 34



обработка	TGI % (d18)
pes	-
конъюгат антитело-лекарственное средство (3)	21
αSIRPα	-41
конъюгат антитело-лекарственное средство (3) + αSIRPα	46