

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-515132

(P2016-515132A)

(43) 公表日 平成28年5月26日(2016.5.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 6 3
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 6 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/4523 (2006.01)	A 6 1 K 31/4523	4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/437 (2006.01)	A 6 1 K 31/437	4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 61 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-502381 (P2016-502381)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日 (2014. 3. 14)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年11月5日 (2015. 11. 5)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/027250
 (87) 国際公開番号 W02014/152358
 (87) 国際公開日 平成26年9月25日 (2014. 9. 25)
 (31) 優先権主張番号 61/782, 734
 (32) 優先日 平成25年3月14日 (2013. 3. 14)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/902, 870
 (32) 優先日 平成25年11月12日 (2013. 11. 12)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (71) 出願人 506115514
 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
 ティ オブ カリフォルニア
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
 607 オークランド フランクリン ス
 トリート 1111 トウエルフス フロ
 ア
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 MEK阻害剤化合物のHER3/EGFR阻害剤化合物との組み合わせ及び使用方法

(57) 【要約】

本発明は、MEK阻害剤(GDC-0973又はGDC-0623など)又はその薬学的に許容可能な塩及びHER3/EGFR阻害剤(MEHD7945Aなど)を含む組み合わせを提供する。組み合わせは、がんなどの過剰増殖性疾患を治療するために特に有用である。

【選択図】図13A

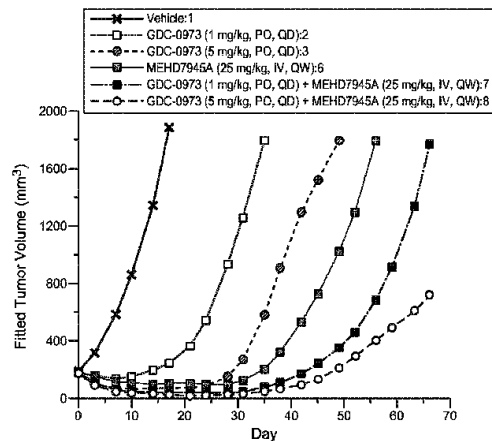


FIG. 13A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

過剰増殖性疾患の治療における同時又は連続使用のための、(i) GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及び(ii) MEHD7945A を含む薬学的製品。

【請求項 2】

過剰増殖性疾患が、がんである、請求項 1 に記載の薬学的製品。

【請求項 3】

がんが、KRAS 変異と関連している、請求項 2 に記載の薬学的製品。

【請求項 4】

がんが、AKT 変異、過剰発現又は増幅と関連している、請求項 2 又は 3 に記載の薬学的製品。

10

【請求項 5】

がんが、PI3K 変異、過剰発現又は増幅と関連している、請求項 2 から 4 の何れか一項に記載の薬学的製品。

【請求項 6】

がんが、結腸直腸がん、中皮腫、子宮内膜がん、膵臓がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、メラノーマ、胃がん、大腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、及び神経膠芽腫から選択される、請求項 2 から 5 の何れか一項に記載の薬学的製品。

【請求項 7】

GDC - 0973 又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と組み合わせて投与される、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の薬学的製品。

20

【請求項 8】

GDC - 0623 又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と組み合わせて投与される、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の薬学的製品。

【請求項 9】

GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と同時に投与される、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の薬学的製品。

【請求項 10】

GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩、及び MEHD7945A が連続的に投与される、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の薬学的製品。

30

【請求項 11】

過剰増殖性疾患を有する患者の生活の質を改善するための同時又は連続使用のための併用製剤として、(i) GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及び(ii) MEHD7945A を含む薬学的製品。

【請求項 12】

過剰増殖性疾患の治療のための医薬の調製における、(i) GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩を含む第一の組成物；及び(ii) MEHD7945A を含む第二の組成物を含む、薬学的製品の使用。

40

【請求項 13】

過剰増殖性疾患が、がんである、請求項 12 に記載の使用。

【請求項 14】

がんが、KRAS 変異と関連している、請求項 13 に記載の使用。

【請求項 15】

がんが、AKT 変異、過剰発現又は増幅と関連している、請求項 13 又は 14 に記載の使用。

【請求項 16】

がんが、PI3K 変異、過剰発現又は増幅と関連している、請求項 13 から 15 の何れか一項に記載の使用。

50

【請求項 17】

がんが、結腸直腸がん、中皮腫、子宮内膜がん、膵臓がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、メラノーマ、胃がん、大腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、及び神経膠芽腫から選択される、請求項 13 から 16 の何れか一項に記載の使用。

【請求項 18】

GDC - 0973 又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と組み合わせて投与される、請求項 12 から 17 の何れか一項に記載の使用。

【請求項 19】

GDC - 0623 又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と組み合わせて投与される、請求項 12 から 17 の何れか一項に記載の使用。

10

【請求項 20】

GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と同時に投与される、請求項 12 から 17 の何れか一項に記載の使用。

【請求項 21】

GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩、及び MEHD7945A が連続的に投与される、請求項 12 から 17 の何れか一項に記載の使用。

【請求項 22】

患者における過剰増殖性疾患の治療のための、GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及び MEHD7945A、容器、並びに GDC - 0068 若しくは GDC - 0941、又はその薬学的に許容可能な塩；及び MEHD7945A の投与を指示する添付文書又はラベルを含むキット。

20

【請求項 23】

患者における過剰増殖性疾患を治療するための方法であって、(i) GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及び (ii) MEHD7945A の治療上有効量を患者に投与することを含む、方法。

【請求項 24】

過剰増殖性疾患が、がんである、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

がんが、KRAS 変異と関連している、請求項 24 に記載の方法。

30

【請求項 26】

がんが、AKT 変異、過剰発現又は増幅と関連している、請求項 24 又は 25 に記載の方法。

【請求項 27】

がんが、PI3K 変異、過剰発現又は増幅と関連している、請求項 24 から 26 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 28】

がんが、結腸直腸がん、中皮腫、子宮内膜がん、膵臓がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、メラノーマ、胃がん、大腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、及び神経膠芽腫から選択される、請求項 24 から 27 の何れか一項に記載の方法。

40

【請求項 29】

GDC - 0973 又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と組み合わせて投与される、請求項 23 から 28 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 30】

GDC - 0623 又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と組み合わせて投与される、請求項 23 から 28 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 31】

GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩が、MEHD7945A と同時に投与される、請求項 23 から 28 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 32】

50

GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩、及び MEHD7945A が連続的に投与される、請求項 23 から 28 の何れか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、一般的に、MEK 経路を阻害する化合物の、HER3 / EGFR を遮断する化合物との組み合わせを含む、がんなどの過剰増殖性疾患に対する活性を有する化合物の薬学的組み合わせに関する。本発明はまた、哺乳動物細胞又は関連する病態のインビトロ、インサイツ、及びインビボでの診断又は治療のための組み合わせを使用する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

発明の背景

タンパク質キナーゼ (PK) は、タンパク質のチロシン、セリン及びトレオニン残基上の水酸基のリン酸化を、ATP からの末端 (ガンマ) リン酸の転移によって触媒する酵素である。シグナル伝達経路を介して、これらの酵素は、細胞増殖、分化、増殖を調節し、即ち、細胞寿命のほぼすべての態様はいろいろな点で PK 活性に依存する (Hardie, G. and Hanks, S. (1995) The Protein Kinase Facts Book. I and II, Academic Press, San Diego, CA)。更に、異常な PK 活性は、乾癬など比較的非致命的な疾患から神経膠芽腫 (脳腫瘍) など極めて悪性の疾患に至るまで疾患の宿主に関連している。プロテインキナーゼは、治療上の調節のための重要な標的クラスである (Cohen, P. (2002) Nature Rev. Drug Discovery 1:309)。

20

【0003】

MEK は、ERK 1 及び 2 における活性化に必要なチロシン及びスレオニンをリン酸化する二重特異性キナーゼである。

【0004】

二つの関連遺伝子は、それらの ERK に対する結合において異なる MEK 1 及び MEK 2 をコードする。HER3 は、ニューレグリン及び NTA K によって結合され活性化されることが出来る受容体チロシンキナーゼである。EGFR は、上皮増殖因子ファミリーのメンバーの受容体である膜貫通糖タンパク質である。

30

【0005】

現在、がんなど過剰増殖性疾患を治療するために使用することができる改善された方法及び組成物が必要とされている。

【発明の概要】

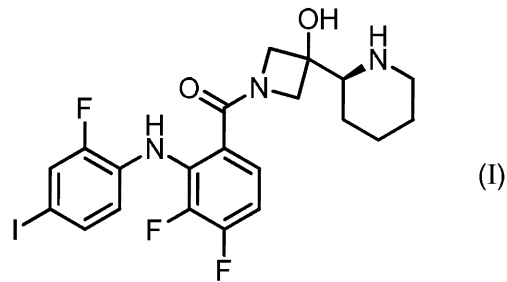
【0006】

インビトロ及びビボでがん細胞の増殖を阻害することにおける改善された効果は、MEK、HER3 及び EGFR を阻害することにより達成することができる判断されている。例えば、過剰増殖性疾患の治療的処置のために、インビトロ及びインビボにおいてがん細胞の増殖を阻害することにおける改善された効果は、GDC - 0973 若しくは GDC - 0623、又はその薬学的に許容可能な塩と MEHD7945A との組み合わせを投与することによって達成することができるが見いだされている。組み合わせ及び方法は、がんなどの過剰増殖性疾患の治療に有用であろう。所定の実施態様において、組み合わせの投与は、相乗効果をもたらすことができる。

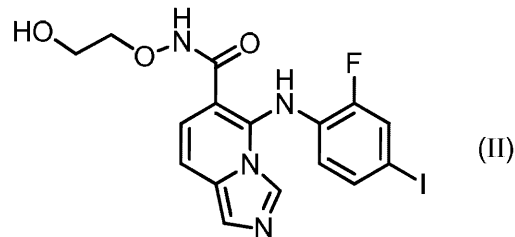
40

【0007】

従って、本発明の所定の実施態様は、構造



を有する、小分子MEK阻害剤GDC-0973（式I）、又はその薬学的に許容可能な塩（国際公開第2007/044515号を参照）、又は、構造



を有する、小分子MEK阻害剤GDC-0623（式II）、又はその薬学的に許容可能な塩（国際公開第2009/085983号を参照）を含む治療的組み合わせを、2つの同一の抗原結合ドメインを含み、その各々が特異的にHER3及びEGFRの両方に結合する、二重作用抗体である、MEHD7945A（国際公開第2010/108127号のDL11f（例えば、図33）及びSchaefer et al., Cancer Cell, 20, 472-486 (2011)を参照）と組み合わせて提供する。

【0008】

MEHD7945A及びGDC-0973又はGDC-0623は、2つの別々の薬学的組成物中に又は単一の薬学的組成物中に一緒に存在してもよい。

【0009】

従って、本発明の所定の実施態様は、過剰増殖性疾患の治療的処置のための、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩とMEHD7945Aとの組み合わせを対象とする。

【0010】

所定の実施態様において、過剰増殖性疾患はがんである。

【0011】

所定の実施態様において、がんはKRAS変異と関連している。

【0012】

所定の実施態様において、がんは、結腸直腸がん、中皮腫、子宮内膜がん、膵臓がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、黒色腫、胃がん、大腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、及び神経膠芽腫から選択される。

【0013】

所定の実施態様において、GDC-0973又はその薬学的に許容可能な塩は、MEHD7945Aと組み合わせて投与される。

【0014】

所定の実施態様において、GDC-0623又はその薬学的に許容可能な塩は、MEHD7945Aと組み合わせて投与される。

【0015】

所定の実施態様において、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学

10

20

30

40

50

的に許容可能な塩は、MEHD7945Aと同時に投与される。

【0016】

所定の実施態様において、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩及びMEHD7945Aは連続的に投与される。

【0017】

本発明の所定の実施態様は、過剰増殖性疾患を有する患者の生活の質を改善するための治療的使用のための、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩とMEHD7945Aとの組み合わせを対象とする。

【0018】

本発明の所定の実施態様は、過剰増殖性疾患の治療のための、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及びMEHD7945Aの組み合わせを対象とする。

10

【0019】

本発明の特定の実施態様は、患者における過剰増殖性疾患の治療のための医薬の調製における、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及びMEHD7945Aの組み合わせの使用を対象とする。

【0020】

本発明の特定の実施態様は、過剰増殖性疾患の治療のための、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及びMEHD7945A、容器、並びにGDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及びMEHD7945Aの投与を指示する添付文書又はラベルを含むキットを対象とする。

20

【0021】

本発明の所定の実施態様は、過剰増殖性疾患（例えば、がん）の治療における、別々の、同時又は連続使用のための併用製剤として、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩及びMEHD7945Aを含む製品を対象とする。

【0022】

本発明の所定の実施態様は、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及びMEHD7945Aの組み合わせを患者に投与することを含む、患者において過剰増殖性疾患（例えば、がん）を治療するための方法を対象とする。

【図面の簡単な説明】

30

【0023】

【図1】図1は、MEHD7945AはHER3-ECD及びEGFR-ECDの両方に結合する

【図2】図2A及びBは、MEHD7945Aは、EGFR及びHER2/HER3依存性のシグナル伝達を阻害することを実証するグラフである。

【図3】図3は、MEHD7945AによつてのFaduがんモデルにおける腫瘍増殖の阻害を示すグラフである。

【図4】図4は、多数のマウス異種移植モデルにおいて、セツキシマブ又は抗HER3と比較した、MEHD7945Aの腫瘍増殖抑制効果の概要である。

【図5】図5は、GDC-0973及びGDC-0623は、B-RAF変異腫瘍細胞の増殖を阻害するのに有効であることを実証するグラフである。

40

【図6】図6は、GDC-0973及びGDC-0623は、KRAS変異腫瘍細胞の増殖を阻害するのに有効であることを実証するグラフである。

【図7】図7は、マウス異種移植CRC KRAS DLD-1(A)及びLS180(B)モデルにおける、pAkt及びpERKのレベルに対する単剤及び併用療法の効果を実証するグラフである。

【図8】図8は、MEHD7945A、GDC-0973及びGDC-0623の単剤並びに併用療法の腫瘍増殖阻害効果を実証するグラフである。

【図9】図9は、コピメチニブにより処置されたTGF-刺激LS180又はDLD-1細胞は、AKTの増加したリン酸化を示したことを実証する。

50

【図10】図10は、MEHD7945Aとコビメチニブとの組み合わせによる、KRAS変異細胞株、LS180の増殖の阻害を実証するグラフである。

【図11】図11Aは、CD-1ヌードマウスにおけるLS180結腸直腸腺癌腫瘍異種移植片における、MEHD7945Aと組み合わせたコメチニブの効果を実証するグラフである；図11Bは、図11Aからのデータをまとめた表である。

【図12】図12Aは、C.B-17 SCIDベージュマウスにおけるKRAS変異LD-1結腸直腸腺癌腫瘍異種移植片における、MEHD7945Aと組み合わせたコメチニブの効果を実証するグラフである；図12Bは、図12Aからのデータをまとめた表である。

【図13】図13Aは、NCRのヌードマウスにおけるBxPC3膵管(Ductal Pancreatic)異種移植腫瘍に対するMEHD7945Aとの組み合わせたコメチニブの効果を実証するグラフである；図13Bは、この研究についての抗腫瘍活性をまとめた表である；図13Cは、この研究についての腫瘍の進行及び応答までの時間をまとめた表である。

【発明を実施するための形態実施】

【0024】

定義

本明細書及び添付の特許請求の範囲に使用される場合、単数形の「a」、「an」及び「the」は、文脈が別段明確に指示しない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。

【0025】

本明細書及び特許請求の範囲全体を通して、「含む(comprise)」なる単語、又は「含む(comprises)」若しくは「含んでいる(comprising)」などの変形型は、定めた整数又は整数の群の包含を意味し、任意の他の整数又は整数の群の除外を意味しないと理解される。

【0026】

本明細書における用語「抗体」は、最も広範な意味で用いられ、具体的には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体、所望の生物学的活性を示す限りにおいて抗体断片を網羅する。用語「多重特異性抗体」は、最も広い意味で用いられ、ポリエピトープ特異性を有する(すなわち、一の生物学的分子上の二以上の異なるエピトープに特異的に結合することが可能である又は二以上の異なる生物学的分子上のエピトープに特異的に結合することが可能である)抗原結合ドメインを含む抗体を具体的に網羅する。抗原結合ドメインの一の具体例は、重鎖可変ドメイン(V_H)及び軽鎖可変ドメイン(V_L)からなる $V_H V_L$ ユニットである。かかる多重特異性抗体は、限定されないが、完全長抗体、二以上の V_L 及び V_H ドメインを有する抗体、Fab、Fv、dsFv、scFvなどの抗体断片、ダイアボディ、二重特異性抗体及びトリアボディ、共有結合的又は非共有結合的に連結されている抗体断片を含む。「二重特異性抗体」は、一の生物学的分子上の二つの異なるエピトープに特異的に結合することが可能である又は二つの異なる生物学的分子上のエピトープに特異的に結合することが可能である抗原結合ドメインを含む多重特異性抗体である。二重特異性抗体はまた、本明細書において「二重特異性」を有するとして又は「二重特異的」として言及される。

【0027】

所定の実施態様において、本発明の抗体は、その標的HER又はHER(複数)に対して、解離定数(Kd)が、 $1\mu M$ 、 $100nM$ 、 $10nM$ 、 $1nM$ 、 $0.1nM$ 、 $0.01nM$ 、又は $0.001nM$ (例えば、 $10^{-8}M$ 以下、例えば、 $10^{-8}M$ から $10^{-13}M$ 、例えば、 $10^{-9}M$ から $10^{-13}M$)を有する。

【0028】

基本的な4鎖抗体単位は、2つの同一の軽(L)鎖及び2つの同一の重(H)鎖からなるヘテロ四量体糖タンパク質である(IgM抗体は、J鎖と呼ばれる付加的ポリペプチドと共に5つの基本的なヘテロ四量体単位からなり、従って、10の抗原結合部位を含み、

10

20

30

40

50

一方分泌型 I g A 抗体は重合し、J 鎖と共に 2 つから 5 つの基本的な 4 鎖単位を含む多価集合体を形成することができる)。I g G の場合、4 鎖単位は一般的に約 1 5 0 0 0 0 ダルトンである。各 L 鎖は一つの共有ジスルフィド結合により H 鎖に連結している一方、2 つの H 鎖は H 鎖のアイソタイプに応じて一又は複数のジスルフィド結合により互いに連結されている。また各 H 及び L 鎖は、規則的に離間した鎖内ジスルフィド架橋を有している。各 H 鎖は、N 末端に可変ドメイン (V H) と、これに続く 及び 鎖それぞれに対しては 3 つの定常ドメイン (C H) と、 μ 及び アイソタイプに対しては 4 つの C H ドメインを有する。各 L 鎖は、N 末端に可変ドメイン (V L) と、これに続く定常ドメイン (C L) をその他端に有する。V L は V H に整列しており、C L は重鎖の第 1 定常ドメイン (C H 1) に整列している。特定の amino 酸残基は軽鎖と重鎖の可変ドメインの界面を形成すると考えられている。V H と V L は対になって単一の抗原結合部位を形成する。異なったクラスの抗体の構造及び特性について、例えば、Basic and Clinical Immunology, 8 版、Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (編)、Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, 71 頁、6 章を参照のこと。

10

【 0 0 2 9 】

任意の脊椎動物種からの L 鎖は、それらの定常ドメインの amino 酸配列に基づき、カッパ及びラムダと呼ばれる明確に区別される 2 つのタイプのタイプを割り当てることができる。それらの重鎖の定常ドメイン (C H) の amino 酸配列に基づき、免疫グロブリンは、種々のクラス又はアイソタイプに割り当てることができる。免疫グロブリンには、それぞれ、 γ 、 μ 、 δ 、 ϵ 及び α と命名された重鎖を有する I g A、I g D、I g E、I g G 及び I g M の 5 つのクラスがある。 μ 及び δ クラスは更に C H 配列及び機能の比較的小さな差異に基づいてサブクラスに分割され、例えばヒトでは、次のサブクラス：I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 及び I g A 2 を発現する。

20

【 0 0 3 0 】

「可変」なる用語は、可変ドメインの所定のセグメントが抗体間で配列の点で広範囲に相違していることを意味する。V ドメインは抗原結合を媒介し、特定の抗体のその特定の抗原に対する特異性を定める。しかしながら、可変性は可変ドメインの 1 1 0 amino 酸全長にわたって均一に分布しているのではない。その代わりに、V 領域は、「超可変領域」又は H V R と呼ばれる極度の可変性のより短い領域により分離された 1 5 - 3 0 の amino 酸のフレームワーク領域 (F R) と呼ばれる相対的に不変の伸長部からなる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、シート構造を結合し、ある場合にはその一部を形成するループを形成する、3 つの高頻度可変領域により連結されたシート配置を主にとる 4 つの F R をそれぞれ含んでいる。各鎖の超可変領域は F R によって極く近傍に一緒に保持され、他の鎖からの超可変領域とともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) を参照)。定常ドメインは抗体の抗原への結合に直接は関係しないが、例えば抗体依存性細胞傷害性 (A D C C) における抗体の関与のような様々なエフェクター機能を示す。

30

【 0 0 3 1 】

用語「超可変領域」、「H V R」又は「H V」は、本明細書で使用される場合、配列が超可変であるか、及び / 又は構造的に定義されたループを形成する抗体可変ドメインのその領域を指す。一般的に、抗体は、6 つの H V R : V H に 3 つ (H V R - H 1、H V R - H 2、H V R - H 3)、及び V L に 3 つ (H V R - L 1、H V R - L 2、H V R - L 3) を含む。天然型抗体では、H 3 及び L 3 は 6 つの H V R のうちで最も多様性を示し、特に H 3 は抗体に良好な特異性を与えることにおいて特有の役割を果たすと考えられている。例えば、Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000); Johnson and Wu in Methods in Molecular Biology 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003) を参照。実際、天然に生じるラクダ科の重鎖のみからなる抗体は、軽鎖の非存在下で機能的で安定している。例えば、Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993); Sheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996) を参照。

40

50

【 0 0 3 2 】

H V R は、一般に超可変ループから及び / 又は「相補性決定領域」(C D R) からのアミノ酸残基を含み、後者は最も高い配列可変性のものであり、及び / 又は抗原認識に関与している。多数の H V R の描写が使用され、ここに含まれる。K a b a t 相補性決定領域 (C D R) は配列可変性に基づいており、最も一般的に使用されている (K a b a t et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。C h o t h i a は、代わりに構造的ループの位置に言及している (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。A b M H V R は、K a b a t H V R と C h o t h i a 構造的ループの間の妥協を表し、O x f o r d M o l e c u l a r の A b M 抗体モデリングソフトウェアにより使用される。「接触」H V R は、利用できる複合体結晶構造の解析に基づく。これらの H V R の各々からの残基は以下に記される。

10

ループ	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
	(Kabatの番号付け)			
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
	(Chothiaの番号付け)			
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

20

【 0 0 3 3 】

H V R は、次のような「拡大 H V R」を含むことができる：V L の 2 4 - 3 6 又は 2 4 - 3 4 (L 1)、4 6 - 5 6 又は 5 0 - 5 6 (L 2) 及び 8 9 - 9 7 又は 8 9 - 9 6 (L 3) と、V H の 2 6 - 3 5 (H 1)、5 0 - 6 5 又は 4 7 - 6 5 (H 2) 及び 9 3 - 1 0 2、9 4 - 1 0 2、又は 9 5 - 1 0 2 (H 3)。可変ドメイン残基には、これら各々を定義するために、上掲の K a b a t らに従って番号を付した。

30

【 0 0 3 4 】

「フレームワーク」又は「F R」残基は、本明細書で定義される H V R 残基以外の可変ドメイン残基である。

【 0 0 3 5 】

「K a b a t による可変ドメイン残基番号付け」又は「K a b a t に記載のアミノ酸位置の番号付け」なる用語及びその異なる言い回しは、上掲の K a b a t 等の抗体の編集の重鎖可変ドメイン又は軽鎖可変ドメインに用いられる番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを用いると、実際の線形アミノ酸配列は、可変ドメインの F R 又は H V R 内の短縮又は挿入に相当する 2、3 のアミノ酸又は付加的なアミノ酸を含みうる。例えば、重鎖可変ドメインには、重鎖 F R 残基 8 2 の後に挿入された残基 (例えばカバットによる残基 8 2 a、8 2 b 及び 8 2 c など) と、H 2 の残基 5 2 の後に単一アミノ酸の挿入 (K a b a t による残基 5 2 a) を含んでもよい。残基の K a b a t 番号付けは、「標準の」K a b a t 番号付け配列を有する抗体の配列の相同領域でアライメントすることによって、所与の抗体について決定されてもよい。

40

【 0 0 3 6 】

50

一般的に、可変ドメインの残基（およそ、軽鎖の残基 1 - 107 と重鎖の残基 1 - 113）を指す場合には K a b a t 番号付けシステムが用いられる（例として、Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。免疫グロブリン重鎖定常領域内の残基に言及する場合、「E U 番号付けシステム」又は「E U インデックス」が、一般的に使用される（例えば、上掲の K a b a t らに報告される E U インデックス）。「K a b a t の E U インデックス」はヒト I g G 1 の E U 抗体の残基番号を指す。本明細書中で特に述べない限り、抗体の可変ドメイン内の残基番号の参照は、K a b a t 番号付けシステムによる残基番号付けを意味する。本明細書中で特に述べない限り、抗体の定常ドメイン内の残基番号の参照は、E U 番号付けシステムによる残基番号付けを意味する（例えば、国際公開第 2006/073941 号）。

10

【0037】

「親和性」とは、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総和の強度を指す。本明細書で使用する場合、特に断らない限り、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体と抗原）のメンバー間の 1 : 1 の相互作用を反映している本質的な結合親和性を指す。そのパートナー Y に対する分子 X の親和性は、一般的に解離定数 (K_d) で表すことができる。親和性は、本明細書に記載したものを含む、当該技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。

【0038】

「親和成熟」抗体とは、その改変を有していない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性の改善を生じさせる、その一又は複数の H V R 又はフレームワークにおいて一又は複数の改変を含むものである。一実施態様では、親和性成熟抗体は、標的抗原に対して、ナノモル単位の、更にはピコモル単位の親和性を有する。親和性成熟抗体は、当該技術分野において既知の所定の手順を用いて生成され得る。例えば、Marks et al. Bio/Technology 10:779-783 (1992) は、V H ドメイン及び V L ドメインのシャフリングによる親和成熟を記述している。H V R 及び / 又はフレームワーク残基のランダム変異誘発は、例えば、Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); 及び Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992) に記載されている。

20

30

【0039】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体の 5 つの主要なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G 及び I g M があり、それらの幾つかは更にサブクラス（アイソタイプ）、例えば I g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g A₁ 及び I g A₂ に分類され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインはそれぞれ、 μ 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及び α と呼ばれる。

【0040】

用語「患者」（同義的に「個体」及び「被験体」称される）はヒト患者である。患者は「がん患者」、即ちがんの一以上の症状を患っているか又はその危険にさらされている者であってもよい。

40

【0041】

用語「治療する (treat)」及び「治療 (treatment)」は、治療的処置を指し、ここで、その目的は、がんの増殖、発生又は転移などの所望されない生理学的変化又は障害を予防し又は遅延（軽減）させることである。本発明の目的のために、有益な又は所望の臨床結果は、限定されないが、検出可能であるか又は検出不能であるかどうかによらず、症状の緩和、疾患の範囲の縮小、疾患の安定した（すなわち、悪化しない）状態、疾患の進行の遅延又は緩徐化、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解（部分的又は全体的かによらない）を含む。

【0042】

50

治療を受けない場合に予想される生存期間と比較して、「治療」はまた、生存期間の延長を意味し得る。治療を必要とする者は、既に病気又は障害を有する者、例えば、がん患者を含む。

【0043】

「治療上有効量」なる句は、(i)特定の疾患、病気、又は障害を治療し、(ii)特定の疾患の一以上の症状を軽減、改善、又は除去し、又は(iii)本明細書に記載される特定の疾患、病気、又は障害の一以上の症状の発症を予防し又は遅延させる量を意味する。がんの場合は、治療上有効量は、がん細胞の数を減少させ；腫瘍の大きさを小さくし；がん細胞の周辺器官への浸潤を阻害し（例えば、ある程度に遅くする、好ましくは停止させる）；腫瘍の転移を阻害（例えば、ある程度に遅くする、好ましくは停止させる）し；腫瘍の増殖をある程度阻害し；及び/又はがんに関連する一又は複数の症状をある程度和らげることが可能である。組み合わせが、既存のがん細胞の増殖を妨げ及び/又は死滅させる範囲において、それは細胞分裂停止性及び/又は細胞障害性である。がん治療において、有効性は、例えば、疾患の進行までの時間(TTP)を評価する及び/又は奏効率(RR)を決定することにより、測定することができる。

10

【0044】

用語「がん」及び「がん性」は、無秩序な細胞増殖により典型的特徴付けられる哺乳動物における生理学的状態を指す。「腫瘍」は、一以上のがん性細胞を含む。がんの例には、限定するものではないが、癌、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫及び白血病又はリンパ性悪性腫瘍が含まれる。このようながんのより具体的な例には、扁平上皮がん（例えば上皮の扁平細胞がん）、小細胞肺がんを含む肺がん、非小細胞肺がん（「NSCLC」）、肺の腺癌及び肺の扁平上皮癌、腹膜のがん、肝細胞性がん、胃腸がんを含む胃(gastric、stomach)がん、膵がん、神経膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝がん、膀胱がん、肝細胞がん、乳がん、大腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内ないし子宮癌、唾液腺癌、腎臓がん又は腎がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝癌、肛門癌、陰茎癌、並びに頭部及び頸部のがんが含まれる。本明細書で使用される場合、胃がんは、胃の任意の部分に発生することができ、胃全体及び他の臓器；特に食道、肺、リンパ節、肝臓に広がる場合がある胃がんを含む。

20

【0045】

「化学療法剤」は、作用機序にかかわらずがんの治療に有用な、生物学的（例えば、巨大分子）又は化学的（例えば、小分子）化合物である。

30

【0046】

「白金薬剤」は、白金を含む化学療法剤、例えば、カルボプラチン、シスプラチン、及びオキサリプラチンである。

【0047】

用語「哺乳動物」は、限定されないが、ヒト、マウス、ラット、モルモット、サル、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、及び家禽を含む。一実施態様において、哺乳動物はヒトである。

【0048】

「添付文書」という用語は、治療製品の商品包装に通例含まれる説明書を指すのに使用され、このような治療製品の使用に関する、適応症、使用法、用量、投与、禁忌及び/又は警告についての情報を含む。

40

【0049】

「薬学的に許容可能な塩」なる語句は、本明細書中で使用される場合、化合物の薬学的に受容可能な有機若しくは無機の塩をいう。典型的な塩としては、ビスメシレート、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、酸性酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩

50

「メシル酸」、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、及びパモ酸塩 (p a m o a t e) (即ち、1 , 1' - メチレン - ビス - (2 - ヒドロキシ - 3 - ナフトエート) が挙げられるが、これらに限定されない。薬学的に許容可能な塩は、酢酸イオン、コハク酸イオン又は他の対イオンなどの別の分子の包含を伴ってもよい。対イオンは、親化合物の電荷を安定化する任意の有機又は無機部分であり得る。更に、薬学的に許容可能な塩は、その構造内に複数の荷電原子を有することができる。複数の荷電原子が薬学的に許容可能な塩の一部である場合、複数の対イオンを有することができる。したがって、薬学的に許容可能な塩は、一又は複数の荷電原子及び / 又は一又は複数の対イオンを有してもよい。

【 0 0 5 0 】

所望される薬学的に許容可能な塩は、当技術分野で利用可能な任意の適切な方法によって調製することができる。例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、メタンスルホン酸、リン酸などといった無機酸による遊離塩基の処理、又は酢酸、マレイン酸、コハク酸、マンデル酸、フマル酸、マロン酸、ピルビン酸、シュウ酸、グリコール酸、サリチル酸、ピラノシジル酸、例としてグルクロン酸又はガラクトン酸、ヒドロキシ酸、例えばクエン酸又は酒石酸、アミノ酸、例えばアスパラギン酸又はグルタミン酸、芳香族酸、例えば安息香酸又はニッケイ酸、スルホン酸、例えば p - トルエンスルホン酸又はエタンスルホン酸などといった有機酸による遊離塩基の処理。一般に塩基性の薬学的化合物からの薬学的に有用又は許容可能な塩の形成に適すると考えられる酸は、例えば、P. Stahl et al, Camille G. (eds.) Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use. (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge et al, Journal of Pharmaceutical Sciences (1977) 66(1) 1 19; P. Gould, International J. of Pharmaceutics (1986) 33 201 217 ; Anderson et al, The Practice of Medicinal Chemistry (1996), Academic Press, New York; Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton PA ; 及び The Orange Book (Food & Drug Administration, Washington, D.C. ウェブサイト上) で論じられている。これらの開示は、これらを参照によって本明細書に組み込まれる。

【 0 0 5 1 】

「薬学的に許容可能な」なる句は、物質又は組成物が、製剤を含む他の成分及び / 又はそれによって治療される患者と化学的及び / 又は毒物学的に適合性であることを示す。本明細書で使用される用語「相乗的」は、二以上の単一の薬剤の相加効果よりも効果的である治療的組み合わせを指す。相乗的相互作用の決定は、当技術分野で公知のアッセイから得られた結果に基づいていてもよい。これらのアッセイの結果は、コンビネーションインデックス (C o m b i n a t i o n I n d e x) を得るために、C h o u 及び T a l a l a y の組み合わせ法及び C a l c u S y n ソフトウェアを用いた用量効果分析を使用して分析することができる (Chou and Talalay, 1984, Adv. Enzyme Regul. 22:27-55) 。本発明において提供される組み合わせを、抗がん剤間の相乗効果、相加効果、及び拮抗作用を定量化するための標準的プログラムを利用して解析することができる。例示的なプログラムは、C h o u 及び T a l a l a y により、"New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy," Academic Press, 1987, 2章に記載されている。0 . 8 未満のコンビネーションインデックス値は相乗効果を示し、1 . 2 より大きい値は拮抗作用を示し、0 . 8 から 1 . 2 の値は相加効果を示す。併用療法は、「相乗効果」を提供し「相乗的」であることが判明し、即ち、活性成分が共に使用される場合に達成される効果は、別個に化合物を使用することから生じる効果の和よりも大きい。従って、実施態様においては、活性成分の組み合わせられた量は、相乗効果を提供するのに有効である (本明細書では、相乗的に有効な量と呼ぶ) 。相乗効果は、活性成分が、(1) 同時処方され、組み合わせられた単位投薬製剤として同時に投与又は送達され ; (2) 別個の製剤として交互に又は並行して送達される場合 ; 又は (3) ある種の他のレジメンによって、達成することができる。交互療法で送達される場合、相乗効果は、化合物が、例えば別個にシリンジで異なった注射によって連続的に投与され又は送達されるときに達成されうる。一般に、交互治療の間

10

20

30

40

50

、各活性成分の有効用量は、経時的に、即ち連続的に投与されるが、併用療法では、二つ以上の活性成分の有効用量が一緒に投与される。組み合わせ効果は、B L I S Sの独立モデル及び最高の単一薬剤（H S A）モデルの両方を用いて評価された（Lehar et al. 2007, Molecular Systems Biology 3:80）。B L I S Sスコアは、単一薬剤からの増強の程度を定量化し、正のB L I S Sスコア（0より大きい）は単純加算よりも大きいことを示唆している。250より大きい累積正B L I S Sのスコアは、試験された濃度範囲内で観察された強い相乗効果と考えられる。H S Aスコア（0より大きい）は、単一薬剤応答の最大値よりも対応する濃度で大きい組み合わせ効果を示唆している。

【0052】

所与の過剰増殖性疾患の治療の改善を提供することに加えて、本発明の所定の組み合わせの投与は、異なる治療を受ける同一の患者が経験する生活の質に比べて、患者の生活の質を改善することができる。例えば、患者への組み合わせの投与は、同一患者が、治療として個々の薬剤のうちの1つのみを受けた場合にその患者が経験するであろう生活の質に比べて生活の質の向上を提供することができる。例えば、本明細書に記載される組み合わせによる併用療法は、必要とされる治療剤の用量を低下させることができる。併用療法は、化学療法剤の使用の必要性及び高用量の化学療法剤に関連した副作用（例えば、悪心、嘔吐、脱毛、発疹、食欲不振、体重減少など）減少させるか又は排除し得る。組み合わせはまた、腫瘍量、及び、痛み、臓器不全、体重減少などの関連する有害事象の減少を引き起こす可能性がある。従って、本発明の一態様は、本明細書に記載される薬剤により過剰増殖性疾患の治療を受けた患者の生活の質を改善するための治療的使用のための組み合わせを提供する。

【0053】

一態様は、患者に、本明細書に記載される組み合わせを投与することを含む、がん罹患している患者における腫瘍増殖阻害（TGI）の方法を含む。所定の実施態様において、組み合わせは相乗効果を与える。

【0054】

所定の実施態様において、組み合わせのTGIは、GDC-0973及びGDC-0623又はMEHD7945A単独の何れかのTGIよりも大きい。特定の実施態様において、組み合わせのTGIは、薬剤単独のTGIよりもおよそ10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70又は75パーセント大きい。

【0055】

TGIを測定する方法は、当該技術分野で知られている。一例の方法では、平均腫瘍体積が決定され、治療前と後で患者から比較した。腫瘍体積は、当該技術分野において任意の方法、例えばUltraCal IVキャリパー（Fred V. Fowler Company）を使用して、又はPET（陽電子放射断層撮影法）によって、又は他の方法によって、二次元（長さ×幅）で測定することができる。腫瘍体積（ mm^3 ）=（長さ×幅²）×0.5なる式を用いることができる。複数の期間にわたって腫瘍体積の測定を、混合モデリング線形混合効果（LME）のアプローチを用いて行うことができる（Pinheiro et al. 2009）。このアプローチは、反復測定（及び複数の患者）の両方に対処することができる。キュービックスプライン回帰は、各用量レベルで腫瘍体積の経時変化に対する非線形プロファイルに適合するために使用することができる。これらの非線形プロファイルは、その後、混合モデル内での用量に関連することができる。ビヒクルのパーセントとしての腫瘍増殖阻害は、以下の式を用いて、ビヒクルに対する日当たりの近似曲線下面積（AUC）のパーセントとして計算することができる。

$$\% \text{TGI} = 100 \left[1 - \left(\frac{\text{AUC}_{\text{処置}} / \text{日}}{\text{AUC}_{\text{ビヒクル}} / \text{日}} \right) \right]$$

10

20

30

40

50

【0056】

この式を用いて、100%のTGI値は腫瘍鬱血を示し、約1%より大きく約100%未満は腫瘍増殖阻害を示し、約100%より大きいものは腫瘍退縮を示す。

【0057】

II. MEK及びHER3/EGFR阻害剤

A. MEK阻害剤

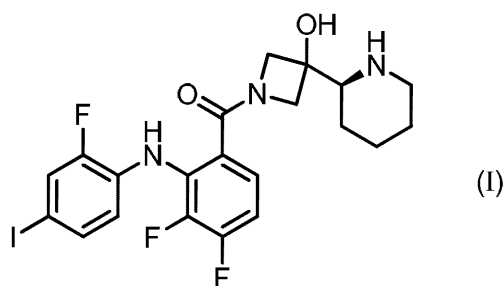
本発明は、MEK阻害剤並びにHER3及びEGFR阻害剤による併用療法におけるそれらの使用に関する。MEK阻害剤は広く概説されている(S. Price, Putative Allosteric MEK1 and MEK2 inhibitors, Expert Opin. Ther. Patents, 2008 18(6):603; J.I. Trujillo, MEK Inhibitors: a patent review 2008-2010 Expert Opin. Ther. Patents 2011 21(7):1045。好ましくは、MEK阻害剤は、GDC-0973(コビメチニブ)、GDC-0623、AZD6244(セルメチニブ)、AZD8330、BAY 86-9766(レファメチニブ)、GSK-1120212(トラメチニブ)、ARRY-162、MSC1936369、MK162、TAK733及びPD-325901から選択される。最も好ましくは、MEK阻害剤は、GDC-0973(コビメチニブ)又はGDC-0623である。

10

【0058】

GDC-0973は経口で利用可能で、MEK1及びMEK2の高度に選択的な阻害剤であり、RAS/RAF経路の中心的な構成要素である。GDC-0973は、ケミカルアブストラクト登録番号(CAS)934660-93-2及び次の化学構造を有する：

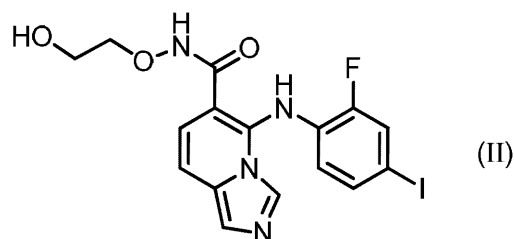
20



【0059】

30

GDC-0623は、ケミカルアブストラクト登録番号(CAS)1168091-68-6及び次の化学構造を有する：



40

【0060】

A. MEK阻害剤の調製：GDC-0973及びGDC-0623

国際公開第2007044515号の実施例22に記載されるように又は別法で、Rice, et al. (K. D. Rice et al., Novel Carboxamide-Based Allosteric MEK inhibitors: Discovery and Optimization Efforts toward XL518 (GDC-0973, Med. Chem. Lett. 2012 3:416)により記載されるように、MEK阻害剤GDC-0973(式I)、又はその薬学的に許容可能な塩を調製することができる。

【0061】

MEK阻害剤GDC-0623(式II)、又は薬学的に許容可能な塩は、例えば、国際公開第2009/085983号の実施例5に記載されるように、製造することができ

50

る。

B. HER3 / EGFR 阻害剤

本発明は、HER3、EGFR、又はHER3及びEGFRの両方を阻害する化合物、及びMEK阻害剤を用いる併用療法におけるそれらの使用に関する。HER3、EGFR、及び二重HER3 / EGFR阻害剤は、抗体又は他の抗原結合タンパク質、小分子、核酸(s iRNAなど)、又は他の任意のそのような分子であることができる。

【0062】

一実施態様において、併用療法は、HER3阻害剤に関する。例示的な抗HER3抗体は、国際公開第2011076683号(Mab205.10.1, Mab205.10.2, Mab205.10.3)、米国特許第7846440号；米国特許第7705130号及び米国特許第5968511号に記載される。

10

【0063】

一実施態様において、併用療法は、EGFR阻害剤に関する。EGFR阻害剤の例は、Mab579(ATCC CRL HB 8506)、Mab455(ATCC CRL HB 8507)、Mab225(ATCC CRL 8508)、Mab528(ATCC CRL 8509)(米国特許第4943533号, Mendelsohn等を参照)及びその変異体、例えばキメラ化225(C225又はセツキシマブ; ERBITUX(登録商標))及び再形成ヒト225(H225)(国際公開第96/40210号、Imclone Systems Inc.を参照); IMC-11F8, 完全ヒトEGFR標的抗体(Imclone); タイプII変異体EGFRに結合する抗体(米国特許第5212290号); 米国特許第5891996号に記載されているようなEGFRに結合するヒト化及びキメラ化抗体; 及びEGFRに結合するヒト抗体、例えばABX-EGF又はパニツムマブ(国際公開第98/50433, Abgenix / Amgenを参照); EMD55900(Stragliotto et al. Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)); EMD7200(マツズマブ), EGFR結合についてEGF及びTGF- 双方と競合するEGFRに対するヒト化EGFR(EMD/Merck); ヒトEGFR抗体, HuMax-EGFR(GenMab); E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3及びE7.6.3として知られ、米国特許第6235883号に記載されている完全なヒト抗体; MDX-447(Medarex Inc); 及びmAb806又はヒト化mAb806(Johns et al., J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004))を含む。抗EGFR抗体は細胞傷害剤とコンジュゲートされることができ、よってイムノコンジュゲートを生じる(例えば、欧州特許出願公開第659439A2号、Merck Patent GmbHを参照)。EGFR阻害剤は小分子、例えば米国特許第5616582号、同第5457105号、同第5475001号、同第5654307号、同第5679683号、同第6084095号、同第6265410号、同第6455534号、同第6521620号、同第6596726号、同第6713484号、同第5770599号、同第6140332号、同第5866572号、同第6399602号、同第6344459号、同第6602863号、同第6391874号、同第6344455号、同第5760041号、同第6002008号、及び同第5747498、並びに次のPCT公報: 国際公開第98/14451号、国際公開第98/50038号、国際公開第99/09016号、及び国際公開第99/24037号に記載されている化合物を含む。特定の小分子EGFR阻害剤は、OSI-774(CP-358774、エルロチニブ, タルセバ(登録商標) Genentech / OSI Pharmaceuticals); PD 183805(CI 1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-ホルホルニル)プロポキシ]-6-キナゾリニル]-, 二塩酸塩, Pfizer Inc.); ZD1839、ゲフィチニブ(IRESSATM) 4-(3'-クロロ-4'-フルオロアニリノ)-7-メトキシ-6-(3-ホルホルノプロポキシ)キナゾリン、AstraZeneca); ZM105180((6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン、Zeneca); BIBX-1382(N8-(3-クロロ-4-フルオロ-フェニ

20

30

40

50

ル) - N2 - (1 - メチル - ピペリジン - 4 - イル) - ピリミド[5, 4 - d]ピリミジン - 2, 8 - ジアミン, Boehringer Ingelheim); PKI - 166 ((R) - 4 - [4 - [(1 - フェニルエチル)アミノ] - 1H - ピロロ[2, 3 - d]ピリミジン - 6 - イル] - フェノール); (R) - 6 - (4 - ヒドロキシフェニル) - 4 - [(1 - フェニルエチル)アミノ] - 7H - ピロロ[2, 3 - d]ピリミジン); CL - 387785 (N - [4 - [(3 - プロモフェニル)アミノ] - 6 - キナゾリニル] - 2 - ブチナミド); EKB - 569 (N - [4 - [(3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル)アミノ] - 3 - シアノ - 7 - エトキシ - 6 - キノリニル] - 4 - (ジメチルアミノ) - 2 - プテナミド) (Wyeth); AG1478 (Pfizer); 及び AG1571 (SU5271; Pfizer) を含む。

10

【0064】

一実施態様において、併用療法は、二重特異性HER3/EGFR阻害剤に関する。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR阻害剤は二重特異性抗体である。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR阻害剤は、HER3及びEGFRの両方に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む二重特異性抗体である。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR阻害剤は、2つの同一の抗原結合ドメインを含む二重特異性抗体であって、該ドメインの各々はHER3及びEGFRの両方に特異的に結合する。このような抗体は、国際公開第2010108127号、米国特許出願公開第20100255010号及びSchaefer et al, Cancer Cell, 20: 472-486 (2011)に記載されている。HER3及びEGFRの両方に特異的に結合する抗原結合ドメインを含むそのような特定の二重特異性HER3/EGFR阻害剤は、MEHD7945Aとしても知られているDL11fである。MEHD7945Aは、EGFRのドメインIII及びHER3のドメインIIIに結合することができる。MEHD7945Aはまた、Fc受容体に結合することができ、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)を誘発する可能性がある。MEHD7945Aは、抗EGFR治療に非応答性であるモデルを含む様々な非臨床モデルにおいて強力な抗腫瘍活性を示す。

20

【0065】

2つの同一の抗原結合ドメインを含み、その各々がHER3及びEGFRの両方に特異的に結合する二重作用抗体MEHD7945Aは、国際公開第2010/108127号(DL11f、例えば図33を参照)及びSchaefer et al., Cancer Cell, 20, 472-486 (2011)に記載されるように調整されることができる。MEHD7945Aの重鎖可変ドメインについてのアミノ酸配列は、配列番号1として提供され、MEHD7945Aの軽鎖可変ドメインについてのアミノ酸配列は、配列番号2に提供される。

30

【0066】

一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列のHVRの一つ、二つ、及び/又は三つを含むV_Hを含む。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列のHVRの一つ、二つ、及び/又は三つを含むV_H及び配列番号2のアミノ酸配列のHVRの一つ、二つ、及び/又は三つを含むV_Lを含む。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列の三つ全てのHVRを含むV_H及び配列番号2のアミノ酸配列の三つ全てのHVRを含むV_Lを含む。幾つかの実施態様において、HVRは拡大HVRである。特定の一実施態様において、HVR-H1は、アミノ酸配列LSGDWIH(配列番号3)を含み、HVR-H2は、アミノ酸配列VGEISAAAGGYTD(配列番号4)を含み、HVR-H3は、アミノ酸配列ARESRVSFEAAAMDY(配列番号5)を含み、HVR-L1は、アミノ酸配列NIATDVA(配列番号6)を含み、HVR-L2は、アミノ酸配列SASF(配列番号7)を含み、HVR-L3は、アミノ酸配列SEPEPYT(配列番号8)を含む。

40

50

【0067】

一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_Hを含む。一実施態様において、配列番号1のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_Hを含む二重特異性HER3/EGFRは、アミノ酸配列LSGDWIH(配列番号3)を含むHVR-H1、アミノ酸配列VGEISAAGGYTD(配列番号4)を含むHVR-H2、及びアミノ酸配列ARESRVSFEAMDY(配列番号5)を含むHVR-H3を含む。

10

【0068】

一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号2のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_Lを含む。一実施態様において、配列番号2のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_Lを含む二重特異性HER3/EGFRは、アミノ酸配列NIATDVA(配列番号6)を含むHVR-L1、アミノ酸配列SASF(配列番号7)を含むHVR-L2、及びアミノ酸配列SEPEPYT(配列番号8)を含むHVR-L3を含む。

20

【0069】

一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_H、及び配列番号2のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_Lを含む。一実施態様において、配列番号1のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_H及び配列番号2のアミノ酸配列に少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%配列同一性を有するV_Lを含む二重特異性HER3/EGFR抗体は、アミノ酸配列LSGDWIH(配列番号3)を含むHVR-H1、アミノ酸配列VGEISAAGGYTD(配列番号4)を含むHVR-H2、アミノ酸配列ARESRVSFEAMDY(配列番号5)を含むHVR-H3、アミノ酸配列NIATDVA(配列番号6)を含むHVR-L1、アミノ酸配列SASF(配列番号7)を含むHVR-L2、アミノ酸配列SEPEPYT(配列番号8)を含むHVR-L3を含む。

30

【0070】

一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列を含むV_Hを含む。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を含むV_Lを含む。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列を含むV_H及び配列番号2のアミノ酸配列を含むV_Lを含む。

40

【0071】

一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号9のアミノ酸配

50

列を含む重鎖を含む。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。一実施態様において、二重特異性HER3/EGFR抗体は、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、ここで、該抗体は、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号10のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0072】

幾つかの実施態様において、HER3及びEGFRに特異的に結合する抗原結合ドメインを含む二重特異性HER3/EGFR抗体は、完全長IgG1抗体である。

【0073】

C. 抗体調製

1. 抗体親和性

所定の実施態様において、本明細書において与えられる抗体は、解離定数(Kd)が、 $1\ \mu\text{M}$ 、 $100\ \text{nM}$ 、 $10\ \text{nM}$ 、 $1\ \text{nM}$ 、 $0.1\ \text{nM}$ 、 $0.01\ \text{nM}$ 、又は $0.001\ \text{nM}$ (例えば、 $10^{-8}\ \text{M}$ 未満、例えば、 $10^{-8}\ \text{M}$ から $10^{-13}\ \text{M}$ 、例えば、 $10^{-9}\ \text{M}$ から $10^{-13}\ \text{M}$)。

【0074】

一実施態様において、以下のアッセイにより説明されるように、Kdは、目的の抗体のFab型とその抗原を用いて実施される放射標識抗原結合アッセイ(RIA)により測定される。非標識抗原の力価測定系の存在下で、最小濃度の(^{125}I)-標識抗原にてFabを均衡化して、抗Fab抗体コートプレートと結合した抗原を捕獲することによって抗原に対するFabの溶液結合親和性を測定する(例としてChen, et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照)。アッセイの条件を決めるために、MICROTITER(登録商標)マルチウェルプレート(Thermo Scientific)を、 $5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ の捕獲抗Fab抗体(Cappel Labs)を含む $50\ \text{mM}$ 炭酸ナトリウム(pH 9.6)にて一晚コートして、その後2%(w/v)のウシ血清アルブミンを含むPBSにて室温(およそ 23°C)で2~5時間、ブロックする。非吸着プレート(Nunc #269620)に、 $100\ \text{pM}$ 又は $26\ \text{pM}$ の[^{125}I]抗原を段階希釈した所望のFabと混合する(例えば、Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)の抗VEGF抗体、Fab-12の評価と一致する)。ついで目的のFabを一晚インキュベートする;しかし、インキュベーションは平衡状態に達したことを確認するまでに長時間(例えばおよそ65時間)かかるかもしれない。その後、混合物は、室温でのインキュベーション(例えば、1時間)のために捕獲プレートへと移される。そして、溶液を取り除き、プレートを0.1%のポリソルベート20(TWEEN-20(登録商標))を含むPBSにて8回洗浄する。プレートが乾燥したら、 $150\ \mu\text{l}$ /ウェルの閃光物質(MICROSCINT-20TM; Packard)を加え、プレートをTOPCOUNTTM計測器(Packard)にて10分間計測する。それぞれ最大結合の20%以下の濃度のFabを選択して競合結合アッセイに用いる。

【0075】

別の実施態様によれば、~10反応単位(RU)の固定した抗原CM5チップを用いて25のBIACORE(登録商標)-2000又はBIACORE(登録商標)-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)を用いる表面プラズモン共鳴アッセイを使用してKdを測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5, BIAcore Inc.)を、供給業者の指示書に従ってN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)及びN-ヒドロキシスクシニミド(NHS)で活性化した。抗原を $10\ \text{mM}$ 酢酸ナトリウム(pH 4.8)で $5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ (~ $0.2\ \mu\text{M}$)に希釈し、結合したタンパク質の反応単位(RU)がおよそ10になるように $5\ \mu\text{l}/\text{分}$ の流速で注入する。抗原の注入後、反応しない群をブロックするために1Mのエタノールアミンを注入した。動力学測定のために、Fabの2倍の段階希釈($0.78\ \text{nM}$ から $500\ \text{nM}$)を、25で、お

10

20

30

40

50

よそ $25 \mu\text{l}$ / 分の流速で 0.05% ポリソルベート 20 (TWEEN-20TM) 界面活性剤 (PBST) を含む PBS に注入する。会合センサーグラム及び解離センサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一ラングミュア結合モデル (simple one-to-one Langmuir binding model) (BIACORE (登録商標) Evaluation ソフトウェアバージョン 3.2) を用いて、会合速度 (k_{on}) と解離速度 (k_{off}) を算出する。平衡解離定数 (K_d) を k_{off}/k_{on} 比として算出する。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999) を参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる会合速度が $106 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を上回る場合、会合速度は、分光計、例えばストップフローを備えた分光光度計 (Aviv Instruments) 又は攪拌キュベットを備えた 8000 シリーズ SLM-AMINCOTM 分光光度計 (Thermo Spectronic) で測定される漸増濃度の抗原の存在下、 25°C で、PBS (pH 7.2) 中 20 nM の抗抗原抗体 (Fab 型) の蛍光放出強度 (励起 = 295 nm ; 放出 = 340 nm 、帯域通過 = 16 nm) の増加又は減少を測定する蛍光消光技術を用いて測定することができる。

10

【0076】

2. 抗体断片

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、限定されないが、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv 及び scFv 断片、及び下記の他の断片を含む。所定の抗体断片の総説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003) を参照。scFv 断片の総説については、例えば、Pluckhuhn, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994) を参照; また、国際公開第 93/16185 号; 及び米国特許第 5571894 号及び第 5587458 号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させた Fab 及び F(ab')₂ 断片の議論については、米国特許第 5869046 号を参照のこと。

20

【0077】

ダイアボディは 2 価又は二重特異性であり得る 2 つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第 404,097 号; 国際公開第 1993/01161 号; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 及び Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993) を参照。トリアボディ及びテトラボディもまた Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載されている。

30

【0078】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。所定の実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., Waltham, MA; 例えば、米国特許第 6248516 号 (B1) を参照)。

【0079】

抗体断片は様々な技術で作成することができ、限定されないが、本明細書に記載するように、インタクトな抗体の分解、並びに組換え宿主細胞 (例えば、大腸菌やファージ) による生産を含む。

40

【0080】

3. キメラ及びヒト化抗体

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体である。所定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4816567 号; 及び Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) に記述されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域 (例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサル等の非ヒト霊長類由来の可変領域) 及びヒト定常領域を含む。更なる例において、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のものから変更された「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

【0081】

50

所定の実施態様において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減するために、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持したまま、ヒト化されている。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば、CDR（又はその一部）が、非ヒト抗体から由来し、FR（又はその一部）がヒト抗体配列に由来する、一以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部をも含む。幾つかの実施態様において、ヒト化抗体の幾つかのFR残基は、例えば抗体特異性又は親和性を回復若しくは改善するために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換されている。

【0082】

ヒト化抗体及びそれらの製造方法は、例えば、Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)に総説され、更に、Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 米国特許第5821337号、第7527791号、第6982321号及び第7087409号; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (SDR(a-CDR)グラフィティングを記述); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (「リサーフェシング」を記述); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (「FRシャッフリング」を記述); 及びOsbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 及びKlimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FRシャッフリングへの「誘導選択」アプローチを記述)に記載されている。

10

【0083】

ヒト化に用いられ得るヒトフレームワーク領域は、限定されないが、「ベストフィット」法を用いて選択されるフレームワーク領域（例えば、Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)）；軽鎖又は重鎖の可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域（例えば、Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；及びPresta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)を参照）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)を参照）；及びFRライブラリースクリーニング由来のフレームワーク領域（例えば、Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及びRosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)を参照）を含む。

20

30

【0084】

4. ヒト抗体

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を用いて生産することができる。ヒト抗体は、van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 及びLonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)に一般的に記載されている。

【0085】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに应答して、インタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を持つインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することにより調製することができる。このような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、又は染色体外に存在するか若しくは動物の染色体にランダムに組み込まれている、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全て又は一部を含む。このようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般的に不活性化される。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)を参照。また、例えば、XENOMOUSETM 技術を記載している、米国特許第6075181号及び第6150584号；HuMa b（登録商標）技術を記載している米国特許第5770429号；K-M MOUSE E（登録商標）技術を記載している米国特許第7041870号及び、Velo ci Mouse（登録商標）技術を記載している米国特許出願公開第2007/0061900号）も参照のこと。このような動物で生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、

40

50

例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより、更に改変される可能性がある。

【0086】

ヒト抗体は、ハイブリドーマベース法によって作成することができる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫及びマウス-ヒトヘテロ細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及びBoerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照)。また、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して産生されるヒト抗体は、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)に記述されている。更なる方法は、例えば、米国特許第7189826号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している)に記載されたものを含む。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)はまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 及びVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)に記載される。

10

【0087】

ヒト抗体はまた、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成され得る。このような可変ドメイン配列は、次に所望のヒト定常ドメインと組み合わせてもよい。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技術を以下に説明する。

20

【0088】

5. ライブラリー由来抗体

本発明の抗体は、所望の活性又は活性(複数)を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離することができる。例えば、様々な方法が、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてのライブラリーをスクリーニングするために、当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に総説され、更に、例えば、McCaafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 及びLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)に記載されている。

30

【0089】

所定のファージディスプレイ法において、VH及びVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により個別にクローニングされ、ファージライブラリーにランダムに再結合され、その後、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、通常、抗体断片を、単鎖Fv(scFv)断片、又はFab断片の何れかとして提示する。免疫された起源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要性を伴うことなく免疫原に高親和性抗体を提供する。代わりに、Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)に記載されるように、ナイーブなレパートリーが、任意の免疫感作無しで、広範囲の非自己抗原及び自己抗原に対して、抗体の単一起源を提供するために、(例えば、ヒトから)クローン化することができる。最後に、ナイーブなライブラリーはまた、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載されるように、非常に可変なCDR3領域をコードし、インビトロで再構成を達成するために、幹細胞由来の非再配列V遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用することにより合成することができる。ヒト抗体ファージライブラリーを記述す

40

50

る特許公報は、例えば、米国特許第5750373号、及び米国特許出願公開第2005/0079574号、2005/0119455号、第2005/0266000号、2007/0117126号、第2007/0160598号、2007/0237764号、第2007/0292936号及び第2009/0002360を含む。

【0090】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体又は抗体断片は、本明細書でヒト抗体又はヒト抗体の断片とみなされる。

【0091】

6. 多重特異性抗体

所定の実施態様において、本明細書において提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二つの抗原結合ドメインを含み、各々が異なる標的に対して特異的である従来の二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも二つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。所定の実施態様において、結合特異性の一つはHER3に対してであり、他は、任意の他の抗原に対してである。所定の実施態様において、二重特異性抗体は、HER3の二つの異なるエピトープに結合することができる。二重特異性抗体はまたHER3を発現する細胞に細胞傷害性薬物を局所化するために用いることができる。二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

【0092】

多重特異性抗体を作製するための技術は、限定されないが、異なる特異性を有する二つの免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対の組換え共発現 (Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983))、国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)を参照) 及び「ノブ・イン・ホール (knob-in-hole)」工学 (例えば、米国特許第5731168号を参照) を含む。多重特異抗体はまた、抗体のFc-ヘテロ2量体分子を作成するための静電ステアリング効果を操作すること (国際公開第2009/089004号 (A1))、2つ以上の抗体又は断片を架橋すること (例えば米国特許第4676980号; 及びBrennan et al., Science, 229: 81 (1985)を参照); 2重特異性抗体を生成するためにロイシンジッパーを使用すること (例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照); 二重特異性抗体フラグメントを作製するため、「ダイアボディ」技術を使用すること (例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照); 単鎖Fv (sFv) ダイマーを使用すること (例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照); 及び、例えばTutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)に記載されているように、三重特異性抗体を調製することによって作成することができる。

【0093】

「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能性抗原結合部位を持つ改変抗体もまた本明細書に含まれる (例えば、米国特許出願公開第2006/0025576号 (A1) を参照)。

【0094】

本明細書中の抗体又は断片はまた、HER3並びにその他の異なる抗原 (例えば米国特許出願公開第2008/0069820号参照) に結合する抗原結合部位を含む、「2重作用 (Dual Acting) FAb」又は「DAF」を含む。かかる二重特異性HER3/EGFR阻害剤が本明細書において記述され、例示的なDL11f (MEHD7945A) 抗体を含む。

【0095】

7. 抗体変異体

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが望まれ得る。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することにより、又はペプチド合成によって調製することができる。このような改変は、例えば、抗体のアミノ酸配列内における、残基の欠失、及び/又は挿入及び/又は置換を

10

20

30

40

50

含む。最終コンストラクトが所望の特性、例えば、抗原結合を有していることを条件として、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせが、最終コンストラクトに到達させるために作成され得る。

【 0 0 9 6 】

a) 置換、挿入、及び欠失変異体

所定の実施態様において、一つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換型変異誘発の対象となる部位は、HVR及びFRを含む。保存的置換は、表1の「保存的置換」の見出しの下に示されている。より実質的な変更が、表1の「例示的な置換」の見出しの下に与えられ、アミノ酸側鎖のクラスを参照して以下に更に説明される。アミノ酸置換は、目的の抗体に導入することができ、その産物は、所望の活性、例えば、抗原結合の保持/改善、免疫原性の減少、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされる。

10

表1

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

20

30

40

【 0 0 9 7 】

アミノ酸は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる：

(1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

50

- (2) 中性の親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎖配向に影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

【0098】

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。

【0099】

置換変異体の一つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体など）の一以上の超可変領域残基の置換を含む。一般的には、更なる研究のために選択され得られた変異体は、親抗体と比較して、特定の生物学的特性の改変（例えば、改善）（例えば、親和性の増加、免疫原性を減少）を有し、及び/又は親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持しているであろう。典型的な置換変異体は、親和性成熟抗体であり、例えば、本明細書に記載されるファージディスプレイベースの親和性成熟技術を用いて、簡便に生成され得る。簡潔に言えば、一つ以上のHVR残基が変異し、変異体抗体は、ファージ上に表示され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

10

【0100】

改変（例えば、置換）は、例えば抗体の親和性を向上させるために、HVRで行うことができる。このような改変は、HVRの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程中に高頻度で変異を受けるコドンにコードされた残基で（例えばChowdhury, *Methods Mol Biol.* 207:179-196 (2008)を参照）、及び/又はSDR（ α -CDR）で行うことができ、得られた変異体VH又はVLが結合親和性について試験される。二次ライブラリから構築し選択し直すことによる親和性成熟が、例えばHoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。親和性成熟の幾つかの実施態様において、多様性が、種々の方法（例えば、変異性PCR、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発）の何れかにより、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが作成される。次いで、ライブラリが、所望の親和性を持つ抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法は、幾つかのHVR残基（例えば、一度に4から6残基）がランダム化されたHVRを標的としたアプローチを含む。抗原結合に關与するHVR残基は、例えばアラニンスキャニング突然変異誘発、又はモデリングを用いて、特異的に同定され得る。CDR-H3及びCDR-L3がしばしば標的にされる。

20

30

【0101】

所定の実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限りにおいて、一以上のHVR内で生じる可能性がある。例えば、実質的に結合親和性を低下させない保存的改変（例えば本明細書で与えられる保存的置換）をHVR内で行うことができる。このような改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外側であってもよい。上記に与えられた変異体VH又はVL配列の所定の実施態様において、各HVRは不変であるか、又はわずか1個、2個又は3個のアミノ酸置換が含まれているかの何れかである。

40

【0102】

突然変異誘発のために標的とすることができる抗体の残基又は領域を同定するための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085により説明されるように、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基又はグループ（例えば、arg、asp、his、lys及びgluなどの荷電残基）が同定され、抗原と抗体との相互作用が影響を受けるかどうかを判断するために、中性又は負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）に置換される。更なる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入され得る。代わりに、又

50

は更に、抗原抗体複合体の結晶構造が、抗体と抗原との接触点を同定する。そのような接触残基及び隣接残基が、置換の候補として標的とされるか又は排除され得る。変異体はそれらが所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされ得る。

【0103】

アミノ酸配列挿入は、一残基から百以上の残基を含有するポリペプチド長にわたるアミノ及び/又はカルボキシル末端融合、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニン残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、酵素に対する抗体のN末端又はC末端への融合(例えばADEPTの場合)、又は抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

【0104】

b) グリコシル化変異体

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は、その抗体がグリコシル化される程度を増加又は減少するように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加又は欠失は、一以上のグリコシル化部位が作成又は削除されるようにアミノ酸配列を変えることによって簡便に達成することができる。

【0105】

抗体がFc領域を含む場合には、それに付着する糖を変えることができる。哺乳動物細胞によって生成された天然型抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN-結合により一般的に付着した分岐鎖、二分岐オリゴ糖を含んでいる。例えば、Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、二分岐オリゴ糖構造の「幹」のGlcNAcに結合した、マンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトース、シアル酸、並びにフコースを含み得る。幾つかの実施態様において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の改変は、一定の改善された特性を有する抗体変異体を作成するために行われ得る。

【0106】

一実施態様において、抗体変異体は、Fc領域に(直接又は間接的に)付着されたフコースを欠いた糖鎖構造を有して提供される。例えば、このような抗体のフコース量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、又は20%から40%であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI-TOF質量分析法によって測定されるAsn297に付着している全ての糖構造の合計(例えば、コンプレックス、ハイブリッド及び高マンノース構造)に対して、Asn297の糖鎖中のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297は、Fc領域(Fc領域残基のEU番号付け)でおよそ297の位置に位置するアスパラギン残基を指すが;しかしながら、Asn297もまた位置297の上流又は下流のおよそ±3アミノ酸に、すなわち抗体の軽微な配列変異に起因して、位置294と300の間に配置され得る。このようなフコシル化変異体はADC機能改善させた可能性がある。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号(Presta, L.);米国特許出願公開第2004/0093621号(協和発酵工業株式会社)を参照。「非フコシル化」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する出版物の例としては、米国特許出願公開第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国特許出願公開第2003/0115614号、米国特許出願公開第2002/0164328号、米国特許出願公開第2004/0093621号、米国特許出願公開第2004/0132140号、米国特許出願公開第2004/0110704号、米国特許出願公開第2004/0110282号、米国特許出願公開第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が含まれる。非フコシル化修飾抗体を産生する能力を有する細胞株の例としては、タンパク質フコシル化を欠損しているLec13 CHO細胞

10

20

30

40

50

(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986) ; 米国特許出願公開第 2003/0157108号(A1)、Prestal, L ; 及び国際公開第2004/056312号(A1)、Adamsら、具体的には実施例11)、及びノックアウト細胞株、アルファ-1、6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞(例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006) ; 及び国際公開第2003/085107号を参照)を含む。

【0107】

抗体変異体は、例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分されている二分オリゴ糖を更に備えている。このような抗体変異体はフコシル化を減少させ、及び/又はADCC機能を改善している可能性がある。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号(Jean-Mairetら) ; 米国特許第6,602,684号(Umanaら) ; 及び米国特許出願公開第2005/0123546号(Umanaら)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を持つ抗体変異体も提供される。このような抗体変異体はCDC機能を改善させた可能性がある。このような抗体変異体は、例えば、国際公開第1997/30087号(Patelら) ; 国際公開第1998/58964号(Raju, S.) ; 及び国際公開第1999/22764号(Raju, S.)に記載されている。

10

【0108】

20

c) Fc領域変異体

所定の実施態様において、一以上のアミノ酸改変を、本明細書で提供される抗体のFc領域に導入することができ、それによってFc領域変異体を生成する。Fc領域の変異体は、一以上のアミノ酸位置においてアミノ酸修飾(例えば置換)を含むヒトFc領域の配列(例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のFc領域)を含んでもよい。

【0109】

所定の実施態様において、本発明は、インビボにおける抗体の半減期が重要であるが、ある種のエフェクター機能(例えば補体及びADCCなど)が不要又は有害である用途のための望ましい候補とならしめる、全てではないが一部のエフェクター機能を有する抗体変異体を意図している。インビトロ及び/又はインビボでの細胞毒性アッセイを、CDC活性及び/又はADCC活性の減少/枯渇を確認するために行うことができる。例えば、Fc受容体(FcR)結合アッセイは、抗体がFcR結合を欠くが(それゆえ、おそらくADCC活性を欠く)、FcRn結合能力を保持していることを確認するために行うことができる。ADCCを媒介する初代細胞、NK細胞は、FcRIIIのみを発現するが、単球はFcRI、FcRII及びFcRIIIを発現する。造血細胞におけるFcRの発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5500362号(例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照)及びHellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985) ; 第5821337号(例えば、Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照)に記述される。あるいは、非放射性アッセイ法を用いることができる(例えば、フローサイトメトリー用のACTTM非放射性細胞傷害性アッセイ(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA ; 及びCytotoxic 96(登録商標)非放射性細胞傷害性アッセイ(Promega, Madison, WI)を参照)。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞(PBMC)及びナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。あるいは、又は更に、目的の分子のADCC活性は、Clynes et al., PNAS USA 95:652-656 (1998)に開示されるように、インビボで、例えば動物モデルにおいて評価することができる。C1q結合アッセイはまた、抗体が体C1qを結合することができ

30

40

50

ないこと、したがって、CDC活性を欠いていることを確認するために行うことができる。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号のC1q及びC3c結合ELISAを参照。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを行うことができる(例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 及びCragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照)。また、FcRn結合、及びインピボでのクリアランス/半減期の測定は、当該分野で公知の方法を用いて行うことができる(例えば、Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照)。

【0110】

エフェクター機能が減少した抗体は、Fc領域の残基238、265、269、270、297、327、329の一つ以上の置換を有するものが含まれる(米国特許第6737056号)。そのようなFc変異体は、残基265及び297のアラニンへの置換を有する、いわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327の二以上での置換を有するFc変異体を含む(米国特許第7332581号)。

【0111】

FcRへの改善又は減少した結合を持つ特定の抗体変異体が記載されている。(例えば、米国特許第6737056号;国際公開第2004/056312号、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001))。

【0112】

所定の実施態様において、抗体変異体はADCCを改善する1つ又は複数のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の位置298、333、及び/又は334における置換(EUの残基番号付け)を含む。

【0113】

幾つかの実施態様において、例えば、米国特許第6194551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al. J. Immunol. 164:4178-4184 (2000)に記述されるように、改変された(即ち、改善され又は減少した)C1q結合及び/又は補体依存性細胞傷害(CDC)を生じる、Fc領域における改変がなされる。

【0114】

増加した半減期を持ち、胎仔への母性IgGの移送を担う、新生児Fc受容体(FcRn)への結合が改善された抗体(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))が、米国特許出願公開第2005/0014934号(A1)(Hintonら)に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する一つ又は複数の置換を有するFc領域を含む。このようなFc変異体は、Fc領域の残基の1以上の置換を有するものが含まれる:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424又は434、例えば、Fc領域の残基434の置換(米国特許第7371826号)。

【0115】

Fc領域の変異体の他の例に関しては、Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988);米国特許第5648260号;米国特許第5624821号;及び国際公開第94/29351号も参照のこと。

【0116】

d) システイン改変抗体変異体

所定の実施態様において、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン改変抗体、例えば、「thioMAbs」を作成することが望まれ得る。特定の実施態様において、置換された残基は、抗体のアクセス可能な部位で起きる。それらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体のアクセス可能な部位に配置され、本明細書中で更に記載されるように、イムノコンジュゲ-

10

20

30

40

50

作成するために、例えば薬物部分又はリンカー - 薬剤部分などの他の部分に抗体をコンジュゲートするために使用することができる。所定の実施態様において、一以上の以下の残基がシステインで置換され得る：軽鎖の V 2 0 5 (K a b a t の番号付け) ; 重鎖の A 1 1 8 (E U 番号付け) ; 及び重鎖 F c 領域の S 4 0 0 (E U 番号付け)。システイン改変抗体は、例えば、米国特許第 7 5 2 1 5 4 1 号に記載のように生成され得る。

【 0 1 1 7 】

e) 抗体誘導體

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は、当技術分野で知られ、容易に入手される追加の非タンパク質部分を含むように更に改変することができる。抗体の誘導體化に適した部分としては、限定されないが、水溶性ポリマーを含む。水溶性ポリマーの非限定的な例は、限定されないが、ポリエチレングリコール (P E G)、エチレングリコール / プロピレングリコールの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ - 1 , 3 - ジオキソラン、ポリ - 1 , 3 , 6 - トリオキソラン、エチレン / 無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸 (単独重合体又はランダム共重合体の何れか) 及びデキストラン又はポリ (n - ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、プロピレングリコール単独重合体、プロピレンオキシド / エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール (例えばグリセロール)、ポリビニルアルコール及びこれらの混合物を包含する。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドはその水中での安定性に起因して製造における利点を有し得る。ポリマーは何れかの分子量のものであってよく、そして分枝鎖又は未分枝鎖であってよい。抗体に結合するポリマーの数は変動してよく、そして、一以上の重合体が結合する場合は、それらは同じか又は異なる分子であってよい。一般的に、誘導體化に使用するポリマーの数及び / 又は種類は、限定されないが、向上させるべき抗体の特定の特性又は機能、抗体誘導體が限定された条件下で治療に使用されるのか等を含む検討事項に基づいて決定することができる。

10

20

【 0 1 1 8 】

その他の実施態様において、放射線への曝露によって選択的に加熱されてもよい抗体、及び非タンパク質部分とのコンジュゲートが提供される。一実施態様において、非タンパク質部分はカーボンナノチューブである (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005))。放射線は、任意の波長であって良いが、限定されないものの、通常の細胞に害を与えないが、抗体 - 非タンパク質部分の近位細胞が死滅される温度に非タンパク質部分を加熱する波長が含まれる。

30

【 0 1 1 9 】

f) 組換え方法及び組成物

抗体は、例えば米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号で説明したように、組換えの方法及び組成物を用いて製造することができる。一実施態様において、本明細書に記載される抗 H E R 3 / 抗 E G F R 抗体 (二重特異性抗体を含む) をコードする単離された核酸が提供される。このような核酸は、抗体の V L を含むアミノ酸配列、及び / 又は抗体の V H を含むアミノ酸配列 (例えば、抗体の軽鎖及び / 又は重鎖) をコードし得る。更なる実施態様において、そのような核酸を含む一以上のベクター (例えば、発現ベクター) が提供される。更なる実施態様において、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。一実施態様において、宿主細胞は以下を含む (例えば、以下で形質転換される) : (1) 抗体の V L を含むアミノ酸配列、及び抗体の V H を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は (2) 抗体の V L を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第一ベクター、及び抗体の V H を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二ベクター。一実施態様において、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞、又はリンパ系細胞 (例えば、Y 0、N S 0、S p 2 0 細胞) である。一実施態様において、抗体 (二重特異性抗体を含む) を作成する方法が提供され、その方法は、上記のように、抗体の発現に適した条件下で、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含み、及び必要に応じて、宿主細胞 (又は宿主細胞培養培地) から抗体を回収することを含む。

40

50

【 0 1 2 0 】

抗体（二重特異性抗体を含む）の組換え生産のために、例えば上述したように、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内での更なるクローニング及び/又は発現のために一以上のベクターに挿入される。このような核酸は、容易に単離され、従来の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）配列決定することができる。

【 0 1 2 1 】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に適切な宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞又は真核細胞を含む。例えば、特に、グリコシル化及びFcエフェクター機能が必要ない場合には、抗体は、細菌で産生することができる。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5648237号、第5789199号及び第5840523号を参照。（また、大腸菌における抗体の発現を説明している、Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254も参照）。発現の後、抗体は可溶性画分において細菌の細胞ペーストから単離され、更に精製することができる。

10

【 0 1 2 2 】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、そのグリコシル化経路が、「ヒト化」されている菌類や酵母菌株を含む抗体をコードするベクターのための、適切なクローニング宿主又は発現宿主であり、部分的又は完全なヒトのグリコシル化パターンを有する抗体の生成をもたらす。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)、及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照。

20

【 0 1 2 3 】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物と脊椎動物）から派生している。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫細胞が挙げられる。多数のバキュロウイルス株が同定され、これらは特に*Spodoptera frugiperda*細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と組み合わせて使用することができる。

【 0 1 2 4 】

植物細胞培養を宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号及び第6417429号（トランスジェニック植物における抗体産生に関するPLANTIBODIESTM技術を記載）を参照。

30

【 0 1 2 5 】

脊椎動物細胞もまた宿主として用いることができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適合した哺乳動物細胞株は有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40 (COS-7) で形質転換されたサル腎臓CV1株；ヒト胚腎臓株 (Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977) に記載された293細胞又は293細胞；ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK)；マウスのセルトリ細胞 (Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980) に記載されるTM4細胞)；サル腎細胞 (CV1)；アフリカミドリザル腎細胞 (VERO-76)；ヒト子宮頸癌細胞 (HeLa)；イヌ腎臓細胞 (MDCK)；バッファローラット肝臓細胞 (BRL 3A)；ヒト肺細胞 (W138)；ヒト肝細胞 (HepG2)；マウス乳腺腫瘍 (MMT060562)；例えばMather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982) に記載されるTRI細胞；MRC5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、DHFRCO細胞 (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)) を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞；及びY0、NS0及びSp2/0などの骨髄腫細胞株を含む。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照。

40

【 0 1 2 6 】

50

I I I . 組成物

本明細書に記載される薬学的組成物又は本発明の製剤は、組み合わせを含む。

【0127】

本明細書に記載の化合物又はその薬学的に許容可能な塩は、非溶媒和形態、及び水、エタノールなどの薬学的に許容される溶媒との溶媒和形態で存在してもよく、本発明は溶媒和及び非溶媒和形態の両方を包含することを意図する。

【0128】

化合物又はその薬学的に許容可能な塩はまた、異なる互変異性型で存在してもよく、全てのかかる形態が本発明の範囲内に包含される。用語「互変異性体」又は「互変異性形態」は、低エネルギー障壁を介して相互変換可能である異なるエネルギーの構造異性体を意味する。例えば、(プロトトロピック互変異性体としても知られる)プロトン互変異性体は、ケト-エノール及びイミン-エナミン異性化のようなプロトンの移動を介する相互変換を含む。原子価互変異性体は、結合電子の幾つかの再編成による相互変換を含む。

10

【0129】

薬学的組成物はバルク組成物及び任意の薬学的に不活性な賦形剤、希釈剤、担体、又は流動促進剤と一緒に、複数の(例えば2つ)の薬学的に活性な薬剤で構成される個々の投薬単位の両方を包含する。バルク組成物及び各個々の投薬単位は、上記薬学的に活性な薬剤の固定量を含むことができる。バルク組成物は、まだ個々の投薬単位に形成されていない物質である。例示的な投薬単位は、錠剤、丸剤、カプセル剤などの経口投薬単位である。同様に、本発明の薬学的組成物を投与することにより患者を治療する本明細書に記載される方法はまた、バルク組成物及び個々の投薬単位の投与を包含することを意図している。

20

【0130】

薬学的組成物はまた、一以上の原子が、通常は天然に見出される原子質量又は質量数とは異なる原子質量又は質量数を有する原子によって置換されているという事実のために、本明細書に記載されるものと同一である同位体標識化合物を包含する。記述される任意の特定の原子又は元素の全ての同位体は、本発明の化合物及びそれらの使用の範囲内において検討される。化合物に組み込むことができる例示的な同位体は、水素、炭素、窒素、酸素、リン、硫黄、フッ素、塩素及びヨウ素の同位体、例えば、 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{36}Cl 、 ^{123}I 及び ^{125}I などを含む。本発明の同位体標識化合物(例えば、 ^3H 及び ^{14}C で標識されたもの)は、化合物及び/又は基質組織分布アッセイにおいて有用である。トリチウム(^3H)及び炭素14(^{14}C)同位体は、それらの調製及び検出の容易さのために有用である。更に、重水素(^2H)などのより重い同位体による置換は、より大きな代謝安定性から生じる特定の治療的利点(例えば、インビボ半減期の延長又は必要投与量の減少)を与えることができ、従って、幾つかの状況において好ましい場合がある。 ^{15}O 、 ^{13}N 、 ^{11}C 及び ^{18}F などの陽電子放出同位体は、基質の受容体占有率を調べる研究陽電子放出断層撮影法(PET)のために有用である。

30

【0131】

化合物の薬学的に許容可能な塩は、ヒトを含む哺乳動物(ヒトの男性又は女性など)において、過剰増殖性疾患(例えば、トリプルネガティブ乳がんなどのがん)の治療的処置のための治療的組み合わせにおいて使用のための標準的な薬務に従って処方される。本発明は、一以上の薬学的に許容される担体、流動促進剤、希釈剤、又は賦形剤に伴って本明細書に記載される組み合わせを含む薬学的組成物を提供する。

40

【0132】

適当な担体、希釈剤及び賦形剤は当業者に周知であり、炭水化物、ワックス、水溶性及び/又は膨潤性ポリマー、親水性又は疎水性材料、ゼラチン、油、溶媒、水等の材料を含む。使用される特定の担体、希釈剤又は賦形剤は、本発明の化合物が適用される手段及び目的に依存するであろう。溶媒は、一般的に哺乳動物に投与することが安全として当業者によって認識される(GRAS)溶媒に基づいて選択される。一般に、安全な溶媒は、水

50

及び水に可溶性又は混和性である他の非毒性溶媒などの非毒性水性溶媒である。適切な水性溶媒には、水、エタノール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール（例えば、PEG 400、PEG 300）など、及びそれらの混合物が挙げられる。製剤は、一又は複数の緩衝液、安定剤、界面活性剤、湿潤剤、滑剤、乳化剤、懸濁剤、保存料、抗酸化剤、不透明化剤、流動促進剤、加工助剤、着色料、甘味料、芳香剤、香味剤、及び薬物（すなわち、本発明の化合物又はその薬学的組成物）を見栄え良く提供するための又は薬学的製品（すなわち、医薬）の製造を補助する他の既知の添加剤を含みうる。

【0133】

製剤は、通常、溶解及び混合手順を使用して調製することができる。例えば、バルク薬物物質（すなわち、本発明の化合物又はその化合物の安定化形態（例えば、シクロデキストリン誘導体又は他の既知の錯化剤との複合体））が、上述の賦形剤のうちの一以上の存在下で適切な溶媒に溶解される。本発明の化合物は、典型的には、容易に制御可能な薬物用量を提供し、かつ処方されたレジメンの患者のコンプライアンスを可能とする薬学的投薬形態へと製剤化される。

10

【0134】

投与のための薬学的組成物（又は製剤）は、薬物を投与するために使用される方法に応じて様々な方法で包装されてもよい。一般的には、配布用品は、その中に医薬製剤を適切な形態で貯蔵した容器を含む。適切な容器は、当業者によく知られており、ボトル（プラスチック及びガラス）、サシェ、アンプル、ビニール袋、金属シリンダー等の物品を含んでいる。また、容器は、パッケージの内容物への無分別なアクセスを防止するために、不正開封防止用組み合わせ品（tamper-proof assembly）を含むことができる。更に、容器の内容物を記載するラベルがその上に付着されている。ラベルは適切な警告をも含み得る。

20

【0135】

化合物の薬学的製剤は、様々な経路及び投与タイプに対して調製することができる。例えば、所望の程度の純度を有する本明細書に記述される化合物又は薬学的に許容可能な塩は、任意で凍結乾燥製剤、粉碎した粉末、又は水溶液の形態で、薬学的に許容される希釈剤、担体、賦形剤又は安定剤（Remington's Pharmaceutical Sciences (1995) 18th edition, Mack Publ. Co., Easton, PA）と混合され得る。製剤化は、生理学的に許容される担体、すなわち用いられる用量及び濃度でレシピエントに非毒性である担体と共に、適切なpHで、かつ所望の程度の純度で、常温で混合して行うことができる。製剤のpHは、特定の用途や化合物の濃度に主に依存するが、約3から約8の範囲であり得る。

30

【0136】

薬学的製剤は、好ましくは無菌である。特に、インピボ投与に使用される製剤は無菌でなければならない。そのような無菌化は滅菌濾過メンブレンによる滅菌によって容易に達成される。

【0137】

薬学的製剤は、通常、固体組成物、凍結乾燥製剤として又は水溶液として保存することができる。

【0138】

薬学的製剤は、ある様式で、例えば、良好な医療行為と一致した、量、濃度、スケジュール、経過、ピヒクル及び投与経路で服用され、投与されるであろう。この観点において考慮すべき要因は、治療すべき特定の障害、治療すべき特定の哺乳類、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与日程及び医療従事者が知る他の要因を包含する。投与されるべき「治療上有効量」は、このような考慮によって調整され、凝固因子媒介性障害を予防するか、寛解する又は治療するために必要な最小限量である。このような量は、好ましくは、宿主に対して毒性であるか又は宿主を出血に対して有意に一層感受性にする量を下回る。

40

【0139】

許容される希釈剤、担体、賦形剤及び安定剤は、使用される投薬量及び濃度でレシピエ

50

ントに非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩及び他の有機酸のような緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（例えば、オクタデシルジメチオルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチル又はプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン又はリジン；マンノサッカライド、ジサッカライド、及びグルコース、マンノース又はデキストリンを含む他の炭水化物；キレート剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム、金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；及び/又はTWEENTTM、PLURONICSTM又はポリエチレングリコール（PEG）等の非イオン性界面活性剤が挙げられる。また、活性な薬学的成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ（メタクリル酸メチル）マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系（例えば、リボソーム、アルブミンミクروسフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）中、又はマイクロエマルジョン中に包括されていてもよい。これらの技術は、上掲のRemington's Pharmaceutical Sciences 18th edition, (1995) Mack Publ. Co., Easton, PAに開示されている。

【0140】

徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例は、化合物又は薬学的に許容可能な塩を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、このマトリクスは成形された物品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形状である。徐放性マトリクスの例には、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリレート）又はポリ（ビニルアルコール））、ポリアクチド（米国特許第3773919号）、L-グルタミン酸及びエチル-L-グルタメートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOSITTM（乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リュープロリドの注射可能なマイクロスフェア）などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、ポリ-（D）-（-）3-ヒドロキシブチル酸が含まれる。

【0141】

薬学的製剤は、本明細書に詳述される投与経路に適したものが挙げられる。製剤は、簡便には単位投薬形態で提供することができ、薬学の分野で周知の任意の方法によって調製することができる。技術及び製剤は、一般的に、Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Ed. (1995) Mack Publishing Co., Easton, PAに見いだされる。このような方法は、一以上の補助成分を構成する担体と活性成分とを会合させる工程を含む。一般に、製剤は、活性成分を、液体担体若しくは微粉化固体担体又はその両方と均一かつ密接に会合せ、次いで必要であれば生成物を成形することにより調製される。

【0142】

経口投与に適した組み合わせの製剤は、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩；及びMEHD7945Aの所定量を含む、丸薬、硬カプセルないしは軟カプセル剤、例えばゼラチンカプセル剤（capsules）、カプセル（cachet）、トローチ剤、ロゼンジ剤、水性ないしは油性懸濁液、分散可能パウダーないしは顆粒、エマルジョン、シロップ又はエリキシル剤のような別々の単位として調製されうる。GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩の量は、複合製剤として、丸剤、カプセル、溶液又は懸濁剤に処方され得る。あるいは、組み合わせは、交互に投与のため、丸剤、カプセル、溶液又は懸濁剤に別々に処方され得る。

【0143】

製剤は薬学的組成物の製造のために当該分野で知られている任意の方法に従って調製す

ることができ、そのような組成物は、口に合う製剤を提供するために、甘味料、香味料、着色剤及び保存剤を含む一又は複数の薬剤を含みうる。圧縮錠は、任意で結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、保存料、界面活性剤又は分散剤と混合せしめて、粉末又は顆粒のような自由に流動する形態で活性成分を適切な機械で圧縮することによって調製することができる。成形錠剤は、適切な機械中で不活性な液体希釈剤で湿らせた粉末の活性成分の混合物を成形することによって作製し得る。錠剤は場合によっては被覆され又は刻み目を付けてもよく、場合によっては活性成分のそこからの低速放出又は制御放出をもたらすように製剤化される。薬学的製剤の錠剤賦形剤には、錠剤を形成する粉剤のバルク体積を増やすためのフィルラー（又は希釈剤）；摂取され、薬剤の迅速溶解及び吸収を促進する場合に、錠剤を小さな断片、理想的には個々の薬剤粒子に破壊する崩壊剤；顆粒及び錠剤が、必要な機械的強度によって形成され、圧縮された後に合わさって錠剤となり、包装、輸送及び慣例的な処理の間にその成分粉に壊れるのを防ぐ結合剤；製造の間に錠剤を形成する粉の流動性を向上させるための流動促進剤；製造の間に錠剤を圧縮するために用いる機材に錠剤化粉末が付着しないようにするための滑沢剤が含まれる。これらは、圧縮を介した粉混合物の流れを向上させ、完成した錠剤が装置から放出されるときに摩擦及び破損を最小化する；流動促進剤と同様の機能を有する抗粘着剤は、錠剤を形成する粉末と製造中に錠剤の形状を打ち抜くために用いられる機械との間の接着を低減する；錠剤に配合される香料は、好ましい味覚を与えるか又は不快な味覚をマスキングし、着色料は認識及び患者の服薬遵守を補助するためである。

10

20

【0144】

錠剤の製造に適した非毒性の薬学的に許容可能な賦形剤と混合せしめられて活性成分を含む錠剤が許容可能である。これらの賦形剤は、例えば不活性な希釈剤、例えば炭酸カルシウム又はナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウム又はナトリウム；顆粒化及び崩壊剤、例えばトウモロコシデンプン、又はアルギン酸；結合剤、例えばデンプン、ゼラチン又はアカシア；及び潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸又はタルクでありうる。錠剤は非被覆でも、又は胃腸管中での崩壊と吸着を遅延させるマイクロカプセル化を含む既知の方法によって被覆してもよく、それによって長時間にわたる持続作用をもたらす。例えば、時間遅延物質、例えばモノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルを単独で又はロウと共に用いることができる。

30

【0145】

眼又は他の外部組織、例えば口及び皮膚の治療には、製剤は、好ましくは、例えば0.075から20% w/wの量で活性成分を含む局所用軟膏又はクリームとして塗布される。軟膏に製剤される場合、活性成分はパラフィン系又は水混和性軟膏基剤と共に用いることができる。あるいは、活性成分は水中油クリーム基剤を用いてクリームに製剤化することができる。

40

【0146】

所望される場合、クリーム基剤の水性相は多価アルコール、すなわち、例えばプロピレングリコール、ブタン1,3-ジオール、マンニトール、ソルビトール、グリセロール及びポリエチレングリコール（PEG400を含む）及びその混合物のような二又はそれ以上のヒドロキシル基を有するアルコールを含みうる。局所用製剤は、好ましくは、皮膚又は他の患部領域を通しての活性成分の吸収又は浸透を向上させる化合物を含みうる。そのような皮膚浸透向上剤の例はジメチルスルホキシド及び関連類似体を含む。

50

【0147】

エマルションの油性相は、脂肪又は油との、あるいは脂肪と油の双方との少なくとも一の乳化剤の混合物を含む、周知の方法で既知の成分から構成することができる。好ましくは、親水性乳化剤が、安定化剤として作用する親油性乳化剤と共に含有せしめられる。併せて、安定化剤を含み又は安定化剤を含まない乳化剤は乳化ロウを構成し、油及び脂肪と共にロウはクリーム製剤の油性分散相を形成する乳化軟膏基剤を含む。製剤に使用するのに適した乳化剤及びエマルション安定化剤には、トゥイーン（Tween（登録商標））60、スパン（Span（登録商標））80、セトステアリルアルコール、ベンジルアル

50

コール、ミリスチルアルコール、モノ - ステアリン酸グリセリル及び라우リル硫酸ナトリウムが含まれる。

【0148】

薬学的製剤の水性懸濁液は、水性懸濁液の製造に適した賦形剤と混合せしめられた活性物質を含む。そのような賦形剤には、懸濁剤、例えばナトリウムカルボキシメチルセルロース、クロスカルメローゼ、ポビドン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントガム及びアカシアガム、及び分散又は湿潤剤、例えば天然に生じるホスファチド（例えばレシチン）、脂肪酸とのアルキレンオキシドの縮合産物（例えばポリオキシエチレンステアレート）、長鎖脂肪族アルコールとのエチレンオキシドの縮合産物（例えばヘプタデカエチレンオキシセタノール）、脂肪酸とヘキソール無水物から誘導された部分エステルとのエチレンオキシドの縮合産物（例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレアート）が含まれる。水性懸濁液はまた一又は複数の保存料、例えばエチル又はn - プロピルp - ヒドロキシ - ベンゾエート、一又は複数の着色剤、一又は複数の香味剤及び一又は複数の甘味料、例えばスクロース又はサッカリンを含みうる。

10

【0149】

薬学的組成物は滅菌された注射用製剤の形態、例えば滅菌注射用水性又は油性懸濁液であってもよい。この懸濁液は上に述べた好適な分散又は湿潤剤及び懸濁剤を用いて周知技術に従って製剤化することができる。滅菌された注射用製剤はまた1, 3 - ブタン - ジオール溶液又は凍結乾燥粉末から調製されたもののように、非毒性の非経口的に許容可能な希釈剤又は溶媒中の溶液又は懸濁液であってもよい。用いることができる許容可能なビヒクル及び溶媒は水、リンガー液及び等張塩化ナトリウム溶液である。また、滅菌固定化油を溶媒又は懸濁媒質として便宜的に用いることができる。この目的に対して、合成のモノ - 又はジグリセリドを含む任意のブランドの固定化油を用いることができる。また、オレイン酸のような脂肪酸も同様に注射剤の調製に使用することができる。

20

【0150】

単回投薬形態をつくるために担体物質と混合されうる活性成分の量は治療されるホストと特定の投与形式に応じて変わり得る。例えば、ヒトへの経口投与のための時間放出製剤は、全組成物の約5から約95%（重量：重量）と変わりうる適切で簡便な量の担体物質と共に配合されておおよそ1から1000mgの活性物質を含みうる。薬学的組成物は投与のために容易に測定可能な量をもたらすように調製することができる。例えば、静脈点滴のための水溶液は、約30mL/hrの速度で適した体積の点滴が生じうるようにするために溶液1ミリリットル当たり約3から500µgの活性成分を含みうる。

30

【0151】

非経口投与に適した製剤には、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤及び意図したレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を含みうる水性及び非水性滅菌注射用溶液；及び懸濁剤及び増粘剤を含みうる水性及び非水性滅菌懸濁液が含まれる。

【0152】

また、眼への局所投与に適した製剤には、好適な担体、特に活性成分のための水性溶媒に活性成分が溶解又は懸濁させられた点眼液が含まれる。活性成分はそのような製剤中に好ましくは0.5から20%、例えば0.5から10%、例えば約1.5% w/wの濃度で存在する。

40

【0153】

口への局所投与に適した製剤には、香味基剤、通常はスクロース及びアカシア又はトラガカント中に活性成分を含むロゼンジ；ゼラチン及びグリセリン、又はスクロース及びアカシアのような不活性基剤に活性成分を含むパスティユ；及び適切な液体担体に活性成分を含むうがい薬が含まれる。

【0154】

直腸投与のための製剤は、例えばココアバター又はサリチラートを含む好適な基剤を用いて座薬として提供することができる。

50

【 0 1 5 5 】

肺内又は経鼻投与に適した製剤は、例えば0.1から500ミクロン（例えば0.5、1、30ミクロン、35ミクロン等々のような増分ミクロンで0.1から500ミクロンの範囲の粒子径を含む）の範囲の粒子径を有し、これが鼻経路を通る迅速な吸入又は肺胞嚢に達するように口からの吸入によって投与される。好適な製剤には、活性成分の水性又は油性溶液が含まれる。エアゾール又は乾燥粉末投与に適した製剤は常法によって調製することができ、以下に記載されるような疾患の治療又は予防にこれまで使用されている化合物のような他の治療剤と共に送達されうる。

【 0 1 5 6 】

腔投与に適した製剤は、活性成分に加えて、当該分野で適切であることが知られているような担体を含むペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォーム又はスプレー製剤として提供することができる。

10

【 0 1 5 7 】

製剤は、単位投薬又は複数投薬容器、例えば密封されたアンプル及びバイアルに包装することができ、使用直前に注射用の滅菌液体担体、例えば水の添加のみを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）条件で保存することができる。即時混合注射溶液及び懸濁液は既に記載された種類の滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製される。好適な単位投薬製剤は、活性成分の、上に記載されたような毎日の投薬又は毎日の部分用量単位、又はその適切な画分を含むものである。

【 0 1 5 8 】

本発明は更に、獣医学的担体と一緒に本明細書に記載される組み合わせを含む獣医学的組成物を提供する。獣医学的担体は該組成物を投与する目的に有用な物質であり、不活性であるか獣医学分野で許容可能であり活性成分と相容性のある固形、液体又はガス状物質でありうる。これらの動物用医薬組成物は非経口的、経口的又は任意の他の所望の経路で投与されうる。

20

【 0 1 5 9 】

I V . 併用療法

本発明の一態様は、患者におけるがんの治療のための併用療法を提供し、ここで該併用療法は、患者へのMEK阻害剤、EGFR阻害剤、及びHER3の阻害剤の投与を含む。

【 0 1 6 0 】

一実施態様において、併用療法のMEK阻害剤は、GDC-0973又はGDC-0623のどちらかである。GDC-0973及びGDC-0623は、ERK1/2を活性化するキナーゼである、MEK1/2の強力かつ高度に選択的な小分子アロステリック阻害剤である。MEKの1/2の阻害は、MEK/ERK経路の異常なシグナル伝達に依存する腫瘍の増殖を制御するための有望な戦略である。前臨床研究は、両方の阻害剤が、多くの腫瘍のタイプに関連するB-RAF変異を有する活性化腫瘍細胞の増殖を阻害するのに有効であり、GDC-0973は、このモデルにおいてより高い活性を示すことを実証している。図5前臨床研究は、両方の阻害剤が、多くの腫瘍のタイプに関連するRas変異を有する活性化腫瘍細胞の増殖を阻害するのに有効であり、GDC-0623は、このモデルにおいてより高い活性を示すことを実証している。図6。

30

40

【 0 1 6 1 】

一実施態様において、HER3阻害剤及びEGFR阻害剤の機能は、同じ分子、例えば、HER3及びEGFRの両方に結合でき、その生物学的活性を阻害する二重特異性抗体に存在する。一実施態様において、HER3及びEGFR阻害剤は、HER3及びEGFRの両方に特異的に結合する二重特異性抗体である。一実施態様において、HER3及びEGFR阻害剤は、2つの同一の抗原結合ドメインを含む二重特異性抗体であって、該ドメインの各々はHER3及びEGFRの両方に特異的に結合する。

【 0 1 6 2 】

一実施態様において、2つの同一の抗原結合ドメインを含み、該ドメインの各々はHER3及びEGFRの両方に特異的に結合するHER3及びEGFR二重特異性抗体は、抗

50

体MEHD7945Aである。MEHD7945Aは、EGFR及びHER3の標的へのリガンド結合を遮断する。MEHD7945A抗体は、約1.9nMのKdでEGFRに結合し、約0.4mMのKdでHER3に結合する。(国際公開第2010/108127号及びSchaefer, et al. Cancer Cell, 20: 472-486 (2011)を参照)。MEHD7945Aは、EGFR及びHER2/HER3依存性シグナル伝達を阻害する更にMEHD7945Aは、単剤として、MAPK及びPI3Kシグナル伝達を阻害する。

【0163】

HER3及びEGFR阻害剤又は阻害剤(複数)とのMEK阻害剤の組み合わせは、RAS/MEK及びPI3K/AKT経路の両方を阻害する方法を提供し、従ってより効果的な抗がん治療を提供する。併用療法は、MEK阻害により観察されたPI3K/AKT経路の活性化に起因する固有の又は獲得耐性を防ぎ又は遅延させ、かつRAS経路の活性化を介して媒介される固有の又は獲得耐性を防ぎ又は遅延させるのに役立つであろう。また、併用療法は、二つの確立されたEGFR耐性機序-KRAS変異及びHER3活性化を遮断するために役立つであろう。

10

【0164】

MEK阻害剤、HER3阻害剤及びEGFR阻害剤は、単一の薬学的組成物に処方することができる。また、組み合わせは、2つの薬学的組成物として存在しても良く、ここで、第一の薬学的組成物は、MEK阻害剤、HER3阻害剤及びEGFR阻害剤の何れか一を含み、かつ第二の薬学的組成物はMEK阻害剤、HER3阻害剤又はEGFR阻害剤のうちの一つを含み、ここで、MEK阻害剤、HER3阻害剤及びEGFR阻害剤は、第一の薬学的組成物及び第二の薬学的組成物の両方には存在しない。実施態様において、組み合わせは、2つの薬学的組成物として存在しても良く、ここで、第一の薬学的組成物は、MEK阻害剤を含み、第二の薬学的組成物は、HER3阻害剤及びEGFR阻害剤を含む。実施態様において、組み合わせは、三つの薬学的組成物として存在してもよく、ここで、三つの薬学的組成物の各々は、MEK阻害剤、HER3阻害剤又はEGFR阻害剤のうちの一を含む。

20

【0165】

組み合わせが、MEHD7945Aなどの二重HER3/EGFR阻害剤を含む場合、MEK阻害剤及び二重HER3/EGFR阻害剤は、単一の薬学的組成物中に製剤化することができ、又はMEK阻害剤は、第一の薬学的組成物に製剤化することができ、かつ二重HER3/EGFR阻害剤は、第二の薬学的組成物に製剤化することができる。

30

【0166】

実施例に示すように、MEHD7945A及びコビメチニブ(GDC-0973)の組み合わせは、インビトロ及びインビボで強固な活性をもたらす。結腸直腸細胞株におけるインビトロでのシグナル伝達の研究は、AKT及びERKシグナル伝達の阻害においてMEHD7945Aとコビメチニブの組み合わせの効果は、単剤の活性と比較して優れていることを実証している。増殖の阻害はまた、組み合わせの群で増強された。結腸がんのKRAS変異体異種移植モデルにおける単剤群と比較した場合、組み合わせ群において、インビボでの増加した有効性が実証され、シグナル伝達受容体のEGFR及びHER3の組み合わせ阻害及びRAS/RAF/MEK経路の同時阻害は、代償的経路の活性化を防止し、それによって効力を増強するために必要であるとする仮説を支持している。膵臓の野生型KRAS異種移植片モデルにおける単剤治療と比較した場合、インビボでの増加した有効性が見られ、MEHD7945Aとコビメチニブの組み合わせはまた、膵臓がんに有益であることを示唆している。

40

【0167】

組み合わせは、前悪性及び非腫瘍性又は非悪性の過剰増殖性疾患と共に、腫瘍、がん、及び腫瘍性組織を含めた過剰増殖性疾患又は障害の治療のために、化学療法剤と組み合わせ用いられてもよい。所定の実施態様において、組み合わせは、抗過剰増殖特性を有する又は過剰増殖性疾患の治療において有用である別の化合物と、併用療法として投与レジメンで組み合わせられる。投与レジメンの付加的化合物は、互いに悪影響を与えないように

50

、好ましくは組み合わせに対して相補的活性を有する。このような化合物は、意図する目的に有効な量で投与され得る。一実施態様では、治療的組み合わせは投与レジメンによって管理され、ここで、MEK阻害剤化合物（GDC-0973又はGDC-0623など）又はその薬学的に許容可能な塩の治療上有効量は、1日2回から3週間に1回（q3wk）の範囲で投与され、治療上有効量のHER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（MEHD7945Aなど）は、1日2回から3週間に1回の範囲で投与される。

【0168】

併用療法では、同時又は連続した投与レジメンとして投与されてもよい。連続投与される場合、組み合わせは、2回以上の投与で投与されてもよい。併用投与には、別個の製剤を使用する同時投与、及び任意の順序での連続投与が含まれ、その際、両方の（又は全ての）活性剤がそれらの生物学的活性を同時に発揮する期間があることが好ましい。

10

【0169】

本発明の特異的な一態様において、MEK阻害剤化合物（例えばGDC-0973又はGDC-0623など）、又はその薬学的に許容可能な塩は、HER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（例えばMEHD7945Aなど）の投与開始後に、約1日から約10日の期間にわたって投与することができる。本発明の別の特異的な態様において、MEK阻害剤化合物（例えばGDC-0973又はGDC-0623など）、又はその薬学的に許容可能な塩は、HER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（例えばMEHD7945Aなど）の投与開始前に、約1日から10日の期間にわたって投与することができる。本発明の別の特異的な態様において、MEK阻害剤化合物（例えばGDC-0973又はGDC-0623など）、又はその薬学的に許容可能な塩の投与、及びHER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（例えばMEHD7945Aなど）の投与は同一日に開始する。

20

【0170】

本発明の特異的な一態様において、HER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（例えばMEHD7945Aなど）は、MEK阻害剤化合物（例えばGDC-0973又はGDC-0623など）又はその薬学的に許容可能な塩の投与開始後に、約1日から約10日の期間にわたって投与することができる。本発明の別の特異的な態様において、HER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（例えばMEHD7945Aなど）は、MEK阻害剤化合物（例えばGDC-0973又はGDC-0623など）又はその薬学的に許容可能な塩の投与開始前に、約1日から10日の期間にわたって投与することができる。本発明の別の特異的な態様において、HER3/EGFR阻害剤又は阻害剤（複数）（例えばMEHD7945Aなど）の投与、及びMEK阻害剤化合物（例えばGDC-0973又はGDC-0623など）又はその薬学的に許容可能な塩の投与は同一日に開始する。

30

【0171】

上記の同時投与される任意の薬剤の好適な投与量は、現在使用されているものであり、例えば、治療指数を増加させ、又は毒性若しくは他の副作用又は結果を緩和するための、新たに同定される薬剤及び他の化学療法剤又は治療の複合作用（相乗効果）により減じられる可能性がある。

【0172】

抗がん治療の特定の実施態様において、治療的組み合わせは、外科療法及び放射線療法と組み合わせてもよい。組み合わせの量並びに投与の相対的タイミングは、所望の併用治療効果が得られるように選択されることになる。

40

【0173】

V. 併用療法のための投与レジメン

ヒト患者を治療するための、式I又はIIのMEK阻害剤化合物又はその薬学的に許容可能な塩の投与量は、約20mgから約1600mgの化合物の範囲であり得る。典型的な投与量は、約50mgから約800mgの化合物とすることができる。特定の化合物の吸収、分布、代謝及び排出を含む、薬物動態的（PK）及び薬力学的（PD）特性に応じて、1日に1度（QD）、1日に2度（BID）、又はより頻繁に投与することができる

50

。更に毒性要因は、投与量及び投与レジメンに影響を与え得る。経口的に投与される場合、指定された期間、一日二回、毎日又はより少ない頻度で、例えば、毎週、又は二ないし三週間に1回、丸薬、カプセル又は錠剤を摂取可能である計画は多くの治療サイクルで、繰り返すことができる。

【0174】

MEHD7945Aなどの抗体によるヒト患者を治療するための投与量は、約0.05 mg/kgから約30 mg/kgの範囲であり得る。このように、約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg、10 mg/kg、12 mg/kg、13 mg/kg、14 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg、25 mg/kg、又は30 mg/kgの一又は複数（又はその何れかの組み合わせ）の投与量が、患者に投与されうる。かかる投与量は、例えば、毎週、2週毎、3週毎など、間欠的に投与することができる。

10

【0175】

特定の一の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、2週間毎（Q2W）にIV（静注）によって投与されるMEHD7945Aの1100 mg、及びGDC-0973（コビメチニブ）の毎日（QD）経口による40 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及びGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による50 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及びGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による60 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及びGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による70 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及びGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による80 mgである。これらの特定の実施態様において、患者は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mgを投与され；GDC-0973（コビメチニブ）は、21日間連続して投与され、7日間の休止が続く。

20

【0176】

別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、2週間毎（Q2W）にIV（静注）によって投与されるMEHD7945Aの1100 mg、及び週1回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）の40 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及び週1回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による50 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及び週1回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による60 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及び週1回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による70 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及び週1回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による80 mgである。

30

40

【0177】

別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、2週間毎（Q2W）にIV（静注）によって投与されるMEHD7945Aの1100 mg、及び週2回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）の40 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及び週2回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による50 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg、及び週2回、経口で投与されるGDC-0973（コビメチニブ）のQD、経口による60 mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、Q2W、IVによるMEHD7945Aの1100 mg

50

る70mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週3回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による80mgである。

【0185】

別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週4回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)の40mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週4回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による50mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週4回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による60mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週4回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による70mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週4回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による80mgである。

10

【0186】

別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週5回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)の40mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週5回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による50mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週5回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による60mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週5回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による70mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週5回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による80mgである。

20

30

【0187】

別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週6回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)の40mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週6回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による50mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週6回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による60mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週6回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による70mgである。別の特定の実施態様において、ヒト患者に対する投与量は、QW、IVによって投与されるMEHD7945Aの400mg、及び週6回、経口で投与されるGDC-0973(コビメチニブ)のQD、経口による80mgである。

40

【0188】

VI. 治療の方法

本明細書で提供される治療的組み合わせは、限定されないが、患者においてAKTキナーゼにより調節されるものを含む、疾患、病気及び/又は障害を治療するために有用である。本発明の方法に従って治療することができるがんは、限定されないが、結腸直腸がん

50

、中皮腫、子宮内膜、膵臓がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、メラノーマ、胃がん、結腸がん、腎臓がん、頭頸部がん、及び神経膠芽腫を含む。

【0189】

本発明の組み合わせは、特定のがんの表現型に対して改善された効果を提供し得る。例えば、本発明の特定の組み合わせは、RAS変異（KRAS変異など）、EGFR変異（T790Mなど）、PTEN変異（低いか又は欠損状態）、AKT変異（又は高いpAKT発現レベル若しくは増幅レベル）、PI3Kの変異、又は上記の組み合わせと関連したがんに対して改善された効果を提供し得る。一実施態様において、がんは位置12又は13でKRAS変異を含む。所定の実施態様において、KRAS変異は、G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13C、又はG13Dである。

10

【0190】

従って、本明細書に記載される特定の組み合わせは、これらのタイプのがんに対して特に有用であり得る。GDC-0973は、結腸、膵臓及び肺腫瘍において一般的である、KRAS駆動型腫瘍に対する改善された有効性を有することが示されている。

化合物	増殖のEC ₅₀ (μM)		KRAS ^{G13D} /BRAF ^{V600E} EC ₅₀
	A375 (BRAF ^{V600E})	HCT115 (KRAS ^{G13D})	
GDC-0973	0.005	0.520	104
GDC-0623	0.007	0.042	6

20

【0191】

PTEN欠損（又は低い）状態は、当技術分野で知られている任意の適切な手段によって測定することができる。一例では、IHCが使用される。別法として、ウエスタンブロット分析を用いることができる。PTENに対する抗体は市販されている（Cell Signaling Technology, Beverly, MA, Cascade Biosciences, Winchester, MA）。PTENの状態についてのIHC及びウエスタンブロット分析の手順の例は、Neshat, M. S. et al. Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR, Proc. Natl Acad. Sci. USA 98, 10314-10319 (2001)及びPerren, A., et. al. Immunohistochemical Evidence of Loss of PTEN Expression in Primary Ductal Adenocarcinomas of the Breast, American Journal of Pathology, Vol. 155, No. 4, October 1999に記載されている。更に、AKT変異に、又はPI3K変異に関連しているがんは、当技術分野で知られている技術を用いて同定することができる。

30

【0192】

与えられた試料において、非活性化又は非リン酸化AKTのレベルと比較した、AKTの活性化又はリン酸化（pAKT）のレベルは、当技術分野で公知の方法により測定することができる。pAKTの状態は比率（例えば、腫瘍細胞におけるpAKT量を同じタイプの非腫瘍性細胞におけるpAKTの量で割る）又は減算（例えば、腫瘍細胞におけるpAKT量から同じタイプの非腫瘍性細胞におけるpAKTの量を引く）を単位として表すことができる。pAKTプロファイルはまた、AKTリン酸化の下流標的（例えば、pGSK又はPRAS40）の量を測定することによって経路の活性化のレベルを単位として表現することができる。高いpAKTは、ベースライン値よりも高い試料の全体的なAKTの活性化又はリン酸化レベルを意味する。一実施例では、ベースライン値は、任意の細胞タイプのpAKTの基礎レベルである。別の例では、ベースライン値は、例えば、非がん性又は細胞について、試料細胞の特定の集団におけるpAKTの普通のレベル又は平均レベルである。別の例では、高pAKTは、同じ哺乳動物又は患者集団の何れかに由来する同じタイプの正常で健常な（例えば、非腫瘍）細胞の平均と比較した場合、細胞内でり

40

50

ン酸化又は活性化 A K T を過剰発現するか又は過剰に増幅された腫瘍細胞を指す。p A k t プロファイルは、特定の P I 3 K / A K T キナーゼ経路阻害剤の有効性を予測するための、他のマーカー、例えば、F O X O 3 a の局在化プロファイルと組み合わせて使用することができる。P I 3 K、K R A S 及び A K T 変異の存在を検査するためのキットは、市販されている (Q i a g e n) 。

【 0 1 9 3 】

特定の位置態様において、本発明は、P T E N の変異又は発現の欠損、A K T の変異又は増幅、P I 3 K の変異又は増幅、又はそれらの組み合わせと関連するがんを有する患者を、患者へ本発明の組み合わせを投与することを含み、治療するための方法を提供する。別の態様において、本発明は、患者のがんが P T E N の変異又は発現の欠損、A K T の変異又は増幅、P I 3 K の変異又は増幅、又はそれらの組み合わせと関連するかを決定することを含む、本発明の組み合わせで治療することができるがんを有する患者を同定するための方法を提供し、ここで、P T E N の変異又は発現の欠損、A K T の変異又は増幅、P I 3 K の変異又は増幅、又はそれらの組み合わせと患者のがんと関連は、本発明の組み合わせで治療することができるがんを示す。更なる態様において、本発明は、本発明の組み合わせで識別された患者を治療することを更に含む方法を提供する。一実施態様において、がんは、卵巣がん、乳がん、メラノーマ、結腸がん、頭頸部がん、又は非小細胞肺癌である。

10

【 0 1 9 4 】

V I I . 製造品

本発明の別の実施態様において、上記の疾患及び障害の治療に有用な組み合わせを含む製造品又はキットが提供される。一実施態様において、キットは、容器及び本明細書に記載の組み合わせを含む。

20

【 0 1 9 5 】

キットは、容器上又はそれに付随したラベル又は添付文書を更に含む。用語「添付文書」は、このような治療用製品の使用に関する指示、使用法、用量、投与、禁忌、及び/又は警告についての情報を含む、治療用製品の市販パッケージに常套的に含まれる指示書を指すために使用される。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ、プリスター包装等を含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な物質から形成されうる。容器は、病気を治療するのに有効である組み合わせ、又はその製剤を収容し、無菌のアクセスポートを有し得る (例えば、容器は皮下注射針で貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってもよい)。ラベル又は添付文書は、組成物ががんのような選択した症状の治療のために使用されることを示している。一実施態様において、ラベル又は添付文書は、組み合わせを含む組成物が、異常な細胞増殖に起因する疾患を治療するために使用されることが可能であることを示している。また、ラベル又は添付文書は、組成物が他の疾患の治療に使用されることが可能であることも示している。代替的に、又は付加的に、製造品は、製薬的に許容可能な緩衝液、例えば注射用の静菌水 (B W F I)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液及びデキストロス溶液を収容する第 2 の容器を更に具備していてもよい。それは、他の緩衝剤、希釈剤、フィルタ、針、及びシリンジを含む、商業的及び使用者の観点から望ましい他の材料を更に含む得る。

30

40

【 0 1 9 6 】

キットは、組み合わせ、及び、存在する場合、第二の薬学的製剤の投与のための説明書を更に含むことができる。例えば、キットが G D C - 0 9 7 3 若しくは G D C - 0 6 2 3 又はその薬学的に許容可能な塩を含む第一の組成物、及び M E H D 7 9 4 5 A を含む第二の薬学的製剤を含む場合、キットは、第一及び第二の薬学的組成物を必要とする患者に、それらを同時投与、連続投与又は個別投与するための説明書を更に含むことができる。

【 0 1 9 7 】

別の実施態様では、キットは、錠剤又はカプセル剤などの、組み合わせの固体経口形態の送達に適している。このようなキットは、好ましくは、多数の単位投薬量を含む。このようなキットは、それらの意図した使用の順に配された投薬量を有するカードを含みうる

50

。このようなキットの一例は「プリスターパック」である。プリスターパックは、包装産業においてよく知られており、薬学的単位投薬形態の包装に広く使用されている。所望される場合、例えば数字、文字、又は他のマークの形態で、又は該用量が投与されうる治療スケジュールにおける日を指定するカレンダー挿入物を用いて、記憶の補助を提供することができる。

【0198】

一実施態様によれば、キットは、(a)その中に收容されるGDC-0973若しくはGDC-0623、又は薬学的に許容可能な塩を含む第一の容器；(b)MEHD7945Aを含む第二の容器及び(c)その中に收容される第三の薬学的製剤を含む第三の容器を含んでも良く、ここで第三の薬学的製剤は、抗過剰増殖活性を有する別の化合物を含む。代替的に、又は付加的に、キットは、薬学的に許容可能な緩衝液、例えば注射用の静菌水(BWFI)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液及びデキストロース溶液を收容する第三の容器を更に具備していてもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針及びシリンジを含む商業的及び使用者の見地から望ましい他の材料を更に含んでもよい。

10

【0199】

キットは、GDC-0973若しくはGDC-0623、又はその薬学的に許容可能な塩及びMEHD7945Aの組成物を含む場合、キットは、別々の組成物を含有するための容器、例えば、分割式ボトル又は分割式ホイルパッケージなどを含んでもよいが、別々の組成物はまた、単一の分割されていない容器内に含まれてもよい。典型的に、キットは別々の成分の投与のための説明書を含む。キット形態は、別々の成分が好ましくは異なる投与形態(例えば、経口及び非経口)で投与され、異なる投与間隔で投与される場合、又は組み合わせの個々の成分の用量設定が処方医師によって望まれる場合、特に有利である。

20

【実施例】

【0200】

本発明を説明するために、以下の実施例が含まれる。しかしながら、これらの実施例は本発明を限定せず、単に本発明を実施する方法を示唆することを意味するに過ぎないことは理解されるべきである。

【0201】

実施例 1

MEHD7945Aは、HER3及びEGFRの両方に特異的である。

MEHD7945Aは、EGFR及びHER3の両方に対する結合特異性を有する抗原結合領域を含む抗体である。国際公開第2010/108127号及びSchaefer, et al.

Cancer Cell, 20: 472-486 (2011)。典型的には、二重標的性薬剤は、各モジュールがただ一つの抗原に結合することができる2つの異なる抗原結合モジュールを連結することにより構成される。対照的に、MEHD7945Aにおいては、各モジュール(Fab)は、2つの抗原のどちらかに結合ことができ、従って、結合活性効果から高められた結合親和性を引き出す可性を有する。MEHD7945Aの2つの同一のFabの各々が、EGFR又はHER3の何れかに結合できることを確認するために、競合結合アッセイが行われた。固定化HER3-ECDへのMEHD7945Aの結合は、EGFR-ECDの量の増加に伴って、用量依存的に減少した。逆に、MEHD7945Aは、可溶性HER3-ECDタンパク質により、固定化EGFR-ECDから競合させられた。予想されるように、それらの相対的な結合定数を仮定すると、可溶性EGFR-ECDのより高い濃度は、固定化HER3-ECDへのMEHD7945Aの結合と競合するために必要とされた(図1)。図1の結果は、MEHD7945Aの濃度対ODとして表される。アッセイは、示された可溶性の競合相手の存在下で、示されるように、固定化HER3-ECD又はEGFR-ECDへのMEHD7945Aの結合を調べた： $1 \times = 0.02 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \times = 0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $100 \times = 2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1000 \times = 20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。図1の結果は、DL11fの濃度対ODとして表される。

30

40

【0202】

50

実施例 2

MEHD7945Aは、EGFR及びHER2/HER3依存性シグナル伝達を阻害する細胞シグナル伝達アッセイにおけるMEHD7945Aの二重の活性が測定された。NRG処置が強力に活性化するHER3、MCF-7細胞における阻害機能を評価するために、HER2/HER3経路が使用された。NRG刺激の前のMEHD7945Aによる処置は、用量依存性様式でHER3のリン酸化を強力に阻害し、かつAKT及びERK1/2のリン酸化を著しく減少させた(図2A)。MEHD7945Aは、0.05 µg/mlのIC50でHER3のリン酸化を、0.19 µg/mlのIC50値でAKTのリン酸化を、及び1.13 µg/mlのIC50値でERK1/2のリン酸化を阻害した。HER3に対する単一特異的抗体を用いた処置として、HER3に匹敵する結合親和性を有する抗HER3は同様の結果を達成した。抗HER3は、0.12 µg/mlのIC50でHER3のリン酸化を、0.74 µg/mlのIC50値でAKTのリン酸化を、及び1.83 µg/mlのIC50値でERK1/2のリン酸化を阻害した。リガンド刺激の前に、EGFR-NR6細胞はMEHD7945Aにより前処置され、DL11fは、EGFR及びERK1/2のリン酸化を、それぞれ0.03及び0.16 µg/mlのIC50値で阻害することが判明した(図2B)。単一特異性のEGFR抗体セツキシマブは、EGFRのリン酸化の阻害、及び下流のシグナル伝達分子の阻害においてより効果的であり、それはEGFRに対する高い結合親和性に起因する可能性が高かった。更に、ベータセルリン-及びアンフィレギュリン誘導性のEGFRリン酸化はまたMEHD7945Aによって阻害された。MEHD7945Aは、A431及びBxPC3細胞における抗HER3とセツキシマブとの組み合わせと同様に強力にERK1/2及びAKT経路を阻害した。

10

20

30

【0203】

以下のようにアッセイを行った。MEHD7945A又は抗HER3の示された濃度で処置されたMCF-7細胞が、10分間、0.5 nMのNRGで刺激された。細胞溶解物は、pHER3(Tyr1289)、pAkt(Ser473)、pERK1/2(Thr202/Tyr204)、及び総HER3を検出するために、イムノプロットされた。図2A。EGFR-NR6細胞は、10分間の5 nMのTGF-による刺激前に1時間、示された濃度のMEHD7945A又はセツキシマブで処置された。細胞溶解物は、pERK1/2(Thr202/Tyr204)、総EGFR及びリン酸化EGFRを検出するためのイムノプロットングに供された。EGFR-NR6細胞のみが、EGFRを発現しているため、EGFRの全ての潜在的リン酸化部位はpTyr抗体を用いて検出された。

【0204】

実施例 3

MEHD7945Aは、多くのがんモデルにおいて活性である

Fadu異種移植片モデル、頭頸部扁平上皮癌モデルにおけるインビボ活性

MEHD7945A、市販の抗EGFR抗体及び抗HER3抗体は、Fadu細胞由来の確立された腫瘍を有するマウスにおいて試験された(ATCC HTB-43, Manassas, Va.)。5 × 10⁶のFadu細胞がCB17 SCIDマウスに皮下接種された。以下のように同様のサイズの腫瘍を有する動物が治療コホート(n = 9/群)に無作為化された: ビヒクル(MEHD7945A製剤緩衝液)、抗EGFR抗体(25 mg/kg)、抗HER3抗体(50 mg/kg)、及びMEHD7945A(25 mg/kg)。処置は腹腔内に投与され、無作為化の日に2倍の負荷用量で始まり(それぞれ50又は100 mg/kg)合計4回の処置のために毎週継続する。図3に示すように、MEHD7945Aは、Fadu頭頸部がんモデルにおいて活性であり、抗EGFR特異的又は抗HER3特異的抗体の何れかよりも、腫瘍増殖の阻害においてより効果的である。

40

【0205】

MEHD7945Aは、さらなるがんのタイプにおいて活性である

50

図4は、幾つかのさらなるがんのタイプの概要を提供し、ここでMEHD7945Aは、がんのタイプに対するセツキシマブ又は単一特異性抗HER3抗体の活性並びに相対的活性を示す。この概要を作成するために使用されるアッセイの詳細は国際公開第2010/108127号に提供される。簡潔には、マウスは、25mg/kgのMEHD7945A、25mg/kgのセツキシマブ、50mg/kgの抗HER3又は25mgのセツキシマブ+50mg/kgの抗HER3の組み合わせにより週1回4サイクルによって処置された。MAXF449、OVXF550及びLX983は、30mg/kgのMEHD7945A、30mg/kgのセツキシマブ、60mg/kgの抗HER3又は30mg/kgのセツキシマブ+60mg/kgの抗HER3の組み合わせにより週1回4サイクルによって処置された。初回投与量は、全ての処置において2倍の負荷用量であった。腫瘍増殖阻害(TGI)のパーセントは、マウスの大部分がビヒクル群に残っていた試験の最終日に基づいて、各試験について計算された。25%未満のTGIは-と示され、25~50%の間のTGIは+と示され、51~75%の間のTGIは++と示され、76%以上のTGIは+++と示される。NSCLC=非小細胞肺癌、HNSC=頭頸部扁平上皮癌、CRC=結腸直腸がん、n/a=適用できない。OVXF550、MAXF449及びLXF983モデルは、ヒト患者由来の移植モデルである。

10

【0206】

実施例4

GDC-0973又はGDC-0623の何れかとMEHD7945Aの組み合わせは、単剤療法によって提供されるpERKの抑制よりも優れているpERKの抑制を生じる。

20

単剤としてのMEK阻害剤のどちらかを用いた処置は、pAktレベルの増加をもたらす。一方併用療法は、ベースラインレベルまでpAktレベルを減少させた。更に、GDC-0973又はGDC-0623の何れかとMEHD7945Aとの組み合わせは、単剤療法よりも良好にKras変異体モデルにおけるpERKの抑制をもたらす。図7。このアッセイにおいて、MEHD7945Aは10µg/ml、GDC-0973は1µM、GDC-0623はµM、及びヘレグリン(HRG)は10nMで存在していた。

【0207】

実施例5

MEHD7945AとGDC-0973又はGDC-0623の何れかとの併用療法は、CRC KRAS変異型がんの前臨床モデルにおいて単剤療法よりも優れていた。

30

KRAS変異結腸直腸がんのマウスLS180異種移植腫瘍モデルは、単剤としてMEHD7945A、GDC-0973とGDC-0623により、並びにGDC-0973とMEHD7945A及びGDC-0623とMEHD7945Aからなる組み合わせで処置された。処置群は以下の通りであった：01-ビヒクル対照；03-GDC-0973(10mg/kg、PO、QD)；04-GDC-0623(5mg/kg、PO、QD)；06-MEHD7945A(25mg/kg、IV、QW)；08-GDC-0973(10mg/kg、PO、QD)+MEHD7945A(25mg/kg、IV、QW)；09-GDC-0623(5mg/kg、PO、QD)+MEHD7945A(25mg/kg、IV、QW)。腫瘍体積は、処置の過程にわたって測定され、その結果は図8に示される。図8に示すように、GDC-0973又はGDC-0623の何れかとMEHD7945Aとの組み合わせは、単剤治療よりも優れていた。

40

【0208】

実施例6

KRAS変異結腸直腸細胞株におけるMEHD7945AとGDC-0973との組み合わせのインビトロ効果

RAS/RAF/MEK及びPI3K/AKT経路の阻害は、KRAS変異結腸直腸細胞株において、MEHD7945Aとコビメチニブ、又は両方の薬剤の組み合わせを用いてインビトロで調べられた。二つのKRAS変異結腸直腸細胞株が、負のフィードバックループの阻害に起因するコビメチニブによるリン酸化AKT(pAkt)の潜在的な上方制御を評価するために選択された。MEK阻害時のpAktの上方制御が幾つかの細胞系

50

において記載されている (Mirzoeva et al. 2009; Diep et al 2011; Turke et al. 2012)。また我々は、コビメチニブ処置に対する MEHD 7945A の追加が pAkt 及び pERK1/2 の阻害を高めることができるかどうか検討した。LS180 細胞が、12 分間の 5 nM の TGF による刺激の前に 1 時間、10 µg/mL の MEHD 7945A、0.05 µM のコビメチニブ、又はそれらの組み合わせにより前処置された。DLL-1 細胞が、12 分間の 5 nM の TGF による刺激の前に 1 時間、10 µg/mL の MEHD 7945A、0.025 µM のコビメチニブ、又はそれらの組み合わせにより前処置された。細胞溶解物は、EGFR (pEGFR 1068) のリン酸化、AKT (pAKT S473) のリン酸化、及び ERK1/2 (pERK1/2 T202/Y204) のリン酸化、並びに EGFR、AKT、又は ERK1/2 の総タンパク質レベルを検出するためにイムノプロットされた。結果を図 9 に示す (左パネル = LS180 細胞、右パネル = DLL-1 細胞) (EGFR = 上皮増殖因子受容体; ERK = 細胞外シグナル調節キナーゼ; p = リン酸化; TGF = トランスフォーミング増殖因子) コビメチニブで処置された TGF - 刺激 LS180 又は DLL-1 細胞は、AKT のリン酸化の増加を示した (図 9、対照溶解物 (レーン 2) と比較したレーン 4 は MEK 阻害剤誘導性フィードバックループの存在を示唆している (Mirzoeva et al. 2009; Diep et al 2011; Turke et al. 2012))。

【0209】

低用量のコビメチニブによる ERK1/2 リン酸化の部分的阻害のみが達成された (LS180 細胞に対して 0.05 µM 及び DLL-1 細胞に対して 0.025 µM (図 9 の左右のパネルそれぞれを参照)。しかし、コビメチニブプラス MEHD 7945A の組み合わせの低用量は、両方の細胞株において pERK 及び pAkt の強力な下方制御を生じた (図 9 のレーン 5 を参照)。図 9 において、左のパネルは、12 分間の 5 nM の TGF による刺激の前に 1 時間、10 µg/mL の MEHD 7945A、0.05 µM のコビメチニブ、又はそれらの組み合わせにより前処置された LS180 細胞を示す。右のパネルは、12 分間の 5 nM の TGF による刺激の前に 1 時間、10 µg/mL の MEHD 7945A、0.025 µM のコビメチニブ、又はそれらの組み合わせにより前処置された DLL-1 細胞を示す。細胞溶解物は、EGFR (pEGFR 1068) のリン酸化、AKT (pAKT S473) のリン酸化、及び ERK1/2 (pERK1/2 T202/Y204) のリン酸化、並びに EGFR、AKT、又は ERK1/2 の総タンパク質レベルを検出するためにイムノプロットされた。

【0210】

KRAS 変異体細胞株において MEK1/2 及び EGFR/HER3 の組み合わせられた阻害の抗増殖効果を試験するために、LS180 細胞が、5 µg/mL の MEHD 7945A の存在下又は非存在下でコビメチニブの濃度を増加させて (0.17 - 10, 000 nM) 処置された。MEHD 7945A とコビメチニブの組み合わせは、コビメチニブ単独の抗増殖効果と比較した場合、細胞生存率のより強力な減少をもたらした。結果は図 10 に示される (結果は、SMI (小分子阻害剤) の濃度に対してプロットされた RFU (相対的蛍光単位) として表される。データ分析のために、4 つのパラメーターの曲線フィッティングプログラムを使用した。データは、3 つの独立した実験を代表するものである。

【0211】

実施例 7

LS180 及び DLL-1 異種移植モデルにおけるコビメチニブと MEHD 7945A の組み合わせ試験

MEHD 7945A とコビメチニブの組み合わせ試験が、KRAS 変異結腸直腸異種移植モデルの LS180 及び DLL-1 で行われた。これらのモデルの両方が、それらの KRAS 変異状態及びそれらの EGFR 及び HER3 の発現を理由として選択された。コビメチニブは、21 日間、一日一回、3 又は 10 mg/mL で経口で水溶液として投与された。21 日目に達するまで、MEHD 7945A は週一回静脈内 (IV) 投与された。腫

10

20

30

40

50

瘍サイズ及び体重が研究の過程で週二回記録された。マウスは、腫瘍体積が2000 mm³を超えた場合、又は体重の減少がそれらの開始重量の20%となった場合、速やかに安楽死させられた。

【0212】

時間をかけた同一動物からの腫瘍体積の反復測定を分析するために、混合モデリング手法が使用された (Pinheiro et al. 2009)。このアプローチは、繰り返し測定及び試験終了前の動物の未治療関連終了に起因した控えめなドロップアウト率の両方に対処した。この分析は、ビヒクルの割合 (% TGI) 又は腫瘍進行までの時間 (TTP) として腫瘍増殖阻害を決定するために使用された。

【0213】

LS180モデル

無作為化後、LS180腫瘍を有するマウスは、21日間、1日1回 (QD)、0 (ビヒクル)、3、又は10 mg/kgのコビメチニブ (遊離塩基当量として表される) の経口 (PO) 強制投与量が与えられた。マウスに25 mgのMEHD7945Aが、合計3回の注射について週一回 (QW) 静脈内 (IV) ボーラス注射を介して与えられた。両薬剤を投与される群では、コビメチニブが最初に投与され、直ちにMEHD7945Aが続いた。

【0214】

3 mg/kg若しくは10 mg/kgのコビメチニブ又は25 mg/kgのMEHD7945Aの投与は、それぞれ28%、63%、及び44%のTGIをもたらした。コビメチニブとMEHD7945Aの組み合わせは、単剤の活性と比較してより強い抗腫瘍活性を有していた。25 mg/kgのMEHD7945Aを伴う3 mg/kg若しくは10 mg/kgのコビメチニブの投与は、それぞれ48%及び79%のTGIをもたらした。データは、図11Aに示されており、試験は図11Bに要約される。図11において、CI = 信頼区間; HB # 8 = ヒスチジン緩衝液8; MCT = 0.5% (w/v) メチルセルロース、0.2% (w/v) ポリソルベート80; TGI = 腫瘍増殖阻害; w/v = 体積あたりの重量。

【0215】

DLD-1

無作為化後、DLD-1腫瘍を有するマウスは、21日間、1日1回 (QD)、0 (ビヒクル)、3、又は10 mg/kgのコビメチニブ (遊離塩基当量として表される) の経口 (PO) 強制投与量が与えられた。マウスに25 mgのMEHD7945Aが、合計3回の注射について週一回 (QW) 静脈内 (IV) ボーラス注射を介して投与された。両薬剤を投与される群では、コビメチニブが最初に投与され、直ちにMEHD7945Aが続いた。

【0216】

3 mg/kg及び10 mg/kgのコビメチニブ並びに25 mg/kgのMEHD7945Aの投与は、それぞれ39%、62%、及び62%のTGIをもたらした。しかし、25 mg/kgのMEHD7945Aを伴う3 mg/kg若しくは10 mg/kgのコビメチニブの投与は、90%及び108%のTGIをもたらした。データは、図12Aに示されており、試験は図12Bに要約される。

【0217】

実施例8

膵臓のBxPC3異種移植モデルにおけるコビメチニブとMEHD7945Aの組み合わせ試験

無作為化後、DLD-1腫瘍を有するマウスは、21日間、1日1回 (QD)、0 (ビヒクル)、1、又は5 mg/kgのコビメチニブ (遊離塩基当量として表される) の経口 (PO) 強制投与量が与えられた。マウスに25 mgのMEHD7945Aが、合計3回の注射について週一回 (QW) 静脈内 (IV) ボーラス注射を介して与えられた。両薬剤を投与される群では、コビメチニブが最初に投与され、直ちにMEHD7945Aが続い

10

20

30

40

50

た。

【0218】

1 mg / kg 及び 5 mg / kg のコビメチニブ並びに 2.5 mg / kg の MEHD7945A の投与は、それぞれ 88%、109%、及び 107% の TGI をもたらした。2.5 mg / kg の MEHD7945A を伴う 1 mg / kg 又は 5 mg / kg のコビメチニブの投与は、それぞれ 113% 及び 114% の TGI をもたらした。データは、図 13A に示されており、試験は図 13B に要約される。投与の 21 日後、2 倍 (2x) の初期腫瘍体積までの腫瘍進行に至る時間 (TTP) が各グループについて監視された (図 13C を参照)。ビヒクルコントロール群では、TTP 2x は 4.5 日であった。単剤のコビメチニブによるマウスの処置は、TTP 2x を、1 mg / kg で 22 日まで及び 5 mg / kg で 33 日まで延長させた。単剤の MEHD7945A によるマウスの処置は、TTP 2x を 39.5 日まで延長させた。1 mg / kg でのコビメチニブプラス MEHD7945A の組み合わせは、TTP 2x を 50.5 日まで延長させた。同様に、5 mg / kg でのコビメチニブプラス MEHD7945A の組み合わせは、TTP 2x を 56 日まで延長させた。完全寛解 (CR) として定義される腫瘍体積の 100% の減少が、5 mg / kg のコビメチニブプラス MEHD7945A の群内の 3 匹の動物において見られたが、他の処置群においては見られなかった (図 13C 参照)。図 13 において、CI = 信頼区間; CR = 完全寛解 (腫瘍体積の 100% の減少); HB # 8 = ヒスチジン緩衝液; MCT = 0.5% (w/v) メチルセルロース、0.2% (w/v) ポリソルベート 80; NA = 達成されない; PR = 部分的応答 (腫瘍体積の 50 - 99% の減少); TTP = 2 倍 (2x) 又は 5 倍 (5x) の初期腫瘍体積までの腫瘍進行に至る時間であって日単位の群の平均を表す。

10

20

【0219】

本明細書で引用した全ての文献は、参照により援用される。本発明の特定の実施態様が記載され、多くの詳細が説明の目的で述べられているが、詳細の一部は、本発明の基本原則から逸脱することなく変更することができる。多くの修正及び変更が当業者には容易に明らかになるであろうゆえ、本明細書に記載されるように示される厳密な構成及びプロセスに本発明を限定することは望ましくない。従って、全ての適切な修正及び均等物は、添付の特許請求の範囲によって定義される範囲内にあると考えることができる。

30

【0220】

参考文献

Amin DN, Campbell MR, Moasser MM. The role of HER3, the unpretentious member of the HER family, in cancer biology and cancer therapeutics. *Sem Cell Dev Biol* 2010; 21:944-50.

Bostrom J, Yu SF, Kan D, et al. Variants of the antibody herceptin that interact with HER2 and VEGF at the antigen binding site. *Science (New York, NY)* 2009; 323:1610-14.

Carracedo A, Ma L, Teruya-Feldstein J, et al. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feedback loop in human cancer. *J Clin Invest* 2008; 118:3065-74.

40

Ciardello F and Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008; 358:1160-74.

Diaz LA Jr, Williams RT, Wu J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature* 2012; 486(7404):537-40. doi:10.1038/nature11219.

Diep CH, Munoz RM, Choudhary A, et al. Synergistic effect between erlotinib and MEK inhibitors in KRAS wild-type human pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res* 2011; 17:2744-56.

Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3:11-22. Review.

50

- Eastman A, Perez RP. New targets and challenges in the molecular therapeutics of cancer. *Br J Clin Pharmacol* 2006;62:5-14.
- Engelman JA, Janne PA, Mermel C, et al. ErbB-3 mediates phosphoinositide 3-kinase activity in gefitinib-sensitive non-small cell lung cancer cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005;102:3788-93.
- Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science (New York, NY)* 2007;316:1039-43.
- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013;49:1374-1403. 10
- Fremin C, Meloche S. From basic research to clinical development of MEK1/2 inhibitors for cancer therapy. *J Hematol Oncol*. 2010; 3:8. doi:10.1186/1756-8722-3-8.
- Harandi A, Zaidi AS, Stoker AM et al. Clinical efficacy and toxicity of anti-EGFR therapy in common cancers. *J Oncol* 2009:1-14.
- Hansen LA, Alexander N, Hogan ME, et al. Genetically null mice reveal a central role for epidermal growth factor receptor in the differentiation of the hair follicle and normal hair development. *Am J Pathol* Hayes TK and Der CJ. Mutant and wild-type Ras: co-conspirators in cancer. *Cancer Discov* 2013;3:24-6. 20
- Holbro T, Beerli RR, Maurer F, et al. The ErbB2/ErbB3 heterodimer functions as an oncogenic unit: ErbB2 requires ErbB3 to drive breast tumor cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003a;100:8933-38.
- Holbro T, Civenni, G Hynes NE. The ErbB receptors and their role in cancer progression. *Exp Cell Res* 2003b;284:99-110.
- Hynes NE and MacDonald G. ErbB receptors and signaling pathways in cancer. *Curr Opin Cell Biol* 2009;21:177-84.
- Jemal A, Simard EP, Dorell C, et al. Annual report to the Nation on the Status of cancer, 1975-2009, Featuring the burden and trends in human papillomavirus (HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. *J Natl Cancer Inst*, 2013;105(3):175-201. doi:10.1093/jnci/djs491 30
- Jean GW, Shah SR. Epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Pharmacotherapy* 2008;28:742-54.
- Johnson L, Mercer K, Greenbaum P, et al. Somatic activation of the k-ras oncogene causes early onset lung cancer in mice. *Nature* 2001;410:1111-1116.
- Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases [review]. *Science* 2002; 298:1911-12.
- Jost M, Huggett TM, Kari C, et al. Epidermal growth factor receptor-dependent control of keratinocyte survival and Bcl-xL expression through a MEK-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001;276:6320-6. 40
- Jura N, Shan Y, Cao X, et al. Structural analysis of the catalytically inactive kinase domain of the human EGF receptor 3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009;106:21608-13.
- Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1757-65.
- Kern F, Niault T, and Baccarini M. Ras and Raf pathways in epidermis development and carcinogenesis. *British Journal of Cancer* 2011;104:229-34.
- Kitano H. Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4:227-35. 50

- Menon SS, Whitfield LR, Sadis S, et al. Pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of PD 0325901, a second generation MEK inhibitor after multiple oral doses of PD 0325901 to advanced cancer patients. 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings. *J Clin Oncol* 1997;150:1959-75.
- Mirzoeva OK, Das D, Heiser LM, et al. Basal subtype and MAPK/ERK kinase (MEK)-phosphoinositide 3-kinase feedback signaling determine susceptibility of breast cancer cells to MEK inhibition. *Cancer Res* 2009;69:565-572.
- Misale S, Yaeger R, Hobor S, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature* 2012;486(7404):532-6. doi:10.1038/nature11156. 10
- Moasser MM. Targeting the function of the HER2 oncogene in human cancer therapeutics. *Oncogene* 2007; 26:6577-92.
- Natarajan M, Lin K-M, Hsueh RC, et al. A global analysis of cross-talk in a mammalian cellular signaling network. *Nat Cell Biol* 2006;8:571-80.
- Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, et al. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000;19:3159-67.
- Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, et al. Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. *EMBO J* 1996;15:2452-67.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, et al. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. 2009; Version R package version 3.1-92. 20
- Riese DJ 2nd, van Raaij TM, Plowman GD, et al. The cellular response to neuregulins is governed by complex interactions of the erbB receptor family. *Mol Cell Biol* 1995;15:5770-76.
- Roberts PJ and Der CJ. Targeting the RAF-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer [review]. *Oncogene* 2007;26:3291-310.
- Saijo N. What are the reasons for negative phase III trials of molecular-target-based drugs? *Cancer Sci* 2004;95:772-6.
- Schaefer G, Haber L, Crocker LM, et al. A two-in-one antibody against HER3 and EGFR has superior inhibitory activity compared with monospecific antibodies. *Cancer Cell* 2011;20:472-86. 30
- Schoeberl B, West KA, Leszczyniecka MO, et al. MM-121: a human monoclonal antibody ErbB3 antagonist. American Association for Cancer Research 2008. [Poster 7006].
- Sergina NV, Moasser MM. The HER family and cancer: emerging molecular mechanisms and therapeutic targets. *Trends Mol Med* 2007;13:527-34.
- Sergina NV, Rausch M, Wang D, et al. Escape from HER-family tyrosine kinase inhibitor therapy by the kinase-inactive HER3. *Nature* 2007;445:437-41.
- Shames DS, Carbon J, Walter K, et al. (2013). High heregulin expression is associated with activated HER3 and may define an actionable biomarker in patients with squamous cell carcinomas of the head and neck. *PLoS One* 2013;8:e56765.
- Shi F, Telesco SE, Liu Y, et al. ErbB3/HER3 intracellular domain is competent to bind ATP and catalyze autophosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2010;107:7692-7. 40
- Sierke SL, Cheng K, Kim HH, et al. Biochemical characterization of the protein tyrosine kinase homology domain of the ErbB3 (HER3) receptor protein. *Biochem J* 1997;322(Pt 3):757-63.
- Smit VT, Boot AJ, Smits AM, et al. KRAS codon 12 mutations occur very frequently in pancreatic adenocarcinomas. *Nucleic Acids Res* 1988;16:7773-82.
- Sunaga N, Kaira K, Imai H, et al. Oncogenic KRAS-induced epiregulin overexpression contributes to aggressive phenotype and is a promising therapeutic target in non-small-cell lung cancer. *Oncogene* 2012 Sep 10. doi:10.1038/onc.2012.402. [Epub a 50

head of print]

Sunaga N, Shames DS, Girard L, et al. Knockdown of oncogenic KRAS in non-small cell lung cancers suppresses tumor growth and sensitizes tumor cells to targeted therapy. *Mol Cancer Ther.* 2011 Feb;10(2):336-346.

Threadgill DW, Dlugosz AA, Hansen LA, et al. Targeted disruption of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype. *Science* 1995;269:230-4.

Troiani T, Martinelli E, Capasso A, et al. Targeting EGFR in pancreatic cancer treatment. *Curr Drug Targets* 2012;13:802-10.

Turke AB, Song Y, Costa C, et al. MEK inhibition leads to PI3K/AKT activation by relieving a negative feedback on ERBB receptors. *Cancer Res* 2012;72:3228-37.

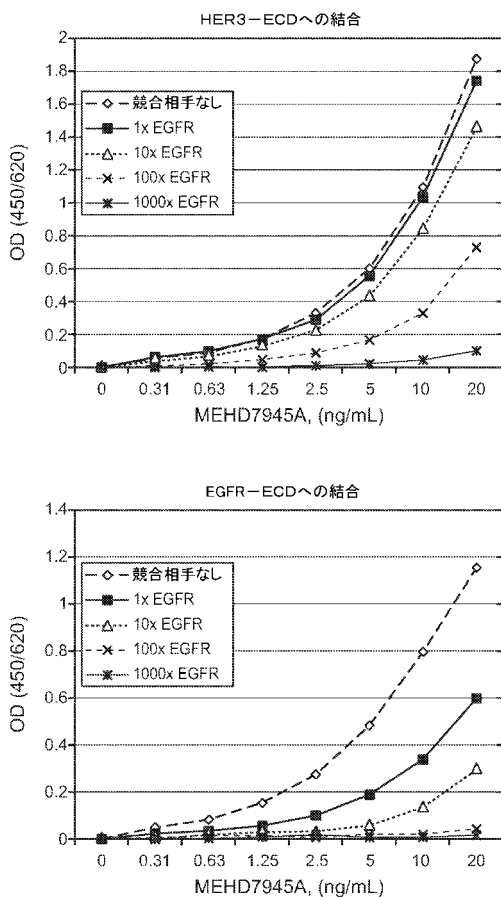
10

Wheeler DL, Huang S, Kruser TJ, et al. Mechanisms of action acquired resistance to cetuximab: role of HER (ErbB) family members. *Oncogene* 2008;27:3944-56.

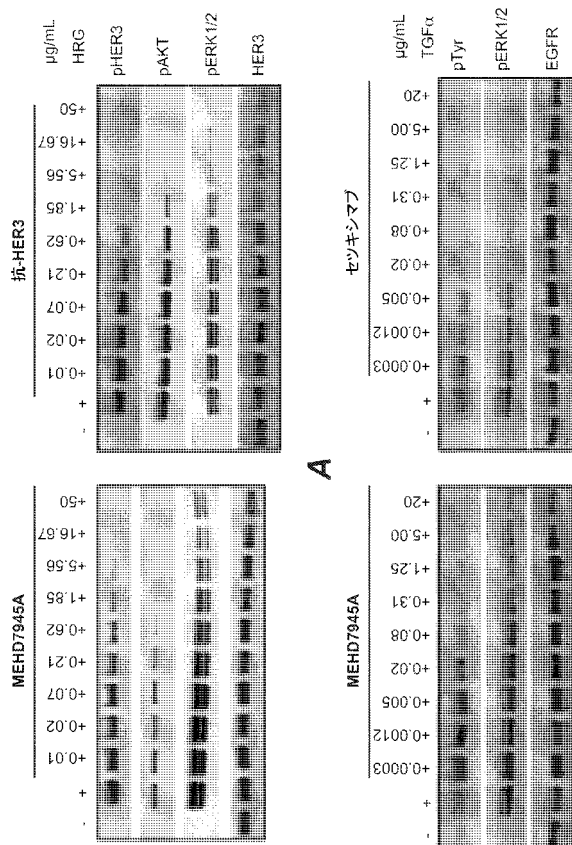
Wilson TR, Lee DY, Berry L, et al. Neuregulin-1-mediated autocrine signaling underlies sensitivity to HER2 kinase inhibitors in a subset of human cancers. *Cancer Cell* 2011;20:158-72.

Young A, Lou D, McCormick F. Oncogenic and wild-type Ras play divergent roles in the regulation of mitogen-activated protein kinase signaling. *Cancer Discovery* 2013;3:112-23.

【 図 1 】



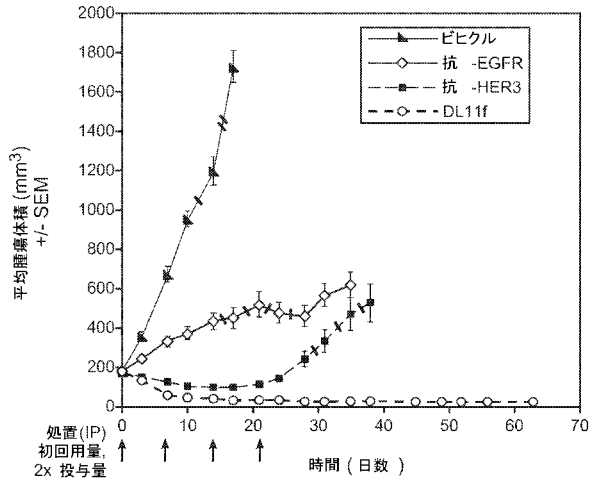
【 図 2 】



A

B

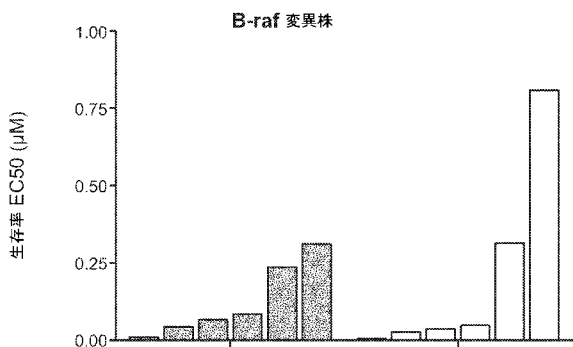
【 図 3 】



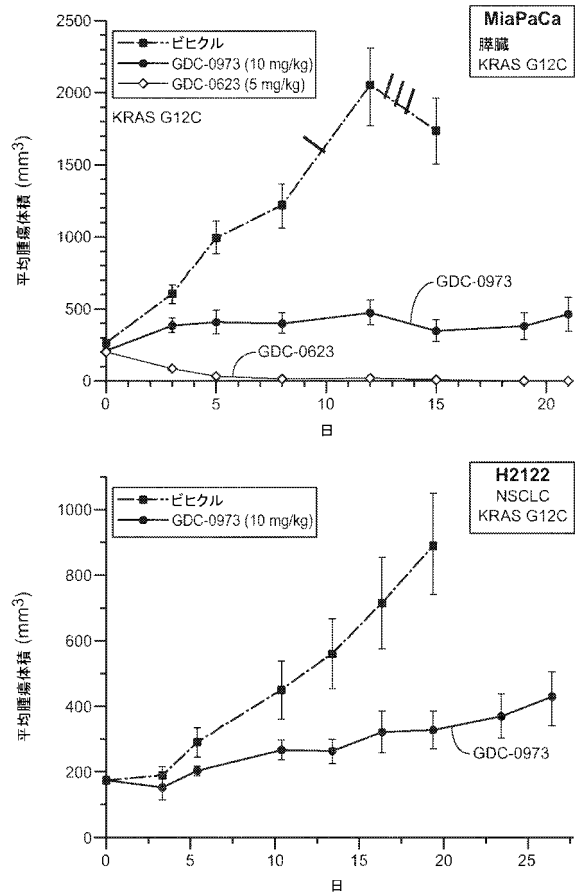
【 図 4 】

モデル	表型	セツキシマブ	MEHD7945A	抗-HER3	セツキシマブ + 抗-HER3
NCI-H292	NSCLC	+++	+++	-	n/a
NCI-H1975	NSCLC	+++	+++	-	n/a
SW948	CRC	++	++	+	n/a
OVXF550	卵巣	++	++	++	++
A431	類表皮	+++	+++	++	n/a
Cal27	HNSCC	+++	+++	++	n/a
FaDu	HNSCC	++	+++	+++	n/a
LXF983	NSCLC	++	+++	++	+++
MAXF449	乳房	-	+++	+++	+++
A549	NSCLC	-	++	+	+++
Calu-3	NSCLC	-	++	+	++
BxPC3	膵臓	-	++	+	n/a

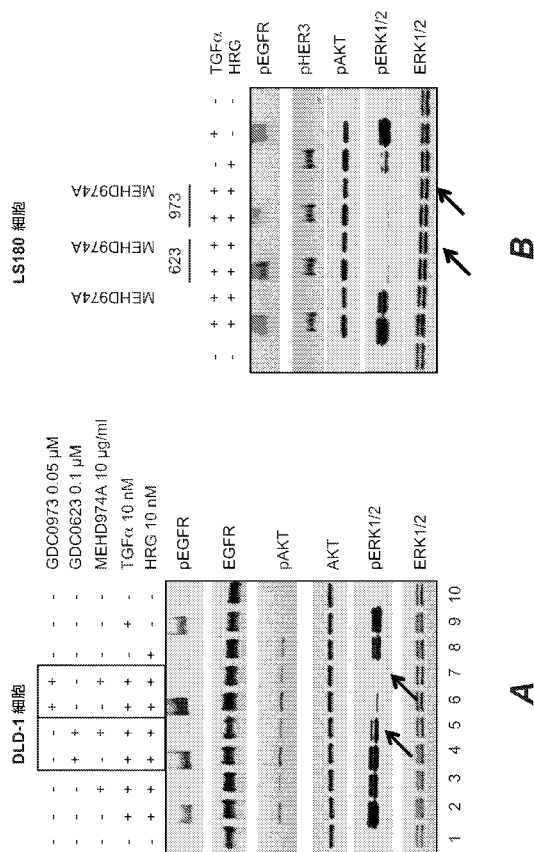
【 図 5 】



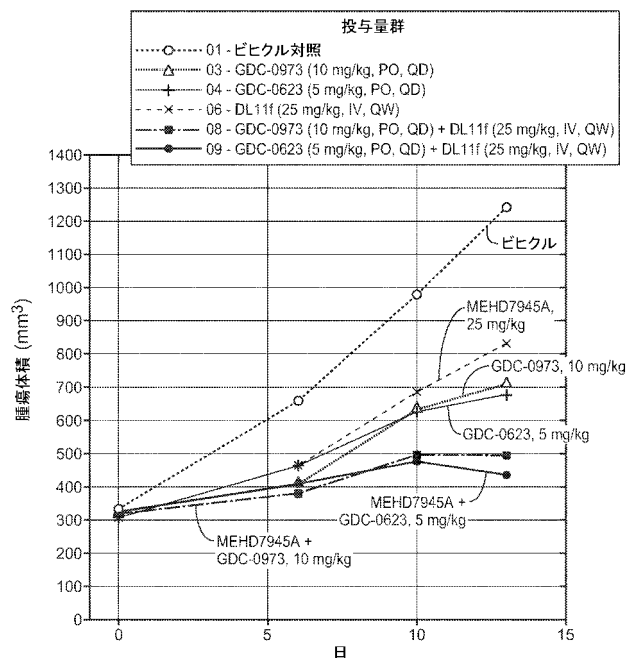
【 図 6 】



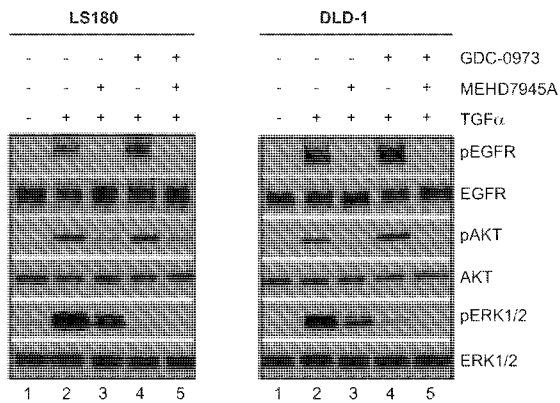
【 図 7 】



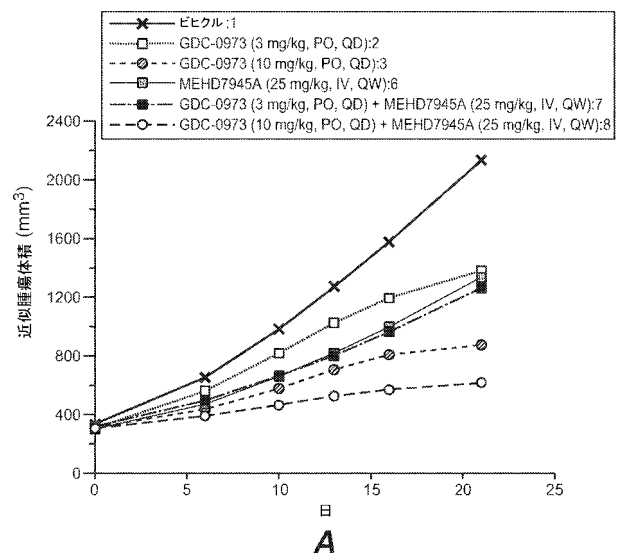
【 図 8 】



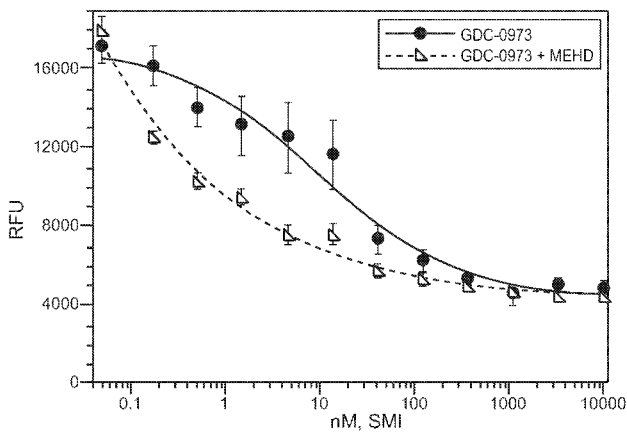
【 図 9 】



【 図 11 】



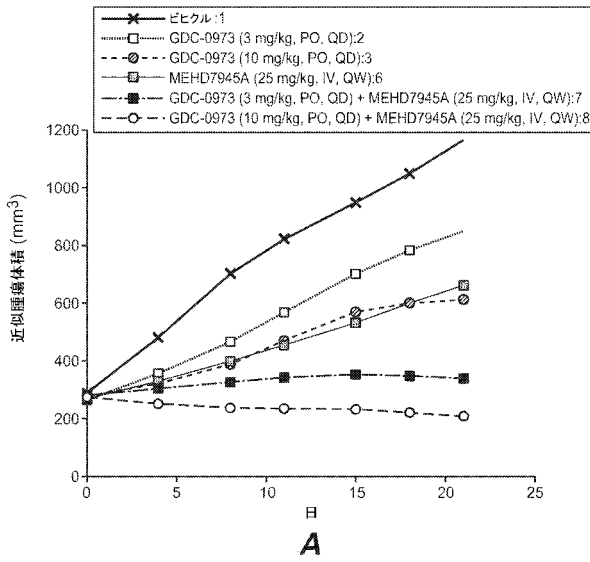
【 図 10 】



群 (n = 8)	試験物質	投与量 (mg/kg)	% TGI (推定)	% TGI (CI下限)	% TGI (CI上限)
1	ビヒクル (MCT)	0	0	0	0
1	ビヒクル (HB#8)	0	0	0	0
2	コビメチニブ	3	28	-55	64
3	コビメチニブ	10	63	16	83
6	MEHD7954A	25	44	-15	73
7	コビメチニブ	3	48	-11	74
7	MEHD7954A	25			
8	コビメチニブ	10	79	49	92
8	MEHD7954A	25			

B

【 図 1 2 】



群 (n = 8)	試験物質	投与量 (mg/kg)	% TGI (推定)	% TGI (CI下限)	% TGI (CI上限)
1	ビヒクル(MCT) ビヒクル(HB#8)	0 0	0	0	0
2	コビメチニブ	3	39	13	59
3	コビメチニブ	10	62	41	75
6	MEHD7945A	25	62	44	76
7	コビメチニブ MEHD7945A	3 25	90	78	99
8	コビメチニブ MEHD7945A	10 25	108	102	115

B

【 図 1 3 B 】

群 (n = 10)	試験物質	投与量 (mg/kg)	% TGI (推定)	% TGI (CI下限)	% TGI (CI上限)
1	ビヒクル(MCT, HB#8)	0	0	0	0
2	コビメチニブ	1	88	73	98
3	コビメチニブ	5	109	104	119
6	MEHD7945A	25	107	102	116
7	コビメチニブ MEHD7945A	1 25	113	106	124
8	コビメチニブ MEHD7945A	5 25	114	106	124

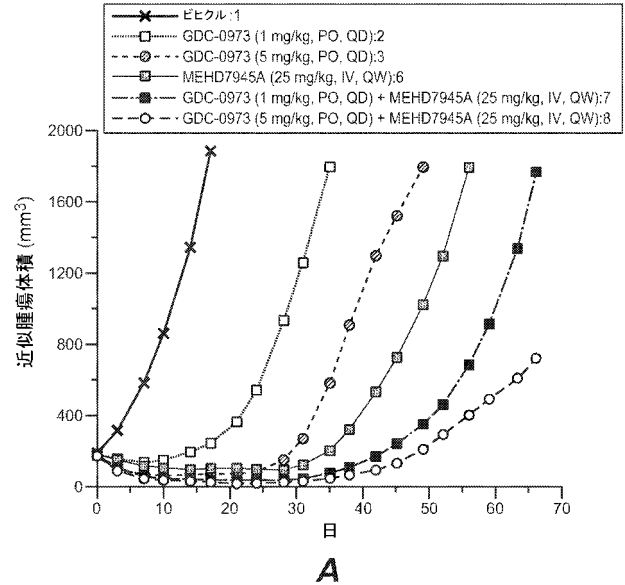
B

【 図 1 3 C 】

群 (n = 10)	試験物質	投与量 (mg/kg)	TTP x2	TTP x5	PR	CR
1	ビヒクル(MCT, HB#8)	0	4.5	11.5	0	0
2	コビメチニブ	1	22	28.5	2	0
3	コビメチニブ	5	33	39	2	0
6	MEHD7945A	25	39.5	49	5	0
7	コビメチニブ MEHD7945A	1 25	50.5	60	10	0
8	コビメチニブ MEHD7945A	5 25	56	NA	7	3

C

【 図 1 3 A 】



【配列表】

2016515132000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2014/027250

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/395 A61K31/435 A61K31/4523 A61P35/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WALTERS DUSTIN M ET AL: "Inhibition of the Growth of Patient-Derived Pancreatic Cancer Xenografts with the MEK Inhibitor Trametinib Is Augmented by Combined Treatment with the Epidermal Growth Factor Receptor/HER2 Inhibitor Lapatinib", NEOPLASIA, NEOPLASIA PRESS, ANN ARBOR, MI, US, vol. 15, no. 2, 1 February 2013 (2013-02-01), pages 143-155, XP008165494, ISSN: 1522-8002, DOI: 10.1593/NEO.121712 abstract page 144 ----- -/--	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 7 August 2014		Date of mailing of the international search report 24/09/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Collura, Alessandra

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/027250

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>LOCKERBIE OWEN: "Combined targeted inhibition of EGFR tyrosine kinase activity and MEK-1 in human colon cancer cells", AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH. PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 46, 1 April 2005 (2005-04-01), pages 292-293, XP009160365, ISSN: 0197-016X the whole document</p>	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
Y	<p>AMRITA V KAMATH ET AL: "Preclinical pharmacokinetics of MEHD7945A, a novel EGFR/HER3 dual-action antibody, and prediction of its human pharmacokinetics and efficacious clinical dose", CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 69, no. 4, 28 December 2011 (2011-12-28), pages 1063-1069, XP035035164, ISSN: 1432-0843, DOI: 10.1007/S00280-011-1806-6 abstract</p>	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
Y	<p>GABRIELE SCHAEFER ET AL: "A Two-in-One Antibody against HER3 and EGFR Has Superior Inhibitory Activity Compared with Monospecific Antibodies", CANCER CELL, CELL PRESS, US, vol. 20, no. 4, 18 October 2011 (2011-10-18), pages 472-486, XP002679896, ISSN: 1535-6108, DOI: 10.1016/J.CCR.2011.09.003 [retrieved on 2011-10-17] abstract</p>	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
Y	<p>WO 2013/019906 A1 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]; MAECKER HEATHER [US]; IRVI) 7 February 2013 (2013-02-07) the whole document claims 25, 29</p>	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
Y	<p>WO 2012/065935 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOEFLICH KLAUS P [US]; KOEPPEN HARTMUT [US]; 0) 24 May 2012 (2012-05-24) comments to fig. 11 and 12; page 5</p>	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
	----- -/--	

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/027250

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y,P	HATZIVASSILIOU GEORGIA ET AL: "Mechanism of MEK inhibition determines efficacy in mutant KRAS- versus BRAF-driven cancers.", NATURE 12 SEP 2013, vol. 501, no. 7466, 12 September 2013 (2013-09-12), pages 232-236, XP002728250, ISSN: 1476-4687 abstract -----	1-6, 8-17, 19-28, 30-32
X,P	WO 2013/086031 A1 (NESTEC SA [CH]; SINGH SHARAT [US]) 13 June 2013 (2013-06-13) claims 7, 9, 11 -----	1-32

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/027250

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013019906 A1	07-02-2013	AR 087405 A1 AU 2012290121 A1 CA 2843595 A1 CN 103842030 A CO 6900118 A2 EP 2739358 A1 KR 20140063643 A TW 201318638 A WO 2013019906 A1	19-03-2014 09-05-2013 07-02-2013 04-06-2014 20-03-2014 11-06-2014 27-05-2014 16-05-2013 07-02-2013
WO 2012065935 A1	24-05-2012	CA 2817133 A1 CN 103298461 A EP 2640369 A1 JP 2013542965 A KR 20130121122 A WO 2012065935 A1	24-05-2012 11-09-2013 25-09-2013 28-11-2013 05-11-2013 24-05-2012
WO 2013086031 A1	13-06-2013	NONE	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D 4 H 0 4 5
C 0 7 D 401/04 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
C 0 7 D 471/04 (2006.01)	C 0 7 D 401/04	
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 D 471/04	1 0 8 X
	C 0 7 K 16/18	Z N A

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

(72) 発明者 スリウコフスキー, マーク エックス.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72) 発明者 コーン, ウルフギヤング マイケル
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94607-5200, オークランド, フランクリン ス
 トリート 1111, トゥウェルフス フロア, シーノオー ザ リージェンツ オブ ザ
 ユニバーシティ オブ カリフォルニア

F ターム(参考) 4C063 AA01 BB01 CC10 DD02 EE01
 4C065 AA03 BB06 CC01 DD02 EE02 HH08 JJ07 KK01 LL01 PP03
 4C084 AA20 MA02 NA05 ZB26 ZC75
 4C085 AA13 AA14 EE03
 4C086 AA01 AA02 BC21 CB05 GA07 GA12 MA02 MA04 MA07 NA05
 ZB26 ZC75
 4H045 BA10 BA13 BA14 BA16 DA76 EA20 FA74