



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월26일

(11) 등록번호 10-2786010

(24) 등록일자 2025년03월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) **A61K 31/52** (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01) **C07K 16/28** (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 31/52 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7011695(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2016년08월18일
 심사청구일자 2024년04월08일
- (85) 번역문제출일자 2024년04월08일
- (65) 공개번호 10-2024-0052084
- (43) 공개일자 2024년04월22일
- (62) 원출원 특허 10-2018-7007728
 원출원일자(국제) 2016년08월18일
 심사청구일자 2021년08월12일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2016/069571
- (87) 국제공개번호 WO 2017/032679
 국제공개일자 2017년03월02일
- (30) 우선권주장
 15181925.7 2015년08월21일
 유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌
 JP2014525926 A
 JP2014525925 A
 Journal of Cancer. Vol.137, No.9,
 pp.2234-2242 (2015.04.)
- (73) 특허권자
인사이트 코퍼레이션
 미국 델라웨어주 19803 월밍톤 어거스틴 컷-오프 1801
- (72) 발명자
엔델, 잔
 독일 뮌헨 80333 바러 스트라쎄 36
빈더리치, 마크
 독일 뮌헨 81371 임플러스트라쎄 52
박스해머, 라이너
 독일 아잉 85653 에그마틴저 스트라쎄 5
- (74) 대리인
허용록

전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 조합 및 이의 용도

(57) 요약

본 개시는 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료를 위한, 항-CD19 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 약제학적 조합을 기술한다.

대표도 - 도1

MOR00208 가변 중쇄 도메인의 아미노산 서열:
 (CDR은 굵은 글씨이고 밑줄침)
 EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYFT**SYVMH**HWVRQAPGKGLEWIGV**INPY**
NDGTKYNEKFGGRVITSSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYC**AGTYYTG**TRVFDY**YWG**
 GGTLTIVTSS (서열번호: 10)

MOR00208 가변 경쇄 도메인의 아미노산 서열:
 (CDR은 굵은 글씨이고 밑줄침)
 DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RSSKSLQNVNGNTLY**WFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPRDFSGSGGTFTLTISLSEPEDFAVYYC**MOHLEYPI**TFGAGTKLEIK(서열
 번호: 11)

MOR00208 HCDR1의 아미노산 서열: SYVMH(서열번호: 1)
 MOR00208 HCDR2의 아미노산 서열: NPYNDG(서열번호: 2)
 MOR00208 HCDR3의 아미노산 서열: GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)

MOR00208 LCDR1의 아미노산 서열: RSSKSLQNVNGNTLY(서열번호: 4)
 MOR00208 LCDR2의 아미노산 서열: RMSNLNS(서열번호: 5)
 MOR00208 LCDR3의 아미노산 서열: MOHLEYPI(서열번호: 6)

(52) CPC특허분류

A61K 39/39558 (2013.01)

A61P 35/02 (2018.01)

C07K 16/2803 (2013.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

C07K 2317/73 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함하는, CD19에 특이적인 항체를 포함하는, 비-호지킨 림프종, 만성 림프성 백혈병 또는 급성 림프모구 백혈병 치료용 억제학적 조성물로서, 상기 CD19에 특이적인 항체는 이델라리십과 조합하여 사용되는 것을 특징으로 하는, 억제학적 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 항체는 서열

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGGQTLTVSS(서열번호: 10)의 가변 중쇄 및

서열

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(서열번호: 11)의 가변 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는, 억제학적 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 항체는 서열

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 12)의 중쇄 불변 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 억제학적 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 항체는 서열

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD

STYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(서열번호: 13)의 경쇄 불변 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 억제학적 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 항체는 서열

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 12)의 중쇄 불변 도메인 및

서열

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD

STYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(서열번호: 13)의 경쇄 불변 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 억제학적 조성물.

청구항 6

제 2항에 있어서, 항체는 서열

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHCTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKC
KVSNAKALPAEEKTI SSKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 12)의 중쇄 불변 도메인 및

서열

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD

STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(서열번호: 13)의 경쇄 불변 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 CD19에 특이적인 항체 및 이텔라리십은 별도로 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 CD19에 특이적인 항체 및 이텔라리십은 물리적으로 별도로 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 9

제 7항에 있어서, 상기 CD19에 특이적인 항체 및 이텔라리십은 시간적으로 별도로 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 10

제 1항에 있어서, 상기 CD19에 특이적인 항체 및 이텔라리십은 함께 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 11

제 1항에 있어서, 이텔라리십은 CD19에 특이적인 항체의 투여 전에 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 12

제 1항에 있어서, 이텔라리십은 CD19에 특이적인 항체의 투여 후에 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 13

제 1항에 있어서, 이텔라리십 및 CD19에 특이적인 항체는 동시에 투여되는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 비-호지킨 림프종 치료용 약제학적 조성물.

청구항 18

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 여포성 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 19

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 소형 림프구 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 20

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 점막-관련 림프 조직 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 21

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 산재성 대형 B 세포 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 22

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 버킷 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 23

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 맨틀 세포 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 24

제 17항에 있어서, 비-호지킨 림프종은 변연부 림프종인 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

청구항 25

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 만성 림프성 백혈병 치료용 약제학적 조성물.

청구항 26

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 급성 림프모구 백혈병 치료용 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료를 위한, 항-CD19 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 약제학적 조합에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] B 세포는 체액성 면역 반응에 많은 역할을 하는 림프구이다. 이들은 대부분의 포유류의 골수에서 생산되고, 순환 림프성 풀의 5 내지 15%를 나타낸다. B 세포의 주된 기능은 다양한 항원에 대한 항체를 만드는 것이고, 적응 면역 체계의 필수적인 요소이다.

[0003] 면역 체계를 조절하는 데 있어서 이들의 중대한 역할 때문에, B 세포의 조절장애는 림프종 및 백혈병과 같은 다양한 장애와 관련된다. 이들은 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma, NHL), 만성 림프구 백혈병(chronic lymphocytic leukemia, CLL) 및 급성 림프모구 백혈병(acute lymphoblastic leukemia, ALL)을 포함한다.

[0004] NHL은 림프구로부터 유래되는 이종 악성종양이다. 미국(U.S.)에서, 그 발생은 65,000/년으로 추정되고 대략 20,000의 사망율을 갖는다(American Cancer Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review). 이 질환은 모든 연령에서 일어날 수 있고, 보통 40 세가 넘는 성인에서 발병이 시작되는데, 나이와 함께 발생이 증가한다. NHL은, 비록 임의의 주요 기관이 포함될 수 있다 하더라도, 림프절, 혈액, 골수 및 비장에 축적되는 림프구의 클론 증식을 특징으로 한다. 병리학자 및 임상의학에 의해 사용되는 현재의 분류 체계는 세계 보건 기구 종양 분류(World Health Organization(WHO) Classification of Tumours)로, NHL을 전구체 및 성숙 B-세포 또는 T-세포

신생물로 정리한다. PDQ는 현재 NHL을 임상 시험 진입에서 무통성 또는 공격성으로 분류한다. 무통성 NHL 군은 일차적으로 여포성 서브타입, 소형 림프구 림프종, MALT(점막-관련 림프 조직), 및 변연부로 구성되고; 무통성은 대략 50%의 새로 진단 받은 B-세포 NHL 환자를 포괄한다. 공격성 NHL은 주로 산재성 대형 B 세포(DLBL, DLBCL, 또는 DLCL)(새로 진단 받은 모든 환자의 40%는 산재성 대형 세포를 가짐), 버킷(Burkitt), 및 맨틀 세포의 조직학적 진단을 받은 환자를 포함한다. NHL의 임상 과정은 매우 다양하다. 임상 과정의 주요 결정 요인은 조직학적 서브타입이다. 대부분의 무통성 유형의 NHL은 치유 불가능한 질환으로 고려된다. 환자는 초기에 화학요법 또는 항체 요법 중 하나에 반응하고 대부분 재발할 것이다. 지금까지의 연구에서는 조기 개입으로 생존의 개선을 보여주지 못하였다. 무증상 환자에서는, 환자가 증상을 보이게 되거나 질환 속도가 가속화되는 것으로 보일 때까지 "지켜보고 기다리는" 것이 허용될 수 있다. 시간 경과에 따라, 질환은 더욱 공격성 조직학으로 변환될 수 있다. 중앙값 생존은 8 내지 10 년이고, 무통성 환자는 종종 이들의 질환 치료 단계 동안 3 가지 이상의 치료를 받는다. 증상이 있는 무통성 NHL 환자의 초기 치료는 조직학적으로 조합 화학요법이였다. 가장 통상적으로 사용되는 물질은 다음을 포함한다: 사이클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손(CVP); 또는 사이클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴, 프레드니손(CHOP). 대략 70% 내지 80%의 환자가 초기 화학요법에 반응할 것이고, 차도의 지속 기간은 대략 2 내지 3 년 지속될 것이다. 궁극적으로 대부분의 환자는 재발한다. 항-CD20 항체인 리툽시맙의 발견 및 임상적 사용은 반응 및 생존율에 유의미한 개선을 제공하였다. 대부분의 환자에 대한 현재의 표준 치료는 리툽시맙 + CHOP(R-CHOP) 또는 리툽시맙 + CVP(R-CVP)이다. 인터페론은 알킬화제와 조합으로 NHL의 초기 치료를 위해 승인되지만, 미국에서는 사용이 제한된다. 리툽시맙 요법은 몇 가지 유형의 NHL에 효과적임을 보여주었고, 현재 무통성(여포성 림프종) 및 공격성 NHL(산재성 대형 B 세포 림프종) 둘 다에 대한 제1선 치료로서 승인된다. 그러나, 일차적 저항성(재발된 무통성 환자에서 50% 반응), 획득 저항성(재-치료시 50% 반응율), 드문 완전 반응(재발된 집단에서 2% 완전 반응율), 및 지속되는 재발 패턴을 포함하여, 항-CD20 단클론 항체(mAb)의 상당한 제한이 있다. 마지막으로, 많은 B 세포는 CD20을 발현하지 않고, 따라서 많은 B-세포 장애가 항-CD20 항체 요법을 사용하여 치료될 수 없다.

[0005] NHL에 추가하여 B 세포의 조절장애로부터 야기되는 몇 가지 유형의 백혈병이 있다. CLL은 B 림프구의 비정상적 축적에 의해 야기되는 일종의 성인 백혈병이다. CLL에서, 악성 림프구는 정상적이고 성숙한 것으로 보일 수 있지만, 이들은 감염에 효과적으로 대응할 수 없다. CLL은 성인에서 가장 흔한 형태의 백혈병이다. 남성은 CLL을 발생시킬 가능성이 여성의 2 배이다. 그러나, 핵심 위험 인자는 연령이다. 새로운 사례의 75%가 넘게 50 세가 넘는 환자에서 진단된다. 매년 10,000 사례 넘게 진단되고 사망률은 연간 거의 5,000이다(American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review). CLL은 치유 불가능한 질환이지만 대부분의 경우 서서히 진행된다. CLL이 있는 많은 사람이 오랫동안 정상적이고 활동적인 생활을 영위한다. 이의 느린 시작으로 인해, 초기-단계의 CLL은 보통 치료하지 않는데, 초기 CLL 개입은 생존 시간 또는 삶의 질을 개선하지 못하는 것으로 생각되기 때문이다. 대신에, 병태는 시간 경과에 따라 모니터링된다. 초기 CLL 치료는 정확한 진단 및 질환의 진행에 따라 달라진다. CLL 요법에 사용되는 많은 물질이 있다. FCR(플루다라빈, 사이클로포스파미드 및 리툽시맙), 및 BR(이멜라리십 및 리툽시맙)과 같은 조합 화학요법제 요법은 새로-진단된 CLL 및 재발된 CLL 둘 다에 효과적이다. 동종 골수(줄기세포) 이식은 이의 위험으로 인해 CLL에 대한 제1선 치료로서 거의 사용되지 않는다.

[0006] 다른 유형의 백혈병은 급성 림프구 백혈병으로도 알려진, 급성 림프모구 백혈병 ALL이다. ALL은 골수에서 악성 및 미성숙 백혈구(림프모구로도 알려진)의 과생산 및 지속적 증식을 특징으로 한다. '급성'은 미분화된 미성숙 상태의 순환 림프구("미분화(blast)")를 말하고, 질환이 신속하게 진행하여 치료하지 않고 방치될 경우 수 주 내지 수 개월의 예상 수명을 갖는 것을 의미한다. ALL은 피크 발생이 4 내지 5 세로 유년기에 가장 흔하다. 12 내지 16 세의 아동이 다른 경우보다 더 쉽게 이로 인해 사망한다. 현재, 적어도 80%의 유년기 ALL은 치유 가능한 것으로 고려된다. 매년 4,000 사례 아래로 진단되고 사망률은 연간 거의 1,500이다(American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review).

[0007] 인간 CD 19 분자는 전구-B 세포, 초기 발생 단계의 B 세포(즉, 미성숙 B 세포), 형질 세포로의 말기 분화까지의 성숙 B 세포, 및 악성 B 세포를 포함하지만 이에 한정되지 않는, 인간 B 세포의 표면에서 발현되는 구조적으로 별개인 세포 표면 수용체이다. CD 19는 대부분의 전구-B 급성 림프모구 백혈병(ALL), 비-호지킨 림프종, B 세포 만성 림프구 백혈병(CLL), 프로-림프구 백혈병, 모양 세포성 백혈병(hairy cell leukemia), 공통 급성 림프구 백혈병, 및 일부 Null-급성 림프모구 백혈병으로 발현된다 (Nadler et al, J. Immunol., 131:244-250 (1983), Loken et al, Blood, 70:1316-1324 (1987), Uckun et al, Blood, 71:13-29 (1988), Anderson et al, 1984. Blood, 63:1424-1433 (1984), Scheuermann, Leuk. Lymphoma, 18:385-397(1995)). 형질 세포에서 CD 19의 발현은 이것이 다발성 골수종, 형질세포종, 발덴스트롬 종양(Waldenstrom's tumors)과 같은 분화된 B 세포

종양에서 발현될 수 있음을 추가로 제안한다(Grossbard et al., Br. J. Haematol, 102:509-15(1998); Treon et al, Semin. Oncol, 30:248-52(2003)).

- [0008] 따라서, CD 19 항원은 비-호지킨 림프종(본원에 기술되는 각각의 서브타입을 포함하는), 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료에 있어서 면역요법의 표적이다.
- [0009] 특정 CD19 요법이 알려져 있다. CD3- ζ 및 4-BB 공동자극 도메인을 포함하는 항-CD19 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 T 세포가 진행된 CLL 환자 3 인에게 투여되었다. 그 전체가 참조로 도입되는 Kalos et al., T cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia, Science Translational Medicine, vol. 3, no. 95 (10 August 2011). 그 전체가 참조로 도입되는 Sadelain et al., The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, no.2, 2 April 2009 또한 항-CD19 키메라 항원 수용체(CARs)를 기술한다.
- [0010] 비-특이적 B 세포 림프종에서의 CD19 항체의 사용은 둘 다 그 전체가 참조로 도입되는 WO2007076950 (US2007154473)에서 논의된다.
- [0011] CLL, NHL 및 ALL에서 CD19 항체의 사용은, 그 전체가 참조로 도입되는 Scheuermann et al., CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)에 기술된다.
- [0012] CD19에 특이적인 추가의 항체는 모두 그 전체가 참조로 도입되는 WO2005012493 (US7109304), WO2010053716 (US12/266,999) (Immunomedics); WO2007002223 (US8097703) (Medarex); WO2008022152 (US12/377,251) 및 WO2008150494 (Xencor), WO2008031056 (US11/852,106) (Medimmune); WO 2007076950 (US11/648,505) (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (US12/253,895) (Seattle Genetics); 및 WO2010095031 (US12/710,442) (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562 및 WO2012010561 (International Drug Development), WO2011147834 (Roche Glycart), 및 WO 2012/156455 (Sanofi)에 기술된다.
- [0013] CD19에 특이적인 항체와 다른 물질의 조합은 모두 그 전체가 참조로 도입되는 WO2010151341 (US 13/377,514) (The Feinstein Institute); US5686072 (University of Texas), 및 WO2002022212 (PCT/US01/29026) (IDEC Pharmaceuticals), WO2013/024097 (US14/126,928) (MorphoSys AG) 및 WO2013/024095 (US14/127,217) (MorphoSys AG)에 기술된다. 미국 캘리포니아 주 샌디에이고에서 2014년 4월 5~9일에 열린 AACR 연례학술대회의 "Drug synergies observed for antibody and toxin components of SAR3419 ADC contribute to overall conjugate efficacy and can be combination drug or tumor cell line dependent"라는 제목의 초록 4765는 특정 세포주에서 PI3K 억제제와 SAR3419 항-CD19 항체 약물 접합체(ADC)의 조합을 개시하고 있다.
- [0014] 특정 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 상업적으로 입수 가능하다. GS-1101 또는 CAL-101로도 알려져 있는 이델라리십(Idelalisib)은 길리어드(Gilead)가 판매하며, 미국에서 자이델릭(Zydelig)이라는 상표명을 갖는다. 이델라리십은 미국 특허번호 6,800,620; 8,865,730; 8,980,901; RE44599; 및 RE44638에 기술되어 있는데, 이들 전부는 그 전체가 참조로 포함된다.
- [0015] 항암제의 발견 및 개발에 있어서의 최근의 진보에도 불구하고 CD19-발현 종양을 포함하는 많은 형태의 암이 여전히 좋지 못한 예후를 갖는다는 것은 명백하다. 따라서, 이러한 형태의 암을 치료하기 위한 개선된 방법에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0016] 단독으로나 조합으로나 선행 기술에서는 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료에서 예시된 항체와 이델라리십의 조합의 상승적 효과를 제안하지 않는다.
- [0017] 일 양태에서, 본 개시는 CD19에 특이적인 항체와 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 상승적 조합과 관련된다. 이러한 조합은 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병(ALL)과 같은 B 세포 악성 종양의 치료에 유용하다.
- [0018] 시험관내 모델은 특정 화합물 또는 화합물의 조합이 인간에서 어떤 반응을 보일 것인지를 시사한다고 여겨진다. 여러 세포주들이 검사되었다. 예를 들어, 만성 B-세포 백혈병 세포주인 MEC-1 세포(DSMZ# ACC497). 이 시험관내

모델에서 MEC-1 세포는 이러한 조합이 인간에서 만성 림프성 백혈병(CLL)의 치료에서 어떻게 작용할 것인지를 보여준다.

[0019] 또한, 화합물이 시험관내에서 조합될 때는, 조합이 단지 상가적 효과를 가질 것으로 예상된다. 놀랍게도, 본 발명자들은 CD19에 특이적인 특정 항체와 이텔라리십의 조합이 이 항체 및 이텔라리십 단독과 비교하여 시험관내에서 상승적 수준의 특이적 세포 살해를 매개하는 것을 발견하였다.

[0020] 특히, 본 발명자들은 MOR00208과 이텔라리십의 조합이 이 항체 및 이텔라리십 단독과 비교하여 MEC-1세포에서 시험관내 상승적 수준의 특이적 세포 살해를 매개하는 것을 발견하였다.

[0021] 또한, 그리고 예상치 못하게, 본 발명자들은 CD19에 특이적인 특정 항체와 이텔라리십의 조합이 이 항체 및 이텔라리십 단독과 비교하여 특성의 우수한 기능적 특징을 갖는 것을 발견하였다.

[0022] 요약하면, 예시된 항-CD19 항체와 이텔라리십의 조합은 CLL 관련 모델에서 상승적으로 거동하였다. CLL은 B 세포 관련 장애이고 CD19는 B-세포에서 고도로 발현되므로, 예시된 조합은 동일한 작용 기전을 가질 것이고 또한 B 세포 관련 장애, 예를 들어 NHL 및 ALL의 치료에서 상승적으로 거동할 것이다.

[0023] 따라서, CD19에 특이적인 예시된 항체와 이텔라리십의 조합은 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병에 대한 인간의 치료에 효과적일 것이다. 예시된 CD19에 특이적인 항체와 이텔라리십의 조합의 예상된 효능은 임상 시험에서 확인될 것이다.

[0024] 이텔라리십 및 다른 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 작용 기전이 유사하여 성장 조절, 대사 및 번역 개시와 같은 여러 가지 세포 기능을 위한 중요한 신호전달 경로인 PI3K/AKT/mTOR 경로의 일부인 포스포이노시티드 3-키나제 효소들 중 하나 이상을 억제하여 작용하므로, 비-호지킨 림프종, 만성 림프성 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병을 앓는 인간을 예시된 항-CD19 항체 및 이텔라리십 이외의 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 조합으로 치료할 때에도 상승작용이 보일 것으로 여겨진다.

[0025] 예시된 항-CD19 항체 및 다른 항-CD19 항체는 CD19에 결합하므로, 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병을 앓는 인간을 임의의 항-CD19 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, 예를 들어 이텔라리십의 조합으로 치료할 때 상승작용이 보일 것으로 생각된다.

[0026] 본 개시의 양태는 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함하는 CD19에 특이적인 항체 및 이텔라리십의 상승적 조합을 포함한다. 바람직한 양태에서, 이 조합은 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료에 사용된다.

과제의 해결 수단

[0027] "상승(synergy)", "상승작용(synergism)" 또는 "상승적(synergistic)"은 조합의 예상된 상가적 효과보다 큰 것을 의미한다. 조합의 "상승", "상승작용" 또는 "상승적" 효과는 본원에서 Chou 등, Clarke 등 및/또는 Webb 등의 방법에 의해 결정된다. 그 전체가 참조로 도입되는 Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006) 참조. 또한, 그 전체가 참조로 도입되는 Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents *in vivo* in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997) 참조. 또한, 그 전체가 참조로 도입되는 Webb, J. L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, New York 참조.

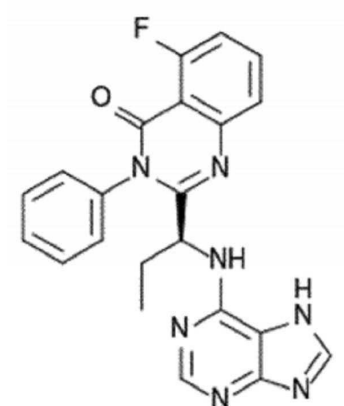
[0028] 용어 "항체"는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE와 같은 임의의 동형(isotype)을 포함하는 단클론 항체를 의미한다. IgG 항체는 이황화 결합에 의해 연결되는 2 개의 동일한 중쇄 및 2 개의 동일한 경쇄로 구성된다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 불변 영역 및 가변 영역을 포함한다. 각각의 가변 영역은, 일차적으로 항원의 에피토프 결합을 담당하는 "상보성-결정 영역"("CDRs") 또는 "초가변 영역"으로 불리는 3 개의 분절을 포함한다. 이들은 N-말단으로부터 순차적으로 넘버링하여 CDR1, CDR2, 및 CDR3로 호칭된다. CDR의 외부에서 가변 영역의 더 고도로 보존된 부분은 "프레임워크 영역"으로 불린다. "항체 단편"은 Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab', F(ab')₂ 단편, 또는 다른 단편을 의미하는데, 이는 각각 CDR 및 프레임워크 영역을 포함하는 적어도 하나의 가변 중쇄 또는 가변 경쇄를 포함한다.

[0029] "포스포이노시티드 3-키나제 억제제"는 성장 조절, 대사 및 번역 개시와 같은 여러 가지 세포 기능에 중요한 신호전달 경로인 PI3K/AKT/mTOR 경로의 일부인 포스포이노시티드 3-키나제 효소들 중 하나 이상을 억제하여 기능하는 의약품 부류이다.

[0030] PI3K에는 다수의 상이한 클래스와 아이소형이 있다. 클래스 1 PI3K는 p110으로 알려져 있는 촉매 서브유닛을 가지고 있는데, 여기에는 네 가지 유형(아이소형) - p110 알파, p110 베타, p110 감마 및 p110 델타가 있다. 현재 연구되고 있는 억제제는 클래스 I PI3K의 하나 이상의 아이소형을 억제한다.

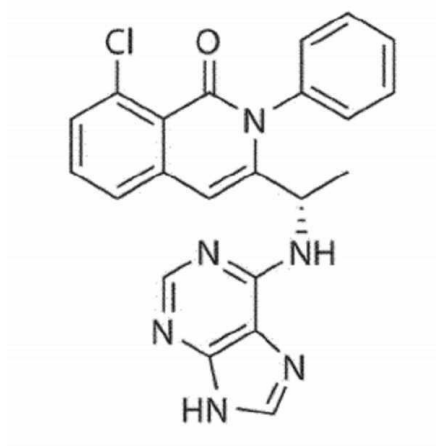
[0031] 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 적어도 이텔라리십, 두벨리십 및 코판리십을 포함한다.

[0032] 이텔라리십은 길리어드 사이언스 社(Gilead Sciences, Inc.)가 판매한다(상표명 자이텔릭, 또한 GS-1101 또는 CAL-101으로도 지칭됨). 이텔라리십은 현재 다른 동반질병으로 인해 리툭시맙 단독 요법이 적절한 치료법으로 간주되는 환자에서 리툭시맙과 조합하여 재발성 만성 림프성 백혈병(CLL)의 치료; 적어도 2종의 이전의 전신 요법을 받았던 환자에서 재발성 여포성 B-세포 비-호지킨 림프종(FL)의 치료; 적어도 2종의 이전의 전신 요법을 받았던 환자에서 재발성 소형 림프구 림프종(SLL)의 치료용으로 표시되어 있다. 이러한 물질은 포스포이노시티드 3-키나제 억제제로 작용한다. 더욱 구체적으로 그것은 효소 포스포이노시티드 3-키나제의 델타 아이소형인 PI10δ를 차단한다. 이텔라리십의 화학식은 다음과 같다:



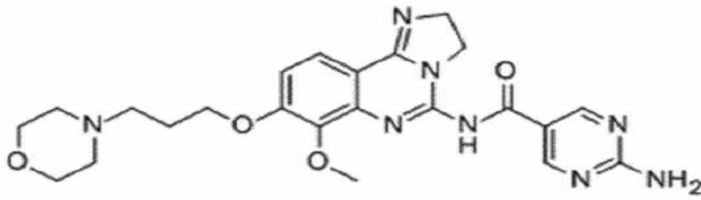
[0033]

[0034] 두벨리십(IPI-145, INK1197)은 신규하고 선택적인 PI3K δ/γ(델타 및 감마) 억제제이다. 두벨리십의 화학식은 다음과 같다:



[0035]

[0036] 바이엘(Bayer)이 개발한 코판리십(BAY 80-6946)은 선택적인 클래스 I 포스포이노시티드 3-키나제 억제제이다. 코판리십의 화학식은 다음과 같다:



[0037]

[0038] "VH"는 항체 또는 항체 단편의 면역글로불린 중쇄의 가변 영역을 말한다. "VL"은 항체 또는 항체 단편의 면역글로불린 경쇄의 가변 영역을 말한다.

[0039] 용어 "CD19"는 다음 동의어를 갖는 CD19로 알려진 단백질을 말한다: B4, B-림프구 항원 CD19, B-림프구 표면 항원 B4, CVID3, 분화 항원 CD19, MGC12802, 및 T-세포 표면 항원 Leu-12.

[0040] 인간 CD19는 다음 아미노산 서열을 갖는다:

[0041] MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTS DGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWVNSDLGGLGCGLKNRSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNSQLS QDLTMAPGSTLWLSGVPVDSVSRGPLSWTHVHPKGP KLSLLELKDDRPARDMWVMTG LLLPRATAQDAGKYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTTRFFKVTPTPGSGPQNYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGP EEEEEGEGYEEP DSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGS AWDP SREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRGMTWSTR.(서열번호: 7).

[0042] "MOR00208"은 항-CD19 항체이다. 가변 도메인의 아미노산 서열은 도 1에 제공된다. MOR00208의 중쇄 및 경쇄 Fc 영역의 아미노산 서열은 도 2에 제공된다. "MOR00208", "XmAb 5574" 및 "MOR208"은 도 1과 도 2에 도시된 항체를 기술하기 위한 동의어로 사용된다. MOR00208 항체는 그 전체가 참조로 포함되는 미국 특허 출원 일련번호 12/377,251에 기술되어 있는데, 이때, 전체 경쇄는 서열번호: 106이고, 전체 중쇄는 서열번호: 87이다.

[0043] MOR00208은 ALL, NHL, CLL 및 소형 림프구 림프종(SLL)의 인간 임상 시험에서 연구된 바 있다.

[0044] CD19에 특이적인 추가의 항체는 그 전체가 참조로 도입되는 US 특허 제7,109,304호 (Immunomedics); 그 전체가 참조로 도입되는 US 출원번호 제11/917,750호 (Medarex); 그 전체가 참조로 도입되는 US 출원번호 제11/852,106호 (Medimmune); 그 전체가 참조로 도입되는 US 출원번호 제11/648,505호 (Merck Patent GmbH); 그 전체가 참조로 도입되는 US 특허 제7,968,687호 (Seattle Genetics); 및 그 전체가 참조로 도입되는 US 출원번호 제12/710,442호 (Glenmark Pharmaceuticals)에 기술된다.

[0045] "Fc 영역"은 인간에서 IgG1, 2, 3, 4 하위 클래스 등일 수 있는 항체의 불변 영역을 의미한다. 인간 Fc 영역의 서열은 IMGT, Human IGH C-REGIONS, http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHCallgenes.html (2011년 5월 16일 검색)에서 이용 가능하다.

[0046] "RefmAb33"은 아미노산 서열이 다음과 같은 항체이다:

[0047] Fc 영역을 포함하는 중쇄:

[0048] QVTLRSGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWDDKKHYNP SLKDRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 8)

[0049] Fc 영역을 포함하는 경쇄:

[0050] DIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCSASSRVGYMHYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCFQSGYPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(서열번호: 9)

- [0051] RefmAb33은 RSV에 특이적이고, 동형 대조로서 사용되는데, MOR00208과 동일한 Fc 영역을 공유하기 때문이다.
- [0052] "조합"은 하나 보다 많은 물품, 예를 들어 항체 및 이델라리십과 같은 화합물을 의미한다.
- [0053] 본 개시는 또한 기술된 조합을 포함하는 조합, 약제, 및 약제학적 조성물과 관련된다. 본 발명의 상승적 조합의 두 성분, 예를 들어 CD19에 특이적인 항체 및 이델라리십은 물리적으로 또는 시간 상으로 함께, 동시에, 별개로 또는 이어서 투여될 수 있다.
- [0054] 이델라리십은 현재 1일 2회 150 mg 경구 투여된다. MOR00208은 현재 정맥 내로 투여되고, 현재 주 1회 또는 2주에 1회 투여된다. 한 구현예에서, 이델라리십은 CD19에 특이적인 항체, 예컨대 MOR00208의 투여 전에 투여된다. 한 구현예에서, 이델라리십은 CD19에 특이적인 항체, 예컨대 MOR00208의 투여 후에 투여된다.
- [0055] 바람직하게는, 두 약물의 투여는 두 약물이 동시에 환자에서 활성이 되도록 허용한다. 예를 들어, MOR00208이 매주 투여되고 이델라리십이 매일 투여되는 경우, 두 약물이 항상 같은 날 투여되지 않더라도 두 약물의 활성 성분은 바람직하게는 동시에 환자에 존재한다.
- [0056] "동시에" 또는 "함께 투여"는 두 성분이 한번에 투여되는 것을 의미하는데, 여기에서 두 성분(약물)은 환자에서 동시에 활성이다. "상승작용"은 두 약물이 동시에 환자에서 활성인 것을 의미한다. "동시에" 또는 "함께 투여"는 약물이 정확히 같은 시간에 또는 같은 날에 항상 투여되는 것을 의미하지는 않는다.
- [0057] 두 성분은 상이한 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다.
- [0058] 약제학적 조성물은 활성 성분, 예를 들어 인간에서 치료적 용도를 위한 항체를 포함한다. 약제학적 조성물은 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다.
- [0059] "투여되는" 또는 "투여"는 주사 가능한 형태에 의한 전달을 포함하나 이에 한정되지 않으며, 예를 들어, 정맥 내, 근육 내, 피부 내, 국소, 피부 경유, 복강 내, 안와 내, 이식에 의해, 또는 예를 들어, 비강 스프레이 또는 흡입용 에어로졸로서, 또는 섭취 가능한 용액으로, 피하 경로 또는 점막 경로, 또는 캡슐 또는 정제로서 경구로 전달되는 것을 포함한다.
- [0060] 화합물 또는 조합의 "치료적으로 유효한 양"은 주어진 질병 또는 장애의 임상적 징후를 측정 가능하게 개선할 수 있거나, 완화할 수 있거나, 부분적으로 저지할 수 있는 양을 지칭한다. 특정한 치료적 목적에 효과적인 이러한 양은 질병 또는 상해의 중증도 뿐만 아니라 대상의 체중 및 일반적 상태에 따라 달라질 것이다. 적절한 투여량의 결정은, 모두 숙련된 의사 또는 임상 과학자의 통상의 기술 범위 내에 있는, 값의 매트릭스를 구축하고 매트릭스에서 상이한 점을 시험하는 것에 의해, 통상적인 실험을 이용하여 달성될 수 있음이 이해될 것이다.
- [0061] 본원에서 "CDRs"은 초티아 등(Chothia et al) 또는 카바트 등(Kabat et al)의 하나에 의해 정의된다. 그 전체가 참조로 도입되는 Chothia C, Lesk AM. (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J Mol Biol., 196(4):901-17 참조. 그 전체가 참조로 도입되는 Kabat E.A, Wu T.T., Perry H.M., Gottesman K.S. and Foeller C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC 참조.
- [0062] "교차 경쟁"은 표준 경쟁 결합 분석에서 항체 또는 다른 결합 물질이 CD19에 대한 다른 항체 또는 결합 물질의 결합을 방해하는 능력을 의미한다. 항체 또는 다른 결합 물질이 CD19에 대한 다른 항체 또는 결합 물질의 결합을 방해할 수 있는 능력 또는 정도, 그리고, 이에 따라 본 발명에 따른 교차-경쟁으로 말할 수 있는지 여부는 표준 경쟁 결합 분석을 사용하여 결정할 수 있다. 하나의 적절한 분석은, 표면 플라즈몬 공명 기술을 사용하여 상호작용의 정도를 측정할 수 있는 비아코어(Biacore) 기술(예를 들어, BIACore 3000 기기(Biacore, Uppsala, Sweden)를 사용하는 것에 의한)의 사용을 포함한다. 교차-경쟁을 측정하기 위한 다른 분석은 ELISA-기반 접근법을 사용한다. 이의 교차-경쟁을 기반으로 하는 항체 "에피토프 비닝(epitope binning)"을 위한 고도의 처리 과정은 국제 특허 출원 W02003/48731에 기술된다.
- [0063] 용어 "에피토프"는 항체에 특이적 결합 또는 다르게는 분자와 상호작용할 수 있는 임의의 단백질 결정기를 포함한다. 에피토프 결정기는 일반적으로 아미노산 또는 탄수화물 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹으로 구성되고 특이적 3-차원 구조 특성뿐 아니라 특이적 전하 특성을 가질 수 있다. 에피토프는 "선형" 또는 "입체 형태"일 수 있다. 용어 "선형 에피토프"는 단백질과 상호작용 분자(항체와 같은) 사이의 모든 상호작용의 점이 단백질의 1차 아미노산 서열을 따라 선형으로 존재하는(연속적) 에피토프를 말한다. 용어 "입체 형태 에피토프"는 불연속 아미노산이 3차원 입체 형태에서 합쳐지는 에피토프를 말한다. 입체 형태 에피토프에서, 상호작용

용의 점은 서로 분리된 단백질의 아미노산 잔기를 가로질러 존재한다.

[0064] "동일한 에피토프에 결합하다"는 항체 또는 다른 결합 물질이 CD19 및 예시된 항체와 동일한 에피토프를 갖는 것에 결합하는 능력을 의미한다. 예시된 항체 및 CD19에 대한 다른 항체의 에피토프는 표준 에피토프 매핑 기법을 사용하여 결정될 수 있다. 해당 분야에 잘 알려져 있는 에피토프 매핑 기법은 Methods in Molecular Biology, Vol. 66(Glenn E.Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey에서의 에피토프 매핑 프로토콜(Epitope Mapping Protocols)을 포함한다. 예를 들어, 선형 에피토프는, 예를 들어 고체 지지체에서 단백질 분자의 일부에 상응하는 다수의 펩티드를 동시에 합성하고, 펩티드가 아직 지지체에 부착되어 있는 동안 펩티드를 항체와 반응시키는 것에 의해 결정될 수 있다. 이러한 기법은 해당 분야에 알려져 있고, 예를 들어 U.S. 특허 제4,708,871호; Geysen et al, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:3998-4002; Geysen et al, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen et al, (1986) Mol. Immunol. 23:709-715에 기술된다. 유사하게, 입체 형태 에피토프는, 예를 들어 수소/중수소 교환, x-선 결정학 및 2-차원 핵자기공명에 의한 것과 같이 아미노산의 공간적 입체 형태를 결정하는 것에 의해 용이하게 확인된다. 예를 들어, 위의 에피토프 매핑 프로토콜(Epitope Mapping Protocols) 참조. 단백질의 항원 영역은 또한, 예를 들어, Oxford Molecular Group으로부터 이용 가능한 Omega 버전 1.0 소프트웨어 프로그램을 사용하여 계산되는 것과 같은, 표준 항원성 및 소수성(hydrophathy) 플롯을 사용하여 확인될 수 있다. 이 컴퓨터 프로그램은 항원성 프로파일을 결정하기 위해 Hopp/Woods 방법, Hopp et al, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828을, 그리고 소수성 플롯을 위해 Kyte-Doolittle 기법, Kyte et al, (1982) J.Mol. Biol. 157: 105-132을 이용한다.

[0066] 구현예

[0067] 본 개시의 양태는 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료에서의 사용을 위한, CD19에 특이적인 항체와 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 조합을 포함한다. 구현예에서, 조합은 상승적이다.

[0068] 본원에서, 예시된 항-CD19 항체 및 이텔라리십의 조합은 CLL과 관련된 시험관내 모델에서 상승적으로 거동한다. CLL은 B 세포 관련 장애이고 CD19는 B-세포에서 고도로 발현되므로, 예시된 조합은 동일한 작용 기전을 가질 것이고 또한 다른 B 세포 관련 장애, 예를 들어 NHL 및 ALL의 치료에서 상승적으로 거동할 것이다. 따라서, CD19에 특이적인 예시된 항체와 이텔라리십의 조합은 비-호지킨 림프종, 만성 림프성 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병에서 인간의 치료에 효과적일 것이다. 예시된 CD19에 특이적인 항체와 이텔라리십의 조합의 예상된 효능은 임상 시험에서 확인될 것이다.

[0069] 만성 B-세포 백혈병 세포주인 MEC-1 세포(DSMZ# ACC497)를 시험했다.

[0070] 추가적인 세포주를 평가한다: 라모스 세포(ATCC 번호 CRL-1596), 인간 버킷 림프종 세포, HG-3(DSMZ#ACC765) 및 C11(DSMZ#ACC773)는 만성 림프구 백혈병 세포주이다. Su-DHL 6(DSMZ#ACC572) 및 U2932(DSMZ#ACC633)는 산재성 대형 B-세포 림프종(DLBCL) 세포주이다. JVM-2(ATCC® CRL-3002)는 맨틀 세포 림프종 세포주이다. BALL-1(DSMZ#ACC742)은 급성 림프모구 백혈병 세포주이다.

[0071] 이 시험관내 모델에서 MEC-1 세포는 이러한 조합이 인간에서 만성 림프성 백혈병(CLL)의 치료에 어떻게 작용할 것인지를 나타낸다. 이 시험관내 모델에서 라모스 세포는 이러한 조합이 인간에서 비-호지킨 림프종(NHL)의 치료에 어떻게 작용할 것인지를 나타낸다. 이 시험관내 모델에서 HG-3 및 C11 세포는 이러한 조합이 인간에서 만성 림프성 백혈병(CLL)의 치료에 어떻게 작용할 것인지를 나타낸다. 이 시험관내 모델에서 Su-DHL 6 및 U2932 세포는 이러한 조합이 인간에서 비-호지킨 림프종의 치료에 어떻게 작용할 것인지를 나타낸다. 이 시험관내 모델에서 JVM-2 세포는 이러한 조합이 인간에서 비-호지킨 림프종의 치료에 어떻게 작용할 것인지를 나타낸다. 이 시험관내 모델에서 BALL-1 세포는 이러한 조합이 인간에서 급성 림프모구 백혈병의 치료에 어떻게 작용할 것인지를 나타낸다.

[0072] 추(Chou) 지수 및 클라크 등 값은 MOR00208과 이텔라리십 단독과 비교하여 MEC-1 세포의 특이적 살해에서 MOR00208과 이텔라리십의 이러한 조합의 명백한 상승작용을 나타낸다.

[0073] 요약하면, 예시된 항-CD19 항체와 이텔라리십의 조합은 CLL과 관련된 모델에서 상승적으로 거동한다. 따라서, CD19에 특이적인 예시된 항체와 이텔라리십의 조합은 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병에서 인간의 치료에 효과적일 것이다.

[0074] 이텔라리십 및 다른 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 작용 기전이 유사하여 성장 조절, 대사 및 번역 개시와 같은 여러 가지 세포 기능을 위한 중요한 신호전달 경로인 PI3K/AKT/mTOR 경로의 일부인 포스포이노시티드

3-키나제 효소들 중 하나 이상을 억제하여 작용하므로, 비-호지킨 림프종, 만성 림프성 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병을 앓는 인간을 예시된 항-CD19 항체 및 이텔라리십 이외의 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 조합으로 치료할 때에도 상승작용이 보일 것으로 여겨진다.

- [0075] 예시된 항-CD19 항체 및 다른 항-CD19 항체는 CD19에 결합하므로, 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병을 앓는 인간을 임의의 항-CD19 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 조합으로 치료할 때 상승작용이 보일 것으로 생각되는데, 여기에서 항-CD19 항체는 예를 들어, 모두 그 전체가 참조로 도입되는, US 특허 출원번호 제12/377,251호 (Xencor), WO2005012493, WO2010053716 (Immunomedics); WO2007002223 (Medarex); WO2008022152 (Xencor); WO2008031056 (Medimmune); WO 2007/076950 (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (Seattle Genetics); 및 WO2010095031 (Glenmark Pharmaceuticals)에 기술된다.
- [0076] 구현예에서, CD19에 특이적인 항체는 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함하는 항체와 교차-경쟁하는 항체를 포함한다.
- [0077] 구현예에서, CD19에 특이적인 항체는 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함하는 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다.
- [0078] 구현예에서, CD19에 특이적인 항체는 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함한다.
- [0079] 구현예에서, CD19에 특이적인 항체는 서열
- [0080] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYFTSYVMHWVRQAPGKLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS(서열번호: 10)의 가변 중쇄 및 서열
- [0081] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(서열번호: 11)의 가변 경쇄를 포함한다.
- [0082] 특정 구현예에서 상기 항체는 서열
- [0083] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPPEAPPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKC KVSNAKALPAPEEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMEALHNHYTQKSLSPGK(서열번호: 12)의 중쇄 불변 도메인을 포함한다.
- [0084] 구현예에서, CD19에 특이적인 항체는 서열
- [0085] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSLTSLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(서열번호: 13)의 경쇄 불변 도메인을 포함한다.
- [0086] 구현예에서, 이러한 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 이텔라리십이다.
- [0087] 구현예에서, 이러한 조합의 성분들인 CD19에 특이적인 항체와 이텔라리십은 별도로 투여된다. 한 구현예에서, 이텔라리십은 CD19에 특이적인 항체의 투여 전에 투여된다. 한 구현예에서, 이텔라리십은 CD19에 특이적인 항체의 투여 후에 투여된다. 구현예에서, 이러한 조합의 성분들인 CD19에 특이적인 항체와 이텔라리십은 동시에 또는 함께 투여된다.
- [0088] 구현예에서 조합은 약제학적 조성물이다. 구현예에서, 조성물은 허용 가능한 담체를 포함한다. 구현예에서, 조합은 유효량으로 투여된다.
- [0089] 다른 양태에서 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함하는 CD19에 특이적인 항체와 이텔라리십의 상승적 조합은, 이텔라리십 단독보다 적어도 2-배, 3-배, 4-배, 또는 5-배 더 양호한

효능으로, 분리된 인간 PBMC의 존재 중 ADCC에 의한 MEC-1 세포의 살해를 매개할 수 있다.

[0090] 본 개시의 양태는, 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병의 치료를 위한, 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함하는 CD19에 특이적인 항체와 이델라리십의 상승적 조합을 포함한다. 구현예에서, 비-호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소형 림프구 림프종, 점막-관련 림프 조직, 변연부, 산재성 대형 B 세포, 버킷(Burkitt), 및 맨틀 세포로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0091] 다른 양태는 필요로 하는 개체에서 비-호지킨 림프종, 만성 림프구 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병을 치료하는 방법을 포함하는데, 이 방법은 CD19에 특이적인 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 투여를 포함한다. 이 방법의 구현예에서, CD19에 특이적인 항체는 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함한다. 이 방법의 구현예에서, 항체는 CD19에 특이적인 예시된 항체를 포함한다. 이 방법의 구현예에서, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 이델라리십이다.

[0092] 또 다른 양태는 필요로 하는 개체에서 비-호지킨 림프종, 만성 림프성 백혈병 및/또는 급성 림프모구 백혈병 치료용 약제의 제조에 있어서 CD19에 특이적인 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제의 용도를 포함하는데, 이러한 방법은 CD19에 특이적인 항체 및 포스포이노시티드 3-키나제 억제제를 포함하는 약제의 투여를 포함한다. 이러한 방법의 구현예에서, CD19에 특이적인 이러한 항체는 서열 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)의 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)의 LCDR2 영역 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)의 LCDR3 영역을 포함한다. 이러한 방법의 구현예에서, 이러한 항체는 CD19에 특이적인 예시된 항체를 포함한다. 이러한 방법의 구현예에서, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제는 이델라리십이다.

도면의 간단한 설명

[0093] 도 1은 MOR00208의 가변 도메인의 아미노산 서열을 보여준다.

도 2는 MOR00208의 Fc 영역의 아미노산 서열을 보여준다.

도 3 내지 6은 4회의 독립적인 실험으로부터 MEC-1 세포에서 MOR00208과 이델라리십의 조합의 ADCC 용량 반응 곡선을 보여준다.

도 7 내지 10은 4회의 독립적인 실험으로부터 상이한 용량의 MOR00208 및 이델라리십의 조합의 CI 곡선을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0094] 실시예

[0095] 실시예 1: MOR00208 및 이델라리십 단독 및 조합을 이용한 MEC-1 세포의 세포독성

[0097] 재료

[0098] 세포주 MEC-1 세포(DSMZ# ACC497) 만성 B-세포 백혈병 세포주; JVM-2(ATCC® CRL-3002) 맨틀 세포 림프종 세포주; 라모스 세포(ATCC 번호 CRL-1596), 인간 버킷 림프종 세포; HG-3(DSMZ#ACC765), 및 C11(DSMZ#ACC773)는 만성 림프성 백혈병 세포주이고; Su-DHL 6(DSMZ#ACC572) 및 U2932(DSMZ#ACC633)는 산재성 대형 B-세포 림프종(DLBCL) 세포주이고; BALL-1(DSMZ#ACC742)은 급성 림프모구 백혈병 세포주이다.

[0099] 사용된 세포주의 배양 조건은 공급자의 정보에 따른다.

[0100] 세포 배지: 이스코브 변형 둘베코 배지(Iscove's Modified Dulbecco's Medium, IMDM), 인비트로젠(Invitrogen), 카탈로그 번호: 31980-048; RPMI1640, 인비트로젠, 카탈로그 번호: 31870-074; 글루타맥스(GlutaMAX), 인비트로젠, 카탈로그 번호: 35050-38 롯데 번호: 1504647; FCS: 시그마(Sigma) 카탈로그 번호: F7524 롯데 번호: 111M3396.

[0101] NKs: 글루타맥스(GlutaMAX™) 함유 RPMI1640, 인비트로젠, 카탈로그 번호: 31870-074, 10% FCS; 바이오콜

(Biocoll): 바이오크롬(Biochrome) AG 카탈로그 번호: L6115 롯데 번호: 0034D; MACS NK 세포 분리 키트: 밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec) 카탈로그 번호: 130-092-657 롯데 번호: 5150327376; 이텔라리십: 셀렉캡(SelleckChem) 카탈로그 번호: S2226; FCS: 시그마 카탈로그 번호: F7524 롯데 번호: 111M3396; 및 MOR00208과 동일한 Fc 영역을 함유하는 RefmAb33(항-RSV).

방법

MOR00208과 이텔라리십 단독 및 조합의 세포독성을 MEC-1 세포주에서 시험했다.

이텔라리십은 포스포이노시티드 3-키나제 억제제이다. 더욱 구체적으로는, 이텔라리십은 효소 포스포이노시티드 3-키나제의 델타 아이소형인 P110 δ 를 차단한다. 이텔라리십 단독은 MEC-1 세포에 대해 거의 또는 전혀 세포독성 효과를 나타내지 않는다. MOR00208은 CD19를 표적으로 하고 ADCC를 통한 표적 세포 살해를 매개한다.

다음은 대조군으로 사용했다: a) MEC-1 세포 + RefmAb33 + DMSO + NK 세포, b) MEC-1 세포 + DMSO + NK 세포, c) MEC-1 세포 + DMSO.

표적 세포 살해는 다음 파라미터를 이용하여 측정했다: 0.3 μM, 1 μM, 3 μM 및 10 μM 농도의 이텔라리십; 1.5 μg/ml, 0.015 μg/ml 및 0.0015 μg/ml 농도의 MOR00208 및 동일한 농도의 MOR00208 및 이텔라리십의 조합.

이텔라리십 군, MOR00208 단독 군에서, 그리고 MOR00208+이텔라리십 조합 군에서, 표적 세포를 ADCC 분석 측정 전 7일 동안 이텔라리십으로 전처리하였다. 표적 세포를 계수하고 10 μM CFSE CFSE 종말 농도를 이용하여 염색하였다. DMSO 처리된 표적 세포의 경우, 5×10^5 개/mL의 세포 밀도에 상응하는 2:1의 효과기:표적 (E:T) 비율이 선택된다. 이텔라리십 처리에 의해 초래되는 표적 세포에 대한 증식 효과는 억제제 처리된 세포에서 E:T 비율을 조정하는 것에 의해 포함되었다. NK 세포를 계수하고 1×10^6 개/mL로 조정한다. 표적 세포 살해 분석은 다음과 같이 수행되었다: 96 웰 플레이트를 사용하여, 100 μl의 표적 세포 현탁액을 웰 당 첨가한 다음 NK 세포의 세포 현탁액 100 μl를 각 웰에 첨가하여 2:1의 E:T 비율로 하였다. 항체를 배지 중에 (1.5 내지 0.0000015 μg/ml에 상응하는) 10 내지 0.00001 nM의 범위로 희석하였다. 세포를 원심분리하고 표적:효과기 세포-펠릿을 100 μl 항체-함유 배지 또는 부합하는 대조 용액에 재현탁시켰다. 분석물을 37°C의 CO₂ 인큐베이터에서 4시간 동안 인큐베이션 시켰다. 얼음 위에서 10분 동안 인큐베이션한 후, 50 μl DAPI 용액을 각 웰에 첨가하고(최종 농도 1 μg/ml) 얼음 위에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 세포 살해 측정은 FACS-Verse로 수행했다. 사멸한 표적 세포는 DAPI 양성이었다.

데이터

MOR00208과 이텔라리십의 조합에 의한 MEC-1 세포에 대한 ADCC의 매개를 결정하기 위해 총 6회의 실험을 수행했다. 6회 실험 중 2회에서, RefmAb 대조군 및 DMSO 단독 대조군이 MEC-1 세포 단독 대조군과 비교하여 25% 더 높은 살해를 보였기 때문에 분석으로부터 데이터를 제외하였다. NK 세포의 자동 반응성이 이들 2회의 실험에서 적절한 분석을 막았다.

실험 1 내지 실험 4의 ADCC 용량 반응 곡선을 도 3 내지 도 6에 나타냈다.

실험 1 내지 실험 4에서 사멸 세포 백분율(%) (미가공 데이터)을 아래 표 1 내지 표 16에 나타냈다.

실험 1

표 1

이텔라리십 10 μM

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
A: MOR00208 단독	62.9	6	40.
B: 이텔라리십 단독 10 μM	11.6	1	11.
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4

AB: 조합	88.0	8	68.
	6.4	2	

표 2

이텔라리십 3 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	62.9	63.1	40.3
B: 이텔라리십 단독 3 μ M	11.3	11.3	11.3
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB: 조합	87.7	87.6	68.1

표 3

이텔라리십 1 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	62.9	63.1	40.3
B: 이텔라리십 단독 1 μ M	10.8	10.8	10.8
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB: 조합	85.9	79.6	65.3

표 4

이텔라리십 0.3 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	62.9	63.1	40.3
B: 이텔라리십 단독 0.3 μ M	6.8	6.8	6.8
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB: 조합	77.5	78.5	57.6

실험 2

표 5

이텔라리십 10 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	85.6	78.9	52.9

B: 이텔라리십 단독 10 μ M	14.7	14.7	14.7
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB: 조합	92.5	87.2	52.6

표 6

이텔라리십 3 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	85.6	78.9	52.9
B: 이텔라리십 단독 3 μ M	14.6	14.6	14.6
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB: 조합	90.9	83.9	51.8

표 7

이텔라리십 1 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	85.6	78.9	52.9
B: 이텔라리십 단독 1 μ M	20.7	20.7	20.7
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB: 조합	94.2	86.5	63.4

표 8

이텔라리십 0.3 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml
A: MOR00208 단독	85.6	78.9	52.9
B: 이텔라리십 단독 0.3 μ M	20.8	20.8	20.8
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB: 조합	93.9	89.3	60.9

실험 3

표 9

이텔라리십 10 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5	0.015	0.0015
	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml

A: MOR00208 단독	62.0	59.5	43.5
B: 이텔라리십 단독 10 μ M	11.5	11.5	11.5
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB: 조합	81.3	73.0	48.9

표 10

[0129] 이텔라리십 3 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 단독	62.0	59.5	43.5
B: 이텔라리십 단독 3 μ M	14.0	14.0	14.0
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB: 조합	81.1	74.0	46.8

표 11

[0130] 이텔라리십 1 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 단독	62.0	59.5	43.5
B: 이텔라리십 단독 1 μ M	18.7	18.7	18.7
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB: 조합	83.9	78.5	52.7

표 12

[0131] 이텔라리십 0.3 μ M

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: MOR00208 단독	62.0	59.5	43.5
B: 이텔라리십 단독 0.3 μ M	17.3	17.3	17.3
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB: 조합	80.4	73.7	50.8

[0133] 실험 4

표 13

[0134] 이텔라리십 10 μM

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: MOR00208 단독	74.6	73.3	56.3
B: 이텔라리십 단독 10 μM	12.1	12.1	12.1
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB: 조합	90.6	88.0	68.9

표 14

[0135] 이텔라리십 3 μM

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: MOR00208 단독	74.6	73.3	56.3
B: 이텔라리십 단독 3 μM	13.8	13.8	13.8
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB: 조합	91.9	88.5	66.2

표 15

[0136] 이텔라리십 1 μM

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: MOR00208 단독	74.6	73.3	56.3
B: 이텔라리십 단독 1 μM	15.9	15.9	15.9
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB: 조합	91.7	89.9	67.4

표 16

[0137] 이텔라리십 0.3 μM

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: MOR00208 단독	74.6	73.3	56.3
B: 이텔라리십 단독 0.3 μM	15.5	15.5	15.5
C: 대조 (0.03% DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB: 조합	90.4	87.7	66.1

[0139] 상승작용의 계산: 클라크 등

[0140] 이텔라리십 단독은 MEC-1 세포에 대해 낮은 세포독성 활성을 나타내는데, 여기에서와 같이 한 약물이 낮은 활성을 나타내는 경우, 이러한 조합물이 억제적 약물 단독과 유의미하게 상이하다는 통계적인 증거에 의해 상승효과가 결정될 수 있다. 전체가 참조로 포함되는 Clarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents *in vivo* in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255~278 (1997) 참조.

[0141] 표 1 내지 표 16의 사멸 세포 %(미가공 데이터)를 다음과 같이 분석했다:

[0142] 길항적 $(AB)/C < (A/C) \times (B/C)$

[0143] 상가적 $(AB)/C = (A/C) \times (B/C)$

[0144] 상승적 $(AB)/C > (A/C) \times (B/C)$

[0145] 여기서 A는 MOR00208 단독 처리; B는 이텔라리십 단독 처리; C는 대조 DMSO + RefMab33에 대한 반응; AB는 A와 B 처리의 조합이다.

[0147] 실험 1

표 17

[0148] 표 1에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	12.0	1.7	9.3
(A/C)x(B/C)	13.5	3.5	8.6

표 18

[0149] 표 2에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	11.9	11.9	9.3
(A/C)x(B/C)	13.1	13.1	8.4

표 19

[0150] 표 3에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	11.7	10.8	8.9
(A/C)x(B/C)	12.5	12.5	8.0

표 20

[0151] 표 4에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	10.5	10.7	7.8
(A/C)x(B/C)	7.9	7.9	5.0

[0153] 실험 2

표 21

[0154] 표 5에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.8	4.5	2.7
(A/C)x(B/C)	3.4	3.1	2.1

표 22

[0155] 표 6에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.7	4.4	2.7
(A/C)x(B/C)	3.4	3.1	2.1

표 23

[0156] 표 7에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.9	4.5	3.3
(A/C)x(B/C)	4.8	4.4	3.0

표 24

[0157] 표 8에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.9	4.6	3.2

(A/C)x(B/C)	4.8	4.4	3.0
-------------	-----	-----	-----

[0159] 실험 3

표 25

[0160] 표 9에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.3	3.8	2.6
(A/C)x(B/C)	2.0	1.9	1.4

표 26

[0161] 표 10에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.2	3.9	2.5
(A/C)x(B/C)	2.4	2.3	1.7

표 27

[0162] 표 11에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.4	4.1	2.8
(A/C)x(B/C)	3.2	3.1	2.2

표 28

[0163] 표 12에 나타난 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.2	3.9	2.7
(A/C)x(B/C)	2.9	2.8	2.1

[0165] 실험 4

표 29

[0166]

표 13에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.2	4.1	3.2
(A/C)x(B/C)	2.0	1.9	1.5

표 30

[0167]

표 14에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.3	4.1	3.1
(A/C)x(B/C)	2.2	2.2	1.7

표 31

[0168]

표 15에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.3	4.2	3.1
(A/C)x(B/C)	2.6	2.5	2.0

표 32

[0169]

표 16에 나타낸 데이터의 클라크 분석

	MOR00208 농도		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4.2	4.1	3.1
(A/C)x(B/C)	2.5	2.5	1.9

[0171]

결과

[0172]

각 농도의 실험 2 내지 4는 클라크 등의 방법을 이용하여 MOR00208 + 이텔라리십의 조합의 명백한 상승효과를 보여주었다. 그러나 실험 1은 몇몇 농도에서 상승작용을 보여주지 않았는데, 이텔라리십 군(표 1 내지 표 3 참조)이 작은 효과를 보여주었기 때문이며, 이러한 작은 효과는 대조군보다 약간 컸다(대조군보다 약 4% 큼). 대조군과 비교하여 이러한 작은 (약 4%) 차이는 충분히 다른 대조군의 범위 내에 있으므로, 실험 설정에 기인할 수 있다.

[0174]

상승작용의 계산: 조합 지수(Combination Index, CI)

[0175]

위에서 클라크 등을 이용하여 계산된 상승작용의 결과를 확인하기 위하여, 조합 지수(CI) 방법을 표 1 내지 표 16의 사멸 세포 %(미가공 데이터)에 적용하였다. CI 계산을 위해, 본 발명자들은 0.3 μM , 1 μM , 3 μM 및 10

μM 이텔라리십과 세 가지의 MOR208 농도($1.5 \mu\text{g/ml}$, $0.015 \mu\text{g/ml}$ 및 $0.0015 \mu\text{g/ml}$)를 이용했다.

[0176] 조합 지수(Combination Index, CI) 계산은 MOR00208 및 이텔라리십 단독과 비교하여 예시된 항-CD19 항체와 이텔라리십 조합의 상승작용을 결정하기 위해 완료되었다. 이러한 계산은, 그 전체가 참조로 도입되는 Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006), 그리고 그 전체가 참조로 도입되는 Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22: 27-55 (1984)에 기술된다. 추-텔러레이(Chou-Talalay)의 방법은 CI-아이소볼(CI-isobol) 방법을 사용하여 실시된다.

[0178] 중양값 효과 방정식

[0179] 중양값-효과 방정식은 억제제(약물과 같은)의 효과를 $F_a/F_u = (D/D_{50})^m$ 으로서 모델링하는데, 여기에서 D는 용량, F_a 및 F_u 는 용량D에 의해 영향을 받는 시스템과 받지 않는 시스템의 분율이고($F_a + F_u = 1$); D_{50} 은 중양값 효과(예를 들어, IC_{50} , ED_{50} , LD_{50})를 생성하는 용량이다. 상수 m 은 용량-효과 곡선의 형태를 결정한다.

[0180] 본 발명자들은 GraphPad Prism을 사용하여 파라미터 m 및 D_{50} 을 추정하기 위해 비선형 회귀 계산을 실시하였다.

[0182] CI-아이소볼(CI-isobol) 방법

[0183] CI-아이소볼 방법은 약물 사이의 상승작용의 정량적 평가를 제공한다. 조합 지수(CI)는 단일 및 조합 약물 처치의 용량-효과 데이터로부터 추정된다. 1 보다 작은 CI의 값은 상승작용을 나타내고; $CI = 1$ 은 상가 효과를 나타내고; 그리고 $CI > 1$ 은 길항작용을 나타낸다. 약물 상호작용(상승작용 또는 길항작용)은 CI 값이 1로부터 멀어질수록 더 현저하다.

[0184] 공식적으로, 조합 약물 처치의 조합 지수(CI)는 다음과 같이 정의된다

[0185] $CI = D_1/D_{x1} + D_2/D_{x2}$

[0186] 여기에서 D_1 및 D_2 는 각각 조합의 약물 1 및 약물 2의 용량이고; D_{x1} , 및 D_{x2} 는 조합의 것과 동일한 효과를 줄 약물 1 및 약물 2만의 처치 용량이다. 용량 D_{x1} 및 D_{x2} 는 단일 약물 처치의 용량-효과 데이터로부터 추정될 필요가 있다. 본질적으로, 중양값 효과 방정식은 각 약물의 데이터로 맞춰진다. 약물의 중양값 효과 방정식으로부터, 효과(즉, F_a , F_u)를 생성하는 데 필요한 용량(즉, D)를 추정할 수 있다. 부가된 선으로부터 점이 멀리 있을수록, 1과 이의 CI 사이의 차이는 더 커지고, 따라서 (상승적 또는 길항적) 효과는 더 강해진다.

[0188] 결과

[0189] 추(Chou) 기반의 상승작용 계산에 대해 생성된 곡선을 도 7 내지 도 10에 나타낸다. 추(Chou) 지수 값은 MOR00208 및 이텔라리십 단독과 비교하여 MEC-1 세포의 특이적 살해에서 MOR00208과 이텔라리십의 조합의 모든 실험 1 내지 4에서 명백한 상승작용을 나타낸다.

[0190] MOR00208과 이텔라리십의 조합은 MEC-1 CLL 세포주에서 상승적으로 거동하였다. 따라서, MOR00208과 이텔라리십의 조합은 인간에서 CLL의 치료에서 상승적이라고 여겨진다.

[0191] 또한, MOR00208과 이텔라리십의 조합은 인간에서 비-호지킨 림프종(NHL), 만성 림프성 백혈병(CLL) 및 급성 림프모구 백혈병(ALL)의 치료에서 상승적으로 거동할 것이라고 여겨진다.

[0192] 본 기술, 특정 실시예 및 데이터는 예시적인 구현예를 나타내는 한편, 예시로서 주어지고 본 발명을 제한하도록 의도되지 않음이 이해된다. 본 발명의 범위 내에서 다양한 변화 및 변경은 본원에 포함되는 논의, 개시 및 데이터로부터 당업자에게 명백하게 될 것이고, 따라서 본 발명의 일부로서 고려된다.

도면

도면1

MOR00208 가변 중쇄 도메인의 아미노산 서열:

(CDR은 굵은 글씨이고 밑줄침)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFT**SYVMHW**VRQAPGKGLEWIGYIN**NPY**
NDGTKYNEKFQGRVTISDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYC**GTYYYGTRVFDY**WG
 QGTLTVSS (서열번호: 10)

MOR00208 가변 경쇄 도메인의 아미노산 서열:

(CDR은 굵은 글씨이고 밑줄침)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RSSKSLQNVNGNTYLY**WFQQKPGQSPQLLI**YR**
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLPEPDAVYYC**MQHLEYPIT**FGAGTKLEIK(서열
 번호: 11)

MOR00208 HCDR1 의 아미노산 서열 : SYVMH(서열번호: 1)

MOR00208 HCDR2 의 아미노산 서열 : NPYNDG(서열번호: 2)

MOR00208 HCDR3 의 아미노산 서열 : GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)

MOR00208 LCDR1 의 아미노산 서열 : RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)

MOR00208 LCDR2 의 아미노산 서열 : RMSNLNS(서열번호: 5)

MOR00208 LCDR3 의 아미노산 서열 : MQHLEYPIT(서열번호: 6)

도면2

Fc 영역의 서열

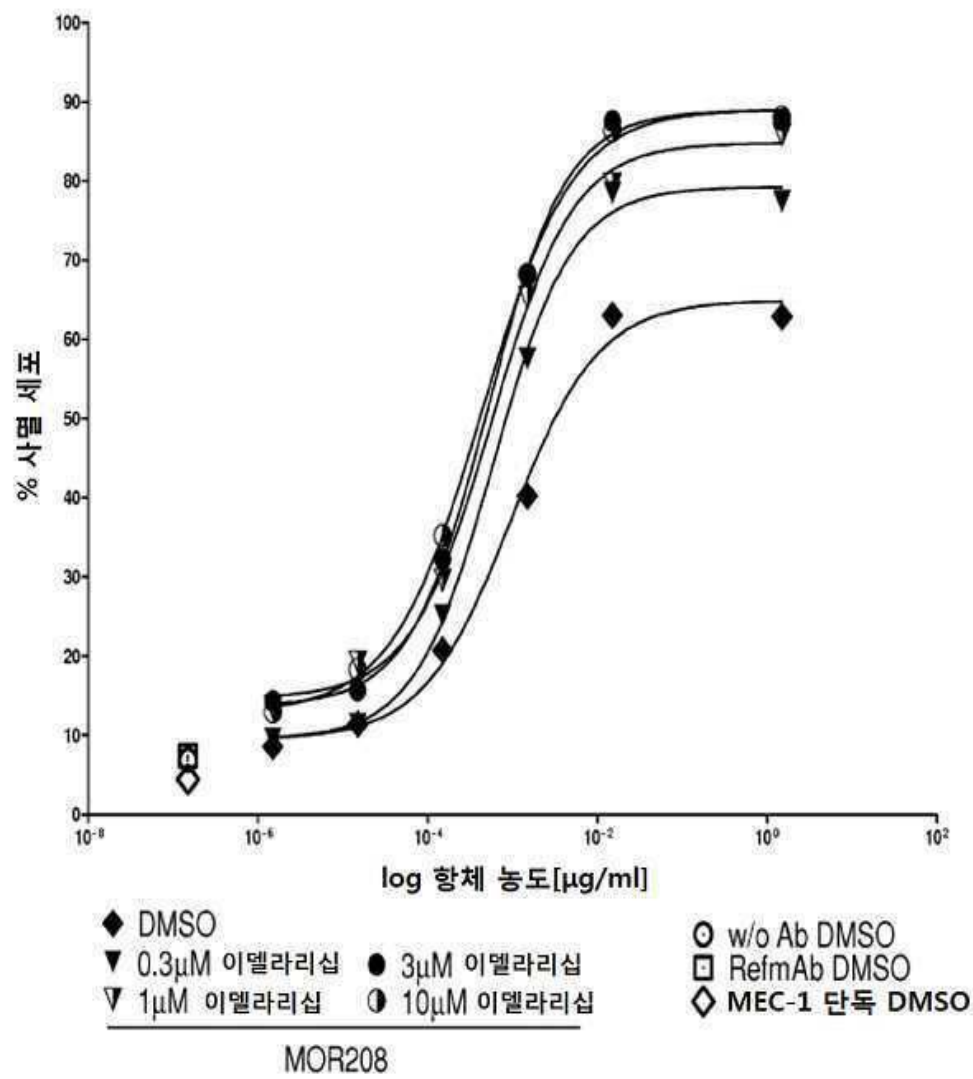
MOR00208 중쇄 Fc 영역의 아미노산 서열:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGG
 PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
 NSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열번호: 12)

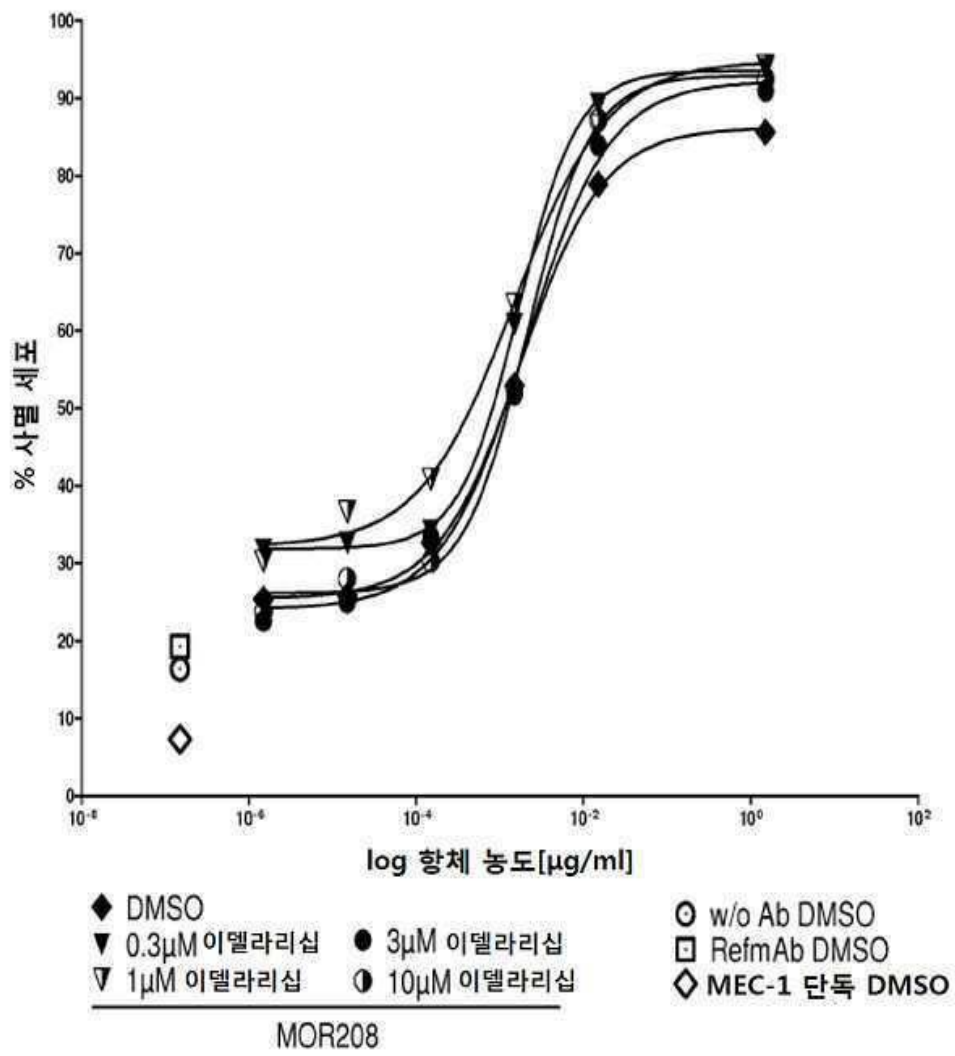
MOR00208 경쇄 Fc 영역의 아미노산 서열:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
 DSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 13)

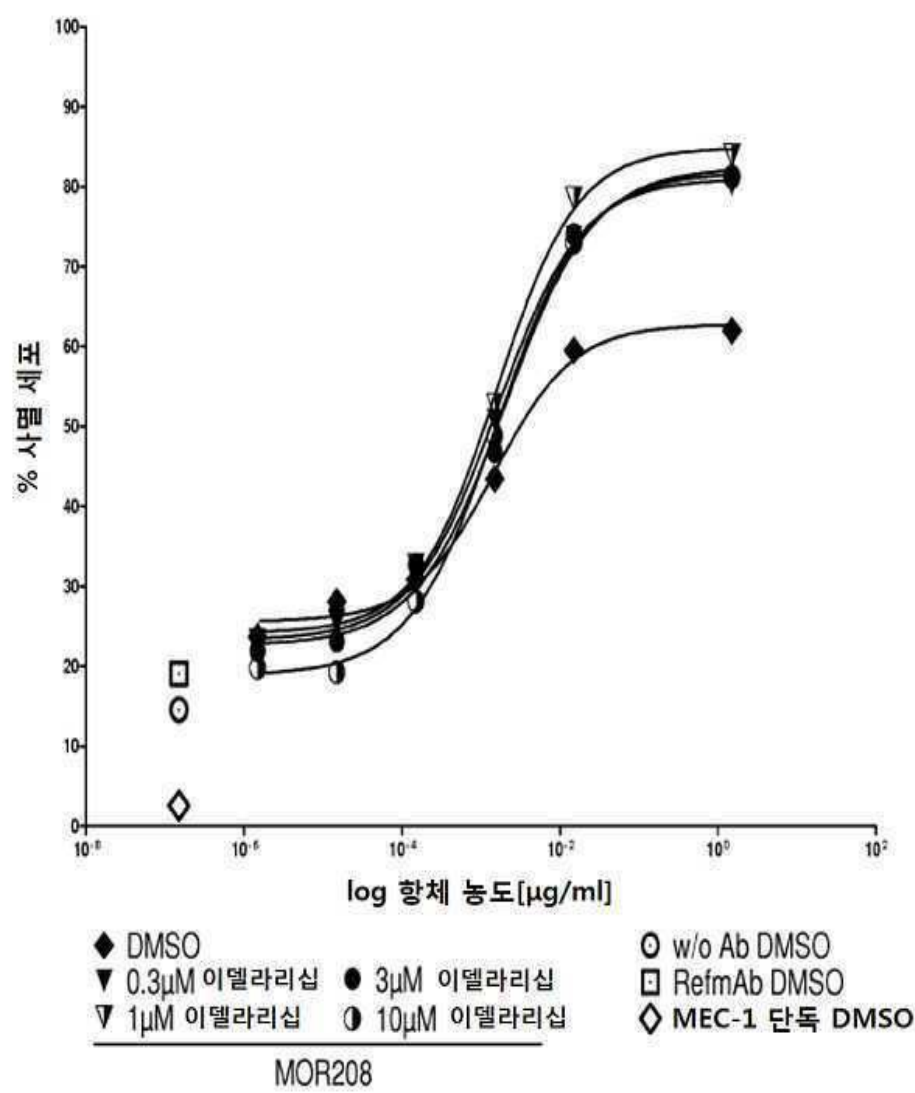
도면3



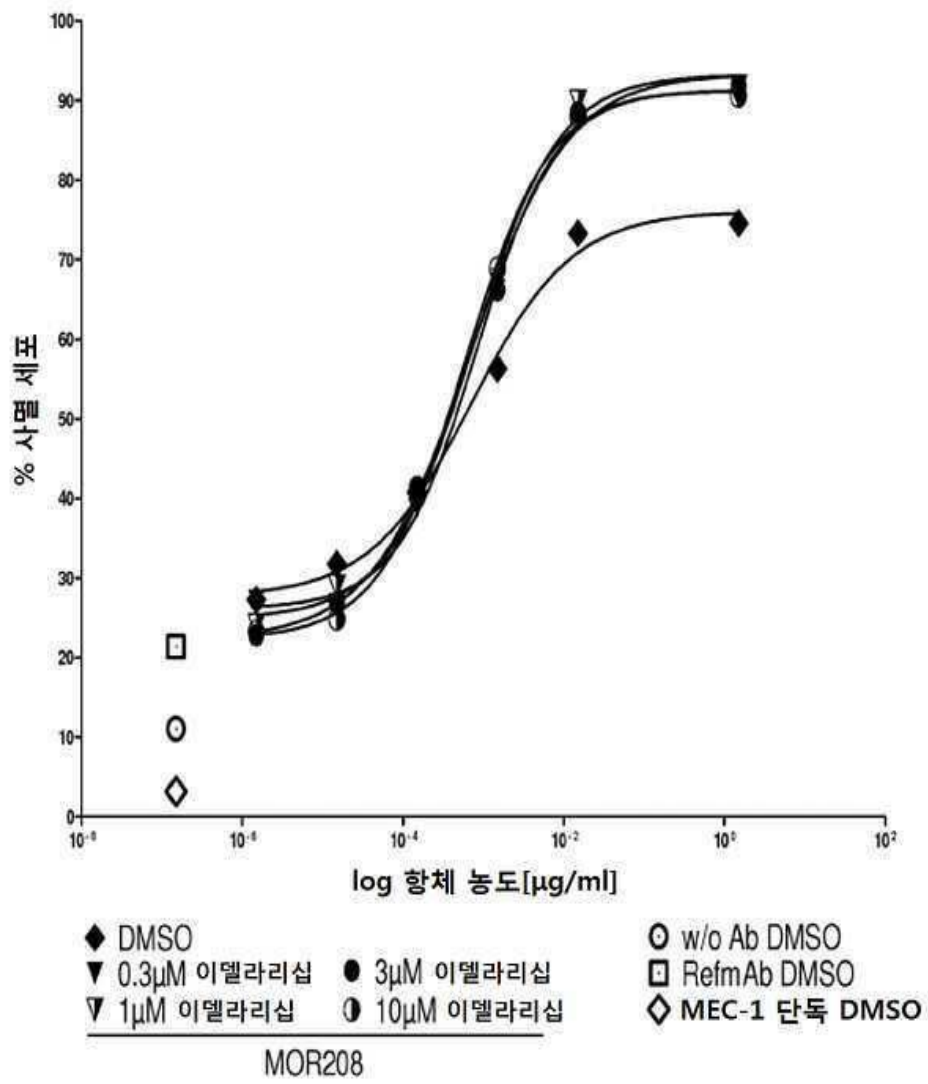
도면4



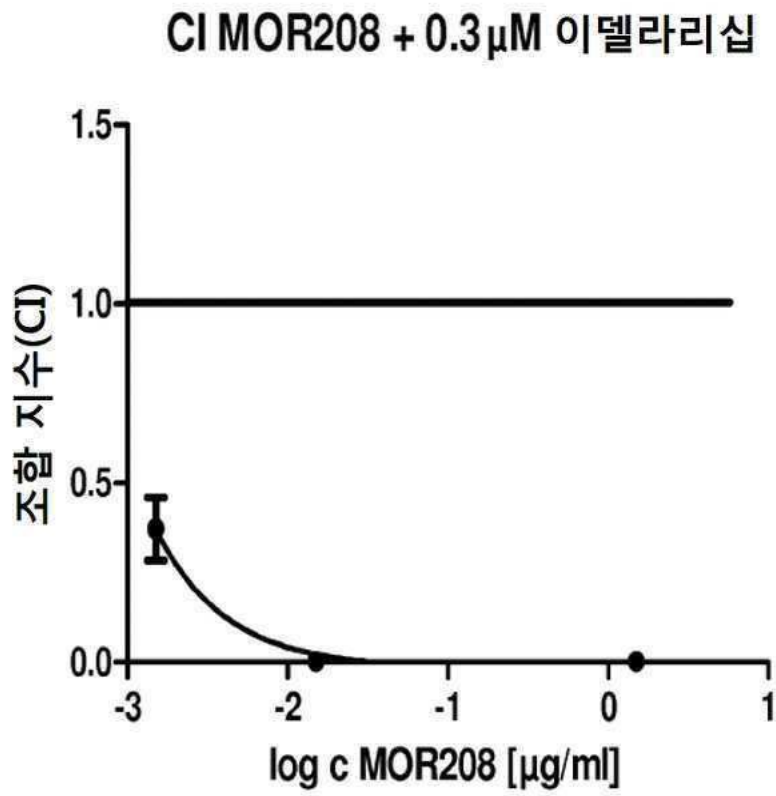
도면5



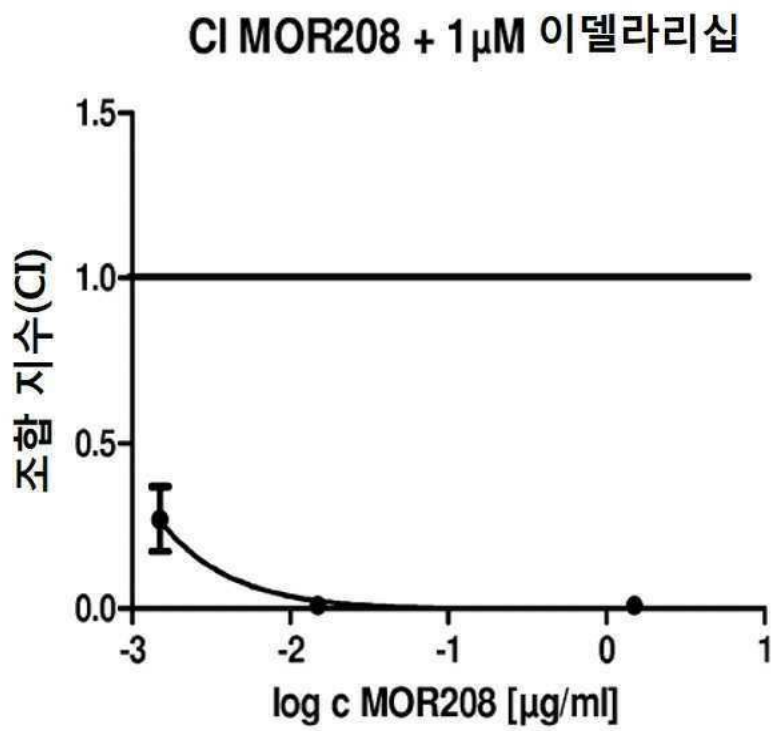
도면6



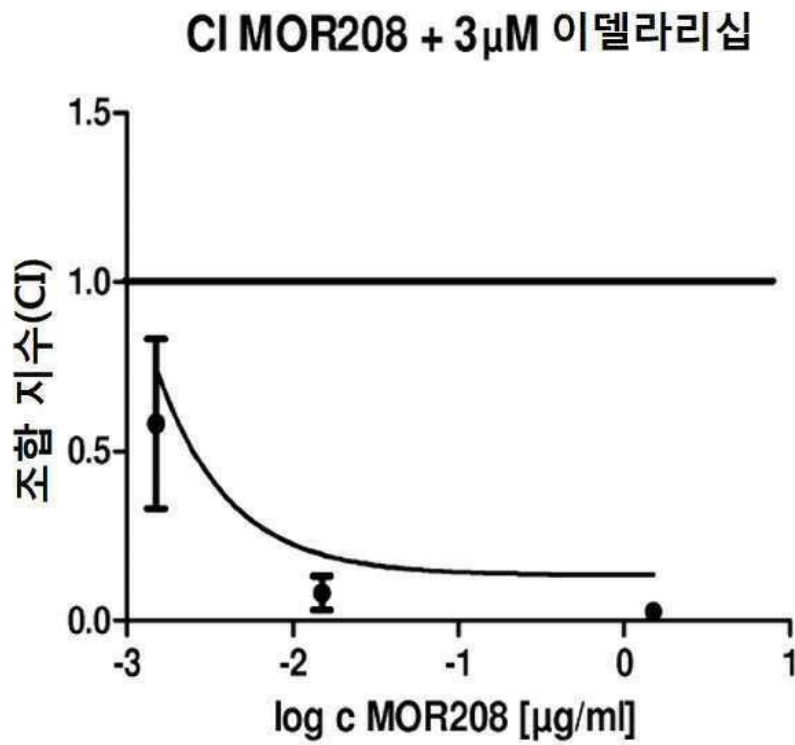
도면7



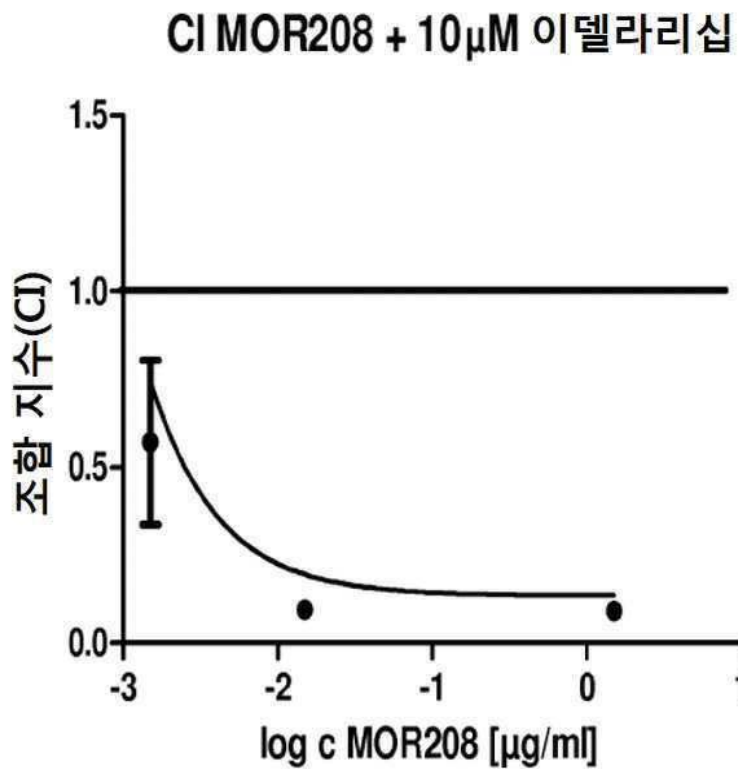
도면8



도면9



도면10



서열 목록

<110> MorphoSys AG

<120> Combinations and uses thereof

<130> MS228

<150> EP15181925.7

<151> 2015-08-21

<160> 13

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR

<400> 1

Ser Tyr Val Met His

1 5

<210> 2

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR

<400> 2

Asn Pro Tyr Asn Asp Gly

1 5

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR

<400> 3

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR

<400> 4
 Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR

<400> 5

Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 7

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met

1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp

20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln

35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu

50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile

65 70 75 80
 Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
 85 90 95
 Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr

 100 105 110
 Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
 115 120 125
 Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
 130 135 140
 Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala
 145 150 155 160
 Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
 165 170 175

 Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
 180 185 190
 Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
 195 200 205
 Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
 210 215 220
 Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
 225 230 235 240
 Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala

 245 250 255
 Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
 260 265 270
 Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
 275 280 285
 Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
 290 295 300
 Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
 305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
 325 330 335
 Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
 340 345 350
 Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
 355 360 365
 Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
 370 375 380
 Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly

 385 390 395 400
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
 405 410 415
 Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
 420 425 430
 Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
 435 440 445
 Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
 450 455 460

 Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
 465 470 475 480
 Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
 485 490 495
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
 500 505 510
 Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
 515 520 525
 Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp

 530 535 540
 Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
 545 550 555
 <210> 8
 <211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mab

<400> 8

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala

20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu

 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
 385 390 395 400

 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 9
 <211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mab

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met			
20	25	30	
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr			
35	40	45	
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser			
50	55	60	
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp			
65	70	75	80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr			
85	90	95	
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro			
100	105	110	
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr			
115	120	125	
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys			
130	135	140	
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu			

145	150	155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser			
165	170	175	
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala			
180	185	190	
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe			
195	200	205	
Asn Arg Gly Glu Cys			
210			

<210> 10
 <211> 121
 <212>
 > PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> mab
 <400> 10
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210>
 > 11
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> mab
 <400> 11
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 12
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
><223> mab
<400> 12

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mab

<400> 13

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105