

	<b>(19) 대한민국특허청(KR)</b> <b>(12) 공개특허공보(A)</b>	<b>(11) 공개번호</b> 10-2016-0022803 <b>(43) 공개일자</b> 2016년03월02일
<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  <b>A61K 35/74</b> (2015.01) <b>A61K 31/155</b> (2006.01)  <b>A61K 31/436</b> (2006.01) <b>A61K 9/00</b> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류  <b>A61K 35/74</b> (2013.01)  <b>A61K 31/155</b> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 <b>10-2015-7028621</b></p> <p>(22) 출원일자(국제) <b>2014년05월09일</b>  심사청구일자 <b>없음</b></p> <p>(85) 번역문제출일자 <b>2015년10월12일</b></p> <p>(86) 국제출원번호 <b>PCT/GB2014/051421</b></p> <p>(87) 국제공개번호 <b>WO 2014/181121</b>  국제공개일자 <b>2014년11월13일</b></p> <p>(30) 우선권주장  1308325.8 2013년05월09일 영국(GB)</p>		<p>(71) 출원인  <b>이모듈런 테라퓨틱스 리미티드</b>  영국 이씨2엠 5큐큐 런던 런던 월 솔즈베리 하우스 475</p> <p>(72) 발명자  <b>하계만 토르스텐</b>  영국 이1 2이에프 화이트차펠 런던 월든 스트리트 5 더 큐엠아이 빌딩 더 조인트 리서치 앤드 디벨롭먼트 오피스 퀸 메리 앤드 웨스트필드 칼리지 유니버시티 오브 런던</p> <p>(74) 대리인  <b>유미특허법인</b></p>
전체 청구항 수 : 총 30 항		
(54) 발명의 명칭 <b>암 치료</b>		

**(57) 요약**

본 발명은 암의 치료를 보조하기 위한 약제의 제조에 있다. 본 발명에 따라, mTOR 저해제와 조합하여 신생물 질환의 치료에 사용하기 위한 전세포 *마이코박테륨(Mycobacterium)*이 있고, 여기에서 *마이코박테륨*은 비-병원성의 열-치사된(heat-killed) *마이코박테륨*이다.

(52) CPC특허분류

**A61K 31/436** (2013.01)

**A61K 9/0021** (2013.01)

**A61K 9/0043** (2013.01)

**A61K 9/006** (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

mTOR 저해제와 조합하여 신생물 질환의 치료에 사용하기 위한 전세포 *마이코박테리움*(*Mycobacterium*)에 있어서, *마이코박테리움*은 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테리움*인 *마이코박테리움*.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 *마이코박테리움*은 *M. 바카에*(*M. vaccae*), *M. 오부엔스*(*M. obuense*), *M. 파라포르투이툼*(*M. parafortuitum*), *M. 아우룸*(*M. aurum*), *M. 인디쿠스 프라니이*(*M. indicus pranii*), *M. 플레이*(*M. phlei*) 및 이의 조합으로부터 선택되는 *마이코박테리움*.

#### 청구항 3

제2항에 있어서, *마이코박테리움*은 러프(rough) 변종인 *마이코박테리움*.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 mTOR 저해제는 시롤리무스, 에베롤리무스, 리다포롤리무스, 템시롤리무스 또는 메트포르민, 및 이의 조합으로부터 선택되는 *마이코박테리움*.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 mTOR 저해제는 라파마이신(시롤리무스)인 *마이코박테리움*.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 *마이코박테리움*은 상기 mTOR 저해제가 투여되기 전, 이와 동시 및/또는 후에 투여되는 *마이코박테리움*.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 *마이코박테리움* 및/또는 mTOR 저해제는 반복 투여량으로 투여되는 *마이코박테리움*.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신생물 질환은 자궁암, 전립선암, 간암, 신장암, 폐암, 유방암, 대장암, 췌장암, 뇌암, 간세포암, 림프종, 백혈병, 위암, 자궁경부암, 난소암, 갑상선암, 흑색종, 암종, 두경부암, 피부암 또는 연조직 육종인 *마이코박테리움*.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, 상기 신생물 질환은 췌장암인 *마이코박테리움*.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료는 수술 가능하도록 암 종양의 크기를 감소 및/또는 전이의 형성을 감소시키는 *마이코박테리움*.

#### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, *마이코박테리움*은  $10^7$  내지  $10^9$  세포의 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테리움*의 유효량을 포함하는 단위 제형에 존재하는 *마이코박테리움*.

#### 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, *마이코박테리움*은 비경구, 경구, 설하, 비강 또는 폐 경로를 통해 투

여하기 위한 것인 *마이코박테륨*.

#### 청구항 13

제12항에 있어서, 비경구 경로는 피하, 피부내, 피부하, 복막내, 정맥내 및 방광내 주사로부터 선택되는 *마이코박테륨*.

#### 청구항 14

제13항에 있어서, *마이코박테륨*은 피부내 경로를 통해 투여하기 위한 것인 *마이코박테륨*.

#### 청구항 15

대상에서 원발성 신생물, 종양 또는 암을 치료하는 방법에 있어서, 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 (i) mTOR 저해제, 및 (ii) 전세포 *마이코박테륨*(*Mycobacterium*)을 대상에게 동시에, 별개로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하고, *마이코박테륨*은 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*인 방법.

#### 청구항 16

원발성 신생물, 종양 또는 암의 전이를 치료하는 방법에 있어서, 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 (i) mTOR 저해제, 및 (ii) 전세포 *마이코박테륨*(*Mycobacterium*)을 대상에게 동시에, 별개로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하고, *마이코박테륨*은 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*인 방법.

#### 청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 요법은 다음 중 하나 이상으로부터 선택되는 진전 및 질병 상태의 하나 이상의 표지에서 임상적 의의가 있는 개선을 야기하는 방법: (i) 종합적 생존, (ii) 무진행 생존, (iii) 종합적 반응 속도, (iv) 전이성 질환의 감소.

#### 청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 신생물, 종양, 암 또는 전이는 전립선암, 간암, 신장암, 폐암, 유방암, 대장암, 췌장암, 뇌암, 간세포암, 림프종, 백혈병, 위암, 자궁경부암, 난소암, 갑상선암, 흑색종, 암종, 두경부암, 피부암 및 연조직 육종으로부터 선택되는 암과 관련되는 방법.

#### 청구항 19

제18항에 있어서, 신생물, 종양, 암 또는 전이는 췌장암과 관련되는 방법.

#### 청구항 20

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 신생물, 종양 또는 암은 전이성인 방법.

#### 청구항 21

제20항에 있어서, 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*은 *M. 바카에*(*M. vaccae*), *M. 오부엔스*(*M. obuense*), *M. 파라포르투이툼*(*M. parafortuitum*), *M. 아우룸*(*M. aurum*), *M. 인디쿠스 프라니이*(*M. indicus pranii*), *M. 플레이*(*M. phlei*) 및 이의 조합으로부터 선택되는 방법.

#### 청구항 22

제21항에 있어서, *마이코박테륨*은 *M. 오부엔스*(*M. obuense*)인 방법.

#### 청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*은 러프(rough) 변종인 방법.

#### 청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*은 비경구, 경구, 설하, 비강 또는 폐 경로를 통해 투여되는 방법.

#### 청구항 25

제24항에 있어서, 비경구 경로는 피하, 피부내, 피부하, 복막내, 정맥내 및 방광내 주사로부터 선택되는 방법.

#### 청구항 26

제24항에 있어서, 비경구 경로는 종양내 주사를 포함하지 않는 방법.

#### 청구항 27

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*의 유효량은  $10^7$  내지  $10^9$  세포인 방법.

#### 청구항 28

제15항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 *마이코박테륨*의 투여는 상기 치료적으로 유효한 양의 mTOR 저해제의 전, 이와 동시 및/또는 후에 투여되고, 선택적으로 상기 *마이코박테륨* 및/또는 mTOR 저해제는 반복 투여량으로 투여되는 방법.

#### 청구항 29

제15항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 mTOR 저해제는 시롤리무스, 에베롤리무스, 리다포롤리무스, 템시롤리무스 또는 메트포르민, 및 이의 조합으로부터 선택되는 방법.

#### 청구항 30

제29항에 있어서, 상기 mTOR 저해제는 시롤리무스인 방법.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001]

본 발명은 암 치료 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 대상에서 종양 또는 전이의 발생을 예방, 치료 또는 저해하는 방법 및 mTOR 저해제와 조합하여 이러한 치료에 사용하기 위한 면역조절제와 관련된다.

#### 배경 기술

[0002]

최근, 면역 반응이 많은 종양을 아주 초기 단계에서 제거하고 이들을 때때로 수 년간 평형 상태에서 총체적 제거를 회피하도록 유지함으로써 암 생물학에서 중심 역할을 한다는 인식이 커지고 있다(Dunn et al, Annu Rev Immunol 2004; 22:329-360). 질환의 임상적 징후를 갖는 이러한 평형 단계로부터의 궁극적인 탈출은, 예를 들어 만성 염증 또는 면역억제로서 나타나는 조절장애가 있는 면역 반응과 관련된다. 면역 시스템이 암의 발생, 구조적 성질 및 전개에 결정적으로 연루된다는 강력하고도 증가하는 증거는 이러한 계열 질환의 치료를 위한 면역요법 전략에서 재개된 흥미를 유도한다. 지금까지, 이러한 전략을 개발하기 위한 대부분의 시도는 환자 자신의 종양 또는 종양 세포주로부터 유래되는 항원의 사용 및 종양 항원-특이적 세포독성 세포 및 항원-제시 세포의 세포막 확장된 집단의 이전을 기반으로 한다.

[0003]

암은 Rudolf Virchow가 신생 조직에서 백혈구를 발견하여 염증과 암 사이의 첫번째 연관성에 이른 1863년 이후 염증과 관련되어왔다(Balkwill et al, Lancet 2001 ; 357:539-545). 그 이후, 만성 염증은 암의 위험 인자로 간주되고 있다. 이들 보고에서는 염증성 환경이 종양 발생에 취약하고 종양 부위에서 관찰되는 것과 일치함을 보여주고 있다. 그러나, 암과 염증과의 관계는 만성 염증에 기인하는 질환의 개시에만 제한되지 않는다. Schwartsburd(Cancer Met Rev 2003; 22:95-102)는 만성 염증이 종양 환경 스트레스에 기인하여 일어난다는 것과 이것이 면역 시스템으로부터의 방패를 형성한다는 것을 제안하였다. 증가된 혈류에 대한 혈관 확장 및 혈관 신생 둘 다, 악성 질환과 관련된 면역억제, 및 종양 전이에 기여하는 케모카인, 사이토카인, 림프구 및 대식세포를 통해, 종양 진행에 대한 상당한 지지와 함께, 종양 미세환경이 염증 부위와 유사하다는 것이 최근 입증되었다. 더욱이, 이 염증-부위 종양-발생 미세환경은, 면역 시스템으로부터의 보호 및 암 진행의 촉진에 있어서의 상당한 역할과는 별개로, 현재 암 치료의 성공에 대하여 부정적인 효과를 갖는다.

[0004]

또한, 전이성 암은 종양 세포뿐 아니라 림프구와 혈소판을 포함하는 미세집락으로서 종양을 떠난다. 염증은 종

양 성장에 도움이 되는 사이토카인 환경을 생성함으로써 전이 부위에서의 역할을 지속한다.

[0005] 면역 항상성은 전- 및 항-염증성 신호의 팽팽하게 조절된 상호작용으로 구성된다. 예를 들어, 항-염증성 신호의 소실은 만성 염증 및 증식성 신호전달을 유도한다. 흥미롭게도, 종양 세포의 증식을 촉진 및 억제하는 사이토카인은 종양 부위에서 생산된다. 암 개시의 경우에서와 같이, 종양 촉진을 야기하는 것은 이들 다양한 과정의 작용 사이의 불균형이다.

[0006] 암을 치료하기 위해서, 가장 효과적인 면역 반응의 유형은 CD4+ Th1 세포 반응 및 CD8+ CTL 반응의 유도에 유리한 타입 1인 것으로 믿어지고 있다. 암 면역요법의 맥락에서, Th1 반응의 전개를 촉진하는 면역자극제가 사용될 수 있다. 예를 들어, *M. 튜버쿨로시스(M. tuberculosis)* 감염에 대한 백신으로서 개발된 *마이코박테리움 보비스(Mycobacterium bovis)*의 약화된 균종인 BCG(Bacillus Calmette-Guerin)이 방광 암종 및 피부 흑색종과 같은 다양한 다른 병태의 치료를 위해서도 사용된다. 방광의 상피성 이행 세포 암종에 대한 BCG의 방광내 점적주입은 현재 이 질환에 대한 제1선 치료로 고려된다. 비록 방광내 BCG에 중증의 합병증은 드물지만, 이들은 개개인에게 일어날 수 있고 국소적 증상으로부터 간염, 폐렴, 패혈증, 및 사망까지의 범위일 수 있다. SRL-172는 BCG와 동일 속의 구성원이지만 추가의 면역학적 특성을 갖는 *M. 바카에(M. vaccae)*의 열-치사된 제제로, Th2 반응의 면역조절 및 타입 1 증진 효과 둘 다를 유도한다.

[0007] 지금까지, 암에 대한 효과적인 면역요법을 개발하기 위한 시도의 주된 장벽은 암 부위에서의 면역억제를 꺾고 면역 반응성의 정상적 네트워크를 회복시키는 것에 대한 불가능이었다. 면역요법의 생리적 접근은, 내인성 종양 항원이 인식되고 이들 항원을 갖는 세포에 대하여 효과적인 세포용해 반응이 전개되도록 면역 반응성을 정상화하는 것이다.

[0008] 화학- 및 방사선 요법의 작용을 수반하는 항-암 면역 반응이 구체적으로 검토되었고, 이러한 반응이 잔류 암 세포를 제거하고 휴지 상태로 미소전이를 유지하는 것에 의한 치료적 성공에 절대적임을 보여준다(Zitvogel et al, J Clin Invest 2008; 118:1991-2001). 그러나, 이 참고문헌은 이러한 면역 반응을 지속적으로 증진시키기 위해 사용 가능한 간단한 면역치료 전략이 없다는 것을 명확히 한다.

[0009] 종양의 치료를 위해 조합된 침습성(ablative) 및 화학요법을 제공하기 위한 노력이 해당 분야에서 이루어지고 있다. WO2000064476 및 US20050187207는 전이성 암의 치료를 위한 광역학적(photodynamic) 요법과 조합된 면역보조제의 사용을 개시한다. 이들 문헌에서는 면역보조제가 마이코박테리아 세포벽 골격 및 탈-3-O-아실화된 지질 A를 포함하고 종양으로 주사에 의해 투여되는 것을 개시한다. Castano 등(Nat Rev Cancers 2006; 6:535), Korbelik 등(J Photochem Photobiol 1998; 44:151) 및 Korbelik 등(J Photochem Photobiol 2001; 73:403)은 또한 광역학적 요법과 면역보조제로서 마이코박테리아 세포벽 추출물의 투여의 조합을 사용한 종양의 치료를 개시한다. 마이코박테리아 세포벽은 알려진 면역자극제인 트레할로스 디마이콜레이트 및 류라밀 디펩타이드와 같은 화합물을 포함한다. 선행기술의 조합 요법에서 사용된 마이코박테리아 세포벽 추출물은 또한 전-염증성 사이토카인, 반응성 질소 중을 끌어내고 백혈구를 모집하는데, 이는 TNF- $\alpha$  중개의 악액질에 기인하는 체중 감소를 포함하는 병리학, 관련된 지질혈증, 저혈당증 및 위장관에서 허혈성 및 출혈성 병변을 갖는 복막염과 관련된다. 따라서, 선행기술 조합 요법은 염증 반응을 악화시킬 수 있고 중증의 부작용을 가질 수 있다.

[0010] EP2085466은 항암 약물, 예를 들어 라파마이신과 함께 약화시킨 살아있는 미생물을 투여하는 개념을 개시한다. 약화시킨 미생물은 대식세포에서 세포사멸을 유도하도록 대식세포를 감염시킬 능력을 보유하여야 한다.

[0011] WO2006/109300은 환자에 재-투여를 위해 공여 세포의 분리 전 또는 후에 공여 세포를 처리하기 위한 마이코박테리아 성분의 사용을 개시한다. 이 의도는 이식편대숙주병의 효과를 약화시키기 위해 공여 세포를 처리하는 것이다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 선행기술에서 관찰된 종양의 조합 요법과 관련된 문제를 해결하고, 특히 원발성 암의 전이에 의해 원발성 암의 부위로부터 떨어져 형성된 이차적 암의 치료를 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 전세포(whole cell) *마이코박테리움(Mycobacterium)*과 상승적으로 작용하는 mTOR 저해제를 이용함으로써 암을 치료 및/또는 예방하기 위한 효과적인 방법을 제공한다. 본 발명은 이에 따라 mTOR 저해제와 특이적 유

형의 면역요법의 조합 요법을 제공한다. 본 발명자들은 두 요법의 조합이 개별적으로 사용되는 각각의 요법의 단순한相加적 효과를 넘어서 상승적인 것을 발견하였다.

[0014] 본 발명의 제1 양태에는, mTOR 저해제와 조합하여 신생물 질환의 치료에 사용하기 위한 전세포 *마이코박테륨* (*Mycobacterium*)이 있으며, 여기에서 *마이코박테륨*은 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*이다.

[0015] 본 발명의 제2 양태에, 대상에서 원발성 신생물, 종양 또는 암을 예방, 치료, 감소, 저해 및/또는 제어하는 방법이 있으며, 여기에서 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 (i) mTOR 저해제, 및 (ii) 전세포 *마이코박테륨* (*Mycobacterium*)을 대상에게 동시에, 별개로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함한다.

[0016] 본 발명의 제3 양태에는, 원발성 신생물, 종양 또는 암과는 별개의 하나 이상의 부위에서 원발성 신생물, 종양 또는 암의 전이의 형성 또는 확립을 예방, 치료, 감소, 저해 및/또는 제어하는 방법이 있으며, 여기에서 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 (i) mTOR 저해제, 및 (ii) 전세포 *마이코박테륨* (*Mycobacterium*)을 대상에게 동시에, 별개로 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하고, 여기에서 *마이코박테륨*은 비-병원성의 열-치사된 *마이코박테륨*이다.

### 발명의 효과

[0017] 따라서, 본 발명은 특이적 유형의 면역치료와 함께 mTOR 저해제의 조합 요법을 제공한다. 본 발명자들은 두 요법의 조합이 개별적으로 사용되는 각각의 요법의 단순한相加적 효과를 넘어서 상승적임을 발견하였다.

### 도면의 간단한 설명

[0018] 본 발명은 다음 도면을 참고로 기술되는데, 여기에서:

도 1은 KPC 세포의 정위(orthotopic) 주사에 따라, 마우스(KC 마우스)의 자발적 췌장 암 모델에서, 생존에 대한 라파마이신 공동-투여의 존재 또는 부재시 IMM-101의 효과를 보여준다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 용어 "종양(tumour)", "암(cancer)", "신생물(neoplasia)" 및 "신생물 질환(neoplastic disease)"은 상호교환적으로 사용되고, 성장, 증식 또는 생존이 정상적인 대응 세포보다 큰 세포 또는 세포의 집단, 예를 들어 세포 증식 또는 분화 장애를 말한다. 전형적으로, 성장은 제어되지 않는다. 용어 "악성(malignancy)"은 인접 조직의 침습을 말한다. 용어 "전이(metastasis)"는 종양, 암 또는 신생물이 대상 내에서 다른 부위, 장소 또는 영역으로 확산 또는 전파되는 것을 말하는데, 여기에서 이 부위, 장소 또는 영역은 원발성 종양 또는 암과 별개이다.

[0020] 용어 "mTOR"는 라파마이신의 세린-트레오닌 키나제 포유류 표적을 말한다. 현재 mTOR는 두 가지 다-분자 신호전달 형태인, mTOR 컴플렉스 1(mTORC1) 및 mTOR 컴플렉스 2(mTORC2)가 알려져 있다.

[0021] 용어 "저해제(inhibitor)"는 해당 분야에서 사용되는 통상적인 의미를 갖는 것으로, 즉 효소에 결합하고 그 활성을 저하시킬 수 있는 개체를 말한다. 바람직하게는, mTOR 저해제는 이의 구성 성분으로부터 mTORC1의 형성을 방지 또는 실질적으로 방지할 수 있어, mTORC1의 활성 저하를 이끌어내도록 하고; mTOR 저해제는 또한 mTORC2와 결합할 수 있어, 유사한 효과를 갖는다. 더욱 바람직하게는, mTOR 저해제는 다음으로부터 선택된다; 시롤리무스(silrolimus), 에베롤리무스(everolimus), 리다포롤리무스(ridaforolimus), 템시롤리무스(temsirolimus) 또는 메트포르민(metformin), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물, 전구약물, 유사체 또는 유도체 변종 및/또는 이의 조합. 가장 바람직하게는, mTOR 저해제는 시롤리무스, 또는 위에 수록된 이의 유도체이다.

[0022] 본원에서 사용되는 용어 "환자(patient)" 및/또는 "대상(subject)"은 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0023] 본원에서 정의되는 "동시(simultaneous)" 투여는 *마이코박테륨* 및 mTOR 저해제를 각각 약 2 시간 또는 약 1 시간 이하 이내에, 한층 더 바람직하게는 동시에 투여하는 것을 포함한다.

[0024] 본원에서 정의되는 "별개(separate)" 투여는 *마이코박테륨* 및 mTOR 저해제를 약 12 시간, 또는 약 8 시간, 또는 약 6 시간 또는 약 4 시간 또는 약 2 시간 보다 길게 떨어져서 투여하는 것을 포함한다.

[0025] 본원에서 정의되는 "순차적(sequential)" 투여는 *마이코박테륨* 및 mTOR 저해제를 각각 다중 분액 및/또는 투여량으로, 및/또는 별개의 시기에 투여하는 것을 포함한다. 선택적으로, *마이코박테륨*은 대상에게 먼저 투여되고 mTOR 저해제의 투여 후 계속해서 투여된다. 대안으로서, *마이코박테륨*은 종양의 퇴행을 위한 치료 후 대상에게



계속해서 적용된다.

- [0026] 라파마이신의 포유류 표적(mTOR, mammalian target of rapamycin) 경로는 세포 성장 및 증식의 중대한 조절제이고 이 분야의 연구에서 mTOR 조절장애는 다양한 암에서 핵심 역할을 갖는 것으로 밝혀졌다. mTOR는 번역을 조절하는 성장 인자와 같은 마이토겐(mitogens) 및 영양소에 의해 야기되는 신호전달에서 중심 역할을 하는 것으로 보인다. 많은 세포 과정의 조절제로서의 mTOR의 역할 및 치료적 표적으로서의 잠재력 이면의 과학적 이해는 몇 가지 유형의 암에서 치료 가능성을 열었다. mTOR는 290 kDa의 세린-트레오닌 키나제로, 영양소 및 성장 인자 자극으로부터의 신호를 통합하는 능력을 통해 세포 성장 및 세포 분열 주기 진행 둘 다를 조절한다. 포스파티딜 이노시톨 3-키나제(PI3K)-키나제-관련 키나제(PIKK) 슈퍼패밀리의 구성원인 mTOR는 고도로 보존된 영역으로 그룹화된 2549 아미노산으로 구성된다. mTOR는 mRNA 번역의 기구에 대한 효과를 통해 단백질의 생산을 제어하는 세포내 키나제이다. 이들 단백질은 세포 대사, 세포 성장, 세포 분할, 및 저산소 또는 DNA 손상과 같은 세포 스트레스에 대한 반응에 중대한 몇 가지 과정의 중요한 성분을 포함한다.
- [0027] mTOR는 세포 환경 내에서 성장 조건을 감지하고 세포가 이 환경에서 변화에 반응하는 것을 돕는다. 활성 mTOR는 세포 분열 주기 조절제에 대한 이의 효과를 통해 직접적으로, 그리고 영양소 운반체의 생산을 통해 세포로, 혈관신생의 촉진을 통해 세포 환경으로 영양소 공급을 유지함으로써 간접적으로 세포 성장에서의 반응을 조정한다. mTOR의 활성화는 세포 성장에 필요한 기본적 물질(예를 들어, 아미노산, 포도당, 에너지)의 이용가능성 및 세포 스트레스(예를 들어, 저산소, DNA 손상, 열 쇼크, 극단적 pH, 삼투압 스트레스, 산화적 스트레스)의 조건을 모니터링하면서 다른 세포 및 조직으로부터의 성장-조절 신호(예를 들어, 호르몬, 성장 인자)를 고려하는 결정 지점을 나타낸다. 이러한 방식으로, 세포 내에서 에너지 및 영양소의 공급이 활동을 지지하는 데 충분하지 않을 때 비롯되는 성장 및 증식을 위한 세포 밖의 신호로부터 세포가 보호된다.
- [0028] 성장-촉진 경로의 상류에는, 종종 암에서 어떤 방식으로 규제가 해제되는 mTOR로 집중되는 중대한 분자들이 있다. 암에서 발견되는 몇 가지 돌연변이는 mTOR 스위치를 활성화시키는 부적절한 신호를 생산하여 암 세포의 성장 및 증식으로 몰아간다.
- [0029] mTOR는 영양소[예를 들어, 아데노신 트리포스페이트(ATP), 포도당, 아미노산, 콜레스테롤 및 철]의 이용가능성을 감지하고 이 정보를 PI3K/Akt/결절성 경화증 컴플렉스(TSC) 경로를 통한 성장 인자 신호전달과 통합한다. 활성화된 mTOR는 번역 단백질 S6 키나제(S6K) 및 4E-결합 단백질 1(4E-BP1)을 인산화시킴으로써 선택 mRNAs를 위한 단백질 합성의 속도를 조절한다. mTOR 활성화는 세포 성장과 혈관신생을 자극하고 세포 대사를 조절하는 하류 반응기를 증가시킨다.
- [0030] mTOR가 세포 증식에 대한 조절 효과를 발휘하는 1차적 방식은 사이클린(cyclin) D1의 생산을 제어하는 것에 의한 것이다. 사이클린은 세포 주기의 중대한 G1-S 제한 지점을 통해 사이클린-의존성 키나제(CDKs)라고 불리우는 효소의 활성을 조절하여, 결과적으로 세포의 계대를 조절하는 단백질이다. 최근, 사이클린 D1은 유전자 전사, 세포 대사 및 세포 이동에서 역할을 하는 것을 보여주었다.
- [0031] 사이클린 D1 과발현은 유방암, 대장암, 전립선암, 림프종 및 흑색종을 포함하는 많은 암과 관련되어 있다.
- [0032] 종양 경화증 컴플렉스(TSC1 또는 TSC2)에서의 돌연변이는 또한 mTOR의 과도활성화를 유도할 수 있다. 이러한 과도활성화는 TSC 환자에서 비조절된 세포 증식 및 다중시스템 종양을 야기한다. 증가된 mTOR 활성화는, 하류 신호전달 단백질의 과인산화에 의해 입증되듯이, TSC 관련 병소에서 관찰된다.
- [0033] mTOR는 혈관신생, 즉 성장 및 분할하는 세포에 산소 및 영양소를 공급하기 위한 새로운 혈관의 형성에서 핵심 역할을 한다. mTOR는 저산소증-유도 인자 1(HIF-1)/저산소증-유도 인자 2(HIF-2)의 번역을 증가시킨다. HIF 전사 인자는 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 혈소판-유래 성장 인자  $\beta$  (PDGF- $\beta$ ), 및 형질전환 성장 인자- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ )와 같은 혈관신생 성장 인자를 포함하는, 저산소 스트레스 반응 유전자의 발현을 유도한다.
- [0034] 증가된 농도의 HIF-1 $\alpha$  및 HIF-1 $\beta$ 는 자궁경부암, 유방암, 비소세포성 폐암, 난소암, 두경부암, 및 위장관 간질성 종양을 포함하는 많은 종양 유형에서 증가된 사망률과 상관관계를 보여주었다. 추가로, 또한 증가된 농도의 HIF-1 $\alpha$ 를 야기하는 폰 히펠-린도(VHL, von Hippel-Lindau) 단백질의 손실은, 많은 경우의 신장 세포 암종(RCC)의 1차적 원인이고, 췌장암 및 신경내분비 종양(NETs)에도 연루되어 있다.
- [0035] 생물에너지 연구에서는 mTOR가 세포 대사를 조절하는 데 핵심 역할을 하는 것을 보여주었다. mTOR는 영양소 운반체 단백질의 표면 발현을 증가시킨다. 이들 단백질의 증가는 세포에 의한 아미노산 및 다른 영양소의 더 많은 흡수를 야기하여, 비정상적인 세포 성장 및 생존을 위한 적절한 영양소 보조를 유도한다. 추가로, 비정상적으로 활성화된 mTOR는 당분해에 필요한 코어 효소의 증가된 생산에 의해 암 세포에 경쟁적 성장 이점을 부여할 수 있



는데, 이는 암 세포가 저산소 조건 하에서조차 생존 및 성장 가능하게 한다.

[0036] mTOR 활성이 세포 생존에 역할을 한다는 몇 가지 계통의 증거가 있다. 이 연구의 대부분에서는 mTOR 저해가 세포사 경로에 대한 감수성을 증가시킨다는 것을 밝혔고; 그러나, mTOR 활성화가 종양 진행에 기여하는 항-세포사멸 단백질의 활성화를 통해 세포 생존을 촉진하는 데 역할을 할 수 있다는 증거도 최근에 나와 있다.

[0037] 세포 주기 진행, 혈관신생, 세포 대사 및 세포사멸에서 비정상적 활성을 유도하는 상류 경로의 조절 장애에 기인한 mTOR의 과도활성화는 다양한 유형의 암에 연루되어 있다.

#### [0038] 신장 세포 암종

[0039] mTOR는 RCC에서 중요한 단백질인 HIF-1 $\alpha$ 의 생산을 제어하는데, 여기에서 이의 비조절된 활성은 질환 발병의 원인으로 관련된다. mTOR는 RCC에서 몇 가지 혈관신생 성장 인자의 생산을 조절한다. mTOR는 성장 인자에 반응하기 위한 신생혈관 세포의 능력을 제어할 수 있다. mTOR는 RCC 및 종양 미소혈관계의 세포에서 세포 성장 및 세포 분열을 제어하고, PI3K/Akt/mTOR 경로에서 mTOR의 상류 신호전달 결합에 의해 신장암에서 종종 조절 장애가 된다. mTOR는 영양소 흡수 및 세포 대사를 조절하고 RCC에서 특징적인 대사 변화에 기여한다.

#### [0040] 신경내분비 종양(NET)

[0041] NET에서 몇 가지 중요한 분자적 변화에 mTOR 경로가 포함된다. 증가된 성장 인자 신호전달, 즉 mTOR의 표피 성장 인자(EGF) 및 인슐린-유사 성장 인자(IGF) 신호전달 상류가 NET에서 자주 관찰된다. 또한, 인슐린 분비는 췌장 베타 세포 종양에서 mTOR의 자가분비 활성화에 관여하는 것으로 믿어진다. mTOR는 NET와 관련된 많은 유전자 돌연변이에 의해 활성화된다(VHL 유전자의 생식계열 결실). mTOR는 혈관신생을 조절함으로써 암 세포로의 영양소 공급을 지시한다. NET는 고도로 맥관성이다. VEGF 발현은 위장관 암양종(carcinoid) 및 췌장 섬 세포 종양의 80-86%에서 관찰된다.

#### [0042] 위암

[0043] mTOR는 위 선암종의 60-80%에서 활성화되고 초기-단계 및 후기-단계 질환에서, 확산 및 장 서브타입 둘 다에서, 그리고 림프 채널에 침투하는 종양 세포에서 발현된다. mTOR 경로는 복수의 성장 인자 수용체, 즉 많은 위 종양에서 과발현되는 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 인간 표피 성장 인자 수용체 2(HER2), 인슐린-유사 성장 인자 타입 1 수용체(IGF-1R)에 의해 활성화된다. mTOR는 새로운 혈관 형성을 촉진하고 위암 환자에서 불량한 결과를 예측하는 혈관신생 인자(VEGF/VEGFR)의 생산을 조절한다. mTOR는 영양소 흡수 및 세포 대사를 조절하고 암에서 특징적인 대사 변화에 기여한다. HIF-1 $\alpha$ 는 대부분의 위암에서 발현되고, 침습 종양 에지에서 HIF-1 $\alpha$  발현은 후기-단계 질환, 림프절 전이, 및 불량한 생존과 관련된다.

#### [0044] 유방암

[0045] mTOR 신호전달은 유방암의 발병에 중대하다. mTOR 신호전달은 에스트로겐 수용체(ER) 활성화 및 적응 가능한 에스트로겐 과민성과 관련될 수 있다. mTOR 경로 신호전달은 내분비 요법에 저항성인 HER2+ 종양 세포에서 증가된다. mTOR 활성화는 내분비 요법으로 치료받는 환자에서 더 나쁜 임상적 결과를 예측한다. mTOR는 영양소 흡수, 세포 대사, 및 혈관신생을 조절함으로써 암 세포로의 영양소 공급을 제어한다.

#### [0046] 간세포 암종(HCC)

[0047] mTOR-의존성 신호전달은 HCC의 25-45%에서 활성화이다. 활성화는 더 짧은 전체 생존과 상관되고; mTOR 활성화는 수술 후 재발의 독립적인 예측변수이다. mTOR는 혈관신생 인자의 생산을 조절한다. 높은 VEGF 농도는 종양 세포 증식, 종양 결절의 불량한 피막 형성, 정맥 침습, 절제 후 더 높은 등급 및 불량한 예후와 관련된다. PI3K/Akt 경로를 통한 mTOR 활성화는, HCC 세포 증식 및 생존을 촉진하는 간세포 성장 인자(HGF) 및 EGF, TGF- $\alpha$ , IGF와 같은 성장 인자의 증가된 발현과 관련된다.

#### [0048] 림프종

[0049] 비-호지킨 림프종(Non-Hodgkin lymphoma, NHL)의 대략 85%가 B-세포 계통의 세포로부터 나온다. mTOR 신호전달은 호지킨 림프종 세포주 및 원발성 종양에서 활성화된다. 사이클린 D1 과발현은 외투 세포 림프종의 특징적인 성질이다. PI3K 및 Akt 과발현은 몇 가지 B-세포 림프종에서 자주 관찰된다.

[0050] 본 발명의 한 양태에서, 전세포 *마이코박테리움*은 열-치사된다. 본 발명에 사용하기 위한 마이코박테리아 종의 예에는 *M. 바카에*(*M. vaccae*), *M. 써모레지스티빌레*(*M. thermoresistibile*), *M. 플라베센스*(*M. flavescens*), *M.*

두발리이(*M. duvalii*), *M. 플레이*(*M. phlei*), *M. 오부엔스*(*M. obuense*), *M. 파라포르투이툼*(*M. parafortuitum*), *M. 스파그니*(*M. sphagni*), *M. 아이치엔스*(*M. aichiense*), *M. 로데시아에*(*M. rhodesiae*), *M. 네오아우룸*(*M. neoaurum*), *M. 추부엔스*(*M. chubuense*), *M. 토카이엔스*(*M. tokaiense*), *M. 코모센스*(*M. komossense*), *M. 아우룸*(*M. aurum*), *M. 인디쿠스 프라니이*(*M. indicus pranii*), *M. 투베르쿨로시스*(*M. tuberculosis*), *M. 마이크로티*(*M. microti*); *M. 아프리카눔*(*M. africanum*); *M. 칸사시이*(*M. kansasii*), *M. 마리눔*(*M. marinum*); *M. 시미아에*(*M. simiae*); *M. 가스트리*(*M. gastri*); *M. 논크로모게니쿰*(*M. nonchromogenicum*); *M. 테라에*(*M. terrae*); *M. 트리비알레*(*M. triviale*); *M. 고르도나에*(*M. gordonae*); *M. 스크로풀라세움*(*M. scrofulaceum*); *M. 파라피니쿰*(*M. paraffinicum*); *M. 인트라셀룰라레*(*M. intracellulare*); *M. 아비움*(*M. avium*); *M. 제노피*(*M. xenopi*); *M. 울세란스*(*M. ulcerans*); *M. 디에른호페리*(*M. diernhoferi*), *M. 스메그마티스*(*M. smegmatis*); *M. 탐노페오스*(*M. thamnophaeos*); *M. 플라베센스*(*M. flavescens*); *M. 포르투이툼*(*M. fortuitum*); *M. 페레그리눔*(*M. peregrinum*); *M. 켈로네이*(*M. chelonei*); *M. 파라투베르쿨로시스*(*M. paratuberculosis*); *M. 레프라에*(*M. leprae*); *M. 레프라에무리움*(*M. lepraemurium*) 및 이의 조합이 포함된다.

[0051]

열-치사된 *마이코박테륨*은 비-병원성이다. 비-병원성 열-치사된 *마이코박테륨*은 바람직하게는 *M. 바카에*(*M. vaccae*), *M. 오부엔스*(*M. obuense*), *M. 파라포르투이툼*(*M. parafortuitum*), *M. 아우룸*(*M. aurum*), *M. 인디쿠스 프라니이*(*M. indicus pranii*), *M. 플레이*(*M. phlei*) 및 이의 조합으로부터 선택된다. 더욱 바람직하게는, 비-병원성 열-치사된 *마이코박테륨*은 러프(rough) 변종이다. 대상에게 투여되는 *마이코박테륨*의 양은 대상의 면역 시스템이 암에 대한 효과적인 면역 반응을 시작할 수 있도록 대상에서 보호적 면역 반응을 이끌어내기에 충분하다. 본 발명의 어떤 구현예에서는, 특정 투여량의 *마이코박테륨* 및/또는 투여 계획으로 대상에게 투여되는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명의 어떤 구현예에서는, 본 발명에 사용하기 위한 열-치사된 *마이코박테륨*의 유효량을 포함하는 밀폐 수단이 제공되는데, 이는 전형적으로  $10^3$  내지  $10^{11}$  유기체, 바람직하게는  $10^4$  내지  $10^{10}$  유기체, 더욱 바람직하게는  $10^6$  내지  $10^{10}$  유기체, 그리고 한층 더 바람직하게는  $10^6$  내지  $10^9$  유기체일 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 열-치사된 *마이코박테륨*의 유효량은  $10^3$  내지  $10^{11}$  유기체, 바람직하게는  $10^4$  내지  $10^{10}$  유기체, 더욱 바람직하게는  $10^6$  내지  $10^{10}$  유기체, 그리고 한층 더 바람직하게는  $10^6$  내지  $10^9$  유기체일 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명에 사용하기 위한 열-치사된 *마이코박테륨*의 유효량은  $10^7$  내지  $10^9$  세포 또는 유기체이다. 전형적으로, 본 발명에 따른 조성물은  $10^8$  내지  $10^9$  세포의 용량으로 인간 및 동물 사용을 위해 투여될 수 있다. 대안으로서, 이 용량은 현탁액 또는 건조 제제로서 제시되는, 유기체 중량으로 약 0.01 mg 내지 1 mg 사이, 또는 약 0.1 mg 내지 1 mg 사이이다.

[0052]

*M. 바카에*(*M. vaccae*) 및 *M. 오부엔스*(*M. obuense*)가 특히 바람직하다.

[0053]

*M. 바카에*(*M. vaccae*) 및 *M. 오부엔스*(*M. obuense*)는 숙주에서 복합 면역 반응을 유도한다. 이들 제제에 의한 치료는 대식세포 활성화 및 세포독성 세포 활성을 포함하는 선천적 및 타입-1 면역(Th1)을 자극할 것이다. 이들은 또한 면역조절 기전을 통해 부적절한 Th2 반응을 독립적으로 하향-조절한다. 이는 면역 시스템의 건강한 균형을 회복시킨다.

[0054]

본 발명은 신생물 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. 본원에서 사용되는 "치료(treatment)"는 신생물 질환의 예방, 감소, 제어 및/또는 저해를 포함한다. 이러한 질환에는 육종, 암종, 선암종, 흑색종, 골수종, 아세포종, 신경교종, 림프종 또는 백혈병이 포함된다. 예시적인 암은 암종, 육종, 선암종, 흑색종, 신경(아세포종, 신경교종), 중피종 및 세망내피계, 림프계 또는 조혈 신생물 장애(예를 들어, 골수종, 림프종 또는 백혈병)를 포함한다. 특정 양태에서, 신생물, 종양 및 암은 폐 선암종, 폐 암종, 확산 또는 간질성 위 암종, 결장 선암종, 전립선암, 식도 암종, 유방 암종, 췌장 선암종, 난소 선암종, 부신의 선암종, 자궁내막의 선암종 또는 자궁 선암종을 포함한다.

[0055]

신생물, 종양 및 암은 양성, 악성, 전이성 및 비-전이성 유형을 포함하고, 신생물, 종양 또는 암, 또는 진행, 악화, 안정화 또는 차도가 있는 신생물, 종양, 암 또는 전이의 임의 단계(I, II, III, IV 또는 V) 또는 등급(G1, G2, G3, 등)을 포함한다. 본 발명에 따라 치료될 수 있는 암은 방광, 혈액, 뼈, 골수, 뇌, 유방, 결장, 식도, 위장관, 치은, 머리, 신장, 간, 폐, 비인두, 목, 난소, 전립선, 피부, 위, 정소, 혀, 또는 자궁의 세포 또는 신생물을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 또한, 암은 비록 이에 제한되지 않지만, 구체적으로 다음 조직학적 유형일 수 있다: 악성 신생물; 암종; 미분화 암종; 거대 및 방추형 세포 암종; 소세포 암종; 유두상 암종; 편평상피 세포 암종; 림프상피 암종; 기저 세포 암종; 모기질 암종; 이행 세포 암종; 유두상 이행 세포 암종; 선암종; 악성 가스트린종; 담관암종; 간세포성 암종; 혼합 간세포성 암종 및 담관암종; 육주상 선암종; 선양 낭포

암종; 선종성 용종에서의 선암종; 가족성 용종증 콜라이 선암종; 고형 암종; 악성 암양 종양; 세기관지-폐포성 선암종; 유두상 선암종; 혈액소성 암종; 호산성 암종; 호산세포성 선암종; 호염기성 암종; 투명 세포 선암종; 과립 세포 암종; 여포성 선암종; 유두상 및 여포성 선암종; 비피낭 경화성 암종; 부신 피질 암종; 자궁내막양 암종; 피부 부속물 암종; 아포크린 선암종; 피지 선암종; 이도 선암종; 점막표피성 암종; 낭포선암종; 유두상 낭포선암종; 유두상 장액성 낭포선암종; 점액성 낭포선암종; 점액성 선암종; 인화 세포 암종; 침윤성 도관 암종; 수질성 암종; 소엽 암종; 염증성 암종; 유선의 파제트병(Paget's disease, mammary); 선포 세포 암종; 선 편평상피 암종; 편평상피 화생이 있는 선암종; 악성 흉선종; 악성 난소 기질 종양; 악성 난포막종; 악성 과립막 세포 종양; 악성 남성아세포종; 세르톨리 세포 암종(Sertoli cell carcinoma); 악성 라이디히 세포 종양(Leydig cell tumour, malignant); 악성 지질 세포 종양; 악성 부신경절종; 악성 유선의 부신경절종; 크롬친화세포종; 사구맥관육종; 악성 흑색종; 멜라닌결핍 흑색종; 표재 확장성 흑색종; 거대 색소 모반의 악성 흑색종; 유상피세포 흑색종; 악성 청색 모반; 육종; 섬유육종; 악성 섬유성 조직구종; 점액육종; 지방육종; 평활근육종; 횡문근육종; 배아 횡문근육종; 폐포 횡문근육종; 기질 육종; 혼합 종양; 혼합된 뮐러 종양(Mullerian mixed tumour); 신아세포종; 간아세포종; 암육종; 악성 간엽세포종; 악성 브레너 종양(Brenner tumour, malignant); 악성 엽상 종양; 활액막 육종; 악성 중피종; 미분화세포종; 태생성 암종; 악성 기형종; 악성 난소 갑상선종; 융모암종; 악성 증진종; 혈관육종; 악성 혈관내피종; 카포시 육종(Kaposi's sarcoma); 악성 혈관주위세포종; 림프관육종; 골육종; 피질주위 골육종; 연골육종; 악성 연골모세포종; 중간엽 연골육종; 뼈의 거대 세포 종양; 유잉 육종(Ewing's sarcoma); 악성 치원성 종양; 범랑아세포성 치아육종; 악성 범랑아세포종; 범랑아세포성 섬유육종; 악성 송과체종; 척색종; 악성 신경교종; 뇌질피복세포종; 성상세포종; 원형질 성상세포종; 섬유성 성상세포종; 성아세포종; 교아세포종; 회돌기교종; 회돌기교아세포종; 원시 신경외배엽종; 소뇌 육종; 신경절아세포종; 신경아세포종; 망막아종; 후각 신경성 종양; 악성 수막종; 신경섬유육종; 악성 신경섬유초종; 악성 과립 세포 종양; 악성 림프종; 호지킨병(Hodgkin's disease); 호지킨스(Hodgkin's); 파라옥아종; 소림프구 악성 림프종; 대 세포 확산성 악성 림프종; 악성 여포성 림프종; 균상 식육종; 다른 특정된 비-호지킨 림프종; 악성 조직구종; 다발성 골수종; 비만 세포 육종; 면역증식성 소장 질환; 백혈병; 림프성 백혈병; 혈장 세포 백혈병; 적백혈병; 림프육종 세포성 백혈병; 골수성 백혈병; 호염기성 백혈병; 호산성 백혈병; 단구성 백혈병; 비만 세포 백혈병; 거핵아세포 백혈병; 골수성 육종; 및 모양세포성 백혈병. 바람직하게는, 신생물 질환은 전립선암, 간암, 신장암, 폐암, 유방암, 대장암, 췌장암, 뇌암, 간세포암, 림프종, 백혈병, 위암, 자궁경부암, 난소암, 갑상선암, 흑색종, 두경부암, 피부암 및 연조직 육종으로부터 선택되는 암과 관련되는 종양 및/또는 다른 형태의 암종일 수 있다. 종양은 전이성이거나 악성 종양일 수 있다.

[0056] 더욱 바람직하게는, 치료되는 신생물 질환은 췌장암, 유방암, 전립선암 및 피부암이다. 가장 바람직하게는, 치료되는 신생물 질환은 췌장암이다.

[0057] 본 발명의 구현예에서, mTOR 저해제는 *마이코박테리아*의 조합 요법으로 원발성 종양 또는 암의 다른 부위로의 전이, 또는 원발성 종양 또는 암과 떨어진 다른 부위에서의 전이성 종양 또는 암의 형성 또는 확립을 감소 또는 저해하여, 이에 의해 종양 또는 암의 재발 또는 종양 또는 암의 진행을 저해 또는 감소하기 위해 사용된다.

[0058] 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은, 다른 것들 중에서도, 1) 잠재적으로 전이를 발생시키는 종양 또는 암의 성장, 증식, 이동성 또는 침습성을 감소 또는 저해, 2) 원발성 종양 또는 암으로부터 일어나는, 이 원발성 종양 또는 암과는 별개의 하나 이상의 다른 부위, 위치 또는 영역으로의 전이의 형성 또는 확립을 감소 또는 저해; 3) 전이가 형성 또는 확립된 후 원발성 종양 또는 암과는 별개의 하나 이상의 다른 부위, 위치 또는 영역에서의 전이의 증식 또는 성장을 감소 또는 저해, 그리고 4) 전이가 형성 또는 확립된 후 추가의 전이의 형성 또는 확립을 감소 또는 저해하는 것을 포함한다.

[0059] 본 발명의 구현예에서, *마이코박테리아*의 조합 요법으로 mTOR 저해제의 투여는, 세포 증식성 또는 세포의 과도 증식성 장애, 신생물, 종양 또는 암, 또는 전이의 존재와 관련되는 하나 이상의 부정적인(육체적) 증상 또는 결과를 경감 또는 완화, 즉 치료적 혜택 또는 유익한 효과와 같은, 주어진 대상의 병태에서 검출 가능하거나 측정 가능한 개선을 제공한다.

[0060] 치료적 혜택 또는 유익한 효과는 병태 또는 병리에서 임의의 객관적 또는 주관적, 일과성, 일시적, 또는 장-시간 개선, 또는 신생물, 종양 또는 암, 또는 전이와 같은 세포 증식 또는 세포의 과도증식에 의해 야기되거나 이와 관련된 부정적인 증상의 개시, 중증도, 지속 또는 빈도에서의 감소이다. 본 발명에 따른 치료 방법의 만족스러운 임상적 증점은, 예를 들어 하나 이상의 관련된 병리, 부정적인 증상 또는 합병증의 중증도, 지속 또는 빈도에서의 점증적 또는 부분적 감소, 또는 신생물, 종양 또는 암, 또는 전이와 같은 세포 증식 또는 세포의 과도 증식의 하나 이상의 생리적, 생화학적 또는 세포적 징후 또는 특성의 저해 또는 역전이 있을 때 달성된다. 따라

서, 치료적 혜택 또는 개선은 신생물, 종양 또는 암, 또는 전이와 같은 세포 증식 또는 세포의 과도증식에 의해 야기되거나 이와 관련된 부정적인 증상 또는 합병증에서의 감소일 수 있다. 그러나, 치료적 혜택 또는 개선은 모든 표적 증식 세포(예를 들어, 신생물, 종양 또는 암, 또는 전이)의 완전한 파괴 또는 치료일 필요는 없다. 예를 들어, 종양 또는 암의 진행 또는 악화를 저해하는 것에 의한 종양 또는 암의 중량, 크기 또는 세포 수의 안정화는, 비록 종양 또는 암의 중량, 크기 또는 세포의 일부 또는 대부분이 유지된다 하더라도, 사망률을 감소시키고 단지 며칠, 몇 주 또는 몇 개월이라도 수명을 연장시킬 수 있다.

[0061] 치료적 혜택의 구체적인 비-제한적 예에는 신생물, 종양 또는 암, 또는 전이 용적(크기 또는 세포량) 또는 세포 수에서의 감소, 신생물, 종양 또는 암 용적에서의 증가를 저해 또는 방지하는 것(예를 들어, 안정화), 신생물, 종양 또는 암 진행, 악화 또는 전이를 지연 또는 저해하는 것, 또는 신생물, 종양 또는 암 증식, 성장 또는 전이를 저해하는 것을 포함한다.

[0062] 발명의 방법은 즉각적으로 효과가 있을 필요는 없다. 예를 들어, 치료는 종양 용적 및/또는 신생물, 종양 또는 암 세포 수 또는 세포량의 초기 증가에 대한 지연적 효과가 이어질 수 있으나, 시간 경과에 따라 주어진 대상에서 종양 세포량, 세포의 크기 또는 수에서 최종적인 안정화 또는 감소가 차후에 일어날 수 있다.

[0063] 저해, 감소, 저하, 지연 또는 예방될 수 있는 신생물, 종양, 암 및 전이와 관련된 추가적인 부정적 증상 또는 합병증에는, 예를 들어, 오심, 식욕 감소, 기면, 통증 및 불쾌감이 포함된다. 따라서, 세포의 과도증식 장애에 의해 야기되거나 이와 관련된 부정적인 증상 또는 합병증의 중증도, 지속 또는 빈도에 있어서의 부분적 또는 완전한 저하 또는 감소, 증가된 에너지, 식욕, 정신적 웰빙과 같은 대상의 웰빙의 개선이 모두 치료적 혜택의 특정 비-제한적 예이다.

[0064] 따라서, 치료적 혜택 또는 개선에는 또한 치료되는 대상의 삶의 질의 주관적 개선이 포함될 수 있다.

[0065] 추가의 구현예에서, 방법은 대상의 수명(생존)을 연장 또는 확장시킨다. 다른 구현예에서, 방법은 대상의 삶의 질을 개선시킨다.

[0066] 용어 "유효량(effective amount)" 또는 "치료적으로 유효한량 (therapeutically effective amount)"은 원하는 생물학적, 치료적, 및/또는 예방적 결과를 제공하기 위해 충분한 약제의 양을 말한다. 이 결과는 질환의 하나 이상의 징후, 증상, 또는 원인의 감소, 개량, 완화, 약화, 지연, 및/또는 경감, 또는 생물학적 시스템에서 임의의 다른 원하는 변화일 수 있다. 암과 관련하여, 유효량은 종양의 위축을 야기하고/하거나 종양의 성장 속도를 감소(종양 성장을 억제시키는 것과 같은)시키거나 다른 원치 않는 세포 증식을 방지 또는 지연시키는 데 충분한 양을 포함한다. 일부 구현예에서, 유효량은 발생을 지연시키는 데 충분한 양이다. 일부 구현예에서, 유효량은 재발을 방지 또는 지연시키는 데 충분한 양이다. 유효량은 하나 이상의 투여로 투여될 수 있다. 약물 또는 조성물의 유효량은: (i) 암 세포의 수를 감소; (ii) 종양 크기를 감소; (iii) 주변의 기관으로 암세포 침습을 어느 정도까지 저해, 지체, 지연 및 바람직하게는 중단; (iv) 종양 전이를 저해(즉, 어느 정도까지 지연 및 바람직하게는 중단); (v) 종양 성장을 저해; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 방지 또는 지연; 그리고/또는 (vii) 암과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도까지 경감시킬 수 있다.

[0067] 가장 바람직한 구현예에서, mTOR 저해제의 투여는 *마이코박테륨*과의 조합 요법으로, 다음 중 하나 이상으로부터 선택되는 진전 및 질병 상태의 하나 이상의 표지에서 임상적 의의가 있는 개선을 야기한다: (i) 종합적 생존, (ii) 무진행 생존, (iii) 종합적 반응 속도, (iv) 전이성 질환의 감소, (v) 유의미한 암-관련 항원의 순환 농도 (vi) 영양 상태(체중, 식욕, 혈청 알부민), 또는 (vii) 통증 제어 또는 진통제 사용.

[0068] 열-치사된 전세포 *M. 바카에*(*M. vaccae*) 및 *M. 오부엔스*(*M. obuense*)의 전-처리는 선천적 면역 및 타입-1 면역의 전개뿐만 아니라 적절한 면역 기능을 더욱 효과적으로 회복시키는 면역조절을 포함하는 보다 복잡한 면역을 일으킨다.

[0069] 본 발명에 따른 *마이코박테륨*은 mTOR 저해제와 조합으로 투여된다.

[0070] 바람직한 구현예에서, mTOR 저해제는 시롤리무스, 에베롤리무스, 리다포롤리무스, 템시롤리무스 또는 메트포르민 또는 전술한 것의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 입체이성질체, 포접화합물, 또는 전구약물, 유사체 또는 유도체 변종, 또는 이의 조합으로부터 선택될 수 있다.

[0071] 가장 바람직한 구현예에서, mTOR 저해제는 라파마이신(시롤리무스)이다.

[0072] 본 명세서에서 전체적으로 사용되는 용어 "조합(combination)"은 *마이코박테륨*의 투여와 동시, 별개 또는 순차적인 mTOR 저해제의 투여를 포함하는 것을 의미한다. 따라서, mTOR 저해제 및 *마이코박테륨*은 동일하거나 별개



의 약제학적 제형에, 그리고 동시 또는 다른 시기에 존재할 수 있다.

- [0073] 따라서, *마이코박테륨* 및 mTOR 저해제는 동시 또는 다른 시기에 투여하기 위한 별개의 약제로서 제공될 수 있다.
- [0074] 바람직하게는, *마이코박테륨* 및 mTOR 저해제는 다른 시기에 투여하기 위한 별개의 약제로서 제공된다. 별개로 다른 시기에 투여될 때, *마이코박테륨* 또는 mTOR 저해제 중 하나가 먼저 투여될 수 있고; 그러나, *마이코박테륨* 뒤에 mTOR 저해제를 투여하는 것이 바람직하다. 또한, 둘 다 같은 날 또는 다른 날에 투여될 수 있고, 이들은 치료 주기 동안 동일한 계획 또는 다른 계획을 사용하여 투여될 수 있다.
- [0075] mTOR 저해제의 각 주기의 지속은 약 1 내지 약 3 일 사이 또는 약 52 주까지, 또는 더 길 수 있다. 각각의 약제에 대한 다중 주기가 필요에 따라 주어질 수 있다. 따라서, 본 발명의 구현예에서, 치료 주기는 mTOR 저해제와 동시에, *마이코박테륨*의 매일, 매주, 격주 또는 매달 투여로 구성된다. 대안으로서, *마이코박테륨*은 mTOR 저해제의 투여 전 및/또는 후에 투여된다.
- [0076] 투여량 지연 및/또는 투여량 감소 및 계획 조정은 필요에 따라 개별 환자의 치료에 대한 용인성에 의존하여 수행된다.
- [0077] 유효량의 *마이코박테륨*은 복수(반복) 투여량, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로, 선택적으로 약 2 일 또는 약 2 주, 또는 약 4 주 또는 약 8 주 간격으로 투여될 수 있다.
- [0078] 다른 구현예에서, 치료 요법은 2 일마다 또는 2 주에 한 번까지 첫 번째 3 투여량에 이어서 4 주의 휴식 후 2 주마다 다음 3 투여량에 이어서 이후 매 4 주마다 *마이코박테륨*의 투여와 함께, 상기 *마이코박테륨*의 첫 번째 투여량 이후 적어도 1 일 내지 14 일 사이에 개시되는 mTOR 저해제 투여를 포함한다.
- [0079] 본 발명의 다른 추가의 구현예에서, mTOR 저해제의 유효량, 선택적으로 약 0.5 mg/일 내지 약 40 mg/일 사이, 예를 들어 약 1.5 mg/일 내지 약 15 mg/일 사이는, 선택적으로 경구 경로를 통해 복수(반복)의 1 일 투여량으로, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로, *마이코박테륨*의 투여 전, 이와 동시 및/또는 이후에 투여될 수 있다. 예를 들어, *마이코박테륨* 및 mTOR 저해제는 둘 다 적어도 약 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15 또는 20 이상의 때에 투여 및 반복되고, 선택적으로 mTOR 저해제는 매일 투여된다.
- [0080] 본 발명의 추가의 구현예에서, mTOR 저해제의 유효량, 선택적으로 약 0.5 mg/일 내지 약 40 mg/일 사이, 예를 들어 약 1.5 mg/일 내지 약 20 mg/일 사이, 또는 약 5 mg/일 내지 10 mg/일 사이는, 선택적으로 경구 경로를 통하여 여기에서 mTOR 저해제는 에베롤리무스로, 복수(반복)의 1 일 투여량으로, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로, *마이코박테륨*의 투여 전, 이와 동시 및/또는 이후에 투여될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 추가의 구현예에서, mTOR 저해제의 유효량, 선택적으로 약 0.5 mg/일 내지 약 40 mg/일 사이, 예를 들어 약 2 mg/일 내지 약 6 mg/일 사이는, 선택적으로 경구 경로를 통하여 여기에서 mTOR 저해제는 라파마이신으로, 복수(반복)의 1 일 투여량으로, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로, *마이코박테륨*의 투여 전, 이와 동시 및/또는 이후에 투여될 수 있다.
- [0082] *마이코박테륨*은 환자에게 비경구, 경구, 설하, 비강 또는 폐 경로를 통해 투여될 수 있다. 바람직한 구현예에서, *마이코박테륨*은 피하, 피부내, 피부하, 복막내, 정맥내 및 방광내 주사로부터 선택되는 비경구 경로를 통해 투여된다. 더욱 바람직하게는, 비경구 경로에 의한 투여는 마이코박테리아 세포 벽 추출물의 종양내 주사를 포함하지 않는다.
- [0083] 본 발명에 따른 투여 계획은 상기 mTOR 저해제 투여 전 약 0.25 시간 내지 약 2 주 사이 및 같은 날 *마이코박테륨*의 투여, 이후 약 2 일마다 내지 약 2 주마다 또는 약 4 주 후 상기 *마이코박테륨*의 추가 용량의 투여를 포함할 수 있다. 추가 용량의 *마이코박테륨*은 매일 또는 매주 또는 격주로 또는 매달 간격으로, 예를 들어 약 8 주, 또는 약 10 주 및 약 12 주, 또는 더 긴 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. *마이코박테륨*은 첫 번째 용량이 주어진 후 12 개월 이상까지 투여를 지속할 수 있다.
- [0084] 본 발명에 따른 mTOR 저해제 요법을 받는 대상은 *마이코박테륨*의 투여를 동시에, 별개로, 또는 순차적으로 받을 수 있다. *마이코박테륨*은 mTOR 저해제의 투여 전에 환자에게 투여될 수 있다. 보다 구체적으로, *마이코박테륨*은 mTOR 저해제 투여 전 약 4 주 내지 약 1 일 이하 사이에 환자에게 투여될 수 있다. 대안으로서, *마이코박테륨*은 mTOR 저해제 투여 전 4 주 내지 약 1 일 이하 사이에 1 회 이상의 시간 간격으로 투여될 수 있는 유효량의 *마이*

코박테를 각각 포함하는 하나 이상의 분액으로서 투여될 수 있고/있거나 *마이코박테*는 mTOR 저해제의 투여 후에 적용될 수 있다. 추가의 대안으로서, *마이코박테*는 mTOR 저해제 이후 4 주 내지 약 1 일 이하 사이에 1 회 이상의 시간 간격으로 투여될 수 있는 유효량의 *마이코박테*를 각각 포함하는 하나 이상의 분액으로서 투여될 수 있고/있거나 *마이코박테*는 mTOR 저해제의 투여 후에 적용될 수 있고, mTOR 저해제의 투여 전 및/또는 후에 적어도 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15 또는 20 이상의 때에 반복될 수 있다.

[0085] 본 발명의 바람직한 구현예에는, 신생물 질환의 치료에 mTOR 저해제와 조합으로 사용하기 위한 *마이코박테*가 있으며, 여기에서 상기 *마이코박테*는 mTOR 저해제의 투여 전, 이와 동시, 및/또는 후에 대상에게 투여된다.

[0086] 본 발명의 추가의 바람직한 구현예에는, 신생물 질환의 치료에 mTOR 저해제와 조합으로 사용하기 위해 mTOR 저해제의 투여 전, 이와 동시, 및/또는 후에 대상에게 투여되는 *마이코박테*가 있으며, 여기에서 상기 *마이코박테* 및/또는 mTOR 저해제는 반복 투여량으로 투여된다.

[0087] 본 발명의 추가의 바람직한 구현예에는 대상에서 원발성 신생물, 종양 또는 암을 예방, 치료, 감소, 저해 및/또는 제어하는 방법이 있으며, 여기에서 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 (i) mTOR 저해제, 및 (ii) 전세포 *마이코박테*를 동시에, 별개로, 또는 순차적으로 대상에게 투여하는 것을 포함하고, 여기에서 상기 *마이코박테*는 상기 mTOR 저해제의 투여 전, 이와 동시, 및/또는 후에 대상에게 투여되고, 선택적으로 상기 *마이코박테* 및/또는 mTOR 저해제는 반복 투여량으로 투여된다.

[0088] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에는 원발성 신생물, 종양 또는 암과 별개의 하나 이상의 부위에 원발성 신생물, 종양 또는 암의 전이의 형성 또는 확립을 예방, 치료, 감소, 저해 및/또는 제어하는 방법이 있으며, 여기에서 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 (i) mTOR 저해제, 및 (ii) 전세포 *마이코박테*를 동시에, 별개로, 또는 순차적으로 대상에게 투여하는 것을 포함하고, 여기에서 상기 *마이코박테*는 상기 mTOR 저해제의 투여 전, 이와 동시, 및/또는 후에 대상에게 투여되고, 선택적으로 상기 *마이코박테* 및/또는 mTOR 저해제는 반복 투여량으로 투여된다.

[0089] 본 발명의 하나의 구현예에서, *마이코박테*는 환자에게 제형으로 투여되는 약제의 형태일 수 있다.

[0090] 본 발명의 추가의 구현예에서, 유효량의 *마이코박테*는 단일 투여량으로서 투여될 수 있다. 대안으로서, 유효량의 *마이코박테*는 복수(반복)의 투여량으로, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, *마이코박테*는 mTOR 저해제 투여 전 약 4 주 내지 약 1 일 이하 사이에 투여된다. 투여는 단일 또는 복수의 투여량으로 진행될 수 있다.

[0091] 본 발명의 다른 추가의 구현예에서, 유효량의 *마이코박테*는 mTOR 저해제의 투여에 수반하여 복수(반복)의 투여량으로, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, *마이코박테* 및 mTOR 저해제는 둘 다 적어도 약 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 또는 20 이상의 때에 투여되고 반복되는데, 선택적으로 mTOR 저해제는 매일 투여된다. *마이코박테* 및 mTOR 저해제 둘 다의 투여는 복수 투여량으로 진행될 수 있다.

[0092] 본 발명의 다른 추가의 구현예에서, mTOR 저해제의 유효량, 선택적으로 약 0.5 mg/일 내지 약 40 mg/일 사이, 예를 들어 약 1.5 mg/일 내지 약 20 mg/일 사이, 또는 약 5 mg/일 내지 10 mg/일 사이는, 선택적으로 경구 경로를 통해 복수(반복)의 1 일 투여량으로, 예를 들어 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 20 이상 반복 투여량으로, *마이코박테*의 투여 전, 이와 동시 및/또는 후에 투여될 수 있다. 예를 들어, *마이코박테* 및 mTOR 저해제는 둘 다 적어도 약 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 또는 20 이상의 때에 투여되고 반복되는데, 선택적으로 mTOR 저해제는 매일 투여된다.

[0093] 본 발명에 따른 용기는 어떤 예에서, 바이알, 앰플, 시린지, 캡슐, 정제 또는 튜브일 수 있다. 일부 경우에, 마이코박테리아는 동결건조되고 투여 전 재현탁을 위해 제형화될 수 있다.

[0094] 그러나, 다른 경우에, 마이코박테리아는 약제학적으로 허용 가능한 액체의 용량으로 현탁된다. 가장 바람직한 구현예의 일부에서는, 약제학적으로 허용 가능한 담체에 현탁된 마이코박테리아의 단일 단위 용량을 포함하는 용기가 제공되는데, 여기에서 단위 용량은 약  $1 \times 10^6$  내지 약  $1 \times 10^{10}$  CFU의 마이코박테리아를 포함한다. 일부 매우 구체적인 구현예에서, 현탁된 마이코박테리아를 포함하는 액체는 약 0.1 mL 내지 10 mL 사이, 또는 약 0.3 mL 내지 2 mL 사이 또는 약 0.5 mL 내지 2 mL 사이의 용량으로 제공된다. 어떤 예에서 밀폐 수단에 마이코박테리아를 포함하는 조성물은 동결(즉, 약 0 °C 미만으로 유지)되는 것이 추가로 이해될 것이다. 전술한 조성물은 본원에 기술되는 면역치료제 응용을 위한 이상적인 단위를 제공한다.

- [0095] 본 발명의 방법 및/또는 조성물의 문맥에서 논의되는 구현에는 본원에 기술되는 임의의 다른 방법 또는 조성물과 관련하여 이용될 수 있다. 따라서, 하나의 방법 또는 조성물에 관한 구현에는 본 발명의 다른 방법 및 조성물에도 역시 적용될 수 있다.
- [0096] 일부 경우에, 비-병원성 열-치사된 마이코박테리아는 대상 위 또는 안의 특정 부위에 투여된다. 예를 들어, 특히 *M. 오부엔스*를 포함하는 것과 같은 본 발명에 따른 마이코박테리아 조성물은, 종양 주위에서 조직을 배액시키는 것과 같이, 림프절에 인접하거나 종양에 인접하여 투여될 수 있다. 따라서, 어떤 예에서 마이코박테리아 조성물의 부위 투여는 자궁경부 후측, 편도선, 액와, 서혜부, 자궁경부 전측, 악하, 이하 또는 쇄골상 림프절 근처일 수 있다. 이러한 투여 부위는 신체의 우측, 좌측, 또는 양측일 수 있다. 어떤 매우 구체적인 구현예에서, 마이코박테리아 조성물은 액와, 자궁경부 및/또는 서혜부 림프절 가까이 전달된다. 예를 들어, 마이코박테리아의 제형은 우측 및 좌측 액와 림프절 및 우측 및 좌측 서혜부 림프절에 인접한 조직으로 분배될 수 있다.
- [0097] 매우 구체적인 구현예에서, 마이코박테리아의 제형은 피부내 주사에 의해 대상에게 투여되는데, 여기에서 제형은 신체의 양측 액와 및 서혜부로 분배되고 각각의 부위에서 2 주사(즉, 2 펄스)가 존재한다.
- [0098] 본 발명의 일부 추가 구현예에서, 본 발명의 방법은 1 일 이상의 시기로 분리된 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 이상의 투여량의 마이코박테리아의 투여를 포함한다. 예를 들어, 이러한 분리 투여량은 1 일, 또는 며칠, 1 주, 2 주 또는 1 개월 이상으로 분리될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 방법은 3 주 이상의 시기에 걸쳐 1 내지 5 투여량의 마이코박테리아의 투여를 포함할 수 있다. 다른 추가의 구현예에서, 본 발명의 방법은 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2 또는 2 투여량의 마이코박테리아를 약 1 내지 약 3 주, 또는 이보다 긴 시기에 걸쳐 투여하는 것을 포함한다. 투여되는 각각의 투여량은 이전 또는 차후의 용량 투여에 비하여 같거나 다른 투여량일 수 있다. 예를 들어, 어떤 경우에 마이코박테리아의 투여량은 이전에 투여된 임의의 투여량보다 낮은 것이 바람직하다. 따라서, 일부 특정 경우에, 비-병원성, 열-치사된 마이코박테리아의 용량은 임의의 이전 치료 시 투여된 투여량의 약 절반으로 투여될 것이다. 이러한 방법은 마이코박테리아에 대한 대상의 면역 반응이 차후의 요법 동안 더 큰 어떤 경우에 바람직할 수 있다. 따라서, 어떤 경우에, *마이코박테륨*은 최소 회수, 예를 들어 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 이보다 적은 별개의 제형 투여로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 마이코박테리아 조성물은 2 회 투여된다. 대안으로서, *마이코박테륨*은 암 또는 종양(들)이 환자에 존재하는 시간의 길이 동안, 또는 암이 퇴행 또는 안정화되는 시간까지 투여될 수 있다. *마이코박테륨*은 또한 일단 암 또는 종양이 퇴행 또는 안정화되면 계속해서 투여될 수 있다.
- [0099] 본 발명에 따른 마이코박테리아 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체에 전형적으로 분산된 유효량의 마이코박테리아를 포함할 것이다. "약제학적 또는 약물학적으로 허용 가능한(pharmaceutical or pharmacologically acceptable)"이라는 구절은, 예를 들어 적절하게는 인간과 같은 동물에 투여될 때, 부정적, 알려지 또는 다른 부작용을 생산하지 않는 조성물 및 분자 개체를 말한다. 마이코박테리아를 포함하는 약제학적 조성물의 제제는, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990에 예시된 바와 같이, 본 개시의 관점에서 해당 분야의 당업자에게 알려져 있을 것이다. 더욱이, 동물(예를 들어, 인간) 투여를 위해, 제제는 멸균, 발열성, 일반적 안전성 및 순도 표준에 부합하여야 함이 이해될 것이다. 본원에 기술되는 바와 같이 약물학적으로 허용 가능한 담체의 특정 예는 붕산염 완충액 또는 멸균 생리 식염수(0.9% NaCl)이다.
- [0100] 본원에서 사용되는 "약제학적으로 허용 가능한 담체(pharmaceutically acceptable carrier)"는, 해당 분야의 당업자에게 알려진 바와 같이, 임의의 모든 용매, 분산매질, 코팅제, 계면활성제, 향산화제, 보존제(예를 들어, 항균제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물, 약물 안정화제, 겔, 결합제, 부형제, 붕해제, 활탁제, 감미제, 풍미제, 염료, 이러한 유사 물질 및 이의 조합을 포함한다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329 참조).
- [0101] 바람직한 구현예에서, *마이코박테륨*은 피하, 피부내, 피부하, 복막내, 정맥내 및 방광내 주사로부터 선택되는 비경구 경로를 통해 투여된다. 피부내 주사는 마이코박테리아 조성물의 전체분이 면역 감시로 접근 가능한 피부의 층으로 전달되도록 허용하여, 국소 림프절에서 항-암 면역 반응을 선택하고 면역 세포 증식을 촉진할 수 있게 한다.
- [0102] 비록 본 발명의 매우 바람직한 구현예에서는 마이코박테리아 조성물이 직접적인 피부내 주사로 투여되지만, 일부 경우에는 다른 투여 방법이 사용될 수 있다. 따라서, 어떤 경우에 본 발명의 열-치사된 마이코박테리아는, 해당 분야의 당업자에게 알려진 바와 같이, 주사, 주입, 연속 주입, 정맥내로, 피부내로, 동맥내로, 복막내로, 병소내로, 유리체내로, 질내로, 직장내로, 국소적으로, 종양내로, 근육내로, 복막내로, 피하로, 결막하, 방광내



로, 점막으로, 심막내로, 탯줄내로, 안구내로, 경구로, 두개내로, 관절내로, 전립선내로, 흉막내로, 기관내로, 비강내로, 국소적으로, 국부적으로, 흡입(예를 들어, 에어졸 흡입), 카테터를 통해, 관류를 통해, 또는 다른 방법에 의하거나 전술한 것의 임의의 조합으로 투여될 수 있다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990 참조). 더욱 바람직하게는, 비경구 경로에 의한 투여는 마이코박테리아 세포벽 추출물의 중앙내 주사는 포함하지 않는다.

[0103] 위 명세서에 언급된 모든 문헌은 참조로 본원에 도입된다. 본 발명의 기술된 방법 및 시스템의 다양한 변경 및 변화는, 본 발명의 범위 및 정수로부터 벗어나지 않고 해당 분야의 당업자에게 명백할 것이다. 비록 본 발명은 특정의 바람직한 구현예와 관련하여 기술되지만, 청구된 본 발명이 이러한 특정 구현예로 부당하게 제한되지 않아야 함이 이해되어야 한다. 사실, 본 발명을 실시하기 위하여 기술된 생화학 및 면역학 또는 관련 분야에서의 당업자에게 자명한 방식의 다양한 변경은 다음 청구범위의 범위 내로 의도된다.

[0104] 본 발명은 다음 비-제한적 실시예를 참고로 더 기술된다.

[0105] **실시예 1**

[0106] 이 실시예는 유효하고, 임상적으로 관련된 췌장암(췌장관 선암종)의 유전학적 마우스 모델에서 열-치사된 전세포 *마이코박테리움 오부엔스*(IMM-101) 및 mTor 저해제 라파마이신(시롤리무스)의 투여를 조사하는 연구를 기술한다. Kras 및 Pdx-Cre에서 돌연변이를 갖는 유전자-변형된 마우스(KC 마우스)를 Hingorani 등(Cancer Cell, 2003, 4:437-50)에 의해 기술된 방법에 따라 사육하였다; 이 마우스의 일부는 침습성 및 전이성 선암종으로 진행할 수 있는 인간 췌장 상피내 신생물과 유사한 관 병변을 일으킨다. KC 마우스에게 Kras, p53 및 Pdx-Cre에서 돌연변이를 갖는  $10^5$  KPC 세포를 생후 100 일에 정위로 주사하였다(Hingorani et al. Cancer Cell, 2005, 7:469-48). 마우스는 114 일(도 1의 0 일)에 다음과 같이 처리하였다:

[0107] -12 마우스는 미처리(대조군);

[0108] -12 마우스는 2 mg/kg 라파마이신을 복막내로 매일 연구 기간 동안 처리;

[0109] -12 마우스는 0.1 mg IMM-101/마우스를 연구 기간 동안 2 일의 휴식을 갖고 5 일 기간에 걸쳐 격일로 꼬리의 기부에서 1 회 목덜미에 피하로 교대 주사;

[0110] -12 마우스는 라파마이신과 IMM-101의 조합을 단일로 사용되는 두 화합물에 대하여 위에 기술된 투여량과 계획으로 처리.

[0111] 예상된 바와 같이, 미처리 마우스는 20 일 이내에 질환으로 쓰러졌다. mTor 저해제 처리는 생존에서 유의성 있는 효과를 보이는 데 실패하였고, 라파마이신 처리된 마우스는 대조군 동물만큼 길게 생존하였다. 그러나, 가장 놀랍게도, mTOR 저해제(라파마이신)와 마이코박테리아(IMM-101)의 조합은 대조군 마우스와 비교하여, 가장 중요하게는 단일 사용 화합물로 처리된 마우스와 비교하여, 이와 같이 처리된 마우스에서 *유의성 있게* 생존을 연장시켰다(도 1 참조). mTor 저해의 효과와 *마이코박테리움*에 의해 중재된 것의 조합은 예상치 못한 방식으로 상승적으로 작용하며, 이는 단일 사용시 이들의 효과에 의해 설명될 수 없는 것으로 보인다.

[0112] 참고문헌

[0113] Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Cancer is not just a disease of a tissue: it is a host disease. How to reactivate host defense against tumours using conventional therapies of cancer? Ann Endocrinol (Paris) 2008a;69:151-152.

[0114] Apetoh L, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Molecular interactions between dying tumour cells and the innate immune system determine the efficacy of conventional anticancer therapies. Cancer Res 2008b;68:4026-30.

[0115] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. Annu Rev Immunol 2004; 22:329-360.

[0116] Hingorani SR, Petricoin III EF, Maitra A, et al. Preinvasive and invasive ductal pancreatic cancer and its early detection in the mouse. Cancer Cell 2003; 4:437-450.

[0117] Hingorani SR, Wang L, Multani AS et al. *Trp53R172H* and *KrasG12D* cooperate to promote chromosomal instability and widely metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma in mice. Cell Cancer 2005; 469-483.

- [0118] Ladoire S, Arnould L, Apetoh L, et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumour-infiltrating foxp3+ regulatory T cells. Clin Cancer Res 2008;14:2413-2420.
- [0119] Locher C, Conforti R, Aymeric L, et al. Desirable cell death during anticancer chemotherapy. Ann N Y Acad Sci 2010; 1209:99-108.
- [0120] Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, et al. The anticancer immune response: indispensable for therapeutic success? J Clin Invest 2008; 118:1991-2001.

도면

도면1

