(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0111303
(43) 공개일자 2011년10월10일

(51) Int. Cl.
A61K 31/4184 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7018826
(22) 출원일자(국제출원일자) 2010년01월15일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2011년08월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/021123
(87) 국제공개번호 WO 2010/083365
국제공개일자 2010년07월22일
(30) 우선권주장
61/145,210 2009년01월16일 미국(US)

(71) 출원인
글락소스미스클라인 엘엘씨
미국 델라웨어 윌밍톤 스위트 400 센터빌 로드 2711 코포레이션 서비스 컴퍼니 (우: 19808)
(72) 발명자
토마스, 체리, 테레사
미국 19406 펜실베니아주 킹 오브 프러시아 스웨드랜드 로드 709
찬, 지오프리
미국 19406 펜실베니아주 킹 오브 프러시아 스웨드랜드 로드 709
(74) 대리인
심미성, 양영환, 장수길

전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 벤다무스틴 및 항-CD20 항체의 조합을 이용한 암의 치료

(57) 요 약

암을 치료하기 위한 항-CD20 항체와 조합된 벤다무스틴의 용도를 개시한다. 상기 조합은 개별적으로, 순차적으로 및/또는 동시에 투여될 수 있다. 또한, 제약 조성물 및 의약을 개시한다.

특허청구의 범위

청구항 1

벤다무스틴 및 항-CD20 항체를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 암을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 암이 림프종인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 암이 전구체 B 또는 T 세포 신생물, 성숙 B 세포 신생물, 호지킨 림프종, 또는 면역결핍 관련 림프구증식성 장애의 군으로부터 선택된 CD20을 발현하는 종양 유형인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 암이 리툭시맙-불응성 무통성 비호지킨 림프종인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 무통성 비호지킨 림프종이 여포성 림프종인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 암이 NHL (비호지킨 림프종), B 세포 림프모구성 백혈병/림프종, 성숙 B 세포 신생물, B 세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 소림프구성 림프종 (SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포성 림프종, 외투 세포 림프종 (MCL), 저등급, 중등급 및 고등급 여포성 림프종 (FL)을 비롯한 FL, 피부 여포 중심세포 림프종, 변연부 B 세포 림프종 (MALT 유형, 결절 및 비장 유형), 모발상 세포 백혈병, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종, 형질세포종, 형질 세포 골수종, 이식 후 림프구증식성 장애, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 역형성 대세포 림프종 (ALCL), T 세포 비호지킨 림프종; 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 7

제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 벤다무스틴 및 항-CD20의 투여를 동시에 하는 것인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 벤다무스틴 및 항-CD20 항체의 투여를 순차적으로 하고, 벤다무스틴을 먼저 투여하는 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 벤다무스틴 및 항-CD20 항체의 투여를 순차적으로 하고, 항체를 먼저 투여하는 것인 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 벤다무스틴 및 항-CD20 항체의 투여를 시차를 두고 하는 것인 방법.

청구항 11

제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD20 항체가 오파투무맙인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 오파투무맙을 i.v.로 사이클 1의 제1일: 300 mg, 제8일: 1000 mg을 투여한 후, 사이클 2 내지 6의 제1일에 1000 mg을 투여하고; 벤다무스틴은 매 28일 마다의 사이클 1 내지 6 (각 사이클은 매 28일 마다임)의 제1일 및 제2일에 90 mg/㎡을 제공하는 것인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 6 사이클이 완료된 후 2 년 동안 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 1000 mg 투여하는 것인

방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 6 사이클이 완료된 후 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 2000 mg 투여하는 것인 방법.

청구항 15

제12항에 있어서, 6 사이클이 완료된 후 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 500 mg 투여하는 것인 방법.

청구항 16

제12항에 있어서, 6 사이클이 완료된 후 매달 또는 매 3 개월 마다 오파투무맙을 추가로 500 mg, 1000 mg 또는 2000 mg 투여하는 것인 방법.

청구항 17

제12항에 있어서, 6 사이클이 완료된 후 2 년 동안 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 300-2000 mg 투여하는 것인 방법.

청구항 18

제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 오파투무맙 및 벤다무스틴을 i.v. 투여하는 것인 방법.

청구항 19

벤다무스틴 및 항-CD20 항체를 포함하고, 이러한 조합은 분리, 순차 및/또는 동시 투여에 적합한 것인 제약 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 항-CD20 항체가 오파투무맙인 제약 조성물.

청구항 21

벤다무스틴과의 조합 요법으로 투여하기 위한 암 치료용 의약을 제조하기 위한 항-CD20 항체의 용도.

청구항 22

제21항에 있어서, 제2항 내지 제18항 중 어느 한 항 이상의 특징을 포함하는 용도.

청구항 23

벤다무스틴과 조합된 암 치료에서의 용도를 위한 항-CD20 항체.

청구항 24

제23항에 있어서, 용도가 제2항 내지 제18항 중 어느 한 항 이상의 특징을 포함하는 것인 항-CD20 항체.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본원은 2009년 1월 16일자로 출원된 미국 특허 출원 일련번호 61/145210에 대해 우선권의 이익을 주장하며, 이는 그 전문이 참조로 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 암을 치료하기 위한 항-CD20 항체와 조합된 벤다무스틴의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 무통성 비호지킨 림프종 (IL)은 천천히 자라는 형태의 림프종이다. 이는 분류 체계상 저등급 및 몇몇 중등급 카테고리의 NHL로 명명되는 것들을 포함한다. 환자가 매우 초기 단계이며 저등급 질환에서 치유되지 않았다면, 치료의 목표는 경감시키는 것이다. FL은 모든 비호지킨 림프종 (NHL)의 11% 내지 35%를 차지하는 미국 및 유럽에서 두번째로 가장 흔한 림프종이다 (문헌 [WHO 2001]). 여포성 림프종 (FL)은 무통성 림프종 군에 속하고, 성숙 (말초) B 세포 신생물의 하위군이다 (문헌 [WHO 2001]). 이는 적어도 부분적으로 여포성 패턴을 갖는 배중심 B 세포 (중심세포 및 중심모세포)의 림프종으로 정의된다.

[0006] 무통성 림프종이 리툭시맙 기반 요법에 의해 잘 치료되지만, 리툭시맙에 대해 불응성인 자에 대해서는 선택이 제한된다. 벤다무스틴은 리툭시맙 불응성 무통성 림프종을 치료하는데 활성을 나타내는 합성 질소 머스타드 화합물로, 다른 알킬화기에 대해 불응성인 대상체에서 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 이러한 초기 요법에 불응성인 대상체에서는 대체 요법이 특히 요구된다.

[0007] 최근, 신규한 항-CD20 항체의 생성에 대한 많은 보고가 있었다. 한가지 신규한 항체는 오파투무맙이다. 오파투무맙은 B 세포의 표면 상의 CD20 분자의 독특한 막 근위의 작은 루프 에피토프 (특이적 결합 부위)를 표적으로 하는 신규 생성된 인간 모노클로날 항체이다. 이는 리툭시맙에 의해 관찰되는 종양 세포 용해 능력과 비교하여, 특히 CD20 밀도가 낮은 세포에서 CDC (보체 의존성 세포독성) 활성에 의해 우세한 종양 세포 용해를 유도한다 (이는 유사한 ADCC (항체 의존성 세포 매개 세포독성) 활성에 의하는 CLL의 경우에서와 같음). WO2004/035607에서 2F2 항체로 설명된 오파투무맙은 비호지킨 림프종 (NHL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 류마티스양 관절염 (RA)의 치료를 위해 임상 개발중에 있다. 또한, 문헌 [Teeling et al., Blood, 104, pp 1793 (2004)]; 및 [Teeling et al., J. Immunology, 177, pp 362-371 (2007)]을 참조한다.

발명의 내용

[0008] **발명의 개요**

[0009] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에게 벤다무스틴과 조합된 항-CD20 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 전구체 B 및 T 세포 신생물, 성숙 B 세포 신생물, 호지킨 림프종, 및 면역결핍 관련 림프구증식성 장애를 비롯한 CD20을 발현하는 임의의 암 (종양)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 투여는 동시에 한다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 순차적으로 하고, 벤다무스틴을 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서는 항-CD20 항체를 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CD20 항체 및 벤다무스틴의 투여는 시차를 두고 한다.

[0010] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에게 벤다무스틴과 조합된 항-CD20 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 FL (여포성 림프종)을 비롯한 리툭시맙 불응성 무통성 비호지킨 림프종을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 투여는 동시에 한다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 순차적으로 하고, 벤다무스틴을 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서는 항-CD20 항체를 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CD20 항체 및 벤다무스틴의 투여는 시차를 두고 한다.

[0011] 한 실시양태에서, 본 발명은 벤다무스틴 및 항-CD20 항체를 포함하는 제약 조성물에 관한 것으로, 이러한 조합은 분리, 순차 및/또는 동시 투여에 적합하다.

[0012] 한 실시양태에서 항-CD20 항체는 CD20 상의 에피토프에 결합하는 단리된 인간 항-CD20 항체로, 이는 위치 172에서 아미노산 잔기 프롤린을 포함하지 않거나 요구하지 않지만, 위치 163에서 아미노산 잔기 아스파라긴 및 위치 166에서 아스파라긴을 포함하거나 요구한다. 그러한 항체의 예는 WO2004/035607에서 확인된다.

[0013] 또 다른 실시양태에서 항-CD20 항체는 오파투무맙이다.

[0014] 한 실시양태에서 본 발명은 암 (특히 리툭시맙-불응성 무통성 비호지킨 림프종) 치료용 의약을 제조하는데 있어서 항-CD20 항체 (특히 오파투무맙)의 용도에 관한 것으로, 상기 의약은 벤다무스틴과의 조합 요법으로 투여하기 위한 것이다.

[0015] 한 실시양태에서, 본 발명은 벤다무스틴과 조합된 암 (특히 리툭시맙-불응성 무통성 비호지킨 림프종) 치료에서의 용도를 위한 항-CD20 항체 (특히 오파투무맙)에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 오파투무맙/벤다무스틴 투여의 비제한적인 예를 도시한다.

도 2는 JVM-3 세포에서의 중간 수준의 CD20 발현 프로파일을 도시한다. 첫번째 피크: Mab 대조군; 두번째 피크: BD 바이오사이언스 항-CD20 항체 클론 2H7; 세번째 피크: 리툭산; 네번째 피크: 오파투무맙.

도 3은 차선 용량 (오파투무맙: 2 mg/kg & 벤다무스틴 50 mg/kg; n=6/그룹)으로의 오파투무맙/벤다무스틴 조합의 이점을 도시한다.

도 4는 JVM3 (CLL) 모델에서의 오파투무맙 및 벤다무스틴 (TREANDA)의 조합을 도시한다 (s.c. 제24일; n= 6/그룹).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] **상세한 설명**

[0018] 여포성 림프종의 최신 치료 전략은 최대한의 질환 조절 및 연장된 수명을 확립하는 것에 초점이 맞춰진다. 초기 단계를 넘어서서 진행된 조직학적 저등급군 질환은 여전히 치유가 어렵다. 독성없이 효과적인 요법을 달성하는 것 사이에는 균형이 존재한다. 따라서, 대부분의 FL 대상체, 특히 알킬화기, 퓨린 유사체, 및 리툭시맙에 대해 불응성인 자를 치료하기 위해 부작용이 제한된 효과적인 요법에 대한 여전히 충족되지 않은 필요가 존재한다. 오파투무맙은 리툭시맙 내성 대상체에 활성을 보였고 (문헌 [Hagenbeek, et al., Blood 2008; 111:5486-5495]), 벤다무스틴은 알킬화기 및 퓨린 유사체 내성 대상체에서 활성을 보였다 (문헌 [Schoeffski et al., Ann Oncol. 2000; 11:729-734]; [Solal-Celigny et al., Blood. 2004; 104:1258-1265]; [Heider et al., Anticancer Drugs. 2001; 12:725-729]; [Bremer K., J Cancer Res Clin Oncol 2002; 128:603-609]; [Friedberg et al., J Clin Oncol. 2008;26:204-210]). 오파투무맙 및 벤다무스틴의 조합은 다른 치료 양식에 대해서는 불응성인 대상체에 대해 낮은 독성 프로파일로 그 효능이 조합된다.

[0019] 본 발명은 인간 환자에게 벤다무스틴과 조합된 항-CD20 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 FL (여포성 림프종)을 비롯한 리툭시맙 불응성 무통성 비호지킨 림프종을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 투여는 동시에 한다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 순차적으로 하고, 벤다무스틴을 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서는 항-CD20 항체를 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CD20 항체 및 벤다무스틴의 투여는 시차를 두고 한다.

[0020] 또한 본 발명은 인간 환자에게 벤다무스틴과 조합된 항-CD20 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 CD20을 발현하는 종양 유형을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 투여는 동시에 한다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 순차적으로 하고, 벤다무스틴을 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서는 항-CD20 항체를 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CD20 항체 및 벤다무스틴의 투여는 시차를 두고 한다. CD20을 발현하는 종양 유형을 예에는 전구체 B 또는 T 세포 신생물, 성숙 B 세포 신생물, 호지킨 림프종, 또는 면역결핍 관련 림프구증식성 장애로부터 선택된 군이 포함된다.

[0021] 벤다무스틴 및 오파투무맙의 투약을 위한 비제한적 방법을 실시예 1에서 예시한다.

[0022] 또한 본 발명은 인간 환자에게 오파투무맙 및 벤다무스틴을 투여하는 것을 포함하는, NHL (비호지킨 림프종), B 세포 림프모구성 백혈병/림프종, 성숙 B 세포 신생물, B 세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 소림프구성 림프종 (SLL), B 세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포성 림프종, 외투 세포 림프종 (MCL), 저등급, 중등급 및 고등급 여포성 림프종 (FL)을 비롯한 FL, 피부 여포 중심세포 림프종, 변연부 B 세포 림프종 (MALT 유형, 결절 및 비장 유형), 모발상 세포 백혈병, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종, 형질세포종, 형질 세포 골수종, 이식 후 림프구증식성 장애, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 역형성 대세포 림프종 (ALCL), T 세포 비호지킨 림프종; 및 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택된 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 투여는 동시에 한다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 순차적으로 하고, 벤다무스틴을 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서는 항-CD20 항체를 먼저 투여한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CD20 항체 및 벤다무스틴의 투여는 시차를 두고 한다.

[0023] 리툭시맙 (R) 불응성 무통성 림프종을 다음과 같이 정의한다. 림프종은 단독 요법으로서 또는 임의의 화학요법과 함께 제공된 리툭시맙에 대해 불응성이거나, 또는 리툭시맙 + 화학요법 이후 유지 치료로서 제공된 리툭시맙에 대해 불응성이다. 림프종은:

[0024] 1. 단독요법으로서 또는 임의의 화학요법과 함께 제공된 리툭시맙에 대해 적어도 부분 반응 (PR)을 달성하는 것에 실패한 경우; 또는,

[0025] 2. 리툭시맙이 제공된 동안 (단독요법으로서 또는 임의의 화학요법과 함께 제공되거나 또는 R-화학요법 이후 리툭시맙 유지 치료 동안) 질환이 진행된 경우; 또는,

[0026] 3. 리툭시맙을 마지막으로 투약하고 (단독요법으로서 또는 임의의 화학요법과 함께 제공되거나 또는 R-화학요법 이후 리툭시맙 유지 치료 계획 이후) 6 개월 이내에 응답자에서 질환이 진행된 경우

[0027] 에 불응성이다.

[0028] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 모노클로날이다.

[0029] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 Fc 매개 이펙터 기능을 갖는다.

[0030] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 항체 의존성 세포 매개 세포독성 (ADCC) 이펙터 기능을 갖는다.

[0031] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 보체 의존성 세포독성 (CDC) 이펙터 기능을 갖는다.

[0032] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체이다.

[0033] 한 실시양태에서, CD20에 대한 모노클로날 항체 (항-CD20 항체)는 전장 IgG1 항체, 전장 IgG2 항체, 전장 IgG3 항체, 전장 IgG4 항체, 전장 IgM 항체, 전장 IgA1 항체, 전장 IgA2 항체, 전장 분비성 IgA 항체, 전장 IgD 항체, 및 전장 IgE 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 전장 항체이며, 상기 항체는 진핵 세포에서 글리코실화된다.

[0034] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 전장 항체, 예컨대 전장 IgG1 항체이다.

[0035] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 항체 단편, 예컨대 scFv 또는 유니바디(UniBody)™ (WO 2007/059782에 개시된 바와 같은 1가 항체)이다. 본 발명의 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체 (항-CD20 항체)는 (i) 이뮤노글로불린 힌지 영역 폴리펩티드에 융합된, 서열 1의 중쇄 가변 영역 또는 서열 2의 경쇄 가변 영역의 형태인 결합 도메인 폴리펩티드, (ii) 힌지 영역에 융합된 이뮤노글로불린 중쇄 CH2 불변 영역, 및 (iii) CH2 불변 영역에 융합된 이뮤노글로불린 중쇄 CH3 불변 영역을 포함하는 결합-도메인 이뮤노글로불린 융합 단백질이다.

[0036] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 인간 CD20에 대해서와 적어도 동일한 친화성으로 돌연변이체 P172S CD20 (위치 172의 프롤린이 세린으로 돌연변이된 것)에 결합한다.

[0037] 본 발명의 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 CD20 상의 에피토프에 결합하며,

[0038] (i) 이는 위치 172에서 아미노산 잔기 프롤린을 포함하지 않거나 요구하지 않거나;

[0039] (ii) 이는 위치 170에서 아미노산 잔기 알라닌 또는 위치 172에서 프롤린을 포함하지 않거나 요구하지 않거나;

[0040] (iii) 이는 위치 163에서 아미노산 잔기 아스파라긴 및 위치 166에서 아스파라긴을 포함하거나 요구하거나;

[0041] (iv) 이는 위치 172에서 아미노산 잔기 프롤린을 포함하지 않거나 요구하지 않지만, 위치 163에서 아미노산 잔기 아스파라긴 및 위치 166에서 아스파라긴을 포함하거나 요구하거나; 또는

[0042] (v) 이는 위치 170에서 아미노산 잔기 알라닌 또는 위치 172에서 프롤린을 포함하지 않거나 요구하지 않지만, 위치 163에서 아미노산 잔기 아스파라긴 및 위치 166에서 아스파라긴은 포함하거나 요구한다.

[0043] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 인간 CD20의 작은 제1 세포외 루프 내의 에피토프에 결합한다.

[0044] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 CD20 상의 불연속 에피토프에 결합한다.

[0045] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 CD20 상의 불연속 에피토프에 결합하며, 상기 에피토프는 제1 작은 세포외 루프의 일부 및 제2 세포외 루프의 일부를 포함한다.

[0046] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 CD20 상의 불연속 에피토프에 결합하며, 상기 에피토프는 작은 제1 세포외 루프의 잔기 AGIYAP 및 제2 세포외 루프의 잔기 MESLNFIRAHTPYI를 갖는다.

[0047] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는

[0048] (i) 보체의 존재하에서 CD20을 발현하는 세포의 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 유도할 수 있음;

[0049] (ii) 보체의 존재하에서 CD20 및 높은 수준의 CD55 및/또는 CD59를 발현하는 세포의 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 유도할 수 있음;

[0050] (iii) CD20을 발현하는 세포의 아폽토시스를 유도할 수 있음;

[0051] (iv) 이펙터 세포의 존재하에서 CD20을 발현하는 세포의 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 유도할 수 있음;

[0052] (v) CD20을 발현하는 세포의 동형 부착을 유도할 수 있음;

[0053] (vi) CD20에 결합시 지질 뗏목(raft)으로 전위시킬 수 있음;

[0054] (vii) CD20을 발현하는 세포를 고갈시킬 수 있음;

[0055] (viii) 낮은 수준의 CD20을 발현하는 세포 (CD20 저 세포)를 고갈시킬 수 있음; 및

[0056] (ix) 인간 조직 내에서 계내 B 세포를 효과적으로 고갈시킬 수 있음

[0057] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징을 갖는다.

[0058] 본 발명의 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 서열 5, 9, 또는 11로부터 선택된 VH CDR3 서열을 포함한다.

[0059] 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 서열 3의 VH CDR1, 서열 4의 VH CDR2, 서열 5의 VH CDR3, 서열 6의 VL CDR1, 서열 7의 VL CDR2 및 서열 8의 VL CDR3 서열을 포함한다.

[0060] 본 발명의 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 서열 10의 VH CDR1-CDR3 스패닝 서열을 포함한다.

[0061] 본 발명의 한 실시양태에서, CD20에 대한 항체는 서열 1 및 서열 2에 각각 나타낸 아미노산 서열; 또는 서열 1 및 서열 2에 각각 나타낸 아미노산 서열과 적어도 95% 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 인간 중쇄 및 인간 경쇄 가변 영역을 갖는다.

[0062] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 WO 2004/035607에 개시된 항-CD20 항체 중 하나, 예컨대 오파투무맙 (2F2), 11B8, 또는 7D8, WO 2005/103081에 개시된 항체 중 하나, 예컨대 2C6, WO 2004/103404에 개시된 항체 중 하나, AME-133 (어플라이드 몰레큘라 에볼루션(Applied Molecular Evolution)에 의해 개발된 인간화 및 최적화 항-CD20 모노클로날 항체), US 2003/0118592에 개시된 항체 중 하나, TRU-015 (CytoxB20G, 트루비온 파마슈티컬스 인크(Trubion Pharmaceuticals Inc)에 의해 개발된, 항-CD20 항체 상의 주요 도메인으로부터 유래된 소형 모듈식 면역제약학적 융합 단백질), WO 2003/68821에 개시된 항체 중 하나, IMMU-106 (인간화 항-CD20 모노클로날 항체), WO 2004/56312에 개시된 항체 중 하나, 오크렐리주맙 (2H7.v16, PRO-70769, R-1594), 벡사르(Bexxar)® (토시투모맙), 및 리툭산®/맙테라(MabThera)® (리툭시맙)로부터 선택된다. 용어 "CD20" 및 "CD20 항원"은 본원에서 구분없이 사용되며, 세포에서 천연적으로 발현되거나 CD20 유전자로 형질감염된 세포에서 발현되는 인간 CD20의 임의의 변이체, 이소형 및 종 상동체를 포함한다. 당업계에서 인식되는 바와 같이 CD20의 동의어로는 B 림프구 표면 항원 B1, Leu-16 및 Bp35가 있다. 인간 CD20은 유니프롯KB(UniProtKB)/스위스-프롯(Swiss-Prot) 엔트리 P11836을 갖는다.

[0063] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "이뮤노글로불린"은 한 쌍은 저분자량 경쇄 (L)이고 한 쌍은 중쇄 (H)인 2쌍의 폴리펩티드 쇄로 이루어지며, 4개 모두 디술피드 결합에 의해 서로 연결된 것인, 구조적으로 관련된 당단백질의 클래스를 지칭한다. 이뮤노글로불린의 구조는 널리 특성화되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))]을 참고한다. 간략하게, 각 중쇄는 전형적으로 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭함) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역, CH는 전형적으로 3개의 도메인, CH1, CH2, 및 CH3으로 구성된다. 각 경쇄는 전형적으로 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭함) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 전형적으로 1개의 도메인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 불리는 초가변 영역 (또는 서열이 초가변성이고/이거나 구조적으로 규정된 루프를 형성할 수 있는 초가변 영역)으로 추가로 세분될 수 있고, 이들 영역에는 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있다.

[0064] 각각의 VH 및 VL은 전형적으로 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되고, 이들은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 다음과 같은 순서로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (또한, 문헌 [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987)] 참조). 전형적으로, 이 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]에 기재된 방법에 따라 이루어진다 (본원에서 카바트에서와 같은 또는 카바트에 따른 어구, 예컨대 가변 도메인 잔기 넘버링은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대한 상기 넘버링 시

스템을 지칭함). 상기 넘버링 시스템을 사용하여, 펩티드의 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축, 또는 그 내부로의 삽입에 상응하는 보다 적은 아미노산 또는 추가의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 VH CDR2의 잔기 52 이후에 단일 아미노산 삽입물 (예를 들어, 카바트에 따른 잔기 52a), 및 중쇄 FR 잔기 82 이후에 삽입된 잔기 (예를 들어, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b, 및 82c 등)을 포함할 수 있다. 잔기의 카바트 넘버링은 주어진 항체에 대해, 항체 서열을 "표준" 카바트 넘버링된 서열과 상동성 영역에서 정렬하여 결정할 수 있다.

[0065] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"는 전형적인 생리적 조건하에서 유의한 기간 동안, 예컨대 적어도 약 30분, 적어도 약 45분, 적어도 약 1시간, 적어도 약 2시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 8시간, 적어도 약 12시간, 약 24시간 이상, 약 48시간 이상, 약 3, 4, 5, 6, 7일 이상 동안 등, 또는 기능적으로 정의된 임의의 다른 관련 기간 (예컨대, 항원에 결합하는 항체와 관련된 생리학적 반응을 유도, 촉진, 향상 및/또는 조정하는데 충분한 시간 및/또는 항체가 Fc-매개 이펙터 활성을 동원하는데 충분한 시간) 동안 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 갖는 이뮤노글로불린 분자, 이뮤노글로불린 분자의 단편, 또는 그 중 어느 하나의 유도체를 지칭한다.

[0066] 이뮤노글로불린 분자의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 이뮤노글로불린과 숙주 조직 또는 인자, 예컨대 면역계의 다양한 세포 (예컨대, 이펙터 세포) 및 보체 시스템의 성분, 예컨대 C1q (보체 활성화의 통상적 경로에서의 첫번째 성분)의 결합을 매개할 수 있다.

[0067] 항-CD20 항체는 단일-, 이중- 또는 다중-특이적일 수 있다. 실제로, 본 발명에 의해 제공되는 이중특이적 항체, 디아바디 등은 CD20의 일부분 이외에도 임의의 적합한 표적에 결합할 수 있다.

[0068] 상기 나타낸 바와 같이, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"는, 달리 명시하지 않거나 문맥상 명백히 모순되지 않는 한, 임의의 공지된 기술, 예컨대 효소적 절단, 펩티드 합성 및 재조합 기술에 의해 제공된, 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 단편을 포함한다. 항체의 항원 결합 기능은 전장 (무손상) 항체의 단편에 의해 수행될 수 있음이 밝혀져 있다. 용어 "항체"에 포함되는 항원 결합 단편의 예로는 (i) Fab 단편, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편; (ii) F(ab)2 및 F(ab')2 단편, 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편; (iii) 본질적으로 VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 본질적으로 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편, (v) 본질적으로 VH 도메인으로 이루어지며, 도메인 항체로도 지칭되는 (문헌 [Holt et al., (November 2003) Trends Biotechnol. 21(11):484-90]) dAb 단편 (문헌 [Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)]); (vi) 카멜리드 항체 또는 나노바디 (문헌 [Revets et al., (January 2005) Expert Opin Biol Ther. 5(1):111-24]), (vii) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR), 예컨대 VH CDR3, (viii) 유니바디™, WO 2007/059782에 개시된 1가 항체, (ix) 단일 쇄 항체 또는 단일 쇄 Fv (scFv) (예를 들어, 문헌 [Bird et al., Science 242, 423-426 (1988)] 및 [Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)] 참조), (x) 단일특이적 또는 이중특이적일 수 있는 디아바디 (scFv 이량체) (예를 들어, 디아바디의 설명에 대해서는 문헌 [PNAS USA 90(14), 6444-6448 (1993)], EP 404097 또는 WO 93/11161 참조), 트리아바디 또는 테트라바디가 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 이러한 단편들이 일반적으로 항체의 정의에 포함되지만, 이들은 집합적으로 및 각각 독립적으로 여러 생물학적 특성 및 유용성을 나타내는 본 발명의 독특한 특징이다. 본 발명의 문맥 내 상기 및 기타 유용한 항체 단편들이 본원에서 추가로 논의된다.

[0069] 일반적으로 용어 항체는 모노클로날 항체 뿐만 아니라 폴리클로날 항체를 포함한다는 것을 이해해야 한다. 항체는 인간, 인간화, 키메라, 뮤린 항체 등일 수 있다. 생성된 항체는 임의의 이소형을 지닐 수 있다.

[0070] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인간 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관 내에서 무작위 또는 부위 특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체 내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인간 항체"는 마우스와 같은 또 다른 포유동물 종의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열에 이식된 항체를 포함하는 것으로 의도되지는 않는다.

[0071] 본원에 사용된 인간 항체는, 상기 항체가 인간 이뮤노글로불린 서열을 이용하는 시스템으로부터 수득되는 경우, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 유전자를 보유하는 트랜스제닉 마우스를 면역화시키는 것에 의해 또는 인간 이뮤노글로불린 유전자 라이브러리를 스크리닝하는 것에 의해 특정 배선 서열로부터 "유래"되며, 선택된 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 예컨대 적어도 95%, 예를 들어 적어도 96%, 예컨대 적어도 97%, 예를 들어 적어도 98%, 또는 예컨대 적어도 99%의 아미노산 서열 동

일성을 갖는다. 전형적으로, 특정 인간 배선 서열로부터 유래된 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩된 아미노산 서열과 10개 이하의 아미노산 차이, 예컨대 5개 이하, 예를 들어 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 것이다. VH 항체 서열의 경우, VH CDR3 도메인은 이러한 비교에 포함되지 않는다.

[0072] 용어 "키메라 항체"는 한 항체로부터의 하나 이상의 영역, 및 하나 이상의 다른 항체로부터의 하나 이상의 영역을 함유하는 항체를 지칭한다. 용어 "키메라 항체"는 1가, 2가, 또는 다가 항체를 포함한다. 1가 키메라 항체는 키메라 L 쇄와 디술피드 가교를 통해 회합된 키메라 H 쇄에 의해 형성된 이량체 (HL)이다. 2가 키메라 항체는 적어도 하나의 디술피드 가교를 통해 회합된 2개의 HL 이량체에 의해 형성된 사량체 (H2L2)이다. 다가 키메라 항체는 또한 예를 들어 2+ 결합 부위를 갖는 분자로 조립하는 CH 영역을 이용하여 생산될 수 있다 (예를 들어, IgM H 쇄, 또는 μ 쇄로부터). 전형적으로, 키메라 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정한 종으로부터 유래되거나 또는 특정한 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일성 또는 상동성을 갖지만, 쇄(들)의 나머지는 또 다른 종으로부터 유래되거나 또는 또 다른 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일성 또는 상동성을 갖는 항체, 뿐만 아니라 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 이같은 항체의 단편을 지칭한다 (예를 들어, US 4,816,567 및 문헌 [Morrison et al., PNAS USA 81, 6851-6855 (1984)] 참고). 키메라 항체는 당업계에 널리 공지된 재조합 공정에 의해 생산된다 (예를 들어, 문헌 [Cabilly et al., PNAS USA 81, 3273-3277 (1984)], [Morrison et al., PNAS USA 81, 6851-6855 (1984)], [Boulianne et al., Nature 312, 643-646 (1984)], EP125023, [Neuberger et al., Nature 314, 268-270 (1985)], EP171496, EP173494, WO 86/01533, EP184187, [Sahagan et al., J. Immunol. 137, 1066-1074 (1986)], WO 87/02671, [Liu et al., PNAS USA 84, 3439-3443 (1987)], [Sun et al., PNAS USA 84, 214-218 (1987)], [Better et al., Science 240, 1041-1043 (1988)] 및 [Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1988)] 참고).

[0073] 용어 "인간화 항체"는 비인간 항체로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 인간 항체를 지칭한다. 전형적으로, 인간화 항체는 수용자의 초가변 영역으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 비인간 종 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 초가변 영역으로부터의 잔기로 교체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다.

[0074] 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서는 발견되지 않는 잔기를 포함할 수도 있다. 이러한 변형은 항체 성능이 추가로 개선되게 한다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 전형적으로 두 개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비인간 이뮤노글로불린의 그것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 그것에 상응한다. 또한 인간화 항체는 인간 이뮤노글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 임의로 포함할 것이다. 보다 상세한 내용에 대해서는 문헌 [Jones et al., Nature 321, 522-525 (1986)], [Riechmann et al., Nature 332, 323-329 (1988)] 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2, 593-596 (1992)]을 참조한다.

[0075] 용어 "환자"는 인간 환자를 지칭한다.

[0076] 본원에서 사용된 용어 "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"은 단일 분자 조성물인 항체 분자의 제제를 지칭한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타낸다. 따라서, 용어 "인간 모노클로날 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는, 단일 결합 특이성을 나타내는 항체를 지칭한다. 인간 모노클로날 항체는 불멸화 세포에 융합된, 인간 중쇄 트랜스진 및 경쇄 트랜스진를 포함하는 게놈을 갖는 트랜스제닉 또는 트랜스염색체 비인간 동물, 예컨대 트랜스제닉 마우스로부터 수득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생성될 수 있다.

[0077] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 제작 또는 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 (a) 인간 이뮤노글로불린 유전자 또는 그로부터 제조된 하이브리도마에 대한 트랜스제닉 또는 트랜스염색체인 동물 (예컨대 마우스)로부터 단리된 항체 (본원에서 추가로 기재함), (b) 항체를 발현하도록 형질전환시킨 숙주 세포, 예컨대 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, (c) 재조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 (d) 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 제작 또는 단리된 항체를 포함한다. 이같은 재조합 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역 및 불변 영역을 갖는다. 그러나, 특정 실시양태에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관 내에서 돌연변이유발될 수 있으며 (또는 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물을 사용하는 경우, 생체 내에서 체세포 돌연변이유발될 수 있음), 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 배선 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 그와 관련이 있지만, 생체 내에서 인간 항체 배선 레퍼토리

내에 천연적으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0078] 용어 "트랜스제닉, 비인간 동물"은 하나 이상의 인간 중쇄 및/또는 경쇄 트랜스진 또는 트랜스염색체 (동물의 천연 게놈 DNA에 통합되거나 통합되지 않은 것)를 포함하는 게놈을 가지며, 전체 인간 항체를 발현할 수 있는 비인간 동물을 지칭한다. 예를 들어, 트랜스제닉 마우스는 인간 경쇄 트랜스진, 및 인간 중쇄 트랜스진 또는 인간 중쇄 트랜스염색체를 가질 수 있으며, 따라서 상기 마우스는 CD20 항원 및/또는 CD20 발현 세포로 면역화되었을 때 인간 항-CD20 항체를 생산한다. 인간 중쇄 트랜스진은 트랜스제닉 마우스, 예를 들어 HuMAb-마우스®, 예컨대 HCo7 또는 HCo12 마우스의 경우에서와 같이 마우스의 염색체 DNA에 통합될 수 있거나, 또는 인간 중쇄 트랜스진은 WO 02/43478에 기재된 트랜스염색체 KM-마우스®의 경우에서와 같이 염색체외에서 유지될 수 있다. 이같은 트랜스제닉 및 트랜스염색체 마우스 (본원에서 "트랜스제닉 마우스"로 총칭함)는 V-D-J 재조합 및 이소형 스위칭을 거침으로써 소정의 항원에 대해 다수의 이소형의 인간 모노클로날 항체 (예컨대 IgG, IgA, IgM, IgD 및/또는 IgE)를 생산할 수 있다. 트랜스제닉, 비인간 동물은 또한 이러한 특이적 항체를 코딩하는 유전자를 도입함으로써, 예를 들어 동물의 젖에서 발현되는 유전자에 상기 유전자를 작동가능하게 연결시킴으로써, 특이적 항원에 대한 항체를 생산하는데 이용될 수 있다.

[0079] 아미노산 (폴리펩티드) 서열의 경우, 용어 "동일성" 또는 "상동성"은 2 개의 아미노산 서열을 최적으로 정렬하여 적절한 삽입 또는 결실에 의해 비교하였을 때 이들 사이의 동일성 정도를 나타낸다. 두 서열 사이의 동일성 퍼센트는, 두 서열의 최적의 정렬을 위해 도입할 필요가 있는 갭의 개수 및 각 갭의 길이를 고려한, 이들 서열이 공유하는 동일한 위치의 개수의 함수이다 (즉, 동일성% = 동일한 위치의 개수/전체 위치의 개수 x 100). 두 서열 사이의 서열 비교 및 동일성 퍼센트의 결정은 하기하는 바와 같은 수학적 알고리즘을 이용하여 달성할 수 있다.

[0080] 2개의 폴리펩티드 서열 사이의 동일성 퍼센트는 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 갭 가중치 40, 50, 60, 70, 또는 80 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6을 이용하는 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램을 이용하여 결정할 수 있다. 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트는 또한 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 패널티 12 및 갭 패널티 4를 이용하는 ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 포함된 문헌 [E. Meyers and W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:11-17 (1988))]의 알고리즘을 이용하여 결정할 수도 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트는 블로섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4, 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 이용하는 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램에 포함된 니들만(Needleman) 및 분쉬(Wunsch) (문헌 [J. Mol. Biol. 48:444-453 (1970)]) 알고리즘을 이용하여 결정할 수 있다.

[0081] 예를 들어, 폴리펩티드 서열은 본원에서 기재하는 폴리펩티드 참조 서열 (예를 들어 서열 1)과 100% 동일할 수 있거나, 또는 참조 서열과 비교하여 아미노산 변경을 특정 정수 이하로 포함하여 % 동일성이 100% 미만, 예컨대 적어도 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 또는 99% 동일할 수 있다. 이같은 변경은 적어도 하나의 아미노산 결실, 보존적 및 비보존적 치환을 비롯한 치환, 또는 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 상기 변경은 참조 폴리펩티드 서열의 아미노- 또는 카르복시 말단 위치, 또는 이들 말단 위치 사이의 참조 서열의 아미노산 사이에 개별적으로 산재되거나 또는 참조 서열 내의 하나 이상의 인접 그룹 내에 산재되어 있는 임의의 위치에서 일어날 수 있다. 소정의 % 동일성을 위한 아미노산 변경의 수는 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드 참조 서열 (예를 들어 서열 1)에 의해 코딩된 폴리펩티드 서열 내 아미노산의 총 수를 각각의 퍼센트 동일성의 수치 퍼센트 (100으로 나눈 것)와 곱한 다음, 그 값을 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드 참조 서열 (예를 들어 서열 1) 내의 아미노산의 총 수에서 빼서 결정하거나, 또는:

[0082] $$n_a \leq x_a - (x_a \bullet y)$$

[0083] (상기 식에서, n_a는 아미노산 변경의 수이고, x_a는 서열 1로 코딩된 폴리펩티드 서열 내의 아미노산의 총 수이고, y는 50%의 경우 0.50, 60%의 경우 0.60, 70%의 경우 0.70, 75%의 경우 0.75, 80%의 경우 0.80, 85%의 경우 0.85, 90%의 경우 0.90, 95%의 경우 0.95, 98%의 경우 0.98, 99%의 경우 0.99, 또는 100%의 경우 1.00이며, • 은 곱셈 연산자 표시이고, 임의의 비정수 x_a 및 y 값은 그것을 x_a에서 빼기 전에 가까운 정수로 내림함)에 의해 결정한다.

[0084] 또한, 본 발명은 벤다무스틴을 포함하는 제약 조성물 (제제)을 제공한다. 이같은 조성물은 치료 유효량의 벤다무스틴을 포함하고, 추가로 제약상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함할 수 있다. 이러한 제약 담체는

멸균 액체, 예컨대 물 및 오일, 예를 들어 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것, 예컨대 땅콩 오일, 대두 오일, 광유, 참깨 오일 등일 수 있다. 물은 제약 조성물이 정맥내로 투여되는 경우에 담체로서 사용될 수 있다. 염수 용액 및 수성 덱스트로스 및 글리세롤 용액을, 예를 들어 주사 용제용 액체 담체로서 이용할 수 있다. 적합한 제약 부형제에는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 탈지 분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다. 원하는 경우, 조성물은 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다. 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 환제, 캡슐, 분말, 서방성 제제 등의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 전통적인 결합제 및 담체, 예를 들어 트리글리세리드를 이용하여 좌제로서 제제화할 수 있다. 경구 제제는 표준 담체, 예컨대 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 나트륨 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등을 포함할 수 있다. 적합한 제약 담체의 예가 문헌 [REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES by E. W. Martin]에 기재되어 있다. 이러한 조성물은 종종 정제된 형태의 치료 유효량의 화합물을, 환자에게 적당히 투여하기 위한 형태를 제공하는 데에 적합한 양의 담체와 함께 함유할 것이다. 제제는 투여 방식에 적합해야 한다.

[0085] 본 발명의 한 실시양태에서, 조성물은 인간에게 정맥내 투여하는데 적합화된 제약 조성물로서 상용 절차에 따라 제제화된다. 전형적으로, 정맥내 투여용 조성물은 멸균 등장성의 수성 완충제 중의 용액이다. 적합한 경우, 조성물은 주사 부위에서의 통증을 완화시키기 위한 국소 마취제, 예컨대 리그노카인 및 가용화제를 포함할 수도 있다. 일반적으로, 성분들은 기밀 용기, 예컨대 활성제의 양을 표시한 앰플 또는 사쉐 내에, 예를 들어 무수 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서 개별적으로 또는 함께 혼합되어 단위 투여 형태로 제공된다. 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 이는 멸균 제약 등급의 물 또는 염수를 함유하는 주입 병으로 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 멸균 주사용수 또는 염수의 앰플이 투여 전에 성분들이 혼합될 수 있도록 제공된다.

[0086] 따라서, 벤다무스틴을 의약 제조에 사용할 수 있다. 본 발명의 제약 조성물은 비경구 투여용 용액제 또는 동결건조된 분말로서 제제화될 수 있다. 분말은 사용에 앞서 적합한 희석제 또는 기타 제약상 허용되는 담체를 첨가하여 재구성할 수 있다. 액체 제제는 완충된 등장성 수용액제일 수 있다. 적합한 희석제의 예는 정상 등장성 염수 용액, 수중 표준 5% 덱스트로스, 또는 완충 나트륨 또는 아세트산암모늄 용액이다. 이러한 제제는 비경구 투여용으로 특히 적합하지만, 경구 투여용으로 사용할 수 있거나 또는 취입을 위해 계량 흡입기 또는 네뷸라이저에 함유될 수도 있다. 이러한 제약 조성물에 부형제, 예컨대 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, 히드록시 셀룰로스, 아카시아, 폴리에틸렌 글리콜, 만니톨, 염화나트륨 또는 시트르산나트륨을 첨가하는 것이 바람직할 수 있다.

[0087] 별법적으로, 경구 투여를 위해 벤다무스틴을 캡슐화하거나, 정제화하거나, 에멀젼 또는 시럽으로 제조할 수 있다. 제약상 허용되는 고체 또는 액체 담체를 첨가하여 조성물을 향상시키거나 안정화시키거나, 조성물의 제조를 용이하게 할 수 있다. 고체 담체에는 전분, 락토스, 황산칼슘 2수화물, 백토 (terra alba), 스테아르산마그네슘 또는 스테아르산, 활석, 펙틴, 아카시아, 한천 또는 젤라틴이 포함된다. 액체 담체에는 시럽, 땅콩 오일, 올리브 오일, 염수 및 물이 포함된다. 담체에는 또한, 지속 방출 물질, 예컨대 단독으로 사용되거나 왁스와 함께 사용되는 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트가 포함될 수 있다. 고체 담체의 양은 다양하지만, 투여량 단위당 약 20 mg 내지 약 1 g일 것이다. 제약 제제는 약학 분야의 통상의 기술, 예를 들어 정제 형태의 경우에는 분쇄, 혼합, 과립화 및 적합한 경우 압착시키는 기술; 또는 경질 젤라틴 캡슐제 형태의 경우에는 분쇄, 혼합 및 충전 기술에 따라서 만든다. 액체 담체를 사용하는 경우에는, 제제가 시럽, 엘릭시르, 에멀젼, 또는 수성 또는 비수성 현탁액의 형태일 것이다. 이러한 액체 제제는 구강 내로 직접 투여하거나 (p.o.) 또는 연질 젤라틴 캡슐 내로 충전시킬 수 있다.

[0088] 벤다무스틴은 제약상 허용되는 담체 내에 활성 성분으로서 유효량의 화합물을 함유하는 제약 조성물로서 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물에서는, 생리적 pH로 완충된, 즉시 주사 가능한 형태의 벤다무스틴을 함유하는 수성 현탁액 또는 용액을 이용할 수 있다. 비경구 투여용 조성물은 제약상 허용되는 담체, 예컨대 수성 담체에 용해된 벤다무스틴 또는 그의 칵테일 용액을 통상 포함할 것이다. 각종 수성 담체, 예를 들어 0.4% 염수, 0.3% 글리신 등을 이용할 수 있다. 이들 용액은 멸균상태이고, 일반적으로 미립자 물질이 없다. 이들 용액은 통상적으로 잘 공지된 멸균 기술 (예를 들어, 여과)에 의해 멸균될 수 있다. 조성물은 생리적 조건에 근사하도록 요구되는 바와 같은 제약상 허용되는 보조 물질, 예컨대 pH 조정제 및 완충제 등을 함유할 수 있다. 이러한 제약 제제 중의 본 발명의 벤다무스틴의 농도는 광범위할 수 있는데, 즉 약 0.5% 미만, 통상적으로 약 1% 또는 적어도 약 1% 내지 15 또는 20 중량% 정도일 수 있고, 선택된 특정한 투여 방식에 따라서 주로 유체 용적, 점

도 등을 기초로 하여 선택될 것이다.

[0089] 따라서, 근육내 주사용 벤다무스틴 제약 조성물은 1 ㎖의 멸균 완충수와, 약 1 ng 내지 약 100 mg, 예를 들어 약 50 ng 내지 약 30 mg, 또는 약 5 mg 내지 약 25 mg의 벤다무스틴을 함유하도록 제조할 수 있다. 유사하게, 정맥내 주입용 벤다무스틴 제약 조성물은 약 250 ㎖의 멸균 링거액과, 약 1 mg 내지 약 30 mg, 또는 약 5 mg 내지 약 25 mg의 벤다무스틴을 함유하도록 제조할 수 있다. 비경구적으로 투여 가능한 조성물을 제조하기 위한 실제적 방법은 널리 공지되어 있거나 또는 당업자에게 명백하고, 예를 들어 문헌 [REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCE, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania]에 보다 상세히 기재되어 있다.

[0090] 벤다무스틴이 제약 제제로 제조되는 경우, 이는 단일 투여 형태로 존재할 수 있다. 적절한 치료 유효 용량은 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 이러한 용량은 적합한 경우, 반응 기간 동안 의사에 의해 적절한 수준으로 선택된 적절한 시간 간격으로 반복 투여될 수 있다. 또한, 최적의 투여량 범위를 확인하는데 도움이 되도록 시험관내 검정을 임의로 이용할 수 있다. 제제 내에 이용될 정확한 용량은 또한, 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 중증도에 좌우될 것이며, 진료의의 판단과 각 환자의 상황에 따라서 결정해야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유래된 용량-반응 곡선으로부터 추정할 수 있다.

[0091] 벤다무스틴의 경우, 환자에게 투여되는 투여량은 전형적으로, 환자의 체중 1 kg당 0.1 mg 내지 100 mg이다. 환자에게 투여되는 투여량은 환자의 체중 1 kg당 0.1 mg 내지 20 mg, 또는 별법적으로, 환자의 체중 1 kg당 1 mg 내지 10 mg일 수 있다.

[0092] 본 발명은 또한, 벤다무스틴 제약 조성물의 한 가지 이상 성분들로 충전된 1개 이상의 용기를 포함하는 제약 팩 또는 키트를 제공한다. 임의로, 상기 용기(들)에는 제약 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 지정된 형태의 통지서가 부착될 수 있는데, 이러한 통지서는 인간 투여용으로 제조, 사용 또는 판매되었다는 정부 기관의 승인을 반영하고 있다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 키트에는 특정한 적응증을 치료하기 위해 요구되는 투여량을 충족시키기 위해 요구되는 적절한 수의 용기가 제공될 수 있다.

[0093] 또 다른 실시양태에서, 벤다무스틴은 소포, 특히 리포좀으로 전달될 수 있다 (문헌 [Langer, Science 249:1527-1533 (1990)]; [Treat, et al., in LIPOSOMES IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASE AND CANCER, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989)]; [Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327] 참고; 일반적으로 상기한 문헌 참고).

[0094] 또 다른 실시양태에서, 벤다무스틴은 제어 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 한 실시양태에서, 펌프를 사용할 수 있다 (문헌 [Langer, 상기 문헌]; [Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987)]; [Buchwald, et al., Surgery 88:507 (1980)]; [Saudek, et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)] 참고). 또 다른 실시양태에서, 중합체 물질을 사용할 수 있다 (문헌 [MEDICAL APPLICATIONS OF CONTROLLED RELEASE, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974)]; [CONTROLLED DRUG BIOAVAILABILITY, DRUG PRODUCT DESIGN AND PERFORMANCE, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984)]; [Ranger, et al., J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983)] 참고; 또한 문헌 [Levy, et al., Science 228:190 (1985)]; [During, et al., Ann. Neurol. 25:351 (1989)]; [Howard, et al., J. Neurosurg. 71:105 (1989)] 참고). 또 다른 실시양태에서, 제어 방출 시스템을 치료 표적, 즉 뇌에 근접하여 위치시킴으로써, 단지 아주 소량의 전신 용량만이 요구될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Goodson, in MEDICAL APPLICATIONS OF CONTROLLED RELEASE, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)] 참고). 기타 제어 방출 시스템에 대해서는 랑거(Langer)에 의한 고찰 (문헌 [Science 249:1527-1533 (1990)])에 논의되어 있다.

[0095] 벤다무스틴은 임의의 적절한 내부 경로로 투여될 수 있고, 필요에 따라 예를 들어 1일 내지 약 3주 동안 하루에 1회 내지 3회에서 주당 1회 또는 격주당 1회의 빈도로 반복될 수 있다. 별법적으로, 벤다무스틴은 전하 밀도를 감소시켜 경구 생체이용이 가능해지도록 변경될 수 있다. 치료 용량 및 치료 지속기간은 인간 신체 순환시의 본 발명의 분자의 상대적 지속기간과 관련이 있고, 치료하고자 하는 상태 및 환자의 일반적인 건강 상태에 따라서 당업자에 의해 조정될 수 있다.

[0096] 다양한 전달 시스템이 공지되어 있고, 예를 들어 리포좀 내에의 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 화합물을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 세포내이입 (예를 들어, 문헌 [Wu, et al., J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)] 참조), 레트로바이러스 또는 다른 벡터의 일부로서 핵산 구축물 등을 벤다무스틴을 투여하는데 사용할 수 있다. 도입 방법에는, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비내, 경막외 및 경구 경로가 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 벤다무스틴은 임의의 편리한 경로, 예를 들어 주입 또는 볼루스 주

사에 의해, 상피 또는 피부점막 내층 (예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 기타 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신성 또는 국부성일 수 있다. 또한, 본 발명의 제약 화합물 또는 조성물을 임의의 적합한 경로, 예를 들어 뇌실내 및 경막내 주사에 의해 중추 신경계 내로 도입하는 것이 바람직할 수 있고; 뇌실내 주사는, 예를 들어 저장소, 예컨대 옴마야 (Ommaya) 저장소에 부착된 뇌실내 카테터에 의해 용이해질 수 있다. 또한, 예를 들어 흡입기 또는 네뷸라이저, 및 에어로졸화제가 담긴 제제를 이용하여 폐 투여를 활용할 수 있다.

[0097] **항-CD20 항체**

[0098] 당업계의 통상의 지식을 가진 의사 또는 수의사는 항-CD20 항체를 포함하는 제약 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 제약 조성물 중에 이용되는 본 발명의 화합물의 용량을 목적하는 치료 효과를 달성하기 위해 필요한 것보다 더 낮은 수준에서 시작하여, 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 조성물의 적합한 1일 용량은 치료 효과를 수득하는데 유효한 가장 낮은 용량인 화합물의 양일 것이다. 정맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하로 투여하는 것이 바람직하다. 원하는 경우, 치료 조성물의 효과적인 1일 용량은 임의로 단위 투여량 형태로 하루 동안 적절한 간격으로 별개로 2, 3, 4, 5, 6회 이상의 하위-용량으로 투여될 수 있다. 항-CD20 항체를 단독으로 투여하는 것이 가능하지만, 화합물을 제약 제제 (조성물)로서 투여하는 것이 바람직하다.

[0099] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 인간 모노클로날 항체는 10 내지 2000 mg/㎡, 보통 10 내지 500 mg/㎡, 예컨대 200 내지 400 mg/㎡, 예컨대 375 mg/㎡의 매주 투여량으로 주입에 의해 투여될 수 있다. 그러한 투여는 예를 들어, 1 내지 8회, 예컨대 3 내지 5회 반복될 수 있다. 투여는 2 내지 24시간, 예컨대 2 내지 12시간의 기간에 걸쳐 연속 주입에 의해 수행될 수 있다.

[0100] 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 독성 부작용을 감소시키기 위해 장기간에 걸쳐, 예컨대 24시간을 초과하여 느린 연속 주입에 의해 투여된다.

[0101] 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 250 mg 내지 2000 mg, 예컨대 300 mg, 500 mg, 700 mg, 1000 mg, 1500 mg 또는 2000 mg의 매주 투여량으로, 8회 이하, 예컨대 4 내지 6회 투여된다. 투여는 2 내지 24시간, 예컨대 2 내지 12시간의 기간에 걸쳐 연속 주입에 의해 수행될 수 있다. 그러한 투약법은 필요한 경우에 예를 들어, 6개월 또는 12개월 후에 1회 이상 반복될 수 있다. 투여량은 항-CD20 항체를 표적으로 하는 항-이디오타입 항체를 이용하여 생물학적 샘플 중에서 투여시 순환하는 항-CD20 항체의 양을 측정함으로써 결정 또는 조정될 수 있다.

[0102] 또 다른 실시양태에서, 상기 항체는 유지 요법에 의해, 예컨대 6개월 이상에 걸쳐 주 1회 투여된다.

[0103] 한 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 항-CD20 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 제약 조성물은 제약상 허용되는 담체 또는 희석제 뿐만 아니라, 임의의 다른 공지된 아주반트 및 부형제와 함께 통상의 기술, 예컨대 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995]에 개시된 바에 따라 제제화될 수 있다. 제약 조성물은 희석제, 충전제, 염, 완충제, 세제 (예를 들어, 비이온성 세제, 예컨대 트윈(Tween)-80), 안정화제, 안정화제 (예를 들어, 당 또는 단백질-무함유 아미노산), 보존제, 조직 고정제, 가용화제, 및/또는 제약 조성물에 포함되기에 적합한 다른 물질을 포함할 수 있다. 제약 조성물 중의 활성 성분의 실제 투여량 수준은, 환자에 독성이 없으면서 특정 환자, 조성물, 및 투여 방식에서 목적하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 수득하기 위해 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 다양한 약동학적 인자, 예컨대 사용된 특정 조성물의 활성, 투여 경로, 투여 횟수, 사용되는 특정 화합물의 배설 속도, 치료 지속기간, 사용된 특정 조성물과 함께 사용되는 기타 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료할 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반적인 건강 및 이전의 병력, 및 의학 분야에 널리 공지된 기타 인자에 따라 좌우될 것이다.

[0104] 본 발명의 항-CD20 항체는 임의의 적합한 경로, 예컨대 경구, 비강, 흡입가능, 기관지내, 폐포내, 국소 (예컨대, 협측, 경피 및 설하), 직장, 질 및/또는 비경구 경로를 통해 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 제약 조성물은 비경구로 투여된다.

[0105] 본원에 사용된 바와 같은 어구 "비경구 투여" 및 "비경구로 투여된"은 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식, 통상적으로 주사에 의한 것을 의미하고, 표피, 정맥내, 근육내, 동맥내, 경막내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 건내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 두개내, 흉곽내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.

[0106] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체 제약 조성물은 정맥내 또는 피하 주사 또는 주입에 의해 투여된다. 예를 들어,

제약 조성물은 부작용을 감소시키기 위해 2 내지 8시간에 걸쳐, 예컨대 4시간에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0107] 한 실시양태에서, 항-CD 항체 제약 조성물은 흡입에 의해 투여된다. 항-CD20 항체의 Fab 단편은 이러한 투여 경로에 적합할 수 있다 (문헌 [Crowe et al., (February 15, 1994) Proc Natl Acad Sci USA, 91(4):1386-1390] 참고).

[0108] 한 실시양태에서, 항-CD20 항체 제약 조성물은 결정 형태로 피하 주사에 의해 투여된다 (문헌 [Yang et al., PNAS USA 100(12), 6934-6939 (2003)] 참고).

[0109] 제약상 허용되는 담체는 본 발명의 화합물과 생리학상 상용성인 임의의 모든 적합한 용매, 분산 매질, 코팅, 항균 및 항진균제, 등장성 작용제, 항산화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다.

[0110] 본 발명의 제약 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 염수, 인산염 완충 염수, 에탄올, 덱스트로스, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 옥수수 오일, 땅콩 오일, 목화씨 오일 및 참깨 오일, 카르복시메틸셀룰로스 콜로이드성 용액, 트라가칸트 검 및 주사가능한 유기 에스테르, 예를 들어 에틸 올레에이트, 및/또는 다양한 완충제를 포함한다. 다른 담체는 제약 업계에 널리 공지되어 있다.

[0111] 제약상 허용되는 담체는 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 수용액 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 제약 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 당업계에 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비상용성인 경우를 제외하고는, 본 발명의 제약 조성물 내에서 그의 사용이 고려된다.

[0112] 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅 물질의 사용에 의해, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 적절한 유동성을 유지시킬 수 있다.

[0113] 항-CD20 항체를 함유하는 제약 조성물은 또한 제약상 허용되는 항산화제, 예를 들어 (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔(BHA), 부틸화 히드록시톨루엔(BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등을 포함할 수 있다.

[0114] 항-CD20 항체를 함유하는 제약 조성물은 또한 조성물 중에 등장성 작용제, 예컨대 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 글리세롤 또는 염화나트륨을 포함할 수 있다.

[0115] 제약상 허용되는 희석제에는 염수 및 수성 완충 용액이 포함된다.

[0116] 항-CD20 항체를 함유하는 제약 조성물은 또한 제약 조성물의 보관 수명 또는 효능을 증강시킬 수 있는, 선택된 투여 경로에 적합한 하나 이상의 아주반트, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제, 분산제, 보존제 또는 완충제를 함유할 수 있다. 본 발명의 항-CD20 항체는 예를 들어 락토스, 수크로스, 분말 (예를 들어, 전분 분말), 알칸산의 셀룰로스 에스테르, 스테아르산, 활석, 스테아르산마그네슘, 산화마그네슘, 인산 및 황산의 나트륨염 및 칼슘염, 아카시아, 젤라틴, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리딘 및/또는 폴리비닐 알콜과 혼합될 수 있다. 아주반트의 다른 예는 QS21, GM-CSF, SRL-172, 히스타민 디히드로클로라이드, 티모카르틴, Tio-TEPA, 모노포스포릴-지질 A/미생물 조성물, 백반, 불완전 프로인트(Freund) 아주반트, 몬타나이드 ISA, 리비(ribi) 아주반트 시스템, 타이터맥스(TiterMax) 아주반트, 신텍스(syntex) 아주반트 제제, 면역-자극 복합체 (ISCOM), 게르부(gerbu) 아주반트, CpG 올리고데옥시뉴클레오티드, 리포폴리사카라이드, 및 폴리이노신산:폴리시티딜산이다.

[0117] 미생물의 존재의 방지는 멸균화 절차, 및 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산 등을 포함시키는 것 둘 모두에 의해 보장될 수 있다. 또한, 주사가능한 제약 형태의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시켜 유도할 수 있다.

[0118] 항-CD20 항체를 함유하는 제약 조성물은 다양한 적합한 형태로 존재할 수 있다. 이러한 형태로는 예를 들어 액체, 반고체 및 고체 투여 형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들어, 주사가능한 및 주입가능한 용액), 분산액 또는 현탁액, 에멀젼, 마이크로에멀젼, 겔, 크림, 과립, 분말, 정제, 환제, 분말, 리포좀, 덴드리머 및 기타 나노입자 (예를 들어, 문헌 [Baek et al., Methods Enzymol. 362, 240-9 (2003)], [Nigavekar et al., Pharm Res. 21(3), 476-83 (2004)] 참고), 마이크로입자 및 좌제가 있다.

[0119] 최적의 형태는 선택된 투여 방식 및 조성물의 속성에 따라 좌우된다. 제제는 예를 들어 분말, 페이스트, 연고,

젤리, 왁스, 오일, 지질, 소포 함유 지질 (양이온성 또는 음이온성), DNA 접합체, 무수 흡수 페이스트, 수중유 및 유중수 에멀젼, 에멀젼 카르보왁스 (다양한 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜), 반고체 겔, 및 카르보왁스를 함유하는 반-고체 혼합물을 포함할 수 있다. 상기 기재한 임의의 것들은, 제약 조성물 중의 항-CD20 항체가 상기 제제에 의해 불활성화되지 않고 상기 제제가 투여 경로에 생리학적으로 상용성이고 용인되는 것인 한, 본 발명에 따른 치료 및 요법에 적절할 수 있다. 제약 화학자들에게 널리 공지된 부형제 및 담체에 관한 추가의 정보에 대해서는 예를 들어 문헌 [Powell et al., "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52, 238-311 (1998)] 및 그에 인용된 문헌들을 참고한다.

[0120] 항-CD20 항체는 임플란트, 경피 패치 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 비롯한 제어 방출 제제와 같이, 신속한 방출에 대해 화합물을 보호하는 담체를 이용하여 제조할 수 있다. 이러한 담체로는 셀라틴, 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세릴 디스테아레이트, 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산 단독 또는 왁스와의 조합물, 또는 당업계에 널리 공지된 기타 물질이 포함될 수 있다. 이러한 제제의 제조 방법은 일반적으로 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc, New York, 1978]을 참고한다.

[0121] 항-CD20 항체를 함유하는 제약 조성물을 본 발명에 따른 특정 투여 경로에 의해 투여하기 위해, 항-CD20 항체를 그의 불활성화를 방지하는 물질로 코팅하거나, 상기 물질과 함께 항체를 공동 투여할 필요가 있을 수 있다. 예를 들어, 항-CD20 항체는 적절한 담체, 예를 들어 리포좀, 또는 희석제 중에서 대상체에게 투여될 수 있다. 리포좀으로는 수중유중수 CGF 에멀젼 뿐만 아니라, 통상적인 리포좀이 포함된다 (문헌 [Strejan et al., J. Neuroimmunol. 7, 27 (1984)]).

[0122] 투여 경로에 따라, 항-CD20 항체는 화합물을 불활성화시킬 수 있는 산의 작용 및 기타 천연 조건으로부터 항체를 보호하기 위해 물질로 코팅될 수 있다. 예를 들어, 항-CD20 항체는 적절한 담체, 예를 들어 리포좀 중에서 대상체에게 투여될 수 있다. 리포좀으로는 수중유중수 CGF 에멀젼 뿐만 아니라, 통상적인 리포좀이 포함된다 (문헌 [Strejan et al., J. Neuroimmunol. 7, 27 (1984)]).

[0123] 비경구 투여를 위한 제약상 허용되는 담체는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 멸균 주사가능 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 제약 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 당업계에 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비상용성인 경우를 제외하고는, 본 발명의 제약 조성물 내에서 그의 사용이 고려된다. 보충적인 활성 화합물이 또한 조성물 내로 혼입될 수 있다.

[0124] 주사용 제약 조성물은 전형적으로 멸균성이고 제조 및 저장 조건 하에서 안정해야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에멀젼, 리포좀, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 규칙 구조(ordered structure)로서 제제화될 수 있다. 담체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트를 함유하는 수성 또는 비수성 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 다수의 경우에서, 조성물 중에 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 글리세롤, 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 지속 흡수는 조성물 내에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 야기될 수 있다. 멸균 주사가능 용액은 요구되는 양의 활성 화합물을 적절한 용매 내에, 요구되는 경우에 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합물과 함께 혼입한 후 멸균 마이크로여과하여 제조할 수 있다.

[0125] 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것 중의 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내에 혼입시켜 제조한다. 멸균 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법의 예는 미리 멸균-여과시킨 그의 용액으로부터 활성 성분 + 임의의 추가의 목적하는 성분의 분말을 생성시키는 진공 건조 및 냉동-건조 (동결건조)이다.

[0126] 멸균 주사가능 용액은 요구되는 양의 활성 화합물을 적절한 용매 내에, 요구되는 경우에 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합물과 함께 혼입한 후 멸균 마이크로여과하여 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것 중의 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내에 혼입시켜 제조한다. 멸균 주사가능 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법의 예는 미리 멸균-여과시킨 그의 용액으로부터 활성 성분 + 임의의 추가의 목적하는 성분의 분말을 생성시키는 진공 건조 및 냉동-건조 (동결건조)이다.

[0127] 본 발명은 본 발명의 사상 또는 본질적 특징으로부터 벗어나지 않고서도 기타 구체적 형태를 실시할 수 있으므로, 본 발명의 범주를 나타내는 것으로, 전술된 명세서 또는 하기 실시예가 아닌 하기하는 특허청구범위를 기준으로 해야 한다.

[0128] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "담체"는 요법과 함께 투여되는 희석제, 아주반트, 부형제 또는 비히클을 지칭한다.

[0129] "단리된"이란 "수동적으로" 그의 천연 상태로부터 변경된 것을 의미하는데, 즉 천연적으로 존재하는 경우, 이는 그의 본래의 환경으로부터 변화 또는 제거되었거나, 또는 변화되고 제거되었음을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 유기체 내에 천연적으로 존재하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 "단리된" 것이 아니지만, 그의 천연 상태에서 공존하였던 한 가지 이상의 세포성 물질로부터 분리된 동일한 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 본원에 이용된 용어와 같은 "단리된" 것이다. 더욱이, 형질전환, 유전자 조작 또는 임의의 다른 재조합 방법에 의해 유기체 내로 도입된 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 이것이 여전히 상기 유기체 (이러한 유기체는 살아있는 것이거나 살아있는 것이 아닐 수 있음) 내에 존재하는 경우일지라도 "단리된" 것이다.

[0130] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "제약"에는 본 발명의 수의학적 적용이 포함된다. 용어 "치료 유효량"은 선택된 병태를 경감시키는 데에 유용한 치료제의 양을 지칭한다.

[0131] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "제약상 허용되는"이란 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되었거나, 또는 미국 약전(U.S. Pharmacopeia) 또는 동물, 및 보다 특히 인간에게 사용하는 것으로 일반적으로 인식된 기타 약전에 열거된 것을 의미한다.

[0132] 의심의 여지를 피하기 위해, 한 실시양태에서 항-CD20 항체와 함께 벤다무스틴을 투여하는 것은 시차를 둔 투여이며, 이에 의해 벤다무스틴 및 항-CD20 항체는 교대방식에 기초하여 제공된다. 의심의 여지를 피하기 위해, 시차를 둔 투여에 있어서 벤다무스틴 또는 항-CD20 항체 중 어느 하나가 먼저 투여될 수 있다.

[0133]

서열 1	2F2 V_H	EVQLVESGGGLVQPGRSLR LSCAASGFTFNDYAMHWV RQAPGKGLEWVSTISWNSG SIGYADSVKGRFTISRDNA KKSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKDIQYGNYYYGMDV WGQGTTVTVSS
서열 2	2F2 V_L	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPITF GQGTRLEIK
서열 3	2F2 V_H CDR1	DYAMH
서열 4	2F2 V_H CDR2	TISWNSGSIGYADSVKG
서열 5	2F2 V_H CDR3	DIQYGNYYYGMDV
서열 6	2F2 V_L CDR1	RASQSVSSYLA
서열 7	2F2 V_L CDR2	DASNRAT
서열 8	2F2 V_L CDR3	QQRSNWPIT
서열 9	11B8 V_H CDR3	DYYGAGSFYDGLYGMDV

[0134]

서열 10	2F2 V_H CDR1-CDR3	DYAMHWVRQAPGKGLEW VSTISWNSGSIGYADSVKG RFTISRDNAKKSLYLQMNS LRAEDTALYYCAKDIQYG NYYYGMDV
서열 11	2C6 V_H CDR3	DNQYGSGSTYGLGV

[0135] **실시예 1. 오파투무맙/벤다무스틴 조합 투여의 비제한적인 예**

[0136] 리툭시맙에 대해 불응성인 여포성 림프종을 치료하기 위해, 한 실시양태에서 오파투무맙을 i.v.로 사이클 1의 제1일: 300 mg, 제8일: 1000 mg을 투여한 후, 사이클 2 내지 6의 제1일에 1000 mg을 투여하고; 벤다무스틴은 매 28일 마다의 사이클 1 내지 6 (각 사이클은 매 28일 마다임)의 제1일 및 제2일에 60-120 mg/㎡을 제공하였다.

[0137] 또 다른 실시양태에서, 오파투무맙을 i.v.로 사이클 1의 제1일: 300 mg, 제8일: 1000 mg을 투여한 후, 사이클 2 내지 6 (오파투무맙의 경우 각 사이클은 매 28일 마다임)의 제1일에 1000 mg을 투여하고; 벤다무스틴은 매 21일 마다의 사이클 1 내지 8 (벤다무스틴의 경우 각 사이클은 매 21일 마다임)의 제1일 및 제2일에 60-120 mg/㎡을 제공하였다.

[0138] 또 다른 실시양태에서, 오파투무맙을 i.v.로 사이클 1의 제1일: 300 mg, 제8일: 1000 mg을 투여한 후, 사이클 2 내지 6의 제1일에 1000 mg을 투여하고; 벤다무스틴은 매 28일 마다의 사이클 1 내지 6 (각 사이클은 매 28일 마다임)의 제1일 및 제2일에 90 mg/㎡을 제공하였다.

[0139] 또 다른 실시양태에서, 오파투무맙을 i.v.로 사이클 1의 제1일: 300 mg, 제8일: 1000 mg을 투여한 후, 사이클 2 내지 6 (오파투무맙의 경우 각 사이클은 매 28일 마다임)의 제1일에 1000 mg을 투여하고; 벤다무스틴은 매 21일 마다의 사이클 1 내지 8 (벤다무스틴의 경우 각 사이클은 매 21일 마다임)의 제1일 및 제2일에 120 mg/㎡을 제공하였다.

[0140] 추가 실시양태에서, 오파투무맙의 6 사이클이 완료된 후 (각 사이클은 매 28일 마다임) 2 년 동안 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 1000 mg 투여할 수 있다.

[0141] 추가 실시양태에서, 오파투무맙의 6 사이클이 완료된 후 (각 사이클은 매 28일 마다임) 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 2000 mg 투여할 수 있다.

[0142] 추가 실시양태에서, 오파투무맙의 6 사이클이 완료된 후 (각 사이클은 28 일임) 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 500 mg 투여할 수 있다.

[0143] 추가 실시양태에서, 오파투무맙의 6 사이클이 완료된 후 (각 사이클은 28 일임) 매달 또는 매 3 개월 마다 오파투무맙을 추가로 500 mg, 1000 mg 또는 2000 mg 투여할 수 있다.

[0144] 추가 실시양태에서, 오파투무맙의 6 사이클이 완료된 후 (각 사이클은 28 일임) 2 년 동안 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 300-2000 mg 투여하였다.

[0145] 추가 실시양태에서, 오파투무맙의 6 사이클이 완료된 후 (각 사이클은 28 일임) 완전한 관해 (CR), 부분적 관해 (PR), 또는 안정적 질환 (SD)이 달성된 대상체에게 2 년 동안 매 2 개월 마다 오파투무맙을 추가로 300-2000 mg 투여할 수 있다.

[0146] **실시예 2 CLL 모델에서 오파투무맙 및 벤다무스틴을 처리한 효능을 보여주는 생체내 연구**

[0147] 리툭산 및 오파투무맙은 항-인간 항체이므로, 인비트로겐(Invitrogen) 사의 제논(Zenon) 표지 키트 (Z-25455)를 이용하여 이를 직접 형광 태그로 표지할 필요가 있다. 1 ㎍의 각 항체를 PBS 중에 준비하고, 5 ㎕의 제논 인간 IgG 표지 시약 (성분 A)을 항체 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 5 분 동안 인큐베이션한 다음, 5 ㎕의 제논 차단 시약 (성분 B)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 실온에서 추가의 5 분 후에, 복합체가 이용가능하게 되었다. 5 x 10^6 세포/ml의 생존 JVM-3 세포를 PBS 중에 재현탁시켰다. 100 ㎕의 세포를 각 튜브에 첨가하였다. 10 ㎕의 인간 IgG를 첨가하여 비특이적 결합을 차단하였다. 세포 및 인간 IgG를 10 분 동안 인큐베이션시켰다. 각각의 형광 표지된 항-CD20 항체 10 ㎕를 적절한 튜브에 첨가하였다 (리툭산, 오파투무맙 및 BD 바이오사이언스 항-CD20 항체 클론 2H7). 혼합물을 추가로 30 분 동안 암소 내 얼음 상에서 인큐베이션하였다. 이어서 500 ㎕의 PBS를 세포에 첨가하고, 이를 5 분 동안 1000 rpm에서 원심분리시켰다. 상청액을 제거하고, 500 ㎕의 PBS를 첨가하고, 다시 세포를 원심분리시켰다. 다시 상청액을 제거하고, 세포를 300 ㎕의 PBS에 재현탁시켰다. 세포를 BD FACSCanto 상에서 분석하였다.

[0148] **결론:**

[0149] 직접 표지된 BD 바이오사이언스 사의 항-CD20 항체는 리툭산 또는 오파투무맙 항체에 비해 세포 표면 상의 수용체에 덜 결합되었다. 이는 표지 절차상 차이로 인한 것일 수 있다. 그러나, 리툭산 및 오파투무맙은 동일한 방식으로 표지하였고, 오파투무맙은 리툭산 항체가 그러한 것 보다 세포 표면 상의 더 많은 수용체에 결합하였다. 도 2를 참조한다.

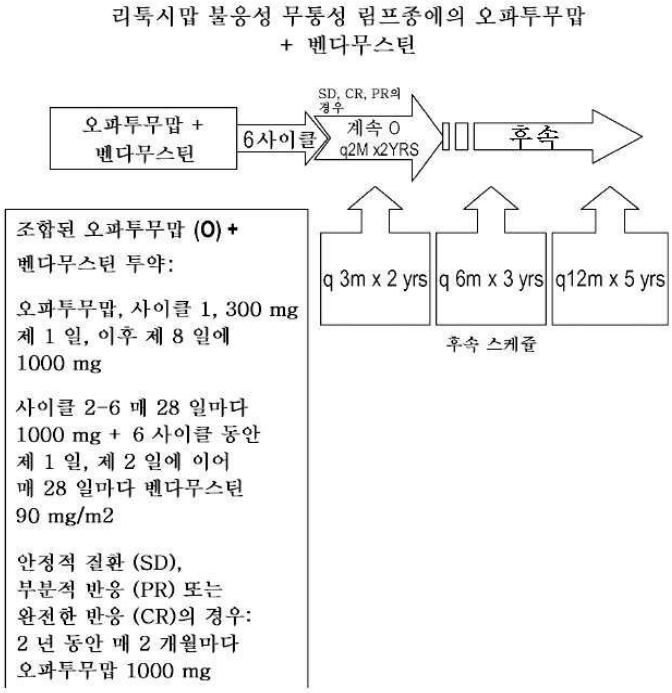
[0150] 인간 B 세포 백혈병 JVM-3 세포주를 DSMZ (독일 미생물 및 세포 배양 협회(German Collection of Microorganisms and Cell Culture))로부터 물질 이전 협정을 통해 수득하였고, 이를 동결보존하였다. JVM-3 세포를 저장소로부터 수득하여 습식, 5% CO_2 인큐베이터 내의 10% 태아 소 혈청, 1% 나트륨 피루베이트 및 1% 글루타민이 보충된 RPMI 1640 배지 중에서 37℃에서 배양하였다. CB.17-SCID 암컷 마우스에게 4x10^6 JVM-3 세포를 옆구리로 피하 주사하였다. 캘리퍼를 이용하여 종양 직경을 주 2회 측정하고, 공식: 부피 = 폭² x 길이/2를 이용하여 종양 부피를 계산하였다. 마우스를 치료 그룹으로 무작위화하고, 종양 평균 부피가 66 - 76 ㎣에 달하면 이식 후 제14일에 요법을 개시하였다. 치료 그룹에는 오파투무맙 2 mg/kg을 i.p.로 주 2회 (제14일, 제17일 및 제21일) 수여하고/거나, 알킬화제 벤다무스틴 50 mg/kg을 i.v.로 제15일에 1회 주사하였다. 종양 부피 데이터를 프리즘 그래프패드(Prism GraphPad) 소프트웨어를 이용하여 그래프화하고, 1-원 ANOVA에 이은 본페로니(Bonferroni) 다중 비교 시험으로 통계적으로 평가하였다.

[0151] **결론:**

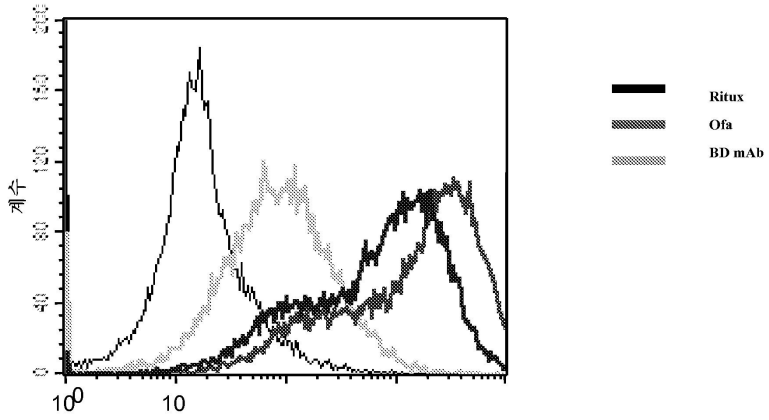
[0152] 본 발명자들의 데이터는 오파투무맙 (2 mg/kg i.p. 주 2회)을 벤다무스틴 화학요법 (50 mg/kg i.v. 단일 용량)과 조합하는 것이 단독요법 (항체 또는 벤다무스틴) 또는 비히클로 치료한 그룹과 비교하여 종양 성장을 현저하게 지연시키는 것으로 나타났다. 본 발명자들의 데이터는 CLL 환자에서 생존을 증가시키고 독성이 감소된 임상 설정에 있어서의 오파투무맙/벤다무스틴 조합 요법의 이점을 보여준다.

도면

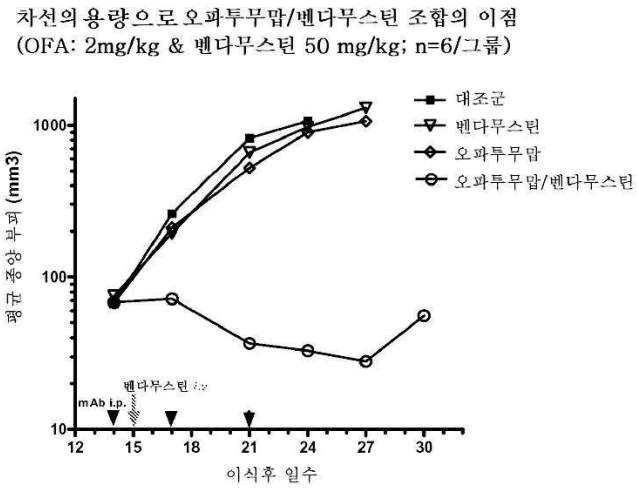
도면1



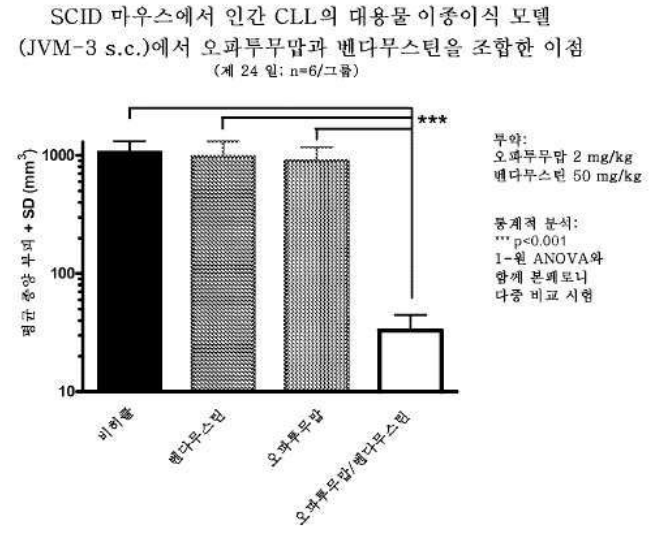
도면2



도면3



도면4



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> THOMAS, Cherry Teresa

CHAN, Geoffrey

<120> NOVEL USES

<130> PU63385

<150> 61/145210

<151> 2009-01-16

<160> 11

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ile Gln Tyr Gly Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 3

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 4

Thr Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 5

Asp Ile Gln Tyr Gly Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 7

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 8

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Thr

1 5

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 9

Asp Tyr Tyr Gly Ala Gly Ser Phe Tyr Asp Gly Leu Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 10

<211> 81

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 10

Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

1 5 10 15

Trp Val Ser Thr Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp

20 25 30

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser

35 40 45

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr

50 55 60

Tyr Cys Ala Lys Asp Ile Gln Tyr Gly Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

65 70 75 80

Val

<210> 11

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 11

Asp Asn Gln Tyr Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Gly Leu Gly Val

1 5 10