(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년01월10일
(11) 등록번호 10-2486057
(24) 등록일자 2023년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/69 (2017.01) *A61K 31/337* (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 9/19* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6929 (2017.08)
A61K 31/337 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7009304
(22) 출원일자(국제) 2017년09월05일
심사청구일자 2020년08월10일
(85) 번역문제출일자 2019년03월29일
(65) 공개번호 10-2019-0052682
(43) 공개일자 2019년05월16일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/050137
(87) 국제공개번호 WO 2018/048816
국제공개일자 2018년03월15일
(30) 우선권주장
62/383,938 2016년09월06일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2015095404 A1
WO2016057554 A1

(73) 특허권자
메이오 파운데이션 포 메디칼 에쥬케이션 앤드 리써치
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트 에스.더블유. 200
(72) 발명자
마르코빅, 스베토미르 엔.
미국 55905 미네소타주, 록체스터, 퍼스트 스트리트 에스더블유 200, 메이오 파운데이션 포메디칼 에쥬케이션 앤드 리써치 내
네발라, 웬디 케이.
미국 55905 미네소타주, 록체스터, 퍼스트 스트리트 에스더블유 200, 메이오 파운데이션 포메디칼 에쥬케이션 앤드 리써치 내
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 30 항 심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 **PD-L1 발현 암의 치료 방법**

(57) 요 약

암을 가진 환자를 담체 단백질, 결합제 및 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 복합체로 치료하고 및 선택적으로 항-PD-L1 항체로 병용-치료하는 것을 포함하는 방법, 그를 위한 제형 및 키트가 본 명세서에 기재된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/555 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/643 (2017.08)
A61K 47/6851 (2017.08)
A61K 9/0019 (2013.01)
A61K 9/19 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

치료량-미만 양(sub-therapeutic amount)의 비복합체화(uncomplexed) 항-PD-L1 항체; 및 (a) 알부민, (b) 유효량의 항-PD-L1 항체, 및 (c) 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 복합체를 포함하는, PD-L1을 발현하는 세포를 포함하는 암의 치료용 약학적 조성물로서,

상기 나노입자 복합체에서, 상기 알부민 및 파클리탁셀은 비-공유 결합에 의해 서로 결합되고, 상기 항체는 상기 나노입자 복합체의 외부 표면에 배열되며, 상기 항-PD-L1 항체의 유효량은 상기 나노입자 복합체의 암세포로의 방향성 유도(directional guidance)를 제공하기에 유효한, 약학적 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 암의 암세포는 알부민 및 파클리탁셀을 포함하는 나노입자와 복합체를 형성하지 않은 비복합체화(uncomplexed) 항-PD-L1 항체를 포함하는 면역요법제에 내성을 갖는(resistant), 약학적 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀, 시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 화학요법제(chemotherapeutic agent)를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전인, 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 1, 3, 4 및 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 항-PD-L1 항체의 치료용량(therapeutic dosage)의 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% 또는 60%로 구성된 양으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 8

삭제

청구항 9

청구항 1, 3, 4, 및 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암세포는 폐암 세포, 방광암 세포, 신장암 세포, 혈액암 세포, 유방암 세포, 대장암 세포, 흑색종 세포, 및 고형암 세포로 구성된 군으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 10

청구항 1, 3, 4 및 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 혈액 중 순환 PD-L1의 수준을 분석하거나 또는 치료 대상 종양의 조직 생검물에서 침윤(infiltrating) T 세포에 결합된 PD-L1의 비율을 분석하는 것에 의해 결정되는, 약학적 조성물.

청구항 11

청구항 1, 3, 4 및 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 알부민-결합 화학요법제/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체의 투여 전 30분 내지 48시간에 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 12

청구항 1, 3, 4 및 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양을 투여한 후 24시간에 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

(a) 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체, (b) 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 단위 용량, 및 선택적으로, (c) 사용 설명서를 포함하는 키트로서,

상기 나노입자 복합체에서, 상기 알부민 및 파클리탁셀은 비-공유 결합에 의해 서로 결합되고, 상기 항체는 상기 나노입자 복합체의 외부 표면에 배열되는 것인, 키트.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체는 동결건조된, 키트.

청구항 18

(a) 알부민, (b) 유효량의 항-PD-L1 항체, 및 (c) 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 복합체를 포함하는, PD-L1을 발현하는 세포를 가진 암의 치료용 약학적 조성물로서, 상기 알부민 및 파클리탁셀은 비-공유 결합에 의해 서로 결합되고, 상기 항체는 상기 나노입자 복합체의 외부 표면에 배열되며, 상기 항-PD-L1 항체의 유효량은 상기 나노입자 복합체의 암세포로의 방향성 유도(directional guidance)를 제공하기에 유효한, 약학적 조성물.

청구항 19

삭제

청구항 20

청구항 18에 있어서, 상기 암세포는 알부민-결합 화학요법제를 포함하는 나노입자와 복합체를 형성하지 않은 항-PD-L1 항체를 포함하는 면역요법제에 내성을 갖는, 약학적 조성물.

청구항 21

청구항 18에 있어서, 상기 복합체는 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀, 시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 및 이들

의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 화학요법제를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 22

청구항 18에 있어서, 상기 알부민은 인간 혈청 알부민인, 약학적 조성물.

청구항 23

청구항 18에 있어서, 상기 알부민은 재조합 인간 혈청 알부민인, 약학적 조성물.

청구항 24

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 인간화 항체인, 약학적 조성물.

청구항 25

청구항 24에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전인, 약학적 조성물.

청구항 26

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 PD-L1을 과발현하는, 약학적 조성물.

청구항 27

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 고형 암인, 약학적 조성물.

청구항 28

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 흑색종, 신장세포 암종, 비소세포폐암종, 두경부 편평세포 암종, 대장암, 메르켈 세포 암종, 난소암, 방광암, 또는 유방암인, 약학적 조성물.

청구항 29

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 이전에 동결건조되었던 나노입자 복합체를 재구성하는 것에 의해 제조된 수성 제형이고, 상기 나노입자 복합체는 수성 완충액에서 재구성되는, 약학적 조성물.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 멸균 수성 완충액에서 재구성되는, 약학적 조성물.

청구항 31

청구항 29에 있어서, 상기 조성물은 여과 멸균되는, 약학적 조성물.

청구항 32

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 주사에 의해 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 33

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 0.1 ㎛ 내지 0.9 ㎛인, 약학적 조성물.

청구항 34

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 130 ㎚ 내지 225 ㎚인, 약학적 조성물.

청구항 35

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 100개 내지 1000개의 항체를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 36

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 400개 내지 800개의 항체를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 37

청구항 18 및 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 알부민은 재조합 인간 혈청 알부민이고, 상기 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전인, 약학적 조성물.

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시는 담체 단백질, PD-L1에 특이적으로 결합하는 결합제, 및 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 복합체를 투여하는 것에 의해 암을 치료하기 위한 신규한 방법 및 키트에 관한 것이다. 본 방법은 또한 나노입자 복합체를 투여하기 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 PD-L1을 발현하는 암세포를 포함하는 암을 앓는 환자를 항-PD-L1 항체 단독으로 전치료(pretreat)하는 단계를 포함할 수 있다.

배 경 기 술

[0002] 암세포는 면역 감시를 벗어나기 위한 다양한 수단을 이용하고 그에 의해 지속적으로 증식하고 및/또는 전이한다. 예를 들면, 다수의 암세포 타입이 예정 세포사 단백질 1(program cell death protein 1)(PD-1)의 주요한 리간드인 PD-L1 (programmed cell death ligand 1) (B7-H1)을 발현하거나 또는 과발현한다. PD-1은 T 림프구 상에 있는 세포 표면 수용체이고 장기 항원 노출 후에 T 세포 및 B 세포, NK 세포, 및 단핵구와 같은 성숙 조혈모세포에서 활성화시 발현된다(Ishida et al., 1992. EMBO J. 11:3887). 종양 미세환경(microenvironment)에서 PD-1 및 PD-L1의 발현이 면역 감시를 벗어나는 주요한 내성 메카니즘으로 보인다. T-세포 상의 PD-1으로의 PD-L1 결합이 효능기(effector) 항-종양 T-세포 활성을 억제하고 면역 회피(immune evasion)를 촉진하는 것으로 가정된다.

[0003] 폐암, 방광암, 신장암, 혈액암, 유방암, 대장암, 흑색종, 및 고형 종양을 포함한, 암의 치료에서 PD-1 또는 PD-L1에 결합하는 단일클론 항체를 사용하는 수개의 임상시험이 있다. 당해 분야에서 공지된 항-PD-1 항체는 예를 들면, 니볼루맙 (BMS-936558/MDX-1106/ONO-4538; Bristol Myers Squibb), PDR001(Novartis), 및 펨브롤리주맙 (MK-3475) (Merck Sharp & Dohme)을 포함하고; 당해 분야에서 공지된 항-PD-L1 항체는 예를 들면, BMS-936559/MDX-1105 (Bristol Myers Squibb), 아테졸리주맙(MPDL3280A, Genetech/Roche), MeDI4736(두르발루맙; MedImmune/AstraZeneca), MSB00100718C (아벨루맙; EMD Serono)을 포함한다(예를 들면, Philips and Atkins "Therapeutic uses of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies", International Immunology Vol. 27(1) pp:39-46 참조).

[0004] PD-1:PD-L1 경로를 표적화하는 항체의 항종양 활성에도 불구하고, 이러한 치료에 대한 내성이 점차적으로 관찰되고 있다(예를 들면, Lussier et al. J. Immunotherapy of Cancer, 2015, 3:21 and Koyama et al., Nature Communications, 2016 7:1-9 (Published online 17 Feb 2016) 참조). 따라서, 당해 분야에 암 치료제의 효능을 개선시켜야 하는 요구가 남아 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] **요약**

[0006] PD-L1(programed cell death ligand 1)을 발현하는 암세포, 구체적으로, 예를 들면, 항-PD-L1 항체에 의한 면역요법에 내성이 된 PD-L1-발현 암세포를 갖는 암을 앓는 환자를 치료하는 방법이 본 명세서에 기재된다. 상기 방법은 필요로 하는 개체, 예를 들면, PD-L1을 발현하거나 또는 과발현하는 암세포를 갖는 포유동물에게 (a) 담체 단백질, (b) 나노입자 복합체에 암세포로의 방향성 유도(directional guidance)를 제공하기 위한 PD-L1에 결합하는 PD-L1 결합 부분을 갖는 결합제의 유효량, 및 (c) 유효량의 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 복합체의 치료량을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하거나, 또는 그로 필수적으로 구성된다.

과제의 해결 수단

[0007] 일 구체예에서, 복합체의 평균 직경은 0.1 내지 0.9 ㎛이다. 결합제는 항-PD-L1 항체, 예를 들면, 아테졸리주맙일 수 있다. 포유동물은 인간일 수 있다. PD-L1-발현 암세포는 예를 들면, 흑색종, 신장세포 암종, 비소세포 폐

암종, 두경부 편평세포 암종, 대장암, 메르켈 세포 암종(Merkel cell carcinoma), 난소암, 방광암, 및 진행된 고형 종양(advanced solid tumor)일 수 있다.

[0008] 담체 단백질/파클리탁셀/결합제 나노입자 복합체는 ABRAXANE®/항-PD-L1 항체 복합체일 수 있다. ABRAXANE®은 Celgene Corp.으로부터 구입가능하고 파클리탁셀과 인간 알부민을 조합한 나노입자 제형(nanoparticle formulation)이다. 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항체 나노입자 복합체, 또는 상기 복합체를 포함하는 조성물은 알킬화제를 더 포함할 수 있다. 알킬화제는 백금 화합물일 수 있다. 백금 화합물은 카르보플라틴일 수 있다. 항-PD-L1 항체는 인간화 항체일 수 있다. 항-PD-L1 항체는 키메라 항체일 수 있다. 조성물은 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0009] 일 구체예에서, PD-L1-발현 암세포는 항-PD-L1 항체에 의한 면역요법에 저항성이다.

[0010] 본 명세서에 기재된 방법의 구체예에서, 복합체는 파클리탁셀의 치료적 유효량을 전달하기 위해 충분한 양으로 투여된다.

[0011] 본 명세서에 기재된 발명에서 사용하기에 적합한 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙(TECENTRIQ™, Genentech, Inc. A Member of the Roche Group) 또는 그의 바이오시밀러 버전이다. 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559/MDX-1105 (Bristol Myers Squibb), 아테졸리주맙(MPDL3280A, Genetech/Roche), MeDI4736 (두르발루맙; MedImmune/AstraZeneca), 또는 MSB00100718C(아벨루맙; EMD Serono)이다.

[0012] 본 명세서에 기재된 방법의 구체예에서, 암세포의 표적은 고형 암의 세포이다.

[0013] 본 명세서에 기재된 방법의 구체예에서, 담체 단백질/파클리탁셀/PD-L1 결합제 나노입자 복합체, 예를 들면, 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체는 동결건조되고, 필요로 하는 개체로의 투여를 위해 재구성될 수 있다.

[0014] 본 발명의 구체예는 PD-L1을 발현하는 종양에 의한 화학요법제의 흡수(uptake)의 지속기간을 증가시키는 방법을 포함한다. 상기 방법은 담체 단백질, 화학요법제(예를 들면, 파클리탁셀) 및 PD-L1 결합제, 예를 들면, PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 나노입자 복합체 중 화학요법제를 투여하는 단계를 포함하고, 상기 결합제는 상기 나노입자 복합체에 종양으로의 방향성 유도를 제공한다.

[0015] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 알부민-함유 나노입자(예를 들면, ABRAXANE® 나노입자)와 항체(예를 들면, 항-PD-L1 항체, 예를 들면, 아테졸리주맙)의 인 비트로 혼합은 그의 특징(예를 들면, 크기, 항체 함량, 또는 화학요법 약물 함량)이 필요에 따라 맞춤화될 수 있는 거대분자 복합체(macromolecular complex)의 형성을 초래할 수 있다. 일부 경우에, 그러한 거대분자 복합체는 항체 매개 표적 결합 특이성을 보유할 수 있고, 강화된 화학요법 종양 세포 세포독성을 보유하거나 또는 보일 수 있고, ABRAXANE® 나노입자 단독의 독성을 초과하는 추가적인 독성을 보일 수 없다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 인간(예를 들면, 암이 PD-L1을 발현하거나 또는 과발현하는 인간 암환자)으로의 투여 전에 ABRAXANE®을 항-PD-L1 항체(예를 들면, 아테졸리주맙)와 접촉시키는 것은 복합체로서 투여될 때, ABRAXANE®/항-PD-L1 항체 복합체를 형성하지 않는 방식으로, 개별적으로 ABRAXANE® 및 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함하는 치료 방식(treatment regime)에 비해 암을 치료하는 증가된 능력을 갖는 복합체를 초래할 수 있다. 본 명세서에서 제공된 방법 및 물질은 암 환자에서 무진행 생존율(progression-free survival rate)을 증가시키기 위해 이용될 수 있다. 무진행 생존율의 증가는 암환자가 더 오래 살 수 있게 한다. 따라서, 본 명세서에 제공된 방법 및 물질은 암환자에서 전체 생존율(overall survaval rate)을 증가시키기 위해 이용될 수 있다.

[0016] 환자에게 담체 단백질, 파클리탁셀, 및 PD-L1에 특이적으로 결합하는 결합제, 예를 들면, 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자 복합체 및 항-PD-L1 항체를 투여하는 것에 의해 암, 바람직하게는 예정된 세포사 리간드(programmed cell death ligand) 1(PD-L1)을 발현하는 암을 치료하는 방법이 본 명세서에 기재된다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 그러한 나노입자 복합체와 조합된 PD-L1 항체에 의한 암, 예를 들면, PD-L1을 발현하거나, 또는 PD-L1을 과발현하는 암을 가진 개체의 치료는 상기 복합체의 치료 효능을 증가시킨다. 바람직하게는, 그러한 나노입자 복합체에 의한 치료 전에 항-PD-L1 항체가 투여된다. 따라서, 본 명세서에 제공된 양태는 암, 예를 들면, PD-L1을 발현하거나, 또는 PD-L1을 과발현하는 암을 앓는 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 환자는 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양 및 담체, 파클리탁셀, 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자 복합체의 치료량에 의해 치료되는 것인 방법이다. 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 투여는 나노입자 복합체의 효능을 높이도록 한다. 이론에 의해 한정되기를 원치 않으면서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 투여는 체내에서 비-종양-결합 PD-L1(non-tumor-bound PD-L1)에 결합하는 것에 의해 나노입자 복합체의 치료 효능을 높이는

것으로 고려된다. 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양에 의한 치료는 나노입자 복합체의 종양으로의 더 높은 표적화를 가능하게 하거나, 원하는 효과를 달성하기 위해 필요한 환자에게 투여되는 담체 단백질/파클리탁셀/항체 복합체의 양을 감소시키거나, 또는 양자 모두를 가능하게 할 수 있다.

[0017] 또 다른 양태에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양에 의한 환자의 전처리 후 약 0.5 내지 48시간에 담체 단백질/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체를 투여하는 것에 의해 담체 단백질/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체의 효능을 높이는 방법이 본 명세서에 제공된다. 바람직하게는, 그러한 나노입자 복합체는 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양 후 약 24시간에 투여된다.

[0018] 또 다른 양태에서, 환자를 치료량-미만 양의 항-PD-L1 항체(예를 들면, 비복합(uncomplexed) 항-PD-L1 항체, 예를 들면, 담체 단백질/파클리탁셀 복합체에 결합하지 않은 항체)에 의해 치료하고, 상기 환자를 알부민, 파클리탁셀 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자 복합체의 유효량으로 병용-치료(co-treat)하는 것에 의해 암, 예를 들면, PD-L1을 발현하거나, 또는 PD-L1을 과발현하는 암을 앓는 환자에서 치료적 성과(therapeutic outcome)를 높이는 방법으로서, 상기 복합체는 PD-L1에 결합할 수 있는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다. 일 구체예에서, 항체는 상기 복합체의 표면에 배열된다.

[0019] 또 다른 양태에서, 담체 단백질, 파클리탁셀, 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자 복합체에 의한 후속 치료 전에 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양으로 환자를 치료하는 것에 의해 암, 예를 들면, PD-L1을 발현하거나, 또는 PD-L1을 과발현하는 암을 앓는 환자에서 치료적 성과를 높이는 방법으로서, 상기 복합체는 PD-L1에 결합하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다. 일 구체예에서, 항체는 상기 복합체의 표면에 배열된다.

[0020] 본 발명의 일 구체예에서, 본 명세서에 기재된 방법이 PD-L1을 발현하는 세포를 포함하는 암을 가지나, 상기 암은 담체 단백질-결합 화학요법제를 포함하는 나노입자, 예를 들면, 알부민 결합-파클리탁셀 나노입자, 예를 들면, ABRAXANE®과 복합체를 형성하지 않은 항-PD-L1 항체에 의한 면역요법에 내성이 있는 것인 개체에게 투여된다.

[0021] PD-L1을 발현하는 것으로 알려지고, 따라서 본 명세서에 기재된 방법에 의한 치료에 적합한 암세포의 예는 흑색종, 신장세포 암종, 비소세포 폐암종, 두경부 편평세포 암종, 대장암, 메르켈 세포 암종(Merkel cell carcinoma), 난소암, 방광암, 혈액암(hematologic cancer), 및 기타 고형 암을 포함하나, 이에 한정되지 않고, 이들 암은 PD-L1을 발현한다.

[0022] 일 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전이다. 아테졸리주맙(상품명 TECENTRIQ™)은 PD-L1에 대한 IgG1 이소형(isotype)의 완전 인간화, Fc-변형 단일클론 항체이다. 기타 항-PD-L1 항체는 PD-L1에 결합하는 완전 인간 단일클론 항체, MDX-1105; 이소형 IgG1의 완전 인간 단일클론 PD-L1 항체, 아벨루맙(MSB0010718C, Merck KGaA, Darmstadt, Germany & Pfizer); 및 Fc 최적화 항-PD-L1 mAb, 두르발루맙(MedImmune/AstraZeneca)을 포함한다.

[0023] 일 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 항-PD-L1 항체의 치료 용량(therapeutic dosage)의 약 1%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55% 또는 60%로 구성된 군의 양으로부터 선택된다. 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 투여는 우선적으로 순환(circulating) PD-L1을 차단하고, 종양과 결합된 PD-L1은 매우 미약하게 차단하는 것으로 고려된다. 일부 구체예에서, 환자에게 투여되는 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 혈액 중 순환 PD-L1의 수준을 분석하는 것에 의해 결정된다.

[0024] 일 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양이 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체의 투여 전 약 30분 내지 약 49시간에 투여된다.

[0025] 다른 양태에서, 항-PD-L1 항체, 예를 들면, 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전의 단위-용량 제형(unit-dose formulation)으로서, 상기 제형은 항체의 치료적 용량의 약 1% 내지 약 60%를 포함하고 상기 제형은 단위 용량으로 투여되도록 포장되는 것인 단위-용량 제형이 본 명세서에 제공된다.

[0026] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 제형은 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전의 치료적 용량의 약 5% 내지 약 20%를 포함한다. 아테졸리주맙의 치료적 용량, 예를 들면, 국소 진행성 또는 전이성 요로상피 암종을 위한 치료적 용량이 처방 정보에 기재된다. 치료적 용량은 1200 mg이고 바람직하게는 치료량 미만 양은 치료적 용량의 5% 내지 20% 범위이다. 바람직한 구체예에서, 그러한 치료량 미만 양은 60mg 내지 240 mg, 보다 바람직하게는 120 mg 내지 160 mg일 것이다.

[0027] 다른 양태에서, (a) 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 상당한 양, (b) 항-PD-L1 항체의 치료량 미만

양의 단위 용량, 및 선택적으로 (c) 사용 설명서를 포함하는 키트가 본 명세서에 제공된다.

[0028] 일 구체예에서, 키트의 담체-결합 파클리탁셀(예를 들면, 알부민-파클리탁셀, 예를 들면, ABRAXANE®)/항-PD-L1 항체 복합체는 동결건조된다. 동결건조된 복합체는 투여 전에 수용액에서 재구성될 수 있다. 수용액은 멸균 수용액일 수 있거나 또는 재구성된 수용액이 예를 들면, 0.2 또는 0.22 ㎛ 필터를 통해 여과 멸균될 수 있다(filtered sterilized).

[0029] 본 발명의 구체예는 담체 단백질, 파클리탁셀, 화학요법제, 및 PD-L1 결합제, 예를 들면, 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자 복합체 중 화학요법제를 투여하는 것에 의해 화학요법제의 종양 흡수(tumor uptake)의 지속기간을 증가시키는 방법으로서, 상기 PD-L1 결합제는 상기 나노입자 복합체의 종양으로의 방향성 유도를 제공하는 것인 방법을 포함한다. 일부 구체예에서, 개체는 그러한 나노입자 복합체 전에 또는 그와 동시에 항-PD-L1 항체의 치료량 미만 양을 투여받는다.

도면의 간단한 설명

[0030] 하기 도면은 본 발명을 나타내는 것에 불과하고, 한정으로 의도되지 않는다. 일관성을 위해, ABRAXANE® 및 아테졸리주맙을 이용한 나노입자는 두문자어 "AA"를 이용하고, AA130과 같이, AA 다음의 숫자는 이 나노입자의 평균 입자 크기(나노미터, Malvern Nanosight 분석 근거)를 부여하도록 의도된다.

도 1은 아테졸리주맙과 ABX 간의 결합 친화도(binding affinity)를 보여준다. Kd는 $1.462x10^{-9}$인 것으로 결정되었다. 스트렙타비딘 프로브를 이용하여 BLItz(Biolayer interferometry)(Forte Bioscience)를 수행하였다.

도 2a는 Mastersizer NS300에 의해 결정된, ABX 단독(90 nm의 평균 크기) 및 ABX-아테졸리주맙 나노입자(AA; 129 nm의 평균 크기)의 입자 크기 분포를 보여준다. **도 2b**는 도 2a로부터의 ABX-아테졸리주맙 나노입자의 사진이다.

도 3(3A-3E)는 PD-L1 양성 인간 흑색종 세포주, C8161로의 결합에 대해 표지된 항-PD-L1 항체와 경쟁하는 ABX-아테졸리주맙 나노입자(AA130)의 유동 세포 분석을 보여준다. C8161 세포를 이소형 대조군 항체(도 3A), 무처리(no treatment)(도 3B), ABRAXANE®(도 3C), 아테졸리주맙(도 3D), 또는 AA130(도 3E)으로 전처리하고, 그 후, 형광-표지 항-PD-L1 항체로 표지했다.

도 4는 C8161 세포에 대한 ABX(실선) 및 AA130(파선)의 용량-의존적 독성을 보여준다.

도 5a-5d는 $2x10^{6}$ PD-L1 양성 C8161 흑색종 종양 세포를 주사하고, 염수 (도 5a), 아테졸리주맙 단독(18 mg/kg; 도 5b), ABX 단독(45 mg/kg; 도 5c) 및 AA130 (18 mg/kg 아테졸리주맙 및 45 mg/kg ABX; 도 5d)에 의한 100 ㎕ IV 꼬리 정맥 주사(tail vein injection)로 1회 처리된 마우스에서 시간의 경과에 따른 종양 부피의 변화를 보여준다. 주당 3회 종양 성장을 모니터링했다. 종양 크기를 식: (길이 x 너비^{2})/2를 이용하여 계산했다.

도 6은 도 11a-11d에 도시된 실험으로부터의 마우스의 생존력을 보여준다. Graph Pad 소프트웨어를 이용하여 Kaplan Meier 곡선을 생성했다. 각 그룹에 대한 생존력 중간값(median survival)은 염수, 아테졸리주맙, 아브락산, 및 AA130 각각에 대해 14일, 13일, 16일, 및 21.5일이었다. AA130 그룹과 나머지 모든 그룹 간의 생존력 차이는 유의했고, p-값은 염수에 대해 0.0008, 아테졸리주맙에 대해 0.0015, 및 ABX에 대해 0.0113이었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 상세한 설명

[0032] 본 설명을 읽은 후, 다양한 대안적인 구체예 및 대안적인 적용에서 본 발명을 구현하는 방법이 본원발명이 속하는 기술 분야의 당업자에게 자명해질 것이다.

[0033] 그러나, 본 발명의 모든 다양한 구체예가 본 명세서에 기재되지 않는다. 본 명세서에 제시된 구체예는 예시로만 제시되며, 한정이 아닌 것으로 이해될 것이다. 따라서, 이 다양한 대안적 구체예의 상세한 설명은 하기에 기재된 본 발명의 영역 또는 범위를 한정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0034] 본 발명을 개시하고 기술하기 전에, 하기에 기재된 양태(aspect)는 특정한 조성물, 그러한 조성물의 제조 방법, 또는 그의 용도에 한정되지 않고, 따라서, 변할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 양태만을 설명하기 위한 목적이고, 한정하는 것으로 의도되지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0035] 본 발명의 상세한 설명은 단지 독자의 편의를 위해 다양한 섹션으로 분리되고 임의의 섹션에서 발견되는 개시는 또 다른 섹션의 개시와 조합될 수 있다. 제목 또는 부제(subtitle)는 본 명세서에서 독자의 편의를 위해 사용될 수 있고, 이는 본 발명의 범위에 영향을 미치는 것으로 의도되지 않는다.

[0036] ***정의***

[0037] 달리 정의되지 않으면, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서 및 뒤이은 청구항에서, 하기의 의미를 갖는 것으로 정의될 다수의 용어들에 대한 참조(reference)가 있을 것이다:

[0038] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정한 구체예를 기술하기 위한 목적만을 가지며, 본 발명의 범위를 한정하도록 의도되지 않는다. 본 명세서에서 사용된, 단수 형태 "하나(a, an)" 및 "그(the)"는, 문맥상 명확하게 달리 표시되지 않으면, 복수 형태도 포함하도록 의도된다.

[0039] "선택적(optional)" 또는 "선택적으로(optionally)"는 후속적으로 기술된 사건 또는 상황이 일어날 수 있거나 또는 일어나지 않을 수 있고, 그 기재는 사건 또는 상황이 일어난 경우 및 일어나지 않은 경우를 포함한다는 것을 의미한다.

[0040] 본 명세서에서 수치적 지정(numerical designation), 예를 들면, 범위를 포함한, 온도, 시간, 양, 농도, 등의 앞에 사용되는 경우 용어 "약(about)"은 (+) 또는 (-) 10%, 5%, 1%, 또는 그 사이의 부속 범위(subrange) 또는 부속 값(subvalue) 만큼 변할 수 있는 근사값을 나타낸다. 바람직하게는, 용량(dose amount)와 관련하여 사용될 때, 용어 "약"은 용량이 +/- 10% 변할 수 있다는 것을 의미한다.

[0041] "포함하는(comprising)" 또는 "포함하다(comprises)"는 조성물 및 방법이 기재된 요소들을 포함하나, 다른 것들을 배제하지 않는다는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 조성물 및 방법을 정의하기 위해 사용된 경우, "필수적으로 구성된(consisting essentially of)"은 명시된 목적을 위한 조합에 대한 필수적 중요성(essential significance)의 다른 요소들을 배제하는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서에 정의된 요소들로 필수적으로 구성된 조성물은 청구된 발명의 기본적 및 신규한 특징에 실질적으로 영향을 미치지 않는 기타 물질 또는 단계를 배제하지 않을 것이다. "구성된(consisting of)"은 기타 성분 및 실질적인 방법 단계의 미량 요소를 초과하는 것들을 배제하는 것을 의미할 것이다. 이러한 전환 용어 각각에 의해 정의된 구체예가 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0042] 본 명세서에서 사용된, 용어 "치료량-미만(sub-therapeutic)"은 암을 치료하기 위해 통상적으로 사용되는 항체의 양 미만인 항체의 양을 기술하기 위해 사용된다. 예를 들면, 치료량-미만 양은 치료를 위해 요구되는 것으로 제조사에 의해 정의된 양보다 적은 양이다.

[0043] 본 명세서에서 사용된 용어 "나노입자(nanoparticle)" 또는 "나노입자 조성물(nanoparticle composition)"은 5 마이크론 미만인 하나 이상의 크기(dimension)를 갖는 입자를 의미한다. 바람직한 구체예에서, 예를 들면, 정맥내 투여를 위한 것들의 경우, 나노입자는 1 마이크론 미만이다. 종양으로의 직접 투여의 경우, 입자는 더 클 수 있다. 훨씬 더 큰 입자가 명확하게 본 발명에 의해 고려된다.

[0044] 입자의 집단에서, 개별적인 입자의 크기는 평균의 주위에 분포된다. 따라서, 집단의 입자 크기는 평균에 의해, 및 또한 백분위수(percentile)에 의해 나타낼 수 있다. D50은 입자의 50%가 그보다 작은 입자 크기이다. 입자의 10%는 D10 값보다 더 작고, 입자의 90%는 D90보다 더 작다. 불명확한 경우, "평균(average)" 크기는 D50과 동등하다. 따라서, 예를 들면, AA130은 130 나노미터의 평균 크기를 갖는 나노입자를 의미한다.

[0045] 용어 "나노입자(nanoparticle)"는 또한 보다 작은 단위 나노입자들의 별개의 다량체(discrete multimer)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 320 nm 입자는 단위 160 nm 나노입자의 이량체를 포함한다. 160 nm 나노입자의 경우, 따라서, 다량체는 PCT/US15/54295에 기재된 바와 같이 Mastersizer 2000 (영국, 우스터셔의 Malvern Instruments Ltd로부터 입수가능함)에 의해 결정된, 대략적으로 320 nm, 480 nm, 640 nm, 800 nm, 960 nm, 1120 nm, 등일 것이다.

[0046] 본 명세서에서 사용된 용어 "바이오시밀러(biosimilar)는 혁신 기업(innovator company)에 의해 판매되는 기준 제품(reference product) 대비 특성, 안전성, 및 효능에서 비교할 만한 것으로 여겨지는 생물의약품(biopharmaceutical)을 의미한다(공중 보건 서비스 법(Public Health Service Act)(42 U.S.C. 262(i))의 섹션 351(i)).

[0047] 본 명세서에서 사용된 용어 "담체 단백질(carrier protein)"은 항체 및/또는 치료제를 수송하기 위해 기능하는

단백질을 의미한다. 본 개시의 항체는 가역적으로 담체 단백질에 결합할 수 있다. 담체 단백질의 예는 하기에서 보다 상세하게 검토된다.

[0048] 본 명세서에서 사용된 용어 "코어(core)"는 담체 단백질, 담체 단백질과 치료제, 또는 기타 작용제, 또는 작용제들의 조합으로 구성될 수 있는 나노입자 복합체의 중심 부분 또는 속 부분(inner portion)을 의미한다. 일부 구체예에서, 항체는 코어와 비-공유결합에 의해 결합(복합체화(complex))될 수 있다.

[0049] 암환자와 관련하여 본 명세서에서 사용된 용어 "치료적 성과를 높이는(enhancing the therapeutic outcome)" 등은 암세포 또는 고형 종양의 성장의 둔화 또는 감소, 또는 암세포의 총 개수 또는 총 종양 부하(total tumor burden)의 감소를 의미한다.

[0050] 본 명세서에서 사용된 용어 "치료제(therapeutic agent)"는 치료적으로 유용한 작용제, 예를 들면, 질병 상태, 생리적 상태(physiological condition), 증상, 병인적 요인(etiological factor)의 치료, 진정(remission), 또는 약화(attenuation)을 위한 작용제, 또는 그의 평가 또는 진단을 위한 작용제를 의미한다. 치료제는 화학요법제(chemotherapeutic agent), 예를 들면, 유사분열 저해제(moitotic inhibitor), 토포이소머라아제 저해제(topoisomerase inhibitor), 스테로이드, 항-종양 항생제(anti-tumor antibiotic), 대사길항제(antimetabolite), 알킬화제(alkylating agent), 효소, 프로테오좀 저해제(proteasome inhibitor), 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0051] 본 명세서에서 사용된, 용어 "결합제(binding agent)", "특이적 결합제(binding agent specific for)" 또는 "특이적으로 결합하는 결합제(binding agent that specifically binds)"는 표적 항원에 결합하고, 관련없는 화합물에 유의성있게 결합하지 않는 작용제를 의미한다. 바람직하게는, 결합제는 10^{-7} M, 10^{-8} M, 또는 10^{-9} M 또는 그 미만의 해리 상수(Kd)를 갖는 높은 특이성으로 표적 항원에 결합한다. 바람직하게는, 해리 상수는 약 10^{-7} M 내지 약 10^{-14} M이다. 개시된 방법에서 효과적으로 사용될 수 있는 결합제의 예는 렉틴, 단백질, 및 항체, 예를 들면, 단일클론 항체, 예를 들면, 인간화 단일클론 항체, 키메라 항체(chimeric antibody), 또는 다중클론 항체, 또는 그의 항원-결합 단편, 및 앱타머(aptamer), 융합 단백질, 및 알부민-결합 모티프를 갖거나 또는 그에 융합된 앱타머를 포함하나, 그에 한정되지 않는다. 일 구체예에서, 결합제는 외생 항체(exogenous antibody)이다. 외생 항체는 특정 포유동물, 예를 들면, 인간에서 포유동물 면역계에 의해 천연적으로 생성되지 않는 항체이다.

[0052] 본 명세서에서 사용된 용어, "항-PD-L1 결합제(anti-PD-L1 binding agent)", "특이적 항-PD-L1 결합제(anti-PD-L1 binding agent specific fo)," 또는 "특이적으로 결합하는 항-PD-L1 결합제(anti-PD-L1 binding agent that specifically binds)"는 PD-L1에 결합하고 관련없는 화합물에 유의성있게 결합하지 않는 작용제를 의미한다. 바람직하게는, PD-1 결합제는 10^{-7} M, 10^{-8} M, 또는 10^{-9} M 또는 그 미만의 해리 상수를 갖는 높은 특이성으로 PD-L1에 결합한다. 바람직하게는, 해리 상수는 약 10^{-7} M 내지 약 10^{-14} M이다. 개시된 방법에서 효과적으로 사용될 수 있는 항-PD-L1 결합제는 항체, 예를 들면, 단일클론 항체, 예를 들면, 인간화 단일클론 항체(humanized monoclonal antibody), 키메라 항체, 또는 다중클론 항체, 또는 그의 항원-결합 단편, 및 앱타머, 융합 단백질, 및 앱타머를 포함하나, 그에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 결합제는 알부민-결합 모티프를 갖거나 또는 그에 융합된다. 구체예에서, 항-PD-L1 결합제는 외생 항체이다.

[0053] 본 명세서에서 사용된 용어 "항체(antibody)" 또는 "항체들(antibodies)"은 면역글로불린 분자(즉, 면역-특이적으로 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 분자) 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분(immunologically active portion)을 의미한다. 이 용어는 또한 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄로 구성된 항체 및 전장 항체(full length antibody) 및 그의 부분을 포함하는 다양한 형태를 의미하고; 예를 들면, 면역글로불린 분자, 단일클론 항체, 키메라 항체, CDR-그라프트 항체(CDR-grafted antibody), 인간화 항체(humanized antibody), Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 이황화결합-연결 Fv(disulfide linked Fv), scFv, 단일 도메인 항체(dAb), 디아바디(diabody), 다중특이성 항체(multispecific antibody), 이중 특이성 항체(dual specific antibody), 항-유전자형 항체(anti-idiotypic antibody), 이중 특이성 항체(bispecific antibody), 그의 기능적 활성 에피토프-결합 단편(functionally active epitope-binding fragment thereof), 이관능성 하이브리드 항체(bifunctional hybrid antibodies)(예를 들면, Lanzavecchia *et al.*, *Eur. J Immunol.* 17, 105 (1987)) 및 단쇄 (예를 들면, 참조에 의해 본 명세서에 포함된, Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. US.A.,* 85, 5879-5883 (1988) and Bird *et al.*, *Science* 242, 423-426 (1988))를 포함한다. (일반적으로, 참조

에 의해 본 명세서에 포함된, Hood *et al.*, *Immunology,* Benjamin, N.Y., 2ND ed. (1984); Harlow and Lane, *Antibodies. A Laboratory Manual,* Cold Spring Harbor Laboratory (1988); Hunkapiller and Hood, *Nature,* 323, 15-16 (1986) 참조). 항체는 임의의 종류일 수 있다(예를 들면, IgG, IgA, IgM, IgE 또는 IgD). 바람직하게는, 항체는 IgG이다. 항체는 비-인간(non-human)(예를 들면, 마우스, 염소, 또는 임의의 다른 동물 유래) 항체, 완전 인간(fully human) 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체일 수 있다. 일 구체예에서, 항체는 외생 항체이다. 외생 항체는 특정 포유동물, 예를 들면, 인간에서 포유동물 면역계에 의해 천연적으로 생성되지 않는 항체이다.

[0054] "Kd"로도 지칭되는 용어 "해리 상수(dissociation constant)"는 특정 물질이 개별적인 성분(예를 들면, 단백질 담체, 항체, 및/또는 치료제)으로 분리되는 정도를 표현하는 양을 의미한다.

[0055] 본 명세서에서 사용된 용어 "동결건조된(lyophilized)", "동결건조(lyophilization)", 등은 건조대상 물질(예를 들면, 나노입자)이 먼저 동결되고 그 후, 얼음 또는 동결된 용매가 진공 환경에서 승화에 의해 제거되는 것인 과정을 의미한다. 보관 시 동결건조된 제품의 안정성을 강화하기 위해 미리-동결건조된 제형에 선택적으로 부형제가 포함된다. 일부 구체예에서, 나노입자 복합체는 치료제로 사용되기 전에 동결건조된 성분들(담체 단백질, 항체, 및 치료제)로부터 형성될 수 있다. 다른 구체예에서, 담체 단백질, 항체, 및 치료제를 먼저 나노입자 복합체 내로 조합하고, 그 후, 동결건조시킨다. 동결건조된 시료는 추가적인 부형제를 더 포함할 수 있다.

[0056] 용어 "완충제(buffer)"는 동결건조 전에 용액 pH를 허용가능한 범위에서 유지시키는 작용제들을 포함하고, 숙시네이트(소디움 또는 포타슘), 히스티딘, 포스페이트(소디움 또는 포타슘), 트리스(Tris)(트리스(히드록시메틸)아미노메탄), 디에탄올아민, 시트레이트(소디움), 등을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 완충제는 약 5.5 내지 약 6.5 범위의 pH를 갖고, 바람직하게는 약 6.0의 pH를 갖는다. pH를 이 범위에서 조절할 완충제의 예는 숙시네이트(예를 들면, 소디움 숙시네이트), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트, 및 기타 유기산 완충제(organic acid buffer)를 포함한다.

[0057] 용어 "약제학적 제형(pharmaceutical formulation)"은 활성 성분이 유효할 수 있게 하는 형태이고, 제형이 투여되는 개체에게 유독한 어떠한 추가적인 성분도 포함하지 않는 제제(preparation)를 의미한다.

[0058] "약제학적으로 허용가능한(pharmaceutically acceptable)" 부형제(비히클, 첨가제)는 사용된 활성 성분의 유효량을 제공하기 위해 대상 포유동물에 합리적으로 투여될 수 있는 것들이다.

[0059] 용어 "재구성 시간(reconstitution time)"은 동결건조된 제형을 용액으로 재수화시키기 위해 요구되는 시간이다.

[0060] "안정한(stable)" 제형은 보관시, 그 내부의 단백질이 필수적으로 그의 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 유지하는 것인 제형이다.

[0061] 본 명세서에서 사용된 용어 "에피토프(epitope)"는 항체에 의해 인식되는 항원의 부분을 의미한다. 에피토프는 단백질(예를 들면, 항체) 또는 리간드와 특이적 상호작용을 가능하게 하는, 짧은 아미노산 서열 또는 펩티드(선택적으로 글리코실화되거나 또는 달리 변형된 펩티드)를 포함하나, 그에 한정되지 않는다. 예를 들면, 에피토프는 항체의 항원-결합 부위가 부착되는 분자의 부분일 수 있다.

[0062] 용어 "치료하는(treating)" 또는 "치료(treatment)"는 개체, 예를 들면, 인간에서 질병 또는 질환(예를 들면, 암)의 치료를 의미하고, (i) 질병, 또는 질환의 억제, 즉, 그의 발달(development)의 정지; (ii) 질병 또는 질환의 완화, 즉, 질병 또는 질환의 경감(regression) 유발; (iii) 질병 또는 질환의 진행 둔화; 및/또는 질병 또는 질환의 하나 이상의 증상의 억제, 완화, 또는 진행 둔화를 포함한다. 일부 구체예에서, "치료하는" 또는 "치료"는 암세포를 사멸시키는 것을 의미한다.

[0063] 암 치료와 관련하여, 용어 "사멸(kill)"은 암세포, 또는 암세포의 집단의 적어도 일부의 사망을 초래할 임의의 종류의 조작(manipulation)을 포함하는 것으로 지시된다.

[0064] 용어 "용량(dose)"은 필요로 하는 환자에게 주어지는 항체 또는 나노입자 복합체의 양을 의미한다. 주치의는, 모두 통상의 기술 범위에 속하는 인자들, 예를 들면, 환자의 체중, 연령, 건강, 암의 병기(stage), 순환 PD-L1의 수준, 및 기타 관련 인자에 근거하여 범위들로부터 적합한 용량을 선택할 것이다.

[0065] 용어 "단위 용량(unit dose)"은 원하는 결과를 제공하기 위해 환자에게 주어지는 항체 또는 나노입자 복합체의 용량을 의미한다. 일부 경우에, 단위 용량이 치료량-미만 제형(sub-therapeutic formulation)(예를 들면, 치료적 용량의 10%)으로 판매된다. 단위 용량은 단일 용량 또는 일련의 부분 용량(subdose)으로 투여될 수 있다. 주

어진 FDAP-허가 적응증에 대한 항체의 치료적 용량이 처방 정보(prescribing information)에 기재되고, 예를 들면, 국소 진행형 또는 전이형 요로상피 암종을 가진 환자의 치료를 위해 허가된, 아테졸리주맙의 치료적 용량은 질병 진행 또는 허용가능하지 않은 독성이 나타날때까지 매 3주마다 60분 또는 30분에 걸쳐 정맥내 주입으로 1200 mg이고, 바람직하게는 치료량 미만 용량은 치료적 용량의 5% 내지 20% 범위이다. 그러한 바람직한 구체예에서, 치료량 미만 용량은 60 mg/kg 내지 240 mg/kg, 보다 바람직하게는 120 mg/kg 내지 180 mg/kg 범위일 것이다. 항체가 FDA 허가를 받지 않거나 항체가 해당 적응증에 대해 아직 허가되지 않은 경우 항체에 대한 치료적 용량은 다른 적응증에 대해 허가된 치료적 용량과 상관된 양일 것이고, 따라서, 비-FDA 허가 적응증(non-FDA approved indication)에 대한 치료량 미만 양은 치료적 용량의 퍼센트(예를 들면, 치료적 용량의 10%)로 용이하게 계산된다. 예를 들면, 전이성 흑색종의 치료를 위한 항체의 치료적 용량 및 따라서, 치료량 미만 용량은 일반적으로, 승인된 전이성 암에 대한 치료적 용량과 상관된다.

[0066] 추가적으로, 본 명세서에서 사용되는 일부 용어는 보다 구체적으로 하기에 정의된다.

[0067] *개요*

[0068] 본 개시를 읽은 후 당업자에게 자명할 바와 같이, 본 개시는 PD-L1을 발현하는 암세포, 구체적으로, 항-PD-L1 항체 면역요법에 의한 치료에 대해 내성이 있거나 또는 내성을 갖게된 암세포를 갖는 환자를 치료적 유효량의 파클리탁셀을 포함하는 담체 단백질/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체로 치료하는 것에 의해 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0069] 본 개시는 또한, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양, 및 치료적 유효량의 파클리탁셀을 포함하는 담체 단백질/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체로 환자를 치료하는 것에 의해, PD-L1을 발현하는 암세포, 구체적으로, 항-PD-L1 항체 면역요법에 의한 치료에 대해 내성이 있거나 또는 내성을 갖게된 암세포를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0070] **항-PD-L1 항체**

[0071] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전이다.

[0072] 아테졸리주맙(TECENTRIQ™, Roche, USA)은 PD-L1에 대한 IgG1 이소형의 완전 인간화, Fc-변형 단일클론 항체이다. 아테졸리주맙은 국소 진행된(locally advanced) 또는 전이형 요로상피 암종(방광암 포함) 및 비소세포폐암을 가진 환자의 치료를 위해 허가된 PD-L1 차단 항체이다.

[0073] 기타 항-PD-L1 항체, 예를 들면, BMS-936559/MDX-1105(Bristol Myers Squibb), MeDI4736(두르발루맙, MedImmune/AstraZeneca), 및 MSB00100718C(아벨루맙, EMD Serono)가 또한 당해 분야에서 알려져 있다.

[0074] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 항-PD-L1 항체의 치료적 용량의 약 1%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55% 또는 약 60%로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0075] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 종양과 결합된 PD-L1을 차단하지 않으면서, 우선적으로 순환 PD-L1을 차단하는 양이다.

[0076]

[0077] **복합체(Complex)**

[0078] 담체 단백질/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 제조에 적합한 방법이 예를 들면, 2014년 10월 6일자로 출원된 미국 임시출원 제62/060,484호; 및 2015년 8월 18일자로 출원된 미국 임시출원 제62/206,770호, 제62/206,771호 및 제62/206,772호, 및 2015년 10월 6일자로 출원된 PCT 공개 WO2016/057554, 및 2013년 9월 30일자로 출원된 WO2014/055415에 기재된다. 이 출원들 각각의 내용이 참조에 의해 그 전체로 구체적으로 본 명세서에 포함된다. 하기 실시예 1은 그러한 복합체를 제조하는 것에 대한 상세한 프로토콜의 일 예를 제공한다.

[0079] 본 명세서에 기재된 방법에서 사용될 수 있는 나노입자 복합체는 또한 항-PD-L1 항체가 아닌 PD-L1 결합제를 포함할 수 있다. 그러한 PD-L1 결합제는 PD-L1 결합 부분 및 알부민-결합 모티프를 포함하고, 상기 PD-L1 결합제는 담체 단백질-결합 화학요법제, 예를 들면, 알부민-결합 파클리탁셀 나노입자, 예를 들면, ABRAXANE®은와 복합체화되어, 예를 들면, 동결건조 및 재구성 후, PD-L1에 결합하는 능력을 유지하는 나노입자 복합체를 형성한다. 예를 들면, PD-L1 결합제는 알부민-결합 모티프, 등을 갖거나 또는 그에 융합된 PD-L1-결합 앱타머일 수 있다.

[0080] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전이다. 일부 구체예에서, 항체는 나노입자의 표면 전체 또는 일부에 있는 항체의 실질적 단일층이다. 일부 구체예에서, 나노입자 복합체는 약 100개 내지 1000개의 항체, 또는 약 400개 내지 약 800개의 항체를 포함한다.

[0081] 일부 구체예에서, 담체 단백질은 알부민, 예를 들면, 인간 혈청 알부민이다. 일부 구체예에서, 상기 알부민은 재조합 인간 혈청 알부민이다.

[0082] 일부 구체예에서, 복합체는 하나 이상의 추가적인 화학요법제, 예를 들면, 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀, 시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 이마티닙, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 및 시클로포스파미드로 구성된 군으로부터 선택된 화학요법제를 더 포함한다.

[0083] 일부 구체예에서, 담체-결합 화학요법제는 알부민-결합 파클리탁셀, 예를 들면, ABRAXANE® (Celgene)이다.

[0084] 일 구체예에서, 나노입자 복합체의 항체는 나노입자 복합체의 위에 및/또는 내부에, 예를 들면, 알부민-결합 파클리탁셀 코어의 표면 상에 통합된다. 일 구체예에서, 나노입자 복합체의 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)-결합 파클리탁셀 코어의 표면에 배열된다. 일 구체예에서, 나노입자 복합체의 항체는 알부민-결합 파클리탁셀 코어와 결합되어 있다(associate). 일 구체예에서, 나노입자 복합체의 항체들은 나노입자 복합체 중 담체 단백질, 예를 들면, 알부민과 비-공유결합에 의해 결합(그에 직접 결합(bound to))되어 있다. 일 구체예에서, 담체 단백질(예를 들면, 알부민)과 파클리탁셀은 비-공유결합을 통해 결합(상호 간에 직접 결합)되어 있다.

[0085] 본 발명의 일부 구체예에서, 상기 나노입자 복합체를 포함하는 조성물은 추가적인 화학요법제를 더 포함할 수 있다. 추가적인 화학요법제는 예를 들면, 알킬화제, 예를 들면, 백금계 화합물(platinum compound), 예를 들면, 카르보플라틴일 수 있다.

[0086] 일부 구체예에서, 나노입자 복합체 크기는 약 90 nm, 100 nm, 130 nm, 160 nm, 200 nm, 300 nm, 400 nm, 500 nm, 600 nm, 700 nm 또는 800 nm를 포함한, 0.09 ㎛ 내지 0.9 ㎛, 90 nm 내지 800 nm이다. 일부 구체예에서, 나노입자 복합체 크기는 약 100 nm 내지 약 225 nm이다. 다른 구체예에서, 나노입자 복합체는 더 크고, 예를 들면, 800 nm 초과 내지 약 3.5 ㎛이다. 일부 구체예에서, 입자는 나노입자 복합체의 다량체이다. 일부 구체예에서, 신선하게 제조되거나, 동결건조 및 주사에 적합한 수용액 중 재현탁 후, 나노입자 복합체는 약 100 nm 내지 약 225 nm의 평균 입자 크기를 갖는다.

[0087] 이론에 의해 한정되지 않으면서, 결합제는 속성상 약한, 소수성 상호작용을 통해 담체 단백질에 의해 결합되는 것으로 사료된다. 그러나, 나노입자 중 개별적인 성분들의 활성 및 그들의 상대적 관계는 조성물의 동결건조 및 재구성에도 불구하고 보존된다. 또한, 담체 단백질로의 결합, 예를 들면, 결합제의 담체 단백질로의 복합체 형성(complexation)은 결합제 상의 알부민 결합 모티프, 및/또는 담체 단백질 상의 항체-결합 모티프를 통해 일어나는 것으로 고려된다. 알부민-결합 모티프 및 항체-결합 모티프는 참조에 의해 그 전체가 본 명세서에 포함된, 2017년 8월 4일자로 출원된 PCT 출원 PCT/US17/45643에 기재된다. 일부 구체예에서, 결합제는 비-치료적 및 비-내재성(on-therapeutic and non-endogenous) 인간 항체, 융합 단백질, 예를 들면, 항체 Fc 도메인의 표적 항원에 결합하는 펩티드로의 융합체, 또는 앱타머이다.

[0088] **치료 방법**

[0089] 일 양태에서 PD-L1을 발현하는 암을 갖는 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 환자에게 암을 치료하기 위해 치료적 유효량의 항-PD-L1/알부민/파클리탁셀 나노입자를 투여하는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다. 일 구체예에서, 상기 방법은 PD-L1을 발현하는 암을 가진 환자를 선택하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 PD-L1을 발현하고, 관문 억제제 면역요법(checkpoint inhibitor immunotherapy)에 의한 치료에 대해 내성을 갖는 암을 가진 환자를 선택하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 관문 억제제 면역요법은 본 명세서에 기재된 나노입자 복합체의 일부가 아닌 항-PD-L1 항체를 포함한다.

[0090] 일 양태에서 필요로 하는 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 환자는 치료량-미만 양의 항-PD-L1 항체 및 치료적 유효량의 파클리탁셀을 포함하는 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체에 의해 치료되어, 상기 치료량-미만 양의 항-PD-L1 항체가 상기 나노입자 복합체의 효능을 높이는 것인 방법이 제공된다. 상기 치료를 필

요로 하는 개체는 암세포가 PD-L1을 발현하거나 또는 과발현하는 것인 암을 앓는 개체일 수 있다. 상기 개체는 또한 암세포가 PD-L1을 발현하거나 또는 과발현하나, 항-PD-L1 항체 면역요법에 의한 치료에 대해 내성을 갖는 것인 암을 앓는 개체일 수 있다. 일 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양은 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 결합 화학요법제를 포함하는 나노입자 복합체가 아니다("비복합(uncomplexed)" 항-PD-L1 항체).

[0091] 일 구체예에서, 상기 방법은 암세포가 PD-L1을 발현하거나 또는 과발현하는 것인 암을 가진 환자를 선택하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 암세포가 PD-L1을 발현하거나 또는 과발현하나, 항-PD-L1 항체 면역요법에 의한 치료에 대해 내성을 갖는 것인 암을 가진 환자를 선택하는 단계를 포함한다. 종양이 PD-L1을 발현하는 세포를 포함하는지 여부를 결정하는 방법, 예를 들면, 예를 들면, 전이성 요로상피 암을 가진 환자의 PD-L1 상태를 제공하는 보완적 진단으로 FDA에 의해 허가된 Ventana PD-L1(sp263) Assay(Roche), 및 PD-L1 IHC 28-8 pharmDx 분석법(Dako, Agilent Pathology Solutions)이 당해 분야에서 알려져 있다.

[0092] 본 발명의 일부 구체예에서, 나노입자 복합체는 항-PD-L1 항체가 아닌 PD-L1 결합제를 포함한다. 본 발명의 일부 구체예에서, 나노입자 복합체는 "비복합" 항-PD-L1 항체와 동일한 항체인 항-PD-L1 항체를 포함한다. 본 발명의 일부 구체예에서, 나노입자 복합체는 "비복합" 항-PD-L1 항체와 다른 항체인 항-PD-L1 항체를 포함한다.

[0093] 환자는 치료량 미만 양의 항-PD-L1 항체 및 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체로 병용-치료될 수 있다.

[0094] 명확화를 위해, "병용-치료(co-treatment)"는 항-PD-L1 항체가 순환 PD-L1에 결합할 수 있도록, PD-L1을 발현하는 암을 담체(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체의 투여 전, 그와 동시에, 또는 그 직후에 항-PD-L1 항체로 치료하는 것을 의미한다.

[0095] 일 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 상기 나노입자 복합체의 투여 전에 치료량-미만 양으로 투여된다. 이 구체예에서, 항-PD-L1 항체의 투여는 상기 나노입자 복합체의 투여 전 약 0.5 시간 내지 48시간에 일어난다.

[0096] 또 다른 구체예에서, 항-PD-L1 항체 조성물이 상기 나노입자 복합체의 투여 전 0.5 시간 내지 투여 후 0.5 시간에 투여된다. 이 구체예에서, 그러한 투여는 그럼에도 불구하고 항체에 의한 일부 순환 PD-L1의 결합을 초래할 것으로 고려된다.

[0097] 또 다른 구체예에서, 항체 조성물은 나노입자 복합체의 투여 후 2 시간까지 투여될 수 있다.

[0098] 바람직한 양태에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양에 의한 환자의 전치료(pretreatment) 후 약 0.5 시간 내지 48 시간에 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체를 투여하는 것에 의해 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체의 효능을 높이는 방법이 제공된다. 바람직하게는, 그러한 나노입자 복합체는 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 투여 후 약 24시간에 투여된다.

[0099] 또 다른 양태에서, 알부민, 파클리탁셀, 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자로 치료되도록 선택된, PD-L1을 발현하는 암을 앓는 환자에서 치료적 성과를 높이는 방법으로서, 상기 방법은 상기 환자를 상기 나노입자에 의한 후속 치료 전에 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양에 의해 치료하는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다.

[0100] 또 다른 양태에서, PD-L1을 과발현하는 암을 앓는 환자에서 치료적 성과를 높이는 방법으로서, 상기 방법은 상기 환자를 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양 및 알부민-결합 파클리탁셀 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자의 유효량으로 병용 치료하는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다.

[0101] 또 다른 양태에서, PD-L1을 발현하는 암을 앓는 환자에서 치료적 성과를 높이는 방법으로서, 상기 환자는 알부민, 파클리탁셀, 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자 복합체로 치료되고, 상기 방법은 상기 환자를 상기 나노입자의 투여의 +/- 0.5 시간 내에 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양으로 치료하는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다.

[0102] 또 다른 양태에서, 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양으로 치료되었던, PD-L1을 과발현하는 암을 앓는 환자에서 치료적 성과를 높이는 방법으로서, 상기 방법은 상기 환자를 상기 항체의 투여의 +/- 0.5 시간 내에 알부민-결합 파클리탁셀 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 나노입자의 유효량으로 치료하는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다.

[0103] 일부 구체예에서 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여 전에 투여되고, 예를 들면, 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여 전 수분, 수시간 또는 수일에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면,

알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체의 투여 전 약 5 내지 약 59 분, 약 10 내지 약 50 분, 약 15 내지 약 45 분, 약 20 내지 약 40 분, 약 25 내지 약 35분에 투여될 수 있다. 다른 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여 전 약 1 시간, 약 2 시간, 약 3 시간, 약 4 시간, 약 5 시간, 약 6 시간, 약 12 시간, 약 24 시간, 약 48 시간, 약 72 시간, 또는 그 이상의 시간에 투여될 수 있다. 다른 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여 전 약 1 일, 약 2 일, 약 3 일, 약 4 일, 약 5 일, 약 6 일, 약 7 일, 약 10 일, 약 12 일, 약 15 일, 또는 그 이상에 투여될 수 있다. 고려되는 값들은 종말점을 포함한, 본 명세서에 기재된 범위 내의 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0104] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여와 동시에, 예를 들면, 상호 간에 10분 이하 내에 투여될 수 있다.

[0105] 다른 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여 후에, 예를 들면, 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체의 투여 후 2시간 이내에 투여될 수 있다.

[0106] 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 암 또는 종양은 하기를 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 담도암; 교모세포종 및 수모세포종(medulloblastoma)을 포함한, 뇌암; 유방암; 자궁경부암; 융모막암종(choriocarcinoma); 결장암; 자궁내막암(endometrial cancer); 식도암, 위암; 급성 림프성 백혈병 및 급성 골수성 백혈병을 포함한 혈액 신생물(hematological neoplasm); 다발성 골수종; AIDS 관련 백혈병 및 성인 T-세포 백혈병 림프종 (AIDS-associated leukemias and adult T-cell leukemia lymphoma); 보웬병(Bowen's disease) 및 파제트병(Paget's disease)을 포함한 상피내 신생물(intraepithelial neoplasm); 간암(간암종); 폐암; 호지킨병(Hodgkin's disease) 및 림프구성 림프종(lymphocytic lymphoma)을 포함한 림프종; 신경모세포종; 편평세포 암종을 포함한, 구강암; 상피 세포, 기질 세포(stromal cell), 생식 세포(germ cell) 및 중간엽 세포(mesenchymal cell)로부터 유래된 것들을 포함한 난소암; 췌장암; 전립선암; 직장암; 평활근육종(leiomyosarcoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 지방육종(liposarcoma), 섬유육종(fibrosarcoma) 및 골육종을 포함한, 육종; 흑색종, 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 기저세포암(basocellular cancer) 및 편평세포암을 포함한 피부암; 생식 종양(germinal tumor)(정상피종(seminoma), 비-정상피종(non-seminoma)[기형종(teratoma), 융모막 암종(choriocarcinoma)]), 기질 종양(stromal tumor), 및 생식세포 종양(germ cell tumor)을 포함한 정소암; 갑상선 선암(adenocarcinoma) 및 수질 암종(medullar carcinoma)을 포함한, 갑상선암; 및 선암 및 윌름스 종양(Wilms tumor)를 포함한 신장암. 본 명세서에 기재된 방법에 의한 치료에 적합한 암은 PD-L1을 발현하거나 과발현하는 암을 포함하나, 그에 한정되지 않는다. 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 수 있는 암은 면역요법에 반응했으나, 항-PD-L1 항체 면역요법에 대해 내성을 가지게 된 암을 포함한, 항-PD-L1 항체 면역요법에 의한 치료에 내성을 갖는 암을 포함하고, 상기 항-PD-L1 항체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)-결합 화학요법제(예를 들면, ABRAXANE®)를 포함하는 나노입자와 복합체를 형성하지 않은 것이다.

[0107] **항체 제형(Antibody Formulations)**

[0108] 일 양태에서, 항-PD-L1 항체는 항체의 치료적 용량의 약 1% 내지 약 60%를 포함하는, 항-PD-L1 항체의 단위-용량 제형이고, 상기 제형은 단위 용량으로 투여되도록 포장된다. 본 발명의 양태에서, 항-PD-L1 항체의 단위-용량 제형은 항체의 치료적 용량의 약 10%를 포함한다. 예를 들면, 항-PD-L1 항체, 예를 들면, 아테졸리주맙의 치료적 용량의 10%는 60 mg 내지 240 mg일 수 있다.

[0109] 항-PD-L1 항체의 단위-용량 제형은 항-PD-L1 항체의 치료적 용량의 약 1% 내지 약 60%, 약 5% 내지 약 50%, 약 10% 내지 약 40%, 약 15% 내지 약 30%, 약 20% 내지 약 25%일 수 있다. 고려되는 값들은 종말점을 포함한, 본 명세서에 기재된 범위 내의 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0110] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전이고, 상기 제형은 아테졸리주맙 또는 그의 바이오시밀러 버전의 치료적 용량의 약 5% 내지 약 20% 를 포함한다.

[0111] 또 다른 양태에서, 본 명세서에서 제공되는 항-PD-L1 항체, 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 제형이 본 명세서에서 제공된다.

[0112] 일반적으로, 본 명세서에 제공된 단위-용량 제형은 임의의 허용되는 투여 모드에 의해 환자로의 투여를 위해 제제화될 수 있다. 다양한 제형 및 약물 전달 시스템이 당해 분야에서 이용가능하다. 예를 들면, E. W. Martin (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990)에 의한 Remington's Pharmaceutical Sciences 참조.

[0113] 일반적으로, 본 명세서에서 제공된 단위-용량 제형은 하기 경로 중 하나에 의해 약제학적 조성물로서 투여될 것

이다: 경구 투여, 전신 투여(예를 들면, 경피, 비강내, 또는 좌제(suppository)에 의한 투여), 또는 비경구(예를 들면, 근육내, 정맥내, 또는 피하) 투여.

[0114] 단위-용량 제형은 선택적으로 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제와 조합된, 항-PD-L1 항체로 일반적으로 구성될 수 있다. 허용가능한 부형제는 무독성이고, 투여를 보조하고, 청구된 화합물의 치료적 잇점에 부정적으로 영향을 미치지 않는다. 그러한 부형제는 당업자에게 일반적으로 이용가능한, 고체, 액체, 또는 반-고체, 또는 에어로졸 조성물의 경우, 기체 부형제이다.

[0115] 나노입자 복합체 제형

[0116] 일 양태에서, 본 명세서에 기재된 나노입자 복합체를 포함하는 조성물은 전신 전달, 예를 들면, 정맥내 투여를 위해 제제화된다.

[0117] 일 양태에서, 나노입자 조성물은 종양으로의 직접 주사를 위해 제제화된다. 직접 주사는 종양 부위 또는 종양 근위부로의 주사, 종양으로의 관류, 등을 포함한다. 나노입자 조성물은 전신으로 투여되지 않기 때문에, 나노입자 조성물은 종양으로의 직접 주사를 위해 제제화되고, 임의의 평균 입자 크기를 포함할 수 있다. 이론에 의해 한정되지 않으면서, 더 큰 입자(예를 들면, 500 nm 초과, 1 ㎛ 초과, 등)는 종양 내에 고정화될 가능성이 더 높아서, 보다 우수한 유익한 효과인 것으로 사료되는 것을 제공할 것으로 보인다.

[0118] 또 다른 양태에서, 본 명세서에서 제공되는 화합물, 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 조성물이 본 명세서에서 제공된다.

[0119] 일반적으로, 본 명세서에 제공된 화합물은 허용된 투여 모드에 의해 환자에게 투여하기 위해 제제화될 수 있다. 다양한 제형 및 약물 전달 시스템이 당해 기술 분야에서 이용가능하다. 예를 들면, Gennaro, A.R., ed. (1995) *Remington's Pharmaceutical Sciences,* 18th ed., Mack Publishing Co.를 참조한다.

[0120] 일반적으로, 본 명세서에서 제공되는 화합물은 하기 경로 중 하나에 의해 약제학적 조성물로서 투여될 것이다: 경구, 전신(예를 들면, 경피, 비강내 또는 좌약에 의한 투여), 또는 비경구(예를 들면, 근육내, 정맥내, 또는 피하) 투여.

[0121] 본 명세서에 기재된 제형은 부형제를 포함할 수 있다. 고체 약제학적 부형제는 전분, 셀룰로오스, 탈크(talc), 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루(flour), 백악(chalk), 실리카 겔, 마그네슘 스테아레이트, 소디움 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 염화 나트륨, 건조 탈지유(dried skim milk), 등을 포함한다. 액체 및 반고체 부형제는 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올, 및 페트롤리움, 동물, 식물, 또는 합성 기원의 오일을 포함한 다양한 오일, 예를 들면, 땅콩유(peanut oil), 대두유, 광유(mineral oil), 참기름으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 액체 담체, 특히, 주사용액용 액체 담체는 물, 염수, 수성 덱스트로오스, 및 글리콜을 포함한다. 기타 적합한 약제학적 부형제 및 그들의 제형이 E. W. Martin에 의해 편집된 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990)에 기재된다.

[0122] 필요한 경우, 본 제형은 활성 성분의 단위 투여량을 포함하는 팩(pack) 또는 분배기 장치(dispenser device)로 제공될 수 있다. 그러한 팩 또는 장치는 예를 들면, 금속 또는 플라스틱 호일, 예를 들면, 블리스터 팩(blister pack), 또는 유리, 및 바이알에서와 같은 고무 마개(rubber stopper)를 포함할 수 있다. 팩 또는 분배기 장치는 투여를 위한 설명서를 포함할 수 있다. 적절한(compatible) 약제학적 담체 중에 제제화된 본 발명의 단위-용량 제형(unit-dose formulation)을 포함하는 조성물이 또한 제조되고, 적합한 용기에 배치되고, 표시된 질병의 치료를 위해 라벨링된다(labeled).

[0123] **키트**

[0124] 일부 양태에서, 본 발명은 (a) 상당한 양(an amount)의 알부민-/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체, (b) 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 단위 용량, 및 선택적으로 (c) 사용 설명서를 포함하는 키트에 관한 것이다.

[0125] 일부 구체예에서, 키트는 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체의 동결건조된 복합체를 포함할 수 있다.

[0126] 일부 바람직한 구체예에서, 키트 성분들은 사용 순서에 따라 접근될 수 있는 방식으로 구성(configure)될 수 있다. 예를 들면, 일부 양태에서, 키트는 개봉시 또는 사용자에 의한 접근시, 이용가능한 제 1 성분이 예를 들면, 제 1 바이알에 담긴 치료량-미만 양의 항-PD-L1 항체의 단위 용량이도록 구성될 수 있다. 그 후, 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 나노입자 복합체를 포함하거나 또는 담은 제 2 용기(예를 들면, 바이알)가 접근될 수 있다.

따라서, 키트는 제 2 바이알이 개봉되기 전에 제 1 바이알이 개봉되어야 하는 방식으로 직관적으로 구성될 수 있다. 일부 구체예에서, 순서는 상이할 수 있고, 예를 들면, 항체의 투여 전에 복합체를 먼저 투여하는 것이 요구되는 경우, 순서는 상이할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 둘 모두가 동시에 투여되도록 구성될 수 있다. 마지막으로, 두 성분 중 하나 또는 두 성분 모두의 추가적인 바이알 또는 용기가 포함될 수 있고, 임의의 원하는 순서로 개봉되도록 구성될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들면, 제 1 바이알은 항체일 수 있고, 제 2 바이알은 복합체를 포함할 수 있고, 제 3 바이알은 항체 또는 복합체를 포함할 수 있다. 그러한 방식으로 구성된 키트는 성분들이 사용 설명서에 의해 의도되지 않은 순서로 투여되는 것을 방지하거나 또는 적어도 방지하는데 기여하는 것으로 고려된다.

[0127] 일부 양태에서, 본 발명은 알부민/파클리탁셀/항-PD-L1 항체 복합체 및 항-PD-L1 항체의 치료량 미만 양의 단위 용량의 투여를 위한 키트로서, 선택적으로 판독가능한 매체 중 투여 치료 스케쥴(dosing treatment schedule)을 더 포함하는 것인 키트(kit of parts)에 관한 것이다. 일부 구체예에서, 투여 스케쥴은 원하는 평균 혈청 수준을 달성하기 위해 요구되는 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양을 포함한다. 일부 구체예에서, 키트는 환자의 성별, 환자의 질량, 및 의사가 달성하기를 원하는 혈청 수준에 근거한 항-PD-L1 항체의 치료량-미만 양의 투여 처방(dosing regimen)을 선택하는 능력을 주치의에게 제공하는 투여 스케쥴을 포함한다. 일부 구체예에서, 투여 치료는 환자의 혈액 중 순환 PD-L1의 수준에 근거한다. 일부 구체예에서, 투여 스케쥴은 환자의 중량(또는 질량) 및 성별에 근거하여 환자 중 혈액의 부피에 해당하는 정보를 더 제공한다. 일 구체예에서, 저장 매체(storage medium)는 키트에서 단위 용량 형태에 수반되는 팜플렛 또는 유사한 서면 정보를 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 저장 매체는 예를 들면, 그러한 정보의 디지털-인코딩 기계-판독가능한 표현(digitally-encoded machine-readable representation of such information)을 저장하기 위한 전자적, 광학적, 또는 기타 데이터 저장, 예를 들면, 비-휘발성 메모리를 포함할 수 있다.

[0128] 본 명세서에서 사용된 용어 "판독가능한 매체(readable medium)"는 예를 들면, 인간 또는 기계에 의해 판독될 수 있는 데이터의 표현(representation)을 의미한다. 인간-판독가능한 포맷의 비-한정적 예는 팜플렛(pamphlet), 삽입물(insert), 또는 기타 기록 형태(written form)를 포함한다. 기계-판독가능한 포맷의 비-한정적 예는 기계(예를 들면, 컴퓨터, 타블렛, 및/또는 스마트폰)에 의해 판독가능한 형태로 정보를 제공(즉, 저장 및/또는 전송)하는 메카니즘을 포함한다. 예를 들면, 기계-판독가능한 매체는 ROM(read-only memory); RAM(random access memory); 자기 디스크 저장 매체(magnetic disk storage media); 광학적 저장 매체(optical storage media); 및 플래쉬 메모리 장치(flash memory device)를 포함한다. 일 구체예에서, 기계-판독가능한 매체는 CD-ROM이다. 일 구체예에서, 기계-판독가능한 매체는 USB 드라이브이다. 일 구체예에서, 기계-판독가능한 매체는 QR 코드(Quick Response Code) 또는 기타 매트릭스 바코드(matrix barcode)이다.

[0129] 본 개시는 아테졸리주맙(즉, TECENTRIQ™)의 전처리(전치료) 및 뒤이은 알부민-결합 파클리탁셀(즉, ABRAXANE®) 및 아테졸리주맙(즉, TECENTRIQ™)으로 이루어진 나노입자의 사용을 예시한다.

[0130] 당업자는 실시예의 나노입자의 제조 및 사용, 및 아테졸리주맙의 병용-치료(co-treatment)의 투여는 단지 예시의 목적을 위한 것이고, 본 개시는 이 예시에 의해 한정되지 않는 것으로 이해할 것이다.

[0131] 본 명세서에서 사용된 약자는 정상적인 과학적 의미를 갖는다. 달리 기재되지 않으면, 온도는 ℃이다. 본 명세서에서, 하기 용어는 달리 정의되지 않으면 다음의 의미를 갖는다:

표 1

[0132]

ABX	=	ABRAXANE®/(알부민-결합 파클리탁셀)
ATZ	=	아테졸리주맙(atezolizumab)
BSA	=	우혈청 알부민(bovine serum albumin)
kg	=	킬로그램(kilogram)
nM	=	나노몰 농도(nano molar)
mg	=	밀리그램(milligram)
ml 또는 mL	=	밀리리터(milliliter)
m^2	=	평방 미터(square meters)
mm^3	=	입방 미터(cubic millimeter)
μg	=	마이크로그램(microgram)
μℓ	=	마이크로리터(microliter)

μm	=	마이크로미터(micrometer)/마이크론(micron)
PBS	=	인산염 완충 염수(Phosphate buffered saline)

[0133] **실시예 1: 아테졸리주맙-아브락산® 나노입자의 제조**

[0134] 아테졸리주맙 및 ABRAXANE®(ABX)을 각각 4 mg/mL 및 10mg/mL의 농도로 실온에서 30분 동안 동시-인큐베이션(co-incubate)시켜서 나노입자, AA130을 제조하였다.

[0135] 아테졸리주맙과 ABX가 나노입자 복합체를 형성하기 위해 상호작용할 수 있는지 여부를 결정하기 위해, 스트렙타비딘 프로브를 이용하여 BLItz(Biolayer interferometry)(Forte Bioscience)를 수행했다. 1x PBS 중 100μg/ml의 비오티닐화 아테졸리주맙을 스트렙타비딘 프로브에 결합시켰다. 프로브로부터 미결합(unbound) 아테졸리주맙을 세척한 후, 항체-결합 프로브를 1X PBS 중 100, 500, 1000 μg/mL 농도의 ABX에 노출시켰다. PBS에 노출시킨 항체 프로브를 백그라운드로 이용하고, 백그라운드를 차감했다. BLItz 소프트웨어를 이용하여 해리 상수를 계산했다(도 1). Kd는 $1.462x10^{-9}$로 결정되었다.

[0136] **실시예 2: 아테졸리주맙-아브락산® 나노입자의 크기 결정**

[0137] Mastersizer NS300를 사용하여 ABX 단독 대비 아테졸리주맙 결합 ABX의 입자 크기를 결정하였다. Nanosight는 입자 크기를 계산하기 위해 동적 광산란(dynamic light scattering) 및 브라운 운동(Brownian motion)을 이용한다.

[0138] 전술된 바와 같이, 아테졸리주맙과 ABX를 동시-인큐베이션시켜 나노입자, AA130을 형성시켰다. ABX를 1:200으로 희석하고, 아테졸리주맙-결합 ABX를 1:800으로 희석하며; 3개의 30-초 비디오 클립(video clip)을 캡처하고 분석하여 입자 크기를 결정했다(도 2a). 도 2b는 AA130의 비디오 클립 중 하나로부터의 스틸 이미지(still image)이다. 아테졸리주맙-ABX 나노입자의 평균 입자 크기는 약 129 nm로 결정되었고; ABX 단독의 평균 크기는 약 90 nm이다.

[0139] **실시예 3: AA130은 PD-L1에 결합한다**

[0140] 아테졸리주맙 및 아테졸리주맙 결합 아브락산(Abraxane)의 리간드, PD-L1로의 결합을 평가(access)하기 위해 유동 세포분석을 수행했다. PD-L1 양성 흑색종 세포주, C8161을 이 실험을 위해 사용했다. AA130을 전술된 바와 같이 제조하고, 미결합 아테졸리주맙을 제거하기 위해 나노입자의 분량(aliquot)을 6000 rpm에서 10분 동안 스피닝시켰다. C8161 세포를 각각 음성 대조군 및 양성 대조군으로서 FITC 표지 이소형 대조군 및 항-인간 PD-L1으로 염색시켰다. C8161 세포를 ABX 및 아테졸리주맙 단독 및 AA130 나노입자와 30분 동안 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 후, 세포를 30분 동안 FITC 표지 항-인간 PD-L1으로 표지시키고, FACS 완충액(1x PBS + 0.5% BSA 및 0.05% Na 아지드(azide))으로 세척했다. 세척 후, 세포를 Guava 8HT 상에서 유동 세포분석기(flow cytometer)에 의해 분석하고 Gauvasoft 소프트웨어(Millipore)로 데이터 분석을 수행했다.

[0141] C8161 세포를 이소형 대조군 항체(도 3a), 무처리(no treatment)(도 3b), ABRAXANE®(도 3c), 아테졸리주맙(도 3d), 또는 AA130 (도 3e)로 전처리하고, 형광-표지 항-PD-L1 항체로 표지시켰다. 130 nm 입자의 상황(context)에서 아테졸리주맙은 그의 리간드, PD-L1에 결합하는 능력을 유지한다.

[0142] **실시예 4: AA130 세포 독성**

[0143] 세포 독성을 결정하기 위해 C8161 흑색종 세포를 0 내지 200 μg/mL의 파클리탁셀 농도에서 ABX 및 AA130에 밤새 노출시켰다. 세포를 또한 티미딘 유사체(thymidine analog), EdU와 인큐베이션시켰다. 다음 날, 세포를 수집하고, 2% 파라포름알데히드로 고정시키고, 1% 사포닌을 이용하여 투과화시켰다(permeabolized). 투과화(permeabolization) 후, 세포를 30분 동안 FITC 표지 항-EdU 항체와 인큐베이션시켜 증식 세포의 비율을 결정했다. 세척 후, 세포를 Guava 8HT 상에서 유동 세포측정기에 의해 분석하고, Gauvasoft 소프트웨어(Millipore)를 이용하여 데이터 분석을 수행했다. 미처리 양성 대조군으로의 정규화(normalization)에 의해 증식 지수(proliferation index)를 계산했다.

[0144] 도 4는 C8161 세포에 대한 ABX (실선) 및 AA130 (파선)의 용량-의존적 독성을 보여준다. AA130 나노입자 복합체는 ABX 단독과 유사한 세포 독성을 갖는다.

[0145] **실시예 5: AA130 나노입자 복합체의 정맥내 제형 제조**

[0146] 인간에서 사용하기 위해, 25 mg/mL ATZ의 4 mL 바이알의 용량 적합 개수(dose appropriate number)를

수득하고, 하기 지시에 따라 각 바이알을 4 mg/mL까지 희석시켜서 AA130 복합체를 제조한다. 10 mg/mL ABX 나노입자를 포함하는 최종 농도까지 재구성시키는 것에 의해 ABX의 100 mg 바이알의 용량 적합 개수를 제조한다. 무균 3 mL 시린지를 사용하여, 1.6 mL(40 mg)의 아테졸리주맙(25 mg/mL)을 채취하고(withdraw), 최소 1분에 걸쳐 100 mg의 ABX를 담은 바이알 각각의 내벽에 서서히 주입한다. 포밍(foaming)을 초래할 것이므로, 아테졸리주맙 용액을 동결건조된 케이크(lyophilized cake)에 직접 주입해서는 안 된다. 그 후, 12 mL 무균 시린지를 사용하여, 8.4 mL 0.9% Sodium Chloride Injection, USP를 채취하고, ABX 100 mg 및 ATZ 40 mg을 담은 각 바이알의 내벽에 최소 1분에 걸쳐서 8.4 mL를 서서히 주입한다. ATZ 1.6 mL 및 0.9% Sodium Chloride Injection, USP 8.4 mL의 첨가가 완료되면, 각 바이알을 케이크/분말의 완전한 용해가 일어날 때까지 적어도 2분 동안 서서히 휘젓고(swirl) 및/또는 아래위로 뒤집어 섞어준다(invert). 폼 생성을 피해야 한다. 이 시점에, 각 바이알의 농도는 100 mg/10 mL ABX 및 40 mg/10 mL ATZ이어야 한다. ABX 및 ATZ를 담은 바이알은 60분 동안 두어야 한다. 지속적으로 복합체를 혼합하기 위해 매 10분마다 바이알을 서서히 휘젓고 및/또는 아래위로 뒤집어 혼합해야 한다. 60분이 흐른 후에, ABX 및 ATZ의 계산된 투여량(dosing volume)을 각 바이알로부터 취하여 빈 비아플렉스백(viaflex bag)에 서서히 첨가해야 한다. 그 후, 동일한 양의 0.9% Sodium Chloride Injection, USP를 ABX 5 mg/mL 및 ATZ 2 mg/mL의 최종 농도가 되도록 첨가한다. 그 후, 혼합하기 위해 백을 1분 동안 서서히 휘젓고 및/또는 아래위로 천천히 뒤집어 혼합한다. ABX:ATZ 나노입자는 최종 희석 후에 실온에서 최대 4시간 동안 보관된다.

[0147] **실시예 6: ATZ와의 병용-치료가 ABX/ATZ 복합체의 표적화를 개선한다**

[0148] 무흉선 누드 마우스에 우측 측복부에 1 x 10^6 개의 A375 인간 흑색종 세포를 주사하고, 그 후, PBS, 12 mg/kg ATZ, 30 mg/kg ABX, AA130으로 처리하거나, 또는 1.2 mg/kg ATZ로 전처리하고, 24 시간 뒤에, AA130을 처리한다. 전술된 실시예 1 및 PCT 출원 PCT/US15/54295에 기재된 바와 같이 AA130을 제조한다. (ATZ에 의한 전처리의 존재 또는 부재 하에) AA130으로 처리된 마우스만이 평균 종양 부피의 감소를 보일 것으로 고려된다.

[0149] 또한, ATZ에 의한 전처리가 대조군 또는 ATZ 단독, 또는 ABX 단독 대비 종양 부피의 통계적으로 유의성 있는 감소와 연관될 것으로 고려된다.

[0150] 염수 (PBS), TECENTRIQ™ (ATZ), ABRAXANE® (ABX), AA130에 의한 처리, 또는 ATZ의 전처리 및 1일 후 AA130에 의한 처리(ATZ + AA130) 후 15일차에 종양을 측정한다. ATZ 단독 또는 AA130 코호트에 제공된 용량 대비, ATZ의 10% 치료량-미만 용량(10% sub-therapeutic dose)을 AA130의 투여 전 24시간에 ATZ+ AA130 코호트에 투여한다. ATZ + AA130 코호트는 AA130과 비교해도, 지연된 종양 성장을 가져올 것으로 고려된다. 이러한 실험은 ATZ에 의한 전처리 + AA130이 생존력을 증가시킨다는 것을 보여줄 것으로 고려된다.

[0151] 40일차에 생존력(survival)을 다시 평가한다. ATZ 전처리 및 AA130으로 처리된 마우스의 생존력 중앙값은 PBS 또는 ATZ 단독에 의해 처리된 마우스의 생존력 중앙값을 초과할 것으로 고려된다.

[0152] **실시예 7: AlexaFluor 750 표지 나노입자의 경시적 형광(Fluorescence over time)**

[0153] 마우스에 표지된 ABRAXANE®, 또는 전술된 실시예 1에 따른, 아테졸리주맙(ATZ)과 표면 복합체 형성(surface complexation)을 갖는 ABRAXANE®의 나노입자(AA130)의 동량을 주사하고; 마우스의 AA130 그룹은 1.2 mg/kg 아테졸리주맙의 전처리를 받는다. 710/760의 여기/소멸 스펙트럼(excitation/emission spectrum)에서 형광 이미징(fluorescent imagery)을 수행한다. 형광 역치(fluorescence threshold)에 기초하여 종양 축적을 추적하기 위해 소프트웨어를 이용하여 마우스 중 목적 영역(region of interest)(ROI)을 배정한다. 모든 3개의 처리군에 대해, 주사 후 24시간, 29시간, 및 48시간에 백그라운드 ROI 및 종양 ROI의 단위 면적당 형광을 결정한다.

[0154] 24, 29 및 48 시간차에 종양 및 백그라운드 ROI 중 형광(및 따라서, 파클리탁셀)의 양을 결정하고, 데이터는 AA130 단독 또는 ABRAXANE 단독 대비, ATZ에 의한 전처리가 종양 형광의 더 높은 수준을 가져온다는 것을 보여줄 것으로 고려된다. ATZ에 의한 전처리 및 ATZ와 표면 복합체화를 갖는 ABRAXANE® 나노입자의 사용이 24시간차 및 48시간차에 화학요법제를 포함하는 알부민의 종양 흡수(tumor uptake)의 지속기간을 증가시키는 방법을 제공하는 것으로 고려된다. 또한, ATZ와 표면 복합체화를 갖는 ABRAXANE® 나노입자의 사용이 48시간차에 ATZ에 의한 전처리의 존재 또는 부재 하에 이러한 알부민 함유 나노입자의 종양 흡수의 지속기간을 증가시키는 것으로 고려된다.

[0155] 이론에 의해 한정되지 않으면서, 알부민 나노입자의 항체 코팅은 아마도 간 또는 신장 제거(clearance)를 감소

시키고 및/또는 알부민 담체의 프로테아제 분해를 감소시키는 것에 의해 안정성을 부여한다.

[0156] **실시예 8: AA130 나노입자의 인 비보 효능**

[0157] 무흉선 누드 마우스(athymic nude mice)(Harlan Sprague Dawley)에 $2x10^6$개의 PD-L1 양성 C8161 흑색종 종양 세포를 주사했다. 약 600 mm^3까지 종양을 성장시키고, 100 ㎕ IV 꼬리 정맥 주사에 의해 염수, 아테졸리주맙 단독(18 mg/kg), ABX 단독(45 mg/kg) 및 AA130 (18 mg/kg 아테졸리주맙 및 45 mg/kg ABX)으로 1회 처리했다(도 5a-5d). 종양 성장을 주당 3회 모니터링했다. 종양 크기를 식:(길이 x 너비^2)/2으로 계산했다.

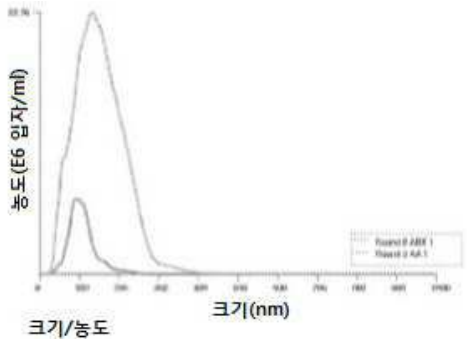
[0158] 종양 성장 곡선(도 6)은 염수 및 개별적인 약물 단독 대비 AA130으로 처리된 마우스에서 둔화된 종양 성장을 보여준다. Graph Pad 소프트웨어를 이용하여 Kaplan Meier 곡선을 생성했다. 염수, 아테졸리주맙, ABX 및 AA130 각각에 대한 각 그룹의 생존력 중앙값(median survival)은 14일, 13일, 16일, 및 21.5일이었다. AA130과 다른 모든 그룹 간 생존력 차이는 염수에 대해 p-값 0.0008, 아테졸리주맙에 대해 p-값 0.0015, 및 아브락산에 대해 p-값 0.0113으로 유의성이 있었다.

도면

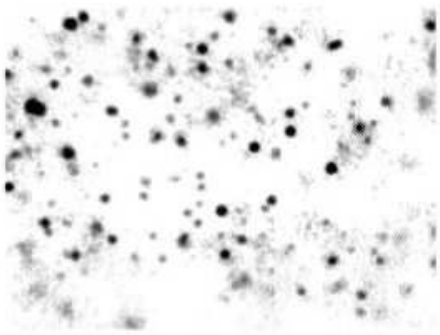
도면1



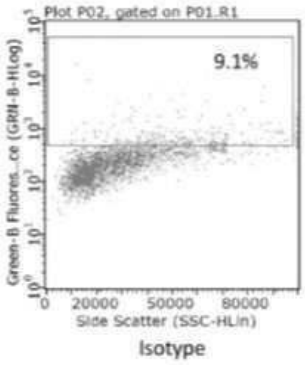
도면2a



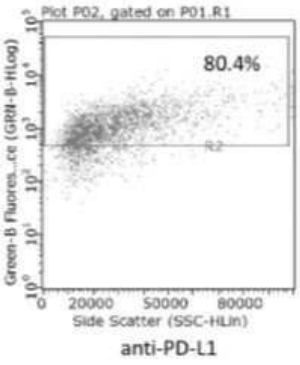
도면2b



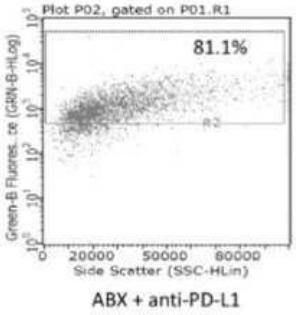
도면3a



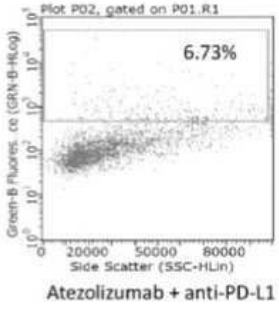
도면3b



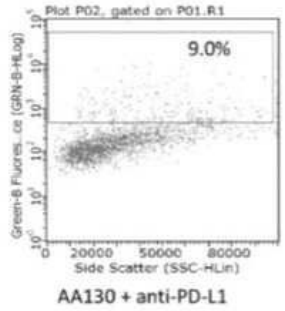
도면3c



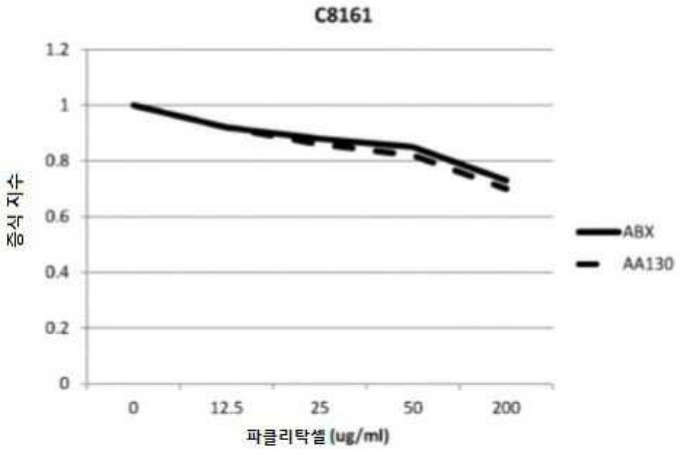
도면3d



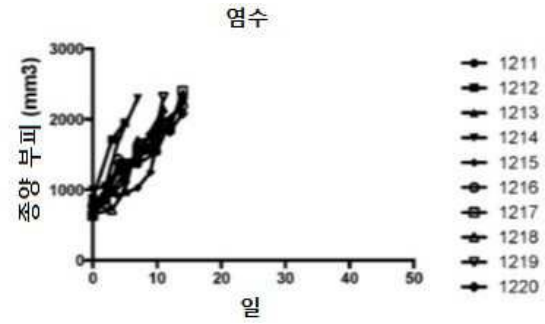
도면3e



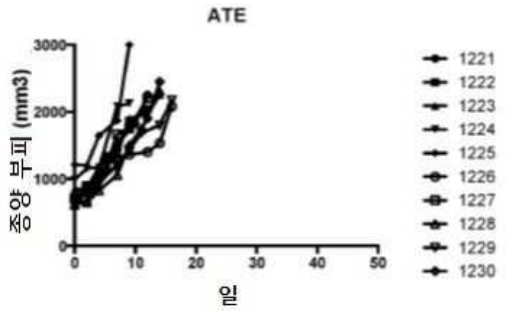
도면4



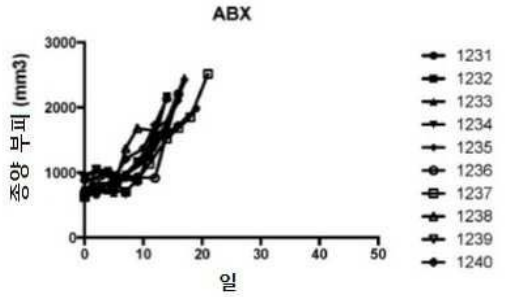
도면5a



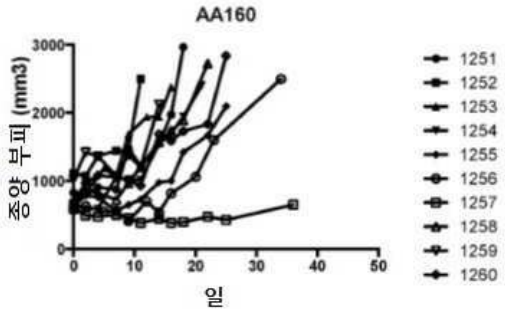
도면5b



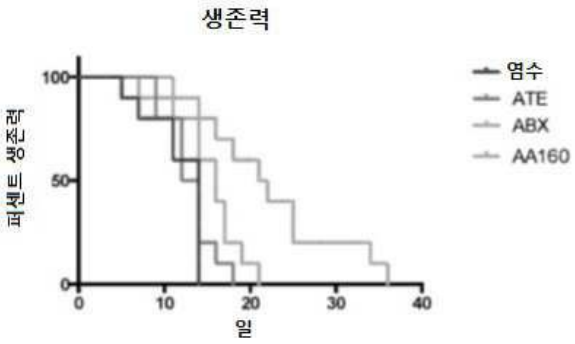
도면5c



도면5d



도면6



	Saline	ATE	ABX	AA160
Median survival	14	13	16	21.5