(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0116154
(43) 공개일자 2022년08월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 35/17* (2014.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7018073
(22) 출원일자(국제) 2020년10월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년05월27일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/080494
(87) 국제공개번호 WO 2021/084063
국제공개일자 2021년05월06일
(30) 우선권주장
19206479.8 2019년10월31일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
모르포시스 아게
독일 프라네그 디-82152, 제멜바이스스트라쎄 7
(72) 발명자
엔델 얀
독일 80333 뮌헨 바러 슈트라쎄 36
복스하머 라이너
독일 83059 콜베르모르 비르켄슈트라쎄 4에이
프레처 도미니크
독일 97080 뷔르츠버그 슈바인푸르터 슈트라쎄 7
(74) 대리인
장훈

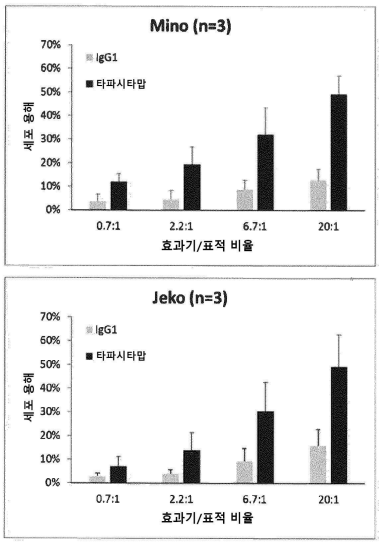
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **항-CD19 항체 및 감마 델타 T-세포를 포함하는 항-종양 병용 요법**

(57) 요 약

본 개시내용은 백혈병 또는 림프종의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 조합 요법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61P 35/02 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

혈액 암 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편으로서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되는, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 γδ T-세포는 농축 γδ T-세포 집단을 포함하는, 제1항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 γδ T-세포는 조작되지 않은 또는 조작된 γδ T-세포 및/또는 이들의 혼합물을 포함하는, 제1항 또는 제2항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 γδ T-세포는 암 치료에 사용하기 위해 말초 혈액, 종양 조직 또는 비-조혈 조직으로부터 단리되는, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리되고 IL-2 및 ZOL의 존재 하에 배양되는, 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 γδ T-세포는 혈액-유래 Vγ9Vδ2 세포인, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액 암은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종 (NHL), 소림프구성 림프종 (SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)이고, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되는, 혈액 암 치료에 사용하기 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, CD19에 특이적인 상기 항체 또는 항체 단편 및 상기 γδ T-세포는 별도의 방식으로 투여되는, 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 상기 γδ T-세포는 동시의 방식으로 투여되는, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는

이의 항체 단편.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 항-CD19 항체 또는 항체 단편은 서열 SYVMH(서열번호 1)를 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 및 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)를 포함하는 HCDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 항-CD19 항체 또는 항체 단편은

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄

및

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 경쇄 가변 영역을 포함하는, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 항-CD19 항체는

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)의 중쇄를 포함하는, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 13

제 11항에 있어서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 상기 항-CD19 항체는 DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)의 경쇄를 포함하는, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 사용을 위한, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 치료용 키트로서, 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편, 및 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따라 γδ T-세포와 조합하여 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편을 투여하기 위한 지침서를 포함하는, 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시내용은 백혈병 또는 림프종의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 감마 델타 T-

세포(γδ T-세포)를 포함하는 조합 요법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] CD19는 2개의 세포외 면역글로불린-유사 도메인 및 광범위한 세포질내 꼬리(cytoplasmic tail)를 함유하는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 95-kDa 막투과성 당단백질이다. 상기 단백질은 범-B(pan-B) 림프구 표면 수용체이며, 전-B(pre-B) 세포 발달의 초기 단계부터 혈장 세포로의 최종 분화 동안 하향-조절될 때까지 계속 편재적으로 발현된다. 이는 B-림프구 계통 특이적이며, 일부 여포상 수지상세포를 제외하고, 조혈줄기세포 및 다른 면역세포 상에서는 발현되지 않는다. CD19는 B 세포 수용체 (BCR) 신호전달의 양성 조절자로서 기능하며, B 세포 활성화 및 증식을 위해 그리고 체액성 면역반응의 발달에 중요하다. 이는 CD21 및 CD81과 함께 공동-자극 분자로서 작용하며, T-세포-의존성 항원에 대한 B 세포 반응에 매우 중요하다. CD19의 세포질내 꼬리는 단백질 티로신 키나제의 src-패밀리를 통해 하류 신호전달 경로를 유발하는 티로신 키나제 패밀리와 물리적으로 연관되어 있다. CD19는 거의 모든 만성 림프구성 백혈병 (CLL) 및 비호지킨 림프종 (NHL), 뿐만 아니라 급성 림프구성 백혈병 (ALL) 및 털세포 백혈병 (HCL)을 포함하는, 여러 다른 상이한 유형의 백혈병에서 고도로 발현되므로, 림프구성 기원의 암에 대한 매력적인 표적이다.

[0003] 타파시타맙(이전 명칭: MOR00208 및 XmAb®5574)은 B-세포 수용체 신호전달에 관여하는 막투과성 단백질인, 항원 CD19를 표적으로 하는 인간화 단클론성 항체이다. 타파시타맙은 IgG Fc-영역을 조작하여 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 강화시켰으며, 이에 따라 종양 세포 사멸을 위한 핵심 메커니즘을 개선하고, 종래의 항체, 즉 비-강화된 항체와 비교하여 강화된 효능을 위한 잠재력을 제공한다. 타파시타맙은 여러 임상 시험에서, 예컨대 CLL, ALL 및 NHL에서 연구되었거나 현재 연구되고 있다. 이러한 시험 중 일부에서, 타파시타맙은 이델라리십, 레날리도마이드 또는 베네토클락스와 조합하여 사용된다.

[0004] 최근 몇 가지 항암제의 발견 및 개발에도 불구하고, CD19-발현 종양을 비롯한 많은 유형의 암에 대한 불량한 예후로 인해, 이러한 유형의 암을 치료하기 위한 개선된 방법 또는 치료제에 대한 요구가 여전히 존재한다. 이에 따라, 본 발명자들은 γδ T-세포와 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편의 병용 투여가 B 세포 기원의 악성 림프종의 치료에 우수한 효과를 짐을 확인하였고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

[0005] 본 개시내용은 CD19 및 γδ T-세포에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는, 암 치료에 사용하기 위한 신규 조합물을 제공한다.

[0006] 1980년대에 발견된 이후로, γδ T-세포는 감염 및 암과 같은 악성 종양에서 중요한 역할을 한다는 것이 인정되었다. 활성화된 γδ T-세포는 표적 세포에 존재하는 주요 조직적합성 복합체(MHC) 분자와 무관하게 강력한 세포독성 및 광범위한 종양 인식 능력을 가지고 있다. 또한, γδ T-세포는 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)의 강력한 매개체인 것으로 나타났다. 현재까지, γδ T-세포의 항종양 효과는 항-CD20 항체에 의해 실질적으로 강화될 수 있는 것으로 나타났다(Tokuyama 등 2008; Hoeres et al. 2018). 더욱이, Fc-증강된 항-CD20 항체 오비누투주맙은 γδ T-세포와 조합될 때 리툭시맙과 같은 비-Fc-증강 항체와 비교하여 증가된 종양 세포 사멸을 나타낸다.

[0007] 그러나, γδ T-세포의 존재하에서 CD20 이외의 다른 표면 항원에 특이적인 항체의 종양 세포 사멸 활성은 아직 평가되지 않았다. 따라서, 본 개시내용의 목적은 항체 및 γδ T-세포를 포함하는 대안적인 조합 요법을 제공하는 것이다.

[0008] 전술한 목적을 달성하기 위해, 본 개시내용은 CD19 및 γδ T-세포에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는, 암 치료에 사용하기 위한 조합물을 제공한다.

[0009] 본 개시내용에서, 본 발명자들은 γδ T-세포를 CD19-표적화 항체 타파시타맙(Fc-증강) 및 Xmab5603(비-Fc-증강)과 조합하고, 환자 유래 CLL, MCL 및 B-ALL 샘플에서의 이들의 항종양 활성뿐만 아니라 ADCC 검정에서의 다양한 림프종 및 백혈병 세포주를 평가하였다. 함께, 비-Fc-강화 Xmab5603 또는 음성 대조군 IgG1 항체와 비교하여 γδ T-세포가 Fc-강화 항-CD19 항체 타파시타맙과 조합되었을 때 증가된 세포 용해 속도가 관찰되었다.

[0010] 요약하면, γδ T-세포는 이 연구에서

[0011] Fc-증강 CD19-표적화 항체 타파시타맙에 대해 입증된 바와 같이 항체 기반 종양 요법에서 잠재적인 효과기 세포

집단인 것으로 나타났다. 타파시타맙은 여러 림프종 및 백혈병 세포주뿐만 아니라 1차 환자 유래 CLL, MCL 및 BALL 세포에 대해 γδ T-세포에 의해 매개되는 강력한 항종양 활성을 보여주었고, 림프종 및 백혈병 치료에 대한 유망한 접근방식을 유지할 수 있다.

[0012] γδ T-세포는 임의의 적합한 자가 또는 동종이계 γδ T-세포 또는 그 집단으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 현재 기재된 γδ T-세포에 대한 공급원으로서 사용하기에 적합한 γδ T-세포는 Vδ1 세포, Vδ2 세포, Vδ3 세포, Vδ5 세포, 및 Vδ8 세포를 포함한다. 예를 들어, 피부 또는 내장과 같은 비-조혈 조직으로부터 Vδ1 세포를 단리 및 확장하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, Vδ1 세포는 US2018/0312808에 기재된 바와 같이 인간 피부 생검으로부터 단리될 수 있으며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함되며 특히 조직으로부터 Vδ1 세포를 단리하는 방법이 포함된다.

[0013] 다른 실시형태에서, 적합한 γδ T-세포는 혈액(예를 들어, 말초 혈액)으로부터 유래될 수 있다. 혈액으로부터 Vδ1 세포를 단리하고 확장하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 번호 제9,499,788호 및 국제 특허 공개 번호 제WO2016/198480호에 기술된 것들을 포함하며, 이들 각각은 전문이 본원에 참조로 포함된다. 또한, Vγ9Vδ2 T-세포는 말초 혈액으로부터 단리될 수 있고 생체외에서 추가로 배양될 수 있다. Vγ9Vδ2 T-세포의 배양은 IL-2 및 졸레드론산(ZOL)의 존재 하에 최적화될 수 있다. 혈액으로부터 Vγ9Vδ2 T-세포를 단리하고 확장하는 방법은, 예를 들어, Hoeres et al.,2018에 설명된 것들을 포함한다.

[0014] 일부 실시형태에서, 적합한 γδ T-세포는 종양 조직(예를 들어, 종양-침윤 γδ T-세포)으로부터 유래될 수 있다. 대안적으로, 이종 표적화 작제물을 발현하도록 조작될 수 있는 적합한 γδ T-세포는 하기에 기재된 방법에 따라 비-조혈 조직으로부터 유래될 수 있다. 이들 세포는 하나 이상의 인자(예를 들어, TCR 작용제, 공동 수용체 작용제 및/또는 사이토카인, 예를 들어, IL-4, IL-15, 및/또는 IFN-g)의 존재 하에 최대 21일 이상 동안 가스-투과성 생물 반응기 백에서 배양될 수 있다. 이 방법의 변형, 및 Vδ1 T 세포를 수득하는 다른 방법이 본 발명의 일부로서 적합하다. 예를 들어, 혈액 유래 Vδ1 T 세포는 대안적으로 예를 들어 국제 특허 공개 WO2017/197347 및 WO2016/081518(US Publ. No. 2016/0175338)에서 설명된 방법들을 사용하여 수득되었으며, 이들 각각은 그 전문이 참조로서 본원에 포함된다.

[0015] 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0016] 일 양상에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조합물을 제공하는데, 여기서 항체는 서열 SYVMH(서열번호: 1)를 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 및 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)를 포함하는 HCDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY를 포함하는 서열 LCDR1 영역(서열번호: 4), 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 암 치료에 사용하기 위한 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)를 포함하는 LCDR3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0017] 일 양상에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조합물을 제공하는데, 여기서 항체는 암 치료에 사용하기 위한 SYVMH(서열번호: 1)의 HCDR1 영역, NPYNDG(서열번호: 2)의 HCDR2 영역, 및 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)의 HCDR3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 RSSKSLQNVNGNTYLY의 LCDR1 영역(서열번호: 4), RMSNLNS의 LCDR2 영역(서열번호: 5), 및 MQHLEYPIT의 LCDR3 영역(서열번호: 6)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0018] 다른 양상에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은, EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS (서열번호: 7) 의 중쇄 가변 영역

[0019] 및

[0020] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0021] 또 다른 양상에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 효과기 기능을 갖는다. 또 다른 양상에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 증강된 효과기 기능을 갖는다. 일 실시형태에서, 효과기 기능은 ADCC이다. 일 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 증강된 ADCC 활성을 갖는다. 추가 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 위치 S239 및/또는 I332에서 아미노산 치환을 포함하는 Fc 도메인을 포함하고,

여기서 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 지수에 따른다.

[0022] 또 다른 양상에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은

[0023] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 9)의 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0024] 추가 양상에서, CD19에 특이적인 항체는

[0025] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (서열번호:10)의 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0026] 또 다른 양상에서, CD19에 특이적인 항체는

[0027] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 9)의 중쇄 불변 영역 및

[0028] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (서열번호:10)의 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0029] 또 다른 양상에서, CD19에 특이적인 항체는

[0030] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY YGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)의 중쇄 영역 및

[0031] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)의 경쇄 영역을 포함한다.

[0032] 일 양상에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)에 특이적인 항체를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 농축 γδ T-세포 집단을 포함한다. 일 실시형태에서, 농축 γδ T-세포 집단은 조작되지 않은 또는 조작된 γδ T-세포 및/또는 그의 혼합물을 포함한다. 추가 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 및 농축 γδ T-세포 집단을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0033] 또 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 조작되지 않은 또는 조작된 γδ T-세포 및/또는 이의 혼합물을 포함한다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 조작되지 않은 γδ T-세포의 집단이다. 또 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 조작된 γδ T-세포의 집단이다.

[0034] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 말초 혈액, 종양 조직 또는 비-조혈 조직으로부터 단리된다. 일 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된 γδ T-세포의 집단이다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된 Vγ9Vδ2 T-세포의 집단이다. 추가 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된 Vγ9Vδ2 T-세포의 집단이고, 여기서 Vγ9Vδ2 T-세포는 IL-1 및 졸레드론산(ZOL)의 존재 하에 생체외에서 배양된다.

[0035] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 암은 혈액 암이다. 다른 실시형태에서, 혈액 암은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종(NHL), 소 림프구성 림프종(SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)이다. 다른 실시형태에서, 상기 혈액암 은 비호지킨 림프종 (NHL)이다. 추가 실시형태에서, 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및

맨틀 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0036] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하고, 여기서 CD19에 특이적인 항체 및 γδ T-세포는 별도의 방식으로 투여된다.

[0037] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하고, 여기서 CD19에 특이적인 항체 및 γδ T-세포는 동시 방식으로 투여된다.

[0038] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는, 암 치료에 사용하기 위한 키트를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0039] **도 1: 증가하는 효과기 대 표적 세포(E:T; effector to target cell) 비율에서 MOR00208의 대표적인 ADCC 검정.** MOR00208(흑색) 또는 IgG1 음성 대조군(흰색) 및 건강한 공여자의 γδ T-세포에 의해 매개되는, % 죽은 표적 세포로 표현된 특정 세포 사멸에 대한 결과는 3개의 표적 세포주인 Mino, Daudi 및 Jeko에 대해 표시된다. 0.7:1과 20:1 사이의 4개의 상이한 E:T 비율을 테스트했다.

도 2: 증가하는 효과기 대 표적 세포(E:T) 비율에서 MOR00208의 대표적인 ADCC 검정. MOR00208(흑색) 또는 IgG1 대조군(흰색) 및 건강한 공여자로부터의 γδ T-세포에 의해 매개되는, % 죽은 표적 세포로 표현된 특정 세포 사멸에 대한 결과는 3개의 표적 세포주 U2932 및 REH에 대해 표시된다. 0.7:1과 20:1 사이의 4개의 상이한 E:T 비율을 테스트했다.

도 3: 2개의 CLL 및 1명의 B-ALL 환자의 1차 종양 세포를 표적 세포로 사용하여 증가하는 효과기 대 표적 세포(E:T) 비율에서 MOR00208의 대표적인 ADCC 검정. MOR00208 (흑색) 또는 IgG1 대조군 (흰색) 및 건강한 공여자로부터의 γδ T-세포에 의해 매개되는, % 죽은 표적 세포로 표현된 특이적 세포 사멸에 대한 결과는 1차 종양 세포를 표적 세포로 사용하는 3가지 실험에 대해 표시된다. 0.7:1과 20:1 사이의 4개의 상이한 E:T 비율을 테스트했다.

도 4: 2명의 MCL 환자들의 1차 종양 세포를 표적 세포로 사용하여 증가하는 효과기 대 표적 세포(E:T) 비율에서 MOR00208의 대표적인 ADCC 검정. MOR00208 (흑색) 또는 IgG1 대조군 (흰색) 및 건강한 공여자로부터의 γδ T-세포에 의해 매개되는, % 죽은 표적 세포로 표현된 특이적 세포 사멸에 대한 결과는 1차 종양 세포를 표적 세포로 사용하는 3가지 실험에 대해 표시된다. 0.7:1과 20:1 사이의 4개의 상이한 E:T 비율을 테스트했다.

정의

용어 "**CD19**"는 B4, B-림프구 항원 CD19, B-림프구 표면 항원 B4, CVID3, 분화 항원 CD19, MGC12802 및 T-세포 표면 항원 Leu-12와 같은 동의어를 갖는 CD19로 알려진 단백질을 나타낸다.

인간 CD19는 하기 아미노산 서열을 갖는다:
MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPP
SEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPP
DSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCS
LVGILHLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEG
YEEPDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAA
PQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR (서열번호: 13)

"**MOR00208**" 및 "**XmAb 5574**" 및 "**타파시타맙**"은 표 1에 따른 항-CD19 항체에 대한 동의어로 사용된다. 표 1은 MOR00208/타파시타맙의 아미노산 서열을 제공한다. MOR00208 항체는 그 전체가 참고로서 본원에서 인용되는 미국 특허 출원 일련 번호 제12/377,251호에 기재되어 있다. 미국 특허 출원 일련 번호 제12/377,251호에는 4G7 H1.52 하이브리드 S239D/I332E/4G7 L1.155 (이후 MOR00208 및 타파시타맙으로 명명됨)로 명명되는 항체가 기술되어 있다.

본원에 사용된 용어"**항체**"는 이황화물 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 단백질을 지칭하며, 이는 항원과 상호작용한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3로 구성된다. 각각의 경

쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 더 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 초가변성 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 아미노-말단부터 카르복시-말단까지 하기의 순서대로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 용어 "항체"는, 예를 들어 단클론성 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 낙타화 항체 및 키메라 항체를 포함한다. 항체는 임의의 동종형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류일 수 있다. 경쇄 및 중쇄 둘 모두는 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나뉜다.

본원에 사용된 바와 같이, 구 "**항체 단편**"은 항원과 특이적으로 상호작용하는 능력(예를 들어, 결합, 입체 장애, 안정화 공간 분포에 의해)을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분을 지칭한다. 결합 단편의 예는, Fab 단편, 즉 VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편; F(ab)2 단편, 즉 힌지 영역에서 이황화물 다리(disulfide bridge)에 의해 연결되는 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편; VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 팔의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; VH 도메인으로 이루어진, dAb 단편(Ward *et al.*, (1989) Nature 341:544-546); 및 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 더욱이, Fv 단편의 두 도메인, VL 및 VH가 별개의 유전자에 대해 코딩되지만, 그들은 재조합 방법을 사용하여 그들이 VL 및 VH 영역이 짝을 이루어 단일쇄 1가 분자(Fv (scFv)로서 공지됨; 예를 들어, Bird *et al.*, (1988) Science 242:423-426; and Huston *et al.*, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883 참조)를 형성하는 단백질 단일쇄로서 제조되도록 하는 합성 링커에 의해 결합될 수 있다. 이러한 단일쇄 항체는 또한 용어 "항체 단편"에 포함되는 것으로 의도된다. 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기법을 사용하여 수득되며, 이들 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성을 위해 스크리닝된다. 항체 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라아바디, v-NAR 및 비스-scFv에 통합될 수 있다 (예를 들어, Hollinger 및 Hudson, (2005) Nature Biotechnology 23:1126-1136 참조). 항체 단편은 피브로넥틴 ² 형 (Fn3)과 같은 폴리펩티드를 기반으로 하는 스캐폴드에 이식될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디를 기술하는, 미국특허 제6,703,199호 참조). 항체 단편은 보체인 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 부위를 형성하는 한 쌍의 탠덤 Fv 세그먼트(VH-CH1-VH-CH1)를 포함하는 단일쇄 분자에 통합될 수 있다(Zapata *et al.*, (1995) Protein Eng. 8:1057-1062 및 미국 특허 번호 5,641,870).

"**투여되는**" 또는 "**투여**"는 주사 가능한 형태, 예를 들어, 정맥내, 근육내, 피내 또는 피하 경로 또는 점막 경로, 예를 들어 비강 스프레이 또는 흡입용 에어로졸 또는 섭취용 용액, 캡슐 또는 정제와 같은 약물 전달을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게, 투여는 주사가능한 형태에 의한 것이다.

용어 "**효과기 기능**"은 항체의 Fc 영역에 기인기능한 생물학적 활성을 지칭하고, 이들은 항체 동종형에 따라 변한다. 항체 효과기 기능의 비-제한적 예는, C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성(complement dependent cytotoxicity: CDC); Fc 수용체 결합 및 항체 의존적 세포-매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) 및/또는 항체 의존적 세포 식균작용(antibody-dependent cellular phagocytosis: ADCP); 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.

"**항체-의존적 세포-매개 세포독성**" 또는 "**ADCC**"는 특정 세포독성 세포 (예를 들어, NK 세포, 중성구, 및 마크로파지)에 존재한 Fc 수용체 (FcR) 상으로 결합된 분비된 항체가 이들 세포독성 효과기 세포를 항원-보유 표적 세포에 특이적으로 결합시킬 수 있고 그 뒤에 표적 세포를 세포독소로 사멸시킬 수 있는 세포독성의 형태를 지칭한다. ADCC를 매개하기 위한 1차 세포, NK 세포는 FcRIII 만을 발현하는 반면, 단핵구는 FcRI, FcRII, 및 FcRIII 을 발현한다.

"**보체-의존적 세포독성**" 또는 "**CDC**"는 보체의 존재하에 표적 세포의 용해를 지칭한다. 고전적 보체 경로의 활성화는, 그의 동족 항원에 결합되는, 본 개시내용의 (적절한 하위부류의) 항체에 보체 시스템 (C1q)의 제1 구성요소의 결합에 의해 개시된다.

"**항체 의존적 세포 식세포작용**" 또는 "**ADCP**"는 대식세포 또는 수지상 세포와 같은 식세포에 의한 내재화에 의한 항체 코팅된 표적 세포의 제거 메카니즘을 지칭한다.

용어 "**혈액암**"은 혈액-매개 종양 및 조혈 기원의 조직에서의 비정상적인 세포 성장 및/또는 증식을 수반하는 질병 또는 장애, 예컨대 림프종, 백혈병, 및 골수종을 포함한다.

비호지킨 림프종("NHL")은 림프구로부터 기원하는 이종 악성종양이다. 미국(U.S.)에서, 대략 20,000명의 사망자 수와 더불어, 그 발생은 연간 65,000명으로 추정된다 (American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review). 이 질병은 모든 연령대에서 발생할 수 있으며, 보통 발병은 연령에 따라 발병률이 증가하여, 40세 이상의 성인에서 시작된다. NHL은 임의의 주요 기관이 관련될 수 있지만, 림프절, 혈액, 골수 및 비장에 축적되는 림프구의 클론성 증식을 특징으로 한다. 병리학자 및 임상의에 의해 사용되는 현재의 분류 체계는 세계보건기구 (WHO) 종양 분류로, NHL을 전구체 및 성숙한 B-세포 또는 T-세포 신생물(neoplasm)로 체계화한다. PDQ는 현재 NHL을 임상 시험에 들어가는 경우에 지연성 또는 공격성으로 나누고 있다. 지연성 NHL 그룹은 주로 여포성 아형, 소림프구성 림프종, MALT (점막-연관 림프 조직) 및 변연부로 구성되며; 지연성은 대략 50%의 새로 진단된 B-세포 NHL 환자를 포함한다. 공격적 NHL은 주로 미만성 거대 B 세포(DLBL, "DLBCL" 또는 DLCL)(새로 진단된 모든 환자의 40%가 미만성 거대 세포를 가짐), 버킷 및 맨틀 세포("MCL")의 조직학적 진단을 받은 환자를 포함한다. NHL의 임상 경과는 매우 가변적이다. 임상 경과의 주요 결정 요인은 조직학적 아형이다. 대부분의 지연성 유형의 NHL은 난치병으로 간주된다. 환자는 초기에 화학요법 또는 항체 치료제에 반응하고, 대부분은 재발할 것이다. 지금까지의 연구에서는 초기 개입으로 생존의 개선을 입증하지 못하였다. 무증상 환자에서는, 환자가 증상을 보이거나 질병 속도가 가속화되는 것으로 보일 때까지 "지켜보고 기다리는" 것이 허용될 수 있다. 시간이 경과함에 따라, 질병은 더 공격적인 조직 구조로 변형될 수 있다. 생존 중앙값은 8 내지 10 년이고, 지연성 환자는 종종 이들의 질병 치료 단계 동안 3회 이상의 치료를 받는다. 증상이 보이는 지연성 NHL 환자의 초기 치료는 조직학적으로 조합 화학요법이었다. 가장 일반적으로 사용되는 제제는 시클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손 (CVP); 또는 시클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴, 프레드니손 (CHOP)을 포함한다. 대략 70% 내지 80%의 환자가 초기 화학요법에 반응하고, 관해 기간은 2-3년 정도 지속될 것이다. 궁극적으로 대부분의 환자는 재발한다. 항-CD20 항체인 리툭시맙의 발견 및 임상적 사용은 반응 및 생존율에 유의미한 개선을 제공하였다. 대부분의 환자에 대한 현재의 표준 치료제는 리툭시맙 + CHOP (R-CHOP) 또는 리툭시맙 + CVP (R-CVP)이다. 리툭시맙 치료제는 여러 유형의 NHL에서 효과적인 것으로 나타났으며, 현재 지연성 NHL (여포성 림프종) 및 공격성 NHL (미만성 거대 B 세포 림프종) 둘 다에 대한 1차 치료로서 승인되어 있다. 그러나, 항-CD20 단클론성 항체 (mAb)에는 상당한 한계가 있으며, 이는 1차 내성 (재발된 지연성 환자에서 50% 반응), 수득된 내성 (재-치료시 50% 반응율), 드문 완전 반응 (재발된 개체군에서 2% 완전 반응율), 및 지속적인 재발 패턴을 포함한다. 마지막으로, 많은 B 세포는 CD20을 발현하지 않으므로, 많은 B-세포 장애는 항-CD20 항체 치료제를 사용하여 치료할 수 없다.

NHL 외에도 B 세포의 조절장애로 인해 발생하는 여러 유형의 백혈병이 있다. 만성 림프구성 백혈병 ("만성 림프성 백혈병" 또는 "CLL"로도 알려짐)은 B 림프구의 비정상적 축적에 의해 야기되는 일종의 성인 백혈병이다. CLL에서, 악성 림프구는 정상적이고 성숙한 것으로 보일 수 있지만, 이들은 감염에 효과적으로 대처할 수 없다. CLL은 성인에서 가장 흔한 형태의 백혈병이다. 남성은 CLL이 발병할 가능성이 여성의 2배이다. 그러나, 핵심 위험 인자는 연령이다. 신규 사례의 75% 이상이 50세 이상의 환자에서 진단된다. 매년 10,000건 초과의 사례가 진단되며, 사망자 수는 연간 거의 5,000명이다 (American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review). CLL은 난치병이나 대부분의 경우 서서히 진행된다. CLL이 있는 많은 사람은 수년 동안 정상적이고 활동적인 삶을 영위한다. 이의 느린 발병으로 인해, 초기-단계의 CLL은 일반적으로 치료하지 않는데, 초기 CLL 개입이 생존 시간 또는 삶의 질을 개선하지 개선시키지 못하는 것으로 여겨지기 때문이다. 대신에, 병태는 시간 경과에 따라 모니터링된다. 초기 CLL 치료는 정확한 진단 및 질병의 진행에 따라 달라진다. CLL 치료제에 사용되는 많은 제제가 있다. 조합 화합요법 양생법, 예컨대 FCR (플루다라빈, 시클로포스파미드 및 리툭시맙), 및 BR (이브루티닙 및 리툭시맙)은 새로-진단된 CLL 및 재발된 CLL 둘 다에 효과적이다. 동종 골수(줄기세포) 이식은 그 위험으로 인해 CLL에 대한 1차 치료로 거의 사용되지 않는다.

백혈병의 또 다른 유형은 CLL 진단에 필요한 클론성 림프구증가증이 결여되어 있지만 병리학적 및 면역표현형 특징을 공유하는 CLL 변이체로 간주되는 소림프구성 림프종("SLL")이다(Campo et al., 2011). SLL의 정의는 임파선염 및/또는 비장비대증의 존재가 요구된다. 또한, 말초 혈액에서 B 림프구의 수는 5 X 109/L를 초과하지 않아야 한다. SLL에 있어서, 진단은 가능하다면 언제든지 림프절 생검의 조직병리학적 평가에 의해 확인되어야 한다 (Hallek et al., 2008). SLL의 발생율은 미국에서 CLL의 대략 25%이다 (Dores et al., 2007).

다른 유형의 백혈병은 급성 림프구성 백혈병으로도 알려진 급성 림프구성 백혈병(ALL)이다. ALL은 골수에서 악성 및 미성숙 백혈구 (림프아구로도 알려짐)의 과생산 및 지속적 증식을 특징으로 한다. '급성'은 순환성 림프구 ("모세포")의 미분화되고 미성숙한 상태, 및 질병이 치료되지 않고 방치되는 경우 수주 내지 수개월의 기대 수명으로 빠르게 진행되는 것을 지칭한다. ALL은 아동기에 가장 흔하며, 4-5세에 최대 발병률을 갖는다. 12-

16세의 아동은 다른 이들보다 이로 인해 더 쉽게 사망한다. 현재, 아동기 ALL의 적어도 80%는 치유가능한 것으로 간주된다. 매년 4,000건 미만의 사례가 진단되며, 사망자 수는 연간 거의 1,500명이다 (American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review).

본 문맥에서 사용된 "**대상체**" 또는 "**환자**"는 설치류, 예컨대 마우스 또는 랫트, 및 영장류, 예컨대 시노몰구스 원숭이 (*마카카 파시쿨라리스*), 레서스 원숭이 (*마카카 물라타*) 또는 인간 (*호모 사피엔스*)을 포함하는, 임의의 포유동물을 지칭한다. 바람직하게는, 대상체 또는 환자는 영장류, 가장 바람직하게는 인간 환자, 훨씬 더 바람직하게는 성인 인간 환자이다.

본원에 사용된 용어 "**조작된**" 또는 "**변형된**"은 합성 수단에 의한 (예를 들어, 재조합 기법에 의한, 시험관 내 펩티드 합성, 펩타이드의 효소적 또는 화학적 커플링 또는 이러한 기법의 일부 조합에 의한) 핵산 또는 폴리펩티드의 조작을 포함한다. 바람직하게는, 본 개시내용에 따른 항체 또는 항체 단편은, 하나 이상의 특징, 예를 들어, 항원 결합, 안정성, 반감기, 효과기 기능, 면역원성, 안전성 등을 개선하도록 조작되거나 변형된다. 바람직하게는, 본 개시내용에 따른 항체 또는 항체 단편은 효과기 기능, 예컨대 ADCC를 개선하도록 조작되거나 변형된다.

"**Fc 영역**"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 본 명세서에서 달리 기재되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서의 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat 등의 문헌[Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바대로, EU 지수라고도 칭해지는, EU 넘버링 시스템에 따른다.

본 개시내용에 따라 투여되는 항체는 치료적 유효량으로 환자에게 투여된다. "**치료적 유효량**"은 주어진 질병 또는 장애의 임상 징후의 개선을 제공하기에 충분한 양을 지칭한다. 특정 치료적 목적에 유효한 양은 질병 또는 손상의 중증도 뿐만 아니라 대상체의 체중 및 일반적인 상태에 따라 달라질 것이다. 적절한 투여량의 결정은, 모두 숙련된 전문의 또는 임상 과학자의 통상의 기술 범위 내에 있는, 값의 행렬을 구성하고 행렬 내의 상이한 지점을 테스트함으로써, 정례적인 실험을 사용하여 달성될 수 있음이 이해될 것이다.

용어 "**조합**" 또는 "**약제학적 조합**"은 한 요법에 다른 요법을 추가하는 투여를 지칭한다. 이와 같이, "**조합하여**"는 임의의 순서로 동시에 (예를 들어, 한번에) 그리고 연속적인 투여를 포함한다. 비-제한적인 예로서, 제1 치료제 (예를 들어, 항-CD19 항체와 같은 제제)는 환자에게 제2 치료제 (예를 들어, **γδ T-세포**와 같은 약제학적 제제)를 투여하기 전에 (예를 들어, 1분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 8주, 9주, 10주, 11주, 또는 12주), 한번에, 또는 후에 (예를 들어, 1분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 또는 12주 이상) 투여될 수 있다.

본원에 사용된 용어 "**γδ T-세포(감마 델타 T-세포)**"는 하나의 γ-사슬 및 하나의 δ-사슬로 구성된 표면 상에 별개의 T-세포 수용체 (TCR), γδTCR을 발현하는 T-세포의 서브세트를 지칭한다. "**γδ T-세포**"라는 용어는 γδ T-세포의 모든 부분집합을 구체적으로 포함하며, 이는 vδ1, vδ2, vδ3 및 Vγ9Vδ2 T-세포 뿐만 아니라 나이브(naive), 효과기 메모리, 중추 메모리 및 말단 분화된 γδ T-세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 추가 예로서, 용어 "**γδ T-세포**"는 vδ4, vδ5, vδ7, 및 vδ8 T 세포를 포함한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "**T 림프구**" 또는 "**T-세포**"는 CD3(CD3+) 및 T-세포 수용체(TCR+)를 발현하는 면역 세포를 지칭한다. T-세포는 세포 매개 면역에서 중심적인 역할을 한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "**TCR**" 또는 "**T 세포 수용체**"는 알파-베타 또는 감마-델타 수용체를 형성하는 이량체 이종 세포 표면 신호전달 단백질을 지칭한다. αβTCR은 MHC 분자에 의해 제시된 항원을 인식하는 반면, γδTCR은 MHC 제시와 독립적으로 항원을 인식한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "**세포 집단**"은 다수의 세포를 지칭한다. 세포 집단은, 예를 들어, 말초 혈액 샘플, 제대혈 샘플, 종양, 줄기 세포 전구체, 종양 생검, 조직, 림프로부터, 또는 외부 환경과 직접 접촉하는 대상체의 상피 부위로부터 유래되거나, 또는 줄기 전구 세포에서 유래된 혼합 세포 집단일 수 있다. 대안적으로, 혼합 세포 집단은, 포유동물 세포의 시험관내 배양으로부터 유래될 수 있고, 말초 혈액 샘플, 제대혈 샘플, 종양, 줄기 세포 전구체, 종양 생검, 조직, 림프로부터, 또는 외부 환경과 직접 접촉하는 대상체의 상피 부위로부

터 확립될 수 있거나, 또는 줄기 전구 세포에서 유래될 수 있다.

"**농축된(enriched)**" 세포 집단 또는 제제는 출발 집단에서 특정 세포 유형의 백분율보다 더 큰 백분율의 특정 세포 유형을 함유하는 출발 혼합 세포 집단으로부터 유래된 세포 집단을 지칭한다. 예를 들어, 시작 혼합 세포 집단은 특정 γδ T-세포 집단에 대해 농축될 수 있다. 모든 실시형태에서, 농축 γδ T-세포 집단은 더 적은 비율의 αβ T-세포 집단을 함유한다.

본원에 사용된 "**확장된**"은 농축 제제에서 원하는 또는 표적 세포 유형(예를 들어, δ1, δ2 T-세포 및/또는 Vγ9Vδ2 T-세포)의 수가 초기 또는 출발 세포 집단에서의 수보다 더 높음을 의미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] **항-CD19 항체**

[0041] 비-특이적 B 세포 림프종에서 CD19 항체의 사용은 WO2007076950 (US2007154473)에서 논의되며, 이는 둘 다 참조로 포함된다. CLL, NHL 및 ALL에서 CD19 항체의 사용은 Scheuermann 등, CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)에 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 참조로 포함된다.

[0042] CD19에 특이적인 추가 항체는 WO2005012493호 (US 제7109304호), WO2010053716호 (US 제12/266,999호) (Immunomedics); WO2007002223호 (US US제8097703호) (Medarex); WO2008022152호 (제12/377,251호) 및 WO2008150494호 (Xencor), WO2008031056호 (US 제11/852,106호) (Medimmune); WO 2007076950호 (US제11/648,505호) (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431호 (US제12/253,895호) (Seattle Genetics); 및 WO2010095031호 (제12/710,442호) (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562호 및 WO2012010561호 (International Drug Development), WO2011147834호 (Roche Glycart), 및 WO2012156455호 (Sanofi)에 기술되어 있으며, 이는 모두 그 전체가 참조로 포함된다.

[0043] 약제학적 조성물은 활성제, 예를 들어, 인간에서 치료적 사용을 위한 항체를 포함한다. 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 추가로 포함할 수 있다.

[0044] 본 개시내용에 따라 약제학적 조성물에 포함되는 항체 또는 항체 단편의 환자에게 투여되는 용량은 환자의 연령 및 크기, 증상, 상태, 투여 경로 등에 따라 달라질 수 있다. 용량은 통상적으로 체중, 체표면적, 연령 또는 개인별로 계산된다. 상태의 중증도에 따라, 치료 빈도와 기간이 조정될 수 있다. CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 투여하기 위한 효과적인 투여량 및 일정은 경험적으로 결정될 수 있는데; 예를 들어, 환자 진행 상황은 주기적인 평가로 모니터링될 수 있으며 그에 따라 용량이 조정될 수 있다. 게다가, 투약량의 종간 스케일링은 당업계에서 잘 알려진 방법을 사용하여 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌 Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351 참조).

[0045] 약제학적 조성물은 정맥 주사, 피하 주사, 피내 주사 및 근육 주사 등을 위한 제형을 포함할 수 있다. 이러한 주사가능한 제제는 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사가능한 제제는, 예를 들어, 주사를 위해 통상적으로 사용되는 멸균 수성 매질 또는 유성 매질에서 상기 기재한 항체 또는 그의 염을 용해시키거나, 현탁시키거나 또는 유화시킴으로써 제조될 수 있다. 본 개시내용의 맥락에서 사용될 수 있는 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는 예시적인 약제학적 조성물은, 예를 들어, WO2008/022152 또는 WO2018/002031에 개시되어 있다.

[0046] 특정 투여 방식, 예를 들어 정맥 투여에서, 환자의 체중에 따라 약물을 투여하는 것이 바람직하다. 다른 투여 방식, 예를 들어 피하 투여에서, 균일하고 고정된 투여량으로 약물을 투여하는 것이 바람직하다. 당업자는 일 투여 방식의 용량이 다른 투여 방식의 다른 용량과 동일한 것임을 알고 있다. 특정 약물의 약력학은 통상적으로 필요한 유효 용량으로 요구되는 용량만큼 약물을 투여하기 위해 합리적인 결정에서 고려된다.

[0047] 본 개시내용에 따라 투여되는 항체는 치료적 유효량으로 환자에게 투여된다. "치료적 유효량"은 주어진 질병 또는 장애, 즉 NHL 및 그 합병증의 임상 징후를 치료, 경감 또는 부분적으로 저지하기에 충분한 양을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 항체는 9 mg/kg으로 투여된다. 대안적인 실시형태에서, 본 개시내용의 항체는 12 mg/kg으로 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 항체는 15 mg/kg 이상으로 투여된다.

[0048] 본 개시내용의 항체는 상이한 시점에 투여될 수 있고, 치료 주기는 상이한 길이를 가질 수 있다. 항체는 매일, 격일, 주 3회, 매주 또는 격주로 투여될 수 있다. 항체는 또한 적어도 4주에 걸쳐, 적어도 5주에 걸쳐, 적어도

6주에 걸쳐, 적어도 7주에 걸쳐, 적어도 8주에 걸쳐, 적어도 9주에 걸쳐, 적어도 10주에 걸쳐, 최소 11주에 걸쳐 또는 최소 12주에 걸쳐 투여될 수 있다. 본 개시내용의 특정 실시형태에서, 항체는 적어도 8주에 걸쳐 매주 적어도 1회 투여된다.

[0049] **혈액에서 γδ T-세포의 단리 및 확장**

[0050] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 γδ T-세포는 대상체의 혈액(예를 들어, 말초 혈액)으로부터 유래된다. 예를 들어, γδ T-세포는 혈액 유래 Vδ2 세포 또는 혈액 유래 Vδ1 세포로부터 유래될 수 있다. 다른 예에서, γδ T-세포는 혈액-유래 Vγ9Vδ2 T-세포로부터 유래될 수 있다. Vγ9Vδ2 T-세포는 말초 혈액으로부터 단리될 수 있고 생체외에서 추가로 배양될 수 있다. Vγ9Vδ2 T-세포의 배양은 IL-2 및 졸레드론산(ZOL)의 존재 하에 최적화될 수 있다. 혈액으로부터 Vγ9Vδ2 T-세포를 단리하고 확장하는 방법은, 예를 들어, Hoeres et al., 2018에 설명된 것들 또는 후술하는 절차를 포함한다:

[0051] 말초 혈액에서 유래한 Vγ9Vδ2 T-세포의 생체외 확장:

[0052] 말초 혈액은 공여자로부터 수집된다. PBMC는 Lymphoprep쪠(Axis Shield, 노르웨이)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 밀도 구배 원심단리를 통해 즉시 단리된다. PBMC는, OpTmizer쪠 T 세포 확장 보충제(1:38 희석)(Life Technologies, Australia), 10% 열 비활성화 FBS(HI-FBS), 100 IU/mL 페니실린, 100 μg/mL 스트렙토마이신, 2 mmol L-글루타민(Life Technologies, Australia), 25 mM HEPES, 0.1% β-머캅토에탄올(Sigma-Aldrich, USA), 100 IU/mL 재조합 인간 인터루킨 2(rhIL-2)(BD Pharmingen, USA)로 보충되고, 5 μM ZOL로 활성화되고 6-well plates에 시드된(seeded) CTS™ OpTmizer™ T 세포 확장 SFM(Life Technologies, Australia)에 1 X 10^6/mL로 재현탁된다. 세포 배양 밀도는, 1-2 X 10^6 cells/mL로 유지되고, 2-3일마다 100 IU/mL rhIL-2만 포함된(ZOL 제외) 새로운 매질로 보충된다. 배양 7-8일 후, 세포가 수집되어 후술하는 바와 같이 농축되었다.

[0053] Vγ9Vδ2 T-세포의 농축:

[0054] 생체외 확장된 Vγ9Vδ2 T-세포는 TCR γ/δ+ T-세포 단리 키트(인간)(Miltenyi Biotec, Germany)와 함께 음성 선택 MACS를 사용하여 농축된다. 트리판 블루 배제를 사용하여 농축 후 세포 생존율 및 총 세포 수가 평가된다. Vγ9Vδ2 T-세포의 백분율은, PeCy5 접합된 항-CD3(클론 UCHT1)(eBioscience, San Diego, CA, USA) 및 BD Biosciences(San Jose, CA, USA)의 FITC 접합된 항-Vγ9 TCR을 사용하는 유세포 분석에 의해 결정된다. Vγ9Vδ2 T-세포의 백분율은 전방 산란/측면 산란을 사용하여 림프구 집단에 그후 Vγ9+ CD3+ 이중 양성 세포에 대한 게이팅에 의해 식별된다.

[0055] 일부 실시형태에서, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 따라 대상체로부터 수득될 수 있다. PBMC는 농축된 Vδ2 세포 집단을 생성하기 위해 1-2주 동안 IL-2의 존재 하에서 아미노비스포스포네이트(예를 들어, 졸레드론산), 합성 인산항원(예를 들어, 브로모히드린 피로포스페이트; BrHPP), 2M3B1PP, 또는 2-메틸-3-부테닐-1-피로포스페이트의 존재 하에 배양될 수 있다. 대안적으로, 고정된(immobilized) 항-TCR γδ(예를 들어, 범 TCR γδ)는 IL-2의 존재 하에, 예를 들어, 대략 14일 동안 PBMC의 집단으로부터 Vδ2 세포의 우선적 확장을 유도할 수 있다. 일부 실시형태에서, PBMC로부터의 Vδ2 세포의 우선적 확장은 IL-2 및 IL-4의 존재 하에 고정된 항-CD3 항체(예를 들어, OKT3)의 배양 시에 달성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 전술한 배양물은 가용성 항-CD3, IL-2 및 IL-4에서 계대배양하기 전에 약 7일 동안 유지된다. 대안적으로, 인공 항원 제시 세포는 Vδ2 세포와 같은 γδ T-세포의 우선적 확장을 촉진하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 조사된(irradiated) aAPC, IL-2 및/또는 IL-21의 존재 하에 배양된 PBMC 유래 γδ T-세포는 높은 비율의 Vδ2 세포, 중간 비율의 Vδ1 및 일부 이중 음성 세포를 포함하는 γδ T-세포의 집단을 생성하도록 확장할 수 있다. 상기 언급된 방법의 일부 실시형태에서, PBMC는 (예를 들어, TCRγδ-특이적 작용제를 사용한 양성 선택을 통해 또는 TCRα-특이적 작용제의 음성 선택을 통해) 사전-농축 또는 사후-농축될 수 있다. Vδ2 세포와 같은 γδ T-세포의 확장을 위한 이러한 방법 및 기타 적합한 방법은, Deniger et al., Frontiers in Immunology 2014, 5, 636: 1-10에서 상세하게 설명되며, 이는 그 전체 내용이 참고로 본 명세서에 통합된다. 또한, 그 전문이 본원에 참조로 포함된 Almeida et al. (Clinical Cancer Research 2016, 22, 23; 5795-5805)은 본원에 기재된 이종 표적화 작제물을 발현하도록 조작될 수 있는 Vδ1 T-세포 집단을 수득하는 적합한 방법을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, PBMC는 90% 초과의 γδ T-세포를 산출할 수 있는 자기 비드 분류를 사용하여 사전 농축된다.

[0056] **비-조혈 조직으로부터 비-조혈 조직 상주 γδ T-세포의 단리 및 확장**

[0057] 본원에 기재된 바와 같이 수득된 비-조혈 조직-상주 γδ T-세포는 우수한 종양 침투 및 보유 능력을 나타낸다.

비-조혈 조직-상주 γδ T-세포의 단리 및 확장을 위한 보다 상세한 방법은, 예를 들어, GB 출원 번호 1707048.3(WO2018/202808) 및 국제 특허 공개 번호 WO 2017/072367(US Publ. No. 2018/0312808)에서 설명되며, 이들 각각은 그 전문이 참조로 본원에 포함된다.

[0058] 비-조혈 조직 상주 γδ T-세포(예를 들어, 피부 유래 γδ T-세포 및/또는 비-Vδ2 T-세포, 예를 들어, Vδ1 T 세포 및/또는 DN T 세포)는 본 발명의 방법에 따른 조작에 적합한 세포를 얻기 위해 환자로부터 제거될 수 있는 임의의 인간 또는 비인간 동물의 비-조혈 조직으로부터 단리될 수 있다. 일부 실시형태에서, γδ T-세포가 유도되고 확장되는 비-조혈 조직은 피부(예를 들어, 인간 피부)이며, 이는 당업계에 공지된 방법에 의해 수득될 수 있다. 일부 실시형태에서, 피부는 펀치 생검에 의해 수득된다. 대안적으로, 본원에서 제공된 γδ T-세포의 단리 및 확장 방법은 위장관(예를 들어, 결장), 유선, 폐, 전립선, 간, 비장 및 췌장에 적용될 수 있다. γδ T-세포는 또한 인간 암 조직, 예를 들어, 유방 또는 전립선 종양에 상주할 수 있다. 일부 실시형태에서, γδ T-세포는 인간 암 조직(예를 들어, 고형 종양 조직)으로부터 유래할 수 있다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 인간 암 조직 이외의 비-조혈 조직(예를 들어, 상당한 수의 종양 세포가 없는 조직)으로부터 유래할 수 있다. 예를 들어, γδ T-세포는 근처의 또는 인접한 암 조직으로부터 분리된 피부 영역(예를 들어, 건강한 피부)에서 유래할 수 있다.

[0059] 혈액에서 우세한 γδ T-세포는 주로 Vδ2 T-세포인 반면 비-조혈 조직에서 우세한 γδ T-세포는 주로 Vδ1 T-세포이므로, Vδ1 T-세포는 비-조혈 조직 상주 γδ T-세포 집단의 약 70-80%를 포함한다. 그러나, 일부 Vδ2 T-세포는 비-조혈 조직, 예를 들어, 내장에서도 발견되며, 여기에서는 약 10-20%의 γδ T-세포를 포함할 수 있다. 비-조혈 조직에 상주하는 일부 γδ T 세포는 Vδ1 또는 Vδ2 TCR을 발현하지 않으며, 우리는 이들을 이중 음성(DN) γδ T 세포라고 명명하였다. 이러한 DN γδ T 세포는 대부분 Vδ3을 발현하고 소수의 Vδ5-발현 T 세포를 발현할 가능성이 있다. 따라서, 일반적으로 비-조혈 조직에 상주하고 본 발명의 방법에 의해 확장되는 γδ T-세포는, 바람직하게는 더 적은 양의 DN γδ T 세포를 포함하는 비-Vδ2 T 세포, 예를 들어 Vδ1 T 세포이다.

[0060] 일반적으로, 비-조혈 조직에 상주하는 γδ T 세포는 기질 세포(예를 들어, 피부 섬유아세포)와의 물리적 접촉을 제거하면 자발적으로 확장할 수 있다. 따라서, 위에서 설명한 스캐폴드 기반 배양 방법을 사용하여 이러한 분리를 유도할 수 있으며, 결과적으로 γδ T 세포의 억제를 해제하여 확장을 촉발할 수 있다. 이에 따라, 일부 실시형태에서, 확장 단계 동안 어떠한 실질적인 TCR 경로 활성화도 존재하지 않는다(예를 들어, 외인성 TCR 경로 활성화제가 배양물에 포함되지 않는다). 추가로, 본 발명은 비-조혈 조직-상주 γδ T 세포를 확장시키는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 영양 세포, 종양 세포, 및/또는 항원 제시 세포와의 접촉을 포함하지 않는다.

[0061] **치료 방법**

[0062] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작되고 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물을 함유하는 약제학적 조성물은 예방 및/또는 치료적 치료를 위해 투여될 수 있다. 치료 응용에서, 이 조성물은 질병 또는 병태의 증상을 치유하거나 적어도 부분적으로 정지시키기에 충분한 양으로 질병 또는 병태를 이미 겪는 대상체에게 투여될 수 있다. 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 또한 병태의 발현, 수축 또는 악화 가능성을 줄이기 위해 투여될 수 있다. 치료적 사용을 위한 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단 및/또는 이들의 혼합물의 유효량은, 질병 또는 병태의 중증도 및 경과, 이전 치료법, 대상체의 건강 상태, 체중 및/또는 약물에 대한 반응, 및/또는 치료 의사의 판단에 따라 달라질 수 있다.

[0063] 본 개시내용의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 병태에 대한 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다.

[0064] 농축 γδ T-세포 집단 및 본 개시내용의 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 갖는 대상체에서 병태를 치료하는 방법은, 조작되지 않은 농축 γδ T 세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이의 혼합물은 다양한 치료법(예를 들어, 시기, 농도, 투여량, 치료 사이의 간격, 및/또는 제형)으로 투여될 수 있다. 대상체는 또한 본 개시내용의 농축 γδ T-세포 집단 및/또는 이들의 혼합물을 수용하기 전에, 예를 들어, 화학요법, 방사선, 또는 둘 모두의 조합으로 사전 조절될 수 있다. 치료의 일부로서, 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물이 제1 요법으로 대상체에게 투여될 수 있고, 이 대상체는 제1 요법에서의 치료가 주어진 수준의 치료 효능을 충족하는지 여부를 결정하기 위해 모니터링될 수 있다.

[0065] 본 개시내용의 농축 γδ T-세포 집단, 즉, 조작되지 않거나 조작된, 및/또는 이들의 혼합물은 다양한 병태를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에, 본 개시내용의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 고형 종양 및 혈액암을 비롯한 암을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0066] **투여 방법**

[0067] 본 발명의 하나 또는 다수의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 임의의 순서로 또는 동시에 대상체에게 투여될 수 있다. 동시에, 본 발명의 다수의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 정맥내 주사와 같은 단일의 통합된 형태로, 또는 예를 들어 다중 정맥내 주입, 피하 주사, 주사 또는 알약과 같은 여러 형태로 제공될 수 있다. 본 발명의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 단일 패키지 또는 복수의 패키지로 함께 또는 별도로 패킹될 수 있다. 본 발명의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물 중 하나 또는 모두는 다중 용량으로 제공될 수 있다. 동시가 아닌 경우, 다중 투여 사이의 타이밍은 약 1주일, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월 또는 약 1년 정도로 다양할 수 있다. 일부 경우에, 본 발명의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 대상체에게 투여된 후 생체내에서 대상체의 신체 내에서 확장될 수 있다. 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물은 동결되어 다중 치료를 위한 세포에 동일한 세포 제제를 제공할 수 있다. 본 개시내용의 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물, 및 이를 포함하는 약제학적 조성물은 키트로서 포장될 수 있다. 키트는 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물, 및 이를 포함하는 조성물의 사용에 대한 지침(예를 들어, 서면 지침)을 포함할 수 있다.

[0068] 일부 경우에, 암을 치료하는 방법은 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여는 암을 치료한다. 일부 실시형태에서, 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물의 치료적 유효량은 적어도 약 10초, 30초, 1분, 10분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, δ시간, 12시간, 24시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월 또는 1년 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물의 치료적 유효량은 적어도 1주 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 조작되지 않은 농축 γδ T-세포 집단, 조작된 농축 γδ T-세포 집단, 및/또는 이들의 혼합물의 치료적 유효량은 적어도 2주 동안 투여된다.

[0069] **실시형태**

[0070] 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0071] 일 양상에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)에 특이적인 항체를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 농축 γδ T-세포 집단을 포함한다. 일 실시형태에서, 농축 γδ T-세포 집단은 조작되지 않은 또는 조작된 γδ T-세포 및/또는 그의 혼합물을 포함한다. 추가 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 및 농축 γδ T-세포 집단을 포함하는 약제학적 조합물을 제공한다.

[0072] 또 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 조작되지 않은 또는 조작된 γδ T-세포 및/또는 이의 혼합물을 포함한다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 조작되지 않은 γδ T-세포의 집단이다. 또 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 조작된 γδ T-세포의 집단이다.

[0073] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 말초 혈액, 종양 조직 또는 비-조혈 조직으로부터 단리된다. 일 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된 γδ T-세포의 집단이다.

[0074] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 암 치료에 사용하기 위한 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하고, 여기서 암은 혈액 암이다. 다른 실시형태에서, 혈액 암은 만성 림

프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종(NHL), 소 림프구성 림프종(SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)이다. 다른 실시형태에서, 상기 혈액암 은 비호지킨 림프종 (NHL)이다. 추가 실시형태에서, 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 맨틀 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0075] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 CD19에 특이적인 상기 항체 또는 항체 단편은 9 mg/kg으로 투여된다. 대안적인 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 12 mg/kg으로 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 15 mg/kg 이상이 투여된다.

[0076] 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 세포독성 활성을 갖는다. 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 ADCC 유도 활성을 갖는 불변 영역을 포함한다. 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체는 ADCC를 유도한다.

[0077] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 조합물의 성분, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 γδ T-세포는 별도로 투여된다. 일 실시형태에서, γδ T-세포는 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편의 투여 전에 투여된다. 일 실시형태에서, CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편은 γδ T-세포의 투여 전에 투여된다. 실시형태에서, 조합물의 성분은 두 성분(약물)이 동시에 환자에게서 활성인 시간에 투여된다. 이는, 두 약물이 동시에 환자에게서 활성화된다는 "상승작용"으로 암시된다. 실시형태에서, 조합물의 성분은 물리적으로 또는 적시에 함께, 동시에, 개별적으로 또는 후속적으로 투여된다. 실시형태에서, 조합물의 성분은 동시에 투여된다.

[0078] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 γδ T-세포를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 항-CD19 항체는 매주, 격주 또는 매월 투여된다.

[0079] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 γδ T-세포를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 CD19에 특이적인 상기 항체 또는 항체 단편은 12 mg/kg의 농도로 투여된다.

[0080] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 γδ T-세포를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하고, 여기서 CD19에 대해 특이적인 상기 항체 또는 항체 단편은 제1 투여 후 제1일에 매주, 격주 또는 매월 투여되고 BCL-2 억제제는 제8일에 처음으로 투여된다. 추가 실시형태에서, 제1 투여 후 제1일에 항-CD19 항체 또는 그 항체 단편이 처음 3개월 동안 매주 그리고 최소 다음 3개월 동안 격주로 투여된다.

[0081] 일 양상에서, 본 개시내용은 혈액 암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편을 제공하고, 여기서 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 갖고, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여된다.

[0082] 일 양상에서, 본 개시내용은 혈액 암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편을 제공하고, 여기서 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 갖고, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여된다. 일 실시형태에서, 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 가지며, 상기 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 맨틀 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0083] 일 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 은, 서열 SYVMH(서열번호: 1)를 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG(서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY(서열번호: 3)를 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY(서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS(서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT(서열번호: 6)를 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0084] 추가 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 서열

[0085] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY YGTRVFDYWGQGTLVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄

[0086] 및 서열

[0087] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0088] 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 IgG 동종형의 것이다. 다른 실시형태에서, 항체 또는 항체 단편은 IgG1, IgG2 또는 IgG1/IgG2 키메라이다. 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체의 동종형은 항체-의존성 세포-매개 세포독성을 향상시키도록 조작된다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체의 중쇄 불변 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 여기서 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다. 다른 실시형태에서, 항체는 IgG1, IgG2 또는 IgG1/IgG2이고, 항-CD19 항체의 키메라 중쇄 불변 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.

[0089] 추가 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는, 서열

[0090] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY YGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄

[0091] 및 서열

[0092] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄를 포함한다.

[0093] 일 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은, 서열

[0094] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY YGTRVFDYWGQGTLVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄

[0095] 및 서열

[0096] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄

[0097] 또는 서열번호: 7의 가변성 중쇄 및 서열번호: 8의 가변성 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99 %의 동일성을 갖는 가변성 중쇄 및 가변성 경쇄를 포함한다.

[0098] 일 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열

[0099] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY YGTRVFDYWGQGTLVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄

[0100] 및 서열

[0101] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄

[0102] 또는 서열번호: 7의 가변성 중쇄 및 서열번호: 8의 가변성 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 가변성 중쇄 및 가변성 경쇄를 포함하며, 여기서 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호:2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체의 중쇄 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.

[0103] 추가 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열

[0104] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY
YGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄

[0105] 및 서열

[0106] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT
FGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄

[0107] 또는 서열번호: 7의 중쇄 및 서열번호: 8의 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

[0108] 추가 실시형태에서, γδ T-세포와 조합하여 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 서열

[0109] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY
YGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄

[0110] 및 서열

[0111] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT
FGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄

[0112] 또는 서열번호: 7 의 중쇄 및 서열번호: 8의 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호:2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체의 중쇄 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 여기서 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.

[0113] 일 실시형태에서, 본 개시내용은 항-CD19 항체 및 이의 항체 단편을 제공하며, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 12mg/kg의 농도로 투여된다.

[0114] 추가 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 매주, 격주 또는 매월 투여된다. 추가 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 처음 3개월 동안은 매주 그리고 적어도 다음 3개월 동안은 격주로 투여된다. 추가 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 처음 3개월 동안 매주 투여된다. 추가 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 처음 3개월 동안은 매주 그리고 적어도 다음 3개월 동안은 격주로 투여된다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 처음 3개월 동안은 매주, 다음 3개월 동안은 격주로, 그리고 그 후에는 매월 투여된다. 또 다른 실시형태에서, 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편은 처음 3개월 동안은 매주, 다음 3개월 동안은 격주로, 그리고 그 후에는 매월 투여된다.

[0115] 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 제공하며, 여기서 CD19에 특이적인 상기 항체 또는 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여된다. 일 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액, 종양 조직 또는 비-조혈 조직으로부터 단리된다. 일 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된다. 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리된 γδ T-세포의 집단이다. 또 다른 실시형태에서, γδ T-세포는 말초 혈액으로부터 단리되고 IL-2 및 ZOL의 존재 하에 배양된 γδ T-세포의 집단이다. 다른 예에서, γδ T-세포는 혈액-유래 Vγ9Vδ2 T-세포의 집단이다.

[0116] 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 제공하며, 여기서 CD19에 특이적인 상기 항체 또는 항체 단편은 γδ T-세포와 조합하여 투여되고, 여기서 투여 단계는 CD19에 특이적인 항체 및 γδ T-세포를 동시에, 순서대로 또는 역순으로 조합하여 투여함으로써 수행된다.

[0117] 다른 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료용 의약을 제조하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 γδ T-세포를 포함하는 약제학적 조합물의 용도를 제공한다.

[0118] 다른 실시형태에서, 본 개시내용은, CD19에 특이적인 항체 및 γδ T-세포를 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료에 사용하기 위한 방법을 제공한다. 다른 실시형태에서, 본 개시내용은 CD19에 특이적인 항체 및 γδ T-세포를 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 암 치료에 사용하기 위한 방법을 제공하며, 여기서 투여 단계는 CD19에 특이적인 항체와 γδ T-세포를 동시에, 순서대로 또는 역순으로 조합하여 투여함으로써 수행된다.

[0119] 본 개시내용은 암 치료에 사용하기 위한 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편 및 감마 델타 T-세포(γδ T-세포)를 포함하는 약제학적 조합물을 제공하며, 여기서 γδ T-세포는 치료적 유효량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 상기 기재된 임의의 방법에 의해 수득된 치료적 유효량의 림프구(예를 들어, γδ T-세포)는 (예를 들어, 혈액암과 같은 암의 치료를 위해) 대상체에게 치료적 유효량으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 림프구(예를 들어, γδ T-세포)의 치료적 유효량은 용량당 10×10^{12} 세포 미만(예를 들어, 용량당 9×10^{12} 세포 미만, 용량당 8×10^{12} 세포 미만, 용량당 7×10^{12} 세포 미만, 용량당 6×10^{12} 세포 미만, 용량당 5×10^{12} 세포 미만, 용량당 4×10^{12} 세포 미만, 용량당 3×10^{12} 세포 미만, 용량당 2×10^{12} 세포 미만, 용량당 1×10^{12} 세포 미만, 용량당 9×10^{11} 세포 미만, 용량당 8×10^{11} 세포 미만, 용량당 7×10^{11} 세포 미만, 용량당 6×10^{11} 세포 미만, 용량당 5×10^{11} 세포 미만, 용량당 4×10^{11} 세포 미만, 용량당 3×10^{11} 세포 미만, 용량당 2×10^{11} 세포 미만, 용량당 1×10^{11} 세포 미만, 용량당 9×10^{10} 세포 미만, 용량당 7.5×10^{10} 세포 미만, 용량당 5×10^{10} 세포 미만, 용량당 2.5×10^{10} 세포 미만, 용량당 1×10^{10} 세포 미만, 용량당 7.5×10^{9} 세포 미만, 용량당 5×10^{9} 세포 미만, 용량당 2.5×10^{9} 세포 미만, 용량당 1×10^{9} 세포 미만, 용량당 7.5×10^{8} 세포 미만, 용량당 5×10^{8} 세포 미만, 용량당 $2,5 \times 10^{8}$ 세포 미만, 용량당 1×10^{8} 세포 미만, 용량당 7.5×10^{7} 세포 미만, 용량당 5×10^{7} 세포 미만, $2,5 \times 10^{7}$ 미만 용량당 세포, 용량당 1×10^{7} 세포 미만, 용량당 7.5×10^{6} 세포 미만, 용량당 5×10^{6} 세포 미만, 용량당 2.5×10^{6} 세포 미만, 용량당 1×10^{6} 세포 미만, 용량당 7.5×10^{5}세포 미만, 용량당 5×10^{5} 세포 미만, 용량당 2.5×10^{5} 세포 미만, 또는 용량당 1×10^{5} 세포 미만)이다.

[0120] 일부 실시형태에서, γδ T-세포(예를 들어, 피부-유래 γδ T-세포, 혈액-유래 γδ T-세포)의 치료적 유효량은 치료 과정에 걸쳐 10×10^{12} 세포 미만(예를 들어, 치료 과정에서 9×10^{12} 세포 미만, 8×10^{12} 세포 미만, 7×10^{12} 세포 미만, 6×10^{12} 세포 미만, 5×10^{12} 세포 미만, 4×10^{12} 세포 미만, 3×10^{12} 세포 미만, 2×10^{12} 세포 미만, 1×10^{12} 세포 미만, 9×10^{11} 세포 미만, 8×10^{11} 세포 미만, 7×10^{11} 세포 미만, 6×10^{11} 세포 미만, 5×10^{11} 세포 미만, 4×10^{11} 세포 미만, 3×10^{11} 세포 미만, 2×10^{11} 세포 미만, 1×10^{11} 세포 미만, 9×10^{10} 세포 미만, 7.5×10^{10} 세포 미만, 5×10^{10} 세포 미만, 2.5×10^{10} 세포 미만, 1×10^{10} 세포 미만, 7.5×10^{9} 세포 미만, 5×10^{9} 세포 미만, 2.5×10^{9} 세포 미만, 1×10^{9} 세포 미만, 7.5×10^{8} 세포 미만, 5×10^{8} 세포 미만, $2,5 \times 10^{8}$ 세포 미만, 1×10^{8} 세포 미만, 7.5×10^{7} 세포 미만, 5×10^{7} 세포 미만, $2,5 \times 10^{7}$ 세포 미만, 1×10^{7} 세포 미만, 7.5×10^{6} 세포 미만, 5×10^{6} 세포 미만, $2,5 \times 10^{6}$ 세포 미만, 1×10^{6} 세포 미만, 7.5×10^{5} 세포 미만, 5×10^{5} 세포 미만, $2,5 \times 10^{5}$ 세포 미만, 또는 1×10^{5} 세포 미만)이다.

[0121] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 γδ T-세포의 용량은 약 1×10^{6}, 1.1×10^{6}, 2×10^{6}, 3.6×10^{6}, 5×10^{6}, 1×10^{7}, 1.8×10^{7}, 2×10^{7}, 5×10^{7}, 1×10^{8}, 2×10^{8}, 또는 5×10^{8} 세포/kg을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 γδ T-세포의 용량은 적어도 1×10^{6}, 1.1×10^{6}, 2×10^{6}, $3.6 \times$

10^6, 5 x 10^6, 1 x 10^7, 1.8 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 또는 5 x 10^8 세포/kg을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 γδ T-세포의 용량은 1 x 10^6, 1.1 x 10^6, 2 x 10^6, 3.6 x 10^6, 5 x 10^6, 1 x 10^7, 1.8 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 또는 5 x 10^8 세포/kg을 포함한다.

[0122] **조합**

[0123] 본 개시내용은 혈액 암의 치료에 사용하기 위한 γδ T-세포와 조합된 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편을 제공하며, 여기서 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 γδ T-세포는 하나 이상의 약제와 조합되어 투여된다. 본 개시내용의 일 실시형태에서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 γδ T-세포는 약제와 조합하여 투여된다. 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 γδ T-세포는 하나 이상의 추가 약제 또는 하나의 추가 약제와 조합하여 투여된다. 일 양상에서, 상기 약제는 하나의 추가 약제이다. 본 개시내용의 일 실시형태에서, 상기 약제는 생물학적제제 또는 화학요법제이다. 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 상기 약제는 치료적 항체 또는 항체 단편, 질소 머스타드, 퓨린 유사체, 탈리도마이드 유사체, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, BCL-2 억제제 또는 브루톤티로신 키나제 (BTK) 억제제이다. 추가 실시형태에서, 상기 약제는 리툭시맙, R-CHOP, 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜파란, 벤다무스틴, 메르캅토퓨린, 아자티오프린, 티오구아닌, 플루다라빈, 탈리도마이드, 레날리 도마이드, 포말리도마이드, 이델라리십, 두벨리십, 코판리십, 이브루티닙 또는 베네토클락스이다.

[0124] 다른 실시형태에서, 본 개시내용은 혈액 암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 γδ T-세포를 제공하며, 여기서 상기 항-CD19 항체 또는 이의 항체 단편 및 γδ T-세포는 리툭시맙, R-CHOP, 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜팔란, 벤다무스틴, 메르캅토퓨린, 아자티오프린, 티오구아닌, 플루다라빈, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말리도마이드, 이데랄리십, 두벨리십, 코판리십, 이브루티닙 또는 베네토클락스와 조합하여 투여된다.

[0125] **항체 서열**

표 1

[0126]

	서열번호	아미노산
HCDR1	서열번호: 1	SYVMH
HCDR2	서열번호: 2	NPYNDG
HCDR3	서열번호: 3	GTYYYGTRVFDY
LCDR1	서열번호: 4	RSSKSLQNVNGNTYLY
LCDR2	서열번호: 5	RMSNLNS
LCDR3	서열번호: 6	MQHLEYPIT
VH	서열번호: 7	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG QGTLVTVSS
VL	서열번호: 8	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK
중쇄 불변 도메인	서열번호: 9	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
경쇄 불변 도메인	서열번호: 10	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

전체 중쇄	서열번호: 11	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWI GYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYC ARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPE EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
전체 경쇄	서열번호: 12	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQS PQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQH LEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0127] **작업예**

[0128] **실시예 1: 테스트된 세포주에서 CD19 및 CD20 발현의 특성화**

[0129] 이 연구는 림프종 및 백혈병 세포주의 다른 공여자 뿐만 아니라 CLL (만성 림프구 백혈병), MCL (맨틀 세포 림프종) 및 B-ALL (급성 림프성 백혈병)으로부터 1차 환자 유래 종양 물질로부터 γδ T-세포에 의해 매개된 Fc-강화 항-CD19 항체 타파시타맙 (MOR00208)의 세포독성 활성을 평가하기 위해 수행되었다. 또한, γδ T-세포의 존재하에서 타파시타맙의 항체 의존성 세포-매개 세포독성 활성이 평가되었다.

[0130] 다양한 농도의 타파시타맙 및 IgG1 음성 대조군 항체를 사용한 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 검정에서 다양한 림프종 및 백혈병 세포주뿐만 아니라 림프종 및 백혈병 환자의 환자 유래 1차 종양 세포가 평가되었다. γδ T-세포는 7명의 다른 공여자로부터 단리되었고 상이한 효과기 대 표적 세포 비율(E:T 비율 0.7:1, 2.2:1, 6.7:1 및 20:1)에서 효과기 세포로서 사용되었다.

[0131] **물질, 방법 & 데이터 분석**

[0132] **γδ T-세포:**

[0133] γδ T-세포는 αβ T-세포의 주요 조직적합성 복합체(MHC) 결합 TCR과 구조적으로 및 기능적으로 구별가능한 T-세포 수용체(TCR) 복합체의 일부로서 Vγ 및 Vδ 가변 사슬을 발현한다. 제한되지 않은 높은 조합 다양성에도 불구하고, Vδ2 사슬은 우선적으로 Vγ9 사슬과 쌍을 이룬다. Vγ9Vδ2 T-세포는 말초혈액 T-세포의 약 5%를 차지하며, 이는 이 구획에서 지배적인 γδ T-세포 하위집단을 나타낸다. 7명의 다른 공여자로부터의 γδ T-세포는 이하에 열거된 바와 같이 단리, 자극 및 적용되었다:

표 2

[0134]

공여자	특성	검정
1	졸레드로네이트/IL2, **TCRγδpos/CD3+:36,5%,** TCRγδneg/CD3+: 57,0%, CD56+/CD3-: 0,5%로 자극 후 d10	Jeko 세포를 사용한 용량 적정
2	졸레드로네이트/IL2: **TCRγδpos/CD3+:84,8%,** TCRγδneg/CD3+: 11,7%, CD56+/CD3-: 1,2%로 자극 후 d10	U2932 세포를 사용한 용량 적정
3	졸레드로네이트/IL2, **TCRγδpos/CD3+:46,0%,** TCRγδneg/CD3+: 47,0%, CD56+/CD3-: 1,75%로 자극 후 d9	Jeko 세포를 사용한 용량 적정
4	졸레드로네이트/IL2, **TCRγδpos/CD3+: 60,8%,** TCRγδneg/CD3+:12,6%, CD56+/CD3-: 1,4%로 자극 후 d9	세포독성 세포주
5	졸레드로네이트/IL2, **TCRγδpos/CD3+: 69,5%,** TCRγδneg/CD3+:23,2%, CD56+/CD3-: 2,6%로 자극 후 d9	세포독성 세포주
6	졸레드로네이트/IL2, **TCRγδpos/CD3+:84,8%,** TCRγδneg/CD3+: 11,7%, CD56+/CD3-: 1,2%로 자극 후 d9	세포독성 세포주
7	졸레드로네이트/IL2, **TCRγδpos/CD3+:67,3%,** TCRγδneg/CD3+: 24,4%, CD56+/CD3-: 3,6%로 자극 후 d9	세포독성 환자 세포

[0135] 표에 나열된 바와 같이, 기재된 실험에 사용된 자극된 세포 집단은 세 가지 주요 집단으로 구성되었다. CD56+/CD3-NK 효과기 세포의 아주 작은 부분만 존재한 반면(<5%), TCRγδneg/CD3+ 세포는 일부 경우에 더 큰 집단을 나타내었지만 이러한 세포는 표적 세포의 용해를 촉발하지 않는다. 따라서, 주로 γδ T-세포가 항체 매개 세포 사멸을 담당했다.

[0136] **세포주 및 환자 샘플**

[0137] 세포주(DSMZ에서 수득): Mino(맨틀 세포 림프종), Daudi(버킷 림프종), Jeko-1(맨틀 세포 림프종), U2932(DLBCL), REH(B-ALL)

[0138] 환자 샘플(말초 혈액): 2x CLL(만성 림프구성 백혈병), 2x MCL(맨틀 세포 림프종), 1x B-ALL(급성 림프모구 백혈병)

[0139] **결과**

[0140] **림프종 세포주를 사용한 용량 적정**

[0141] 유효한 검정 설정을 얻기 위한 초기 용량 적정 실험은 γδ T-세포의 4가지 E:T 비율(0.7:1, 2.2:1, 6.7:1 및 20:1)의 존재 하에 0.001과 10 μg/ml 사이의 농도로 MOR00208을 사용하여 수행되었으며, 용해된 Jeko 및 U2932 표적 세포의 백분율에서 용량 의존적 증가가 관찰되었다. 예상대로 테스트된 항체의 사멸 활성은 더 높은 E:T 비율로 증가했고, 가장 뚜렷한 효과는 가장 높은 테스트된 E:T 비율 6.7:1 및 20:1에서 관찰되었다. 세포 용해의 최대 효능은 2개의 테스트된 세포주에서 0.1 μg/ml, 1 μg/ml 및 10 μg/ml MOR00208 농도에 도달했다. 세포 용해는 각각 Jeko의 경우 34.0%와 49.3% 사이, U2392 세포의 경우 22.5 %의 최대 용해와 함께 γδ T-세포 의존적 공여자 변이를 보여주었다.와 백혈병 및 림프종 세포주 및 환자 유래 종양 세포에 대해 γδ T-세포에 의한 항체-매개 세포 사멸의 Fc-의존적 효과의 추가 포괄적 분석을 위한 최적의 농도로서 1μg/ml의 MOR00208(Fc-증강)의 농도가 선택되었다.

[0142] **림프종/백혈병 세포주를 사용한 세포독성 검정**

[0143] CD19 항체와 조합하여 γδ T-세포의 종양 세포 사멸 가능성을 결정하기 위해, Tafasitamab이 표적 세포로서 Mino, Daudi, Jeko, U2932 및 REH 세포를 사용하여 1 μg/ml로 테스트되었다(**도 1** 및**도 2**). 이전과 같이, 0.7:1과 20:1 사이의 4개의 상이한 E:T 비율을 테스트했다. 그리고 모든 세포주에 대해, γδ T-세포와 조합된 MOR00208의 효과는 γδ T-세포와 조합된 IgG1 대조군(MOR00208>IgG1 대조군)보다 우수했다. 용량 적정 실험 동안 관찰된 바와 같이, 시험된 항체의 사멸 활성이 증가하였고, 가장 뚜렷한 효과는 가장 높은 시험된 E:T 비율 6.7:1 및 20:1에서 발견되었다. 특히, 가장 낮은 비특이적 사멸을 갖는 2개의 세포주(Mino 및 Jeko)에서, 세포 사멸 활성에 대한 항체의 가장 높은 특이적 기여가 관찰되었다. 두 세포주 모두에서, MOR00208 활성은 IgG1 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 있었다(**도 1**). 더 높은 비특이적 사멸을 갖는 3개의 세포주에서, 활성 프로파일은 유사했지만(MOR00208>IgG1 대조군) 특이적 효과는 제한적이었다(**도 2**).

[0144] **1차 환자 세포를 이용한 세포독성 검정**

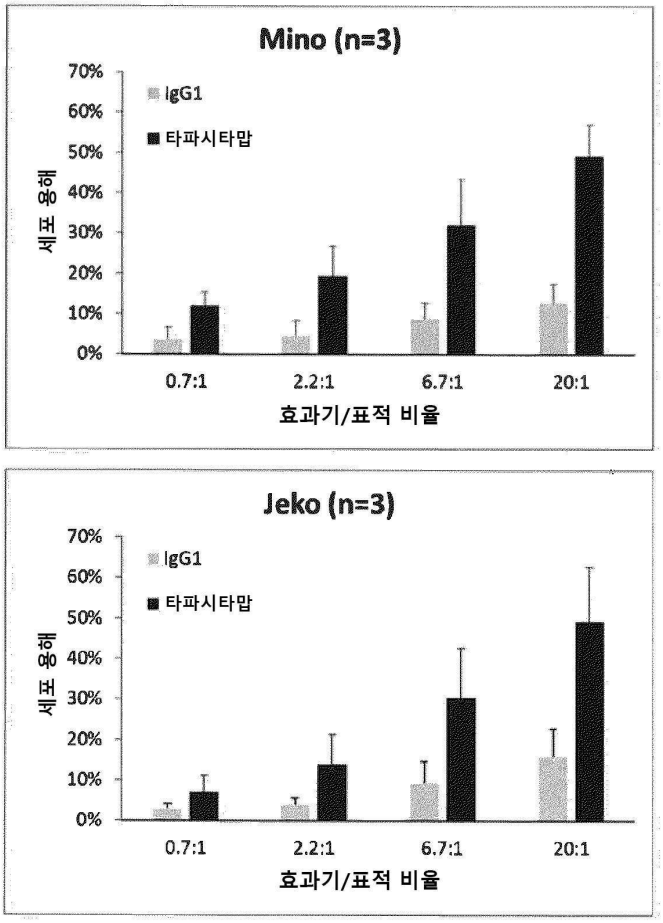
[0145] 세포주를 통해 수행된 바와 같이, 2개의 CLL, 2개의 MCL 및 1개의 B-ALL 환자로부터의 1차 종양 세포는 단리되어, 1μg/ml의 CD19-표적화 항체뿐만 아니라 단일 공여자의 γδ T-세포의 다양한 E:T 비율(0.7:1 내지 20:1)로 인큐베이팅되었다(**도 3** 및 **도 4**). 세포주에 대한 관찰에 따라, MOR00208는 γδ T-세포의 사멸 활성에 대한 뚜렷한 특이적 기여를 보여주었다. 이러한 기여는 모든 1차 세포에서 E:T 비율에 따라 증가했으며, 가장 높은 테스트된 E:T 비율 20:1에서 가장 두드러졌다. 1차 환자 세포는 단일 실험에서만 테스트되었다.

[0146] **결론**

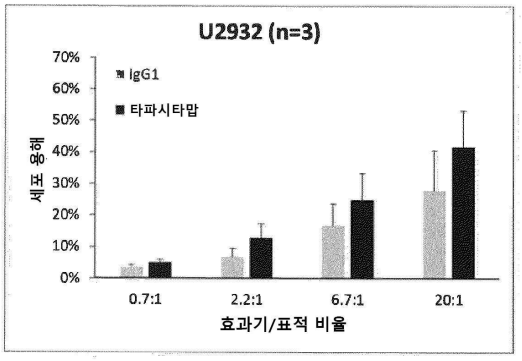
[0147] 요약하면, γδ T-세포는 이 연구에서 Fc-증강 CD19-표적화 항체 MOR00208에 대해 입증된 바와 같이 항체 기반 종양 요법에서 잠재적인 효과기 세포 집단인 것으로 밝혀졌다. MOR00208은 여러 림프종 및 백혈병 세포주뿐만 아니라 1차 환자 유래 CLL, MCL 및 B-ALL 세포에 대한 γδ T-세포의 존재에 의해 매개되는 강력한 항종양 활성을 보여주었으며, MOR00208과 γδ T-세포 결합에 대한 타당한 근거를 림프종 및 백혈병 치료를 위한 유망한 접근 방식으로서 제시한다.

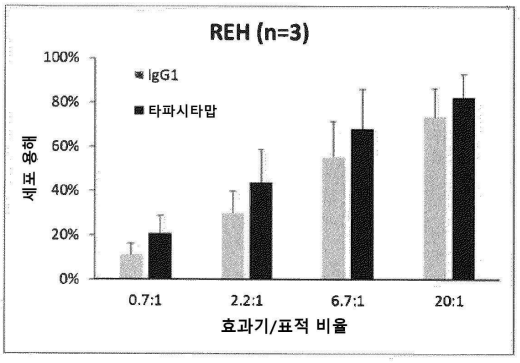
도면

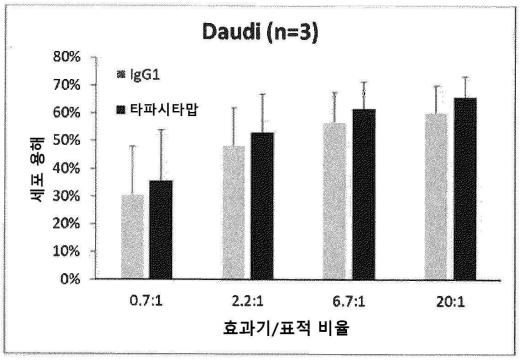
도면1


Mino (n=3)
IgG1
타파시타맙
세포 용해
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율
Jeko (n=3)
IgG1
타파시타맙
세포 용해
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율

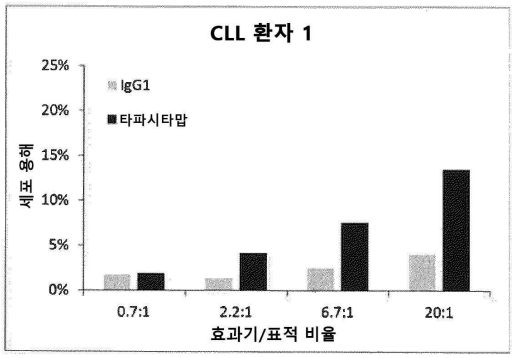
도면2

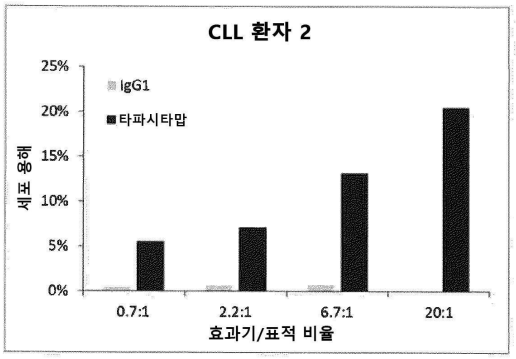

U2932 (n=3)
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
세포 용해
IgG1
타파시타맙
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율

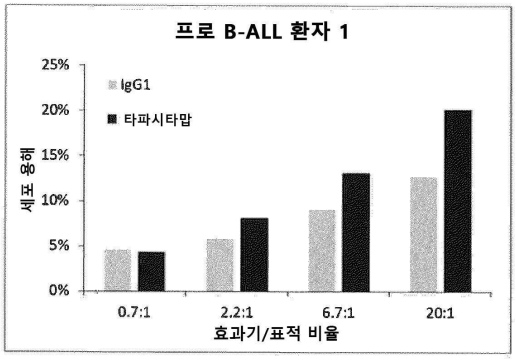

REH (n=3)
100%
80%
60%
40%
20%
0%
세포 용해
IgG1
타파시타맙
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율


Daudi (n=3)
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
세포 용해
IgG1
타파시타맙
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율

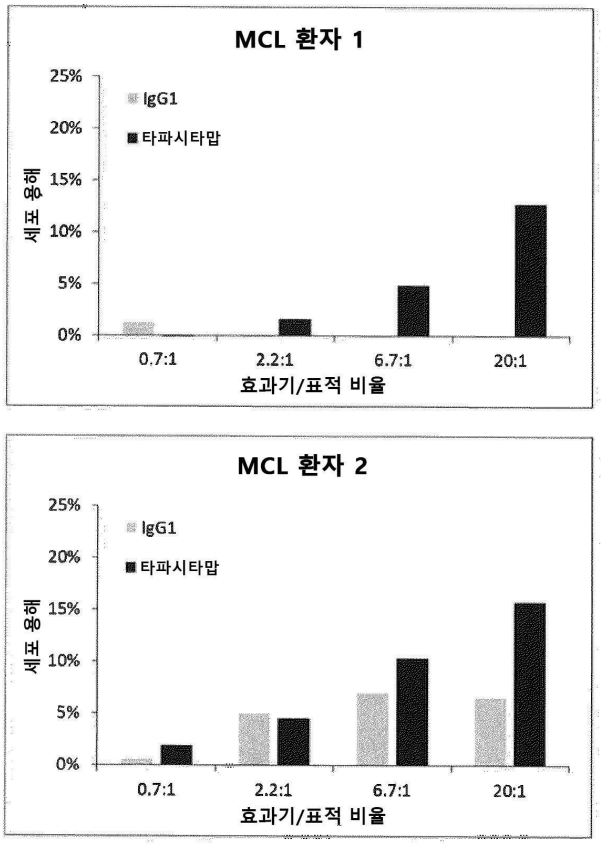
도면3


CLL 환자 1
25%
20%
15%
10%
5%
0%
세포 용해
IgG1
타파시타맙
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율


CLL 환자 2
25%
20%
15%
10%
5%
0%
세포 용해
IgG1
타파시타맙
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율


프로 B-ALL 환자 1
25%
20%
15%
10%
5%
0%
세포 용해
IgG1
타파시타맙
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
효과기/표적 비율

도면4



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> MORPHOSYS AG

<120> ANTI-TUMOR COMBINATION THERAPY COMPRISING ANTI-CD19 ANTIBODY AND GAMMA DELTA T-CELLS

<130> MS309/EP-PROV

<140>

<141>

<160> 13

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 1

Ser Tyr Val Met His

1 5

<210> 2

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 2

Asn Pro Tyr Asn Asp Gly

1 5

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 3

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

1 5 10

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 4

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

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 5

Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 7

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 8
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

<210> 9

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 9

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 10
<211> 107
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 10
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 11

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

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

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

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 12
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 12
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val

20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 13

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
65 70 75 80
Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
85 90 95
Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
100 105 110
Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp

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

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

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

305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val

325 330 335

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

340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala

355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp

370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly

385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu

405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu

420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly

435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu

450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser

465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly

485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln

500 505 510

Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala

515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp

530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg

545 550 555