



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년10월30일
(11) 등록번호 10-1320198
(24) 등록일자 2013년10월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-7011980
(22) 출원일자(국제) 2007년05월04일
심사청구일자 2012년05월04일
(85) 번역문제출일자 2009년06월10일
(65) 공개번호 10-2009-0087908
(43) 공개일자 2009년08월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2007/068300
(87) 국제공개번호 WO 2008/073509
국제공개일자 2008년06월19일
(30) 우선권주장
60/874,460 2006년12월11일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
blood vol100 no 11, part1, pp.1022
전체 청구항 수 : 총 27 항

(73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
매스, 로버트, 디.
미국 94941 캘리포니아주 밀 밸리 엘리너 애비뉴
106
플로우맨, 그레고리, 디.
미국 94070 캘리포니아주 샌 카를로스 와인딩 웨
이 35
(74) 대리인
위혜숙, 양영준

심사관 : 임혜준

(54) 발명의 명칭 **신생물의 치료를 위한 조성물 및 방법**

(57) 요약

본 발명은 VEGF 길항제를 사용하는, 불응성 또는 재발된 신생물을 포함한 신생물 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 질환의 치료를 위한 치료 요법을 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1

VEGF 길항제를 포함하는, 프로테아솜 억제 치료요법으로부터 재발되거나 또는 상기 치료요법에 대해 불응성인 환자에서 신생물을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 2

VEGF 길항제를 포함하는, 알킬화제 치료요법으로부터 재발되거나 또는 상기 치료요법에 대해 불응성인 환자에서 형질 세포 신생물을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 3

VEGF 길항제 및 프로테아솜 억제제를 포함하는, 재발된 또는 불응성 환자에서 신생물을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 4

VEGF 길항제 및 탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체를 포함하는, 재발된 또는 불응성 환자에서 형질 세포 신생물을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 재발된 환자에게 투여하기 위한 프로테아솜 억제제를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 단일 작용제로서 VEGF 길항제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제6항에 있어서, 환자가 프로테아솜 억제제에 대해 불응성이 아닌 것인 제약 조성물.

청구항 9

제4항에 있어서, 환자가 탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체에 대해 불응성이 아닌 것인 제약 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 추가 치료제를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 추가 치료제가 알킬화제, 스테로이드, 비스포스포네이트 및 프로테아솜 억제제로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 조합 치료요법이 추가로 수행되는 것인 제약 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 조합 치료요법이 멜팔란/프레드니손 조합 (MP), 멜팔란/프레드니손/탈리도마이드 조합 (MPT), 탈리도마이드/텍사메타손 (TD), 보르테조밍/독소루비신/탈리도마이드/텍사메타손 조합 (BATD), 보르테조밍/멜팔란/텍사메타손/탈리도마이드 조합 (BMDT), 보르테조밍/멜팔란/프레드니손/탈리도마이드 (BMPT) 조합, 보르테조

밈/peg화된 리포솜 독소루비신/탈리도마이드 조합 (BTD), 보르테조밈/시클로포스파미드/프레드니손 (BCP), 빈크리스틴/카르무스틴/멜팔란/시클로포스파미드/프레드니손 (VBMCP) 및 빈크리스틴/독소루비신/텍사메타손 (VAD)으로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 14

제1항 또는 제3항에 있어서, 프로테아솜 억제제가 인간 20S 또는 26S 프로테아솜을 억제시키는 것인 제약 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 프로테아솜 억제제가 보르테조밈, MG132, 락타시스틴, 에폭소마이신 및 살리노스포라미드 A로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 프로테아솜 억제제가 보르테조밈인 제약 조성물.

청구항 17

제2항 또는 제11항에 있어서, 알킬화제가 멜팔란인 제약 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 신생물 또는 형질 세포 신생물이 암인 제약 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 암이 혈액계 악성종양인 제약 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 혈액계 악성종양이 비호지킨 림프종 (NHL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 급성 림프모세포성 백혈병 (ALL); 모발 세포 백혈병 및 만성 골수모세포성 백혈병으로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, NHL이 여포성 림프종, 외투 세포 림프종 (MCL) 및 변연대 림프종으로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 신생물 또는 형질 세포 신생물이 다발성 골수종 (MM), 형질세포종, 마크로글로블린혈증, 미결정 유의성의 모노클로날 감마글로블린병증 (MGUS), 형질 세포 백혈병, 과글로블린혈증 자반병 및 칼리병으로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 형질 세포 신생물이 다발성 골수종인 제약 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, VEGF 길항제가 항-VEGF 항체, VEGF에 결합하는 VEGF 수용체 서열을 포함하는 가용성 폴리펩티드, 항-VEGF 수용체 항체 및 VEGF에 결합하는 아파타머(aptamer)로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 항-VEGF 항체가 Fab, Fv, F(ab')₂, scFV, 디아바디 및 이중특이적 항체로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 26

제24항에 있어서, 항-VEGF 항체가 인간 또는 인간화 항-VEGF 항체인 제약 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 항-VEGF 항체가 아바스틴(AVASTIN)® 항체인 제약 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 VEGF 길항제를 단일 작용제로서 또는 다른 치료요법과 조합하여 사용하는, 재발된 또는 불응성 신생물 성장을 포함한 신생물 성장 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 신생물은 비정상적인 세포 성장이며, 이는 암성 또는 양성일 수 있다. 형질 세포 (또한 형질 B 세포 또는 플라즈마세포라고 함)는 성숙 B 림프구 (B 세포)로부터 발생되고, 통상적으로 체내에서 외래 요소와 싸우기 위해 항체를 분비하는 것과 관련된다 (예를 들어, 세균 또는 바이러스 감염). 형질 세포 신생물의 존재는 덜 활성화된 건강한 적혈구, 백혈구 및 혈소판을 초래할 수 있다. 상기 상태는 빈혈 또는 쉬운 출혈을 초래하거나, 또는 감염되기 더 쉽게 만들 수 있다. 비정상적인 형질 세포는 종종 체내 골 또는 연조직에서 종양을 형성한다. 형질 세포 신생물은 또한 다량의 M 단백질 (또는 모노클로날 단백질, 골수종 단백질 또는 파라단백질)이라고 불리는 단일 항체를 생성할 수 있으며, 이는 몸에 의해 필요로 되지 않고, 감염과 싸우는 것을 보조하지 않고, 신장에 대한 손상을 초래할 수 있다. 몇몇 경우에, 악성 형질 세포는 중쇄 및 경쇄를 형성하고 매칭하는 능력을 상실하여, 카파 및 람다 경쇄 (또한 벤스 존스 단백질이라고 함)가 세포를 떠나 혈액에 비부착되어 소변으로 배설되게 한다. 형질 세포 신생물의 예로는 다발성 골수종 (MM), 골의 단발성 형질세포종 (SPB), 형질 세포 백혈병 및 골수의 형질세포종 (EMP)이 포함된다.

[0003] 다발성 골수종 (MM)은 모노클로날 이뮤노글로불린 (예를 들어, IgG, IgA, IgD, IgE, 또는 유리 카파 또는 람다 경쇄)을 생성하는 형질 B 세포의 증식을 특징으로 하는 악성종양이다. MM이 있는 환자의 전체 생존은 수개월에서 수년으로 매우 다양하고; 평균은 대략 5년이다. 빈혈, 고칼슘혈증 및 골 병변은 골수종 세포의 총 중량과 직접 관계가 있고, 중요한 예후 유의성을 갖는다. 다른 예후 인자에는 연령, 형질 세포 표지 지수, 혈청 베타2-미크로글로불린, C-반응성 단백질, 티미딘 키나제 및 가용성 인터류킨-6 수용체가 포함된다. 주요 합병증, 예컨대 감염 및 신기능부전은 골수종 환자의 사망의 가장 흔한 원인이다. 다발성 골수종이 있는 거의 모든 환자는 있을 수 있는 재발의 위험을 갖는다 (문헌 [Kyle, RK et al., (2004) N Engl J Med 351: 1860-1873]).

[0004] <발명의 요약>

[0005] 본 발명은 VEGF 길항제를 투여하는 단계를 포함하는, 프로테아솜 억제 치료요법으로부터 재발되거나 또는 상기 치료요법에 대해 불응성인 환자에서 신생물의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 VEGF 길항제를 투여하는 단계를 포함하는, 알킬화제 치료요법으로부터 재발되거나 또는 상기 치료요법에 대해 불응성인 환자에서 형질 세포 신생물의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 VEGF 길항제 및 프로테아솜 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 재발된 또는 불응성 환자에서 신생물의 치료 방법을 추가로 제공한다. 본 발명은 VEGF 길항제 및 탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체를 투여하는 단계를 포함하는, 재발된 또는 불응성 환자에서 신생물의 치료 방법을 추가로 제공한다.

[0006] 한 실시양태에 따라, 재발된 또는 불응성 환자에게 탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체를 추가로 투여한다. 다른 실시양태에 따라, 재발된 또는 불응성 환자에게 프로테아솜 억제제를 추가로 투여한다. 다른 실시양태에 따라, 재발된 또는 불응성 환자에게 단일 작용제로서 VEGF 길항제를 투여한다.

[0007] 또 다른 실시양태에 따라, 재발된 또는 불응성 환자에게 추가 치료제를 추가로 투여한다. 한 실시양태에 따라, 추가 치료제는 알킬화제, 스테로이드, 비스포스포네이트 및 프로테아솜 억제제로 구성된 군에서 선택된다. 다른 실시양태에 따라, 추가 치료제는 벨팔란, 프레드니손, 탈리도마이드, 아드리아마이신 (독소루비신), 독소루비신 HCL 리포솜 주사 (독실(Doxil)®), 보르테조밋 (벨케이드(velcade)®), 레날리도마이드 (CC-5013, 레블리미드(Revlimid)®), 텍사메타손, 빈크리스틴 (온코빈(Oncovin)®), 카르무스틴 및 시클로포스파미드 (시톡산

(Cytosan))로 구성된 군에서 선택된다.

[0008] 또 다른 실시양태에서, 재발된 또는 불응성 환자에게 조합 치료요법을 추가로 투여한다. 한 실시양태에서, 조합 치료요법은 멜팔란/프레드니손 조합 (MP), 멜팔란/프레드니손/탈리도마이드 조합 (MPT), 독실/보르테조미프 조합, 탈리도마이드/텍사메타손 조합 (TD), 보르테조미프/독소루비신/탈리도마이드/텍사메타손 조합 (BATD), 보르테조미프/탈리도마이드 조합 (BT), 보르테조미프/멜팔란/텍사메타손/탈리도마이드 조합 (BMDT), 보르테조미프/멜팔란/프레드니손/탈리도마이드 (BMPT) 조합, 보르테조미프/peg화된 리포솜 독소루비신/탈리도마이드 조합 (BTD), 보르테조미프/시클로포스파미드/프레드니손 (BCP), 빈크리스틴/카르무스틴/멜팔란/시클로포스파미드/프레드니손 조합 (VBMCP) 및 빈크리스틴/독소루비신/텍사메타손 조합 (VAD)으로 구성된 군에서 선택된다.

[0009] 한 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 인간 20S 또는 26S 프로테아솜을 억제한다. 추가 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조미프, MG132, 락타시스틴, 에폭소마이신 및 살리노스포라미드 A로 구성된 군에서 선택된다. 한 바람직한 실시양태에서, 프로테아솜 억제제는 보르테조미프이다. 다른 실시양태에서, 알킬화제는 멜팔란이다.

[0010] 한 실시양태에 따라, 신생물은 암이다. 다른 실시양태에 따라, 암은 폐암 (소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평 암종 포함), 복막암, 간세포 암, 위장암 또는 위암 (위장관암 포함), 췌장암, 아교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암 또는 신암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 비인두암, 교종, 두경부암 및 혈액계 악성종양 (예를 들어, B 세포 신생물)으로 구성된 군에서 선택된다. 한 실시양태에 따라, 혈액계 악성종양은 B 세포 림프종, B 세포 백혈병, T 세포 림프종 및 T 세포 백혈병으로 구성된 군에서 선택된다. 한 실시양태에 따라, B-세포 림프종은 비호지킨 림프종이다. 추가 실시양태에서, NHL은 여포성 림프종, 외투 세포 림프종 (MCL) 및 변연대 림프종으로 구성된 군에서 선택된다. 다른 실시양태에서, 혈액계 악성종양은 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 급성 림프모세포성 백혈병 (ALL); 모발 세포 백혈병; 만성 골수모세포성 백혈병 및 다발성 골수종으로 구성된 군에서 선택된다.

[0011] 한 실시양태에 따라, 형질 세포 신생물은 다발성 골수종 (MM), 형질세포종, 마크로글로불린혈증, 미결정 유의성의 모노클로날 감마글로불린병증 (MGUS), 형질 세포 백혈병, 과글로불린혈성 자반병 및 칼러병으로 구성된 군에서 선택된다. 한 바람직한 실시양태에 따라, 형질 세포 신생물은 다발성 골수종이다.

[0012] 한 실시양태에 따라, VEGF 길항제는 항-VEGF 항체, VEGF-트랩 (예를 들어, VEGF 수용체-Fc 융합체) 또는 항-VEGF 수용체 항체이다. 또 다른 실시양태에 따라, 항-VEGF 항체는 인간 또는 인간화 항-VEGF 항체이다. 한 바람직한 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 아바스틴(AVASTIN)® 항체이다.

[0013] 본 발명에서 제공되는 치료제의 조합을 포함하는 조성물이 또한 고려된다. 한 실시양태에서, 조성물은 VEGF 길항제 및 프로테아솜 억제제를 포함한다. 다른 실시양태에서, 조성물은 알킬화제, 스테로이드, 비스포스포네이트 및 상이한 VEGF 길항제로 구성된 군에서 선택된 다른 치료제를 추가로 포함한다. 본원에서 제공된 적응증의 치료를 위한 의학의 제조에서의, 단독 또는 다른 치료제와 조합된 VEGF 길항제의 용도가 또한 고려된다.

발명의 상세한 설명

[0020] 정의

[0021] 프로테아솜은 진핵생물, 진정세균 및 고세균에서 발견된 다중 서브유닛의 원통형 프로테아제이다. 프로테아솜의 활성 부위는 원통형 입자 내에 묻힌 중심 챔버를 향한다. 진핵생물 프로테아솜은 2개의 크기, 20S 프로테아솜 및 상당히 더 큰 ATP-의존성 26S 프로테아솜으로 나타난다. 후자는 20S 프로테아솜이 19S 조절 복합체로서 공지된 다중 서브유닛 ATPase-함유 입자 1개 또는 2개에 결합하는 경우 형성된다. 26S 프로테아솜은 유비퀴틸화된 단백질의 분해의 원인이고, 따라서 세포-주기 횡단, 전사 제어, 효소 수준 조절 및 세포자멸(apoptosis)을 포함한 세포 프로세스의 거대한 어레이에 필수적이다. 20S 및 26S 프로테아솜 둘 모두는 다른 단백질 복합체와 회합할 수 있다.

[0022] "프로테아솜 억제제"는 프로테아솜의 프로테아제 활성 (예를 들어, 키모트립신소화성, 트립신소화성 및 펩티딜 글루타미닐펩티드 가수분해 활성 중 임의의 하나 또는 모두)을 억제하는 작용제를 지칭한다. 한 바람직한 실시양태에 따라, 프로테아솜은 인간 20S 및/또는 26S 프로테아솜이다. 프로테아솜 억제제의 예로는 보르테조미프, MG132, 락타시스틴, 에폭소마이신 및 살리노스포라미드 A (NPI-0052, 네류스 파마슈티컬(Nereus Pharmaceutical))가 포함된다. 예를 들어, 문헌 [Voorhees, PM et al., (2006) 46: 189-213]에 개시된 구조,

펩티드 알데히드 (제WO 95/24914호, 제WO 91/13904호, 문헌 [Iqbal et al. (1995) J. Med. Chem. 38:2276-2277]), 펩티드 보론산 (제WO 96/13266호), 락타시스틴 및 락타시스틴 유사체 (문헌 [Fenteany et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3358]; 제WO 96/32105호) 및 살리노스포라미드 A (문헌 [Macheria, VR, et al., (2005) 48:3684-7])를 참조한다.

[0023] 용어 "VEGF" 또는 본원에서 사용되는 "VEGF"는 문헌 [Leung et al. Science, 246:1306 (1989)] 및 [Houck et al. Mol. Endocrin., 5:1806 (1991)]에 기재된 바와 같은, 아미노산 165개의 인간 혈관 내피 세포 성장 인자 및 관련된 아미노산 121개, 189개 및 206개의 인간 혈관 내피 세포 성장 인자를 그의 천연 대립유전자 형태 및 프로세싱된 형태와 함께 지칭한다. 용어 "VEGF"는 또한 마우스, 래트 또는 영장류와 같은 비-인간 종으로부터의 VEGF를 지칭한다. 종종 특정 종으로부터의 VEGF는 인간 VEGF에 대한 hVEGF, 마우스 VEGF에 대한 mVEGF 등과 같은 용어에 의해 표시된다. 용어 "VEGF"는 또한 아미노산 165개의 인간 혈관 내피 세포 성장 인자의 아미노산 8 내지 109개 또는 아미노산 1 내지 109개를 포함하는 폴리펩티드의 말단절단 형태를 지칭하는데 사용된다. VEGF의 임의의 상기 형태들에 대한 언급은 본원에서 예를 들어 "VEGF (8-109)", "VEGF (1-109)" 또는 "VEGF₁₆₅"에 의해 확인될 수 있다. "말단절단형" 천연 VEGF에 대한 아미노산 위치는 천연 VEGF 서열에 표시된 바와 같이 번호 매겨진다. 예를 들어, 말단절단형 천연 VEGF에서의 아미노산 위치 17 (메티오닌)은 또한 천연 VEGF에서의 위치 17 (메티오닌)이다. 말단절단형 천연 VEGF는 천연 VEGF와 비교하여 KDR 및 Flt-1 수용체에 대해 결합 친화성을 갖는다.

[0024] "VEGF 길항제"는 하나 이상의 VEGF 수용체에 결합하는 것을 포함하여 VEGF 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지하거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. VEGF 길항제에는 항-VEGF 항체 및 그의 항원-결합 단편, 아프타머(aptamer), VEGF에 특이적으로 결합함으로써 VEGF가 그의 하나 이상의 수용체에 결합하는 것을 격리하는 수용체 분자 및 유도체, 항-VEGF 수용체 항체 및 VEGF 수용체 길항제, 예컨대 VEGFR 타이로신 키나제의 소분자 억제제가 포함된다. VEGF 길항제의 예로는 FLT-Fc, KDR-Fc, FLT/KDR-Fc, 바탈라닙 (PTK-787/ZK222584), SU-5416 (세막사닙), SU-6668, SU-11248, SU-14813, AZD-6474, AZD-2171, CGP-41251, CEP-5214, BIBF1000, VEGFR1102, CP-547632, CEP-7055, AG-013736, IM-842 (L-글루타미드 및 L-트립토판의 디펩티드) 또는 GW-786034, 뿐만 아니라 제WO 02/36564호, 제WO 99/52869호, 제WO 00/18734호, 제WO 00/73297호, 제WO 01/27080호, 제WO 01/27081호, 제WO 01/32651호, 제WO 01/60814호, 제WO 99/48868호 및 제WO 98/35958호에 기재된 것들이 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0025] "항-VEGF 항체"는 충분한 친화성 및 특이성으로 VEGF에 결합하는 항체이다. 바람직하게는, 본 발명의 항-VEGF 항체는 VEGF 활성과 관련된 질환 또는 상태를 표적으로 하거나 방해하는데 있어서 치료제로서 사용될 수 있다. 항-VEGF 항체는 통상적으로 다른 VEGF 상동체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C, 또는 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF 또는 bFGF에 결합하지 않을 것이다. 바람직한 항-VEGF 항체는 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생성되는 모노클로날 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프에 결합하는 모노클로날 항체이다. 보다 바람직하게는, 항-VEGF 항체는 베바시주맵 (BV; 아바스틴® 항체)이라고 공지된 항체를 포함하나 이에 제한되지 않는, 문헌 [Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]에 따라 생성되는 재조합 인간화 항-VEGF 모노클로날 항체이다.

[0026] 항-VEGF 항체 "베바시주맵 (BV)" (또한 "rhUMAb VEGF" 또는 "아바스틴®"이라고 공지됨)은 문헌 [Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]에 따라 생성되는 재조합 인간화 항-VEGF 모노클로날 항체이다. 이는 돌연변이된 인간 IgG1 프레임워크 영역, 및 인간 VEGF가 그의 수용체에 결합하는 것을 차단하는 마우스 항-hVEGF 모노클로날 항체 A.4.6.1로부터의 항원-결합 상보성-결정 영역을 포함한다. 베바시주맵의 아미노산 서열의 대략 93% (대부분의 프레임워크 영역 포함)는 인간 IgG1으로부터 유래되고, 상기 서열의 약 7%는 마우스 항체 A4.6.1로부터 유래된다. 베바시주맵은 분자량이 약 149,000 달톤이고, 글리코실화된다.

[0027] "불응성"은 치료에 대한 질환 또는 상태의 내성 또는 비-반응성을 지칭한다 (예를 들어, 제공되는 치료에도 불구하고 신생물 형성 세포의 수가 증가함). 별도의 언급이 없는 경우, 용어 "불응성"은 화학요법 및 줄기 세포 이식 치료를 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 이전 치료에 대한 내성 또는 비-반응성을 지칭한다.

[0028] "재발된"은 상기 병든 상태로의 환자의 병의 회귀, 특히 명백한 회복 또는 부분적 회복 후 증상의 복귀를 지칭한다. 별도의 언급이 없는 경우, 재발된 상태는 화학요법 및 줄기 세포 이식 치료를 포함하나 이에 제한되지 않는 이전 치료 전의 병으로 복귀하는 과정 또는 병으로의 복귀를 지칭한다.

[0029] 용어 "암" 및 "암성"은 조절되지 않는 세포 성장을 전형적으로 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를

지칭하거나 기술한다. 암의 예로는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병이 포함되지만, 이에 한정되지 않는다. 이러한 암의 보다 구체적인 예로는 편평세포 암, 폐암 (소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평 암종 포함), 복막암, 간세포 암, 위장암 또는 위암 (위장관암 포함), 췌장암, 아교모세포종, 자궁경 부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암 또는 신암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 비인두암, 교종 및 다양한 유형의 두경부암, 뿐만 아니라 혈액계 악성종양, 예컨대 B-세포 림프종 (저도(low grade)/여포성 비호지킨 림프종 (NHL); 소형 림프구성 (SL) NHL; 중등도(intermediate grade)/여포성 NHL; 중등도 광범위 NHL; 고도(high grade) 면역모세포성 NHL; 고도 림프모세포성 NHL; 고도 소형 비-분할 세포 NHL; 거대(bulky) 질환 NHL; 외투 세포 림프종 (MCL); AIDS-관련 림프종; 및 발덴스트롬(Waldenstrom) 마크로글로불린혈증 포함); 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 급성 림프모세포성 백혈병 (ALL); 모발 세포 백혈병; 만성 골수모세포성 백혈병; 다발성 골수종 및 이식 후 림프구성식성 장애 (PTLD)가 포함된다.

[0030] "B 세포 신생물"은 암성 또는 양성일 수 있고 종종 조절되지 않는 세포 분열을 갖는 비정상적인 B 세포 성장을 지칭한다. B 세포 신생물에는 형질 세포 신생물, 림프구 우세형 호지킨병 (LPHD)을 포함한 호지킨병; 비호지킨 림프종 (NHL); 여포성 중심 세포 (FCC) 림프종; 급성 림프구성 백혈병 (ALL); 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 모발 세포 백혈병 및 CD20-양성 신생물이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 비호지킨 림프종에는 저도/여포성 비호지킨 림프종 (NHL), 소형 림프구성 (SL) NHL, 중등도/여포성 NHL, 중등도 광범위 NHL, 고도 면역모세포성 NHL, 고도 림프모세포성 NHL, 고도 소형 비-분할 세포 NHL, 거대 질환 NHL, 형질세포양 림프구성 림프종, 외투 세포 림프종, AIDS-관련 림프종 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증이 포함된다. 이들 암의 재발의 치료가 또한 고려된다. LPHD는 방사선 또는 화학요법 치료에도 불구하고 자주 재발하는 경향이 있는 호지킨병의 유형이다. CLL은 백혈병의 네가지 주요 유형 중 하나이다. 림프구라고 불리는 성숙 B-세포의 암인 CLL은 혈액, 골수 및 림프 조직에서 세포의 진행성 축적에 의해 나타난다. 무통 림프종은 평균 환자가 완화 및 재발의 수많은 기간 후 6년 내지 10년 생존하는, 천천히 성장하는 불치 질환이다.

[0031] 본원에서 사용되는 용어 "비호지킨 림프종" 또는 "NHL"은 호지킨 림프종 이외의 림프계 암을 지칭한다. 호지킨 림프종은 일반적으로 호지킨 림프종에서 리드-스테른베르그 세포의 존재 및 비호지킨 림프종에서 상기 세포의 부재에 의해 비호지킨 림프종과 구별될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어에 포함되는 비호지킨 림프종의 예로는 문헌 [Color Atlas of Clinical Hematology, Third Edition; A. Victor Hoffbrand and John E. Pettit (eds.) (Harcourt Publishers Limited 2000)] (구체적으로, 도 11.57, 11.58 및/또는 11.59 참조)에 기재된 개정된 유럽-미국 림프종 (REAL) 분류법과 같은 당분야에 공지된 분류법에 따라 당업자 (예를 들어, 종양학자 또는 병리학자)에 의해 확인된 임의의 림프종이 포함된다. 보다 구체적인 예로는 재발된 또는 불응성 NHL, 전선 저도 NHL, 제III/IV기 NHL, 화학요법 내성 NHL, 전구체 B 림프모세포성 백혈병 및/또는 림프종, 소형 림프구성 림프종, B 세포 만성 림프구성 백혈병 및/또는 전림프구성 백혈병 및/또는 소형 림프구성 림프종, B-세포 전림프구성 림프종, 면역종 및/또는 림프형질세포성 림프종, 변연대 B 세포 림프종, 비장 변연대 림프종, 림프절외 변연대 - MALT 림프종, 결절 변연대 림프종, 모발 세포 백혈병, 형질세포종 및/또는 형질 세포 골수종, 저도/여포성 림프종, 중등도/여포성 NHL, 외투 세포 림프종, 여포 중심 림프종 (여포성), 중등도 광범위 NHL, 광범위 거대 B-세포 림프종, 침습 NHL (침습 전선 NHL 및 침습 재발된 NHL 포함), 자가 줄기 세포 이식후 재발하거나 또는 이에 대해 불응적인 NHL, 원발성 중격 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, 고도 면역모세포성 NHL, 고도 림프모세포성 NHL, 고도 소형 비-분할 세포 NHL, 거대 질환 NHL, 버킷 림프종, 전구체 (말초) T-세포 림프모세포성 백혈병 및/또는 림프종, 성인 T-세포 림프종 및/또는 백혈병, T 세포 만성 림프구성 백혈병 및/또는 전림프구성 백혈병, 거대 과립 림프구성 백혈병, 균상 식육종 및/또는 세자리 증후군, 림프절외 자연 살해세포/T-세포 (비형태) 림프종, 장병증형 T-세포 림프종, 간비장 T-세포 림프종, 피하 지방층염 유사 T-세포 림프종, 피부 (피부(cutaneous)) 림프종, 역형성 거대 세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장 T 세포 림프종, 말초 T-세포 (별도의 특징이 없음) 림프종 및 혈관면역모세포성 T-세포 림프종이 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0032] 본원에서 사용되는 "형질 세포 신생물"은 암성 또는 양성일 수 있고 종종 조절되지 않는 세포 분열을 갖는, 비정상적인 형질 세포 성장을 지칭한다. 형질 세포 신생물의 예로는 다발성 골수종 (MM), 형질세포종 (예를 들어, 골수의 형질세포종 (EMP), 골의 단발성 형질세포종 (SPB), 악성 형질세포종), 마크로글로불린혈증 (예를 들어, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증 (림프형질세포성 백혈병), 미결정 유의성의 모노클로날 감마글로불린병증 (MGUS), 형질 세포 백혈병, 과글로불린형성 자반병 및 칼러병이 포함된다.

[0033] 다발성 골수종은 특히 골격 파괴, 신부전증, 빈혈 및 고칼슘혈증을 특징으로 할 수 있다. MM의 흔한 증상에는 피로, 골 통증 및 재발성 감염이 포함된다. 골수종 세포의 수가 증가함에 따라, 더 적은 수의 적혈구, 백혈구

및 혈소판이 생성된다. 골수종 세포는 또한 골의 단단한 부분을 손상시키고 약화시킨다. 그러나, 다발성 골수종은 종종 어떠한 증상도 유발하지 않는다. 드문 경우에, 다발성 골수종은 기관의 기능부전을 유발할 수 있다. 이는 아밀로이드증이라고 불리는 상태에 의해 유발될 수 있다. 항체 단백질이 축적되고, 신장 및 심장과 같은 기관에서 함께 결합하고 수집될 수 있다. 이는 기관을 딱딱하게 만들고 기능하지 못하게 할 수 있다.

[0034] 형질세포종은 형질 세포 신생물의 한 유형이고, 비정상적인 형질 세포 (골수종 세포)가 한 위치에서 수집되고, 단일 종양을 형성한다. 형질세포종은 골수 내에서 형성되거나 또는 골수 외에서 (골수 외부의 연조직에서) 형성될 수 있다. 골의 형질세포종은 종종 다발성 골수종이 된다. 골수의 형질세포종은 일반적으로 이후 및 동굴의 조직에서 형성된다.

[0035] 마크로글로불린혈증은 골수, 림프절 및/또는 비장에서 축적된 비정상적인 형질 세포이다. 상기 세포는 너무 많은 M 단백질을 생성하고, 이는 혈액을 농후하게 만든다. 림프절, 간 및 비장이 팽윤될 수 있다. 농후한 혈액은 소혈관에서의 혈류에 대한 문제점을 야기할 수 있다. 마크로글로불린혈증의 증상은 병에 걸린 몸의 부분에 의존한다. 마크로글로불린혈증이 있는 대부분의 환자는 증상이 없다. 상기 유형의 형질 세포 신생물의 경우, 골수에 비정상적인 형질 세포가 존재하나 암은 존재하지 않는다. 비정상적인 형질 세포는 통상적인 혈액 또는 뇨 검사 중에 발견될 수 있는 M 단백질을 생성한다. 대부분의 환자에서, M 단백질의 양은 동일하게 유지되고, 증상 또는 문제점은 없다. 몇몇 환자에서, MGUS는 이후 다발성 골수종 또는 림프종과 같은 더 심각한 상태가 될 수 있다.

[0036] 발덴스트롬 마크로글로불린혈증 (WM)은 희귀 무통 (천천히 성장하는) 비호지킨 림프종 (면역계의 세포에서 시작되는 암)이다. WM은 또한 림프형질세포성 림프종이라고 불린다. WM은 B 림프구 또는 B 세포라고 불리는 백혈구로부터 발생하는 형질 세포에서 시작된다. 노인, 특히 여성에서 발생하는 마크로글로불린혈증은 빈혈, 과글로불린혈증 및 골수에서 백혈구 또는 형질 세포와 닮은 세포의 증식을 특징으로 한다. WM에서, 비정상적인 형질 세포는 제어되지 않고 증식하며, 모노클로날 마크로글로불린 (IgM) 항체라고 불리는 단백질을 다량 생성한다. 혈액 중 고수준의 IgM은 과다점도 (농후성 또는 검성)를 야기하며, 이는 발덴스트롬의 많은 증상을 초래한다.

[0037] 본 발명에 따라 유용한 치료제 및 치료제들의 조합의 예로는 아바스틴® 항체, 비스포스포스포네이트, 탈리도마이드 유사체, 보르테조미, 멜팔란; 프레드니손; 탈리도마이드; 아드리아마이신 (독소루비신); 독소루비신 HCL 리포솜 주사 (독실®), 보르테조미 (벨케이드®); 레날리도마이드 (CC-5013, 레블리미드®); 텍사메타손; 빈크리스틴 (온코빈®), 카르무스틴, 시클로포스파미드 (시톡산), 멜팔란/프레드니손/탈리도마이드 조합 (MPT); 탈리도마이드/텍사메타손 (TD); 보르테조미/독소루비신/탈리도마이드/텍사메타손 조합 (BATD); 보르테조미/멜팔란/텍사메타손/탈리도마이드 조합 (BMDT); 보르테조미/멜팔란/프레드니손/탈리도마이드 (BMPT) 조합; 보르테조미/peg화된 리포솜 독소루비신/탈리도마이드 조합 (BTD), 및 다른 알킬화제 조합 치료요법 및 코르티코스테로이드 조합 치료요법이 포함된다.

[0038] 알킬화제로는 멜팔란 및 시클로포스파미드가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 알킬화제 조합 치료요법의 예로는 빈크리스틴, 카르무스틴, 멜팔란, 시클로포스파미드, 프레드니손 (VBMCP)이 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0039] "스테로이드"에는 코르티코스테로이드, 예컨대 텍사메타손 및 프레드니손이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 코르티코스테로이드제 조합 치료요법의 예로는 빈크리스틴/독소루비신/텍사메타손 (VAD)이 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0040] "비스포스포네이트"에는 파미드로네이트 (예를 들어, 아레디아(Aredia)® 등), 졸레드론산 (예를 들어, 졸메타(Zometa)®) 및 클로드로네이트 (예를 들어, 보네포스(Bonefos)®) (클로드로네이트)가 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0041] "탈리도마이드 유사체"는 탈리도마이드의 면역조절 유사체를 지칭하며, 레날리도마이드 (레블리미드®), CC-4047 (악티미드(Actimid)™), CC11006, ENMD-0995 및 CC11006이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 또한, 문헌 [Machado, AL et al., (2002) Bioorganic & Med. Chem. Lets. 15:1169-1172]; [Lepper, ER et al., (2004) J. Med. Chem. 47:2219-2217]; 미국 특허 제7,719,106호 및 제7,041,680호를 참조한다.

[0042] "프로테아솜 억제 치료요법"은 프로테아솜 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 임의의 치료적 치료법을 지칭한다.

[0043] "알킬화제 치료요법"은 알킬화제를 투여하는 단계를 포함하는 임의의 치료적 치료법을 지칭한다.

- [0044] "탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체 치료요법"은 탈리도마이드 또는 탈리도마이드 유사체를 각각 투여하는 단계를 포함하는 임의의 치료적 치료법을 지칭한다.
- [0045] "만성" 투여는 연장된 기간 동안 초기 치료 효과 (활성)를 유지하기 위해 급성 방식과 반대로 연속적 방식으로 작용제(들)를 투여하는 것을 지칭한다.
- [0046] "간헐적" 투여는 중단 없이 연속적으로 수행되지 않으나 오히려 성질상 주기적인 치료법이다.
- [0047] 1종 이상의 추가 치료제와 "조합된" 투여는 임의의 순서로 치료제들의 동시 및 연속적 투여를 포함한다.
- [0048] 본원에서 개시되는 치료제의 "유효량"은 구체적으로 언급된 목적을 수행하기에 충분한 양이다. "유효량"은 경험적으로 그리고 언급된 목적과 관련된 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0049] 용어 "치료 유효량"은 포유동물 (aka 환자)에서 질환 또는 장애의 "치료"에 효과적인 본 발명의 치료제의 양을 지칭한다. 암의 경우에, 약물의 치료 유효량은 암 세포수를 감소시키고; 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관로의 암 세포 침윤을 억제하고 (즉, 어느 정도 늦추고, 바람직하게는 정지시킴); 종양 전이를 억제하고 (즉, 어느 정도 늦추고, 바람직하게는 정지시킴); 종양 성장을 어느 정도 억제하고/거나; 암과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화시킬 수 있다. 본원에서 "치료하는"의 정의를 참조한다. 약물이 현존하는 암 세포의 성장을 방지하고/거나 암 세포를 죽일 수 있다는 점에서, 이는 세포증식억제 및/또는 세포독성일 수 있다. 치료 유효량은 치료제 및 치료될 질환에 의존하여 성장 억제량 또는 세포독성량일 수 있다.
- [0050] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "경감"은 치료적 수단을 지칭하며, 여기서 목적은 표적 병리적 상태 또는 장애를 예방하거나 또는 늦추는 (약화시키는) 것이다. 치료를 필요로 하는 대상체에는 장애를 이미 갖고 있는 대상체 뿐만 아니라 장애를 갖게될 경향이 있는 대상체 또는 장애를 예방해야 하는 대상체가 포함된다. 이들 용어는 질환과 관련된 증상, 합병증 또는 기타 문제점을 경감, 약화 또는 감소시키거나, 또는 질환과 관련된 증상, 합병증 또는 기타 문제점의 발병 기회 또는 빈도를 경감, 약화 또는 감소시키는 경우 본원에서 치료적 및 예방적 사용이 성공적임을 나타낸다.
- [0051] 본 발명의 치료제의 "성장 억제량"은 시험관내에서 또는 생체내에서 세포, 특히 종양, 예를 들어 암 세포의 성장을 억제할 수 있는 양이다. 신생물 세포 성장을 억제시키기 위한 본 발명의 치료제의 "성장 억제량"은 경험적으로 그리고 공지된 방법에 의해 또는 본원에서 제공된 예에 의해 결정될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 치료제의 "세포독성량"은 시험관내에서 또는 생체내에서 세포, 특히 종양, 예를 들어 암 세포의 파괴를 야기할 수 있는 양이다. 신생물 세포 성장을 억제시키기 위한 "세포독성량"은 경험적으로 그리고 당분야에 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0053] 용어 "항체"는 광범위한 의미로 사용되고, 천연 폴리펩티드에 특이적으로 결합하고/거나 본 발명의 생물학적 활성 또는 면역학적 활성을 나타내는 한, 구체적으로 예를 들어, 단일 모노클로날 항체 (효능제, 길항제 및 중화항체 포함), 폴리클로날 특이성을 갖는 항체 조성물, 폴리클로날 항체, 단일쇄 항-항체 및 항체의 단편 (하기 참조)을 포함한다. 한 실시양태에 따라, 항체는 표적 단백질의 올리고머 형태, 예를 들어 삼량체 형태에 결합한다. 다른 실시양태에 따라, 항체는 단백질에 특이적으로 결합하며, 여기서 결합은 본 발명의 모노클로날 항체에 의해 억제될 수 있다 (예를 들어, 본 발명의 기탁된 항체 등). 항체의 "기능적 단편 또는 유사체"라는 어구는 언급되는 항체와 마찬가지로 정성적인 생물학적 활성을 갖는 화합물이다. 예를 들어, 본 발명의 항체의 기능적 단편 또는 유사체는 VEGF에 특이적으로 결합할 수 있는 것일 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 세포 증식을 유도할 수 있는 VEGF의 능력을 방지하거나 또는 실질적으로 감소시킬 수 있다. 용어 "이뮤노글로불린" (Ig)은 본원에서 "항체"와 상호교환적으로 사용된다.
- [0054] "단리된 항체"는 그의 천연 환경의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 그의 천연 환경의 오염 성분은 항체에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법으로 측정시 95 중량% 초과인 항체, 가장 바람직하게는 99 중량% 초과로, (2) 스피닝 킵 서열분석기를 사용함으로써 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 잔기 15개 이상을 수득하는데 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시(Coomassie) 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하는 환원 또는 비-환원 조건 하에서의 SDS-PAGE에 의한 균질성으로 정제될 것이다. 단리된 항체에는 재조합 세포 내의 계내 항체가 포함되는데, 이는 항체의 천연 환경의 1종 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 하나 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0055] 기본적 4-쇄 항체 단위는 2개의 동일한 경쇄 (L) 및 2개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된 이종사량체 당단백질이다

(IgM 항체는 J 쇠라고 불리는 추가 폴리펩티드와 함께 기본적 이중사량체 단위 5개로 구성되어 10개의 항원 결합 부위를 함유하는 반면, 분비된 IgA 항체는 중합하여, J 쇠와 함께 기본적 4-쇠 단위 2 내지 5개를 포함하는 다중 어셈블리를 형성할 수 있다. IgG의 경우, 4-쇠 단위는 일반적으로 약 150,000 달톤이다. 각각의 L 쇠는 1개의 공유결합 디설피드 결합에 의해 H 쇠에 연결되나, 2개의 H 쇠는 H 쇠 이소형에 의존하여 1개 이상의 디설피드 결합에 의해 서로 결합한다. 각각의 H 및 L 쇠는 또한 규칙적으로 공간에 배치된 쇠내 디설피드 브릿지를 갖는다. 각각의 H 쇠는 N-말단에서 가변 도메인 (V_H), 이어서 α 및 γ 쇠 각각에 대해 3개의 불변 도메인 (C_H), 및 μ 및 ϵ 이소형에 대해 4개의 C_H 도메인을 갖는다. 각각의 L 쇠는 N-말단에서 가변 도메인 (V_L), 이어서 그의 다른 말단에서 불변 도메인 (C_L)을 갖는다. V_L 은 V_H 와 정렬되고, C_L 은 중쇄의 제1 불변 도메인 (C_{H1})과 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄 가변 도메인과 중쇄 가변 도메인 간의 경계면을 형성하는 것으로 여겨진다. V_H 및 V_L 의 쌍형성은 함께 단일 항원-결합 부위를 형성한다. 상이한 클래스의 항체의 구조 및 특성에 대해서는 예를 들어 문헌 [Basic and Clinical Immunology, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6]을 참조한다.

[0056] 임의의 척추동물 종으로부터의 L 쇠는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 카파 및 람다라고 불리는 명확하게 별개의 유형 2종 중 하나로 할당될 수 있다. 그의 중쇄의 불변 도메인 (C_H)의 아미노산 서열에 의존하여, 이뮤노글로불린은 상이한 클래스 또는 이소형으로 할당될 수 있다. 5개 클래스의 이뮤노글로불린이 있다: 각각 α , δ , γ , ϵ 및 μ 라고 지칭되는 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 및 α 클래스는 C_H 서열 및 기능의 상대적으로 작은 차이를 기준으로 서브클래스로 추가로 나뉜다, 예를 들어 인간은 하기 서브클래스를 발현한다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2.

[0057] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 세그먼트가 항체들 간에서 서열이 크게 상이하다는 사실을 지칭한다. V 도메인은 항원 결합을 매개하고 특정 항원에 대한 특정 항체의 특이성을 한정한다. 그러나, 가변성은 가변 도메인의 아미노산 110개의 스캔에 걸쳐 고르게 분포되지 않는다. 대신에, V 영역은 각각 9 내지 12개의 아미노산 길이인 "초가변 영역"이라고 불리는 극도의 가변성의 더 짧은 영역에 의해 분리된 아미노산 15 내지 30개의 프레임워크 영역 (FR)이라고 불리는 상대적 불변 스트레치로 구성된다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 β -시트 구조를 연결하고 몇몇 경우에는 β -시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3개의 초가변 영역에 의해 연결된, β -시트 배위를 주로 채택한 4개의 FR을 포함한다. 각각의 쇠 내의 초가변 영역은 FR에 의해 매우 근접하게 함께 유지되고, 다른 쇠로부터의 초가변 영역과 함께 항체의 항원-결합 부위를 형성하는데 기여한다 (문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)] 참조). 불변 도메인은 항체가 항원에 결합하는 것에 직접적으로 관여하지는 않지만, 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC)에서의 항체의 참여와 같은 다양한 이펙터(effector) 기능을 나타낸다.

[0058] 용어 "초가변 영역"은, 본원에서 사용되는 경우, 항원-결합의 원인이 되는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 일반적으로 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기 (예를 들어, V_L 에서 대략 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3), 및 V_H 에서 대략 1-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3) (한 실시양태에서, H1은 대략 31-35임); 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)] 및/또는 "초가변 루프"로부터의 잔기 (예를 들어, V_L 에서 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2) 및 91-96 (L3), 및 V_H 에서 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3); 문헌 [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)])를 포함한다.

[0059] 본원에서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체들의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다, 즉 집단을 구성하는 개별 항체들은 미량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 고도로 특이적이고, 단일 항원 부위에 대해 지시된다. 또한, 여러 결정인자 (에피토프)에 대해 지시된 여러 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 대조적으로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 지시된다. 그의 특이성 이외에, 모노클로날 항체는 다른 항체에 의해 오염되지 않고 함성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "모노클로날"은 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에서 유용한 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)]에 의해 처음 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 세균, 진핵생

물 동물 또는 식물 세포에서 재조합 DNA 방법을 이용하여 제조될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조). "모노클로날 항체"는 또한 예를 들어 문헌 [Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)], [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)] 및 하기 실시예에 기재된 기술을 이용하여 과지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0060] 본원에서 모노클로날 항체는 중쇄 및/또는 경쇄 부분이 특정 종으로부터 유래되거나 또는 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성이 있으나 쇠(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래되거나 또는 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이 있는 "키메라" 항체, 뿐만 아니라 본 발명의 생물학적 활성을 나타내는 한 이러한 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 제4,816,567호; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)] 참조). 본원에서 관심있는 키메라 항체에는 비-인간 영장류 (예를 들어, 긴꼬리원숭이, 유인원 등)로부터 유래된 가변 도메인 항원-결합 서열 및 인간 불변 영역 서열을 포함하는 "영장류화" 항체가 포함된다.

[0061] "무손상" 항체는 항원-결합 부위 뿐만 아니라 C_H 및 적어도 중쇄 불변 도메인, C_H1, C_H2 및 C_H3을 포함하는 항체이다. 불변 도메인은 천연 서열 불변 도메인 (예를 들어, 인간 천연 서열 불변 도메인) 또는 그의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 바람직하게는, 무손상 항체는 하나 이상의 이펙터 기능을 갖는다.

[0062] "항체 단편"은 무손상 항체의 일부, 바람직하게는 무손상 항체의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디(diabody); 선형 항체 (미국 특허 제5,641,870호, 실시예 2; 문헌 [Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]] 참조); 단일쇄 항체 분자; 및 항체 단편들로부터 형성된 다중특이적 항체가 포함된다. 표현 "선형 항체"는 일반적으로 문헌 [Zapata et al., Protein Eng., 8(10): 1057-1062 (1995)]에 기재된 항체를 지칭한다. 요약해서, 이들 항체는 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 항원 결합 영역의 쌍을 형성하는 병렬식 Fd 세그먼트의 쌍 (VH-CH1-VH-CH1)을 포함한다. 선형 항체는 이 중특이적 또는 단일특이적일 수 있다.

[0063] 항체를 파파인(papain)으로 소화시키면 "Fab" 단편이라고 불리는 2개의 동일한 항원-결합 단편 및 나머지 "Fc" 단편이 생성되는데, Fc라는 명칭은 쉽게 결정화되는 능력을 반영한 것이다. Fab 단편은 H 쇠의 가변 영역 도메인 (V_H) 및 한 중쇄의 제1 불변 도메인 (C_H1)과 함께 전체 L 쇠로 구성된다. 각각의 Fab 단편은 항원 결합과 관련하여 일가이다, 즉 이는 단일 항원-결합 부위를 갖는다. 항체를 펩신으로 처리하면 이가 항원-결합 활성을 갖는 2개의 디설피드 연결된 Fab 단편에 대략 상응하고 여전히 항원과 가교할 수 있는 단일 거대 F(ab')₂ 단편이 얻어진다. Fab' 단편은 항체 힌지(hinge) 영역으로부터의 1개 이상의 시스테인을 포함하는 C_H1 도메인의 카르복시 말단에 수개의 추가 잔기를 갖는다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올기를 보유하는 Fab'에 대한 본원에서의 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 힌지 시스테인을 사이에 갖는 Fab' 단편들의 쌍으로서 본래 생산되었다. 항체 단편들의 기타 화학적 커플링이 또한 공지되어 있다.

[0064] Fc 단편은 디설피드에 의해 함께 유지되는 H 쇠 둘 모두의 카르복시-말단 부분을 포함한다. 항체의 이펙터 기능은 Fc 영역의 서열에 의해 결정되고, 여기서 상기 영역은 또한 특정 유형의 세포에서 발견되는 Fc 수용체 (FcR)에 의해 인식되는 부분이다.

[0065] "Fv"는 완전한 항원-인식 부위 및 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이러한 단편은 1개의 중쇄 가변 도메인과 1개의 경쇄 가변 도메인이 단단한 비공유결합으로 회합된 이량체로 구성된다. 이들 2개의 도메인의 폴딩으로부터 항원 결합을 위한 아미노산 잔기에 기여하고 항원 결합 특이성을 항체에 부여하는 6개의 초가변 루프 (루프 3개는 각각 H 쇠 및 L 쇠로부터 유래됨)가 나온다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 CDR만을 포함한 Fv의 절반)도, 비록 전체 결합 부위보다는 낮은 친화성이지만, 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.

[0066] "단일쇄 Fv" (또한 약어로 "sFv" 또는 "scFv"라고 함)는 단일 폴리펩티드 쇠로 연결된 V_H 및 V_L 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩티드는 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있도록 하는 V_H 도메인과 V_L 도메인 간의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. sFv의 검토를 위해서는 문헌 [Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]; 상기 문헌 [Borrebaeck 1995]을 참조한다.

- [0067] 용어 "디아바디"는 V 도메인의 쇠간 (쇄내 아님) 쌍형성이 달성되어 이가 단편, 즉, 2개의 항원-결합 부위를 갖는 단편을 야기하도록, V_H 도메인과 V_L 도메인 간에 짧은 링커 (약 5 내지 10개의 잔기)를 갖는 sFv 단편 (이전 문단 참조)을 제작함으로써 제조되는 작은 항체 단편을 지칭한다. 이중특이적 디아바디는 2개의 항체의 V_H 및 V_L 도메인이 상이한 폴리펩티드 쇠에 존재하는 2개의 "교차" sFv 단편의 이중이량체이다. 디아바디는 예를 들어 제EP 404,097호; 제WO 93/11161호; 및 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)]에 더욱 상세하게 기재되어 있다.
- [0068] 비-인간 (예를 들어, 설치류) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 항체로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분, 인간화 항체는 수용자의 추가변 영역으로부터의 잔기가 원하는 항체 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류와 같은 비-인간 종의 추가변 영역으로부터의 잔기 (공여자 항체)로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체의 성능을 더욱 정련시키기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 1개 이상, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것들에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것들이다. 또한 인간화 항체는 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 임의로 포함할 것이다. 추가적인 상세사항은 문헌 [Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)]; 및 [Presta, Curr. Op. Struct Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다.
- [0069] "중-의존성 항체"는 제2 포유동물 종으로부터의 항원의 상동체에 대한 결합 친화성보다 제1 포유동물 종으로부터의 항원에 대한 더 강한 결합 친화성을 갖는 항체이다. 통상적으로, 중-의존성 항체는 인간 항원에 "특이적으로 결합하나" (즉, 약 1×10^{-7} M 이하, 바람직하게는 약 1×10^{-8} M 이하, 가장 바람직하게는 약 1×10^{-9} M 이하의 결합 친화성 (Kd) 값을 가지나), 인간 항원에 대한 결합 친화성보다 약 50배 이상, 또는 약 500배 이상, 또는 약 1000배 이상 더 약한, 제2 비-인간 포유동물 종으로부터의 항원의 상동체에 대한 결합 친화성을 갖는다. 중-의존성 항체는 상기 정의된 바와 같은 다양한 유형의 항체 중 임의의 항체일 수 있으나, 바람직하게는 인간화 또는 인간 항체이다.
- [0070] 관심있는 표적에 "결합하는" 본 발명의 치료제는 치료제가 표적(들)을 갖는 것으로 발현하는 세포 또는 조직에 대해 작용한다는 점에서 치료제로서 유용하고 다른 표적과 유의하게 교차-반응하지 않도록, 충분한 친화성으로 표적에 결합하는 것이다. 이러한 실시양태에서, "비-표적"에 대한 치료제의 결합의 정도는 그의 특정 표적에 대한 치료제의 결합의 약 10% 미만일 것이며, 이는 예를 들어 형광 활성화 세포 분류 (FACS) 분석법 또는 방사면역측정법 (RIA)에 의해 결정된다. 표적 분자에 대한 치료제의 결합과 관련하여, 특정 표적 또는 특정 표적 상의 에피토프에 대한 "특이적 결합" 또는 "이에 특이적으로 결합하다" 또는 "이에 대해 특이적이다"라는 용어는 비특이적 상호작용과 측정가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적 결합은 예를 들어 대조군 분자 (일반적으로 결합 활성을 갖지 않는 유사한 구조의 분자임)의 결합과 비교하여 분자의 결합을 결정함으로써 측정될 수 있다. 예를 들어, 특이적 결합은 표적, 예를 들어 과량의 비표지된 표적과 유사한 대조군 분자와의 경쟁에 의해 결정될 수 있다. 이러한 경우에, 특이적 결합은 프로브에 대한 표지된 표적의 결합이 과량의 비표지된 표적에 의해 경쟁적으로 억제되는 경우 표시된다. 본원에서 사용되는 특정 폴리펩티드 또는 특정 폴리펩티드 표적 상의 에피토프에 대한 "특이적 결합" 또는 "이에 특이적으로 결합하다" 또는 "이에 대해 특이적이다"라는 용어는 예를 들어 약 10^{-4} M 이상, 대안으로 약 10^{-5} M 이상, 대안으로 약 10^{-6} M 이상, 대안으로 약 10^{-7} M 이상, 대안으로 약 10^{-8} M 이상, 대안으로 약 10^{-9} M 이상, 대안으로 약 10^{-10} M 이상, 대안으로 약 10^{-11} M 이상, 대안으로 약 10^{-12} M 이상의 표적에 대한 Kd를 갖는 분자에 의해 표시될 수 있다. 한 실시양태에서, 용어 "특이적 결합"은 분자가 임의의 다른 표적 또는 에피토프에 실질적으로 결합하지 않고 특정 표적 또는 특정 표적(들) 상의 에피토프에 결합하는 경우의 결합을 지칭한다.
- [0071] "환자"는 치료될 대상체를 지칭한다. 바람직한 실시양태에서, 대상체는 포유동물이다.
- [0072] 치료 목적의 "포유동물"은 인간, 가축 및 농장 동물, 비-인간 영장류, 및 동물원, 스포츠 또는 애완 동물, 예컨대 개, 말, 고양이, 소 등을 포함하는, 포유동물로 분류되는 임의의 동물을 지칭한다. 한 바람직한 실시양태에서, 포유동물은 인간이다.

[0073] 본 발명의 조성물은 1종 이상의 본 발명의 치료제 및 담체를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 "담체"에는 사용되는 투여량 및 농도에서 이에 노출될 세포 또는 포유동물에게 비독성인 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제가 포함된다. 종종 생리학적으로 허용되는 담체는 수성 pH 완충 용액이다. 생리학적으로 허용되는 담체의 예로는 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산; 아스코르브산을 포함한 항산화제; 저분자량 (약 10개 미만의 잔기)의 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신; 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함한 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당 알콜, 예컨대 만니톨 또는 소르비톨; 염-형성 카운터이온, 예컨대 나트륨; 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈®, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 플루로닉스(PLURONICS)®이 포함된다.

[0074] 투여량

[0075] 당분야의 의사에게 친숙한 치료될 적응증 및 투여와 관련된 인자에 의존하여, 본 발명의 치료제는 독성 및 부작용을 최소화하나 상기 적응증의 치료에 효능있는 투여량으로 투여될 것이다. 예를 들어, 항-VEGF 항체에 대한 출발 투여 요법은 2주마다 5 내지 10 mg/kg일 수 있다. 한 실시양태에서, 보르테조미에 대한 출발 투여량은 2주 동안 1.3 mg/m² 1주마다 2회, 이어서 10일의 휴지기이다. 다른 실시양태에서, 레날리도마이드의 출발 용량은 10 mg 1일마다 1회이다. 본 발명의 치료제는 필요에 따라 만성적으로, 간헐적으로, 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0076] 2006년 12월 11일에 출원된 미국 특허 가출원 제60/874,460호를 포함한 본원에서 인용된 모든 공개물 (특허 및 특허 출원 포함)은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0077] 본 명세서 및 청구의 범위에 걸쳐, 용어 "포함하다" 또는 변형체, 예컨대 "포함하다" 또는 "포함하는"은 언급된 정수 또는 정수들의 군을 포함하나 임의의 다른 정수 또는 정수들의 군을 배제하지 않는 것을 함축하는 것으로 이해될 것이다.

[0078] 상기 기재된 상세한 설명은 당업자가 본 발명을 실행할 수 있게 하기 위해 충분한 것으로 여겨진다. 하기 실시예는 예시 목적으로만 제공되고, 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 제한하지 않는 것으로 의도된다. 사실, 본원에 표시되고 기재된 것 외에 본 발명의 다양한 변형이 상기 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백하게 될 것이고, 이는 첨부된 청구의 범위 내에 포함된다.

실시예

[0079] 실시예 1 - 재료 및 방법

[0080] 다발성 골수종이 있는 것으로 진단된 환자로부터 골수 생검 샘플을 얻었다. 면역고정 전기영동법 (IFE)에 의해 진단에서 Ig 중쇄 및 경쇄 이소형을 결정하였다. 공지된 LAG λ-1 (로스앤젤레스 IgG λ 경쇄-1)인 한 샘플은 멜팔란에 대해 내성이 있는 환자로부터의 침습 성장 종양 (문헌 [Campbell, RA et al., (2006) Int. J. Onc. 28:1409-1417])으로부터 유래하였다. LAG κ-1A는 보르테조미에 대해 감수성인 환자의 종양으로부터 유래하였다. LAG κ-1B는 보르테조미에 대해 내성이 있는 환자의 종양으로부터 유래하였다. LAPCL κ-1은 환자로부터의 형질 세포 백혈병이었다.

[0081] 이들 연구에서 사용되는 G6-31로서 공지된 항-VEGF 항체는 이미 기재되어 있다 (제WO 2005/012359호). 항-두드러기썩 mIgG2a를 대조군으로서 사용하였다. 일반적으로, 투여 전에 항-VEGF MAb를 100% PBS에 희석하였다. 항-VEGF MAb를 5 mg/kg으로 격주마다 복강내 (i.p.) 주사를 통해 투여하였다. 대조군 IgG (예를 들어, 항-두드러기썩 항체)를 투여 전에 100% PBS에 희석하였다. 대조군 IgG를 5 mg/kg으로 격주마다 i.p. 주사를 통해 투여하였다.

[0082] 인간 IgG (hIgG) 수준의 결정. 효소 결합 면역흡착 검정법 (ELISA)에 의해 인간 IgG 서브클래스 1의 수준을 결정하였다. 인간 IgA, IgM, IgG 및 IgG 서브클래스 프로파일 ELISA 키트를 지메드 래보러토리즈(Zymed Laboratories) (미국 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 소재)로부터 구매하였다. 안와후 출혈을 통해 종양을 보유하는 마우스를 1주마다 채혈하였다. 샘플을 30분 동안 13,000 rpm에서 회전시키고, 혈청을 수집하였다. 제조자의 세부사항에 따라 IgG 서브클래스 1 ELISA 키트를 제조하였다. KC 주니어(KC Junior) 소프트웨어 (미국 버몬트주 위누스키 소재의 바이오테크 인스트루먼트즈(BioTek Instruments))에 의해 μQuant 마이크로플레이트 분광광도계에서 550 nm의 기준 파장으로 450 nm에서의 흡광도를 결정하였다.

- [0083] 실시예 2 - 항-VEGF 항체 단일 작용제 다발성 골수종 (MM) 연구
- [0084] 본 연구에서 6주 내지 8주된 수컷 중증 합병 면역결핍증 (SCID) 마우스를 사용하였다. 각각의 마우스에게 좌측 뒷다리 표재 둔근으로 2.0 내지 4.0 mm² LAG κ -1A 또는 LAG κ -1B를 수술로 이식하였다. 종양을 14일 동안 성장시켰으며, 이 시점에서 인간 IgG 수준이 마우스 혈청에서 검출가능하였고, 마우스를 2개의 처리군 중 하나로 연구자 모르게 할당하였다.
- [0085] 마우스를 다음과 같이 처리하였다:
- [0086] LAG κ -1A 마우스 (보르테조밍 감수성 MM)
- [0087] 대조군 mIgG2a (5 mg/kg, IP 격주마다)
- [0088] 항-VEGF MAb G6-31 (5 mg/kg, IP 격주마다)
- [0089] LAG κ -1B 마우스 (보르테조밍 내성 MM)
- [0090] 대조군 mIgG2a (5 mg/kg, IP 격주마다)
- [0091] 항-VEGF MAb G6-31 (5 mg/kg, IP 격주마다)
- [0092] 14일째 또는 21일째에 항-VEGF 항체에 의한 처리를 시작하였다. 일반적으로, 마우스를 연구 종료까지 1일마다 1회, 1주마다 5회 체중측정하였다. 표준 칼리퍼를 이용하여 종양 부피를 격주마다 측정하였다. 마우스를 1주마다 채혈하고, 마우스 혈청 중 hIgG 수준을 ELISA에 의해 측정하였다.
- [0093] LAG κ -1A (보르테조밍 감수성) 종양 결과는 도 1A-B 및 2A-B에 나타낸다. LAG κ -1B (보르테조밍 내성) 종양 결과는 도 3A-B, 4A-B 및 5A-B에 나타낸다. 항-VEGF 항체를 수용한 마우스는 대조군 항체를 수용한 마우스와 비교하여 종양 성장의 현저한 억제 ($p = 0.0005$) 및 파라단백질 수준의 감소 ($p = 0.0002$)를 나타내었다. 42일째에, 항-VEGF 항체를 수용한 LAG κ -1A-보유 마우스는 대조군 항체 처리된 동물과 비교하여 인간 파라단백질 수준의 70% 감소 및 종양 부피의 80% 감소를 나타내었다. 항-VEGF 항체에 의한 처리는 임의의 관찰된 독성과 관련되지 않았다.
- [0094] 현저하게, 항-VEGF 항체를 수용한 LAG κ -1B-보유 마우스 (보르테조밍 내성)는 대조군 항체 처리된 동물과 비교하여 인간 파라단백질 수준 및 종양 부피의 실질적 감소를 나타내었다. 그러므로, 단일 작용제로서 항-VEGF 항체는 본 연구에서 보르테조밍 감수성 및 내성 종양을 감소시키는데 효능이 있었다. 종양을 21일 동안 성장시킨 경우, 종양 부피는 항-VEGF 항체에 의한 처리 전에 상당한 크기였다. 도 5A-B는 단일 작용제로서 항-VEGF 항체가 종양의 증가된 크기에도 불구하고 인간 IgG1 수준 및 LAG κ -1B 종양 부피를 감소시키는데 효능이 있었다는 것을 나타내었다.
- [0095] 실시예 3 - 항-VEGF/보르테조밍 조합 연구
- [0096] 종양이 약 100 mm²의 평균 크기에 도달한 경우에, 실시예 1에 기재된 바와 같이 MM/PCL 종양을 보유한 SCID 마우스를 무작위로 처리군으로 할당하였다 ($n = 10$ 마우스/군). 마우스를 적절한 처리군으로 무작위화한 경우 처리를 시작하였다.
- [0097] 투여 전에 적절한 용량으로 0.9% 생리식염수에 보르테조밍을 희석하였다. 정맥내 (i.v.) 주사를 통해 1주마다 3회 0.1 mg/kg으로 보르테조밍을 투여하였다. 대조적으로, 대조군으로서 0.5% 메틸셀룰로스: 0.2% 트윈 80: 99.3% 희석제에 소분자 억제제 비히클 (SMIV)을 제조하였다. 결정된 용량으로 1일마다 경구 가바즈를 통해 SMIV를 투여하였다.

[0098] 마우스를 다음과 같이 처리하였다:

군	약물	용량	경로	마우스의 마리수	스케줄
1	대조군 mIgG2a	5 mg/kg	i.p.	10	QD x2일/주
2	비히클 (보르테조밍)		i.v.	10	QD x2일/주
3	보르테조밍	0.25 mg/kg	i.v.	10	QD x2일/주
4	보르테조밍	0.5 mg/kg	i.v.	10	QD x2일/주
5	항-VEGF 항체	5 mg/kg	i.p.	10	QD x2일/주
6	보르테조밍 + 항-VEGF 항체	0.25 mg/kg 5 mg/kg	i.v. i.p.	10	QD x2일/주 QD x2일/주
	보르테조밍 + 항-VEGF 항체	0.5 mg/kg 5 mg/kg	i.v. i.p.		QD x2일/주 QD x2일/주

[0099]

[0100] 마우스를 연구 종료까지 1일마다 1회, 1주마다 5회 체중측정하였다. 표준 칼리퍼를 이용하여 종양 부피를 격주마다 측정하였다. 마우스를 1주마다 채혈하고, 마우스 혈청 중 hIgG 수준을 ELISA에 의해 측정하였다. 종양 부피, 종양 중량 및 hIgG 수준의 평균 값을 각 군에 포함시켰다. 비히클 대 단일 치료요법 대 조합 치료요법 간을 비교하였다.

[0101] 실시예 4 - 항-VEGF/보르테조밍/레날리도마이드 조합 연구

[0102] 종양이 약 100 mm³의 평균 크기에 도달한 경우에, 실시예 1에 기재된 바와 같이 MM/PCL 종양을 보유한 SCID 마우스를 무작위로 처리군으로 할당하였다 (n = 10 마우스/군). 마우스를 적절한 처리군으로 무작위화한 경우 치료를 시작하였다.

[0103] 투여 전에 적절한 용량으로 0.9% 생리식염수에 보르테조밍을 희석하였다. 정맥내 (i.v.) 주사를 통해 1주마다 3회 0.1 mg/kg으로 보르테조밍을 투여하였다. 대조적으로, 대조군으로서 0.5% 메틸셀룰로스: 0.2% 트윈 80: 99.3% 희석제에 소분자 억제제 비히클 (SMIv)을 제조하였다. 결정된 용량으로 1일마다 경구 가바즈를 통해 SMIv를 투여하였다.

[0104] 레날리도마이드를 10 mg/ml로 DMSO에 용해시켰다. 스톱 용액을 멸균 0.9% 염수 용액 중에 1 mg/ml의 농도로 희석하였다. 모든 실험에서 레날리도마이드의 최종 농도는 0.01% 미만이었다.

[0105] 마우스를 다음과 같이 처리하였다:

군	약물	용량	경로	#	스케줄
1	대조군 mIgG2a	5 mg/kg	i.p.	10	2 일/주
2	비히클 (레날리도마이드)	n/a	i.p.	10	5 일/주
3	비히클 (보르테조밍)	n/a	i.p.	10	2 일/주
4	레날리도마이드	50 mg/kg	i.p.	10	5 일/주
5	보르테조밍	0.25 mg/kg	i.p.	10	2 일/주
6	보르테조밍	0.5 mg/kg	i.p.	10	2 일/주
7	레날리도마이드 + 항-VEGF 항체	50 mg/kg 5 mg/kg	i.p.	10	5 일/주 2 일/주
8	항-VEGF 항체 단독	5 mg/kg	i.p.	10	2 일/주
9	보르테조밍 항-VEGF 항체	0.25 mg/kg 5 mg/kg	i.p.	10	2 일/주 2 일/주
10	보르테조밍 + 항-VEGF 항체	0.5 mg/kg 5 mg/kg	i.p.	10	2 일/주 2 일/주

[0106]

[0107] 마우스를 연구 종료까지 1일마다 1회, 1주마다 5회 체중측정하였다. 표준 칼리퍼를 이용하여 종양 부피를 격주마다 측정하였다. 마우스를 1주마다 채혈하고, 마우스 혈청 중 hIgG 수준을 ELISA에 의해 측정하였다. 종양 부피, 종양 중량 및 hIgG 수준의 평균 값을 각 군에 포함시켰다. 비히클 대 단일 치료요법 대 조합 치료요법 간을 비교하였다.

[0108] 실시예 3 - 멜팔란 내성 MM 모델

[0109] 본 연구에서 6주 내지 8주된 수컷 중증 합병 면역결핍증 (SCID) 마우스를 검사하였다. 각각의 마우스에게 좌측 뒷다리 표재 둔근으로 LAGλ-1을 수술로 이식하였다. 종양을 성장시킨 후, 마우스를 2개의 처리군 중 하나로 연구자 모르게 할당하였다.

[0110] LAGλ-1 마우스 (멜팔란 내성 MM)

[0111] 대조군 mIgG2a (5 mg/kg, IP 격주마다)

[0112] 항-VEGF MAb G6-31 (5 mg/kg, IP 격주마다)

[0113] 마우스를 연구 종료까지 1일마다 1회, 1주마다 5회 체중측정하였다. 표준 칼리퍼를 이용하여 종양 부피를 격주마다 측정하였다. 마우스를 1주마다 채혈하고, 마우스 혈청 중 hIgG 수준을 ELISA에 의해 측정하였다. 종양 부피, 종양 중량 및 hIgG 수준의 평균 값을 각 군에 포함시켰다. 비히클 대 단일 치료요법 대 조합 치료요법 간을 비교하였다.

[0114] 실시예 4 - 형질 세포 백혈병 모델

[0115] 본 연구에서 6주 내지 8주된 수컷 중증 합병 면역결핍증 (SCID) 마우스를 검사하였다. 각각의 마우스에게 좌측 뒷다리 표재 둔근으로 LAPCLκ-1을 수술로 이식하였다. 종양을 성장시킨 후, 마우스를 2개의 처리군 중 하나로 연구자 모르게 할당하였다.

[0116] LAPCLκ-1 마우스 (형질 세포 백혈병)

[0117] 대조군 mIgG2a (5 mg/kg, IP 격주마다)

[0118] 항-VEGF MAb G6-31 (5 mg/kg, IP 격주마다)

[0119] 마우스를 연구 종료까지 1일마다 1회, 1주마다 5회 체중측정하였다. 표준 칼리퍼를 이용하여 종양 부피를 격주마다 측정하였다. 마우스를 1주마다 채혈하고, 마우스 혈청 중 hIgG 수준을 ELISA에 의해 측정하였다. 종양 부피, 종양 중량 및 hIgG 수준의 평균 값을 각 군에 포함시켰다. 비히클 대 단일 치료요법 대 조합 치료요법 간을 비교하였다.

도면의 간단한 설명

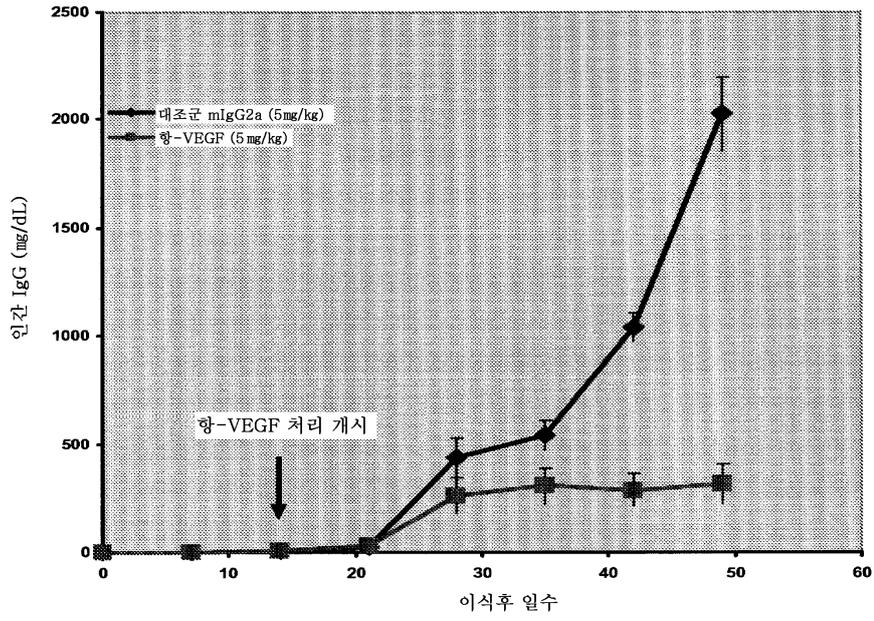
- [0014] 도 1은 LAG_k-1A 종양의 이식 및 이어서 항-VEGF 항체에 의한 처리후 마우스에서 인간 IgG 수준을 나타낸다: (A) 표 형식 및 (B) 그래프 형식.
- [0015] 도 2는 종양의 이식 및 이어서 항-VEGF 항체에 의한 처리후 마우스에서 LAG_k-1A 종양의 종양 부피를 나타낸다: (A) 표 형식 및 (B) 그래프 형식.
- [0016] 도 3은 LAG_k-1B 종양의 이식 및 이어서 항-VEGF 항체에 의한 처리후 마우스에서 인간 IgG 수준을 나타낸다: (A) 표 형식 및 (B) 그래프 형식.
- [0017] 도 4는 종양의 이식 및 이어서 항-VEGF 항체에 의한 처리후 마우스에서 LAG_k-1B 종양의 종양 부피를 나타낸다: (A) 표 형식 및 (B) 그래프 형식.
- [0018] 도 5A는 LAG_k-1B 종양의 이식 및 이어서 21일째에 항-VEGF 항체에 의한 처리후 마우스에서 인간 IgG 수준을 나타낸다.
- [0019] 도 5B는 종양의 이식 및 이어서 21일째에 항-VEGF 항체에 의한 처리후 마우스에서 LAG_k-1B 종양의 종양 부피를 나타낸다.

도면

도면1A

		LAG _k -1A 항-VEGF 연구: 인간 IgG 수준													
		비조균 mIgG2a (5mg/kg)													
		IgG 데이터													
		처리 개시													
		일수	84	86	71	90	89	91	81	79	70	평균	표준편차	오차	
항-VEGF (5mg/kg)	일수	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	14	18.7	10.6	6.6	6.0	5.9	5.7	5.7	4.7	4.7	4.7	7.6	4.5	1.5	
	21	29.0	25.9	27.5	29.4	28.9	26.4	26.3	25.6	26.3	27.3	27.3	1.5	0.5	
	28	93.0	800.1	587.5	600.4	395.7	692.4	118.7	94.9	553.4	437.4	273.5	91.2	91.2	
IgG 데이터	일수	35	796.9	314.6	572.7	457.9	415.8	515.1	288.4	844.1	659.2	540.5	197.1	65.7	
	42	1173.9	1242.3	911.5	925.6	1035.7	946.3	846.3	1404.6	850.1	1037.4	194.8	64.9	64.9	
	49	2634.4	2821.1	1524.5	1534.7	1407.7	1687.4	2352.1	2297.1	1967.8	2025.2	521.5	173.8	173.8	
	73	74	75	87	85	72	83	88	82	평균	표준편차	오차			
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
처리 개시	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	14	12.4	12.2	6.2	6.1	5.9	5.8	5.5	4.9	4.7	7.1	3.0	1.0	1.0	
	21	28.7	28.8	26.0	24.7	26.2	28.2	27.0	30.2	26.6	27.4	1.7	0.6	0.6	
	28	80.8	409.1	628.5	678.6	124.1	38.2	259.2	11.7	143.1	263.7	252.0	84.0	84.0	
	35	31.2	402.5	537.0	516.1	64.4	646.4	250.6	0	311.0	306.6	238.0	79.3	79.3	
오차	42	80.8	298.6	649.4	201.5	684.4	171.7	321.9	48.8	133.5	287.9	232.9	77.6	77.6	
	49	112.1	519.0	974.0	174.9	220.2	263.9	228.6	150.4	201.6	316.1	272.9	91.0	91.0	

도면1B

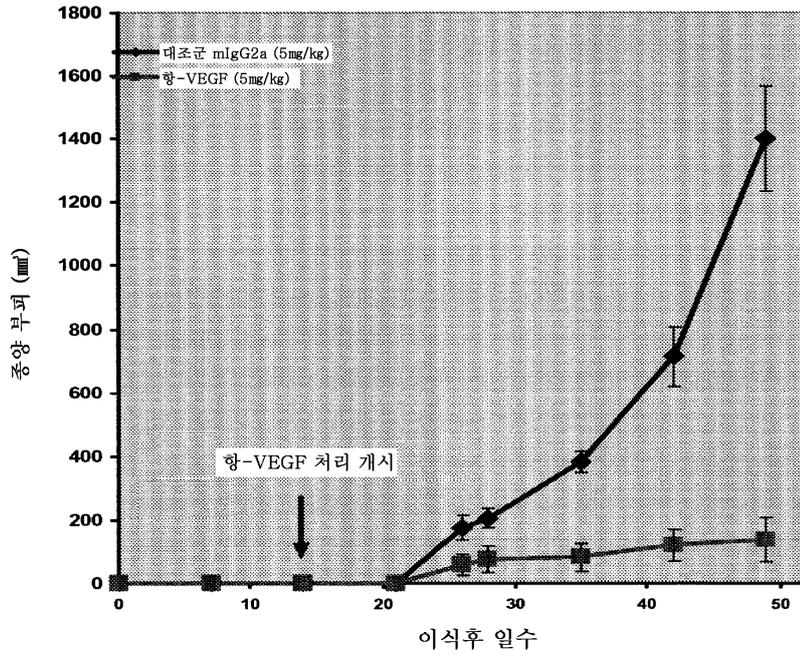


LAGk-1A 항-VEGF 연구: 종양 부피

종양 크기	대조군 처리										평균	표준편차	오차
일수	84	86	71	90	89	91	81	79	70	70	평균	표준편차	오차
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	218.1	233.7	289.7	0	131.9	131.9	0	284.4	295.1	176.1	117.1	39.1	39.1
28	221.3	252.0	281.3	131.9	259.4	131.9	0	281.6	290.8	205.6	98.2	32.7	32.7
35	385.1	412.7	437.4	307.6	316.5	305.7	247.8	437.2	583.9	381.6	100.9	33.6	33.6
42	887.0	1242.4	356.5	704.5	581.6	452.6	579.3	989.5	624.5	713.1	279.5	93.2	93.2
49	1935.6	1984.9	634.9	1400	863.4	961.1	1852.5	1279.3	1688.4	1400.0	499.7	166.6	166.6

종양 크기	항-VEGF 항체 처리										평균	표준편차	오차
일수	73	74	75	87	85	72	83	88	82	70	평균	표준편차	오차
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	131.9	276.2	131.9	0	0	0	60.0	99.2	33.1	33.1	33.1
28	0	0	272.8	270.8	131.9	0	0	0	75.1	119.6	39.9	39.9	39.9
35	0	0	303.6	297.9	131.9	0	0	0	81.5	131.6	43.9	43.9	43.9
42	0	287.8	321.5	341.9	0	131.9	0	0	120.3	154.2	51.4	51.4	51.4
49	0	344.4	432.1	455.7	0	0	0	0	136.9	207.5	69.2	69.2	69.2

도면2B



LAGk-1B 항-VEGF 연구: 인간 IgG 수준

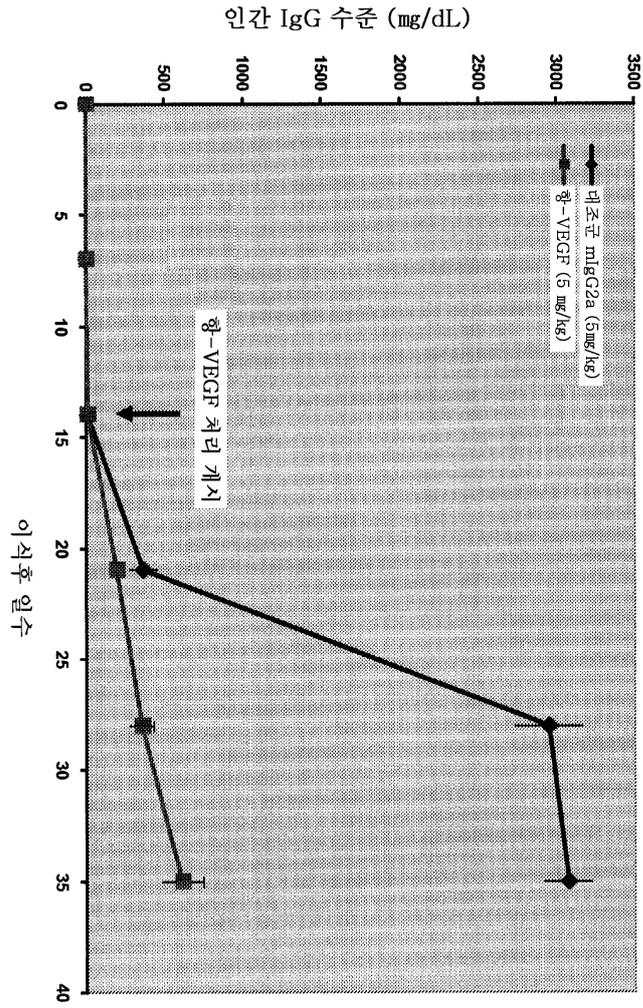
비조준 mIgG2a
 (5mg/kg)

IgG 레이터		123	129	120	131	115	122	112	130	113	127	평균	표준편차	오차
일수	123	129	120	131	115	122	112	130	113	127		평균	표준편차	오차
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
척리 개시	14	7.5	6.6	6.3	5.9	5.8	5.3	5.3	4.9	4.6	4.1	5.6	1,009.42	0.3
21	228.5	205.5	449.2	215.73	513.3	215.7	1039.8	233.3	292.2	222.6	361.6	261,597.9	82.7	
28	3745.3	1743.3	3695.4	3170.3	2453.4	2599	3860.7	2578.3	3121.3	2504.7	2947.2	687,811.2	217.5	
35	3221.7	2297.4	3648.1	2622.6	3764.9	3102.9	3197.1	3014.2	3333.5	2556.1	3075.8	470,294.7	148.7	

항-VEGF (5mg/kg)

IgG 레이터		124	119	118	114	121	116	128	125	117	126	평균	표준편차	오차
일수	124	119	118	114	121	116	128	125	117	126		평균	표준편차	오차
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
척리 개시	14	7.3	6.9	6.3	6.0	5.7	5.6	5.1	5.0	4.9	3.7	5.6	1.0	0.335
21	261.2	166.2	206.3	187.3	147.2	232.8	177.8	209.6	252.2	91.2	193.2	51.2	16,206	
28	305.1	167.6	604.9	655.1	169.1	806.2	108.8	398.1	231.3	107.4	355.4	251.1	79,399	
35	578.8	176.3	752.0	878.1	404.9	1487.4	287.0	953.5	361.9	218.8	609.9	412.3	130,38	

도면3B



LAGk-1B 항-VEGF 연구: 종양 부피

대조군 치리

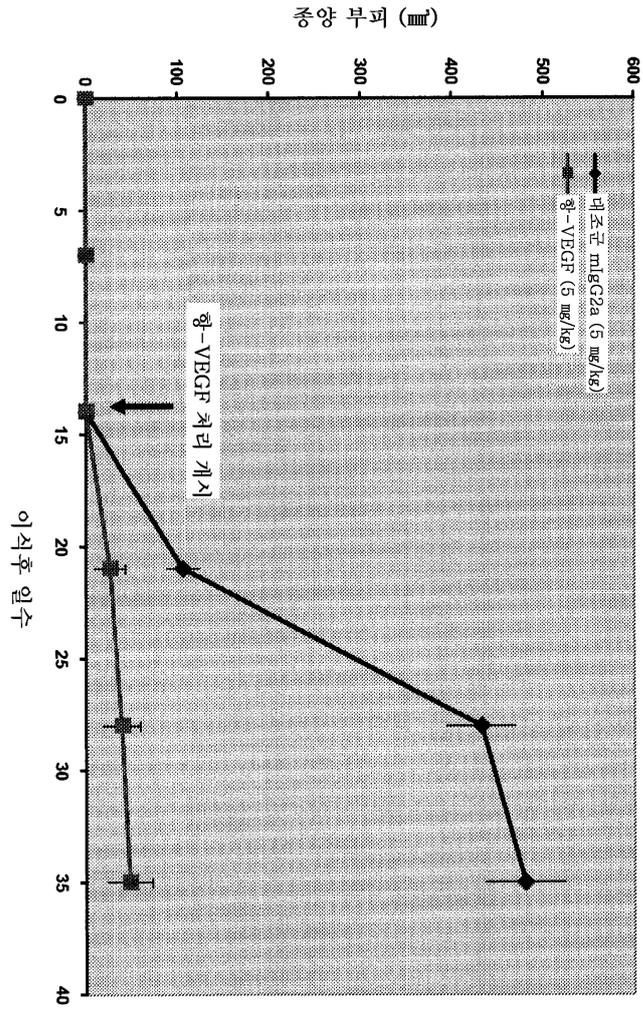
일수	123	129	120	131	115	122	112	130	113	127	평균	표준편차	오차
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	131.9	131.9	131.9	0	131.9	131.9	131.9	0	131.9	131.9	105.6	55.6	17.6
28	382.5	516.7	390.2	407.7	317.0	607.3	647.4	339.6	335.8	373.7	431.8	117.1	37.0
35	477.9	579.1	398.7	451.7	332.3	725.0	669.8	363.3	332.0	463.8	479.4	137.8	43.6

항-VEGF 항체 치리

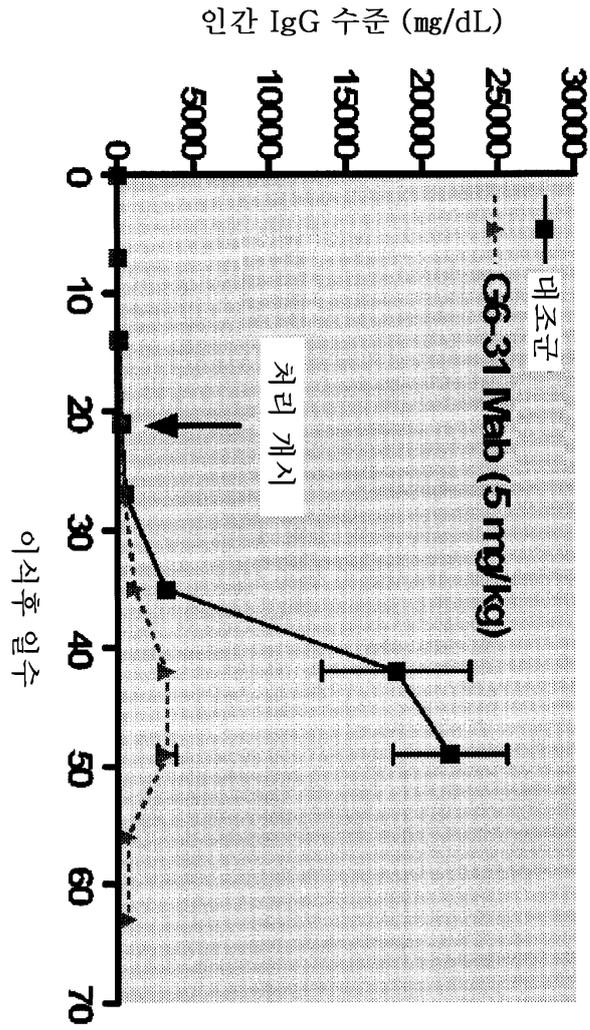
종양 크기

일수	124	119	118	114	121	116	128	125	117	126	평균	표준편차	오차
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
치리 개시	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	131.9	0	131.9	0	0	26.4	55.6	17.593
28	0	0	0	130.1	0	126.3	0	141.0	0	0	39.7	64.1	20.268
35	0	0	0	150.1	0	135.3	0	193.2	0	0	47.9	78.4	24.778

도면4B



도면5A



도면5B

