

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0017973
(43) 공개일자 2024년02월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/574 (2006.01) A61K 31/4406 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
G01N 33/50 (2017.01) G01N 33/569 (2017.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 33/57492 (2013.01)
A61K 31/4406 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7003086(분할)
(22) 출원일자(국제) 2016년09월02일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2018-7007043
원출원일자(국제) 2016년09월02일
심사청구일자 2021년09월02일
- (85) 번역문제출일자 2024년01월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/050274
(87) 국제공개번호 WO 2017/041043
국제공개일자 2017년03월09일
- (30) 우선권주장
62/213,288 2015년09월02일 미국(US)
62/219,612 2015년09월16일 미국(US)
- (71) 출원인
신다스 파마슈티컬스, 인크.
미국 02451 매사추세츠주 월섬 게이트하우스 드라이브 35 빌딩 디 플로어 3
- (72) 발명자
오르텐트리히 피터
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 슬로컴 로드 28
- (74) 대리인
김진희, 김태홍

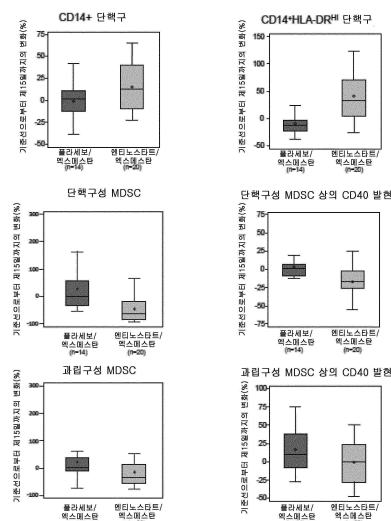
전체 청구항 수 : 총 81 항

(54) 발명의 명칭 조합 요법을 위한 환자의 선별

(57) 요약

엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법에 의한 치료를 위하여 암 환자를 선별하는 방법이 본원에 기재된다. 특히, 상기 방법에는 엔티노스타트 조합 요법의 설정에서 치료적 지표로서, 비암세포 유형, 골수 유래 억제 세포, 예를 들면, CD14-양성 및 HLA-DR-(10/음성)인 것들의 검사가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

G01N 33/5091 (2013.01)

G01N 33/56972 (2013.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

G01N 2800/52 (2021.08)

명세서

청구범위

청구항 1

엔티노스타트(entinostat) 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

말초 혈액 샘플 중의 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계; 및

골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 2

엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 골수 유래 억제 세포를 제1 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체를 생성시키는 단계;

말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 말초 혈액 단핵 세포를 제2 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체를 생성시키는 단계;

말초 혈액 샘플 중의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체와 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비를 측정하는 단계; 및

제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 대 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 3

환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

말초 혈액 샘플 중의 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계

를 포함하고,

골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계

를 추가로 포함하는 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 말초 혈액 샘플이 항응고제로 처리되는 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 항응고제가 EDTA 또는 헤파린인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 골수 유래 억제 세포 집단 및 PBMC 집단의 측정이 유동 세포 분석법

에 의해 수행되는 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 골수 유래 억제 세포 집단 및 PBMC 집단의 측정이 사이토스핀(cytospin)에 의해 수행되는 것인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 골수 유래 억제 세포 집단이 세포 표면 마커에 의해 동정되는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 세포 표면 마커가 CD11b, CD33 및 CD40 중 적어도 하나인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 말초 혈액 단핵 세포 집단이 세포 표면 마커에 의해 동정되는 것인 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 세포 표면 마커가 CD3, CD14, CD19, CD56 및 HLA-DR 중 적어도 하나인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 골수 유래 억제 세포가 다형핵 MDSC인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 다형핵 MDSC가 세포 표면 마커에 의해 동정되는 것인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 세포 표면 마커가 CD15인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 골수 유래 억제 세포가 단핵구성 MDSC인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 단핵구성 MDSC가 세포 표면 마커에 의해 동정되는 것인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 세포 표면 마커가 CD14인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:100 내지 1:4인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:50 내지 1:4인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:20 내지 1:4인 방법.

청구항 21

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:10 내지 1:4인 방법.

청구항 22

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:5 내지 1:4인 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 경구 투여되는 것인 방법.

청구항 24

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 먼저 투여되는 것인 방법.

청구항 25

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 매주 투여되는 것인 방법.

청구항 26

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 격주로 투여되는 것인 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제가 항-PD-1 항체인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 항-PD-1 항체가 펩트폴리주맙인 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 항-PD-1 항체가 니볼루맙인 방법.

청구항 30

제28항에 있어서, 암이 폐암인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 폐암이 비소세포 폐암, 편평 세포 암종 또는 대세포 암종인 방법.

청구항 32

제28항 또는 제29항에 있어서, 암이 흑색종인 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 흑색종이 전이성 흑색종인 방법.

청구항 34

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제가 항-PD-L1 항체인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 항-PD-L1 항체가 MPDL3280A인 방법.

청구항 36

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제가 엑스메스탄인 방법.

청구항 37

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 유방암인 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 제2 치료제가 MPDL3280A이고, 유방암이 삼중 음성 유방암인 방법.

청구항 39

제37항에 있어서, 제2 치료제가 엑스메스탄이고, 유방암이 호르몬 수용체 양성 유방암인 방법.

청구항 40

제27항 또는 제34항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체가 주입에 의해 투여되는 것인 방법.

청구항 41

제36항에 있어서, 엑스메스탄이 경구 투여되는 것인 방법.

청구항 42

제2항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제2 결합제가 각각 독립적으로 항체인 방법.

청구항 43

제2항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제2 결합제가 각각 독립적으로 세포 표면 마커에 결합하는 것인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 제1 결합제에 결합된 세포 표면 마커가 CD11b, CD33 및 CD40 중 적어도 하나인 방법.

청구항 45

제43항에 있어서, 제2 결합제에 결합된 세포 표면 마커가 CD3, CD14, CD19, CD56 및 HLA-DR 중 적어도 하나인 방법.

청구항 46

엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계;

CD-14 양성인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 및

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 조합 요법을 투여하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 47

엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계;

말초 혈액 샘플 중의 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계; 및

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:1인 경우, 조합 요법을 투여하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 48

환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계;

CD-14 양성인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계

를 포함하고,

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 엔티노스타트 및 제 2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계

를 추가로 포함하는 방법.

청구항 49

환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서,

암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계;

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계;

말초 혈액 샘플 중의 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계

를 포함하고,

CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:1인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계

를 추가로 포함하는 방법.

청구항 50

제46항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 말초 혈액 샘플이 항응고제로 처리되는 것인 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 항응고제가 EDTA 또는 헤파린인 방법.

청구항 52

제46항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계가 유동 세포 분석법에 의해 수행되는 것인 방법.

청구항 53

제46항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 말초 혈액 단핵 세포 집단이 세포 표면 마커에 의해 동정되는 것인 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 세포 표면 마커가 CD3, CD14, CD19, CD56 및 HLA-DR 중 적어도 하나인 방법.

청구항 55

제46항, 제48항 및 제50항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:50 내지 99:1인 방법.

청구항 56

제46항, 제48항 및 제50항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:20 내지 99:1인 방법.

청구항 57

제46항, 제48항 및 제50항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:10 내지 99:1인 방법.

청구항 58

제46항, 제48항 및 제50항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:5 내지 99:1인 방법.

청구항 59

제47항 및 제49항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:50 내지 1:4인 방법.

청구항 60

제47항 및 제49항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:20 내지 1:4인 방법.

청구항 61

제47항 및 제49항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:10 내지 1:4인 방법.

청구항 62

제47항 및 제49항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 비가 1:5 내지 1:4인 방법.

청구항 63

제46항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 경구 투여되는 것인 방법.

청구항 64

제46항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 먼저 투여되는 것인 방법.

청구항 65

제46항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 매주 투여되는 것인 방법.

청구항 66

제46항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 엔티노스타트가 격주로 투여되는 것인 방법.

청구항 67

제46항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제가 항-PD-1 항체인 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 항-PD-1 항체가 펩트폴리주맙인 방법.

청구항 69

제67항에 있어서, 항-PD-1 항체가 니볼루맙인 방법.

청구항 70

제68항에 있어서, 암이 폐암인 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 폐암이 비소세포 폐암, 편평 세포 암종 또는 대세포 암종인 방법.

청구항 72

제68항 또는 제69항에 있어서, 암이 흑색종인 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, 흑색종이 전이성 흑색종인 방법

청구항 74

제46항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제가 항-PD-L1 항체인 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 항-PD-L1 항체가 MPDL3280A인 방법.

청구항 76

제46항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제가 엑스메스탄인 방법.

청구항 77

제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 유방암인 방법.

청구항 78

제32항에 있어서, 제2 치료제가 MPDL3280A이고, 유방암이 삼중 음성 유방암인 방법.

청구항 79

제77항에 있어서, 제2 치료제가 엑스메스탄이고, 유방암이 호르몬 수용체 양성 유방암인 방법.

청구항 80

제67항 또는 제74항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체가 주입에 의해 투여되는 것인 방법.

청구항 81

제76항에 있어서, 엑스메스탄이 경구 투여되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본 출원은 2015년 9월 2일에 출원된 미국 가특허 출원 제62/213,288호, 및 2015년 9월 16일에 출원된 제 62/219,612호의 이득 및 우선권을 주장하고, 각각의 내용은 본원에 그 전문이 참조로서 포함된다.

배경 기술

[0003]

암, 종양, 종양 관련 장애 및 신생물성 질환 상태는 중증이고, 대개는 생명을 위협하는 병태이다. 빠르게 증식하는 세포 성장을 특징으로 하는 이들 질환 및 장애는 계속해서 이를 치료하는데 있어서 효과적인 치료제를 발굴하는 것에 방향을 맞춘 연구 노력의 대상이 되고 있다. 이러한 치료제는 환자의 생존을 연장시키거나, 신생물과 관련된 빠르게 증식하는 세포 성장을 억제시키거나, 신생물을 퇴행시킨다.

[0004]

HDAC 억제제(HDACi)는 크로마틴 리모델링 및 유전자 발현 조절을 통해 혈액암 및 고형 악성 종양에서의 분화 및 아포토시스를 촉진시키는 신흥 부류의 치료제이다. HDACi의 항종양 효과가 연구되었음에도 불구하고, 암 환자 전신 면역에 대한 HDACi의 영향은 분명하지 않게 남아 있다.

[0005]

항종양제의 효능을 증가시키고, 전형적으로 통상적인 치료와 관련된 부작용을 감소시키고/시키거나 제거하는 다중 징후에서 암 면역요법이 요구되고 있다.

발명의 내용

[0006]

개요

[0007]

하나의 측면에서, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법이 본원에 제공된다. 방법은 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계, 말초 혈액 샘플 중의 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계, 및 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의

비가 1:200 내지 1:4인 경우, 조합 요법을 투여하는 단계를 포함한다.

[0008] 또 다른 측면에서, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법이 본원에 제공된다. 방법은 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계, 말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 골수 유래 억제 세포를 제1 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체를 생성시키는 단계, 말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 말초 혈액 단핵 세포를 제2 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체를 생성시키는 단계, 말초 혈액 샘플 중의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체와 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비를 측정하는 단계, 및 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 대 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 조합 요법을 투여하는 단계를 포함한다.

[0009] 또 다른 측면에 있어서, 환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계, 말초 혈액 샘플 중의 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계를 포함하고, 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0010] 또 다른 측면에서, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; CD-14 양성인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 및 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 조합 요법을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0011] 또 다른 측면에서 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 말초 혈액 샘플 중의 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계; 및 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:1인 경우, 조합 요법을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0012] 또 다른 측면에서, 환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; CD-14 양성인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계를 포함하고, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0013] 또한 환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 말초 혈액 샘플 중의 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계를 포함하고, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:1인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 엔티노스타트 및 엑스메스탄(EE)의 조합 또는 엑스메스탄 및 플라세보의 조합에 의한 치료의 기준선으로부터 제15일까지의, ENCORE 301 시험으로부터 선별된 환자로부터 수득된 혈액 샘플에서 CD14⁺ 세포 수, CD14⁺HLA-DR^{hi} 단핵구 세포 수, 단핵구성 MDSC 세포 수, 단핵구성 MDSC 상의 CD40 발현, 과립구성 MDSC 세포 수, 및 단핵구성 MDSC 상의 CD40 발현의 백분율 변화를 도시한다.

도 2는 엔티노스타트가 유방암 환자에서 CD14⁺ 단핵구 상의 HLA-DR 발현을 증가시킨다는 것을 도시한다. (A) 유방암 환자의 PBMC에서 CD14⁺ 단핵구(좌측 패널), CD14⁺HLA-DR^{hi} 단핵구(적색 상자, 우측 상부 패널), 및 CD14⁺HLA-DR^{low/neg} 단핵구(청색 상자, 우측 하부 패널)의 분석을 위한 게이팅 전략. 단일 생존 CD45⁺ 세포 위에 초기 게이팅된다. (B) 엑스메스탄 + 플라세보(EP) 아암(arm)(n=14) 및 엑스메스탄 + 엔티노스타트(EE) 아암(n=20)에서 기준선으로부터 C1D15까지의 단일 생존 CD45⁺ PBMC 중에서 CD14⁺HLA-DR^{hi} 단핵구의 변화(%). CD14⁺HLA-DR^{hi} 단핵구의 수준은 EP 아암과 비교하여 EE 아암에서 유의미하게 증가하였다(P = 0.0004). (C) EP

아암(n=14) 및 EE 아암(n=20)에서 기준선으로부터 C1D15까지의 $CD14^{+}$ 단핵구 상의 HLA-DR 발현(중양 형광 강도, MFI)의 변화. $CD14^{+}$ 단핵구 상의 HLA-DR 발현의 수준은 EP 아암과 비교하여 EE 아암에서 유의미하게 증가하였다($P = 0.015$). (D) 시험관 내 $CD14^{+}$ 단핵구 상의 HLA-DR 발현. 새로운 PBMC를 DMSO 또는 엔티노스타트($0.5 \mu M$)와 함께 2일 동안 배양하였다. 좌측 패널은 DMSO(청색 히스토그램) 또는 엔티노스타트(적색 히스토그램)와 함께 배양된 $CD14^{+}$ 단핵구 상의 HLA-DR 발현의 대표적인 히스토그램을 보여준다. 흑색 히스토그램은 이소타입 대조군을 보여준다. 우측 패널은 DMSO 또는 엔티노스타트와 함께 배양된 $CD14^{+}$ 단핵구 상의 HLA-DR 발현 수준의 차이를 보여준다. 각각의 선은 상이한 건강한 공여자를 나타낸다(n=8, $P=0.008$). 중양 형광 강도, MFI.

도 3은 엔티노스타트가 유방암 환자에서 단핵구성 MDSC 및 과립구성 MDSC를 감소시킨다는 것을 도시한다. (A) 유방암 환자의 PBMC에서 MDSC 표현형의 분석을 위한 게이팅 전략. 초기 게이팅은 단일 생존 $CD45^{+}$ 세포 위였다. 계통($CD3^{-}$, $CD19^{-}$, $CD56^{-}$) HLA-DR $^{+}$ $CD11b^{+}$ $CD33^{+}$ 세포를 Lin^{-} MDSC로 정의하였다. Lin^{-} MDSC를 추가로 단핵구성 MDSC(Lin^{-} HLA-DR $^{+}$ $CD11b^{+}$ $CD33^{+}$ $CD14^{+}$ 세포)와 미성숙 MDSC(Lin^{-} HLA-DR $^{+}$ $CD11b^{+}$ $CD33^{+}$ $CD14^{-}$ 세포)로 나누었다. $CD14^{-}$ $CD11b^{+}$ $CD33^{+}$ 세포를 과립구성 MDSC로 정의하였다. (B) 엑스메스탄 + 플라세보(EP) 아암(n=14) 및 엑스메스탄 + 엔티노스타트(EE) 아암(n=20)에서 기준선으로부터 C1D15까지의 단일 생존 $CD45^{+}$ PBMC 중에서 단핵구성 MDSC의 변화(%). 단핵구성 MDSC의 수준은 EP 아암과 비교하여 EE 아암에서 유의미하게 감소하였다($P = 0.002$). (C) EP(n=14) 및 EE 아암(n=20)에서 기준선으로부터 C1D15까지의 단일 생존 $CD45^{+}$ PBMC 중에서 과립구성 MDSC의 변화(%). 과립구성 MDSC의 수준은 EP 아암과 비교하여 EE 아암에서 유의미하게 감소하였다($P = 0.029$).

도 4는 엔티노스타트가 유방암 환자에서 MDSC 상의 CD40 발현을 감소시킨다는 것을 도시한다. (A) 엑스메스탄 + 플라세보(EP) 아암(n=14) 및 엑스메스탄 + 엔티노스타트(EE) 아암(n=20)에서 기준선으로부터 C1D15까지의 단핵구성 MDSC 상의 CD40 발현(MFI)의 변화. 단핵구성 MDSC 상의 CD40의 수준은 EP 아암과 비교하여 EE 아암에서 유의미하게 감소하였다($P=0.011$). (B) EP 아암(n=14) 및 EE 아암(n=20)에서 기준선으로부터 C1D15까지의 과립구성 MDSC 상의 CD40 발현(MFI)의 변화. 과립구성 MDSC 상의 CD40의 수준은 EP 아암과 비교하여 EE 아암에서 통계적으로 유의미한 감소를 보이지 않았다($P = 0.22$). (C) MDSC의 절대 생존 세포 수(상부 패널, 단핵구성 MDSC; 하부 패널, 과립구성 MDSC). 새로운 PBMC(2×10^6 PBMC/웰)를 IL-6(10 ng/ml) 및 GM-CSF(10 ng/ml)와 함께 배양하였다. 제5일에, DMSO 또는 엔티노스타트($0.5 \mu M$)를 첨가하고, 세포를 3-4일 동안 배양하였다. 각각의 선은 상이한 건강한 공여자(n=7; 단핵구성 MDSC, $P=0.004$; 과립구성 MDSC, $P=0.004$)를 나타낸다. (D) 단핵구성 MDSC(적색 선), 과립구성 MDSC(청색 선), 및 계통 세포(흑색 선)에서 사멸한 세포 염료-양성 세포의 백분율. 새로운 PBMC(2×10^6 PBMC/웰)를 IL-6 및 GM-CSF와 함께 배양한 다음, DMSO 또는 엔티노스타트($0.5 \mu M$)를 2 또는 3일 동안 첨가한 다음, 세포를 수집하고, LIVE/DEAD 픽서블 아쿠아 데드 셀 스테인(LIVE/DEAD Fixable Aqua Dead Cell Stain) 및 항체로 염색하였다. 각각의 집단(단핵구성 MDSC, 과립구성 MDSC, 및 계통 세포) 중에서 사멸한 세포 염료-양성 세포의 백분율을 계산하였다. 평균 $\pm$ SD를 나타낸다(n=7). 사멸한 계통 세포의 백분율이 증가하지 않았음에도 불구하고, 사멸한 단핵구성 MDSC 및 사멸한 과립구성 MDSC의 백분율은 엔티노스타트에 의해 증가하였다. 단핵구성 MDSC, $P=0.016$; 과립구성 MDSC, $P=0.016$; 계통 세포($CD3^{+}$, $CD19^{+}$, 또는 $CD56^{+}$), $P=0.7$.

도 5는 유방암 환자의 PBMC에서 T-세포 하위세트의 분석을 위한 게이팅 전략을 도시한다. (A) 초기 게이팅은 단일 생존 세포 위였다. $CD4^{+}$ T-세포를 추가로 Tregs($CD8CD4^{+}$ $CD25^{hi}$ Foxp3 $^{+}$ 세포)와 Foxp3 $CD4^{+}$ T-세포($CD8CD4^{+}$ Foxp3 $^{-}$ 세포)로 나누었다. (B) 면역 체크포인트 수용체 발현을 $CD8^{+}$ T-세포, Foxp3 $CD4^{+}$ T-세포, 및 Tregs에 대하여 평가하였다. PD-1(좌측), CTLA-4(중간), 및 TIM-3(우측)에 대한 대표적인 히스토그램을 나타냈다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015]

조합 요법을 위하여 암 환자를 선별하는 통상적인 접근법은 조직학 또는 분자 분석의 관점에서 암의 평가에 의지한다. 본 발명의 개시내용은 엔티노스타트 및 제2 치료제에 의한 조합 요법을 위하여 환자를 선별하기 위한 예측 및 예후 바이오마커로서, 암 환자로부터 획득된 생물학적 샘플에서, 비종양 골수 유래 억제 세포, 예를 들면, $CD14$ -양성 및 HLA-DR-(lo/음성)인 것들의 수준에 의지하는 방법을 제공한다.

[0016] 하나의 측면에서, 개시내용은 환자로부터 수집된 말초 혈액 샘플에서 측정된, 골수 유래 억제 세포와 말초 혈액 단핵 세포의 비를 기반으로 한, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법에 관한 것이고, 여기서 조합 요법은 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 부여된다. 또 다른 측면에서 환자로부터 수집된 말초 혈액 샘플에서 측정된, 골수 유래 억제 세포-제1 결합제 복합체와 말초 혈액 단핵 세포-제2 결합제 복합체의 비를 기반으로 한, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법이 본원에 제공되고, 여기서 복합체는 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포를 각각 제1 및 제2 결합과 접촉시킴으로써 형성되고, 조합 요법은 골수 유래 억제 세포 제1 결합제 복합체 대 말초 혈액 단핵 세포-제2 결합제 복합체의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 부여된다. 또 다른 측면에서 환자로부터 수집된 말초 혈액 샘플에서 측정된, 골수 유래 억제 세포와 말초 혈액 단핵 세포의 비를 기반으로 한, 환자에서 암의 진단 및/또는 예후를 제공하는 방법이 추가로 제공되고, 여기서 방법은 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 부여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0017] 또 다른 측면에서, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; CD-14 양성인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 및 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 조합 요법을 부여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 또 다른 측면에서 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 말초 혈액 샘플 중의 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계; 및 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:1인 경우, 조합 요법을 부여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또 다른 측면에서 환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; CD-14 양성인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공되고, 여기서 방법은 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 부여하는 단계를 추가로 포함한다. 또 다른 측면에서, 환자에서 암에 대한 예후를 제공하는 방법으로서, 암으로 진단된 환자로부터 말초 혈액 샘플을 수득하는 단계; CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계; 말초 혈액 샘플 중의 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공되고, 여기서 방법은 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:1인 경우, 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 환자에게 부여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0018] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플은 항응고제로 처리된다. 일부 실시양태에서, 항응고제는 EDTA 또는 헤파린이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성)인 말초 혈액 샘플 중의 세포의 수를 측정하는 단계는 유동 세포 분석법에 의해 수행된다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 단핵 세포 집단은 세포 표면 마커에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD3, CD14, CD19, CD56 및 HLA-DR 중 하나 이상이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비는 1:50 내지 99:1이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 CD-14 양성 세포의 비는 1:20 내지 99:1이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비는 1:5 내지 99:1이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비는 1:50 내지 1:4이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비는 1:20 내지 1:4이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비는 1:10 내지 1:4이다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비는 1:5 내지 1:4이다.

[0019] 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 경구 부여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 먼저 부여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 매주 부여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 격주로 부여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 5 mg의 용량으로 부여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 매주 5 mg의 용량으로 부여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 격주로 5 mg의 용량으로 부여된다.

[0020] 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 일부 실시양태에서, 암은 폐암이다. 일부 실시양태에서, 폐암

은 비소세포 폐암, 편평 세포 암종 또는 대세포 암종이다. 일부 실시양태에서, 암은 흑색종이다. 일부 실시양태에서, 흑색종은 전이성 흑색종이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MPDL3280A이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 엑스메스탄이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 MPDL3280A이고, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 엑스메스탄이고, 유방암은 호르몬 수용체 양성 유방암이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체는 주입에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 엑스메스탄은 경구 투여된다.

[0021] 본원에 기술된 개시내용의 이해를 돕기 위해 하기에서 다수의 용어를 정의한다.

[0022] 본원에서 사용되는 바, "비정상적인 세포 성장"이란, 정상적인 세포의 비정상적인 성장, 및 비정상적인 세포의 성장을 포함하여, 정상적인 조절 기전과는 독립된 세포 성장(예를 들면, 접촉성 억제 손실)을 의미한다.

[0023] 본원에 기술된 바와 같이, "신생물 형성"이란, 자율 성장 및 체세포 돌연변이에 의해서 정상 세포와 구별되는 세포의 비정상적이고, 비조절되고, 비조직화된 증식이다. 신생물성 세포가 성장하고 분열함에 따라, 이들은 이들의 유전자 돌연변이 및 증식성 특징을 자손 세포로 전달한다. 신생물, 또는 종양은 신생물성 세포의 축적물이다. 일부 실시양태에서, 신생물은 양성 또는 악성일 수 있다.

[0024] 본원에서 사용되는 바, "전이"란 림프관 또는 혈관을 통해 종양 세포가 퍼종되는 것을 의미한다. 전이란 또한 장막 강, 또는 지주막 또는 다른 공간을 통해 직접 확장됨으로써 종양 세포가 이동하는 것을 의미한다. 전이 과정을 통한 신체 다른 부위로의 종양 세포 이동은 초기 출현 부위와는 떨어져 있는 부위에 신생물을 확립시킨다.

[0025] 본원에서 논의된 바, "혈관신생"은 종양 형성 및 전이에서 중요하다. 혈관신생 인자는 수개의 고평 종양, 예를 들면, 횡문근육종, 망막아세포종, 유잉육종, 신경아세포종, 및 골육종과 연관이 있는 것으로 밝혀졌다. 종양은 영양분을 제공하고, 세포 노폐물을 제거하는 혈액 공급 없이는 확장되지 못한다. 혈관신생이 중요한 종양으로는 고평 종양, 예를 들면, 신세포 암종, 간세포 암종, 및 양성 종양, 예를 들면, 청신경종, 및 신경섬유종증을 포함한다. 혈관신생은 혈액 매개 종양, 예를 들면, 백혈병과 연관이 있었다. 혈관신생은 백혈병을 유발하는 골수 이상에서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 혈관신생을 막으면, 양성 종양의 성장, 및 그 결과로 발생하는 종양 존재에 기인한 위험체계의 손상을 중단시킬 수 있다.

[0026] "피험체"라는 용어는 영장류(예를 들면, 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 래트, 또는 마우스를 포함하지만 이에 한정되지 않는 동물을 의미한다. "피험체" 및 "환자"라는 용어는, 예를 들면, 포유동물 피험체, 예를 들면, 인간 피험체와 관련하여 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0027] "치료하다," "치료하는," 및 "치료"라는 용어는 장애, 질환, 또는 병태; 또는 장애, 질환, 또는 병태와 관련된 증상들 중 하나 이상의 것을 완화시키거나, 저지시키거나; 또는 장애, 질환, 또는 병태 그 자체의 원인(들)을 완화시키거나, 근절시키는 것을 포함한다는 것을 의미한다.

[0028] "치료학적 유효량"이라는 용어는 투여되었을 때, 치료하고자 하는 장애, 질환, 또는 병태의 발병을 예방하거나, 또는 이의 증상 중 하나 이상의 것을 어느 정도 완화시키는 데 충분한, 화합물의 양을 의미한다. "치료학적 유효량"이라는 용어는 또한 연구원, 의사, 또는 임상가가 추구하고자 하는, 세포, 조직, 시스템, 동물, 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 데 충분한, 화합물의 양을 의미한다.

[0029] "약학적으로 허용되는 담체," "약학적으로 허용되는 부형제," "생리학적으로 허용되는 담체," 또는 "생리학적으로 허용되는 부형제"라는 용어는 약학적으로 허용되는 물질, 조성물, 또는 비히클, 예를 들면, 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매, 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 각 성분은 약학 제제의 다른 성분들과 화합성이란 점에서 "약학적으로 허용되는" 것이어야 한다. 이는 또한 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 면역원성, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 적당한 이익/위험비에 상응하여, 인간 및 동물의 조직 또는 기관과 접촉시켜 사용하는 데 적합하여야 한다. 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition]; [Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005]; [Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th Edition]; [Rowe et al., Eds., The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2005]; and [Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd Edition]; [Ash and Ash Eds., Gower Publishing Company: 2007]; [Pharmaceutical Preformulation and Formulation, Gibson Ed., CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2004]을 참조한다.

[0030] "약학 조성물"이라는 용어는 본원에 개시된 화합물과, 다른 화학 성분, 예를 들면, 희석제 또는 담체의 혼합물을 의미한다. 약학 조성물을 통해 화합물을 유기체에게로 쉽게 투여할 수 있다. 다수의 화합물 투여 기법이 당해 분야에 존재하며, 상기 기법으로는 경구, 주사, 에어로졸, 비경구 및 국소 투여를 포함하지만 이에 한정되지

않는다. 약학 조성물은 또한 무기산 또는 유기산, 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 살리실산 등과 화합물을 반응시킴으로써 취득될 수 있다.

[0031] "I₀/음성"이라는 용어는, 세포 상의 세포 표면 마커의 발현을 기재하는데 사용되는 경우, 염색되지 않은 대조군 세포에 비해 세포 상의 세포 표면 마커의 발현의 낮은 수준 내지 부재 수준에 해당한다. 발현의 낮은 수준 내지 부재 수준은 염색되지 않은 대조군 세포에 비해 약 1배 증가, 약 2배 증가, 약 3배 증가, 약 4배 증가, 약 5배 증가, 약 6배 증가, 약 7배 증가, 약 8배 증가, 약 9배 증가, 약 10배 증가, 약 11배 증가, 약 12배 증가, 약 13배 증가, 약 14배 증가, 약 15배 증가, 약 16배 증가, 약 17배 증가, 약 18배 증가, 약 19배 증가, 또는 약 20배 증가일 수 있다. 발현의 낮은 수준 내지 부재 수준은 약 1배 증가 내지 약 2배 증가, 약 2배 증가 내지 약 3배 증가, 약 3배 증가 내지 약 4배 증가, 약 4배 증가 내지 약 5배 증가, 약 5배 증가 내지 약 6배 증가, 약 6배 증가 내지 약 7배 증가, 약 7배 증가 내지 약 8배 증가, 약 8배 증가 내지 약 9배 증가, 약 9배 증가 내지 약 10배 증가, 약 10배 증가 내지 약 11배 증가, 약 11배 증가 내지 약 12배 증가, 약 12배 증가 내지 약 13배 증가, 약 13배 증가 내지 약 14배 증가, 약 14배 증가 내지 약 15배 증가, 약 15배 증가 내지 약 16배 증가, 약 16배 증가 내지 약 17배 증가, 약 17배 증가 내지 약 18배 증가, 약 18배 증가 내지 약 19배 증가, 또는 약 19배 증가 내지 약 20배 증가일 수 있다.

[0032] 암, 종양, 종양 관련 장애, 및 신생물성 질환 상태는 중증이며, 대개는 생명을 위협하는 병태이다. 빠른 증식성 세포 성장을 특징으로 하는 상기 질환 및 장애는 계속해서 이의 치료에서 효과적인 치료제를 확인하고자 하는 것을 지향하는 연구 노력의 대상이 되고 있다. 상기 작용제는 환자의 생존 기간을 연장시키거나, 신생물과 연관된 빠른 증식성 세포 성장을 억제시키거나, 또는 신생물을 퇴행시킨다.

[0033] HDAC 억제제는 크로마틴 리모델링 및 유전자 발현 조절을 통해 혈액암 및 고형 악성 종양에서의 분화 및 아폽토시스를 촉진시키는 신흥 부류의 치료제이다. 벤즈아미드(엔티노스타트), 단쇄 지방산(즉, 나트륨 페닐부티레이트); 하이드록삼산(즉, 수베로일아닐리드 하이드록삼산 및 트리코스타틴 A); 2-아미노-8-옥소-9,10-에폭시-데카노일 모이어티를 함유하는 사이클릭 테트라펩티드(즉, 트라포신 A) 및 2-아미노-8-옥소-9,10-에폭시-데카노일 모이어티를 포함하지 않는 사이클릭 펩티드(즉, FK228)를 포함하여, 수개의 HDAC 억제제가 확인되었다. 엔티노스타트는 다종의 고형 종양 및 혈액암 유형에서 현재 임상 연구 중에 있는 벤즈아미드 HDAC 억제제이다. 엔티노스타트는 빠르게 흡수되고, 이의 반감기는 약 100시간이며; 중요하게는 히스톤 아세틸화 변화는 엔티노스타트 투여 후 수주 동안 지속된다.

[0034] 어느 이론으로도 제한하지 않으면서, 골수 유래 억제 세포는 이펙터 항종양 T 세포 활성을 차단하고 면역 회피를 돕는 것으로 고려된다. 골수 유래 억제 세포는 유방암 환자에서 증가하고, 순환 골수 유래 억제 세포의 가장 높은 수준은 전이성 질환이 있는 환자에 존재한다. 전이성 유방암의 설정에서, 완화 전신 요법 후 말초 혈액 골수 유래 억제 세포의 평균 수준보다 더 높은 환자는 전체 생존율이 더 짧았다. 유방암에서 보조 화학요법의 설정에서, 순환 골수 유래 억제 세포의 감소된 수준은 증가된 임상 효과와 연관이 있는 것으로 나타났다. 유방암의 마우스 모델에서의 기능 연구는 골수 유래 억제 세포의 감소 또는 불활성화가 항종양 면역 반응의 발달을 통해 종양 성장 및 진행을 감소시킨다는 것을 밝혀냈다.

[0035] 어느 이론으로도 제한하지 않으면서, 골수 유래 억제 세포의 감소는 종양에 대항하는 면역 반응의 발생을 통해 암의 치료로서 작용할 수 있는 것으로 고려된다.

[0036] 골수 유래 억제 세포

[0037] 골수 유래 억제 세포는 선천성 및 적응성 면역을 억제하는 미성숙 골수 세포의 이종 집단이다. 골수 유래 억제 세포는 아르기닌의 고갈, 반응성 질소 및 산소 종의 생성, 및 억제성 사이토킨의 분비를 포함하는 기전을 통해 선천성 및 적응성 면역을 억제할 수 있다.

[0038] 골수 유래 억제 세포는 일반적으로 세포 표면 마커 CD33 및 CD11b를 발현하고, HLA-DR(HLA-DR I₀/음성)의 감소된 발현을 갖는다. 골수 유래 억제 세포의 비제한적인 예는 단핵구성 골수 유래 억제 세포(M-MDSC) 및 다형핵 골수 유래 억제 세포(PMN-MDSC)를 포함한다. M-MDSC는 인간에서 세포 표면 마커 CD14를 발현하고, HLA-DR I₀/음성이고, 세포 표면 마커 CD15를 발현하지 않는다. PMN-MDSC는 인간에서 세포 표면 마커 CD14를 발현하지 않고, 세포 표면 마커 CD15를 발현한다.

[0039] 골수 유래 억제 세포는 면역 활성화제 세포, 예를 들면, T 림프구, 자연 살해(NK: natural killer) 세포, 및 수지상 세포(DC: dendritic cell)의 억제를 유발한다. 반대로, 골수 유래 억제 세포는 면역 억제 세포, 예를 들면, Th2 T 림프구, T 조절 세포(Treg) 및 종양 연관 대식세포(TAM: tumor-associated macrophage)에 대하여

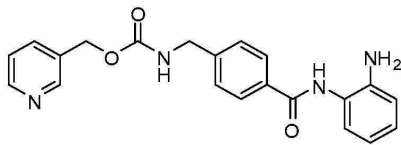
자극성일 수 있다. 골수 유래 억제 세포는 또한 MDSC 확장을 촉진하는 사이토킨, 예를 들면, IL-6을 분비할 수 있다. 골수 유래 억제 세포의 확장은 T 림프구의 생존에 필수적인 필수 아미노산, 예를 들면, 아르기닌 및 시스테인의 격리를 야기할 수 있다. 골수 유래 억제 세포는 T 림프구에 강력하게 독성인 반응성 산소 종, 예를 들면, 산화질소의 생성을 통해 면역을 억제한다.

[0040] 히스톤 데아세틸라제

[0041] HDAC 억제제는 3개 부류(클래스 I, II 및 III)로 분류되는 적어도 18개의 효소를 포함하는 패밀리이다. 클래스 I HDAC로는 HDAC 1, 2, 3, 및 8을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 클래스 I HDAC는 핵에서 발견될 수 있고, 이는 전사 제어 리프레이저와 연관되어 있는 것으로 여겨진다. 클래스 II HDAC는 HDAC 4, 5, 6, 7, 및 9를 포함하지만 이에 한정되지 않고, 세포질 뿐만 아니라, 핵에서도 발견될 수 있다. 클래스 III HDAC는 NAD 의존성 단백질인 것으로 여겨지며, 시르투인 단백질 패밀리의 구성원을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 시르투인 단백질의 비제한적인 예로 SIRT1-7을 포함한다. 본원에서 사용되는 바, "선택성 HDAC"라는 용어는 상기 3가지 HDAC 부류 모두와 상호작용을 하지 않는 HDAC 억제제를 의미한다.

[0042] HDAC 억제제

[0043] HDAC 억제제는 범용 HDAC 억제제 및 선택성 HDAC 억제제로 광범위하게 분류될 수 있다. 비록 공지된 HDAC 억제제에는 많은 구조상 다양성이 존재하기는 하지만, 이들은 공통된 특징들을 공유한다: 효소 활성 부위와 상호작용하는 부분, 및 상기 활성 부위를 유도하는, 채널 내부에 안치되어 있는 측쇄. 이는 하이드록사메이트 기가 활성 부위와 상호작용하는 것으로 여겨지는 하이드록사메이트, 예를 들면, SAHA로 알 수 있다. 펩티드인 경우, 이황화 결합의 세포내 환원을 통해 4-탄소 알케일 측에 부착된 유리 티올 기(이는 활성 부위와 상호작용한다)가 형성되는 것으로 여겨진다. HDAC 억제제 사이의 차이는 활성 부위에 대하여 채널의 반대쪽 단부에 있는, HDAC 채널의 테두리와 HDAC 억제제가 상호작용하는 방식에 있다. HDAC 억제제와 채널의 테두리 사이의 상기와 같은 상호작용이 적어도 부분적으로는 범용 HDAC 억제제, 예를 들면, SAHA와, 선택성 HDAC 억제제, 예를 들면, 펩티드 사이에서 일부 관찰되는 HDAC 선택성 상의 차이에 대한 원인이 되는 것으로 여겨진다. 특히 바람직한 HDAC 억제제는 엔티노스타트이다. 엔티노스타트의 화학명은 N-(2-아미노페닐)-4-[N-(피리딘-3-일)메톡시카보닐아미노-메틸]-벤즈아미드이고, 화학 구조는 하기 제시되는 바와 같다:



[0044]

[0045] 엔티노스타트의 화학 구조

[0046] 프로그래밍된 세포 사멸-1(PD-1: Programmed Cell Death-1)

[0047] PD-1은 수용체의 면역글로불린 슈퍼패밀리 내의, T 세포 조절인자의 CD28 패밀리의 구성원인 세포 표면 수용체이다. 인간 PD-1 유전자는 염색체 2q37에 위치하고, 전장의 PD-1 cDNA는 뮤린 PD-1과 60%의 상동성을 가지는 288개의 아미노산 잔기를 포함하는 단백질을 코딩한다. 이는 흉선 발생 동안 CD4- CD8-(이중 음성) 흉선세포 상에 존재하고, 장기간의 항원 노출 후에 성숙한 조혈 세포, 예를 들면, T 및 B 세포, NKT 세포 및 단핵구에서의 활성화시에 발현된다.

[0048] 어느 이론으로도 제한하지 않으면서, 리간드 PD-L1의 PD-1에의 결합은 이펙터 항종양 T 세포 활성을 하향조절하고, 면역 회피를 촉진시키는 것으로 고려된다. 이는 위, 난소, 폐 및 신장 암종을 포함하는 몇몇 종양 유형에서 PD-1/PD-L1 발현과 불량한 예후 사이의 연관성의 발견에 의해 지지된다. PD-1은 흑색종에서 종양 침윤성 T 림프구에 의해 대부분 발현되는 것으로 보고되었다.

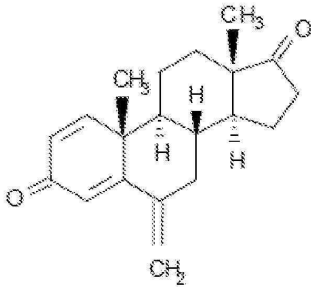
[0049] PD-1-특이적 항체에 의한 PD-1 차단 실험관내 연구는 세포독성 T 세포의 증대가 IFN- γ -분비 항원-특이적 세포의 증가된 빈도를 포함하는 흑색종-특이적 항원에 반응한다는 것을 나타냈다.

[0050] 어느 이론으로도 제한하지 않으면서, PD-1의 표적화는 암에 대한 효과적인 치료 전략으로서 작용할 수 있는 것으로 고려된다.

[0051] 임상적으로 PD-1을 표적화하는 주된 방법은 PD-1 또는 PD-L1 기능을 억제하는 유전적으로 조작된 단일클론 항체의 개발을 통한 것이었다.

- [0052] PD-L1은 또한 B7-1(CD80)에 결합하여, 또한 T 세포 증식 및 사이토킨 생성을 억제하는 상호작용을 하고; 그러나 암에서 PD-L1: PD-1 및 PD-L1: B7-1 경로의 정확한 상대적인 기여는 명확하지 않게 남아 있다. PD-1-표적화제는 현재 두 경로 모두를 억제하는 개발 중에 있다. 그러나, PD-1 및 B7-1에 대한 결합 부위는 인접하지만 겹치지 않으므로, 둘 중 하나를 특이적으로 표적화하는 제제가 잠재적으로 개발될 수 있다.
- [0053] 암 세포는 이들 표면 상의 PD-L1의 높은 발현 수준을 유도하고, 이는 종양 미세환경에 침윤하여 효과적으로 이들 세포를 점멸시키는 임의의 T 세포 상의 억제성 PD-1 수용체의 활성화를 허용한다. 실제로, PD-L1 발현 수준의 상향 조절은 다수의 상이한 암 유형(예를 들면, 흑색종[40%-100%], NSCLC[35%-95%], 및 다발성 골수종[93%])에서 증명되었고, PD-L1 발현의 높은 수준은 불량한 임상 결과와 연결되었다. 추가로, 종양 침윤성 T 세포는 정상 조직에 침윤하는 T 세포보다 유의미하게 높은 수준의 PD-1을 발현하는 것으로 나타났다. 종양 미세환경은 종양 침윤성 T 세포 상의 PD-1의 발현을 상향조절하여 이들이 종양에서 발현된 PD-L1의 높은 수준에 반응할 수 있다는 것을 보장하는 인터페론-감마(IFN γ)를 포함하는 전염증성 사이토킨을 분비할 수 있는 것으로 생각된다.
- [0054] 캄브롤리주맵
- [0055] 캄브롤리주맵은 안정화를 위해 조작된 Fc 영역과 함께 인간 IgG4 면역글로불린 분자에 그래프팅된 고친화성 마우스 항-PD-1 유래 가변 영역으로 구성된 인간화 단일클론 IgG4 항-PD-1 항체이다. 임상전 항종양 활성은 다중 종양 유형의 동물 모델에서 증명되었다. 인간에서 먼저, 제I상 용량-단계상승 연구를 진행성 불응성 악성종양이 있는 환자에서 정맥내 제공된 1, 3 및 10mg/kg의 용량 수준으로, 초기 및 4주 후, 그 다음, 격주로 수행하였다. 최대 관찰된 독성은 2급 소양증이었고, 3급 이상의 약물 관련 유해 사례(AE: adverse event)는 관찰되지 않았다. 따라서, 최대 내량은 도달되지 않았다. 반감기는 13.6-21.7일이었고, 분명하게 관련된 것은 아니다. 환자 4명은 일부 종양 퇴행을 가졌다. 그 다음, 이 연구를 비무작위 코호트에서 격주로 10 mg/kg 또는 매 3주마다 2 또는 10 mg/kg으로 캄브롤리주맵을 제공받은 환자로 확장하였고; 전체로서, 흑색종 환자 135명이 있었다. 등록은 이필리무맵을 선행 제공받았지만 심각한 면역 관련 유해 사례(irAE: immune-related adverse event)를 겪지 않았던 환자 48명을 포함하였다. 환자의 79%가 일부 AE를 가졌지만, 겨우 13%만이 피부 발진 또는 소양증, 피로, 설사, 복통 및 간 기능이상을 포함하는 심각한(3급 또는 4급) 약물 관련 독성을 가졌다. 가장 높은 비율의 심각한 독성(23%)은 더 적은 용량 강도의 코호트에서 <10%에 비해 가장 높은 용량(격주로 10 mg/kg)을 제공받은 것이었다. 잠재적으로 자가면역 성질의 AE는 폐렴, 신부전, 간염, 설사, 갑상선 기능저하증, 갑상선 기능항진증 및 부신 기능부전의 별개의 사례를 포함하였다. 면역 관련 반응 기준을 기반으로 한 전체 객관적 반응 비율(ORR: objective response rate)은 미확인 반응을 겪은 추가 환자 8명과 함께 38%(117 중 44)이었다. 총 77%는 24주 동안 안정한 질환의 환자 8명을 포함하여 어느 정도의 종양 퇴행을 가졌다. 반응의 대부분은 12주에 첫 방사선학 평가의 시간에 확립되었다. 중앙 무진행 생존은 7개월을 초과하였다. 반응하는 종양의 생검은 CD8+ T 세포에 의한 조밀한 침윤을 나타냈다. 선행 이필리무맵 노출은 효능 또는 독성 결과에 분명한 영향을 미치는 것으로 나타나지 않았다.
- [0056] MPDL3280A
- [0057] MPDL3280A는 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC)을 최소화함으로써 효능 및 안전성을 최적화하도록 설계된 조작된 결정화 가능한 절편(Fc) 도메인을 함유하는 인간 항-PD-L1 mAb이다. 어느 특정한 이론으로도 제한하지 않으면서, 이러한 구조는 효과적인 항종양 면역 반응에 필요한 활성화된 T 세포의 ADCC 매개된 감소는 최소화하면서 PD-1/PD-L1 상호작용의 억제를 허용하는 것으로 이해된다.
- [0058] MPDL3280A는 국소 진행성 또는 전이성 고형 종양을 갖는 환자에서 제I상 시험에서 평가하였다. 총 175명의 환자를 이제까지 모집하였다. 항체를 중앙 기간 127일 동안 1, 3, 10, 15, 및 20 mg/kg의 단계상승 용량에서 단일 제제로서 투여하였다. 2개의 확장 코호트의 결과가 또한 보고되었고; 편평 또는 비편평 NSCLC를 갖는 환자 85명의 코호트(이 중 53명이 효능에 대하여 평가 가능하였다) 및 전이성 흑색종 환자 45명의 코호트(이 중 35명이 효능에 대하여 평가 가능하였다). 두 코호트에서 MPDL3280A 1, 10, 15, 및 25 mg/kg 용량을 1년까지 매 3주마다 투여하였다. MPDL3280A는 지속성 있는 반응을 입증하였고 잘 견뎌졌고; 효능 데이터는 표 1에 요약된다. NSCLC 코호트에서 환자 85명 중, 55%는 적어도 3개의 선행 요법으로 심하게 사전 치료되었고, 81%는 흡연자 또는 흡연 경험자이고, 19%는 흡연 미경험자였다. 24주 PFS 비율은 편평 세포 NSCLC에서 44%이고, 비편평 세포 NSCLC에서 46%이었다.
- [0059] 엑스메스탄

[0060] 엑스메스탄은 유방암을 치료하는데 사용되는 약물이다. 이는 아로마타제 억제제로 알려진 약물 클래스의 구성원이다. 몇몇 유방암은 성장하기 위하여 호르몬을 필요로 한다. 호르몬 수용체-양성 유방암으로 알려진 이러한 암은 에스트로겐 수용체(ER: estrogen receptor) 또는 프로게스테론 수용체(PR: progesterone receptor)를 발현하고, 따라서 ER-양성 또는 PR-양성 유방암으로 지칭된다. 폐경전 여성에서 에스트로겐의 주요 공급원은 난소인 반면, 폐경후 여성에서 대부분의 신체 에스트로겐은 말초 조직에서, 예를 들면, 지방 유방 조직 및 뇌에서 아로마타제 효소에 의한 안드로겐의 에스트로겐으로의 전환을 통해 생성된다. 엑스메스탄은 ER-양성 유방암에서 폐경후 여성에서 수술 또는 방사선에 추가로 사용되는 아로마타제 억제제이다. 엑스메스탄은 구조적으로 천연 기질 안드로스테네디온과 관련된 비가역성, 경구 스테로이드성 아로마타제 비활성화제이다. 이는 아로마타제 효소에 대한 효소에 대한 가짜 기질로서 작용하고, 아로마타제 활성 부위에 비가역적으로 결합하여 자살 억제에 의해 아로마타제를 차단하는 중간체로 가공된다.



[0061]
[0062] 엑스메스탄의 화학 구조

[0063] 엑스메스탄은 타목시펜을 2 내지 3년 제공받은 ER-양성 초기 유방암을 가진 폐경후 여성의 보조 치료에 사용된다. 피험체는 보조 호르몬 요법의 총 5년 연속의 완료를 위하여 이로 전환된다. 엑스메스탄은 또한 질환이 타목시펜 요법 후 진행된 폐경후 여성에서 진행성 유방암의 치료에 사용된다. 보조 요법 2 내지 3년 동안 일당 25 mg의 경구 엑스메스탄은 일반적으로 초기 ER-양성 또는 미확인 수용체 상태 유방암을 가진 폐경후 여성의 치료에서 연속 보조 타목시펜의 5년보다 더 효과적이었다. 일당 25 mg의 엑스메스탄은 또한 폐경후 여성에서 초기 유방암의 일차 보조 설정에 효과적이다.

[0064] 폐암

[0065] 폐암은 미국 및 세계 전역, 둘 모두에서 여성 및 남성에서의 암 사망의 주된 원인이다. 폐암이 여성에서의 암 사망의 주된 원인으로서 유방암을 능가하였다. 2014년 미국에서, 158,040명의 인간이 폐암으로 인해 사망한 것으로 추정되었으며, 이는 결장암 및 직장암, 유방암, 및 전립선암에 기인한 사망수를 조합한 것보다 크다. 비록 가장 초기 단계에서 진단을 받은 폐암의 경우에는 생존율이 더 높고, 여기서, 약 49%가 5년 이상 생존하기는 하지만, 다른 신체 부위로 확산된 폐암 진단을 받은 인간 중 단 2%만이 진단 후 5년 후 살아 있다.

[0066] 제어 없이 정상 세포가 성장 및 증식하도록 유발하는 형질전환을 거치게 되었을 때, 암이 발생하게 된다. 세포는 발생 기점이 된 주변 조직과는 다른 종괴 또는 종양을 형성한다. 종양은 건강한 세포로부터 산소, 영양소 및 공간을 취하기 때문에 및 종양은 정상 조직에 침입하고, 작용할 수 있는 정상 조직의 능력을 파괴 또는 감소시키기 때문에 위험한 것이다.

[0067] 대부분의 폐 종양은 악성이다. 이는 그 주변의 건강한 조직에 침입하여 그를 파괴시키고, 신체 전역으로 확산될 수 있다는 것을 의미한다. 종양은 가까운 림프절로 또는 혈류를 통해 다른 기관으로 확산될 수 있다. 상기 과정이 전이로 불린다. 폐암이 전이되었을 때, 폐에 있는 종양은 원발성 종양으로 불리고, 다른 신체 부위에 있는 종양은 속발성 종양 또는 전이성 종양으로 불린다.

[0068] 폐에 있는 일부 종양은 신체 어디에 있던 암으로부터 전이된 것이다. 폐가 전이에 대한 공통된 부위이다. 상기 사례의 경우, 암은 폐암인 것으로 간주되지 않는다. 예를 들면, 전립선암이 혈류를 통해 폐로 확산되었다면, 이는 폐에 있는 전이성 전립선암(속발성 암)이지, 폐암이라고 불리는 것은 아니다.

[0069] 폐암은 상이한 유형의 종양 군을 포함한다. 보통 폐암은 모든 사례의 약 95%를 차지하는 2개의 주요 군으로 분류된다. 군 분류는 암을 구성하는 세포 유형에 기초한다. 폐암의 두 주요 유형은 현미경으로 관찰하였을 때, 종양의 세포 크기에 의해 특징화된다. 이는 소세포 폐암(SCLC: small cell lung cancer) 및 비소세포 폐암(NSCLC: non-small cell lung cancer)으로 불린다. NSCLC는 여러 하위유형의 종양을 포함한다. SCLC는 덜 일반

적이지만, NSCLC보다 더욱 빠르게 성장하고, 전이 가능성이 더 크다. 대개, SCLC는 암 진단시 이미 신체 다른 부위로 확산된 상태이다. 폐암 중 약 5%는 카르시노이드 종양, 림프종, 및 다른 것을 포함하여, 희귀 세포 유형의 것이다. 본원에서 사용되는 바, "폐암"이라는 용어는 SCLC, NSCLC, 카르시노이드 종양, 림프종, 및 이의 각종 하위유형을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0070] 골수 유래 억제 세포는 폐암에서 몇몇 중요한 기능을 갖는다. 임상전, 마우스 모델은 골수 유래 억제 세포 및 폐 종양이 질환 개시 및 진행의 과정에서 공진화한다는 것을 증명한다. 임상 NSCLC에서, 순환 골수 유래 억제 세포의 수는 전체 생존과 역 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. M-MDSC는 반응성 산소 종을 생성하고, T 세포 증식을 억제하고, 인터페론- γ (IFN- γ)를 분비하는 것으로 나타났다. 순환 골수 유래 억제 세포의 상승된 수준 및 이들의 활성화는 치료적 반응과 역 상관관계를 갖고, NSCLC에서 재발과 양성 상관관계를 갖는다.

[0071] 비소세포 폐암

[0072] NSCLC는 소세포 암종(귀리 세포 암종) 유형의 것이 아닌, 폐암이다. "비소세포 폐암"이라는 용어는 각종 유형의 기관지원성 암종(기관지 내벽으로부터 발생한 것)에 적용된다. 구체적인 NSCLC 유형의 예로는 비편평 세포 암종, 예를 들면, 선암종, 대세포암(즉, 대세포 미분화 암종), 및 편평 세포 암종을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0073] 선암종은 기관의 내벽 또는 내부 표면에서 발생한 암이다. 선암종은 가장 일반적인 유형의 폐암이며, 이는 모든 폐암 사례의 30%-40%를 차지한다. 선암종의 하위유형은 기관지폐포 세포 암종으로 불리는데, 이는 흉부 X선 상에서 폐렴과 유사한 외관을 생성한다.

[0074] 편평 세포 암종은 편평 세포에서 시작되는 암이다. 편평 세포는 현미경 관찰시 생선의 비늘처럼 보이는, 얇고, 편평한 세포이다. 편평 세포는 피부의 표면, 신체의 중공 기관의 내벽, 및 기도 및 소화관의 통로를 형성하는 조직 내에서 발견된다. 편평 세포 암종은 상기 조직들 중 임의의 것에서 발생할 수 있다. 편평 세포 암종은 두 번째 가장 흔한 유형의 폐암으로, 이는 모든 사례의 약 30%를 차지한다.

[0075] 대세포 암종은 어떤 편평 또는 선상 성숙화 증거도 나타내지 않는다. 따라서, 상기 종양은 대개, 모든 다른 가능성이 배제되었을 때, 디폴트에 의해 진단된다. 상기 종양은 생검 이전에 이의 진단을 제안할 수 있는 어떤 진단학적 특징도 없다. 이는 빠르게 성장하고, 조기에 전이되며, 흡연과 강력한 연관성을 가지고 있다. 대세포 종양은 광범위한 출혈과 괴사를 동반한, 보통은 크고, 벌키하며, 우수한 국한성을 띠고, 분홍 회색을 띠는 종괴이다. 이는 보편적으로는 중심부에 괴사를 보이지만, 공동을 형성하는 경우는 드물다. 이는 중앙부에서 폐 영역 주변 사이에 존재하는 경향이 있다. 이는 국소적으로 확장되어 분절 또는 세분절 기관지를 침범할 수 있다. 대세포 암종의 이형은 거대 세포 암종이다. 상기 하위유형은 특히 공격적이고, 매우 불량한 예후를 수반한다. 이들 종양은 일반적으로 초점 괴사성 성분을 포함하는 큰 주변 종괴로서 존재한다. 이는 직접적으로 확장되지 않는다면, 대기도는 포함하지 않는다. 대세포암은 모든 폐암 사례의 10%-20%를 차지한다.

[0076] 흑색종

[0077] 흑색종은, 멜라닌 색소를 제조하고, 신경능으로부터 유래되는 세포인 멜라닌 세포의 악성 종양이다. 비록 대부분의 흑색종이 피부에서 발생하기는 하지만, 이는 또한 점막 표면으로부터, 또는 포도막계를 포함하여, 신경능 세포의 이동 지점이 다른 부위에서 발생할 수 있다. 포도막 흑색종은 발병률, 예후 인자, 분자적 특징, 및 치료에 있어서 피부 흑색종과는 현저히 다르다.

[0078] 2014년 미국에서 9,710명의 인간이 흑색종으로 사망한 것으로 추정되었고, 신규 사례 건수는 76,100건인 것으로 추산되었다. 피부암은 미국에서 진단되는 것 중 가장 흔한 악성 종양이며, 매년 200만 명의 인간들이 350만 건의 암 진단을 받는다. 흑색종은 피부암 중 5% 미만을 나타내지만, 대부분 사망에 이르게 한다. 발병률은 지난 40여 년에 걸쳐 계속 증가하고 있다. 노령의 남성인 경우, 위험이 가장 높지만; 그러나, 흑색종은 25세부터 29세까지의 젊은 성인에서는 가장 흔한 암이며, 15세부터 29세까지의 젊은 성인에서는 두 번째로 가장 흔한 암이다. 안구 흑색종은 눈의 가장 흔한 암으로, 매년 약 2,000여 건의 사례가 진단되고 있다.

[0079] 흑색종은 주로 성인에서 발생하고, 상기 사례 중 50% 초과는 외관상 정상적인 피부 부위에서 발생한다. 비록 흑색종이, 점막 표면 및 포도막 상을 포함하여, 어디에서든 발생할 수는 있지만, 여성에서의 흑색종은 사지 상에서 더 흔하게 발생하고, 남성에서는 몸통 또는 두부경부 상에서 가장 흔하게 발생한다.

[0080] 예후는 원발성 및 전이성 종양의 특징에 의해 영향을 받는다. 가장 중요한 예후 인자로는 하기: 흑색종의 침윤 두께 및/또는 수준, 밀리미터당 유사분열 수로 정의되는 유사분열 지수, 원발 부위에서의 궤양화 또는 출혈, 국

소 림프절 침범수, 거대 전이와 미세 전이의 차이, 전신 전이, 부위-비내장 대 폐 대 모든 다른 내장 부위, 상승된 혈청 락테이트 데하이드로게나제 수준을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 어느 이론으로도 제한하지 않으면서, 종양 침윤 림프구의 존재가 강력한 예후 인자일 수 있다고 고려된다.

[0081] 골수 유래 억제 세포는 흑색종에서 몇몇 중요한 임상적 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 임상에서, 순환 M-MDSC 및 PMN-MDSC의 수준은 악성 흑색종에서의 질환 부담과 양성 상관관계를 갖는다. 후기 흑색종(3-4기) 환자는 더 높은 수준의 순환 M-MDSC를 갖는다. M-MDSC의 순환 수준은 진행성 흑색종에서의 전체 생존과 역 상관관계를 갖는다. M-MDSC의 순환 수준은 추가로 진행성 흑색종 환자에서의 활성화된 항원-특이적 T 림프구의 감소된 수준과 역 상관관계를 갖는다. M-MDSC 및 PMN-MDSC의 감소된 활성화는 이필루미맵으로 치료된 흑색종 환자에서의 개선된 치료적 반응과 양성 상관관계를 갖는다. 이필루미맵 치료는 또한 순환 PMN-MDSC의 수준을 감소시키는 것으로 나타났다.

[0082] 유방암

[0083] 유방암은 유방 조직으로부터 발달하는 암이다. 유방암의 징후는 유방에서의 응어리, 유방 모양의 변화, 피부의 오목 형성, 유두로부터 나오는 유액, 또는 피부의 붉은 비늘모양 패치를 포함할 수 있다. 질환이 멀리 확산된 것들에 있어서, 뼈 통증, 팽창된 림프절, 호흡 곤란, 또는 황달이 있을 수 있다. 유방암에 대한 결과는 암 유형, 질환의 정도, 및 피험체 연령에 따라 다양하다. 세계적으로, 유방암은 여성의 주요 암 유형이고, 모든 건의 25%를 차지한다. 2012년에 168만 건 및 522,000명의 사망을 야기하였다. 이는 선진국에서 더 흔하고, 남성보다 여성에서 100배 더 흔하다. 유방암은 몇몇 등급 시스템으로 분류된다. 각각의 이들 시스템은 예후에 영향을 줄 수 있고 치료에 영향을 미칠 수 있다. 유방암은 일반적으로 이의 조직학적 외양에 의해 먼저 분류된다. 대부분의 유방암은 도관 또는 소엽의 상피 내층으로부터 유래되고, 이들 암은 도관 또는 소엽 암종으로 분류된다. 상피내 암종은 주변 조직의 침윤 없이 유관과 같은 특정한 조직 구획 내의 저급 암 또는 전암 세포의 성장이다. 대조적으로, 침윤성 암종은 그 자신을 초기 조직 구획에 국한시키지 않는다.

[0084] TNM 시스템을 사용하는 유방암 단계는 종양의 크기(T), 종양이 인접한 림프절에 확산되었는지 여부(N), 및 신체 의 원거리 부분에 종양이 전이되었는지 여부(M)를 기초로 한다. 큰 크기, 절 확산, 및 전이는 더 큰 기수 및 더 나쁜 예후를 갖는다. 주요 단계는 0기, 1-3기, 및 4기이다. 0기는 전암 또는 마커 상태, 도관 상피내 암종(DCIS: ductal carcinoma in situ) 또는 소엽 상피내 암종(LCIS; lobular carcinoma in situ)이다. 1-3기는 유방 또는 부위 림프절 내에 있다. 4기는 덜 선호되는 예후를 갖는 전이성 암이다.

[0085] 유방암 세포는 이들의 표면 위에, 그리고 이들의 세포질 및 핵 내에 수용체를 갖는다. 호르몬으로서 화학 메신저는 수용체에 결합하고, 이는 세포에서 변화를 유발한다. 유방암 세포는 세가지 중요한 수용체: 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR), 및 HER2를 갖거나 갖지 않을 수 있다. 이는 호르몬 수용체-양성 유방암 또는 ER-/PR-양성 유방암, HER2-양성 유방암, 및 ER, PR, 및 HER2에 음성인 삼중 음성 유방암으로의 유방암의 구분을 야기한다.

[0086] 골수 유래 억제 세포는 유방암에서 몇몇 중요한 임상적 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 유방암의 임상전 모델에서, 골수 유래 억제 세포 수준은 종양 크기와 양성 상관관계를 갖고, T 세포와 역 상관관계를 갖는다. 임상에서, 순환 골수 유래 억제 세포의 기준선 수준은 전이성 유방암에서의 질환 부담, 전이성 확산, 및 감소된 생존과 상관관계가 있다. 순환 골수 유래 억제 세포의 기준선 수준은 HER2-음성 유방암에서 보조 화학요법에 반응하는 상관관계를 나타냈고, 증가된 수준은 화학요법에 대한 더 불량한 반응을 지시한다.

[0087] 호르몬 수용체-양성 유방암

[0088] 호르몬, 예를 들면, 에스트로겐 및 프로게스테론은 호르몬 수용체-양성인 암의 성장을 촉진한다. 이들이 호르몬 에스트로겐(ER-양성 유방암) 또는 프로게스테론(PR-양성 유방암)에 대한 수용체를 함유하기 때문에 유방암의 약 3분의 2는 호르몬 수용체-양성이다. 이들 유방암은 성장을 위하여 호르몬에 의지하기 때문에, 요법은 에스트로겐 수준을 낮추거나 에스트로겐 활성 유방암 세포를 중단시키도록 설계되었다.

[0089] 에스트로겐 활성을 중단시키는 요법의 비제한적인 예는 타목시펜, 토레미펜, 및 풀베스트란트를 포함한다. 타목시펜은 유방암 세포에서 에스트로겐 수용체에의 에스트로겐의 결합을 차단한다. 타목시펜은 유방 세포에서 항-에스트로겐처럼 작용하는 반면, 이는 자궁 및 뼈와 같은 다른 조직에서 에스트로겐처럼 기능한다. 이는 일부 조직에서는 에스트로겐처럼 작용하지만 다른 곳에서는 항-에스트로겐처럼 작용하기 때문에, 이는 선택성 에스트로겐 수용체 조절제(SERM: selective estrogen receptor modulator)로 지칭된다. 토레미펜은 전이성 유방암을 치료하는데 승인된 또 다른 SERM이다. 풀베스트란트는 에스트로겐 수용체를 먼저 차단하고 이의 분해를 촉발하는

약물이다. 폴베스트란트는 신체 전체에서 항-에스트로겐처럼 작용하기 때문에 SERM이 아니다. 폴베스트란트는 다른 호르몬 요법, 예를 들면, 타목시펜이 작용을 중단한 후, 전이성 유방암을 치료하는데 사용된다.

[0090] 아로마타제 억제제(AI: Aromatase inhibitor)는 폐경후 여성에서 에스트로겐 생성을 차단하도록 기능한다. 아로마타제 억제제는 아로마타제를 차단함으로써 작동하고, 이는 지방 조직 및 뇌에 의해 생성된 안드로겐을 전환한다. 아로마타제 억제제의 비제한적인 예는 레트로졸, 아나스트로졸, 및 엑스메스탄을 포함한다.

[0091] 삼중 음성 유방암

[0092] 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR), 또는 HER-2 유전자를 발현하지 않는 종양을 특징으로 하는 삼중 음성 유방암은 이들 암이 내분비 요법 또는 다른 이용 가능한 표적화된 제제에 반응하지 않기 때문에 중요한 임상적 도전을 나타낸다. 삼중 음성 유방암에서 전이 가능성은 다른 유방암 하위유형의 것과 유사하지만, 이들 종양은 재발 및 사망까지의 더 짧은 중앙 시간과 관련이 있다. 하나의 중요한 목표는 따라서 특이적 제제에 대한 상이한 반응성을 갖는 하위유형의 상이한 치료 접근법에 대하여 삼중 음성 질환을 갖는 환자의 높고 낮은 위험의 하위세트를 신뢰할 수 있게 선별하는 예후 인자 및 마커의 확인이다. 그러나, 신뢰할 수 있는 예후 마커는 찾기 힘들었고, 마커는 일관성 없게 유용하였다. 예를 들면, 표피 성장 인자 수용체(EGFR: epidermal growth factor receptor)가 연구되었지만, 예후와 관련하여 EGFR 발현에 대한 표준 검정 또는 컷오프에 대한 합의의 부족이 여전히 존재한다. 유사하게, 삼중 음성 상태는 때때로 기저형 유방암에 대한 대리로서 사용되기 때문에, 특이적인 기저 마커가 탐사되었다. 사실, ER/PR 및 HER-2를 음성적으로 사용하는 기저형 유방암 환자에 누적하도록 설계된 시험은 단지 삼중 음성 집단의 근사치만을 제공할 수 있고, 때때로 다시 부조화에 의해 손상된, CK 5/6, EGFR 상태 등과 같은 더 특이적인 지표를 사용하여 재분석된다.

[0093] 화학요법은 삼중 음성 유방암의 치료의 주축으로 남아 있지만, 임의의 유의미한 임상 진전이 만들어지는 경우, 다음 수년 간 중요한 제한이 여전히 극복될 필요성이 있다. 삼중 음성 질환을 위한 현재 치료 전략은 안트라시클린, 타산, 이삭비필론, 플래티넘 제제, 및 생물학적 제제를 포함한다. 더 최근에, EGFR 억제제는 다시 혼합된 결과와 함께 삼중 음성 유방암에서 치료 기전으로서 제한되었다. 폴리(ADP-리보스) 폴리머라제 및 안드로겐 수용체를 표적화하는 제제는 또한 이들 환자 또는 이들의 하위세트에서 제안되었고, 진행 중인 시험은 삼중 음성 질환에서 이들 제제의 가치에 관한 최종 지침을 야기하여야 한다. 삼중 음성 유방암은 ER 및 HER-2 발현 둘에 관련하여는 명백하게 구별되는 임상적 하위유형이지만, 추가의 하위분류가 필요하다. 현재는, 삼중 음성 유방암에서 취약성의 정의를 표적으로 하는 명백한 입증된 효과적인 단일 제제가 존재하지 않는다.

[0094] 삼중 음성 유방암의 다양한 하위유형은 기저형 TNBC(기저형 1 및 2(BL-1, BL-2), 면역조절(IM)) 및 중간엽 줄기형 삼중 음성 유방암(MSL), 및 루미날 안드로겐 수용체(LAR) 하위유형을 포함한다.

[0095] PD-L1은 신세포 암종, 췌장암, 난소암, 위암, 식도암, 및 간세포 암종을 포함하는 많은 암에서 발현된다. 연구는 50%(유방암 연구에서 평가된 종양 44개 중 22개)의 PD-L1의 발현을 확인하였다. 이는 15개(34%)로 종양 상피로 제한되는 반면, 18개(41%)로 종양 침윤성 림프구에서 확인되었다. 추가로, PD-L1의 종양내 발현은 높은 조직학 등급 및 음성 호르몬 수용체 상태와 연관이 있는 것으로 밝혀졌다. 선행 연구와 일치하게, 별개의 연구에서 또한 TNBC 종양의 약 20%가 PD-L1을 발현하였다. 이들 TNBC 종양의 대부분(95%)은 3급이었다.

[0096] 어느 특정한 이론으로도 제한하지 않으면서, 종양이 PD-L1 발현을 유도할 수 있는 가능한 기전은 진행 중인 신호전달 경로에 의한 것이라고 가정한다. 이는 PTEN 손실이 증가된 PD-L1 발현과 연관되었다는 것이 관찰된 교아 세포종에서 먼저 입증되었고, 이는 PI3K 경로의 관여를 제시한다. PTEN 손실이 TNBC에서 흔히 나타나지 때문에, 연구는 PTEN과 PD-L1 발현 사이의 관계를 조사하였다. TNBC 종양의 약 50%는 유방암 조직 마이크로어레이에 포함되었고, 여기서 >5% PD-L1 발현이 존재하였고, PTEN 염색의 손실이 관찰되었다. 유사하게, TNBC 세포주의 패널에서 PTEN 손실이 있는 두 예시적인 세포주, MDA-MB-468 및 BT-549는 높은 세포 표면 PD-L1 발현을 가졌다는 것이 밝혀졌다. 함께, 이들 데이터는 TNBC에서 PD-L1 조절의 다중 기전이 존재할 수 있는 가능성을 제시하였다.

[0097] 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 방법

[0098] 특정한 실시양태에서, 본 개시내용의 방법은 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포를 측정하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법의 암으로 진단된 환자에게의 투여를 결정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 내지 1:4인 경우, 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 단계를 추가로 포함한다.

[0099] 특정한 실시양태에서, 본 개시내용의 방법은 CD14-양성 및 HLA-DR-(1α/음성) 세포를 측정하거나, CD14-양성 세포를 측정하거나, 말초 혈액 단핵 세포를 측정하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법의 암으로

진단된 환자에게의 투여를 결정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 CD14-양성 및 HLA-DR-(1o/음성) 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비가 1:200 및 1:1인 경우, 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 CD14-양성 및 HLA-DR-(1o/음성) 세포 대 CD14-양성 세포의 비가 1:100 내지 99:1인 경우, 조합 요법을 위하여 환자를 선별하는 단계를 추가로 포함한다.

[0100] 제2 치료제의 비제한적인 예는 항-PD-1 항체, 예를 들면, 니볼루맙 및 펌브롤리주맙; 항-PD-L1 항체, 예를 들면, MPDL3280A; 및 엑스메스탄을 포함한다. 암의 비제한적인 예는 유방암, 예를 들면, 호르몬 수용체-양성 유방암 및 삼중 음성 유방암; 폐암, 예를 들면, 비소세포 폐암, 편평 세포 암종, 및 대세포 암종; 및 흑색종, 예를 들면, 전이성 흑색종을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 MPDL3280A이고, 암은 유방암이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 MPDL3280A이고, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 엑스메스탄이고, 암은 유방암이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 엑스메스탄이고, 유방암은 호르몬 수용체-양성 유방암이다.

[0101] 일부 실시양태에서, 엔티노스타트 및 엑스메스탄은 경구 투여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 경구 투여되고, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체는 주입에 의해 투여된다. 주입의 비제한적인 예는 피하 주입, 정맥내 주입, 복강내 주입, 및 삼투 펌프에 의한 주입을 포함한다.

[0102] 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 조합 요법에서 먼저 투여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 매주 투여된다. 일부 실시양태에서, 엔티노스타트는 격주로 투여된다.

[0103] 엔티노스타트, 엑스메스탄, 항-PD-1 항체, 또는 항-PD-L1 항체는 약 매 1일마다, 약 매 2일마다, 약 매 3일마다, 약 매 4일마다, 약 매 5일마다, 약 매 6일마다, 약 매주, 약 격주로, 약 매 3주마다, 약 매 4주마다, 약 매 1개월마다, 약 매 5주마다, 약 매 6주마다, 약 매 7주마다, 약 매 8주마다, 또는 약 매 2개월마다 투여될 수 있다. 엔티노스타트, 엑스메스탄, 항-PD-1 항체, 또는 항-PD-L1 항체는 약 매 1일 내지 약 매 2일마다, 약 매 2일 내지 약 매 3일마다, 약 매 3일 내지 약 매 4일마다, 약 매 4일 내지 약 매 5일마다, 약 매 5일 내지 약 매 6일마다, 약 매 6일 내지 약 매 1주, 약 매 1주 내지 약 격주로, 약 매 2주 내지 약 매 3주마다, 약 매 3주 내지 약 매 4주마다, 약 매 4주 내지 약 매 1개월마다, 약 매 1개월 내지 약 매 5주마다, 약 매 5주 내지 약 매 6주마다, 약 매 6주 내지 약 매 7주마다, 약 매 7주 내지 약 매 8주마다, 또는 약 매 8주 내지 약 매 2개월마다 투여될 수 있다.

[0104] 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포는 순환되고, 말초 혈액 샘플을 수득함으로써 말초 혈액에서 각각 측정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1o/음성) 세포, CD14-양성 세포, 및 말초 혈액 단핵 세포는 순환되고, 말초 혈액 샘플을 수득함으로써 말초 혈액에서 각각 측정된다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플은 항응고제로 처리된다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플은 항응고제 함유 용기에 수집되거나 이로 옮겨진다. 항응고제의 비제한적인 예는 헤파린, 나트륨 헤파린, 옥살산칼륨, EDTA, 및 시트르산 나트륨을 포함한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플은 적혈구 용해제로 처리된다. 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포는 조직 생검 중에서 측정된다.

[0105] 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 말초 혈액 샘플에서 측정하고, 말초 혈액 단핵 세포에 대한 골수 유래 억제 세포의 백분율을 측정한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 골수 유래 억제 세포를 제1 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 말초 혈액 단핵 세포를 제2 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 중의 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체에 대한 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체의 백분율을 측정한다.

[0106] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 말초 혈액 단핵 세포에 대한 골수 유래 억제 세포의 백분율, 또는 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 백분율을 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다.

[0107] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 골수 유래 억제 또는 말초 혈액 단핵 세포의 백분율, 또는 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 백분율은 적어도 약 0.1%, 적어도 약 0.2%, 적어도 약 0.3%, 적어도 약 0.4%, 적어도 약 0.5%, 적어도 약 0.6%, 적어도 약 0.7%, 적어도 약 0.8%, 적어도 약 0.9%, 적어도 약 1%, 적어도 약 1.1%, 적어도 약 1.2%, 적어도 약 1.3%, 적어도 약 1.4%, 적어도 약 1.5%, 적어도 약 1.6%, 적어도 약 1.7%, 적어도 약 1.8%, 적어도 약 1.9%, 적어도 약 2%, 적

어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 11%, 적어도 약 12%, 적어도 약 13%, 적어도 약 14%, 적어도 약 15%, 적어도 약 16%, 적어도 약 17%, 적어도 약 18%, 적어도 약 19%, 적어도 약 20%, 적어도 약 21%, 적어도 약 22%, 적어도 약 23%, 적어도 약 24%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 또는 적어도 약 50%이다.

[0108] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 골수 유래 억제 세포에서 말초 혈액 단핵 세포에 대한 골수 유래 억제 세포의 백분율, 또는 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 백분율은 약 0.1% 내지 약 0.2%, 약 0.2% 내지 약 0.3%, 약 0.3% 내지 약 0.4%, 약 0.4% 내지 약 0.5%, 약 0.5% 내지 약 0.6%, 약 0.6% 내지 약 0.7%, 약 0.7% 내지 약 0.8%, 약 0.8% 내지 약 0.9%, 약 0.9% 내지 약 1%, 약 1% 내지 약 1.1%, 약 1.1% 내지 약 1.2%, 약 1.2% 내지 약 1.3%, 약 1.4% 내지 약 1.5%, 약 1.5% 내지 약 1.6%, 약 1.6% 내지 약 1.7%, 약 1.7% 내지 약 1.8%, 약 1.8% 내지 약 1.9%, 약 1.9% 내지 약 2%, 약 2% 내지 약 3%, 약 3% 내지 약 4%, 약 4% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 6%, 약 6% 내지 약 7%, 약 7% 내지 약 8%, 약 8% 내지 약 9%, 약 9% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 11%, 약 11% 내지 약 12%, 약 12% 내지 약 13%, 약 13% 내지 약 14%, 약 14% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 16%, 약 16% 내지 약 17%, 약 17% 내지 약 18%, 약 18% 내지 약 19%, 약 19% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 21%, 약 21% 내지 약 22%, 약 22% 내지 약 23%, 약 23% 내지 약 24%, 약 24% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 35%, 약 35% 내지 약 40%, 약 40% 내지 약 45%, 또는 약 45% 내지 약 50%이다.

[0109] 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 말초 혈액 샘플에서 측정하고, 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비를 측정한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 골수 유래 억제 세포를 제1 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플로부터의 하나 이상의 말초 혈액 단핵 세포를 제2 결합제와 접촉시켜, 하나 이상의 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체를 생성한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 중의 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 대 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비를 측정한다. 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비, 또는 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비를 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다.

[0110] 일부 실시양태에서, 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비를 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다.

[0111] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 말초 혈액 단핵 세포에 대한 골수 유래 억제 세포의 비, 또는 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비는 1:10000, 1:5000, 1:4000, 1:3000, 1:2000, 1:1000, 1:500, 1:400, 1:300, 1:250, 1:200, 1:150, 1:100, 1:90, 1:80, 1:70, 1:60, 1:50, 1:49, 1:48, 1:47, 1:46, 1:45, 1:44, 1:43, 1:42, 1:41, 1:40, 1:39, 1:38, 1:37, 1:36, 1:35, 1:34, 1:33, 1:32, 1:31, 1:30, 1:29, 1:28, 1:27, 1:26, 1:25, 1:24, 1:23, 1:22, 1:21, 1:20, 1:19, 1:18, 1:17, 1:16, 1:15, 1:14, 1:13, 1:12, 1:11, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 또는 1:1이다.

[0112] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 말초 혈액 단핵 세포에 대한 골수 유래 억제 세포의 비, 또는 제1 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체 및 제2 결합제-말초 혈액 단핵 세포 복합체의 비는 1:10000 내지 1:5000, 1:5000 내지 1:4000, 1:4000 내지 1:3000, 1:3000 내지 1:2000, 1:2000 내지 1:1000, 1:1000 내지 1:500, 1:500 내지 1:400, 1:400 내지 1:300, 1:300 내지 1:200, 1:200 내지 1:100, 1:100 내지 1:90, 1:90 내지 1:80, 1:80 내지 1:70, 1:70 내지 1:60, 1:60 내지 1:50, 1:50 내지 1:49, 1:49 내지 1:48, 1:48 내지 1:47, 1:47 내지 1:46, 1:46 내지 1:45, 1:45 내지 1:44, 1:44 내지 1:43, 1:43 내지 1:42, 1:42 내지 1:41, 1:41 내지 1:40, 1:40 내지 1:39, 1:39 내지 1:38, 1:38 내지 1:37, 1:37 내지 1:36, 1:36 내지 1:35, 1:35 내지 1:34, 1:34 내지 1:33, 1:33 내지 1:32, 1:32 내지 1:31, 1:31 내지 1:30, 1:30 내지 1:29, 1:29 내지 1:28, 1:28 내지 1:27, 1:27 내지 1:26, 1:26 내지 1:25, 1:25 내지 1:24, 1:24 내지 1:23, 1:23 내지 1:22, 1:22 내지 1:21, 1:21 내지 1:20, 1:20 내지 1:19, 1:19 내지 1:18, 1:18 내지 1:17, 1:17 내지 1:16, 1:16 내지 1:15, 1:15 내지 1:14, 1:14 내지 1:13, 1:13 내지 1:12, 1:12 내지 1:11, 1:11 내지 1:10, 1:10 내지 1:9, 1:9 내지 1:8, 1:8 내지 1:7, 1:7 내지 1:6, 1:6 내지 1:5, 1:5 내지 1:4, 1:4 내지 1:3, 1:3 내지 1:2, 또는 1:2 내지 1:1이다.

- [0113] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 골수 유래 억제 세포의 수를 측정한다. 단위 부피의 비제한적인 예는 피코리터(pL), 나노리터(nL), 마이크로리터(μ L), 밀리리터(mL), 데시리터(dL), 및 리터(L)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플로부터의 골수 유래 억제 세포의 수를 결합제와 접촉시켜 단위 부피당 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체의 수를 생성한다. 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 골수 유래 억제 세포 또는 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체의 수를 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다. 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플이다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 골수 유래 억제 세포 또는 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체는 단위 부피당 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 약 100, 약 150, 약 200, 약 250, 약 300, 약 350, 약 400, 약 450, 약 500, 약 600, 약 700, 약 800, 약 900, 약 1000, 약 1500, 약 2000, 약 2500, 약 3000, 약 3500, 약 4000, 약 4500, 약 5000, 약 6000, 약 7000, 약 8000, 약 9000, 약 10000, 약 15000, 약 20000, 약 25000, 약 30000, 약 35000, 약 40000, 약 45000, 약 50000, 약 60000, 약 70000, 약 80000, 약 90000, 또는 약 100000이다.
- [0115] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 골수 유래 억제 세포 또는 결합제-골수 유래 억제 세포 복합체는 단위 부피당 약 1 내지 약 2, 약 2 내지 약 3, 약 3 내지 약 4, 약 4 내지 약 5, 약 5 내지 약 6, 약 6 내지 약 7, 약 7 내지 약 8, 약 8 내지 약 9, 약 9 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 60, 약 60 내지 약 70, 약 70 내지 약 80, 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 150, 약 150 내지 약 200, 약 200 내지 약 250, 약 250 내지 약 300, 약 300 내지 약 350, 약 350 내지 약 400, 약 400 내지 약 450, 약 450 내지 약 500, 약 500 내지 약 600, 약 600 내지 약 700, 약 700 내지 약 800, 약 800 내지 약 900, 약 900 내지 약 1000, 약 1000 내지 약 1500, 약 1500 내지 약 2000, 약 2000 내지 약 2500, 약 2500 내지 약 3000, 약 3000 내지 약 3500, 약 3500 내지 약 4000, 약 4000 내지 약 4500, 약 4500 내지 약 5000, 약 5000 내지 약 6000, 약 6000 내지 약 7000, 약 7000 내지 약 8000, 약 8000 내지 약 9000, 약 9000 내지 약 10000, 약 10000 내지 약 15000, 약 15000 내지 약 20000, 약 20000 내지 약 25000, 약 25000 내지 약 30000, 약 30000 내지 약 35000, 약 35000 내지 약 40000, 약 40000 내지 약 45000, 약 45000 내지 약 50000, 약 50000 내지 약 60000, 약 60000 내지 약 70000, 약 70000 내지 약 80000, 약 80000 내지 약 90000, 또는 약 90000 내지 약 100000이다.
- [0116] 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포, CD14-양성 세포, 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 말초 혈액 샘플에서 측정하고, CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포, CD14-양성 세포, 및 말초 혈액 단핵 세포의 백분율을 측정한다.
- [0117] 일부 실시양태에서, CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포의 백분율을 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다.
- [0118] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포의 백분율은 적어도 약 0.1%, 적어도 약 0.2%, 적어도 약 0.3%, 적어도 약 0.4%, 적어도 약 0.5%, 적어도 약 0.6%, 적어도 약 0.7%, 적어도 약 0.8%, 적어도 약 0.9%, 적어도 약 1%, 적어도 약 1.1%, 적어도 약 1.2%, 적어도 약 1.3%, 적어도 약 1.4%, 적어도 약 1.5%, 적어도 약 1.6%, 적어도 약 1.7%, 적어도 약 1.8%, 적어도 약 1.9%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 11%, 적어도 약 12%, 적어도 약 13%, 적어도 약 14%, 적어도 약 15%, 적어도 약 16%, 적어도 약 17%, 적어도 약 18%, 적어도 약 19%, 적어도 약 20%, 적어도 약 21%, 적어도 약 22%, 적어도 약 23%, 적어도 약 24%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%이다.
- [0119] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(1 α /음성) 세포의 백분율은 약 0.1% 내지 약 0.2%, 약 0.2% 내지 약 0.3%, 약 0.3% 내지 약 0.4%, 약 0.4% 내지 약 0.5%, 약 0.5% 내지 약 0.6%, 약 0.6% 내지 약 0.7%, 약 0.7% 내지 약 0.8%, 약 0.8% 내지 약 0.9%, 약 0.9% 내지 약 1%, 약 1% 내지 약 1.1%, 약 1.1% 내지 약 1.2%, 약 1.2% 내지 약 1.3%, 약 1.4% 내지 약 1.5%, 약 1.5% 내지 약 1.6%, 약 1.6% 내지 약 1.7%, 약 1.7% 내지 약 1.8%, 약 1.8% 내지 약

1.9%, 약 1.9% 내지 약 2%, 약 2% 내지 약 3%, 약 3% 내지 약 4%, 약 4% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 6%, 약 6% 내지 약 7%, 약 7% 내지 약 8%, 약 8% 내지 약 9%, 약 9% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 11%, 약 11% 내지 약 12%, 약 12% 내지 약 13%, 약 13% 내지 약 14%, 약 14% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 16%, 약 16% 내지 약 17%, 약 17% 내지 약 18%, 약 18% 내지 약 19%, 약 19% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 21%, 약 21% 내지 약 22%, 약 22% 내지 약 23%, 약 23% 내지 약 24%, 약 24% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 35%, 약 35% 내지 약 40%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 60%, 약 60% 내지 약 70%, 약 70% 내지 약 80%, 약 80% 내지 약 90%, 약 90% 내지 약 95%, 약 95% 내지 약 96%, 약 96% 내지 약 97%, 약 97% 내지 약 98%, 또는 약 98% 내지 약 99%이다.

[0120] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플에서 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포, CD14-양성 세포, 및 말초 혈액 단핵 세포의 수를 측정하고, CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 비를 측정한다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 비를 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다.

[0121] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 비는 1:10000, 1:5000, 1:4000, 1:3000, 1:2000, 1:1000, 1:500, 1:400, 1:300, 1:250, 1:200, 1:150, 1:100, 1:90, 1:80, 1:70, 1:60, 1:50, 1:49, 1:48, 1:47, 1:46, 1:45, 1:44, 1:43, 1:42, 1:41, 1:40, 1:39, 1:38, 1:37, 1:36, 1:35, 1:34, 1:33, 1:32, 1:31, 1:30, 1:29, 1:28, 1:27, 1:26, 1:25, 1:24, 1:23, 1:22, 1:21, 1:20, 1:19, 1:18, 1:17, 1:16, 1:15, 1:14, 1:13, 1:12, 1:11, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 9:1, 19:1, 24:1, 97:1, 49:1, 또는 99:1이다.

[0122] 일부 실시양태에서, 말초 혈액 샘플 또는 조직 생검 중의 CD14-양성 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 대한 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 비는 1:10000 내지 1:5000, 1:5000 내지 1:4000, 1:4000 내지 1:3000, 1:3000 내지 1:2000, 1:2000 내지 1:1000, 1:1000 내지 1:500, 1:500 내지 1:400, 1:400 내지 1:300, 1:300 내지 1:200, 1:200 내지 1:100, 1:100 내지 1:90, 1:90 내지 1:80, 1:80 내지 1:70, 1:70 내지 1:60, 1:60 내지 1:50, 1:50 내지 1:49, 1:49 내지 1:48, 1:48 내지 1:47, 1:47 내지 1:46, 1:46 내지 1:45, 1:45 내지 1:44, 1:44 내지 1:43, 1:43 내지 1:42, 1:42 내지 1:41, 1:41 내지 1:40, 1:40 내지 1:39, 1:39 내지 1:38, 1:38 내지 1:37, 1:37 내지 1:36, 1:36 내지 1:35, 1:35 내지 1:34, 1:34 내지 1:33, 1:33 내지 1:32, 1:32 내지 1:31, 1:31 내지 1:30, 1:30 내지 1:29, 1:29 내지 1:28, 1:28 내지 1:27, 1:27 내지 1:26, 1:26 내지 1:25, 1:25 내지 1:24, 1:24 내지 1:23, 1:23 내지 1:22, 1:22 내지 1:21, 1:21 내지 1:20, 1:20 내지 1:19, 1:19 내지 1:18, 1:18 내지 1:17, 1:17 내지 1:16, 1:16 내지 1:15, 1:15 내지 1:14, 1:14 내지 1:13, 1:13 내지 1:12, 1:12 내지 1:11, 1:11 내지 1:10, 1:10 내지 1:9, 1:9 내지 1:8, 1:8 내지 1:7, 1:7 내지 1:6, 1:6 내지 1:5, 1:5 내지 1:4, 1:4 내지 1:3, 1:3 내지 1:2, 1:2 내지 1:1, 1:1 내지 2:1, 2:1 내지 3:1, 3:1 내지 4:1, 4:1 내지 9:1, 9:1 내지 19:1, 19:1 내지 24:1, 24:1 내지 97:1, 97:1 내지 49:1, 또는 49:1 내지 99:1이다.

[0123] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 수를 측정한다. 단위 부피의 비제한적인 예는 피코리터(pL), 나노리터(nL), 마이크로리터(μ L), 밀리리터(mL), 데시리터(dL), 및 리터(L)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 수를 이용하여 엔티노스타트 및 제2 치료제를 포함하는 조합 요법을 투여하기 위하여 환자를 선별한다. 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플이다.

[0124] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 수는 단위 부피당 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 약 100, 약 150, 약 200, 약 250, 약 300, 약 350, 약 400, 약 450, 약 500, 약 600, 약 700, 약 800, 약 900, 약 1000, 약 1500, 약 2000, 약 2500, 약 3000, 약 3500, 약 4000, 약 4500, 약 5000, 약 6000, 약 7000, 약 8000, 약 9000, 약 10000, 약 15000, 약 20000, 약 25000, 약 30000, 약 35000, 약 40000, 약 45000, 약 50000, 약 60000, 약 70000, 약 80000, 약 90000, 또는 약 100000이다.

[0125] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 단위 부피당 CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포의 수는 단위 부피당 약 1 내지 약 2, 약 2 내지 약 3, 약 3 내지 약 4, 약 4 내지 약 5, 약 5 내지 약 6, 약 6 내지 약 7, 약 7 내지 약 8, 약 8 내지 약 9, 약 9 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 약 35 내지 약 40, 약 40 내지 약 45, 약 45 내지 약 50, 약 50 내지 약 60, 약 60

내지 약 70, 약 70 내지 약 80, 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 150, 약 150 내지 약 200, 약 200 내지 약 250, 약 250 내지 약 300, 약 300 내지 약 350, 약 350 내지 약 400, 약 400 내지 약 450, 약 450 내지 약 500, 약 500 내지 약 600, 약 600 내지 약 700, 약 700 내지 약 800, 약 800 내지 약 900, 약 900 내지 약 1000, 약 1000 내지 약 1500, 약 1500 내지 약 2000, 약 2000 내지 약 2500, 약 2500 내지 약 3000, 약 3000 내지 약 3500, 약 3500 내지 약 4000, 약 4000 내지 약 4500, 약 4500 내지 약 5000, 약 5000 내지 약 6000, 약 6000 내지 약 7000, 약 7000 내지 약 8000, 약 8000 내지 약 9000, 약 9000 내지 약 10000, 약 10000 내지 약 15000, 약 15000 내지 약 20000, 약 20000 내지 약 25000, 약 25000 내지 약 30000, 약 30000 내지 약 35000, 약 35000 내지 약 40000, 약 40000 내지 약 45000, 약 45000 내지 약 50000, 약 50000 내지 약 60000, 약 60000 내지 약 70000, 약 70000 내지 약 80000, 약 80000 내지 약 90000, 또는 약 90000 내지 약 100000이다.

[0126] 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포, CD14-양성 세포, 및/또는 말초 혈액 단핵 세포는 유동 세포 분석법, 질량 세포분석법, 사이토스핀(cytospin), 또는 면역조직화학을 사용하여 측정한다.

[0127] 유동 세포 분석법은 유체의 스트림 중에 세포를 감싸고, 전자 검출 장치에 의해 이들을 통과시킴으로써 세포 계수, 세포 분류, 및 바이오마커 검출에서 사용되는 레이저 기반 기술이다. 이는 초당 수천개의 입자 이하의 물리적 및 화학적 특성의 동시 다중 파라미터 분석을 허용한다.

[0128] 질량 세포분석법은 세포 동정 및 기능을 결정하기 위한 유도 결합 플라즈마 질량 분광법을 기반으로 한 질량 분광법 기술이다. 이러한 기술에서, 결합체는 동위원소적으로 순수한 희토류 원소로 태깅된다. 그 다음, 이들 결합체는 태그 세포 및 이의 구성분에 적용된다. 세포를 아르곤 플라즈마 레이저를 통해 분무 및 수송하여, 다중 원자 희토류 원소 태그를 이온화시킨다. 그 다음, 이온화된, 태깅된 세포를 이동시보 질량 분광계에 의해 분석한다. 질량 세포분석법의 이점은 유동 세포 분석법에서 스펙트럼 겹침에 의해 전개된 제한을 극복하는 능력이다.

[0129] 사이토스핀은 현탁액 세포가 세포 염색 및 세포 계수를 위한 도말로서 유리 슬라이드 위에 원심분리되는 기술이다. 저점도 매질 중에 존재하는 농축된 세포 현탁액은 도말 제조를 위한 우수한 후보를 만든다. 희석된 매질 중에 존재하는 희석된 세포 현탁액은 세포원심분리를 통한 사이토스핀의 제형에 가장 적합하다. 고점도 매질 중에 존재하는 세포 현탁액은 면봉 제형으로 시험되는데 가장 적합하다. 이들 제형 중 변함없는 것은 전세포가 고체 표면 위에 존재하는 것이다. 면역조직화학은 생물학적 조직에서 항원에 대한 항체의 특이적 결합의 원리를 이용함으로써 조직 부분의 세포에서 항원을 검출하기 위한 조직학적 염색의 한 유형이다. 항체-항원 상호작용의 가시화는 다수의 방식으로 달성될 수 있다. 항체는 색 제조 반응을 촉매할 수 있는 효소, 예를 들면, 과산화효소에 접합될 수 있다. 대안적으로, 항체는 형광단, 예를 들면, 플루오레세인 또는 로다민에 태깅될 수 있다.

[0130] 일부 실시양태에서, 유동 세포 분석법, 질량 세포분석법, 사이토스핀, 또는 면역조직화학은 세포, 예를 들면, 골수 유래 억제 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포를 검출하는데 사용된다. 일부 실시양태에서, 유동 세포 분석법, 질량 세포분석법, 사이토스핀, 또는 면역조직화학은 결합체-골수 유래 억제 세포 및 결합체-말초 혈액 단핵 세포 복합체를 생성하는 결합체의 사용을 포함한다. 일부 실시양태에서, 결합체는 세포 표면 마커에 의하여 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포를 동정하는데 사용된다. 일부 실시양태에서, 결합체는 항체이다.

[0131] 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 결합된 결합체의 수는 적어도 약 1, 적어도 약 2, 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 20, 적어도 약 30, 적어도 약 40, 적어도 약 50, 적어도 약 60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 적어도 약 100, 적어도 약 125, 적어도 약 150, 적어도 약 175, 또는 적어도 약 200이다. 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 또는 말초 혈액 단핵 세포에 결합된 결합체의 수는 약 1 내지 약 2, 약 2 내지 약 3, 약 3 내지 약 4, 약 4 내지 약 5, 약 5 내지 약 6, 약 6 내지 약 7, 약 7 내지 약 8, 약 8 내지 약 9, 약 9 내지 약 10, 약 10 내지 약 11, 약 11 내지 약 12, 약 12 내지 약 13, 약 14 내지 약 15, 약 15 내지 약 16, 약 16 내지 약 20, 약 20 내지 약 30, 약 30 내지 약 40, 약 40 내지 약 50, 약 50 내지 약 60, 약 60 내지 약 70, 약 70 내지 약 80, 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 125, 약 125 내지 약 150, 약 150 내지 약 175, 또는 약 175 내지 약 200이다.

[0132] 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포 및 말초 혈액 단핵 세포, M-MDSC, 또는 PMN-MDSC는 세포 표면 마커에 의해 동정된다. 골수 유래 억제 세포를 동정하는 세포 표면 마커의 비제한적인 예는 CD11b, CD33, 및 CD40을 포

함한다. 말초 혈액 단핵 세포를 동정하는 세포 표면 마커의 비제한적인 예는 CD3, CD14, CD19, CD56, 및 HLA-DR을 포함한다. M-MDSC는 CD14와 조합된 골수 유래 억제 세포 마커의 임의의 조합에 의해 동정될 수 있다. PMN-MDSC는 CD15와 조합된 골수 유래 억제 세포 마커의 임의의 조합에 의해 동정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 골수 유래 억제 세포, 말초 혈액 단핵 세포, M-MDSC, 또는 PMN-MDSC는 결합제와 접촉하여 세포-결합제 복합체를 형성한다. 결합제는 임의의 상기 세포 표면 마커 또는 이의 임의의 조합과 결합할 수 있다.

[0133]

[illegible]

[0134]

[illegible]

[0135]

[illegible]

[0136]

[illegible]

포는 HLA-DR에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, PMN-MDSC는 세포 표면 상의 CD14의 부재하에 CD11b 및 CD33에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 CD3, CD14, CD19, CD56, 및 HLA-DR에 의해 동정된다.

[0137] 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포, CD14-양성 세포, 및 말초 혈액 단핵 세포는 세포 표면 마커에 의해 동정된다. 말초 혈액 단핵 세포를 동정하는 세포 표면 마커의 비제한적인 예는 CD3, CD14, CD19, CD56, 및 HLA-DR을 포함한다.

[0138] 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 CD3에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14, 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 CD14에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14, 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 CD19에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14, 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 CD56에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14, 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 HLA-DR에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14, 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, 말초 혈액 단핵 세포는 CD3, CD14, CD19, CD56, 및 HLA-DR에 의해 동정된다. 일부 실시양태에서, CD14-양성 및 HLA-DR-(lo/음성) 세포는 CD14, 및 HLA-DR의 낮은 수준 또는 부재에 의해 동정되고, CD14-양성 세포는 CD14에 의해 동정된다.

[0139] 추가 요법

[0140] 본원에 개시된 요법과 함께 조합하여 이롭게 사용될 수 있는 이용 가능한 추가의 삼중 음성 유방암 치료법으로는, 제한 없이, 방사선 요법, 화학요법, 항체 요법, 및 보조 요법으로서의 티로신 키나제 억제제를 포함한다.

[0141] 방사선 요법은 암 세포를 사멸시키거나, 이의 성장을 막기 위해 고에너지 x선 또는 다른 유형의 방사선을 사용하는 암 치료법이다. 화학요법은 암 세포를 사멸시킴으로써 또는 이의 분열을 중단시킴으로써 상기 세포의 성장을 중단시키기 위해 약물을 사용하는 암 치료법이다. 화학요법을 위해 약물을 입으로 복용하거나, 정맥 또는 근육내 주사를 맞을 경우, 약물은 혈류로 유입되어 몸 전역을 거쳐 암 세포에 도달할 수 있다(전신 화학요법). 화학요법을 위해 약물을 척추, 기관, 또는 체강, 예를 들면, 복부에 직접 배치할 경우, 약물은 주로 상기 부위의 암 세포에 영향을 미친다(국소 화학요법). 화학요법이 제공되는 방식은 치료되는 암의 유형 및 병기에 의존한다.

[0142] 폐암 치료를 위한 상이한 화학요법제가 당해 분야에 공지되어 있다. 폐암 치료용으로 사용되는 세포독성제로는 카보플라틴(예를 들면, Paraplatin®, Paraplat®), 시스플라틴(예를 들면, Platinol®, Platinol-Aq®), 크리조티닙(예를 들면, Xalkori®), 에토포시드(예를 들면, Toposar®, VePesid®), 에토포시드 포스페이트(예를 들면, Etopophos®), 젠시타빈 하이드로클로라이드(예를 들면, Gemzar®), 젠시타빈-시스플라틴, 메토포트렉세이트(예를 들면, Abitrexate®, Folex®, Folex Pfs®, Methotrexate Lpf®, Mexate®, Mexate-Aq®), 파클리탁셀(예를 들면, Taxol®), 페메트렉시드 디나트륨(예를 들면, Alimta®), 및 토포테칸 하이드로클로라이드(예를 들면, Hycamtin®)를 포함한다.

[0143] 알데스류킨(예를 들면, Proleukin®), 다브라페닙(예를 들면, Tafinlar®), 다카르바진(예를 들면, DTIC-Dome®), 제조합 인터페론 알파-2b(예를 들면, Intron® A), 이필리무맙(예를 들면, Yervoy®), 캄브롤리주맙(예를 들면, Keytruda®), 트라메티닙(예를 들면, Mekinist®), 니볼루맙(예를 들면, Opdivo®), 페그인터페론 알파-2b(예를 들면, Pegintron®, Sylatron®), 베무라페닙(예를 들면, Zelboraf®)을 포함하여, 흑색종 치료를 위한 상이한 작용제가 당해 분야에 공지되어 있다.

[0144] 단일클론 항체 요법은 실험실에서 단일 유형의 면역계 세포로부터 제조된 항체를 사용하는 암 치료법이다. 이러한 항체는 암 세포 상의 물질, 또는 암 세포 성장을 도울 수 있는 일반 물질을 확인할 수 있다. 항체는 상기 물질에 부착되어 암 세포를 사멸시키거나, 이의 성장을 차단시키거나, 또는 이의 확산을 막는다. 단일클론 항체는 주입에 의해 제공된다. 이는 단독으로 사용될 수 있거나, 또는 약물, 독소, 또는 방사성 물질을 직접 암 세포에 운반하도록 사용될 수 있다. 단일클론 항체는 또한 보조 요법으로서 화학요법과 함께 조합하여 사용된다.

[0145] 본원에 개시된 조성물 및 요법과 함께 이롭게 조합될 수 있는 추가의 예시적인 치료법으로는, 제한 없이, 라파티닙을 포함하지만 이에 한정되지 않는 작용제를 단독으로, 또는 카페시타빈, 도세탁셀, 에피루비신, 에포틸론 A, B 또는 D, 고세렐린 아세테이트, 파클리탁셀, 파미드로네이트, 베바시주맙, 또는 트라스투주맙과 함께 조합하여 투여하는 것을 포함할 수 있다.

- [0146] 일부 실시양태에서, 추가 요법으로는 피험체에게 독소루비신, 사이클로포스파미드, 파클리탁셀, 라파티닙, 카페시타빈, 트라스투주맙, 베바시주맙, 켈시타빈, 에리볼린, 또는 냅-파클리탁셀 중 하나 이상을 투여하는 것을 포함하는 화학요법을 포함한다.
- [0147] 경구용 제제
- [0148] 본원에 기술된 활성 약학 성분을 함유하는 경구용 제제는 정제, 캡슐제, 환제, 트로키, 로젠지, 향정, 카세제, 펠릿, 약물처리된 추잉 껌, 과립제, 벌크 분제, 발포성 또는 비발포성 분제 또는 과립제, 액제, 에멀전, 현탁제, 액제, 웨이퍼, 스프링클제, 엘릭시르제, 시럽제, 협측용 제형, 및 경구용 액제를 포함하여, 종래에서 사용되는 임의의 경구용 제형을 포함할 수 있다. 캡슐제는 활성 화합물(들)과 불활성 충전제 및/또는 희석제, 예를 들면, 약학적으로 허용되는 전분(예를 들면, 옥수수, 감자 또는 타피오카 전분), 당, 인공 감미제, 분말형 셀룰로스, 예를 들면, 결정질 및 미정질 셀룰로스, 곡분, 젤라틴, 검 등의 혼합물을 함유할 수 있다. 유용한 정제 제제는 종래의 압축, 습식 과립화 또는 건식 과립화 방법에 의해 제조될 수 있고, 약학적으로 허용되는 희석제, 결합제, 활택제, 봉해제, 계면 개질제(계면활성제 포함), 스테아르산마그네슘, 스테아르산, 탈크, 나트륨 라우릴 설페이트, 미정질 셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 칼슘, 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, 알긴산, 아카시아 검, 크산탄 검, 시트르산나트륨, 실리케이이트 복합제, 탄산칼슘, 글리신, 텍스트린, 수크로스, 소르비톨, 제2 인산칼슘, 황산칼슘, 락토스, 카올린, 만니톨, 염화나트륨, 탈크, 건조 전분 및 분말 당을 포함하지만 이에 한정되지 않는 현탁화제 또는 안정화제를 이용한다. 일부 실시양태에서, 계면 개질제는 비이온성 및 음이온성 계면 개질제를 포함한다. 예를 들면, 계면 개질제는 폴록사머 188, 벤즈알코늄 클로라이드, 스테아르산 칼슘, 세토스테아릴 알코올, 세토마크로폴 유화 왁스, 소르비탄 에스테르, 콜로이드성 이산화규소, 포스페이트, 나트륨 도데실설페이트, 마그네슘 알루미늄 실리케이이트, 및 트리에탄올아민을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본원에서 경구용 제제는 활성 화합물(들)의 흡수를 변경시키기 위해 표준 지연 또는 지속 방출형 제제를 사용할 수 있다. 경구용 제제는 또한 필요에 따라, 적절한 가용화제 또는 유화제를 함유하는 물 또는 과즙 중 활성 성분을 투여하는 것으로 구성될 수 있다.
- [0149] 경구 투여
- [0150] 본원에 기술된 바와 같이, 본원에 기술된 조합 요법은 동시에 제공될 수 있거나, 또는 시차를 두고 실행되는 방식으로 제공될 수 있으며, 여기서, 엔티노스타트는 화학요법을 진행되는 동안 EGFR 억제제와는 다른 시점에 제공될 수 있다. 상기 두 화합물 투여 사이의 상기와 같은 시간차는 수분, 수시간, 수일, 수주 이상의 범위일 수 있다. 그러므로, 조합이라는 용어가 반드시 동시에 또는 단위 투약으로서 투여되는 것을 의미하는 것은 아니며, 상기 성분들은 각각 원하는 치료 기간 동안에 투여된다. 상기 작용제는 또한 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 화학요법 치료의 경우에는 전형적인 바와 같이, 화학요법 과정은 수주 이후에 반복될 수 있고, 두 화합물 투여에 대해서는 같은 기간으로 진행될 수 있거나, 또는 환자 반응에 기초하여 변형될 수 있다.
- [0151] 다른 실시양태에서, 본원에서 제공된 약학 조성물은 경구 투여를 위해 고체, 반고체, 또는 액체 제형으로 제공될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 경구 투여는 또한 협측, 설측, 및 설하 투여를 포함한다. 적합한 경구용 제형으로는 정제, 캡슐제, 환제, 트로키, 로젠지, 향정, 카세제, 펠릿, 약물처리된 추잉 껌, 과립제, 벌크 분제, 발포성 또는 비발포성 분제 또는 과립제, 액제, 에멀전, 현탁제, 액제, 웨이퍼, 스프링클제, 엘릭시르제, 및 시럽제를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 활성 성분(들) 이외에도, 약학 조성물은 결합제, 충전제, 희석제, 봉해제, 습윤제, 활택제, 유동화제, 착색제, 염료 이동 억제제, 감미제, 및 향미제를 포함하지만 이에 한정되지 않는, 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 함유할 수 있다.
- [0152] 결합제 또는 과립기는 정제가 압축 이후에도 무손상 상태 그대로 유지될 수 있도록 하기 위해 정제에 응집성을 부여한다. 적합한 결합제 또는 과립기는 전분, 예를 들면, 옥수수 전분, 감자 전분, 및 예비 젤라틴화 전분(예를 들면, STARCH 1500); 젤라틴; 당, 예를 들면, 수크로스, 글루코스, 텍스트로스, 당밀, 및 락토스; 천연 및 합성 검, 예를 들면, 아카시아, 알긴산, 알기네이트, 아일랜드 이끼 추출물, 판워(Panwar) 검, 가티 검, 이삼골 허스크(isabgol husk)의 점액, 카복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈(PVP: polyvinylpyrrolidone), 비검, 낙엽송 아라비노갈락탄, 분말형 트라가칸트, 및 구아 검; 셀룰로스, 예를 들면, 에틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 카복시메틸 셀룰로스 칼슘, 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 하이드록시에틸셀룰로스(HEC), 하이드록시프로필셀룰로스(HPC), 하이드록시프로필 메틸 셀룰로스(HPMC); 미정질 셀룰로스, 예를 들면, 아비셀(AVICEL)-PH-101, 아비셀-PH-103, 아비셀 RC-581, 아비셀-PH-105(FMC Corp., 미국 펜실베이니아주 마커스 호크 소재); 및 이의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 적합한 충전제로는 탈크, 탄산칼슘, 미정질 셀룰로스, 분말형 셀룰로스, 텍스트레이트, 카올린, 만니톨, 규산, 소르비톨, 전분, 예

비 젤라틴화 전분, 및 이의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 결합제 또는 충전제는 본원에서 제공되는 약학 조성물 중 약 50% 내지 약 99중량%로 존재할 수 있다.

[0153] 적합한 희석제는 제2 인산칼슘, 황산칼슘, 락토스, 소르비톨, 수크로스, 이노시톨, 셀룰로스, 카올린, 만니톨, 염화나트륨, 건조 전분, 및 분말 당을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 특정 희석제, 예를 들면, 만니톨, 락토스, 소르비톨, 수크로스, 및 이노시톨은 충분한 양으로 존재할 때, 입안에서 저작하면 붕해될 수 있도록 허용되는 특성을 일부 압축된 정제에 부여할 수 있다. 상기 압축된 정제는 저작정으로서 사용될 수 있다.

[0154] 적합한 붕해제는 아가; 벤토나이트; 셀룰로스, 예를 들면, 메틸셀룰로스 및 카복시메틸셀룰로스; 목재 생성물; 해면 스펀지; 양이온 교환 수지; 알긴산; 검, 예를 들면, 구아 검 및 비검 HV; 시트러스 펄프; 가교된 셀룰로스, 예를 들면, 크로스카멜로스; 가교된 중합체, 예를 들면, 크로스포비돈; 가교된 전분; 탄산칼슘; 미정질 셀룰로스, 예를 들면, 전분 글리콘산나트륨; 폴라크틸린 포타슘; 전분, 예를 들면, 옥수수 전분, 감자 전분, 타피오카 전분, 및 예비 젤라틴화 전분; 점토; 얼라인(algin); 및 이의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본원에서 제공되는 약학 조성물 중 붕해제의 양은 제제 유형에 따라 달라지고, 이는 당해 분야의 숙련가에게 쉽게 인식될 수 있다. 본원에서 제공되는 약학 조성물은 약 0.5 내지 약 15 중량% 또는 약 1 내지 약 5 중량%의 붕해제를 함유할 수 있다.

[0155] 적합한 활택제는 스테아르산칼슘; 스테아르산마그네슘; 광유; 경광유; 글리세린; 소르비톨; 만니톨; 글리콜, 예를 들면, 글리세롤 베헤네이트 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG: polyethylene glycol); 스테아르산; 나트륨 라우릴 술페이트; 탈크; 땅콩유, 면실유, 해바라기씨유, 참깨유, 올리브유, 옥수수유, 및 대두유를 포함하여, 식물성 경화유; 스테아르산 아연; 에틸 올레이트; 에틸 라우레이트; 아가; 전분; 리코포덤; 실리카 또는 실리카겔, 예를 들면, 에어로실(AEROSIL)® 200(W.R. Grace Co., 미국 메릴랜드주 볼티모어 소재) 및 CAB-O-SIL®(Cabot Co., 미국 매사추세츠주 보스턴 소재); 및 이의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본원에서 제공되는 약학 조성물은 약 0.1 내지 약 5 중량%의 활택제를 함유할 수 있다.

[0156] 적합한 유동화제는 콜로이드성 이산화규소, CAB-O-SIL®(Cabot Co., 미국 매사추세츠주 보스턴 소재), 및 무석면 탈크를 포함한다. 착색제로는 승인받은 공인된 수용성 FD&C 염료, 및 알루미늄 수화물 상에 현탁된 수불용성 FD&C 염료 및 레이크 안료 및 이의 혼합물 중 임의의 것을 포함한다. 레이크 안료는 중금속의 가수산화물에 수용성 염료를 흡착시킴으로써 불용성 형태의 염료로 생성된 조합물이다. 향미제는 식물, 예를 들면, 과일로부터 추출된 천연 풍미제, 및 좋은 미각 맛을 내는 화합물, 예를 들면, 페퍼민트 및 메틸 살리실레이트의 합성 혼합물을 포함한다. 감미제는 수크로스, 락토스, 만니톨, 시럽, 글리세린, 및 인공 감미료, 예를 들면, 사카린 및 아스파탐을 포함한다. 적합한 유화제는 젤라틴, 아카시아, 트라가칸트, 벤토나이트, 및 계면활성제, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트(TWEEN®20), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 80(TWEEN® 80), 및 트리에탄올아민 올레이트를 포함한다. 현탁화제 및 분산제로는 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 펙틴, 트라가칸트, 비검, 아카시아, 나트륨 카보메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 보존제는 글리세린, 메틸 및 프로필파라벤, 벤조산, 벤조산 나트륨 및 알코올을 포함한다. 습윤제는 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 소르비탄 모노올레이트, 디에틸렌 글리콜 모노라우레이트, 및 폴리옥시에틸렌 라우릴 에테르를 포함한다. 용매로는 글리세린, 소르비톨, 에틸 알코올, 및 시럽을 포함한다. 예멸전에서 사용되는 비수성 액체의 예는 광유 및 면실유를 포함한다. 유기산은 시트르산 및 타르타르산을 포함한다. 이산화탄소의 공급원은 중탄산나트륨 및 탄산나트륨을 포함한다.

[0157] 다수의 담체 및 부형제가 심지어 같은 제제 내에서도 여러 가지 기능을 할 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

[0158] 추가 실시양태에서, 본원에서 제공되는 약학 조성물은 압축된 정제, 습제 정제, 저작성 로젠지, 신속하게 용해되는 정제, 다중 압축된 정제, 또는 장 코팅정, 당의정, 또는 필름 코팅정으로서 제공될 수 있다. 장 코팅정은 위산의 작용에 대해서는 잘 견딜 수 있지만, 장내에서는 용해 또는 붕해되고, 이로써, 활성 성분을 상의 산성이 환경으로부터 보호하는 물질로 코팅된, 압축된 정제이다. 장 코팅제는 지방산, 지방, 페닐살리실레이트, 왁스, 셀락, 암모니아가 첨가된 셀락, 및 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 당의정은 불쾌한 맛 또는 냄새를 차폐시키는 데, 및 정제를 산화로부터 보호하는 데 도움이 될 수 있는 당 코팅제로 둘러싸인 압축된 정제이다. 필름 코팅정은 수용성 물질의 박층 또는 필름으로 코팅된 압축된 정제이다. 필름 코팅제는 하이드록시에틸셀룰로스, 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 폴리에틸렌 글리콜 4000, 및 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 필름 코팅제는 당 코팅제와 동일한 일반적인 특징을 부여한다. 다중 압축된 정제는 1회 초과 압축 사이클에 의해 제조된 압축된 정제로, 이는 다층정, 및 프레스 코팅정 또는 건식 코팅정을 포함한다.

- [0159] 정제 제형은 분말형, 결정질, 또는 과립 형태의 활성 성분으로부터 단독으로, 또는 결합제, 붕해제, 방출 조절 중합체, 활택제, 희석제, 및/또는 착색제를 포함하여, 본원에 기술된 하나 이상의 담체 또는 부형제와 함께 조합하여 제조될 수 있다. 향미제 및 감미제는 저작성 및 로젠지를 형성하는 데 특히 유용하다.
- [0160] 본원에서 제공되는 약학 조성물은 연질 또는 경질 캡슐제로서 제공될 수 있고, 이는 젤라틴, 메틸셀룰로스, 전분, 또는 알긴산 칼슘으로부터 제조될 수 있다. 건식 충전된 캡슐제(DFC: dry-filled capsule)로도 알려져 있는 경질 젤라틴 캡슐제는 두 부분으로 구성으로 되는데, 한 부분이 나머지 한 부분에 슬립 오버되어 있는 바, 이로써, 활성 성분이 완전하게 밀봉되어 있을 수 있다. 연질 탄성 캡슐제(SEC: soft elastic capsule)는 글리세린, 소르비톨, 또는 유사 폴리올의 첨가에 의해 가소화되는, 연질의 구형 셀, 예를 들면, 젤라틴 셀이다. 연질 젤라틴 셀은 미생물의 성장을 방해하기 위해 보존제를 함유할 수 있다. 적합한 보존제는 메틸파라벤 및 프로필파라벤, 및 소르브산을 포함하여, 본원에 기술된 것이다. 본원에서 제공되는 액체, 반고체, 및 고체 제형은 캡슐제로 캡슐화될 수 있다. 적합한 액체 및 반고체 제형은 프로필렌 카보네이트, 식물성 오일, 또는 트리글리세리드 중 액체 및 현탁제를 포함한다. 상기 액체를 함유하는 캡슐제는 미국 특허 제4,328,245호; 제4,409,239호; 및 제4,410,545호에 기술되어 있는 바와 같이 제조될 수 있다. 활성 성분의 용해를 변형 또는 지속시키기 위해, 캡슐제는 또한 당해 분야의 숙련가에 의해 공지된 바와 같이 코팅될 수 있다.
- [0161] 다른 실시양태에서, 본원에서 제공되는 약학 조성물은 에멀전, 액체, 현탁제, 엘릭시르제, 및 시럽제를 포함하여, 액체 및 반고체 제형으로 제공될 수 있다. 에멀전은 한 액체가 또 다른 액체 전역에 걸쳐 작은 구상체 형태로 분산되어 있는 2상 시스템으로서, 이는 수중유 또는 유중수일 수 있다. 에멀전은 약학적으로 허용되는 비수성 액체 또는 용매, 유화제, 및 보존제를 포함할 수 있다. 현탁제는 약학적으로 허용되는 현탁화제 및 보존제를 포함할 수 있다. 알코올 수용액은 약학적으로 허용되는 아세트알, 예를 들면, 저급 알킬 알데히드의 디(저급 알킬) 아세트알("저급"이라는 용어는 1개 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 알킬을 의미한다), 예를 들면, 아세트알데히드 디에틸아세트알; 및 하나 이상의 하이드록실 기를 가지는 수산화성 용매, 예를 들면, 프로필렌 글리콜 및 에탄올을 포함할 수 있다. 엘릭시르제는 투명한 가당 수성알코올계 액체이다. 시럽제는 당, 예를 들면, 수크로스의 진한 수용액이고, 이는 또한 보존제를 함유할 수 있다. 액체 제형인 경우, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜 중의 액체는 투여를 위해 용이하게 측정될 수 있도록 하기 위해 충분한 약학적으로 허용되는 액체 담체, 예를 들면, 물로 희석될 수 있다.
- [0162] 다른 유용한 액체 및 반고체 제형으로는 본원에서 제공되는 활성 성분(들), 및 1,2-디메톡시메탄, 디글림, 트리글림, 테트라글림, 폴리에틸렌 글리콜-350-디메틸 에테르, 폴리에틸렌 글리콜-550-디메틸 에테르, 폴리에틸렌 글리콜-750-디메틸 에테르(여기서, 350, 550, 및 750은 폴리에틸렌 글리콜의 대략적인 평균 분자량을 의미한다)를 포함하여, 디알킬화된 모노 또는 폴리알킬렌 글리콜을 함유하는 것을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 상기 제제는 하나 이상의 항산화제, 예를 들면, 부틸화 하이드록시톨루엔(BHT), 부틸화 하이드록시아니솔(BHA), 프로필 갈레이트, 비타민 E, 하이드로퀴논, 하이드록시쿠마린, 에탄올아민, 레시틴, 세팔린, 아스코르브산, 말산, 소르비톨, 인산, 비술파이트, 나트륨 메타비술파이트, 티오디프로피온산 및 이의 에스테르, 및 디티오카바메이트를 추가로 포함할 수 있다.
- [0163] 본원에서 제공되는 경구 투여용 약학 조성물은 또한 리포솜, 미셀, 마이크로스피어 또는 나노시스템 형태로 제공될 수 있다. 미셀 제형은 미국 특허 제6,350,458호에 기술되어 있는 바와 같이 제조될 수 있다.
- [0164] 다른 실시양태에서, 본원에서 제공되는 약학 조성물은 액체 제형으로 재구성될 수 있도록 비발포성 또는 발포성, 과립제 및 분제로서 제공될 수 있다. 비발포성 과립제 또는 분제에서 사용되는 약학적으로 허용되는 담체 및 부형제는 희석제, 감미제, 및 습윤제를 포함할 수 있다. 발포성 과립제 또는 분제에서 사용되는 약학적으로 허용 가능한 담체 및 부형제는 유기산 및 이산화탄소의 공급원을 포함할 수 있다.
- [0165] 착색제 및 향미제가 상기 제형 모두에 사용될 수 있다.
- [0166] 본원에서 제공되는 약학 조성물은 지연 방출형, 지속 방출형, 펄스 방출형, 방출 조절형, 표적 방출형 및 프로그램화된 방출형 형태를 포함하여, 즉시 또는 변형 방출형 제형으로서 제제화될 수 있다.
- [0167] 추가의 실시양태에서, 본원에서 제공되는 약학 조성물은 원하는 치료 작용은 손상시키지 않는 다른 활성 성분과 함께, 또는 원하는 작용을 보충해 주는 물질과 함께 공동으로 제제화될 수 있다.
- [0168] 본원에 기재된 모든 문헌 및 특허 문서는 각각의 이러한 문헌 또는 문서가 특정하고 개별적으로 참조로서 본원에 포함되는 것으로 지시된 경우와 같이 참조로서 본원에 포함된다. 문헌 및 특허 문서의 기재는 어느 것도 관련 선행 기술이라는 인정을 의도하지 않으며, 동일한 것의 내용 또는 날짜에 관한 어떠한 인정을 구성하지 않는다.

다. 기술된 기재의 방식에 의해 현재 설명된 개시내용에 있어서, 당해 분야의 숙련가는 개시내용이 다양한 실시양태로 실시될 수 있고, 상기 설명 및 하기 실시예가 예시의 목적일 뿐, 하기 청구범위의 제한이 아니라는 것을 인식할 것이다.

- [0169] 실시예
- [0170] 실시예 1. 엔티노스타트에 의한 골수 유래 억제 세포의 조절
- [0171] 혈액 샘플을 ENCORE 301 임상 시험에 등록된 한 세트의 환자 49명으로부터 획득하였고, 이들 모두는 진행성 호르몬 수용체-양성 유방암을 가졌고 비스테로이드성 아로마타제 억제제 상에서 진행되었다. 환자 27명은 엑스메스탄 및 엔티노스타트("EE")를 제공받았고, 22명은 엑스메스탄 및 플라세보("EP")를 제공받았다. 바이오마커 분석을 위하여 혈액 샘플을 사이클 1 제1일(C1D1; 전처리), C1D2, C1D8, 및 C1D15에서 획득하였다. 이들 환자 샘플 중에서, 34개(EE 20개 및 EP 14개)를 순환 면역 하위세트에 대하여 분석하였다. 세포 집단은 하기 표면을 마커를 기초로 하였고, 여기서 "X-"은 마커 X에 대하여 음성을 의미하고, "X+"는 마커 X에 대하여 양성을 의미하고, "Xlow/-"는 마커 X의 낮은 수준 내지 부재를 의미하고, "Xhi"는 마커 X의 발현의 높은 수준을 의미한다:
- [0172] 골수 유래 억제 세포: CD3-, CD19-, CD56-, HLA-DR-, CD11b+, CD33+.
- [0173] PMN-MDSC: CD14-, CD11b+, CD33+.
- [0174] M-MDSC: CD3-, CD19-, CD56-, HLA-DR-, CD11b+, CD33+, CD14+.
- [0175] 미성숙 MDSC: CD3-, CD19-, CD56-, HLA-DR-, CD11b+, CD33+, CD14-.
- [0176] CD8+ T 세포: CD4-, CD8+, Foxp3-.
- [0177] CD4+ T 세포: CD8-, CD4+, Foxp3-.
- [0178] Tregs: CD4+, CD8-, CD25hi, Foxp3+.
- [0179] 단핵구는 세 집단에 대하여 분석하였다: (1) CD14+; (2) CD14+, HLA-DRhi; 및 (3) CD14+, HLA-DRlow/-. PD-1, CTLA-4, 및 TIM-3은 CD8+ T-세포, CD4+ T-세포, 및 Tregs에서 측정하고, CD40은 골수 유래 억제 세포에서 측정하였다.
- [0180] 모든 비교는 EE 및 EP 처리군에서 C1D1과 C1D15 시간점 사이에 수행하였다. PMN-MDSC에 있어서, EE 처리는 -14.67%의 변화를 야기하였고, EP 처리는 +20.56%의 변화를 야기하였다. M-MDSC에 있어서, EE 처리는 -62.3%의 변화를 야기하였고, EP 처리는 +1.97%의 변화를 야기하였다. 미성숙 MDSC에 있어서, EE 처리는 -20.9%의 변화를 야기하였고, EP 처리는 -15.0%의 변화를 야기하였다. 골수 유래 억제 세포, M-MDSC, PMN-MDSC, 및 미성숙 골수 유래 억제 세포에서, CD40 수준은 EP 처리군과 비교하여 EE 처리군에서 감소하였다. HLA-DR+ 단핵구에 있어서, EE 처리는 +34.1%의 변화를 야기하였고, EP 처리는 -11.38%의 변화를 야기하였다. 단핵구에서, HLA-DR 수준은 EE 처리군에서 +16.3%이고, EP 처리군에서 -4.7%이었다.
- [0181] 실시예 2. 엔티노스타트 조합 요법에 의한 CD14+HLA-DR(lo/음성) 골수 유래 억제 세포의 조절
- [0182] 클래스 I HDAC 억제제(HDACi)인 엔티노스타트는 비스테로이드성 아로마타제 억제제 상에서 진행된 진행성 호르몬 수용체 양성 유방암에서 엔티노스타트 + 엑스메스탄("EE") 대 엑스메스탄 + 플라세보("EP")의 ENCORE 301, 무작위, 플라세보-대조된, 제II상 시험에서 유망한 활성을 나타냈다. ENCORE 301은 일차 무진행 생존 종점을 충족시켰고, EE 아암에 있어서 전체 생존(OS) 종점에서 중앙 8.3개월 개선을 나타냈다. 이들 결과를 기반으로, 엔티노스타트는 돌과 요법 설계를 승인하였고, EE를 EP에 비교하는 제3상 시험, E2112이 현재 등록 중이다. 최근 생겨난 전임상 작업은 엔티노스타트가 조절 T 세포(Tregs) 및 골수 유래 억제 세포(MDSC)를 포함하는 면역 억제 세포에 대한 면역조절 효과를 갖고 면역 체크포인트 차단제와 조합으로 면역원성 마우스 종양을 온화하게 근절할 수 있다는 것을 제시한다. 이러한 활성은 MDSC의 감소를 통해 매개되는 것으로 나타났다(Kim et al., PNAS 2014, 111:11774-9). 이들 결과는 Tregs(Shen et al. PLoS One 2012, 7:e30815; Wang et al. JCI 2015, 125:1111-1123) 및 MDSC(Youn et al. Nat. Immunol 2013, 14:211-220)의 분화 및 활성화에서 역할을 하는 것으로 나타난 이들 클래스 I HDAC 효소의 엔티노스타트의 선택적 표적화에 의해 설명될 수 있다.
- [0183] 이들 데이터를 기반으로, ENCORE 301 유방암 환자로부터의 혈액 샘플에서 면역 하위세트에 대한 분석을 수행하였다.
- [0184] 바이오마커 분석을 위하여 사이클 1 제1일(C1D1; 전처리), C1D2, C1D8, 및 C1D15에 ENCORE 301에 등록된 환자

130명을 대표하는 환자 49명의 하위세트(EE 27명 및 EP 22명)로부터 혈액을 수집하였다. 이들 49명 중, 순환 면역 하위세트의 추가의 분석을 위하여 C1D1 및 C1D15 샘플은 환자 34명(EE 20명 및 EP 14명)으로부터 이용 가능하였다. 무진행 생존(PFS: Progression Free Survival)에 대한 임상 결과는 EE(엔티노스타트 + 엑스메스탄) 환자에 있어서 4.9개월이고, (엑스메스탄 및 + 플라세보)에 있어서 1.8개월이고, 위험비(HR: hazard ratio)는 0.62개월인 것으로 밝혀졌고, 전체 생존(OS: overall survival)은 환자 34명에서 EE의 경우, 28.1개월이고, EP의 경우, 20.3개월이고, HR은 0.62개월인 것으로 밝혀졌고, 뿐만 아니라 기준선 인구통계는 치료 의도(intent-to-treat) 집단과 일치하였다.

[0185] C1D15 대 기준선에서 하위세트에서 변화 백분율을 하기 표면 마커를 기준으로 평가하였다: Lin-MDSC(Lin;CD3,CD19,CD56)-HLA-DR-CD11b+CD33+), 과립구성 MDSC(CD14-CD11b+CD33+), 단핵구성 MDSC(Lin-HLA-DR-CD11b+CD33+CD14+), 미성숙 MDSC(Lin-HLA-DR-CD11b+CD33+CD14-), CD8+T-세포(CD4-CD8+), Foxp3-CD4+T-세포(CD8-CD4+Foxp3-), 및 Tregs(CD4+CD8-CD25hiFoxp3+). 단핵구를 세 집단에 대하여 분석하였다: CD14+, CD14+HLA-DRhi, 및 CD14+HLA-DR-low/음성. 추가로, PD-1, CTLA-4, 및 TIM-3을 T 세포 하위세트에서 측정하고, CD40을 MDSC에서 측정하였다.

[0186] 전임상 데이터와 일치하게, 과립구성 MDSC(-14.67% 대 +20.56%, P=0.03) 및 단핵구성 MDSC(-62.3% 대 +1.97%, P=0.002)의 감소가 EE에서 관찰되었다. 흥미롭게도, MDSC-매개된 면역 억제에 필요한 상호자극성 수용체인 CD40은 또한 모든 MDSC 하위세트에서 하향 조절되었다. 엔티노스타트는 CD4+ T-세포에 대한 CD8+ T-세포의 비에 유의미하게 영향을 미치지 않거나, T 세포 하위세트에서 CTLA-4, PD-1, 또는 TIM-3의 발현을 변경하지 않는다. 단핵구 상의 HLA-DR의 감소된 발현은 암에서 불량한 예후와 관련이 있었다. 엔티노스타트 매개된 면역조절 효과와 일치하게, HLA-DR+ 단핵구의 수(34.1% 대 -11.38%, P=0.0004) 및 단핵구 상의 HLA-DR 발현의 수준(16.3% 대 -4.7%; P=0.015)에서의 증가가 관찰되었다. 이러한 환자의 하위세트에서 C1D15 면역 세포 변화와 임상 결과 사이의 상관관계는 확인되지 않았다.

[0187] 결과를 하기 표 1에 나타낸다.

[0188] 표 1: 표면 마커에 대한 EE 대 EP 처리의 효과

	EP (n=14; 기준선으로부터 C1D15 까지의 변화(%))		EE (n=20; 기준선으로부터 C1D15 까지의 변화(%))		
실험실 시험 명칭	평균(SD)	중양(최소, 최대)	평균(SD)	중양(최소, 최대)	p-값(EE vs EP)
CD14+	-0.58 (22.73)	1.90 (-38.67, 42.09)	15.71 (28.49)	13.12 (-22.76, 65.47)	0.16
CD14+HLA-DR^{III}	-8.63 (17.77)	-11.38 (-37.35, 25.37)	41.76 (44.28)	34.08 (-25.35, 123.84)	0.0004
CD14+HLA-DR^{LO/NEG}	13.45 (43.11)	1.55 (-41.10, 93.38)	3.56 (42.07)	-3.46 (-47.33, 66.14)	0.45
CD14+ 상의 HLA-DR 발현	-6.23 (18.77)	-4.74 (-32.46, 29.94)	23.20 (36.69)	16.26 (-36.75, 89.30)	0.02
g-MDSC	20.56 (68.45)	3.82 (-72.47, 224.31)	-14.67 (65.78)	-34.53 (-77.75, 220.55)	0.03
g-MDSC 상의 CD40	16.52 (32.07)	10.52 (-27.59, 75.76)	-0.35 (30.88)	-0.72 (-47.74, 50.00)	0.22
m-MDSC	28.24 (86.60)	1.97 (-55.05, 241.46)	-44.94 (50.22)	-62.33 (-92.81, 85.71)	0.002
m-MDSC 상의 CD40	3.37 (25.69)	1.57 (-45.55, 73.91)	-16.75 (21.37)	-17.18 (-61.05, 25.29)	0.011
Lin-MDSC	1.28 (83.31)	-22.11 (-58.15, 274.45)	-13.26 (58.66)	-29.03 (-83.61, 120.51)	0.611
Lin-MDSC 상의 CD40	14.85 (34.92)	3.37 (-26.61, 97.78)	-16.67 (26.47)	-15.38 (-71.05, 21.82)	0.02
미성숙 MDSC	4.92 (94.50)	-20.94 (-68.27, 306.60)	18.75 (130.14)	-14.95 (-89.23, 467.57)	0.93
미성숙 DSC 상의 CD40	18.64 (35.15)	9.00 (-32.58, 86.36)	-11.61 (21.90)	-8.51 (-49.30, 31.25)	0.007

[0189]

[0190]

추가로, 도 1에 도시된 바와 같이, HLA-DR+ 단핵구에 있어서, EE 처리는 +34.1%의 변화를 야기하였고, EP 처리는 -11.38%의 변화를 야기하였다. 단핵구에서, HLA-DR 수준은 EE 처리군에서 +16.3%이고, EP 처리군에서 -4.7%이었다. 더 많은 데이터는 도 2-5에 나타난다. 방법 및 결과는 또한 문헌[Tomita et al., "The interplay of epigenetic therapy and immunity in locally recurrent or metastatic estrogen receptor-positive breast cancer: Correlative analysis of ENCORE 301, a randomized, placebo-controlled phase II trial of exemestane with or without entinostat", ONCOIMMUNOLOGY, Taylor and Francis Online, 2016]에 기재되어 있고, 이의 전체 내용은 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다.

[0191]

요약하면, ENCORE 301에서 엑스메스탄과 조합된 엔티노스타트로 처리된 ER+ 유방암 환자로부터 수득된 혈액 샘플로부터의 데이터는 환자에서 면역억제 MDSC의 HDACi 매개된 감소 및 증가된 면역적격성 CD14+HLA-DRHI 단핵구의 제1 증거를 제공하였다. 이들 발견은 ENCORE 301에서 EE에 의해 나타난 개선된 OS를 부분적으로 설명할 수 있고, 엔티노스타트와 면역 체크포인트 차단과의 계획된 조합 연구에 대한 강한 근거를 제공한다.

[0192]

엔티노스타트 처리된 환자에서 MDSC의 감소는 MDSC의 감소를 통하여 면역 체크포인트 억제제의 항종양 활성을 개선시키는 엔티노스타트의 능력을 증명하는 최근 출판된 전임상 작업(Kim et al PNAS 2014)과 일치하였다.

NSCLC 및 흑색종에서 펌프롤리주마과의 조합으로 엔티노스타트의 제1b/2상 시험은 안전성 및 임상적 이득을 결정하기 위하여 개시하였다.

[0193] TNBC에서 아테졸리주마과의 조합으로 엔티노스타트의 제1b/2상 시험이 계획된다.

[0194] 추가의 전임상 및 임상 연구는 엔티노스타트의 면역조절 활성을 추가로 탐사하기 위하여 계속 진행 중이다.

[0195] 실시예 3. 엑스메스탄과의 엔티노스타트 조합 요법을 위한 환자 선별

[0196] 엑스메스탄과의 조합으로 엔티노스타트 처리를 위한 환자를 선별하기 위하여, 말초 혈액 샘플을 환자로부터 채취한다. 환자는 비스테로이드성 아로마타제 억제제에 의한 처리 동안 진행된 전이성 호르몬-수용체 양성 유방암으로 진단된 폐경후 여성이다. 말초 혈액 샘플 5 밀리리터(mL)를 EDTA 수집 튜브에 넣고, 이를 얼음 위에서 빠르게 냉각시킨다. 혈액 샘플을 원뿔형 튜브로 옮기고, 적혈구 용해 버퍼 15 mL로 희석하고, 실온에서 10분 동안 배양한다. 적혈구 용해를 인산염 완충 식염수(PBS) 30 mL에 의한 희석으로 켄칭시킨다. 세포 현탁액을 5분 동안 400 x g으로 4°C에서 원심분리하고, 상청액을 제거한다. 펠렛을 PBS 5 mL에 재현탁시키고, 새로운 원뿔형 튜브로 옮긴다. 재현탁된 샘플을 피콜(Ficoll)® 5 mL 아래에 둔다. 원심분리의 브레이크를 끄고 세포를 20분 동안 400 x g로 원심분리한다. PBS와 피콜® 층의 계면에서 유핵 세포를 새로운 원뿔형 튜브로 수확한다.

[0197] 채취한 원래 혈액과 동일한 부피를 새로운 원뿔형 튜브에서 펠렛에 가하여 세포를 세척한다. 세포 현탁액을 5분 동안 400 x g으로 4°C에서 원심분리하고, 상청액을 제거한다. 세포를 1% 소 혈청 알부민 및 0.5% EDTA(염색 버퍼)를 함유하는 PBS 중에 채취된 원래 혈액과 동일한 부피로 재현탁시킨다. 그 다음, 혈구계를 사용하여 생존 세포를 계수한다. 세포 현탁액을 5분 동안 400 x g로 4°C에서 원심분리하고, 현탁액을 제거하고, 세포를 염색 버퍼 중에 mL당 약 107 세포의 세포 농도로 재현탁시키고, 분취액 1 mL를 새로운 튜브로 옮긴다.

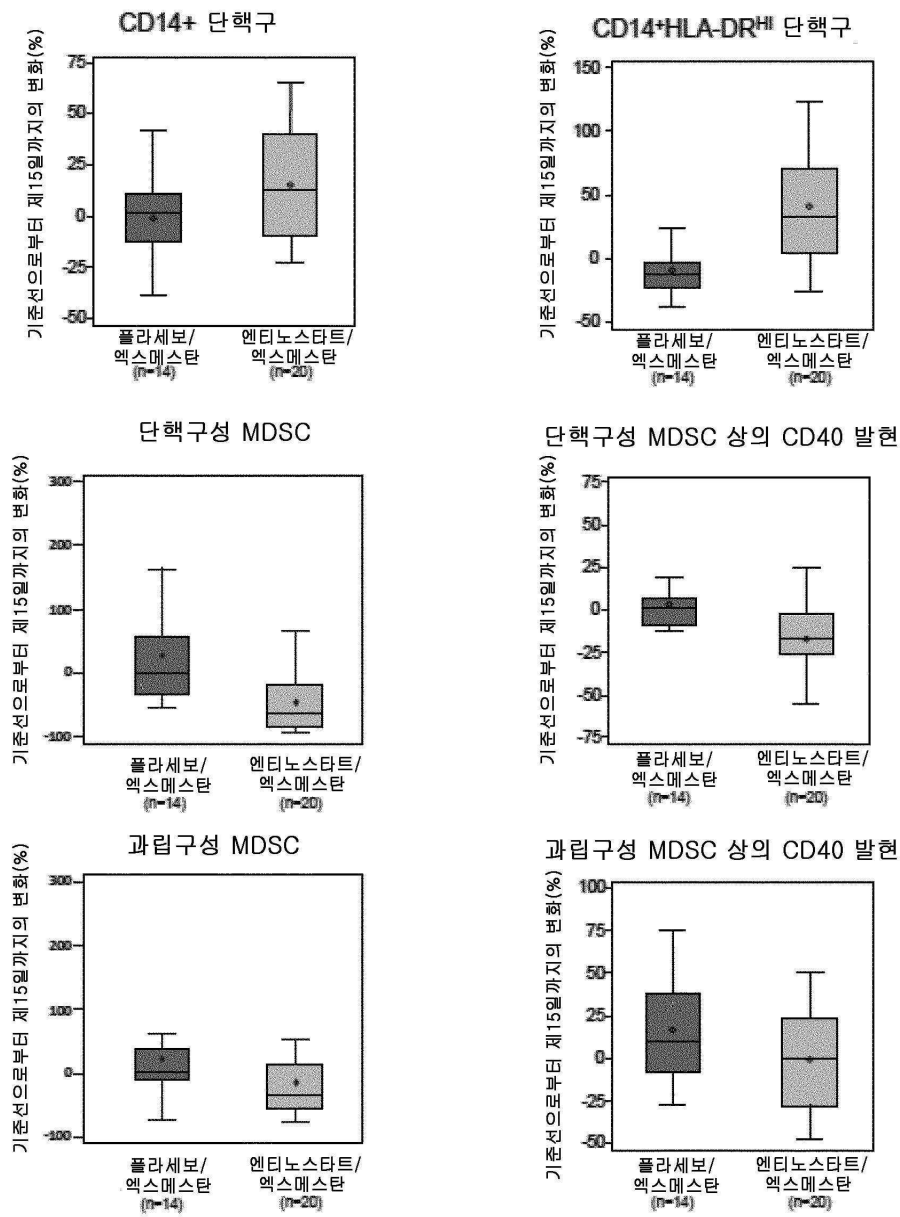
[0198] 제1 연구에서, 하기 항체를 재현탁된 세포에 가한다: FITC 접합된 항-CD11b; PE 접합된 항-CD33; PerCP-Cy™ 5.5 접합된 항-CD14; 및 APC 접합된 항-CD3, 항-CD19, 항-CD56, 및 항-HLA-DR. 제2 연구에서, 하기 항체를 재현탁된 세포에 가한다: FITC 접합된 항-CD14; PE 접합된 항-HLA-DR; 및 APC 접합된 항-CD3, 항-CD19, 및 항-CD56. 제3 연구에서, 하기 항체를 재현탁된 세포에 가한다: FITC 접합된 항-CD14 및 PE 접합된 항-HLA-DR. 대조군 샘플은 염색되지 않은 세포 및 염색된 세포를 포함하고, 각각의 형광색소 항체 세트 중 하나는 배제된다. 세포를 덮어 광 노출을 최소화하고 20분 동안 실온에 둔다. 5분 동안 400 x g로 4°C에서의 원심분리, 상청액 제거, 염색 버퍼의 동일한 부피 중에 재현탁에 의해, 염색된 세포를 염색 버퍼 중에서 2회 세척한다. 그 다음, 염색된 세포를 유동 세포 분석기에서의 사용을 위하여 폴리프로필렌 튜브로 옮긴다.

[0199] 유동 세포 분석은 유동 세포 분석 데이터의 튜브 기반 획득을 자동화하는 사이토믹스(Cytomics) FC 500 유동 세포 분석기에서 수행한다. 자동화된 작동 후, 샘플을 배경 형광(염색되지 않은 샘플을 사용) 및 형광색소 보상(개별적으로 배제된 형광색소 샘플을 사용) 둘 다에서 수집한다. 제1 연구에서, 그 다음, 항체-세포 복합체를 CD11b 및 CD33 양성 및 CD3, CD19, CD56, HLA-DR 음성에 의해 동정된 골수 유래 억제 세포, 및 CD3, CD14, CD19, CD56, 및 HLA-DR 양성 및 CD11b 및 CD33 음성에 의해 동정된 말초 혈액 단핵 세포에 대하여 계산한다. 항체-세포 복합체에 대한 이들 값을 사용하여 골수 유래 억제 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비를 계산한다. 이러한 설정에서, 환자가 골수 유래 억제 세포의 상승된 수의 존재를 나타내는 1:100 내지 1:1의 비를 갖는 경우, 환자는 엔티노스타트와 엑스메스탄의 조합 요법을 위하여 선별된다. 제2 연구에서, CD14-양성 및 HLA-DR-lo/음성 세포는 CD14 양성, HLA-DR 저발현 또는 음성, 및 CD3, CD19, 및 CD56 음성에 의해 동정된다. 말초 혈액 단핵 세포는 CD3, CD19, CD56, 및 HLA-DR 양성에 의해 동정된다. 이들 값을 사용하여 CD14-양성 및 HLA-DR-lo/음성 세포 대 말초 혈액 단핵 세포의 비를 계산한다. 이러한 설정에서, 환자가 CD14-양성 및 HLA-DR-lo/음성 세포의 상승된 수의 존재를 나타내는 1:200 내지 1:1의 비를 갖는 경우, 환자는 엔티노스타트와 엑스메스탄의 조합 요법을 위하여 선별된다. 제3 연구에서, CD14-양성 및 HLA-DR-lo/음성 세포는 CD14 양성 및 HLA-DR 저발현 또는 음성에 의해 동정된다. CD14-양성 세포는 HLA-DR 발현과 관계없이 CD14 양성에 의해 동정된다. 이들 값을 사용하여 CD14-양성 및 HLA-DR-lo/음성 세포 대 CD14-양성 세포의 비를 계산한다. 이러한 설정에서, 환자가 CD14-양성 및 HLA-DR-lo/음성 세포의 상승된 수의 존재를 나타내는 1:100 내지 99:1의 비를 갖는 경우, 환자는 엔티노스타트와 엑스메스탄의 조합 요법을 위하여 선별된다.

[0200] 본 발명이 이의 상세한 설명과 함께 설명되었지만, 상기 설명은 본 발명을 예시하는 것을 의도할 뿐, 본 발명의 범위를 제한하지 않고, 이는 첨부된 청구범위에 의해서 정의된다. 다른 측면, 이점, 및 변형은 하기 청구범위에 속한다.

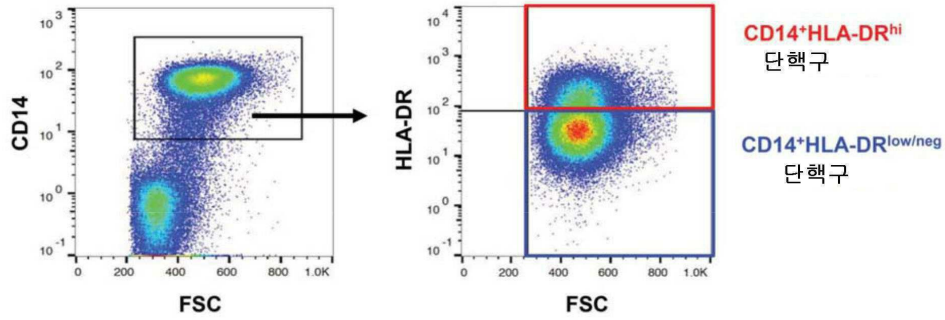
도면

도면1



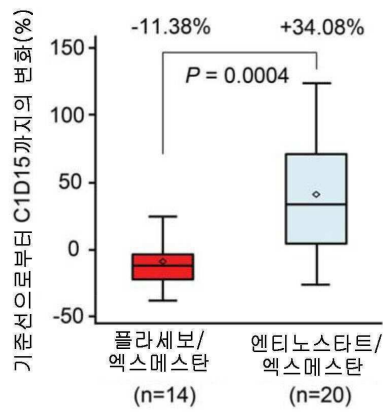
도면2

A



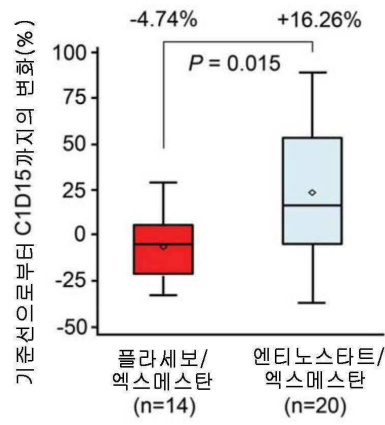
B

CD14⁺HLA-DR^{hi} 단핵구

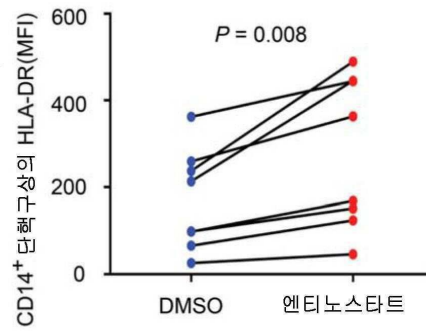
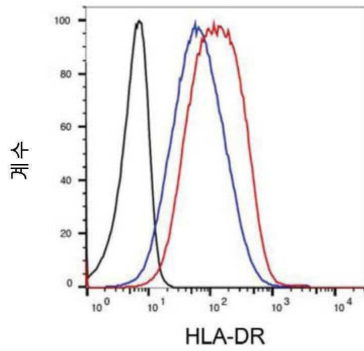


C

전체 CD14⁺ 단핵구 상의
HLA-DR 발현

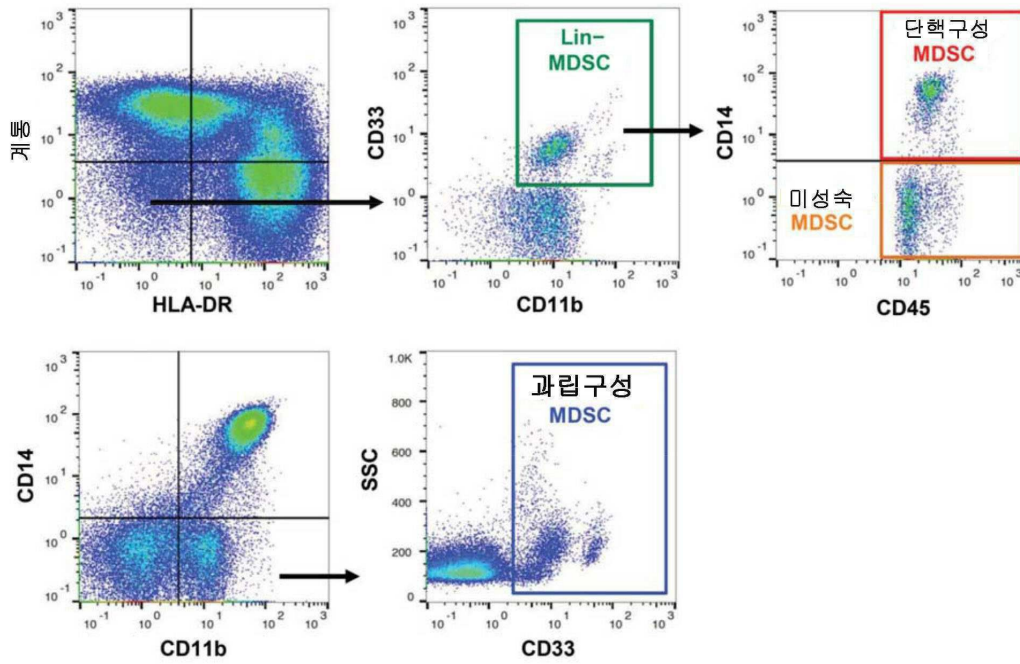


D

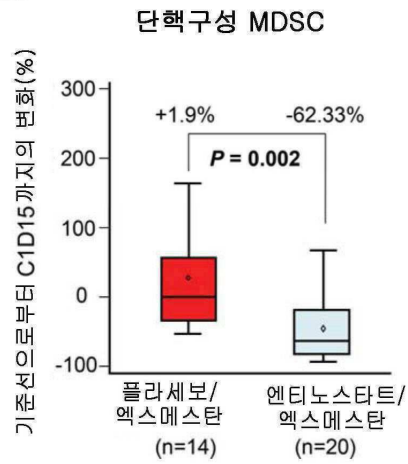


도면3

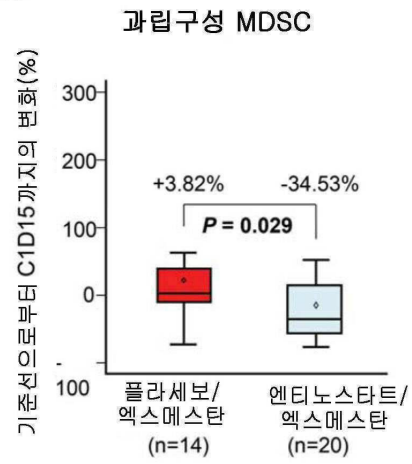
A



B

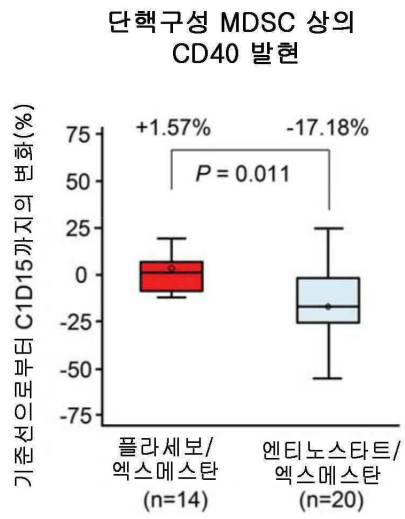


C

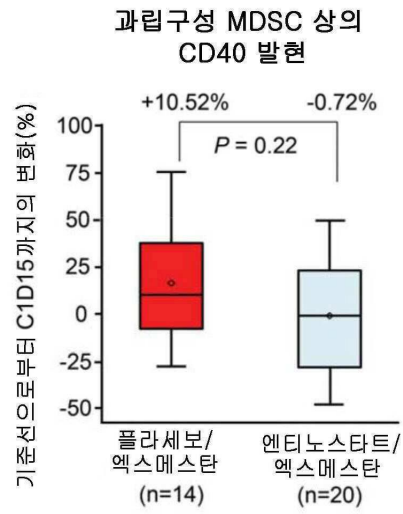


도면4

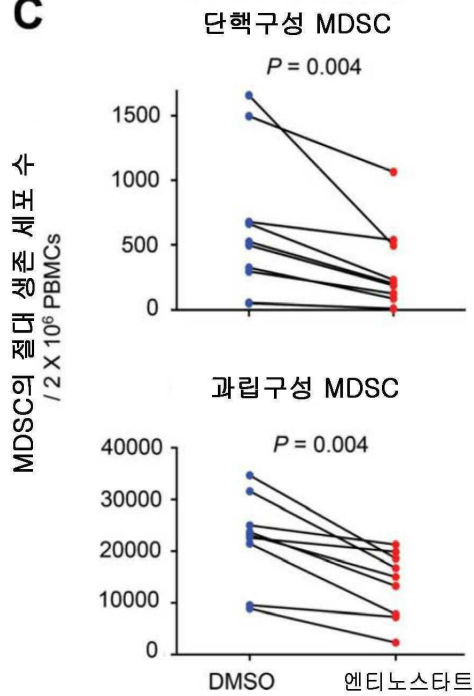
A



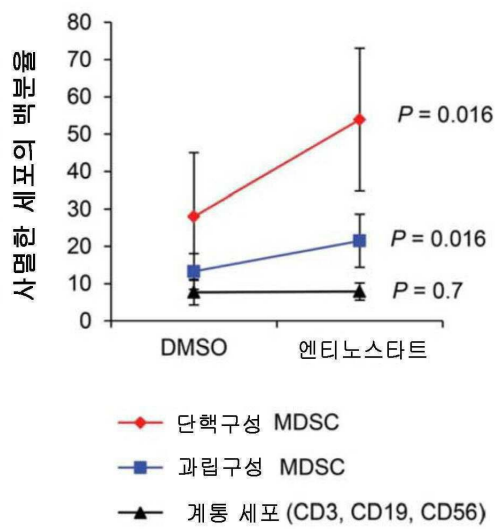
B



C

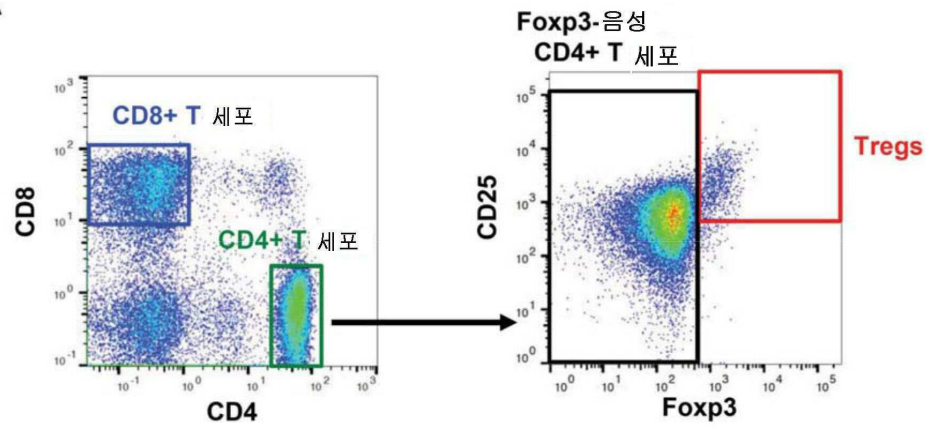


D



도면5

A



B

