



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년03월02일

(11) 등록번호 10-2505253

(24) 등록일자 2023년02월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) **A61K 39/00** (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7032126
- (22) 출원일자(국제) 2017년04월14일
 심사청구일자 2020년04월03일
- (85) 번역문제출일자 2018년11월05일
- (65) 공개번호 10-2018-0134367
- (43) 공개일자 2018년12월18일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/027662
- (87) 국제공개번호 WO 2017/181033
 국제공개일자 2017년10월19일
- (30) 우선권주장
 62/323,330 2016년04월15일 미국(US)
 62/427,679 2016년11월29일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 W02014149477 A1*
 W02015105995 A2*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 더 보드 어브 트러스티스 어브 더 리랜드 스탠포드 주니어 유니버시티
 미국 94305-2038 캘리포니아주 스탠포드 피오 박스 20386 메인 퀴드 빌딩 170 3층 오피스 오브 더 체너럴 카운셀
- (72) 발명자
 와이즈먼, 어빙 엘.
 미국 캘리포니아 94305 스탠포드 산타 이네즈 스트리트 747
 차오, 마크 피.
 미국 캘리포니아 94040 마운틴 뷰 샤워스 드라이브 2001
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 윤의섭, 김수진

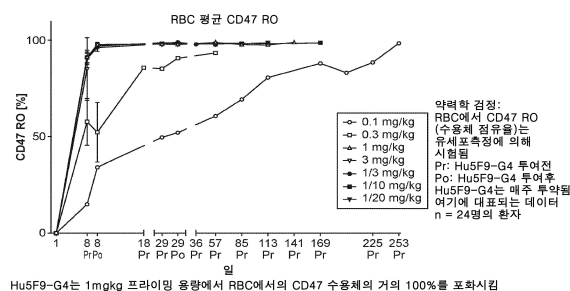
전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 암의 치료에서 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량을 결정하고 달성하는 방법

(57) 요약

항-CD47 제제로 대상체를 치료하는 방법이 제공된다.

대표도

(52) CPC특허분류

A61K 2039/545 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

(72) 발명자

마제티, 라빈드라

미국 캘리포니아 94303 팔로 알토 뉴웰 플레이스
861

리우, 지에

미국 캘리포니아 94303 팔로 알토 스톡턴 플레이스
3119

볼크메어, 옌스-피터

미국 캘리포니아 94025 멘로 파크 아파트먼트 4 라
이브 오크 애비뉴 752

명세서

청구범위

청구항 1

항-CD47 제제를 포함하는 암 치료용 약학적 조성물로서,

(a) 상기 항-CD47 제제는 인간 대상체에 투여되고, 상기 프라이밍 용량은 0.5mg/kg 내지 5mg/kg이고, 상기 프라이밍 용량은 0.05mg/ml 내지 0.5mg/ml 항-CD47 제제의 농도의 주입액으로 대상체에게 투여되고, 상기 주입액은 적어도 3시간의 기간에 걸쳐 전달되고, 및

(b) 치료적으로 효과적인 용량의 항-CD47 제제는 상기 대상체에게 투여되고, 상기 치료적 유효량은 10 내지 40 mg/kg이며, 상기 단계(b)는 단계(a)를 개시한 후 적어도 3일 후이고;

상기 항-CD47 제제는 hu5F9-G4이고; 및

상기 조성물은 항-CD47 제제의 프라이밍 용량에 의해 야기되는 급성 혈구응집과, 암의 치료에서 항-CD47제제의 치료적 유효량에 의해 야기되는 적혈구 소실 또는 빈혈을 예방 또는 감소시키는 것인, 약학적 조성물.

청구항 2

항-CD47 제제의 프라이밍 용량을 포함하는 암치료용 약학적 조성물로서, 상기 프라이밍 용량은 0.5mg/kg 내지 5mg/kg이고, 상기 조성물은 0.05 mg/ml 내지 0.5 mg/ml 항-CD47 제제의 농도를 갖는 주입액으로 제형화되고, 상기 주입액은 3시간 이상의 기간에 걸쳐 전달되고, 상기 항-CD47 제제는 CD47에 결합하는 항체이고, 상기 항체는 Hu5F9-G4이고, 및

상기 조성물은 항-CD47제제의 프라이밍 용량에 의해 야기되는 급성 혈구응집과, 암치료에서 항-CD47제제의 치료적 유효량에 의해 야기되는 적혈구 소실 또는 빈혈을 예방 또는 감소시키는 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 단계(a) 후 그리고 단계(b) 전에 상기 프라이밍 용량의 투여가 효과적인지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 결정하는 단계는 망상적혈구 계수(count)를 수행하는 것을 포함하고, 상기 프라이밍 용량의 투여는

(a) 망상적혈구 수가 100×10^9 망상적혈구 / L 내지 1000×10^9 망상적혈구 / L인 경우,

(b) 혈중 망상적혈구의 백분율이 1.5% 초과인 경우, 또는

(c) 망상적혈구 지수가 2% 초과인 경우,

효과적인 것으로 결정되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 림프종인 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 주입액은 3시간 내지 6시간의 기간에 걸쳐 전달되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프라이밍 용량은 적혈구의 CD47 부위의 적어도 50%를 포화시키

도록 결정되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 프라이밍 용량은, 비표지된 항-CD47 제제의 용량을 대상체에게 투여한 후, 혈액 샘플이 수득되고, 검출가능하게 표지된 항-CD47 항체의 포화 용량과 조합되는 수용체 점유 검정; 및 결합 수준의 결정에 의해 결정되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 9

청구항 1, 3 및 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 (b)의 치료적으로 효과적인 용량은 지속된 기간 동안 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 초과인 항-CD47 제제의 순환 수준을 달성하기에 충분한 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 지속된 기간은 1주 내지 2주인 것인, 약학적 조성물.

청구항 11

청구항 9에 있어서, 상기 치료적으로 효과적인 용량은 $10\text{mg}/\text{kg}$ 내지 $25\text{mg}/\text{kg}$ 인 것인, 약학적 조성물.

청구항 12

청구항 9에 있어서, 상기 치료적으로 효과적인 용량은 $17.5\text{mg}/\text{kg}$ 내지 $20\text{mg}/\text{kg}$ 인 것인, 약학적 조성물.

청구항 13

청구항 9에 있어서, 상기 치료적으로 효과적인 용량은 7일 내지 14일마다 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 교차 참조
- [0002] 본원은 2016년 4월 15일자로 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/323,330 및 2016년 11월 29일자로 출원된, 미국 특허 가출원 번호 62/427,679의 이점을 주장하며, 이들 출원은 그 전문이 본 명세서에 참고로 편입되어 있다.

배경 기술

- [0003] 전 세계 대다수의 암은 고형 종양이다. 2016년에는, 미국에서 1,600,000명이 넘는 사람들이 악성 고형 종양으로 새로 진단을 받을 것으로 추정된다(Siegel 등(2016), Cancer statistics, 2016. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 66:7-30). 고형 종양의 현재 치료 표준은 외과적 절개, 방사선요법, 세포독성 화학요법, 및 분자적으로 표적화된 소분자 및 단클론성 항체(mAb)를 포함한다. 이들 요법에도 불구하고, 전이암을 갖는 대부분의 환자는 질환 및/또는 치료 합병증으로 사망할 것이다. 암을 표적으로 하는 소분자는, 기존 또는 신생 내성 및 일반적으로 정상 세포에 독성을 나타내기 때문에 단일 제제로서 제한된 효능을 갖는다.
- [0004] 치료용 mAb의 개발은 몇몇 유형의 암의 치료에 실질적으로 영향을 미쳤다. 통상적으로 이들 제조합 단백질은 암 세포에 특이적으로 결합하여, 신호 전달 경로를 차단하거나 면역계에 의한 파괴를 위해 이들을 표시한다. 그러나 표적화된 mAb는 소수의 암에만 존재하며, 심지어 가장 효과적인 mAb조차 종래의 화학요법과의 병용 요법을 필요로 할 수 있으며, 종종 불완전한 치료 반응을 일으킬 수 있다. 많은 환자에서, 상기 질환은 항체 표적의 상실에 의해(분자가 종양 세포 생존에 필수적이지 않을 때) 또는 종양 사멸에 대한 내성을 개발함으로써 mAb 치료에 내성이 된다. 일반적으로 환자는 질환의 재발을 경험한다.
- [0005] CD47은 선천적인 면역계에 의한 식균작용의 암세포 회피를 매개하는 주요 분자로서 확인되었다. CD47은 암 줄기 세포를 포함하는 암세포가 식세포촉진(prophagocytic), "이트 미(eat me)" 신호의 고유한 발현을 극복하는 필수적인 수단인 것으로 보인다. 정상 세포에서 암세포로의 진행은 프로그래밍된 세포사(PCD) 및 프로그래밍된 세포 제거(PCR)를 촉발시키는 유전자 및/또는 유전자 발현의 변화를 포함한다. 암 진행 단계 중 많은 부분은 PCD의 다중 기전을 전복시키며, 우세한 항포식 신호, CD47의 발현은 중요한 체크포인트를 나타낼 수 있다.
- [0006] CD47 발현은 하기 1차 악성종양을 포함하는 다수의 여러 인간 종양 유형으로부터의 암세포의 표면에서 증가된다: 두경부, 흑색종, 유방, 폐, 난소, 췌장, 결장, 방광, 전립선, 평활근육종, 교모세포종, 수모세포종, 희소돌기아교세포종, 신경아교종, 림프종, 백혈병, 및 다발성 골수종. 쥐과 이종이식 연구에서, CD47-차단 항체는 다양한 혈액학적 악성종양 및 몇몇 고형 종양으로부터 암 줄기세포 및 암세포의 식균 작용 및 제거를 가능하게 함으로써 인간 암 성장 및 전이를 억제하는 것으로 나타났다.
- [0007] CD47은 대식세포 및 수지상 세포를 포함하는 식균 세포(phagocytic cell)에서 발현되는, SIRP α 에 대한 리간드로서 작용한다. SIRP α 가 CD47 결합에 의해 활성화될 때, 그것은 신호 전달 캐스케이드를 개시하여 식균작용을 억제시킨다. 이런 식으로, CD47은 식균 세포에 우세한 억제 신호를 전달함으로써 항포식 신호로서 기능한다. 항-CD47 mAb의 차단이 암 줄기세포 및 암세포의 식세포 제거를 가능하게 하였음이 입증되었다.
- [0008] 마우스 이종이식편에서, CD47-차단 mAb는 다양한 혈액학적 악성종양 및 고형 종양으로부터 암세포의 식균작용 및 제거를 가능하게 함으로써 인간 이종이식 종양 성장 및 전이를 억제한다. 게다가, CD47 차단 mAb는 일부 종양 유형에서 치료 효능을 증대시키기 위해 확립된 암 세포 표적화 mAb 리톡시맵, 트라스트주맵, 및 세툽시맵과 상승 작용한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] SIRP α 와 CD47의 상호작용을 차단하는 항체의 효과적인 전달 방법은 임상적 관심사이며, 본 명세서에서 제공된다.

과제의 해결 수단

- [0010] 치료 용량의 항-CD47 제제로 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 본 발명의 방법은 암세포에 존재하고, 적혈구(RBC)에 존재할 수 있는 CD47에 결합하는 제제의 효과적인 프라이밍(priming) 및 치료 용량을 투여한다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항-CD47 제제는 식균 세포에 존재하는 SIRP α 에 대한 암세포에 존재하는 CD47 사이

의 결합을 방해한다. 일반적으로 그와 같은 세포 모두는 치료되는 개체에 존재한다. 그와 같은 방법은, 식세포 촉진 신호의 존재하에서, RBC 모집단에서 바람직하지 않은 부작용을 감소시키면서 상기 표적 암세포의 식균작용을 증가시킬 수 있다.

- [0011] 본 방법은 항-CD47 항체를 포함하는 CD47에 결합하는 제제로 암에 대해 대상체를 치료하기 위해 사용될 수 있으며, 여기서 용어 항체는 그것의 항체 단편 또는 변이체, 및 SIRP α 폴리펩타이드, 예를 들어, SIRP α 서열을 포함하는 다가 폴리펩타이드를 포함한다. 적합한 제제는, 비제한적으로, Hu5F9-G4를 포함하는 Hu5F9; CC-9002; TTI-621 및 2가, 4가, 등 고친화성 SIRP α 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0012] 이전에 기재된 바와 같이, CD47 결합제의 치료 용량은 적혈구(RBC)의 손실 및 빈혈을 유발할 수 있다. CD47 결합제의 프라이밍 용량의 투여는 더 신생의 적혈구를 남겨 두면서 더 오래된 적혈구를 상실시키기 때문에 독성을 상당히 감소시킨다. 이론에 의한 구속됨 없이, 프라이머 제제는 CD47 매개된 식균작용에 내성이 더 클 수 있고, 따라서 항-CD47 제제의 후속적인 투여 동안 손실에 덜 민감한 망상적혈구(더 신생의 RBC)의 생산을 증가시키는 것으로 여겨진다. 혈구, 예를 들어 RBC 및 WBC의 CD47의 수용체 점유율을 결정함으로써, 전임상 또는 임상 용도를 위해 적절한 타이밍 용량을 결정하는 방법이 제공된다. 적합한 프라이밍 용량은 RBC에서 약 50% 초과 수용체 점유율을 제공한다. 상기 프라이밍 용량을 결정하는 방법은 임의의 CD47 결합제에 적용될 수 있다.
- [0013] 본 발명의 일부 구현 예에서, Hu-5F9G4의 효과적인 프라이밍 용량이 제공되며, 여기서 인간에 대한 상기 효과적인 프라이밍 용량은 약 1mg/kg쯤, 예를 들어 적어도 약 0.5mg/kg부터 최대 약 5mg/kg 이하; 적어도 약 0.75mg/kg부터 최대 약 1.25mg/kg 이하; 적어도 약 0.95mg/kg부터 최대 약 1.05mg/kg 이하이며; 약 1mg/kg쯤일 수 있다.
- [0014] 비제한적으로 프라이밍 용량을 포함하는 CD47 결합제의 초기 용량은 또한, 주입 직후 일정 기간 동안 적혈구응집을 유발할 수 있다. 이론에 의한 구속됨 없이, 다가 CD47 결합제의 초기 용량은 상기 제제에 결합된 RBC를 가교결합시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 본 발명의 특정 구현 예에서, CD47 결합제는 RBC 및 제제의 국소 농도가 높은 혈액학적 미세환경의 가능성을 감소시키는 농도 및/또는 기간에 걸쳐 초기 용량, 및 선택적으로 후속적인 용량으로 환자에게 주입된다.
- [0015] 본 발명의 일부 구현 예에서, CD47 결합제의 초기 용량은 적어도 약 2시간, 적어도 약 2.5시간, 적어도 약 3시간, 적어도 약 3.5시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 4.5시간, 적어도 약 5시간, 적어도 약 6시간 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 주입된다. 일부 구현 예에서 초기 용량은 약 2.5시간 내지 약 6시간; 예를 들어 약 3시간 내지 약 4시간의 기간에 걸쳐 주입된다. 일부 그와 같은 구현 예에서, 주입액에서 제제의 용량은 약 0.05mg/ml 내지 약 0.5mg/ml; 예를 들어 약 0.1mg/ml 내지 약 0.25mg/ml이다.
- [0016] 일부 구현 예에서 프라이밍 용량은 약 1일, 약 2일, 약 3일, 약 4일, 약 1주, 약 10일, 약 2주로부터의 기간에 걸쳐 전달되는, 2개 이상의 하위용량(subdose)으로 분할된다.
- [0017] 다른 구현 예에서, CD47 결합제의 초기 용량, 예를 들어 프라이밍 용량은, 예를 들어 삼투 펌프, 전달 패치, 등으로서 연속 융합에 의해 투여되며, 여기서 상기 용량은 적어도 약 6시간, 적어도 약 12시간, 적어도 약 24시간, 적어도 약 2일, 적어도 약 3일의 기간에 걸쳐 투여된다.
- [0018] 일부 구현 예에서 프라이밍 용량은 당해 분야에서 공지된 바와 같이, 주사, 패치, 삼투 펌프, 등에 의해 피하 경로를 통해 전달될 수 있다.
- [0019] 프라이밍 제제의 투여 후, 망상적혈구 생산의 증가에 효과적인 기간을 감안하여, 항-CD47 제제의 치료 용량이 투여된다. 상기 치료 용량은 여러 가지 방법으로 투여될 수 있다. 일부 구현 예에서, 2개 이상의 치료적으로 효과적인 용량은, 예를 들어 매주 투약 계획에서 프라이머 제제가 투여된 후 투여된다. 일부 구현 예에서 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량은 상승 농도의 2개 이상의 용량으로 투여되며, 다른 경우에 상기 용량은 동등하다.
- [0020] 본 발명의 일부 구현 예에서, 상기 치료(유지) 용량은 지속된 기간 동안 100 μ g/ml 초과 순환 수준을 달성하기에 충분하다. 일부 그와 같은 구현 예에서 상기 항-CD47 제제는 항체 5F9이다. 일부 구현 예에서 상기 지속된 기간은 최대 약 1주이다. 일부 구현 예에서 상기 지속된 기간은 최대 약 10일이다. 일부 구현 예에서 상기 지속된 기간은 최대 약 2주이다. 일부 구현 예에서 상기 유지 용량은 약 10mg/kg 내지 약 25mg/ml, 약 12.5mg/kg 내지 약 22.5mg/kg, 약 15mg/kg 내지 약 20mg/kg, 약 17.5mg/kg 내지 약 20mg/kg, 약 10mg/kg 내지 약 20mg/kg이다. 상기 유지 용량은 약 100 μ g/ml 초과 지속된 혈청 수준을 제공하는 주기성으로 투여될 수 있으며, 여기서 투여는 매주, 8일마다, 9일마다, 10일마다, 11일마다, 12일마다, 13일마다, 2주마다, 3주마다 투여될 수 있고,

상기 유지 용량은 매일, 반월, 격월, 등과 같이 덜 빈번한 투여의 후속 요법을 제공할 수 있다.

[0021]

일부 구현 예에서 암 치료용 치료 레지멘은 비제한적으로 5F9-G4를 포함하는 항-CD47 항체의 부하 용량의 투여를 포함하며, 여기서 상기 부하 용량은 10mg/kg 내지 40mg/kg의 용량으로 주 2회 투여되고; 20mg/kg 내지 30mg/kg의 용량으로 주 2회 투여될 수 있다. 이후, 환자는 10mg/kg 내지 40mg/kg의 용량에서 매주 또는 주 2회 유지 용량이 투여되며; 20mg/kg 내지 30mg/kg의 용량일 수 있다. 일부 그와 같은 구현 예에서 상기 암은 고형 종양이다. 일부 그와 같은 구현 예에서 상기 암은 혈액암, 예를 들어 비제한적으로 급성 골수 백혈병을 포함하는 백혈병이다.

도면의 간단한 설명

[0022]

본 발명은 수반되는 도면들과 함께 관독될 때 하기 상세한 설명으로부터 가장 잘 이해된다. 특허 또는 출원 파일에는 컬러로 실행된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 통상적인 관행에 따라서, 도면의 다양한 특징은 스케일링되지 않는다는 것이 강조된다. 반대로, 다양한 특징의 치수는 명료성을 위해 임의로 확대 또는 축소된다. 도면에는 하기 도가 포함된다.

도 1. 적혈구는 저용량에서 항체로 포화된다. 그래프는 지시된 투약량에서 Hu5F9-G4로 투약된 환자의 RBC에서의 CD47의 수용체 점유율을 도시한다. 1mg/kg의 용량이 RBC 결합 부위를 포화시키는데 충분하다.

도 2. WBC CD47 수용체 점유율은 용량 농도에 따라 증가한다. 그래프는 지시된 투약량에서 Hu5F9-G4로 투약된 환자의 WBC에서의 CD47의 수용체 점유율을 도시한다.

도 3. WBC CD47 수용체 점유율은 용량 농도에 따라 증가한다. 그래프는 항체의 다양한 용량에서 WBC에서의 CD47의 수용체 점유율을 도시한다.

도 4는 임상용 항-CD47 항체의 표적 트러프 수준(trough level)을 도시하는 그래프를 제공한다.

도 5는 항-CD47 항체의 표적 트러프 수준의 약동학을 도시하는 그래프이다.

도 6은 상기 표적 트러프 수준이 인간 환자에서 10mg/kg의 반복된 투약으로 접근된다는 것을 도시하는 그래프이다.

도 7은 항-CD47 항체의 투여 후 보완적 망상적혈구증가를 동반한 빈혈을 나타내는 그래프이다.

도 8a-8b. 적혈구응집은 프라이밍 용량의 장기적인 주입으로 완화된다. 항-CD47 항체의 초기 주입과 관련된 적혈구응집에 대한 말초 도말표본 현미경사진(peripheral smear micrograph) 및 그래프를 도시한다. A. 치료전 및 Hu5F9-G4의 제1 1mg/kg(프라이밍) 투여 후 4시간에 환자로 부터 채취된 대표적인 말초 도말표본 현미경사진. 상당한 적혈구응집이 1시간 주입시 관측되며, 이는 3시간 주입시 상당히 감소된다. B. 1시간에서 3시간으로 프라이밍 용량 주입 지속기간의 연장은 적혈구응집의 빈도 및 중증도를 상당히 감소시킨다. 1+ 내지 3+는 처리후 4시간에 말초 도말표본에서 관측된 응집된 적혈구의 백분율을 나타낸다. N= 각각의 주입 시간 길이로 처리된 환자의 수.

도 9. Hu5F9-G4는 임상적으로 실행가능한 용량에서 표적 PK 수준을 달성할 수 있다. 데이터는 Hu5F9-G4가 임상적으로 실행가능한 용량에서 내부 CD47 조직 싱크(tissue sink)를 포화시킬 수 있음을 보여주며; 항체 반감기는 조직 싱크가 포화된 후 연장된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023]

본 발명은 항-CD47 제제의 치료 용량으로 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0024]

본 방법 및 조성물을 기재하기 전에, 본 발명은 기재된 특정 방법 또는 조성물에 제한되지 않으며, 당연히 다할 수 있음을 이해해야 한다. 또한, 본 명세서에 사용된 용어는 특정 구현 예만을 설명하기 위한 것이며, 본 발명의 범위가 첨부된 청구항들에 의해서만 제한될 것이기 때문에 제한적인 것으로 의도되지 않음을 이해해야 한다.

[0025]

값의 범위가 제공되는 경우, 문맥상 달리 명확히 지시되지 않는 한, 그 범위의 상한 및 하한 사이에서 하한 단위의 10분의 1까지 각각의 개재 값이 또한 구체적으로 개시된다. 임의의 언급된 값 사이의 각각의 더 작은 범위 또는 언급된 범위 내의 개재 값 및 언급된 범위 내의 임의의 다른 언급된 또는 개재 값이 본 발명에 포함된다. 이들 더 작은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 상기 범위에 포함 또는 배제될 수 있으며, 언급된 범위에서 임

의의 구체적으로 배제된 한계에 따라, 두 한계 중 어느 하나가 더 작은 범위에 포함되거나, 두 한계 모두가 더 작은 범위에 포함되지 않거나 또는 두 한계 모두가 더 작은 범위에 포함되는 각각의 범위도 본 발명에 포함된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 이러한 포함된 한계 중 어느 하나 또는 둘 모두를 배제하는 범위도 본 발명에 포함된다.

[0026] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 본 발명이 속하는 분야의 숙련가에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 일부 잠재적이고 바람직한 방법 및 물질이 이제 기재된다. 본 명세서에 언급된 모든 공보는 공보에 인용된 방법 및/또는 물질을 개시하고 설명하기 위해 본 명세서에 참고로 편입된다. 본 개시내용은 모순이 존재하는 정도까지 편입된 공보의 임의의 개시내용을 대체하는 것으로 이해된다.

[0027] 본 개시내용을 관독함으로써 당해 분야의 숙련가에게 분명한 바와 같이, 본 명세서에 기재되고 설명된 개별 구현 예 각각은 본 발명의 범위 또는 사상으로부터 벗어나지 않으면서 임의의 다른 몇몇 구현 예의 특징으로부터 쉽게 분리되거나 이와 조합될 수 있는 별개의 성분 및 특징을 갖는다. 임의의 인용된 방법은 인용된 사건 순으로 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행될 수 있다.

[0028] 본 명세서 및 첨부된 청구항들에서 사용된 바와 같이, 단수 형태("a", "an", 및 "the")는 문맥상 달리 명확히 지시되지 않는 한 복수의 지시대상을 포함함을 유의해야 한다. 따라서, 예를 들어, "세포"에 대한 언급은 복수의 그와 같은 세포를 포함하며, "펩타이드"에 대한 언급은 하나 이상의 펩타이드 및 그것의 등가물, 예를 들어 당해 분야의 숙련가에게 공지된 폴리펩타이드, 등에 대한 언급을 포함한다.

[0029] 본 명세서에서 논의된 공보들은 본원의 출원일 이전에 이들의 공시를 위해서만 제공된다. 본 명세서의 어떠한 것도 본 발명이 선행 발명에 기인하여 그와 같은 공보를 선행할 자격이 없다는 인정으로 해석되어서는 안된다. 또한, 제공된 공개일자는 실제 공개일과 상이할 수 있으며, 이는 독자적으로 확인할 필요가 있을 수 있다.

[0030] 정의

[0031] **항-CD47 제제.** 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "항-CD47 제제"는 SIRP α (예를 들어, 식균 세포 상의)에 대한 CD47 (예를 들어, 표적 세포 상의)의 결합을 감소시키는 임의의 제제를 지칭한다. 본 발명의 특정 방법에 있어서, CD47에 결합하는 제제가 관심 대상이다. 적합한 항-CD47 시약의 비-제한적인 예는 비제한적으로 고친화성 SIRP α 폴리펩타이드를 포함하는 SIRP α 시약 및 항-CD47 항체 또는 항체 단편을 포함한다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 제제는 상기 제제의 부제 하의 식균작용과 비교하여 적어도 10% (예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100%, 적어도 120%, 적어도 140%, 적어도 160%, 적어도 180%, 또는 적어도 200%)만큼 식균작용을 상향-조절할 것이다. 일부 구현 예에서, 상기 항-CD47 제제는 결합시 CD47을 활성화시키지 않는다. CD47이 활성화되면, 세포자멸사와 유사한 과정(즉, 프로그래밍된 세포사)이 일어날 수 있다(Manna and Frazier, Cancer Research, 64, 1026-1036, Feb. 1 2004). 따라서, 일부 구현 예에서, 상기 항-CD47 제제는 CD47-발현 세포의 세포사를 직접적으로 유도하지 않는다.

[0032] **항-CD47 항체.** 일부 구현 예에서, 본 항-CD47 제제는 CD47에 특이적으로 결합하고(즉, 항-CD47 항체), 한 세포 (예를 들어, 감염된 세포) 상의 CD47과 또 다른 세포(예를 들어, 식균 세포) 상의 SIRP α 사이의 상호작용을 감소시키는 항체이다. 일부 구현 예에서, 적합한 항-CD47 항체는 결합시 CD47을 활성화시키지 않는다. 적합한 항체의 비-제한적인 예는 클론 B6H12, 5F9, 8B6, 및 C3 (예를 들어 본 명세서에 참고로 구체적으로 편입된, 국제 특허 공보 WO 2011/143624에 기재됨)을 포함한다. 클론 CC-9002는 본 명세서에 참고로 구체적으로 편입된, WO2013119714에 개시되어 있다. 적합한 항-CD47 항체는 그와 같은 항체의 완전 인간, 인간화된 또는 키메라성 버전을 포함한다. 인간화된 항체(예를 들어, hu5F9-G4)는 그것의 낮은 항원성으로 인해 인간의 생체 내 적용에 특히 유용하다. 유사하게 케이나인화된(caninized), 필라인화된(felinized), 등 항체가 각각 개, 고양이, 및 다른 종에 적용하는데 특히 유용하다. 목적하는 항체는 인간화된 항체, 또는 케이나인화된, 필라인화된, 이킨화된(equinized), 보바인화된(bovinized), 포르신화된(porcinized), 등 항체 및 이들의 변이체를 포함한다.

[0033] **SIRP α 시약.** SIRP α 시약은 보통 신호 서열과 막관통 도메인 사이에 존재하는, 인식가능한 친화도에서 CD47에 결합하는데 충분한 SIRP α 의 일부 또는 결합 활성을 보유하는 그것의 단편을 포함한다. 본 발명의 특정 방법에 있어서, 다가 SIRP α 폴리펩타이드가 관심 대상이다.

[0034] 적합한 SIRP α 시약은 천연 단백질 SIRP α 와 CD47 사이의 상호작용을 감소시킨다(예를 들어, 차단, 방지, 등).

SIRP α 시약은 일반적으로 적어도 SIRP α 의 d1 도메인을 포함할 것이다. 일부 구현 예에서, SIRP α 시약은, 예를 들어, 제2 폴리펩타이드와 프레임 내에서 융합된 융합 단백질이다. 일부 구현 예에서, 상기 제2 폴리펩타이드는, 예를 들어, 상기 융합 단백질이 순환계로부터 빠르게 제거되지 않도록 융합 단백질의 크기를 증가시킬 수 있다. 일부 구현 예에서, 상기 제2 폴리펩타이드는 면역글로불린 Fc 영역의 일부 또는 전체이다. 상기 Fc 영역은 고친화성 SIRP α 시약에 의해 제공된 "돈 이트 미(don't eat me)" 신호의 차단을 향상시키는 "이트 미" 신호를 제공함으로써 식균작용을 돕는다. 다른 구현 예에서, 상기 제2 폴리펩타이드는 예를 들어, 증가된 크기, 다량체화 도메인, 및/또는 Ig 분자와의 추가의 결합 또는 상호작용을 제공하는, Fc와 실질적으로 유사한 임의의 적합한 폴리펩타이드이다. 목적하는 SIRP α 제제는 TTI-621을 포함하며, 본 명세서에 참고로 구체적으로 편입된 임상시험 식별기호 NCT02663518을 참조한다.

[0035] 일부 구현 예에서, 본 항-CD47 제제는 SIRP α -유래된 폴리펩타이드 및 그것의 유사체를 포함하는, "고친화성 SIRP α 시약"이다. 고친화성 SIRP α 시약은 국제 출원 PCT/US13/21937에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참고로 구체적으로 편입되어 있다. 고친화성 SIRP α 시약은 원상태 SIRP α 단백질의 변이체이다. 일부 구현 예에서, 고친화성 SIRP α 시약은 가용성이며, 여기서 폴리펩타이드는 SIRP α 막관통 도메인이 없으며, 야생형 SIRP α 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 변화를 포함하며, 여기서 상기 아미노산 변화는 예를 들어 오프-레이트(off-rate)를 적어도 10-배, 적어도 20-배, 적어도 50-배, 적어도 100-배, 적어도 500-배, 또는 그 이상 만큼 감소시킴으로써 CD47에 대한 SIRP α 폴리펩타이드 결합의 친화도를 증가시킨다.

[0036] 고친화성 SIRP α 시약은 보통 신호 서열과 막관통 도메인 사이에 존재하는 인식가능한 친화도, 예를 들어, 고친화도에서 CD47에 결합하는데 충분한 SIRP α 의 일부, 또는 결합 활성을 보유하는 그것의 단편을 포함한다. 고친화성 SIRP α 시약은 일반적으로 친화도를 증가시키기 위해 아미노산 잔기가 변형된 적어도 SIRP α 의 d1 도메인을 포함할 것이다. 일부 구현 예에서, 본 발명의 SIRP α 변이체는 예를 들어, 제2 폴리펩타이드와 프레임 내에서 융합된 융합 단백질이다. 일부 구현 예에서, 상기 제2 폴리펩타이드는, 예를 들어, 상기 융합 단백질이 순환계로부터 빠르게 제거되지 않도록 융합 단백질의 크기를 증가시킬 수 있다. 일부 구현 예에서, 상기 제2 폴리펩타이드는 면역글로불린 Fc 영역의 일부 또는 전체이다. 상기 Fc 영역은 고친화성 SIRP α 시약에 의해 제공된 "돈 이트 미" 신호의 차단을 향상시키는 "이트 미" 신호를 제공함으로써 식균작용을 돕는다. 다른 구현 예에서, 상기 제2 폴리펩타이드는 예를 들어, 증가된 크기, 다량체화 도메인, 및/또는 Ig 분자와의 추가의 결합 또는 상호작용을 제공하는, Fc와 실질적으로 유사한 임의의 적합한 폴리펩타이드이다. 증가된 친화성을 제공하는 아미노산 변화는 d1 도메인에 국한되어 있으며, 따라서 고친화성 SIRP α 시약은 d1 도메인 내에서 야생형 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 변화를 갖는 인간 SIRP α 의 d1 도메인을 포함한다. 그와 같은 고친화성 SIRP α 시약은 선택적으로, 추가의 아미노산 서열, 예를 들어 항체 Fc 서열; 비제한적으로 천연 단백질의 잔기 150 내지 374 또는 이의 단편을 포함하는, d1 도메인 이외의 야생형 인간 SIRP α 단백질의 일부, 일반적으로 d1 도메인과 인접한 단편; 등을 포함한다. 고친화성 SIRP α 시약은 단량체 또는 다량체, 즉 이량체, 삼량체, 사량체, 등을 일 수 있다.

[0037] 용어들 "치료(treatment)", "치료하는(treating)", "치료하다(treat)" 등은 원하는 약리적 및/또는 생리적 효과를 얻는 것을 일반적으로 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 상기 효과는 질환 또는 그것의 증상(들)을 완전히 또는 부분적으로 예방한다는 측면에서 예방적일 수 있고/있거나 질환 및/또는 질환에 기인하는 역효과에 대한 부분적인 또는 완전한 안정화 또는 치유 측면에서 치료적일 수 있다. 용어 "치료"는 포유동물, 특히 인간에서 질환의 임의의 치료를 포함하며, 하기를 포함한다:(a) 질환 또는 증상에 취약할 수 있지만, 아직 질환 또는 증상을 나타내는 것으로 진단받지 않은 대상체에서 질환 및/또는 증상(들)이 발생하는 것을 예방함;(b) 질환 및/또는 증상(들)의 억제, 즉, 그것의 발달을 저지함; 또는(c) 질환 증상(들)의 완화, 즉, 질환 및/또는 증상(들)의 퇴행을 야기함. 치료가 필요한 이들은 이미 고통받는(inflicted) 이들(예를 들어, 암을 앓는 이들, 감염된 이들, 등)뿐만 아니라 예방이 요망되는 이들(예를 들어, 암에 대한 감수성이 증가된 이들, 감염 가능성이 증가된 이들, 암을 갖는 것으로 의심되는 이들, 감염이 잠복되어 있는 것으로 의심되는 이들, 등)을 포함한다.

[0038] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "표적 세포"는 표면에서 CD47을 발현시키는 세포로, CD47 양성 표현형을 마스킹하거나 달리 변경하여(예를 들어, 항-CD47 제제의 투여에 의해) 식균 작용을 증가시킨다. 일반적으로 표적 세포는 포유동물 세포, 예를 들어 인간 세포이다.

[0039] 용어들 "수령체", "개체", "대상체", "숙주", 및 "환자"는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되며, 진단, 치료, 또는 요법이 요망되는 임의의 포유동물 대상체, 특히 인간을 지칭한다. 치료 목적상 "포유동물"은 인간, 가축 및 농장 동물, 및 동물원, 스포츠, 또는 애완동물, 예컨대 개, 말, 고양이, 소, 양, 염소, 돼지, 등을 포

함하는, 포유동물로 분류되는 임의의 동물을 지칭하며, 바람직하게는, 포유동물은 인간이다.

- [0040] "치료적으로 효과적인 용량" 또는 "치료 용량"은 원하는 임상 결과를 가져오는데(즉, 치료 효능을 달성하는데) 충분한 양이다. 치료적으로 효과적인 용량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적상, 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량은 표적 세포(예를 들어, 표적 세포)의 식균작용을 증가시킴으로써 질환 상태(예를 들어, 암)의 진행을 경감시키거나, 완화시키거나, 안정화하거나, 역전시키거나, 예방하거나, 늦추거나 또는 지연시키는데 충분한 양이다. 따라서, 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량은, 표적 세포의 식균작용을 증가시키는데 효과적인 용량에서, 식균 세포 상의 SIRP α 에 대한 표적 세포 상의 CD47의 결합을 감소시킨다.
- [0041] 일부 구현 예에서, 치료적으로 효과적인 용량은 항-CD47 제제의 지속된 혈청 수준, 즉 약 $40\mu\text{g/ml}$ 이상(예를 들어, 약 $50\mu\text{g/ml}$ 이상, 약 $60\mu\text{g/ml}$ 이상, 약 $75\mu\text{g/ml}$ 이상, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 이상, 약 $125\mu\text{g/ml}$ 이상, 또는 약 $150\mu\text{g/ml}$ 이상)의 트러프 수준(예를 들어, 항-CD47 항체)을 초래한다. 일부 구현 예에서, 치료적으로 효과적인 용량은 약 $40\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $300\mu\text{g/ml}$ (예를 들어, 약 $40\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $250\mu\text{g/ml}$, 약 $40\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $200\mu\text{g/ml}$, 약 $40\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $150\mu\text{g/ml}$, 약 $40\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $100\mu\text{g/ml}$, 약 $50\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $300\mu\text{g/ml}$, 약 $50\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $250\mu\text{g/ml}$, 약 $50\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $200\mu\text{g/ml}$, 약 $50\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $150\mu\text{g/ml}$, 약 $75\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $300\mu\text{g/ml}$ 약 $75\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $250\mu\text{g/ml}$, 약 $75\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $200\mu\text{g/ml}$, 약 $75\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $150\mu\text{g/ml}$, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $300\mu\text{g/ml}$, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $250\mu\text{g/ml}$, 또는 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $200\mu\text{g/ml}$) 범위의 항-CD47 제제(예를 들어, 항-CD47 항체)의 지속된 혈청 수준을 초래한다. 일부 구현 예에서, 고형 종양을 치료하기 위한 치료적으로 효과적인 용량은 약 $100\mu\text{g/ml}$ 이상의 항-CD47 제제(예를 들어, 항-CD47 항체)의 지속된 혈청 수준, 예를 들어, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $500\mu\text{g/ml}$, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $400\mu\text{g/ml}$, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $300\mu\text{g/ml}$, 약 $100\mu\text{g/ml}$ 내지 약 $200\mu\text{g/ml}$ 범위의 지속된 혈청 수준을 초래한다.
- [0042] 따라서, 일련의 치료적으로 효과적인 용량은 항-CD47 제제의 혈청 수준을 달성하고 유지할 수 있을 것이다. 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량은 사용된 특정 제제에 의존적일 수 있지만, 일반적으로 약 5mg/kg 체중 또는 그 이상(예를 들어, 약 8mg/kg 이상, 약 10mg/kg 이상, 약 15mg/kg 이상, 약 20mg/kg 이상, 약 25mg/kg 이상, 약 30mg/kg 이상, 약 35mg/kg 이상, 또는 약 40mg/kg 이상), 또는 약 10mg/kg 내지 약 40mg/kg (예를 들어, 약 10mg/kg 내지 약 35mg/kg , 또는 약 10mg/kg 내지 약 30mg/kg)이다. 특정 혈청 수준을 달성 및/또는 유지하는데 필요한 용량은 용량들 사이에 시간량에 비례하고, 투여된 용량의 수에 반비례한다. 따라서, 투약 빈도가 증가함에 따라, 필요한 용량은 감소한다. 투약 전략의 최적화는 당해 분야의 숙련가에 의해 쉽게 이해되고 실행될 것이다.
- [0043] 일부 구현 예에서, 프라이밍 용량은 과도한 빈혈 없이 보완적 망상적혈구증가를 유발하기에 충분한 용량(즉, 양)으로 정의된다. 일부 구현 예에서 프라이밍 용량은 후속적인 용량에 의해 악화되지 않는 빈혈을 유발하는 용량으로 정의된다. 항-CD47 제제의 프라이밍 용량은 사용된 특정 제제에 의존적일 수 있지만, 일반적으로 약 0.5 내지 약 5mg/kg 이다.
- [0044] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 용어 "프라이밍 용량"은 치료적으로 효과적인 용량이 RBC의 심각한 손실(감소된 적혈구용적률 또는 감소된 헤모글로빈)을 초래하지 않도록 치료적으로 효과적인 용량의 항-CD47 제제를 투여하기 위해 대상체를 프라이밍하는 항-CD47 제제의 용량을 지칭한다. 항-CD47 제제의 구체적인 적절한 프라이밍 용량은 사용된 제제의 특성 및 수많은 대상체-특이적 인자(예를 들어, 연령, 체중, 등)에 따라 달라질 수 있다. 항-CD47 제제의 적합한 프라이밍 용량의 예는 약 0.5mg/kg 내지 약 5mg/kg , 약 0.5mg/kg 내지 약 4mg/kg , 약 0.5mg/kg 내지 약 3mg/kg , 약 1mg/kg 내지 약 5mg/kg , 약 1mg/kg 내지 약 4mg/kg , 약 1mg/kg 내지 약 3mg/kg , 약 1mg/kg , 약 2mg/kg , 약 3mg/kg , 약 4mg/kg , 약 5mg/kg 을 포함한다.
- [0045] "유지 용량"은 치료적으로 효과적인 용량으로 의도된 용량이다. 예를 들어, 치료적으로 효과적인 용량을 결정하는 실험에서, 다수의 상이한 유지 용량이 상이한 대상체에게 투여될 수 있다. 이와 같이, 유지 용량의 일부는 치료적으로 효과적인 용량일 수 있으며, 다른 일부는 치료이하 용량(sub-therapeutic dose)일 수 있다.
- [0046] "부하 용량"은 유지 용량으로 전환하기 전에 항체의 치료 수준을 달성하는데 사용될 수 있다. 부하 용량은 유지 용량과 같거나 이보다 더 높거나 낮을 수 있지만, 일반적으로 주어진 기간에 걸쳐 제제의 더 높은 전체 전달을 제공할 것이다. 예를 들어, 부하 용량은 유지 용량과 같거나 이보다 더 낮을 수 있지만, 더 빈번하게, 예를 들어 매일, 격일로, 이를 간격으로, 주 2회, 매주, 등으로 전달될 수 있다. 대안적으로 부하 용량은 유지 용량보다 더 높은 용량일 수 있으며, 동일한 주기성으로, 또는 더 빈번하게, 예를 들어 매일, 격일로, 이를 간격으로, 주 2회, 매주, 등으로 전달될 수 있다.

- [0047] 용어들 "특이적 결합", "특이적으로 결합한다", 등은 용액 또는 반응 혼합물 내 다른 분자 또는 모이어티와 비교하여 분자에 대한 비-공유 또는 공유 우선적 결합을 지칭한다(예를 들어, 항체는 다른 이용가능한 폴리펩타이드에 비해 특정 폴리펩타이드 또는 에피토프에 특이적으로 결합함 또는 SIRP α 폴리펩타이드의 결합). 일부 구현 예에서, 특이적으로 결합하는 또 다른 분자에 대한 한 분자의 친화도는 10^{-5} M 이하(예를 들어, 10^{-6} M 이하, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-11} M 이하, 10^{-12} M 이하, 10^{-13} M 이하, 10^{-14} M 이하, 10^{-15} M 이하, 또는 10^{-16} M 이하)의 K_D (해리 상수)를 특징으로 한다. "친화도"는 결합 강도를 지칭하며, 증가된 결합 친화도는 낮은 K_D 와 상관관계가 있다.
- [0048] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 용어 "특이적 결합 구성원"은 특이적 결합 쌍의 구성원을 지칭한다(즉, 비-공유 수단을 통해, 분자 중 하나, 예를 들어, 제1 특이적 결합 구성원이 다른 분자, 예를 들어, 제2 특이적 결합 구성원에 특이적으로 결합하는 2개의 분자, 일반적으로 2개의 상이한 분자). 적합한 특이적 결합 구성원은 CD47 및/또는 SIRP α(즉, 항-CD47 제제)에 특이적으로 결합하거나, 또는 그렇지 않으면 CD47과 SIRP α 사이의 상호작용을 차단하는 제제를 포함한다.
- [0049] 용어들 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 폴리머를 지칭하는데 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 상기 용어들은 또한 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공 화학적 모방체인 아미노산 폴리머, 뿐만 아니라 자연 발생 아미노산 폴리머 및 비-자연 발생 아미노산 폴리머에 적용된다.
- [0050] 용어들 "식균 세포(phagocytic cell)" 및 "식세포(phagocyte)"는 식균작용을 할 수 있는 세포를 지칭하는데 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 식세포의 3개의 주요 카테고리가 있다: 대식세포, 단핵 세포(조각구 및 단핵구); 다형핵 백혈구(중성구) 및 수지상 세포.
- [0051] 환자와 관련하여 용어 "샘플"은 생물학적 기원의 혈액 및 다른 액체 샘플, 고체 조직 샘플 예컨대 생검 시료 또는 조직 배양 또는 이로부터 유래되거나 단리된 세포 및 그 자손을 포함한다. 상기 정의는 또한 예컨대 시약으로의 처리; 세정; 또는 특정 세포 모집단, 예컨대 암세포에 대한 농축에 의해 그것의 입수 후 어떤 식으로든 조작된 샘플을 포함한다. 상기 정의는 또한 특정 유형의 분자, 예를 들어, 핵산, 폴리펩타이드, 등에 대해 농축된 샘플을 포함한다.
- [0052] 용어 "생물학적 샘플"은 임상 샘플을 포함하며, 또한 외과적 절제에 의해 획득된 조직, 생검에 의해 획득된 조직, 배양된 세포, 세포 상청액, 세포 용해물, 조직 샘플, 기관, 골수, 혈액, 혈장, 혈청, 등을 포함한다. "생물학적 샘플"은 표적 세포 또는 정상 대조 세포를 포함하거나 이로부터 유래된 그와 같은 세포 또는 생체액(예를 들어, 암성 세포, 감염된 세포, 등)을 포함하는 것으로 의심되는 샘플, 예를 들어, 그와 같은 세포(예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 및/또는 폴리펩타이드를 포함하는 세포 용해물 또는 다른 세포 추출물)로부터 획득된 폴리뉴클레오타이드 및/또는 폴리펩타이드를 포함하는 샘플을 포함한다. 환자로부터의 고통받는 세포를 포함하는 생물학적 샘플은 또한 비-고통받는 세포를 포함할 수 있다.
- [0053] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 구체적으로 단클론성 항체(전장 단클론성 항체 포함), 다클론성 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 및 원하는 생물학적 활성을 나타내기만 하면 항체 단편을 포함한다. "항체"(Ab) 및 "면역글로불린"(Ig)은 동일한 구조적 특징을 갖는 당단백질이다. 항체가 특정 항원에 결합 특이성을 나타내는 반면, 면역글로불린은 항체, 및 항원 특이성이 결합된 다른 항체-유사 분자 둘 모두를 포함한다. 후자의 종류의 폴리펩타이드는, 예를 들어, 림프계에 의해 낮은 수준으로 생산되고, 골수종에 의해 증가된 수준으로 생산된다.
- [0054] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "항체 단편", 및 그것의 모든 문법적 변형은 온전한 항체의 항원 결합 부위 또는 가변 영역을 포함하는 온전한 항체의 부분으로서 정의되며, 여기서 상기 부분은 온전한 항체의 Fc 영역의 불변 중쇄 도메인(즉 항체 아이소타입에 따라, CH2, CH3, 및 CH4)이 없다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 비제한적으로(1) 단일-사슬 Fv(scFv) 분자(2) 관련된 중쇄 모이어티 없이, 단 하나의 경쇄 가변 도메인을 함유하는 단일 사슬 폴리펩타이드, 또는 경쇄 가변 도메인의 3개의 CDR을 함유하는 그것의 단편(3) 관련된 경쇄 모이어티 없이, 단 하나의 중쇄 가변 영역을 함유하는 단일 사슬 폴리펩타이드, 또는 중쇄 가변 영역의 3개의 CDR을 함유하는 그것의 단편 및(4) 비-인간 중 유래 단일 Ig 도메인 또는 다른 특정 단일-도메인 결합 모듈을 포함하는 나노바디를 포함하는, 인접 아미노산 잔기의 중단되지 않은 하나의 서열로 구성된 1차 구조를 갖는 폴리펩타이드인 임의의 항체 단편(본 명세서에서 일명 "단일-사슬 항체

단편" 또는 "단일 사슬 폴리펩타이드"); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 또는 다가 구조물을 포함한다. 하나 이상의 중쇄를 포함하는 항체 단편에서, 중쇄(들)는 온전한 항체의 비-Fc 영역에서 발견되는 임의의 불변 도메인 서열(예를 들어 IgG 아이소타입에서 CH1)을 함유할 수 있고/있거나 온전한 항체에서 발견되는 임의의 힌지 영역 서열을 함유할 수 있고/있거나 중쇄(들)의 힌지 영역 서열 또는 불변 도메인 서열에 융합되거나 이에 위치한 류신 지퍼 서열을 함유할 수 있다.

[0055] 본 발명에서 사용된 바와 같이, 용어 "에피토프"는 항체의 파라토프가 결합하는 항원 상의 임의의 항원 결정기를 의미한다. 에피토프 결정기는 일반적으로 분자의 화학적 활성 표면 그룹핑 예컨대 아미노산 또는 당 측쇄로 구성되며, 일반적으로 특정 3차원 구조적 특징, 뿐만 아니라 특정 전하 특징을 갖는다.

[0056] 방법

[0057] 수용체 점유(RO) 검정은 예를 들어, CD47 결합체에 의한 CD47 점유 수준을 측정한다. CD47 RO 수준을 측정하는 목적은 CD47 결합체의 용량, CD47 수용체 포화도, 및 약리적 효과 사이의 관계를 결정하기 위한 것이다. 시간 경과에 따른 수용체 점유 퍼센트는 약물의 양 또는 원하는 약리적 효과를 내기 위해 필요한 노출의 지속기간에 관하여 유용한 정보를 제공할 수 있다. 이 검정은 대리 세포(surrogate cell), 예를 들어 CD45 음성(-) 적혈구(RBC) 및 CD45 양성(+) 백혈구(WBC), 또는 다른 세포 모집단, 예를 들어 조직 생검을 통해 획득된 골수 또는 조직 세포에서 CD47 RO를 측정함으로써 체내 전체 RO를 측정하는데 사용될 수 있다. 상기 RO 검정은 또한 CD47 결합 및 또는 차단 요법을 위해 표적 세포, 예를 들어 RBC, 백혈병 세포 또는 고형 종양 세포에서 CD47 RO를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0058] 원하는 약리적 효과와 관련 있는 CD47 수용체 점유율의 역치를 결정하는데 이 검정을 사용하는 것이 관심 대상이다. 이 역치는 생체 외(시험관 내)에서 수행된 검정 또는 생체 내 투약/처리 동안 샘플의 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0059] 상기 검정의 일 구현 예에서, 목적하는 세포 중 어떤 세포에서의 CD47 결합 표준 곡선은 다양한 농도에서 형광 색소-접합된 항체를 사용하여 이루어진다. 수용체 점유율은 표적 세포를 상이한 농도의 비표지된 항체와 인큐베이션하여 측정하고, 그 다음 세포를 시험관 내 식균작용으로 분석하거나 표준 곡선에 기초한 포화 농도의 표지된 항체와 인큐베이션하고, 유세포측정에 의해 결합에 대해 분석하였다. 수용체 점유율은 아래와 같이 계산하였다:

[0060]
$$\% RO = 100 - ((MFI_{\text{시험}} - MFI_{\text{미연색됨}}) / (MFI_{\text{포화된 STD}} - MFI_{\text{미연색됨}})) \times 100$$

[0061] 다른 구현 예에서 상기 검정은 환자에게 정의된 용량의 항체를 주입하고, 일반적으로 항체의 주입 전후 환자로 부터 조직 샘플, 예를 들어 혈액 샘플을 획득함으로써 수행된다. 조직 샘플을 포화 농도의 표지된 항체와 인큐베이션하고, 유세포측정으로 분석한다. 상기 분석은, 예를 들어, 적혈구, 백혈구, 암세포, 등에서 게이팅될 수 있다.

[0062] RBC에서 CD47의 적어도 약 80% 포화도를 달성하는 프라이밍 용량은 빈혈에 대한 보상을 유도하고, 후속적인 용량에서 빈혈의 정도를 감소시키기에 충분한 것으로 밝혀졌다. 인간에서, 프라이밍 용량은 상기에 논의된 바와 같은 것으로 발견되었고, 즉 약 0.5mg/kg 내지 약 5mg/kg이다. 본 발명의 일부 구현 예에서, 수용체 점유 검정은 RBC에서 적어도 약 50% 포화도, 적어도 약 60% 포화도, 적어도 약 70% 포화도, 적어도 약 80% 포화도, 적어도 약 90% 포화도, 적어도 약 95% 포화도, 적어도 약 99% 포화도, 또는 그 이상을 제공하는 프라이밍 용량 수준을 결정하기 위해 후보 CD47 결합체로 수행된다.

[0063] 본 발명의 일부 구현 예에서, 수용체 점유 검정은 후보 항-CD47 제제, 예를 들어 CD47에 결합하는 항체, SIRP α 폴리펩타이드, 등에 대한 적절한 프라이밍 용량을 결정하기 위해 수행된다.

[0064] 처리 방법

[0065] 치료 용량의 항-CD47 제제로 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 본 방법은 프라이머 제제를 대상체에게 투여하는 단계에 이어서 치료적으로 효과적인 용량의 항-CD47 제제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현 예에서, 치료적으로 효과적인 용량의 투여 단계는 프라이머 제제의 투여를 개시한 후 적어도 약 3일(예를 들어, 적어도 약 4일, 적어도 약 5일, 적어도 약 6일, 적어도 약 7일, 적어도 약 8일, 적어도 약 9일, 또는 적어도 약 10일) 후 수행된다. 이 기간은, 예를 들어, 개체에 의해 향상된 망상적혈구 생산을 제공하기에 충분하다.

- [0066] 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량의 투여는 다수의 상이한 방식으로 달성될 수 있다. 일부 경우에, 2개 이상의 치료적으로 효과적인 용량은 프라이머 제제가 투여된 후 투여된다. 치료적으로 효과적인 용량의 적합한 투여는 단일 용량의 투여가 수반될 수 있거나, 매일, 주 2회, 매주, 2주에 한번, 한 달에 한번, 매년 등 용량의 투여를 수반할 수 있다. 일부 경우에, 치료적으로 효과적인 용량은 상승하는 농도의 2개 이상 용량(즉, 증가 용량)으로 투여되며, 여기서(i) 모든 용량은 치료 용량, 또는(ii) 치료 이하 용량(또는 2개 이상의 치료 이하 용량)이 초기에 제공되고, 치료 용량이 상기 단계적 확대(escalation)에 의해 달성된다. 상승하는 농도(즉, 증가 용량)를 설명하기 위한 하나의 비제한적인 예로서, 치료 이하 용량(예를 들어, 5mg/kg의 용량)으로 개시하여, 치료적으로 효과적인 용량이 매주 투여될 수 있으며, 각각의 후속적인 용량은 치료 용량(예를 들어, 30mg/kg)에 도달할 때까지 특정 증분(예를 들어, 5mg/kg만큼), 또는 가변성 증분으로 증가될 수 있으며, 이 시점에서 투여가 중단되거나 계속될 수 있다(예를 들어, 계속된 치료 용량, 예를 들어, 30mg/kg의 용량). 상승하는 농도(즉, 증가 용량)를 설명하기 위한 또 다른 비-제한적인 예로서, 치료적으로 효과적인 용량은 치료 용량(예를 들어, 10mg/kg의 용량)으로 개시하여, 치료적으로 효과적인 용량이 매주 투여될 수 있으며, 각각의 후속적인 용량은 치료 용량(예를 들어, 30mg/kg, 100mg/ml, 등)에 도달할 때까지 특정 증분(예를 들어, 10mg/kg만큼), 또는 가변성 증분으로 증가될 수 있으며, 이 시점에서 투여가 중단되거나 계속될 수 있다(예를 들어, 계속된 치료 용량, 예를 들어, 30mg/kg, 100mg/ml, 등의 용량). 일부 구현 예에서, 치료적으로 효과적인 용량의 투여는 연속 주입일 수 있고, 용량은 경시적으로 변경(예를 들어, 단계적 확대)될 수 있다.
- [0067] 투약량 및 빈도는 환자에서 항-CD47 제제의 반감기에 따라 달라질 수 있다. 그와 같은 지침은 예를 들어 항체 단편의 사용시, 항체 콘주게이트의 사용시, SIRP α 시약의 사용시, 가용성 CD47 펩타이드 등의 사용시 활성제의 분자량에 대해 조정될 것임이 당해 분야의 숙련가에 의해 이해될 것이다. 투약량은 또한, 국소화된 투여, 예를 들어 비강내, 흡입, 등, 또는 전신 투여, 예를 들어 i.m., i.p., i.v., s.c., 등을 위해 다양할 수 있다.
- [0068] *프라이머 제제의 효과적인 투여*. 비제한적으로 프라이밍 용량을 포함하는 CD47 결합제의 초기 용량은 주입 직후 일정 기간 동안 적혈구응집을 유발할 수 있다. 이론에 의한 구속됨 없이, 다가 CD47 결합제의 초기 용량은 상기 제제에 결합된 RBC의 가교결합을 초래할 수 있는 것으로 여겨진다. 본 발명의 특정 구현 예에서, CD47 결합제는 RBC 및 상기 제제의 국소 농도가 높은 혈액학적 미세환경의 가능성을 감소시키는 농도 및/또는 기간에 걸쳐 초기 용량, 및 선택적으로 후속적인 용량으로 환자에게 주입된다.
- [0069] 본 발명의 일부 구현 예에서, CD47 결합제의 초기 용량은 적어도 약 2시간, 적어도 약 2.5시간, 적어도 약 3시간, 적어도 약 3.5시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 4.5시간, 적어도 약 5시간, 적어도 약 6시간 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 주입된다. 일부 구현 예에서 초기 용량은 약 2.5시간 내지 약 6시간; 예를 들어 약 3시간 내지 약 4시간의 일정 기간에 걸쳐 주입된다. 일부 그와 같은 구현 예에서, 주입액에서 상기 제제의 용량은 약 0.05mg/ml 내지 약 0.5mg/ml; 예를 들어 약 0.1mg/ml 내지 약 0.25mg/ml이다.
- [0070] 다른 구현 예에서, CD47 결합제의 초기 용량, 예를 들어 프라이밍 용량은, 예를 들어 삼투 펌프, 전달 패치, 등으로서 연속 용합에 의해 투여되며, 여기서 상기 용량은 적어도 약 6시간, 적어도 약 12시간, 적어도 약 24시간, 적어도 약 2일, 적어도 약 3일의 기간에 걸쳐 투여된다. 많은 그와 같은 시스템은 당해 기술에 공지되어 있다. 예를 들어 DUROS 기술은 피스톤에 의해 분리된 이중-구획 시스템을 제공한다. 구획 중 하나는 전달 기간 내내 계속 존재하고 일정한 삼투압 구배를 초래하도록 과량의 고체 NaCl로 특수하게 만들어진 삼투 엔진으로 구성된다. 그것은 또한 한쪽 끝에서 반투막으로 구성되며, 상기 막을 통해 물이 삼투 엔진으로 유입되고 조직수와 삼투 엔진 사이에 크고 일정한 삼투압 구배가 확립된다. 다른 구획은 삼투 구배로 인해 약물이 방출되는 오리피스에 있는 약물 용액으로 구성된다. 이는 인간에게 이식될 때 부위 특이적이고 전신적인 약물 전달을 제공하는 것을 돕는다. 바람직한 이식 부위는 상완의 안쪽에 피하로 배치된다.
- [0071] 프라이밍 제제의 투여 후, 망상적혈구 생산의 증가에 효과적인 기간을 감안하여, 항-CD47 제제의 치료 용량이 투여된다. 상기 치료 용량은 여러 가지 방법으로 투여될 수 있다. 일부 구현 예에서, 2개 이상의 치료적으로 효과적인 용량은, 예를 들어 매주 투약 계획에서 프라이머 제제가 투여된 후 투여된다. 일부 구현 예에서 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량은 상승 농도의 2개 이상의 용량으로 투여되며, 다른 경우에 상기 용량은 동등하다. 프라이밍 용량 후 적혈구응집이 감소하며, 따라서 연장된 주입 시간이 필요하지 않다.
- [0072] 키트
- [0073] 본 방법에 사용하기 위한 키트가 또한 제공된다. 본 키트는 프라이머 제제 및 항-CD47 제제를 포함한다. 일부 구현 예에서, 키트는 2개 이상의 프라이머 제제를 포함한다. 일부 구현 예에서, 키트는 2개 이상의 항-CD47 제제를 포함한다. 일부 구현 예에서, 프라이머 제제는 투약 형태(예를 들어, 프라이밍 투약 형태)로 제공된다. 일

부 구현 예에서, 프라이머 제제는 2개 이상의 상이한 투약 형태(예를 들어, 2개 이상의 상이한 프라이밍 투약 형태)로 제공된다. 일부 구현 예에서, 항-CD47 제제는 투약 형태(예를 들어, 치료적으로 효과적인 투약 형태)로 제공된다. 일부 구현 예에서, 항-CD47 제제는 2개 이상의 상이한 투약 형태(예를 들어, 2개 이상의 상이한 치료적으로 효과적인 투약 형태)로 제공된다. 키트의 맥락에서, 프라이머 제제 및/또는 항-CD47 제제는 임의의 편리한 패키징(예를 들어, 스틱 팩(stick pack), 용량 팩(dose pack), 등)에서 액체 또는 고체 형태로 제공될 수 있다.

[0074] 상기 성분에 추가하여, 본 키트는 추가로, 본 방법을 실시하기 위한 지침을(특정 구현 예에서) 포함할 수 있다. 이들 지침은 본 키트에 여러 가지 형태로 존재할 수 있으며, 이중 하나 이상은 키트에 존재할 수 있다. 이러한 지침이 존재할 수 있는 한 가지 형태는 적합한 매체 또는 기재에 인쇄된 정보, 예를 들어, 정보가 인쇄된 종이 조각 또는 조각들, 키트의 패키징, 포장 삽입물, 등이다. 이러한 지침의 또 다른 형태는 정보가 기록된 컴퓨터 판독가능 매체, 예를 들어, 디스켓, 콤팩트 디스크(CD), 플래시 드라이브, 등이다. 존재할 수 있는 이러한 지침의 또 다른 형태는 인터넷을 통해 제거된 사이트에서 정보에 접근하는데 사용될 수 있는 웹사이트 주소이다.

[0075] 유용성. 본 방법 및 키트는 동일한 유형의 정상 세포에 비해 표적 세포가 CD47의 증가된 발현을 나타내는 임의의 고통을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 투여된 항-CD47 제제는 SIRP α (예를 들어, 식세포 상의)와 표적 세포(예를 들어, 암세포, 감염된 세포, 등) 상의 CD47 사이의 상호작용을 억제하여 표적 세포의 생체 내 식균작용을 증가시킨다. 본 방법은 비제한적으로 시약과 또 다른 약물(예를 들어, 항암 약물, 등)의 조합을 포함하는 항-CD47 제제의 치료적으로 효과적인 용량을 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0076] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "암"은 세포의 비정상적인, 조절되지 않는 성장에 의해 야기된 여러 가지 상태를 지칭한다. "암세포"로 칭해지는 암을 유발할 수 있는 세포는 조절되지 않는 증식, 불멸, 전이 잠재력, 신속한 성장 및 증식 속도, 및/또는 특정 전형적인 형태적 특징과 같은 특징적인 특성을 갖는다. 암은, 비제한적으로, 종양 또는 종양들의 존재를 검출하고(예를 들어, 임상 또는 방사선 수단에 의해), 종양 내 또는 또 다른 생물학적 샘플로부터 세포를 검사하고(예를 들어, 조직 생검에 의해), 암을 나타내는 혈액 마커를 측정하고, 암을 나타내는 유전자형을 검출하는 것을 포함하는, 임의의 여러 가지 방법으로 검출될 수 있다. 그러나 상기 검출 방법 중 하나 이상에서의 음성 결과가 반드시 암의 부재를 나타내지 않으며, 예를 들어, 암 치료에 대한 완전한 반응을 나타낸 환자는 차후의 재발로 입증되는 바와 같이, 암을 계속해서 가질 수 있다.

[0077] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 용어 "암"은 암종, (예를 들어, 제자리 암종, 침습성 암종, 전이성 암종) 및 전 암 상태, 즉 그것의 조직학적 기원과 독립적인 부정형(neomorphic) 변화를 포함한다. 용어 "암"은 발병된 조직 또는 세포 응집체의 임의의 단계, 등급, 조직형태학적 특징, 침입성, 공격성 또는 악성종양에 국한되지 않는다. 특히 0기 암, I기 암, II기 암, III기 암, IV기 암, I급 암, II급 암, III급 암, 악성 암 및 원발성 암종이 포함된다.

[0078] 치료될 수 있는 암 및 암세포는, 비제한적으로, 백혈병, 림프종 및 골수종을 포함하는 혈액 암, 및 예를 들어 뇌의 종양(교모세포종, 수모세포종, 별아교세포종, 희소돌기아교세포종, 뇌실막세포종), 암종, 예를 들어 폐, 간, 갑상선, 뼈, 부신, 비장, 신장, 림프절, 소장, 췌장, 결장, 위, 유방, 자궁내막, 전립선, 고환, 난소, 피부, 두경부, 및 식도의 암종을 포함하는 고형 암을 포함한다.

[0079] 일 구현 예에서, 상기 암은 혈액 암이다. 일 구현 예에서, 상기 혈액 암은 백혈병이다. 또 다른 구현 예에서, 상기 혈액 암은 골수종이다. 일 구현 예에서, 상기 혈액 암은 림프종이다.

[0080] 일 구현 예에서, 상기 백혈병은 급성 골수 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL) 및 만성 골수성 백혈병(CML)으로부터 선택된다. 일 구현 예에서, 상기 백혈병은 AML이다. 일 구현 예에서, 상기 백혈병은 ALL이다. 일 구현 예에서, 상기 백혈병은 CLL이다. 추가 구현 예에서, 상기 백혈병은 CML이다. 일 구현 예에서, 암세포는 백혈병 세포, 예를 들어, 비제한적으로, AML 세포, ALL 세포, CLL 세포 또는 CML 세포이다.

[0081] 항-CD47 제제를 사용하는 치료에 반응하는 적합한 암은 비제한적으로 백혈병; 급성 골수 백혈병(AML); 급성 림프구성 백혈병(ALL); 전이; 최소 잔존 질환(minimal residual disease); 고형 종양 암, 예를 들어, 유방, 방광, 결장, 난소, 교모세포종, 평활근육종, 및 두경부 편평상피 세포 암종; 등을 포함한다. 예를 들어, 하기를 참조한다:(i) Willingham 등, Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Apr 24;109(17):6662-7: "The CD47-signal regulatory protein alpha(SIRP α) interaction is a therapeutic target for human solid tumors";(ii) Edris 등, Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Apr 24;109(17):6656-61: "Antibody therapy targeting the CD47

protein is effective in a model of aggressive metastatic leiomyosarcoma"; 및(iii) US 특허 출원 201100141119; 이들 모두는 그 전문이 본 명세서에 편입됨.

[0082] 약제학적 조성물. 적합한 항-CD47 제제 및/또는 프라이머 제제는 치료 용도, 예를 들어 인간 치료에 적합한 약제학적 조성물로 제공될 수 있다. 일부 구현 예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 하나 이상의 치료 독립체(therapeutic entity) 또는 그것의 약제학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 용매화물을 포함한다. 일부 다른 구현 예에서, 항-CD47 제제 또는 프라이머 제제의 사용은 또 다른 치료제(예를 들어, 또 다른 항-감염제 또는 또 다른 항암제)와 병용된 사용을 포함한다. 본 발명의 하나 이상의 항-CD47 제제 및/또는 프라이머 제제를 포함하는 치료 제형은 원하는 정도의 순도를 갖는 항-CD47 제제 또는 프라이머 제제를 선택적인 생리적으로 허용 가능한 캐리어, 부형제 또는 안정화제(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980))와 동결건조된 제형 또는 수용액의 형태로 혼합함으로써 저장을 위해 제조된다. 상기 항-CD47 제제 또는 프라이머 제제 조성물은 모범 진료 지침(good medical practice)과 일치하는 방식으로 제형화, 투약, 및 투여될 것이다. 이 문맥에서 고려해야 할 요인은 치료되는 특정 장애, 치료되는 특정 포유동물, 개별 환자의 임상 조건, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링, 및 의사에게 공지된 다른 요인을 포함한다.

[0083] 항-CD47 제제 또는 프라이머 제제는 종종 활성 치료제 및 또 다른 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물로서 투여된다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료 적용에 좌우된다. 상기 조성물은 또한, 원하는 제형에 따라, 동물 또는 인간 투여를 위한 약제학적 조성물을 제형화하는데 통상적으로 사용되는 비히클로서 정의된, 약제학적으로-허용 가능한, 무독성 캐리어 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 희석제는 조합물의 생물학적 활성에 영향을 주지 않도록 선택된다. 그와 같은 희석제의 예는 증류수, 생리적 포스페이트-완충 염수, 링거액, 텍스트로스 용액, 및 헵크스 용액(Hank's solution)이다. 또한, 상기 약제학적 조성물 또는 제형은 또한, 다른 캐리어, 아쥘란트, 또는 비독성, 비치료적, 비면역원성 안정화제 등을 포함할 수 있다.

[0084] 전형적으로, 조성물은 액체 용액 또는 현탁액으로서의 주사제로 제조되며; 주사 전에 액체 비히클 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태도 제조될 수 있다. 또한, 상기에 논의된 바와 같이, 상기 제제는 향상된 아쥘란트 효과를 위해 리포솜 또는 미세 입자 예컨대 폴리락타이드, 폴리글라이콜라이드, 또는 코폴리머에 에멀전화 또는 캡슐화될 수 있다. Langer, Science 249: 1527, 1990 and Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28: 97-119, 1997. 본 발명의 제제는 활성 성분의 지속된 또는 박동성 방출을 가능하게 하는 방식으로 제형화될 수 있는 데포 주사 또는 임플란트 제제의 형태로 투여될 수 있다. 상기 약제학적 조성물은 일반적으로 무균 상태로, 실질적으로 등장성으로서, 그리고 미국 식품의약국(U.S. Food and Drug Administration)의 모든 우수한 약품 제조관리기준(Good Manufacturing Practice; GMP) 규정을 완전히 준수하여 제형화된다.

[0085] 상기 항-CD47 제제 및/또는 프라이머 제제의 독성은, 예를 들어, LD₅₀(모집단의 50%에게 치명적인 용량) 또는 LD₁₀₀(모집단의 100%에게 치명적인 용량)을 결정함으로써 세포 배양물 또는 실험동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량 비는 치료 지수이다. 이들 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 인간에서 사용하기 위한 치료 투약 범위 및/또는 프라이밍 투약 범위를 추가로 최적화하는데 사용될 수 있다. 정확한 제형, 투여 경로 및 투약량은 환자의 상태를 고려하여 개별 의사에 의해 선택될 수 있다.

[0086] 이제 본 발명이 완전히 설명되었지만, 본 발명의 정신 또는 범위로부터 벗어나지 않으면서 다양한 변화 및 변형이 이루어질 수 있음이 당해 분야의 숙련가에게 분명할 것이다.

[0087] 실험

[0088] 하기 실시예는 본 발명을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 당해 분야의 숙련가에게 제공하기 위해 제시되며, 발명자들이 그들의 발명으로 여겨지는 것의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않으며, 또한 하기 실험이 수행된 모든 또는 유일한 시험임을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 사용된 수(예를 들어 양, 온도, 등)와 관련하여 정확성을 기하기 위한 노력이 이루어졌지만 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 나타내지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨온도이고, 압력은 대기압에서 또는 대기압 근처이다.

[0089] 본 명세서 인용된 모든 공보 및 특허 출원은, 각각의 개별 공보 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참고로 편입되도록 지시된 것처럼 본 명세서에 참고로 편입된다.

- [0090] 본 발명은 본 발명자에 의해 발견되거나 제안된 특정 구현 예에 관하여 본 발명의 실시예 바람직한 방식을 포함하여 기재되었다. 본 개시내용에 비추어, 본 발명의 의도된 범위로부터 벗어나지 않으면서 예시된 특정 구현 예에서 수많은 변형 및 변화가 이루어질 수 있음이 당해 분야의 숙련자에게 이해될 것이다. 예를 들어, 코돈 중복(codon redundancy)으로 인해, 단백질 서열에 영향을 주지 않으면서 기저 DNA 서열에 변화를 일으킬 수 있다. 또한, 생물학적 기능적 동등성 고려사항으로 인해, 종류 또는 양의 생물학적 작용에 영향을 주지 않으면서 단백질 구조에서 변화가 일어날 수 있다. 모든 그와 같은 변형은 첨부된 청구항들의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0091] 실시예 1
- [0092] 수용체 점유율 및 효과적인 투약량의 결정을 위한 검정
- [0093] 50-250 μ g/ml 사이의 Hu5F9-G4 혈청 농도는 이중이식 마우스 모델에서 AML 및 고형 종양에서의 치료 효능과 상관관계가 있다. 10mg/kg의 주 2회 유지 용량은 비-인간 영장류에서 잠재적 치료 범위에서의 Hu5F9-G4 혈청 농도를 달성한다. 10mg/kg의 매주 유지 용량은 환자에서 잠재적 치료 범위에서의 Hu5F9-G4 혈청 농도를 달성한다.
- [0094] 수용체 점유율은 표적 세포를 상이한 농도의 비표지된 Hu5F9-G4와 인큐베이션하여 측정하며, 그 다음 세포를 시험관 내 식균작용으로 분석하거나 표준 곡선에 기초한 포화 농도의 AF488-Hu5F9-G4와 인큐베이션하고, 유세포측정에 의해 결합에 대해 분석하고, APC/FITC 이중 모집단에서 게이팅하고, 각각의 샘플에 대한 MFI를 계산하였다.
- [0095] 수용체 점유율:
- [0096] $\% RO = 100 - ((MFI_{\text{시험}} - MFI_{\text{미염색됨}}) / (MFI_{\text{포화된 STD}} - MFI_{\text{미염색됨}})) \times 100$
- [0097] 본 발명자들은 우선 개별 개체에서 0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 및 30mg/kg의 단일 정맥 내 주입물로서 사이노몰구스 원숭이에게 투여된 Hu5F9-G4를 평가하였다. 모든 동물은 임상 징후, 음식 소비, 체중, 및 임상 병리학 파라미터의 변화에 대해 평가되었다. Hu5F9-G4의 투여는 일반적으로 잘 용인되었고, 임상 관찰, 음식 소비, 체중, 또는 신장, 간, 또는 심장 영향을 나타내는 임상 화학 파라미터의 포괄적인 목록에서 치료-관련 효과는 주목되지 않았다. 임상 혈액학 평가는, Hu5F9-G4가 모든 동물에서 망상적혈구증가 및 구상적혈구증과 관련된 용량-의존적인 빈혈을 유발한다는 것을 나타내었다. 빈혈의 네이더(nadir)는 주입 후 대략 5-7일에 발생하였고, 일반적으로 용량과 상관관계가 있었다. 빈혈의 중증도는 30mg/kg로 투여된 2마리의 동물에서 상이한 반응을 나타냈으므로 가변적이었다. 중요하게는, 모든 동물에서 빈혈은 자연스럽게 해결되었고, 대략 2주 후에 기준선 수준으로 돌아왔다. 모든 경우에, 유리 혈장 헤모글로빈이 검출되지 않았으며, 이는 혈관내 용혈이 없음을 나타낸다. 백혈구 또는 혈소판의 다른 이상은 관측되지 않았다. 따라서, RBC 식균작용을 조절하는데 있어서 그것의 공지된 기능과 일치하게, Hu5F9-G4는 아마 적혈구 식세포 증가증으로 인해 일시적 빈혈을 유발했지만, 그렇지 않으면 잘 용인되었다.
- [0098] Hu5F9-G4의 단일-용량 투여로, 약동학 데이터는, 10 및 30mg/kg 용량 수준만이 이중이식 연구에서 효능과 관련된 범위에서 혈청 수준을 일시적으로 달성할 수 있었음을 입증하였다. 이것은 아마 다른 비-조혈 조직 이외에, 순환하는 적혈구 및 백혈구에서 발현된 CD47의 큰 항원 싱크 때문일 것이다. 노화된 적혈구의 정상적인 제거에서 CD47의 이전에 기재된 역할에 기초하여, 이 연구에서 관측된 Hu5F9-G4-관련된 빈혈은 RBC에서 발현된 CD47에 대한 Hu5F9-G4 결합의 약리 작용과 관련된 것으로 간주되었다. RBC의 조기 손실은 뒤이은 망상적혈구증가에 의해 보완되었고, 경시적으로, 초기 빈혈은 더 신생 세포에 의한 대체로 해결되었다.
- [0099] 이들 고려사항으로부터, 본 발명자들은, 초기 저용량이 RBC의 손실을 둔화시키고, 감수성이 적은 신생 RBC의 생산을 자극하여 이후에 더 많은 용량의 내성을 촉진할 것이라는 가설에 기초하여 NHP에서 개별 용량-단계적 확대 연구를 수행하였다. 이 연구에 2마리의 동물을 등록시키고, 1주 간격으로 투약하였다: 한 마리는 EPO 전처리(3, 10, 30, 100, 및 300mg/kg)되고, 한 마리는 전처리(1, 3, 10, 30, 및 100mg/kg) 없음. 두 경우 모두, NHP는 반복 투여로 악화되지 않은 초기 투약으로 경미한 빈혈을 나타냈다. 사실상, 헤모글로빈만이 EPO 전처리 없이도, 인간에서 수혈의 상위 역치에 도달하였다. 현저하게, 동물은 추가의 혈액 또는 대사성 이상 없이 100 및 300mg/kg을 포함하는 모든 용량을 잘 용인하였다. 연구 종료시, 두 동물 모두 안락사시키고, 검시 및 조직병리 분석에서 이상이 없는 것으로 나타났다.
- [0100] 이러한 용량-단계적 확대 연구로부터, 본 발명자들은 NHP에서 Hu5F9-G4의 약동학을 결정하였다. 정상 조직에 의해 발현된 CD47의 큰 항원 싱크의 존재와 일치하게, Hu5F9-G4의 초기 저용량은 혈청으로부터 빠르게

제거되었다. 그에 반해서, 초래된 Hu5F9-G4의 더 높은 용량은 항원 싱크의 포화를 나타내는 혈청 수준을 지속시켰다. 현저하게, 300mg/kg으로 투약된 동물은 5mg/ml의 피크 수준을 나타냈으며, 적어도 2주 동안 1mg/ml 초과 수준을 지속시켰다. 이들 데이터는, 프라이밍 용량에 이어서 더 큰 유지 용량 레지멘이 전-임상 이중이식 모델에서 강력한 효능과 관련된 지속된 50-250 μ g/ml 혈청 수준을 달성할 수 있어야 함을 시사한다.

[0101] 이러한 결과로 잠재적인 임상 투약 전략을 모델링하기 위해 프라이밍-유지 투약 접근법을 사용하여 또 다른 NHP 파일럿 연구를 수행하게 되었다. 프라이밍 용량의 목표는 신생 RBC의 생산을 자극하여 이후 지속된 혈청 수준을 달성할 수 있는 더 큰 유지 용량을 용이하게 하는 것일 것이다. 본 발명자들은 1 또는 3mg/kg의 프라이밍 용량(PD)이 1일에 투여되고, 이어서 1주 후 6주 동안 30mg/kg의 매주 유지 용량(MD)이 투여된 사이노물구스 원숭이에서 연구를 수행하였다. 모든 동물은 임상적 관찰, 음식 소비, 체중, 및 임상 병리학 파라미터의 변화에 대해 평가되었다. 신장, 간, 또는 심장 영향을 나타내는 주요 임상 화학 파라미터에서의 변화 또는 사망률은 주목되지 않았다. Hu5F9-G4의 투여는 전체 투약 과정 내내 잘 용인되었다. 두 경우 모두, 프라이밍 용량은 경미한 빈혈 및 망상적혈구증가를 초래하였다. 가정된 바와 같이, 유지 용량은 치료 과정 내내 헤모글로빈의 추가 감소 없이 잘 용인되었다. 연구가 종료될 때까지, 헤모글로빈 수준은 정상 범위로 돌아왔다. 약동학적 분석에 의해, 두 동물 모두에서 C_{max} 및 혈청 농도 곡선하 면적(AUC_{0-43})에 의해 측정된 바와 같은 Hu5F9-G4에 대한 노출은 최종 용량 후 연장된 반감기와 함께 유지 투약 기간의 지속기간 동안 잠재적인 치료 범위 이내 또는 그 초과로 지속된 혈청 Hu5F9-G4 수준을 달성하였음을 보여주었다. 이러한 결과는, PD1/MD30 또는 PD3/MD30 투약 전략이 CD47 항원 싱크를 포화시킬 수 있음을 시사한다. 총체적으로, 이러한 사이노물구스 원숭이 연구는, Hu5F9-G4의 낮은 프라이밍 용량이 그다지 심하지 않은 빈혈 및 보완적 망상적혈구증가 반응을 일으켜 약물의 후속적 더 높은 유지 용량이 잘 용인될 수 있도록 한다는 것을 입증하였다.

[0102] 도 1에서 나타낸 바와 같이, Hu5F9-G4의 다양한 프라이밍 용량으로의 처리 후 인간 환자에서의 CD47 결합 표준 곡선은 AF488-접합된 Hu5F9-G4를 사용하여 제작되었다. 1mg/kg 이상의 프라이밍 용량은 환자에서 첫 번째 용량으로 적혈구에서 CD47 분자의 80% 초과를 포화시키고, 후속적인 용량으로 RBC 응집을 방지할 수 있었음을 알 수 있다. 1/3 및 1/10이 각각 1mg/kg의 첫 번째 프라이밍 용량에 이어서 3mg/kg 유지 용량, 및 1mg/kg의 첫 번째 프라이밍 용량에 이어서 10mg/kg 유지 용량을 나타내는 용량 농도를 보여준다.

[0103] 도 2 및 3에서는, 용량 증가 효과, 및 인간 환자의 백혈구에서 수용체의 포화도를 보여주는, 상이한 환자에 대한 수용체 점유율 결과가 도시된다. 각각의 선은 상이한 환자에 대응한다. 1/3 및 1/10이 각각 1mg/kg의 첫 번째 프라이밍 용량에 이어서 3mg/kg 유지 용량, 및 1mg/kg의 첫 번째 프라이밍 용량에 이어서 10mg/kg 유지 용량을 나타내는 용량 농도를 보여준다.

[0104] 도 4에서는, 전-임상 이중이식 마우스 모델에서, 내인성 CD47 싱크의 포화와 함께, 100-200 μ g/ml 트러프 수준이 치료 범위임을 보여준다. 이러한 트러프 수준은 치료적 항종양 효능과 상관관계가 있다. 비-인간 영장류(NHP) 전임상 모델에서, 프라이밍 용량 후, 10mg/kg 코호트에서 100 μ g/ml의 표적 트러프 수준이 달성되었다. 약동학적 프로파일은 임상 약동학을 예측한다.

[0105] 인간 고형 종양 환자에서 10mg/kg의 용량의 매주 투여로, 100 g/kg의 표적 트러프가 달성되며, 이는 FDA 지침을 사용하여 적절하게 전환될 때, 전임상 NHP 모델의 예측력을 설명한다. 비-인간 영장류에서 투약은 10mg/kg에서 주 2회이고(도 5), 인간 투약에서 매주 10mg/kg이다(도 6).

[0106] 항-CD47 항체의 투여와 관련된 초기 빈혈은 보완적 망상적혈구증가를 나타낸다. 도 7에서 나타낸 바와 같이, 인간 환자에서 Hu5F9-G4의 매주 투여 동안 망상적혈구의 %가 증가하며, 이는 주로 첫 번째(프라이밍) 용량 후 발견된다. Hu5F9-G4는 매주 투여된다.

[0107] 실시예 2

[0108] 연장된 주입 시간으로 적혈구응집의 감소

[0109] 적혈구는 세포 표면에서 CD47을 발현시킨다. 그러나 노화된 적혈구는 CD47 세포 표면 발현을 잃고, 식세포촉진 신호의 발현을 얻는다. 식세포촉진 신호의 획득과 커플링된 세포 표면에서의 CD47의 손실 또는 차단은 적혈구의 식세포 제거를 유도한다. 실시예 1에서 논의된 바와 같이, 수 일 내지 수 주의 기간에 걸쳐, 항-CD47 항체의 프라이밍 용량의 투여는 노화된 적혈구를 제거하고, 망상적혈구증가를 유도함으로써 항-CD47 항체의 투여에 의해 유발된 초기 일과성 빈혈을 보완할 수 있으며, 여기서 적혈구의 혈액 집단은 CD47을 발현시키지만 식세포촉진 신호를 갖지 않는 더 신생 세포로 이동한다.

- [0110] 빈혈 및 보완의 연장된 효과 이외에, 항-CD47 항체의 투여 직후 적혈구응집의 급성 효과가 있을 수 있다. 이론에 의한 구속됨 없이, 이는 정상적인 혈류 동력학이 세포와 항체를 보다 균등하게 분포시킬 때까지 투여 부위에 국재화된 항체 및 RBC의 매우 단기간 고농도에 기인할 수 있다. 고농도에서 상기 항체는 상이한 RBC에 결합하여 바람직하지 않은 가교결합 효과를 일으킬 수 있다.
- [0111] 따라서, 급성 적혈구응집을 감소시키기 위해, 주입 부위에서의 즉각적인 농도를 RBC가 가교결합되지 않는 수준으로 감소시키는 방식으로 상기 항체를 투여하는 것이 바람직하다. 초기 프로토콜에서, 항체의 프라이밍 용량은 1시간의 기간에 걸쳐 0.1mg/kg 및 0.3mg/kg의 용량에 대해 250ml의 용적; 및 1mg/kg의 용량에 대해 500ml의 용적으로 투여되었다. 도 8에서 나타낸 바와 같이, 이 프로토콜은 바람직하지 않은 적혈구응집을 유발할 수 있다.
- [0112] 그에 반해서, 동일한 용량 및 농도의 항체가 3시간의 기간에 걸쳐 환자에게 투여되는 경우, 도 8에서 도시된 바와 같이, 응집 수준이 현저히 개선된다. 연장된 투여는 프라이밍 완료 후 치료 투약을 위해 수행할 수 있지만, 프라이밍 용량의 완료 후 식세포촉진 신호를 발현시키는 노화된 RBC가 감소하기 때문에 필요하지 않다.
- [0113] 실시예 3
- [0114] 임상시험 프로토콜
- [0115] 신규한 치료용 mAb는 CD47에 특이적으로 결합하고, 식균 세포에서 그것의 리간드인, 신호 조절 단백질 알파(SIRP α)와 상호작용하는 것을 차단한다. 이는 포스파티딜세린, 칼레티쿨린(calreticulin), 등을 포함할 수 있는 식세포촉진 신호를 통한 암세포의 식균작용 및 제거를 초래한다. 적혈구를 제외하고, 정상 세포는 일반적으로 식세포촉진 신호를 나타내지 않고, 항-CD47 mAb에 의해 영향을 받지 않는다. 인간화된 CD47 차단 mAb인, Hu5F9-G4는 임상 시험용으로 개발되었고, 비-인간 영장류(NHP)에게 잠재적 치료 혈청 수준으로 안전하게 투여되었다. 임상 환경에서 Hu5F9-G4의 정맥내 투여를 뒷받침하기 위해 NHP(사ינו몰구스 및 붉은털원숭이)에서 비임상 독성학 연구를 수행하였다. 사ינו몰구스 원숭이에서 수행된 GLP 8-주 독성학 연구로부터의 데이터에 기초하여, 인간 시험을 위해 추정된 안전한 개시 용량은 0.1mg/kg이다.
- [0116] Hu5F9-G4의 약동학(PK) 및 독성역학(TK)은 GLP 독성학 연구와 함께 사ינו몰구스 원숭이에서 연구되었다. 이들 연구로부터 수집된 PK 및 TK는, Hu5F9-G4가 단일 및 다중 용량 후 6.35 내지 320시간 범위의 다양한 반감기($t_{1/2}$)를 나타낸다는 것을 나타낸다. 분포 용적은 단클론성 항체에 대해 예상되는 원숭이 혈청 용적과 비슷했다. 반감기는 증가하는 것처럼 보였고, 청소능(clearance)은 용량이 증가하고 투약이 반복됨에 따라 감소하는 것처럼 보였으며, 이는 내인성 CD47 세포 싱크를 통한 표적-매개된 청소능의 포화를 시사한다. 특히 Hu5F9-G4의 더 낮은 농도와 관련 있는 것처럼 보이는 10mg/kg 이하의 용량의 경우, 원숭이에서 확인된 안티드러그 항체(antidrug antibody: ADA)의 발생률이 주목할 만했다. 그럼에도 불구하고, 노출은 반복된-용량 연구에서 치료의 지속기간 내내 10mg/kg 이상의 용량으로 유지되었다.
- [0117] 임상시험에서 8주의 지속기간 동안 정맥내 투여를 위한 Hu5F9-G4의 사용을 뒷받침하기 위해 비임상 연구를 NHP(사ינו몰구스 및 붉은털원숭이)에서 수행하였다. GLP 독성학 연구를 사ינו몰구스 원숭이에서 수행하였고, 투약 단계는 8주간 지속되고, 8주간의 회복 기간이 뒤따랐다. GLP 8-주 독성학 연구에서, Hu5F9-G4는 총 8주 동안 프라이밍/유지 용량 스케줄을 사용하여 1-시간 정맥내 주입을 통해 수컷 및 암컷 사ינו몰구스 원숭이에게 투여되었다. Hu5F9-G4는 1일에 프라이밍 용량(5mg/kg)으로 투여되고, 이어서 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 43, 46, 50, 및 53일에 5, 10, 50, 또는 100mg/kg의 유지 용량이 주 2회 투여되었다.
- [0118] 이 연구에서 주목된 1차 치료-관련된 발견(뿐만 아니라 이전의 파일럿 독성학 연구)은 적혈구(RBC) 수, 헤모글로빈, 및 적혈구용적률을 포함하는 적혈구 매스(mass)의 감소였다. 헤모글로빈 감소는 1일에 프라이밍 용량의 투여 후 Hu5F9-G4-처리된 모든 동물에서 주목되었고, 헤모글로빈 감소는 일반적으로 8일에 제1 유지 용량의 투여 후 가장 확연하였다. Hu5F9-G4-관련된 빈혈의 중증도 및 발병률은 동물에 따라 다양했으며, 헤모글로빈 감소가 명확한 용량 의존 방식으로 발생하지 않았지만, 고-용량 유지 그룹(100mg/kg)에서는 11일에 헤모글로빈 수준이 10.0g/dL 이하인 동물의 발병률이 가장 높았다(90%). 중요하게는, 헤모글로빈 수준은 모든 동물에 걸쳐 회복되는 추세를 보였고(일반적으로 15 - 32일 무렵부터 시작하여), 연구가 끝날 때까지 회복이 계속되었다. 중증 빈혈(헤모글로빈 $\leq$ 7.0g/dL) 때문에, 2마리의 동물(5/50mg/kg 그룹 중 한 마리 및 5/100mg/kg 그룹 중 한 마리)을 투여 휴일(dose holiday)에 두어 빈혈의 회복 및 투약이 재개되면 동물이 어떻게 반응하는지를 평가하였다. 50mg/kg 유지 용량 그룹에서 동물의 헤모글로빈 수준 감소는 15 및 18일에 5.7g/dL로 낮았고, 따라서 25 - 36일에 투여 휴일을 가졌다(유지 용량 6 - 9). 이 동물의 헤모글로빈은 36일에 회복되기 시작했고, 따라서 이 동물에 대한 투약이 39일에 재개되었다(용량 10). 유지 투약이 재개되더라도, 이 동물의 헤모글로빈 수준은 연

구 종료시까지 회복이 계속되었다. 100mg/kg 유지 용량 그룹에서 동물의 헤모글로빈 수준은 18일에 6.9g/dL로 떨어졌고, 따라서 25일에 투여 휴일에 배치하였고; 이 동물은 연구 종료시까지 투여 휴일이 계속되었다. 이 동물의 헤모글로빈 수준도 연구 종료시까지 계속 회복되는 추세를 나타냈다.

[0119] 따라서, 소수의 동물이 Hu5F9-G4에 의해 초래된 빈혈에 특히 감수성일 수 있는 것으로 나타났지만, 이들 동물에서 독성의 임상 징후는 관측되지 않았고, 게다가, 빈혈은 일시적이며, 헤모글로빈 수준은 시간 경과에 따라 회복된다. 적혈구 매스의 감소 이외에, Hu5F9-G4-처리된 모든 그룹에서 망상적혈구의 증가가 관측되었고, 이는 RBC 매스의 감소와 관련 있는 강력한 적혈구생성 반응을 나타낸다.

[0120] 이전의 연구와 일치하게, 감소된 적혈구 매스는 또한 평균 혈구 용적(mean corpuscular volume; MCV) 및 합토글로빈의 감소 및 평균 혈구 헤모글로빈 농도(mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC), 망상적혈구, 및 적혈구 분포 폭(red cell distribution width; RDW)의 증가와 관련되었다. 현저하게, 임의의 Hu5F9-G4-처리된 그룹에서 유리 혈장 헤모글로빈은 관측되지 않았고, 이는 혈관내 용혈이 없음을 나타낸다. 림프구의 최소 내지 약간의 증가가 또한 관측되었지만, 이러한 증가는 사실상 일시적이고 산발적이며, 용량-의존 방식으로 발생하지 않았다. 혈구 형태학의 변화는 가속화된 적혈구 파괴/제거 및 증가된 적혈구생성과 관련된 것으로 간주되었고, 적혈구부동증, 구형적혈구(소적혈구), 편심적혈구(eccentrocyte), 적혈구 손상/제거와 일치하는 비정형 적혈구 단편, 적혈구 군집(erythrocyte clumping) 및 대형 혈소판, 뿐만 아니라 적혈구부동증 및 다염 대적혈구(polychromatophilic macrocyte)로 구성된 증가된 적혈구생성과 관련된 변화를 포함하였다.

[0121] 혈구 형태학을 포함하는 혈액학 파라미터의 치료-관련된 모든 변화는 연구가 종료될 때까지 계속 회복되는 추세를 보여주었다. 골수 도말 평가의 변화는 비정상적인 핵 형태, 다중 핵, 핵 수포형성(nuclear blebbing), 및/또는 핵에서 세포질로의 성숙 비동시성(비정상적인 핵에서 세포질로의 성숙)으로 구성된, 적혈구 계통의 최소 내지 약간의 형태적 변화(이형성증)로 국한되었다. 뚜렷한 망상적혈구증가는 적혈구 매스에서 치료-관련된 감소와 관련되었고, 이는 가속화된 적혈구생성을 나타낸다. Hu5F9-G4와 관련된 가속화된 적혈구생성 반응과 관련된 것으로 간주된 추가의 변화는 가속화된 적혈구생성과 관련된 더 미성숙한 적혈구 전구체로의 적절한 최소 내지 약간의 변화와 함께 평균 M:E 비의 약간의 감소를 포함하였다. 이전의 연구와 일치하게, GLP 8-주 연구에서 관측된 혈액학 파라미터에서의 치료-관련된 변화(즉, 헤모글로빈 감소; 증가된 망상적혈구)는 총 빌리루빈의 증가 및 합토글로빈의 감소와 관련되었다.

[0122] 임상 화학 파라미터에서의 다른 변화는 100mg/kg 유지 용량 그룹에서만 관측되었고, 알부민의 경미한 감소(2마리의 암컷 동물), 글로불린의 경미한 증가, 및 알부민:글로불린 비의 상응하는 감소를 포함하였다. 임상 화학 파라미터에서 치료-관련된 모든 변화는 투약 단계의 종료시 부분적으로 또는 완전히 가역적이었다.

[0123] 노화 적혈구의 정상적인 제거에서 CD47의 알려진 역할에 기초하여, 이 연구에서 관측된 Hu5F9-G4-관련된 빈혈은 RBC에서 발현된 CD47에 대한 Hu5F9-G4 결합의 약리 작용과 관련되는 것으로 간주된다. 본 발명자들은, Hu5F9-G4의 투여가 노화 RBC에서 CD47의 점진적인 손실을 CD47의 즉각적인 차단으로 대체함으로써 노화 RBC의 제거 과정을 가속화시킨다고 가정하였다. 노화 RBC의 조기 손실은 뒤이은 망상적혈구증가에 의해 보완되며(이는 모든 연구를 통해 관측되었음), 경시적으로, 초기 빈혈은 노화된 RBC가 더 신생 세포로 대체됨에 따라 해결되고, 그 결과, RBC 풀의 연령 분포가 더 신생 세포로 이동한다.

[0124] 종합적으로, 1주(1일)에 5mg/kg의 프라이밍 용량에서 1-시간 IV 주입에 이어서 최대 100mg/kg의 용량에서 연속 7주 동안 주 2회 유지 용량을 통한 Hu5F9-G4의 투여는 사이노몰구스 원숭이에서 임상적으로 잘 용인되었다. 치료-관련된 빈혈에도 불구하고, 중증 빈혈이 관측되어 투여 휴일을 갖는 동물을 포함하여, 임상 독성의 징후는 관측되지 않았다. 이 연구에서 관측된 혈액학 변화는 이전의 연구와 일치하였고, RBC에서 발현된 CD47에 대한 Hu5F9-G4의 결합을 통해 노화 RBC 제거 과정을 가속화하는데 있어서 Hu5F9-G4의 약리 작용과 관련되는 것으로 간주되었다. 혈액학 및 임상 화학 파라미터에서 모든 치료 관련된 변화는 연구가 종료될 때까지 부분적으로 또는 완전히 가역적이었다. 따라서, 데이터의 전체에 기초하여, 이 연구의 최고 비-중증-독성-용량(highest non-severely-toxic-dose; HNSTD)은 5/100mg/kg의 프라이밍/ 유지 용량인 것으로 간주되었고, 최고 용량이 평가되었다. 100mg/kg 유지 용량에 의해 제공된 예상된 안전 여유(safety margin)(AUC에 기초함)는 적절한 것 이상이며, 제안된 임상 연구에 대한 0.1mg/kg의 개시용량보다 766- 내지 803-배의 범위이다.

[0125] 인간화된 항-CD47 항체인, Hu5F9-G4는 Hu5F9-G4 처리 중 수혈이 필요할 수 있는 환자의 관리를 위한 전략 준비에서 수혈전 혈액형 검사(blood typing) 및 교차 적합 시험(cross-matching)에 대한 그것의 영향에 대해 시험되었다. 결과는, Hu5F9-G4가 혈장 항체 스크리닝을 방해하지 않아 동종 항체를 검출할 수 있게 하고, 의료적으로 요구된다면 농축 적혈구(packed red blood cell; PRBC) 수혈이 진행될 수 있음을 보여주었다. 그러나 전혈에서

Hu5F9-G4는 ABO 혈액형 검사, 직접적인 항글로불린 시험(direct antiglobulin test; DAT), 및 적혈구(RBC) 면역표현형 검사(immunophenotyping)의 결과를 방해하였다. 따라서, Hu5F9-G4 처리의 개시 전 수득된 혈액 샘플에서 ABO 혈액형 검사, DAT, 및 RBC 면역표현형 검사를 수행하는 것이 중요할 것이다. Hu5F9-G4를 비-인간 영양류 및 인간 공여자로부터의 RBC와 인큐베이션하였다. Hu5F9-G4는 보체-함유 혈청이 존재함에도 인간 RBC의 시험관 내 용혈을 유도하지 않았다. 상기 연구에서는 7개의 NHP 시료에서 적혈구응집(HA)의 흔적이 나타나지 않았다. 그러나 HA는 10 마이크로그램/ml의 Hu5F9-G4의 존재하에 모든 14개의 인간 공여자 혈액 샘플에서 관측되었다.

[0126] HA가 차가운 IgM 응집소에 의해 야기되는 응집-관련된 자가면역 용혈성 빈혈의 대부분의 사례와 달리, IgG4인, Hu5F9-G4에 의해 야기된 응집은 4℃에서가 아닌 37℃에서 발생하였다. RBC 응집이 몇몇 조건(일반적으로 임상적 후유증 유무 모두에서 감염원과 관련되어 있음)에서 발견될 수 있지만, 여기서 발견된 응집의 임상적 유의성은 불확실하다.

[0127] 이것은 CD47 차단 항체 Hu5F9-G4의 개방 표지, 비-무작위화된, 1상, 최초의 인간, 단계적 확대 용량 코호트 연구이다. 이 약물의 예상된 DLT는 대식 세포에 의한 노화 적혈구의 식균작용으로 인한 빈혈이다. 사이노몰구스 원숭이 연구에서 수행된 파일럿 독성학 연구에서는, 항체의 프라이밍 저용량의 투여가 보통의 빈혈 및 약물의 후속적인 더 높은 유지 용량이 잘 용인되게 할 수 있는 망상적혈구 반응을 초래하였음을 보여주었다. 따라서, 이러한 1상 시험의 전략은 우선 6명의 환자 중 6명이 처음 4주 동안 수혈 없이 8g/dl 이상의 헤모글로빈을 유지하고, 6명의 환자 중 1명 이하에서 빈혈 외에 DLT를 야기하는 단계적 확대 용량 코호트 디자인(파트 A)에서 최적의 프라이밍 용량을 확립하는 것이다. 이 최적의 프라이밍 용량이 파트 A에서 확립되면, 1주의 1일에 투여되고, 1주일 후 파트 B에서 매주 유지 투약, 및 필요하면, 파트 C(2-4주 동안 주 2회 부하 투약에 이어서 매주 유지 투약)가 뒤따를 것이다. 제1 코호트에서 0.1mg/kg의 초기 용량은 중추적 GLP 독성학 연구에서 HNSTD인 100mg/kg 주 2회 유지 용량에 비해 766배 내지 803배의 안전 여유로 뒷받침된다. 이러한 연구에 기초하고, 안전 여유의 선형 스케일링을 가정하면(이는 적용가능하지 않을 수 있음), 본 발명자들은, Hu5F9-G4가 최대 10mg/kg 및 아마 더 높은 용량에서 임상적으로 용인될 것으로 예상한다. 따라서, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 및 20mg/kg의 용량 단계적 확대 계획이 선택되었다.

[0128] 파트 A의 경우, 각각의 코호트의 제1 환자에 대해, 상기 코호트에서 제2 환자를 등록하기 전에 DLT 평가를 29일에 완료할 것이다. 3의 코호트에서의 제2 환자는 제1 환자가 DLT 평가 기간을 개시한 후 2주(요법을 개시하고 14일)까지 치료를 개시할 수 없을 것이다. 제3 환자는 제1 환자가 DLT 평가 기간을 개시하고 4주 후(요법을 개시하고 28일)에 개시될 수 있다. 파트 B 및 C의 경우, 각각의 코호트에서의 제1 환자에 대해, 상기 코호트에서 제2 환자를 등록하기 전에 DLT 평가를 29일에 완료할 것이다. 각각의 코호트에서의 후속적인 환자는 이전의 환자가 요법을 개시하고 2주 후에 치료를 개시할 수 있다. 또한, 상기 코호트에서 제3 환자는 다음의 코호트로 진행되거나 6의 코호트로 확장되기 전에 28일 동안 관찰을 요구할 것이다. 코호트가 3명에서 6명의 환자로 확장된다면, 이들 환자는 그 코호트에서 제4 및 제6 환자 간의 추가의 관찰 기간 없이, 제3 환자가 요법을 개시하고 28일 후 치료될 수 있다. 용량 수준 할당은 CTMC에 의해 결정될 것이다.

[0129] 이것은 3개의 파트를 갖는 단일 센터, 개방-표지 시험이다. 하기가 연구의 모든 파트에 적용된다: 용량 단계적 확대는 지정된 용량 수준을 거쳐 진행될 것이며, 용량 단계적 확대에 관한 결정은 4주 이상 요법이 계속된 이전 코호트의 환자에 대해 진행 중인 평가와 함께 "용량 제한 독성(DLT) 평가 기간"이라 칭해지는 현재의 코호트에서의 처음 4주의 치료에 기초할 것이다. MTD 또는 RP2DS를 추가로 개선하기 위해 추가의 코호트에 관한 결정이 CTMC에 의해 이루어질 것이며, 연구 수정을 필요로 할 것이다.

[0130] 용량 제한 독성(Dose Limiting Toxicity; DLT)의 정의. DLT는 아래와 같이, 요법의 처음 4주 이내에 발생하는 가능하게(possibly), 심중팔구(probably), 또는 확실하게(definitely) 약물 관련된 유해 사례(AE)로서 정의된다: 하기 열거된 예외가 있는 3등급 이상의 AE; IMP의 결과로 인한 빈혈은 헤모글로빈의 수준과 무관하게 수혈이 지시된다면 3등급 독성으로 간주된다. 임의의 수혈 또는 3등급 이상의 중증도의 빈혈 또는 적혈구생성 자극제를 이용할 필요성이 DLT로 간주될 것이며, 연구 프로토콜로부터의 제거로 이어질 것이다. 하기는 DLT로 간주되지 않을 것이며, DLT 정의에서 배제된다: 항구토제로 최적의 치료를 받지 못하고, 48시간 이내에 2등급 미만으로 해결된 환자의 3등급 메스꺼움; 항구토제로 최적의 치료를 받지 못하고, 48시간 이내에 2등급 미만으로 해결된 환자의 3등급 구토; 항설사제(anti-diarrheal)로 최적의 치료를 받지 못하고, 48시간 이내에 2등급 미만으로 해결된 환자의 3등급 설사; 연구중 2주 이내에 해결된 3등급 피로; 예비 조치의 부재에서 3등급 주입 반응(infusion reaction). 어느 것이 더 빠르던, 7일 이내 또는 다음 계획된 Hu5F9-G4 용량 이전에 기준선 또는 1등급으로 해결되고, 간접/비접합 빌리루빈의 증가가 간 공급원(기원을 결정하기 위해 알칼리성 포스포타제를 분별화하는 것은 조사자의 재량 내에 있음)으로부터의 AST, ALT, 및/또는 알칼리성 포스포타제의 2등급 이상의 증

가와 일시적으로 관련되지 않은, 간접/비접합 혈액 빌리루빈에서의 3등급 증가. 간접/비접합 및 직접/접합 빌리루빈의 중증도 등급 기준은 그것이 혈액 빌리루빈에 적용될 것이므로 CTCAE 4.03 기준을 사용할 것이다. 총 빌리루빈의 증가는, 직접/접합 빌리루빈이 2등급 이하이고, 간접/비접합 빌리루빈 상승이 DLT이지 않은 것으로 결정되었다면 DLT이지 않을 것이다.

[0131] 최대 허용 용량(Maximum Tolerated Dose; MTD)의 정의. 파트 B 및 C에서 1주, 1일에 대한 최적의 프라이밍 용량은 6명의 환자 중 6명이 혈액 제제 수혈을 필요로 하지 않고, 8g/dL 이상의 헤모글로빈을 유지하고(0-2등급 빈혈), 6명의 환자 중 1명 이하는 치료의 처음 4주 동안 빈혈 이외의 DLT를 갖는 파트 A에서의 최대 용량으로 선택될 것이다. 파트 B 및 C에 대한 MTD는 6명의 환자 중 1명 이하가 DLT를 경험하고, Hu5F9-G4의 적어도 1번의 유지 용량을 투여받은 환자에서 2명 이상의 환자가 DLT를 경험한 용량 수준 미만인 최대 용량 수준으로 정의된다. 적어도 1번의 유지 용량(파트 B의 경우) 또는 적어도 1번의 부하 용량(파트 C의 경우)을 투여받지 않은 파트 B 및 C의 환자에서 발생한 AE는 유지(파트 B) 또는 부하(파트 C) 용량의 선택을 위한 MTD 평가에 포함되지 않을 것이다. MTD는 파트 B 또는 C에서 달성되지 않을 수 있으며, 이 경우에 최대 투여된 허용 용량이 결정될 것이다. 최대 계획된 매주 유지 용량은 20mg/kg이다.

[0132] 환자 평가성. IMP, Hu5F9-G4에 노출된 모든 환자는 안전성에 대해 평가할 수 있으며, 데이터를 용량 단계적 확대 결정에 제공할 것이다. (1) 참여를 거절하고, DLT를 경험하지 않거나, (2) Hu5F9-G4 관련된 AE와 관련되지 않은 이유로 연구에서 제거되거나 (3) 처음 4주의 요법을 완료하기 전에 연구에서의 제거를 필요로 하는 Hu5F9-G4와 관련되지 않은 AE를 갖는 환자는 그 코호트에 또 다른 환자를 추가하여 대체될 수 있다.

[0133] 약물 투여. Hu5F9-G4는 정맥내로 투여될 것이다. 파트 A의 경우: Hu5F9-G4의 IV 주입의 지속기간은 0.1 내지 1mg/kg의 용량에 대해 60분(± 10분)이고, 1mg/kg 초과 용량에 대해 2시간(± 10분)일 것이다.

[0134] 파트 B 및 C의 경우: 프라이밍 용량은 파트 B 및 C의 대상체가 투여받을 첫 번째 용량이며, 파트 A의 완료시 1mg/kg인 것으로 결정되었다. 파트 B 및 C의 대상체의 경우, 프라이밍 용량, 즉 1mg/kg의 주입 지속기간은 3시간 일 것이다. 유지 용량은 프라이밍 용량의 완료 후 투여될 것이다. 유지 용량의 주입 지속기간은 1mg/kg 초과 용량에 대해 2시간일 것이다. 2주 이상의 투약 지연 또는 휴약(drug holiday)을 갖는 환자는 재-프라이밍될 것이며, 이 경우에 1mg/kg의 프라이밍 용량이 배정된 유지 용량의 재개 전에 3시간 동안 투여될 것이다. 예비투약은 이전의 Hu5F9-G4 투여에 주입 반응을 경험한 환자에서 제2 또는 후속적인 용량 전에 투여될 수 있다. 제안된 예비투약 레지멘은 Hu5F9-G4를 주입하기 30분 전에 투여되는 아세트아미노펜 500mg PO, 텍사메타손 8mg IV, 및 디펜히드라민 25mg IV의 조합물을 포함할 수 있다. 주입 반응의 경우에, 후속적인 치료를 위한 예비투약 레지멘은 조사자의 재량 내에 있다.

[0135] 프라이밍 용량의 확인

[0136] 연구의 이 부분의 전반적인 목표는 용량-한정 코호트의 6명의 모든 환자에서 처음 4주 이내에 허용 가능한 수준의 빈혈(3등급 미만)을 초래하는 프라이밍 용량을 확인하는 것이다. 따라서, 최적의 프라이밍 용량 수준은 6명의 모든 환자가 처음 4주 동안 수혈 없이 헤모글로빈을 8g/dL 이상으로 유지하고, 6명의 환자 중 1명 이하에서 빈혈 이외의 DLT를 초래하는 최대 용량 수준일 것이다. 환자는 IV 주입으로서 아래와 같이 투여된 연속 용량 코호트에서 평가될 것이다: 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 및 20mg/kg. 파트 A에서 용량 단계적 확대는 3mg/kg 미만의 용량 수준의 경우 변형된 가속화 적정 디자인을 따르며, 3mg/kg 이상의 용량 수준의 경우 표준 3 플러스 3 용량 단계적 확대 디자인을 따를 것이다. 상기 가속화 적정 디자인을 위해, 처음 4주 이내에 2등급 이상의 Hu5F9-G4와 관련된 AE가 관측될 때까지 코호트마다 1명의 환자가 등록될 것이다. 그와 같은 사건은 3명의 환자로 코호트를 확장시킬 것이다. 그러나 파트 A의 임의의 환자에서 처음 4주 내에 3등급 빈혈의 임의의 발생은 그 코호트 내로 추가의 증가를 중단시킬 것이며, 다음 더 낮은 용량 코호트의 확장을 초래할 것이다. 빈혈 이외의 AE의 경우, 처음 3명의 환자에서 DLT(3등급 이상의 Hu5F9-G4와 관련된 AE)를 갖는 한 명의 환자는 6명의 환자로 코호트가 확장될 것이다. DLT를 갖는 2명의 환자는, 최대 허용 프라이밍 용량이 초과되었음을 나타내며, 그 코호트의 추가 등록은 허용되지 않을 것이며, 3명 이하의 환자가 포함된다면 다음 더 낮은 용량 코호트는 6명의 환자로 확장될 것이다. 파트 A로 등록된 환자는 진행성 질환의 허용될 수 없는 독성 또는 문서화(고형 종양의 경우 RECIST v 1.1 또는 림프종의 경우 IWG 기준에 의해 결정됨)까지 또는 환자의 자발적인 연구 철회시까지 배정된 용량 수준에서 매주 치료를 계속할 것이다. 파트 B 및 C의 1일에 프라이밍 용량에 이어서 더 높은 유지 및/또는 부하 용량을 제외하고, 이 연구에서 환자 내 용량 단계적 확대는 없을 것이다. 파트 A의 처음 4주 내에 임의의 3등급 빈혈이 코호트의 중단 및 다음 더 낮은 용량 코호트의 확장을 촉발시킬 것임을 유의한다. 또한, 상기 가속화 적정 디자인은 3mg/kg 미만의 용량 수준에만 적용된다. 3mg/kg 이상의 용량 수준은 표준 3 플러스 3 디자인

인으로 수행될 것이다. 파트 A의 완료 후, 프로토콜 개정안 4.0에 따라, 프라이밍 용량은 1mg/kg으로 확인되었다. 또한, 파트 A에서 1mg/kg으로 진행 중인 매주 치료는 1mg/kg이 유지 용량으로도 안전하다는 것을 확립하였다.

[0137] 파트 B 및 C 동안 프라이밍 용량의 확장된 안전성 평가. 파트 B 및 C의 환자는 파트 A에서 결정된 1주, 1일에 1mg/kg의 최적의 프라이밍 용량에 이어서 8일에 개시되는 매주 유지 용량을 투여받을 것이다. 환자가 프라이밍 용량을 투여받은 후 그러나 환자가 유지 용량을 투여받기 전에 AE 또는 SAE가 발생한다면, 이러한 AE 또는 SAE는 프라이밍 용량에 기인할 것이며, 프라이밍 용량의 확장된 안전성 평가로 제공될 것이다. 프라이밍 용량에 기인한 SAE 및 AE는 규칙적으로 또는 필요하면 더 자주(CTMC 현장에 따라) 소집될 미팅과 더불어 CTMC에 의해 계속 면밀하게 모니터링될 것이다.

[0138] 파트 B: 단일 프라이밍 용량 후 매주 유지 투약을 위한 MTD의 확인. 파트 B의 모든 환자는 파트 A에서 결정된 1주, 1일에 최적의 프라이밍 용량에 이어서 8일에 개시되는 매주 유지 용량을 투여받을 것이다. 투여된 매주 유지 용량은 배정된 파트 B 용량 코호트에 의해 결정된다. 파트 B의 최초 제안된 용량 코호트는 0.3, 1, 3, 10, 및 20mg/kg이었다. 매주 유지 용량 코호트는 최적의 프라이밍 용량보다 더 높은 하나의 용량 수준인 용량에서 개시될 것이다. 파트 A 1mg/kg 용량 수준은 최적의 프라이밍 용량인 것으로 결정되었고, 1mg/kg의 매주 유지 투약은 안전한 것으로 결정되었으며; 따라서, 파트 B에 배정된 제1 유지 용량 수준은 3mg/kg IV 매주 용량 수준일 것이며, 유지 용량 수준 0.3 및 1mg/kg은 생략될 것이다. 파트 B의 용량 단계적 확대는 표준 3 플러스 3 용량 단계적 확대 디자인을 따를 것이다. 파트 B의 MTD는 6명의 환자 중 1명 이하가 DLT를 경험하고, Hu5F9-G4의 적어도 하나의 유지 용량을 투여받은 환자에서 2명 이상의 환자가 DLT를 경험한 용량 수준 미만인 최대 용량 수준이다. Hu5F9-G4의 적어도 하나의 유지 용량을 투여받지 않은 파트 B의 환자에서 발생한 AE는 유지 용량의 선택을 위한 DLT 평가에 포함되지 않을 것이다. MTD를 추가로 개선하기 위해, 명목 MTD 및 다음 더 높은 용량 수준 사이의 중간 용량 수준을 시험할 수 있다. 예를 들어, 3mg/kg 용량 수준에서 2명 이상의 대상체가 유지 용량에 기인한 DLT를 경험한다면, 1mg/kg과 3mg/kg 사이의 중간 용량 수준, 즉 2mg/kg을 시험하여 MTD를 추가로 개선시킬 수 있으며, 이는 2mg/kg에서 6명의 대상체 중 1명 이하가 2mg/kg에서 DLT를 경험한다면 최종 MTD 결정을 1mg/kg에서 2mg/kg로 증가시킬 수 있게 한다. 유사하게, 명목 MTD가 각각 3mg/kg 또는 10mg/kg이라면, 6.5mg/kg 및 15mg/kg의 용량 수준이 첨가될 수 있다. MTD가 유지 용량에 대해 파트 B에서 달성되지 않을 수 있으며, 이 경우에 최대 매주 용량이 20mg/kg이므로 최대 투여된 허용 용량이 결정될 것이다. 파트 B의 유지 용량에 대한 DLT 평가 기간은 제1 유지 용량(2주, 8일)의 투여 시간부터 제3 유지 용량(4주, 29일)의 완료 후 1주까지 개시될 것이다. 파트 B에 등록된 환자는 고형 종양의 경우 RECIST v 1.1 또는 림프종의 경우 IWG 기준에 의해 결정된 바와 같이 진행성 질환의 허용될 수 없는 독성 또는 문서화까지 또는 환자의 자발적인 연구 철회시까지 배정된 용량 수준에서 매주 치료를 계속할 것이다. 파트 B 및 C의 1일에 프라이밍 용량에 이어서 더 높은 유지 및/또는 부하 용량을 제외하고, 이 연구에서 환자 내 용량의 단계적 확대는 없을 것이다. RP2DS의 PK 표적은 RP2DS에 있는 6명의 환자 중 5명의 혈장에서 Hu5F9-G4 항체의 트러프 수준을 100 μ g/ml 초과로 달성 및 유지하는 것이다. 매주 투여를 위한 MTD 또는 최대 투여된 허용 용량(MTD가 없는 경우) 또는 최적의 생물학적(PK 기준) 용량이 결정되면, 연구는 매주 투약 후 Q14 및/또는 Q21일 투약이 뒤따르는 파트 B에 추가의 코호트를 추가하도록 수정될 수 있다. 더 장기적인 스케줄은 이용 가능한 안전성, PK, 및 약력학 데이터의 상세한 검토 후에만 개시될 것이다. 예를 들어, 이것은 PK 파라미터가 표적-매개된 청소능의 포화 및 Hu5F9-G4 반감기의 연장을 지시할 때 개시될 수 있다. Q14 또는 Q21일 간격 코호트 동안 투약은 20mg/kg이 잘 용인된다면 프로토콜 수정에 의해 30mg/kg로 증가시킬 수 있다.

[0139] 파트 C: 적절한 PK 파라미터가 파트 B에서 매주 투약에 의해 달성되지 않는다면, 초기 프라이밍 용량 후 및 매주 유지 투약 전에, 주 2회 부하 투약을 위한 MTD의 확인. 파트 C는 Hu5F9-G4에 대한 적절한 노출이 파트 B에서 달성되지 않을 경우 개시될 수 있다. 적절한 노출은 57일까지 권고된 2 단계 용량에서 6명의 환자 중 5명에서 항체의 트러프 수준이 100 μ g/ml 초과로 달성되는 것으로 정의된다. 파트 C의 모든 환자는 배정된 파트 C 용량 코호트에 따라서 1주, 1일에 파트 A에서 결정된 최적의 프라이밍 용량에 이어서 주 2회 부하 용량을 투여받을 것이다. 프라이밍 용량에 기인한 SAE 및 AE는 규칙적으로 또는 필요에 따라 필요하면 더 자주(CTMC 현장에 따라) 소집될 미팅과 더불어 CTMC에 의해 계속 면밀하게 모니터링될 것이다. 파트 C의 최초 제안된 용량 코호트는 0.3, 1, 3, 10, 및 20mg/kg이었다. 주 2회 부하 용량 코호트는 파트 B MTD 또는 최대 투여된 허용 용량보다 낮은 하나의 수준인 용량 수준에서 개시될 것이다. 따라서, 파트 B에서 20mg/kg이 MTD였다면, 파트 C의 주 2회 부하 용량은 10mg/kg일 것이다. 주 2회 부하 용량(매주 기간의 첫 번째 및 네 번째 날에 투여됨)은 2, 3, 및 4주 동안 투여될 것이다. 이것은 5-8주에 매주 유지 용량이 뒤따를 것이다. 파트 C에서 제안된 코호트 내에서 Hu5F9-G4 혈청 농도의 완료 및 분석 후 그리고 3주의 부하가 종료될 때(2-4주) 주 2회 투여 동안 적절한 노출이

달성되지 않은 경우에, 프로토콜은 4주를 넘어 추가의 2-주 기간 동안 주 2회 부하 투약의 코호트를 포함하도록 수정될 수 있다. 파트 C에서 부하 또는 유지를 위한 20mg/kg보다 더 높은 용량 수준은 프로토콜 수정을 필요로 할 것이다. 파트 B와 유사하게, MTD 또는 최대 투여된 허용 용량(MTD가 없는 경우) 또는 최적의 생물학적 용량이 결정될 때 주 2회 부하 투약, 그 다음 매주 유지 투약에 이어서 안전성, PK, 및 약력학 데이터에 기초한 Q14 또는 Q21일 투약이 뒤따르는 파트 C에 추가의 코호트가 추가될 수 있다. 예를 들어, 더 장기적인 스케줄은 PK 파라미터가 표적-매개된 청소능의 포화 및 Hu5F9-G4 반감기의 연장을 지시하는 시점에 개시될 것이다. Q14 일 또는 Q21일 코호트에 이용된 용량은 20mg/kg이 잘 용인된다면, 프로토콜 수정에 의해 30mg/kg로 증가될 수 있다. 파트 C에서 용량 단계적 확대는 모든 용량 수준에 대해 표준 3 플러스 3 디자인을 따를 것이다. MTD에 대한 DLT 평가는 파트 C에서 적어도 하나의 부하 용량을 투여받은 환자에게 적용될 것이다. Hu5F9-G4의 적어도 하나의 부하 용량을 투여받지 않은 파트 C의 환자에서 발생하는 DLT는 부하 용량에 대한 MTD의 확인을 위한 DLT 평가에 포함되지 않을 것이다. 환자가 DLT를 경험하지 않는다면, 용량 단계적 확대는 다음 더 높은 용량 수준으로 진행될 수 있다. 3명의 환자 중 한 명이 DLT를 경험한다면, 동일한 용량 수준 코호트는 6명의 환자로 확장될 것이다. 6명의 환자 중 2명이 DLT를 경험한다면, 그 용량 수준에서 추가 등록이 허용되지 않을 것이며, MTD가 초과되었을 것이다. 파트 C의 MTD는 6명의 환자 중 1명 이하가 DLT를 경험하고, 6명의 환자 중 2명 이상이 DLT를 경험한 용량 수준 미만인 최대 용량 수준이다. 파트 C에서 부하 용량의 DLT 평가 기간은 제1 부하 용량(2주, 8일)의 투여 시간부터 4주, 29일까지 개시될 것이다. 파트 C에 등록된 환자는 고형 종양의 경우 RECIST v 1.1 또는 림프종의 경우 IWG 기준에 의해 결정된 바와 같이 진행성 질환의 허용될 수 없는 독성 또는 문서화까지 또는 환자의 자발적인 연구 철회시까지 예정된 용량 수준에서 치료를 계속할 것이다.

[0140] 환자 내 용량 단계적 확대. 파트 B 및 C의 1일에 프라이밍 용량에 이어서 더 높은 유지 및/또는 부하 용량을 제외하고, 이 연구에서 환자 내 용량 단계적 확대는 없을 것이다.

[0141] 조사용 제제

[0142] 활성 약제학적 성분(API)은 Fab 아암 교환(arm exchange)을 감소시키기 위해 중쇄의 힌지 영역에서의 Ser-Pro(S-P) 치환을 포함하는 IgG4 카파 아이소타입의 인간화된 단클론성 항체인, Hu5F9-G4이다. 그것은 2개의 동일한 444개 아미노산 무거운 감마 사슬 및 2개의 동일한 219개 아미노산 카파 경쇄로 구성된 디설파이드-연결된 당화된 사량체로 구성된다. Hu5F9-G4는 CD47을 표적으로 한다. Hu5F9-G4 약물 제품(drug product)은 IV 주입을 위한 액체 투약 형태로 제공된다. Hu5F9-G4는 10 mM 아세트산나트륨, 5%(w/v) 소르비톨, 0.01%(w/v) 폴리소르베이트 20, pH 5.0의 제형 중에 200mg의 상기 항체를 함유하는 1회용, 10 mL 바이알로 공급된다.

[0143] Hu5F9-G4 약물 물질은 Lonza Group, Ltd(Slough, UK)에서 제조되었고, 약물 제품은 Patheon UK Limited(Swindon, UK)에 의해 제조되었다. 이 문서 전체에서 IMP로 칭해지는 약물 제품은 이 시험의 후원자, 스탠포드 대학교에 의해 Fisher BioServices와의 보관 및 유통 계약을 통해 제공될 것이다.

[0144] Hu5F9-G5의 투여 세부사항

[0145] 용량 계산. 개별 용량은 등록된 환자의 실제 체중을 사용하여(스크린 또는 1일에 수득된 체중을 사용) 계산되며, 용량은 체중에서 10%가 넘는 변화가 관측되지 않는다면 연구 내내 일정하게 유지될 수 있다. 각각의 투여를 위해 요구되는 20mg/mL(바이알당 Hu5F9-G4 총 200mg)를 포함하는 바이알로부터 Hu5F9-G4의 용적을 계산하기 위해 하기 방정식이 사용되어야 한다: 체중(kg) × 원하는 용량(mg / kg) = Hu5F9-G4(mL) 20mg의 용적 / mL

[0146] 파트 A의 경우: 1mg/kg 이하의 용량을 필요로 하는 용량-단계적 확대 환자의 경우, Hu5F9-G4는 60분(± 10분) 동안 250 mL로 연속 IV 주입으로 투여될 것이다. 1mg/kg를 초과하는 용량의 경우 모든 다른 주입은 2시간(± 10분) 동안 500 mL로 투여될 것이다.

[0147] 파트 B 및 C의 경우: 프라이밍 용량은 파트 B 및 C의 환자가 투여받는 첫 번째 용량이며, 파트 A의 완료시 1mg/kg인 것으로 결정되었다. 프라이밍 용량에 기인한 SAE 및 AE는 규칙적으로 또는 필요에 따라 더 자주(CTMC 현장에 따라) 소집될 미팅과 더불어 CTMC에 의해 계속 면밀하게 모니터링될 것이다. 파트 B 및 C의 대상체의 경우, 프라이밍 용량, 즉 1mg/kg의 주입 지속기간은 3시간일 것이다. 파트 B에서, 유지 용량은 프라이밍 용량을 완료하고 1주 후 8일부터 투여될 것이다. 유지 용량의 주입 지속기간은 1mg/kg 초과의 용량에 대해 2시간일 것이다. 파트 C에서, 부하 용량은 프라이밍 용량을 완료하고 1주 후 8일부터 투여될 것이며, 유지 용량은 29일부터 투여될 것이다. 부하 및 유지 용량의 주입 지속기간은 1mg/kg 초과의 용량에 대해 2시간일 것이다.

[0148] 2주 이상의 투약 지연 또는 휴약을 갖는 파트 B 및 C의 환자는 재-프라이밍될 것이며, 이 경우에 1mg/kg의 프라

이밍 용량이 배정된 유지 용량의 재개 전에 3시간 동안 투여될 것이며; 파트 A의 환자의 경우 재-프라이밍 주입 지속기간은 프로토콜에 따라 1시간일 것이다. Hu5F9-G4는 볼러스 주사로 투여되어서는 안된다.

[0149] 투약 계획의 조정은 아래와 같은 치료-관련된 독성을 허용할 것이다: 치료 지연은 치료의 처음 4주 동안 허용되지 않는다. 그 후에, 치료를 최대 3주 동안 지연시켜 비-DLT 치료-관련된 독성으로부터 회복하기에 충분한 시간을 허용할 수 있다. 2등급 빈혈이 발생한 환자는 빈혈을 1등급으로 회복시키기 위해 5주부터 최대 3주의 치료 지연이 있을 수 있다. 그러나 임의의 DLT는 연구에서 환자의 제거를 필요로 할 것이다. 3주 초과 치료 지연(예컨대 예상된 회복과 관련없는 의학적 상태의 경우)은 CTMC에 의해 승인되어야 한다. 추가로, 조사자의 재량에 따라 서면으로 후원자의 승인을 받아 최대 2주 동안의 휴약이 57일 후 허용될 것이다. "휴약"은 프로토콜 지정된 치료, 평가, 및 절차로부터의 휴일로서 정의된다. 파트 A 및 B에서 Hu5F9-G4 주입 사이에 최소 6일이 있어야 하며, 주 2회 주입에 의해 전달되는 Hu5F9-G4 주입 사이에는 최소 3일이 있어야 한다. 2주 이상의 치료 지연 또는 휴일을 갖는 파트 B 및 C의 환자는 배정된 유지 치료 용량을 재개하기 전에 다시 3시간 동안 1mg/kg의 프라이밍 용량을 투여받음으로써 재프라이밍되어야 하며; 파트 A의 환자의 경우 재-프라이밍 주입 지속기간은 프로토콜에 따라 1시간일 것이다.

[0150] 수용체 점유 검정

[0151] 수용체 점유 샘플은 평가 스케줄에 따라 채취될 것이다. 백혈구 및 적혈구 분획에서 혈구를 CD47 수용체 점유율에 대해 유세포측정으로 분석할 것이다. 제1 Hu5F9-G4 항체 인큐베이션 전에 수집된, 각각의 환자로부터의 기준선(1일) 샘플을 증가하는 농도의 Hu5F9-G4 항체와 인큐베이션하여 CD47 분자/수용체 점유율의 표준 곡선을 확립할 것이다. 또한, 적혈구에서 포스파티딜세린 발현은 기준선(1일) 및 8일에 아넥신 V 발현에 의해 평가될 수 있으며, 이는 추가 채혈 없이 수용체 점유 검정의 추가의 측면으로서 완료될 수 있다.

[0152] CD47 수용체 점유율은, 이용 가능할 경우, 악성 삼출액 또는 조직 생검으로부터 수득한 샘플에 대한 유세포측정 또는 면역형광에 의해 원발성 암세포에서 결정될 것이다.

[0153] 종양에서 면역 세포 구획 조성의 변화는, 이용가능할 경우, 치료 전후 수집된 종양 생검에서 결정될 것이다.

[0154] Hu5F9-G4에 대한 반응과 체세포 암 돌연변이(somatic cancer mutation)의 연관성. 예를 들어, 결장직장, 폐, 및 두경부 종양은 *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, 및/또는 *PIK3CA* 돌연변이에 대해 분석될 수 있다.

[0155] 시험관 내 검정 및 이종이식 마우스 연구를 이용한 개별 연구 환자의 Hu5F9-G4 치료에 대한 반응.

[0156] Hu5F9-G4에 잠재적인 내성의 평가 및 내성을 극복하기 위한 대안적인 CD47 차단 전략의 탐색(예를 들어, 고친화성 SIRP-알파 Fc 융합 단백질).

[0157] 말초 혈액 도말 평가: 말초 도말표본은 표준 세포 형태학 평가 이외에 적혈구응집의 존재에 대해 평가될 것이다. 이러한 랩(lab)은 가능한 경우 약물 주입의 반대쪽 팔에서 채취되어야 한다. 파트 A 및 B에서 치료의 처음 2주 동안, 말초 도말은 1 및 8일째 투여 전 그리고 각각의 IMP 주입이 끝나고 4시간 후($\pm$ 30분), 2 및 9일째 IMP 주입 후 24-시간에($\pm$ 4시간), 4 및 11일째 72-시간 시점에($\pm$ 24시간) 수행될 것이다. 파트 A에서 2주 후, 말초 도말은 15일째 투여 전 및 그 후에 조사자의 재량에 따라 수행될 것이다. 파트 B에서 2주 후, 말초 도말은 또한 15 및 22일째 투여 전 수행될 것이지만, D15 말초 도말의 경우 주입을 종료하고 4시간($\pm$ 30분) 후에 또한 수행될 것이다. 29일 및 그 이후에, 말초 도말은 조사자의 재량에 따라 그리고 연구 방문의 종료시 수행될 것이다. 파트 C에서, 말초 도말은 1 및 8일째 투여전 및 IMP 주입이 끝나고 4시간 후($\pm$ 30분), 2 및 9일째 IMP 주입 후 24-시간에($\pm$ 4시간), 4일째 72-시간 시점에($\pm$ 24시간) 수행될 것이며, 또한 11, 15, 18, 22, 25 및 29일째 투여 전 및 IMP 주입이 끝나고 4시간 후($\pm$ 30분) 수행될 것이다. 30일 및 그 이후에, 말초 도말은 조사자의 재량에 따라 그리고 연구 방문의 종료시 수행될 것이다. 수혈을 받고 있는 환자의 경우, 말초 도말은 수혈 전 및 다시 수혈을 완료하고 4시간($\pm$ 30분) 후 수행될 것이다.

[0158] 약동학적 분석

[0159] 안전성 분석 세트는, 데이터가 분석에 이용 가능한 경우, PK, CD47 수용체 점유, 면역원성, 및 탐색용 바이오마커에 대한 모집단에 포함될 것이다. 또한, PK 모집단은 PK 파라미터의 추정을 위한 충분한 측정 가능한 농도 데이터를 요구하는 반면, PK 농도 모집단은 Hu5F9-G4의 임의의 측정 가능한 농도를 갖는 모든 환자를 포함할 것이다. 프로토콜 위반 환자의 포함은 분석 전에 PK 모집단에 포함시키기 위해 환자별로 평가될 것이다. 농도 대 시간 데이터는 N, 평균, SD, 기하 평균, 중앙, Min, Max 및 % CV를 포함하여, 서술적으로 개괄될 것이다. 개별 및 평균 Hu5F9-G4 농도 대 시간 곡선은 그래프로 제시될 것이다. 비-구획 방법을 사용하여 계산된 약동학적 파라미

터는 하기를 포함한다: C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$, 0시간부터 마지막 측정가능한 농도까지 혈청 농도 시간 곡선하 면적 (AUC_{0-t}), 0시간부터 무한대까지 AUC($AUC_{0-\infty}$), 청소능(CL), 및 분포 용적(V_{ss} , V_z). Hu-5F9-G4에 대한 노출(C_{max} , AUC)을 포함한 모든 PK 파라미터는 개별 환자에 대해 그리고 용량 코호트별로 요약될 것이다. 탐색적 분석은 하나 이상의 PK 파라미터와 선택된 안전성 및 효능 척도(예를 들어, 헤모글로빈, 망상적혈구증가, 유세포측정에 의한 수용체 포화도, 또는 면역원성) 사이의 관계를 평가하기 위해 수행될 수 있다.

[0160] 면역원성 평가

[0161] 항-Hu5F9-G4 항체 양성의 비율(rate) 및 규모는 개별 환자, 각각의 파트 A, B, C/용량 수준, 및 풀링된 환자 모집단에 대해 평가될 것이다. 탐색적 평가는 면역원성 검정 양성과 하나 이상의 안전성, PK, 또는 효능 파라미터(예를 들어, 약물 청소능, AE, 중양 반응) 사이의 관계를 결정하기 위해 수행될 수 있다.

[0162] 항종양 활성

[0163] 종양 반응의 분석은 종양 평가 세트에 대한 평가 가능에 대해 수행될 것이다. RECIST v 1.1 또는 IWG 기준이 적용될 것이며, 조사관이 평가할 것이다. CR, PR, SD, 6개월 동안 지속된 안정한 질환(SD6), 및 PD를 갖는 환자의 비율이 각각의 시점에서 계산될 것이다. 객관적인 반응은 각각의 파트 A, B, C/용량 수준에 대해 95% 신뢰 구간으로 CR+PR로서 계산될 것이며, 각각의 측정 시점에 대해 전체적으로 도표화될 것이다. 임상 이득을 얻은 것으로 정의된 환자의 비율은 95% 신뢰 구간으로 CR+PR+SD6으로서 계산될 것이다. 최상의 전반적인 반응도 평가될 것이다. 반응 지속기간은 초기 반응이 처음 확인된 시점부터 PD의 발생까지 계산될 것이다. 항종양 활성의 분석에 관한 세부사항은 SAP에 명시될 것이다.

[0164] 요약하면, 독성학 연구 결과에 기초하여, 비임상 안전성 평가 프로그램은 임상시험을 위한 Hu5F9-G4의 투여(예를 들어, IV 주입으로서)를 뒷받침한다.

[0165] 실시예 4

[0166] 전임상 시험에서, 100 g/mg 초과 혈청 수준은 치료적으로 효과적인 것으로 나타났다. 도 9에서 제공된 데이터는 이러한 약물 수준을 제공하는 인간 환자에서의 용량을 나타낸다.

[0167] 도 9에서 도시된 바와 같이, 각각의 그래프는 5F9의 1mg/kg 프라이밍 용량 및 지시된 유지 용량으로 처리된, 고형 종양을 갖는 인간 환자의 투약 코호트를 나타낸다. 각각의 선은, 3명의 환자에 대한 오차 막대와 함께, 혈청 샘플에서 유리 약물(Hu5F9-G4)의 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)의 평균 값을 나타낸다. 하기 표의 값은 2주째에 각각의 코호트에 대한 평균 C_{max} 를 나타내고, 마지막에 AUC는 이들이 얼마나 오래 유지되었는지(시간)를 보여준다.

[0168] 그래프의 X 축은 투약에 대한 샘플의 시간을 나타내고, 여기서 0은 주입 전 샘플을 나타내고, 나머지는 주입 후 시점(시간)이다.

[0169] 2주로 표시된 선은 3, 10, 또는 20mg/ml에서 제1 유지 용량 후 농도 곡선을 나타낸다(1주는 프라이밍 용량임). 5주의 데이터는 제4 유지 용량 후 값을 나타낸다. 각각의 곡선의 최고 지점이 C_{max} 를 결정하고, 기울기 곡선은 혈청에서 약물의 청소능 또는 지속을 결정한다.

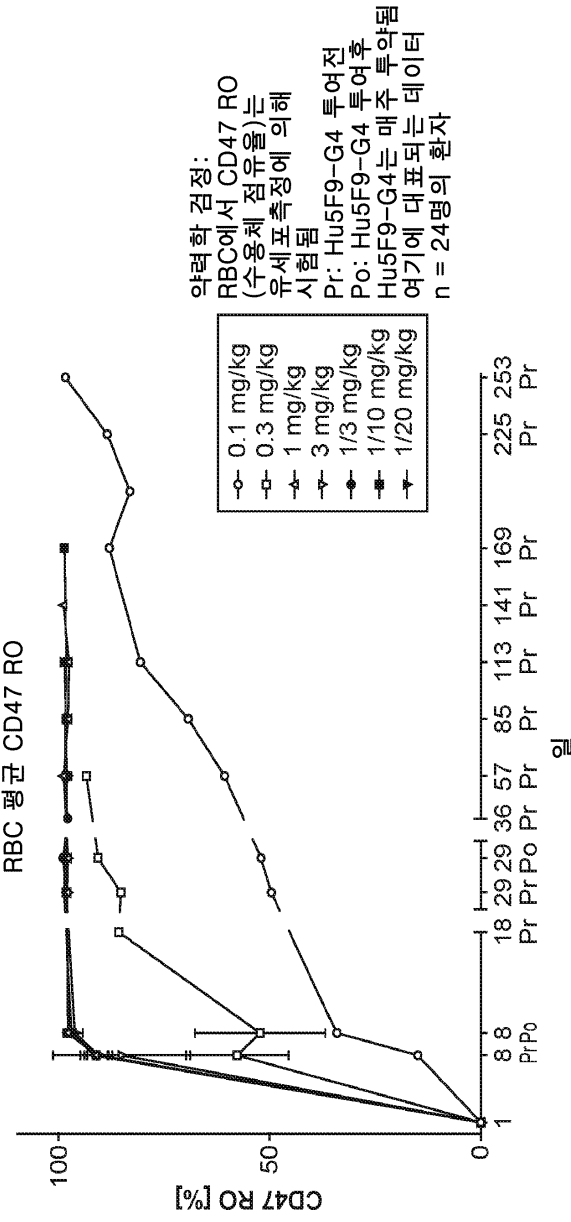
[0170] 3mg/kg의 제1 유지 용량으로부터의 데이터는 혈청으로부터 신속한 제거를 보여준다. 이 용량은 또한, 5주의 치료 후에도 상당히 빠르게 제거되었다. 또한, 3mg/kg의 용량은 C_{max} 와 같이, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 초과하는 표적화된 혈청 수준을 달성하지 못한다는 점이 주목될 수 있다.

[0171] 10mg/kg의 용량에서 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 C_{max} 가 달성되었지만, 그 수준은 지속되지 못했고, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 초과로 잘 지속되지 않으며, 제거는 2주 용량 후 관찰된다. 10mg/kg 용량은 5주째에 더욱 지속된 수준을 제공하고, 이는 반복된 투약 계획으로 인한 CD47 싱크의 포화에 기인할 수 있다.

[0172] 20mg/kg의 유지 용량에서, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 표적화된 수준을 초과하는 지속된 혈청 수준은 제1 유지 용량(2주)에서 달성될 수 있었다. 도 9에서 나타난 바와 같이, 곡선은 평평한 - 거의 수평이다.

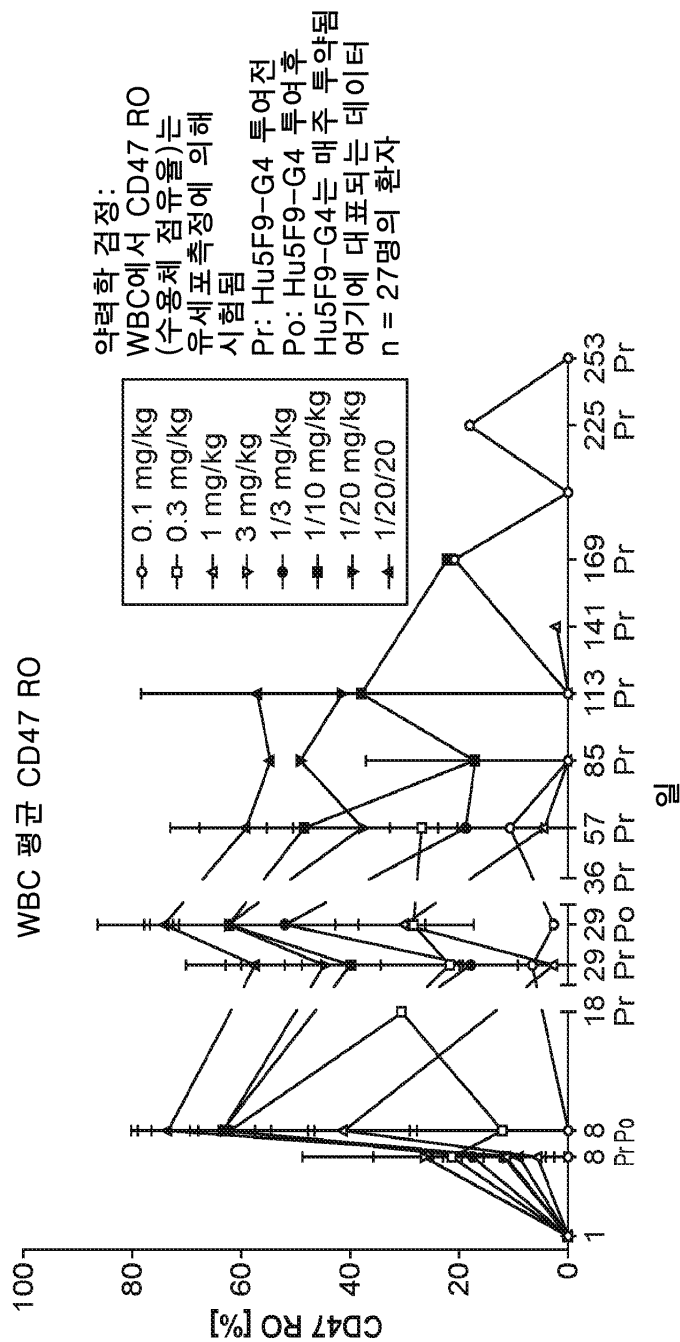
도면

도면1

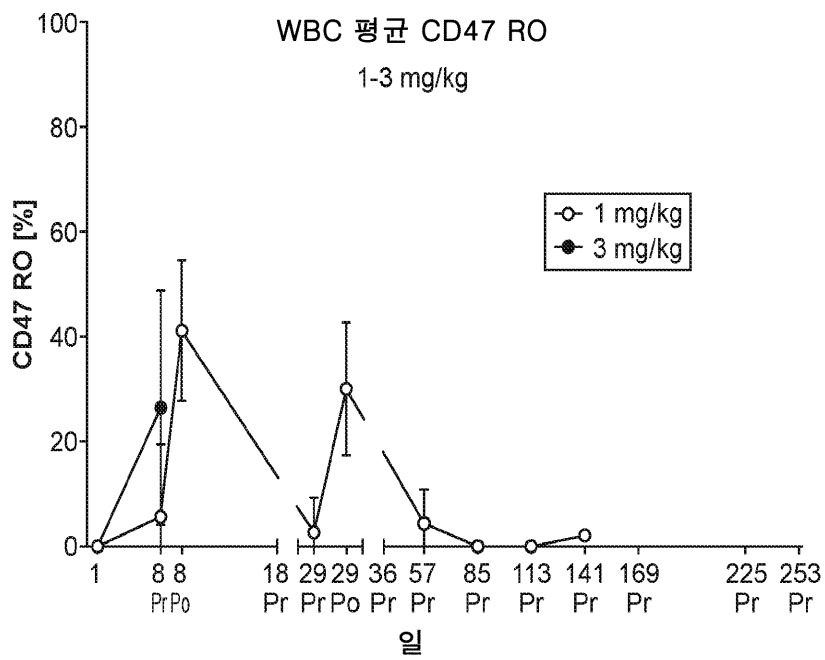
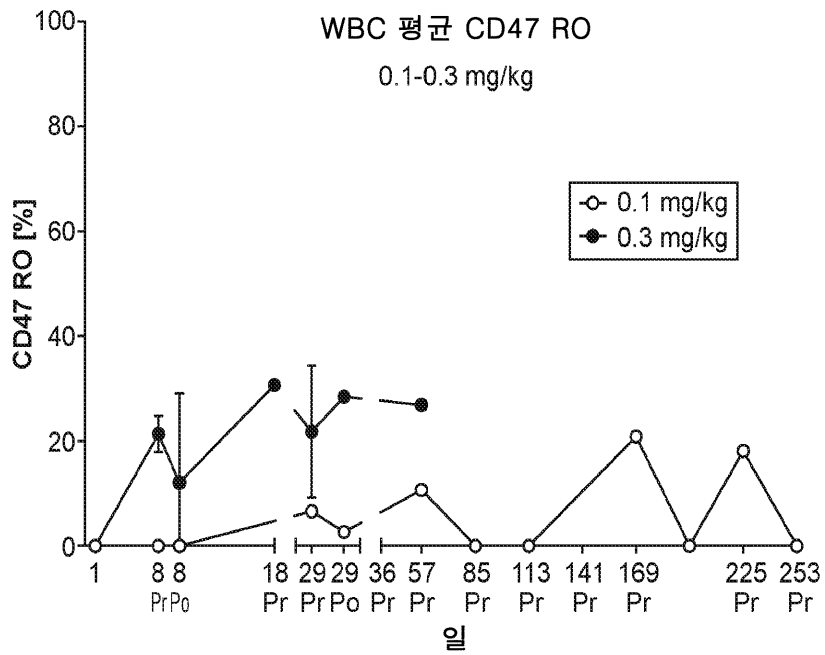


Hu5F9-G4는 1mg/kg 프라이밍 용량에서 RBC에서의 CD47 수용체의 거의 100%를 포화시킴

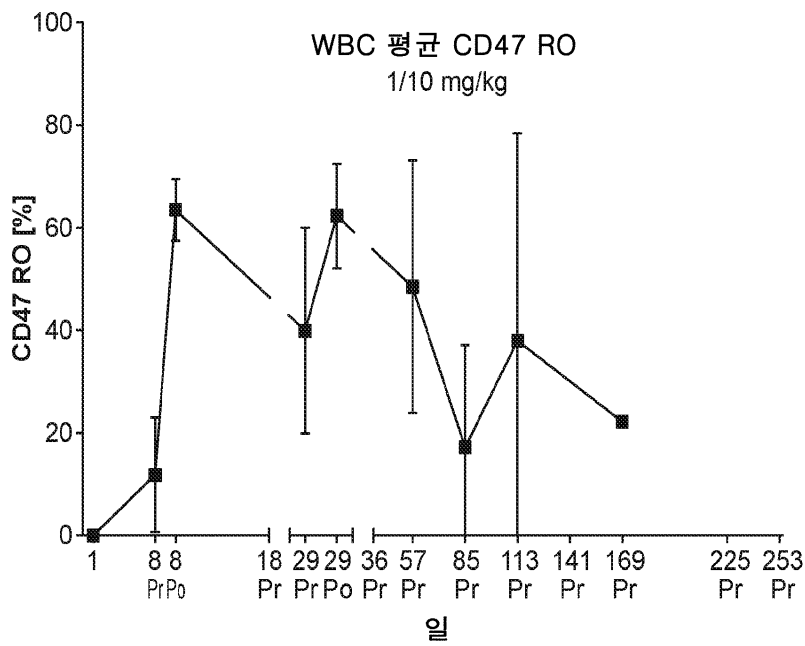
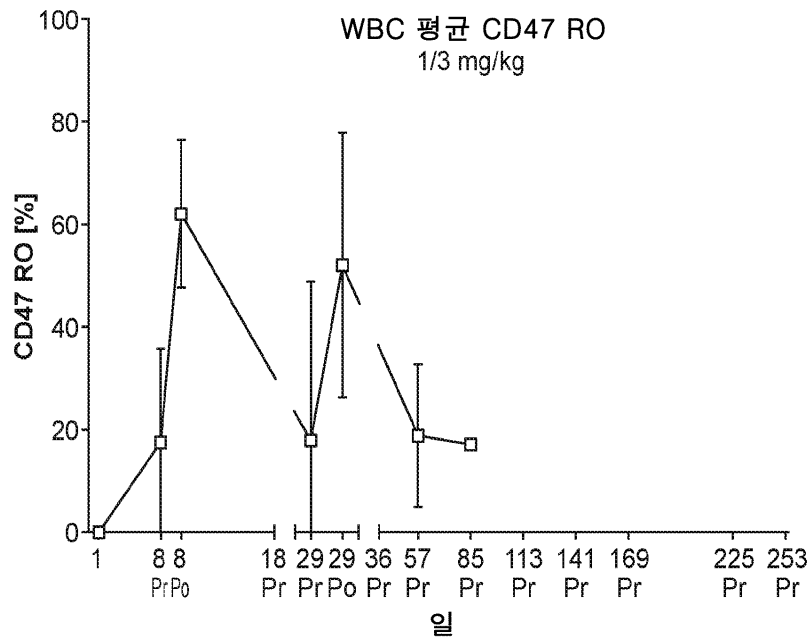
도면2



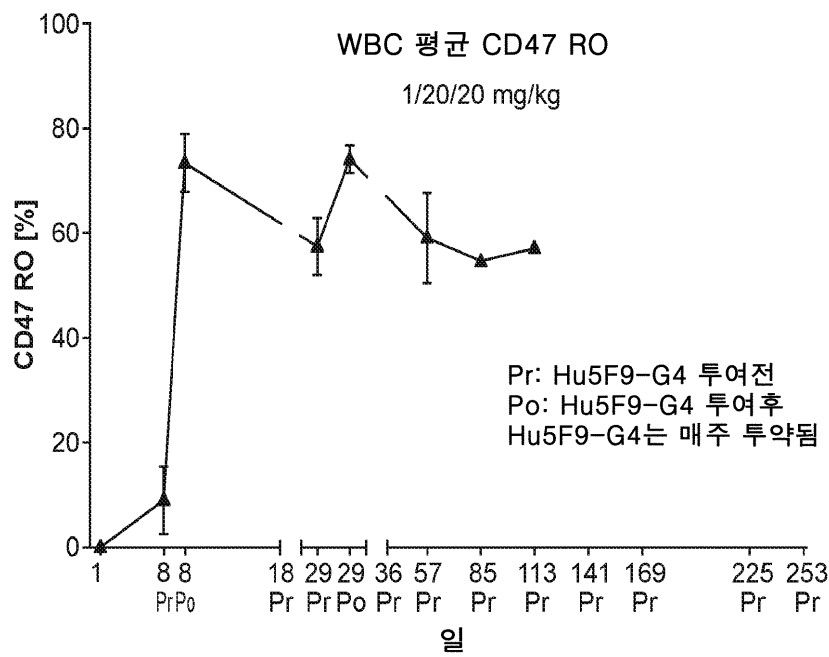
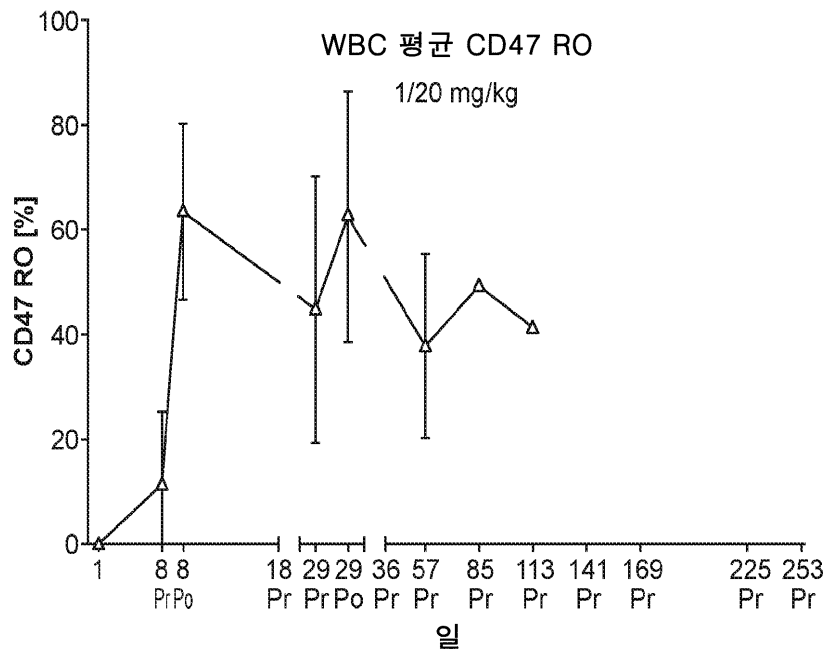
도면3a



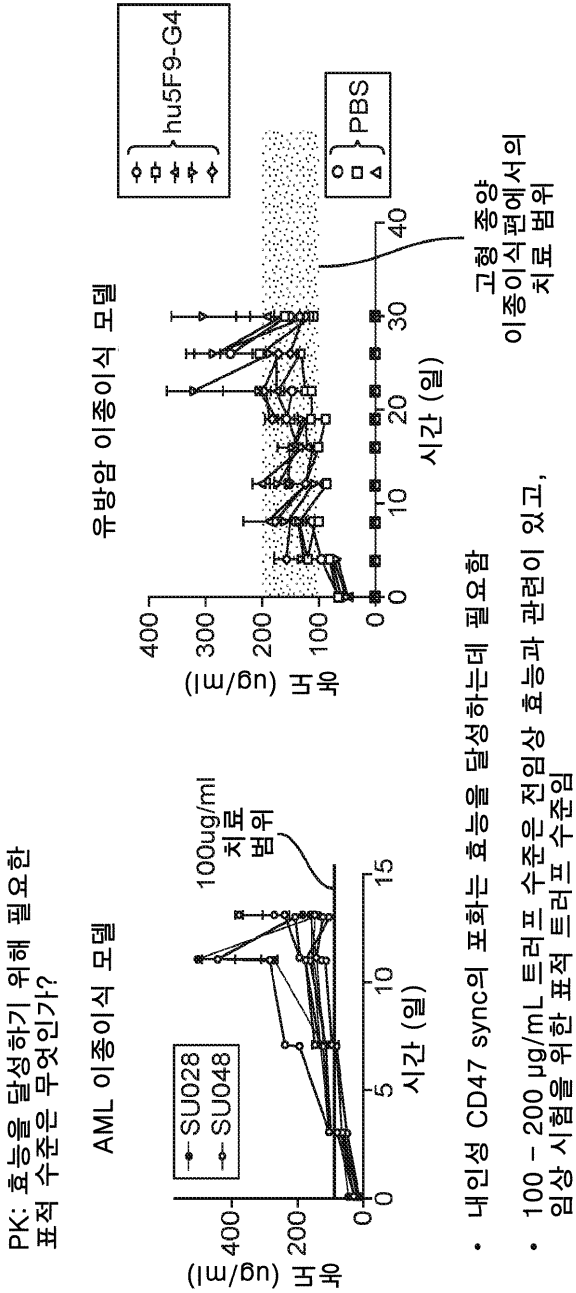
도면3b



도면3c

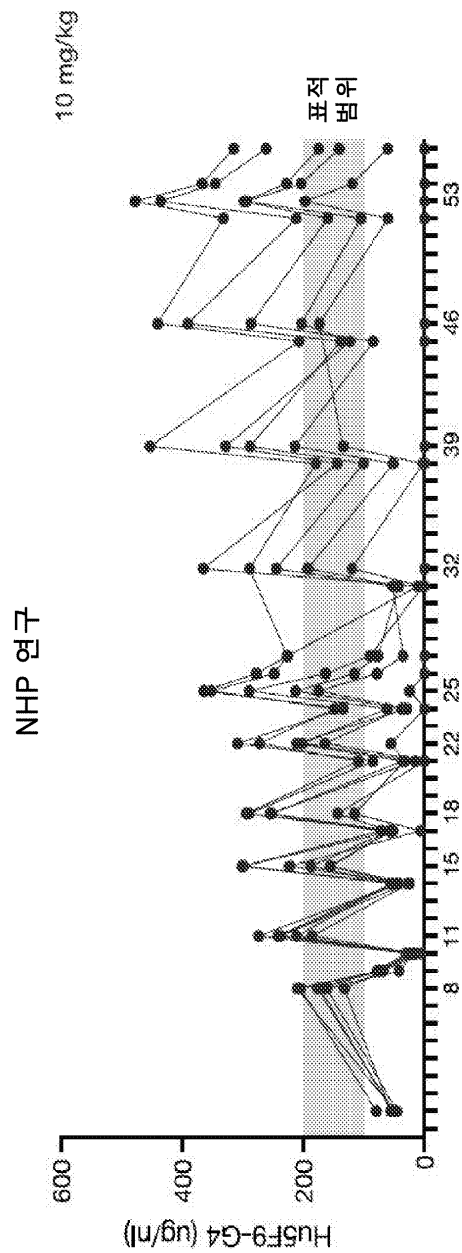


도면4



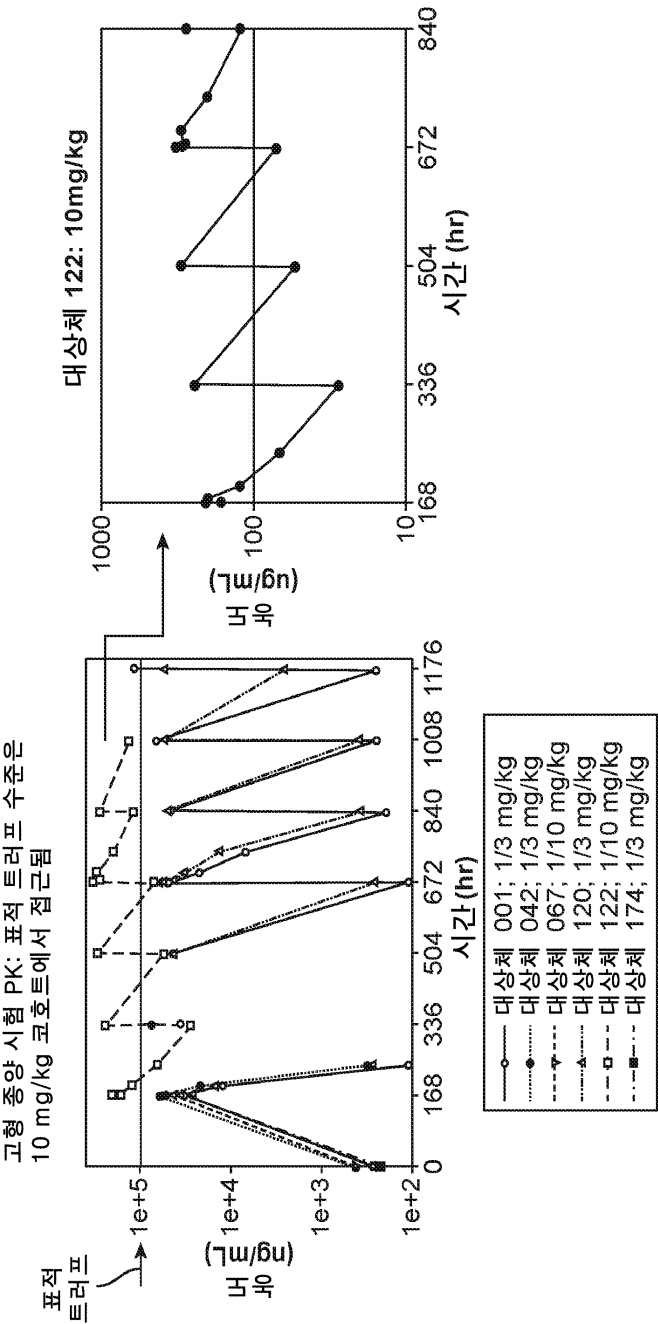
도면5

비 인간 영양류 PK: 표적 트러프 수준은
10 mg/kg 코호트에서 접근됨



- 10 mg/kg 코호트에서 달성된 100 µg/mL의 표적 트러프 수준
- $T_{1/2}$ 은 반복된 투약으로 증가함 (대상제 122의 경우 66-111시간)
- NHP PK 프로파일은 임상 PK를 예측함

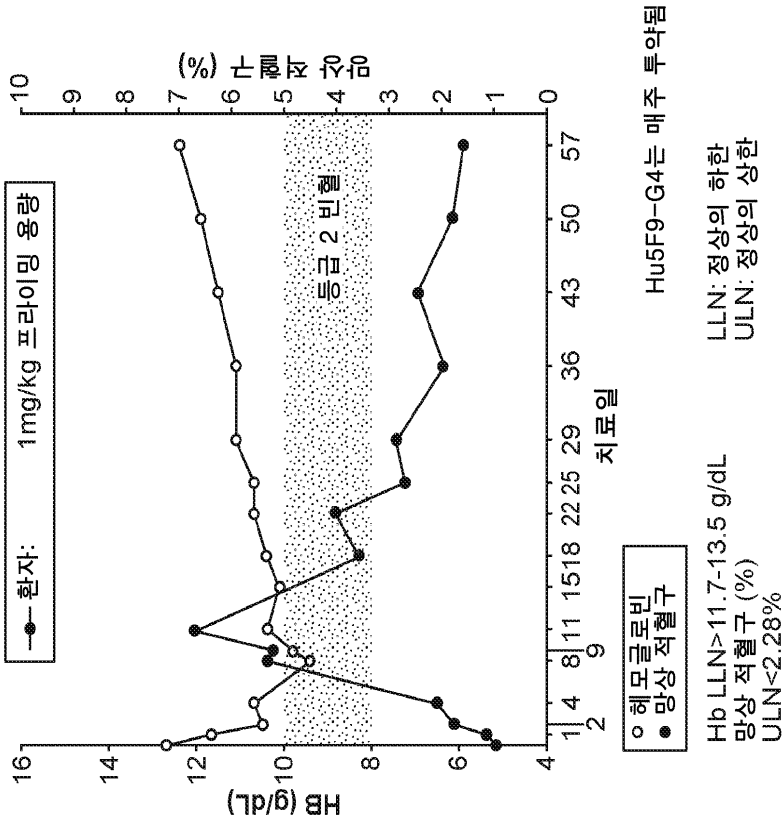
도면6



- 10 mg/kg 코호트에서 달성된 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 표적 트리프 수준
- $T_{1/2}$ 은 반복된 투약으로 증가함 (대상체 122의 경우 66-111시간)
- NHP PK 프로파일은 임상 PK를 예측함

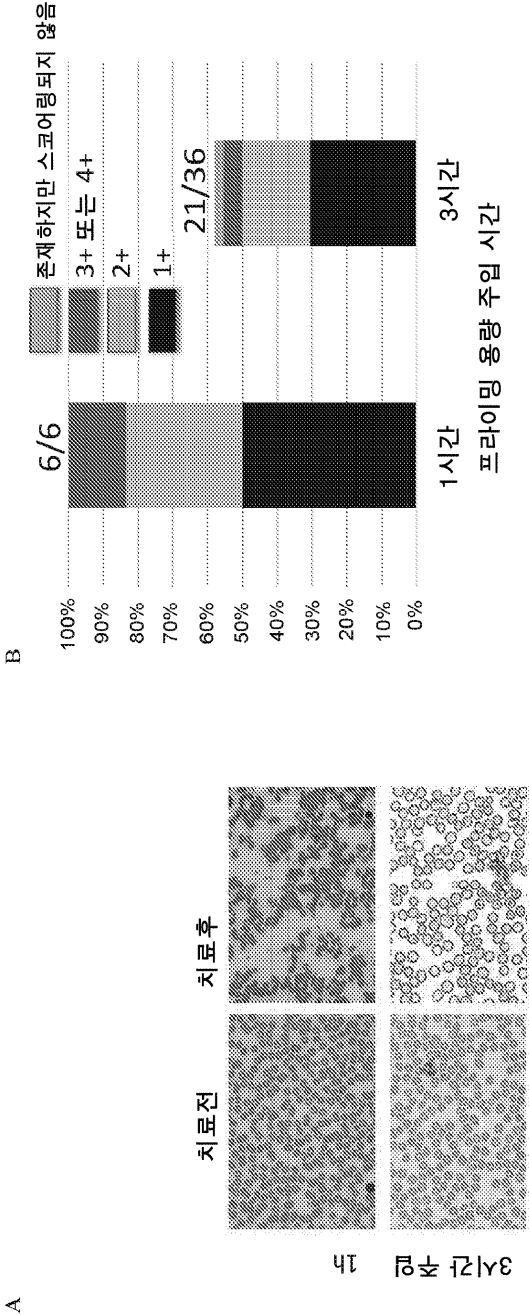
도면7

관심 대상 유해 사례: 빈혈



- 보완적 망상적혈구증가를 동반한 빈혈
- NHP 독성화 연구와 일치함
 - 제1 투여 후 7-10일 이내에 Gr 2의 최대 중증도 및 전형적인 발병
 - 투약 기간 내내 초기에 지속된 망상적혈구증가
 - 환자는 수혈을 필요로 하지 않음

도면8



도면9

2주 넘게 투약된 환자

