



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년09월25일

(11) 등록번호 10-2158467

(24) 등록일자 2020년09월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/395 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 39/395 (2013.01)

A61K 31/496 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-7008862

(22) 출원일자(국제) 2013년09월06일

심사청구일자 2018년08월23일

(85) 번역문제출일자 2015년04월06일

(65) 공개번호 10-2015-0048886

(43) 공개일자 2015년05월07일

(86) 국제출원번호 PCT/US2013/058557

(87) 국제공개번호 WO 2014/039855

국제공개일자 2014년03월13일

(30) 우선권주장

61/698,379 2012년09월07일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

US20090098118 A1

(73) 특허권자

제넨테크, 인크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

에프. 호프만-라 로슈 아게

스위스 체하-4070 바젤 그렌자체스트라쎄 124

(72) 발명자

삼페쓰 디팩

미국 캘리포니아주 94080-4990 사우쓰 샌 프란시스코 디엔에이 웨이 1

클라인 크리스티안

스위스 8952 솔리렌 바기슈트라쎄 18 로슈 글리카르트 아게

페어브라더 웨인 존

미국 캘리포니아주 94080-4990 사우쓰 샌 프란시스코 디엔에이 웨이 1

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 56 항

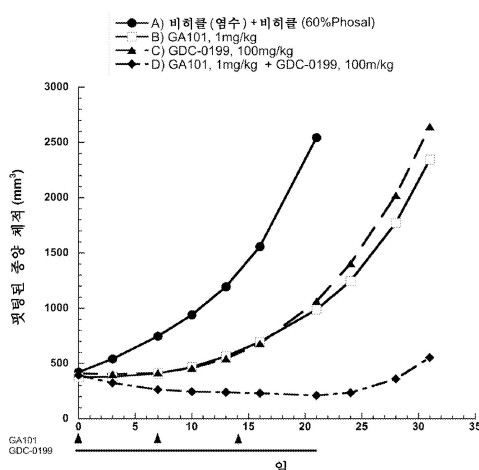
심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 II형 항-CD20 항체와 선택적 BCL-2 억제제와의 병용 치료요법

(57) 요약

본 발명은, 암, 특히, CD20-발현 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한, II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 포함하는, 병용 치료요법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 2039/545 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰일)벤즈아미드(GDC-0199) 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 사람에서 암의 치료 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물로서,

상기 방법은, 다중 투약 기간 동안 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 GA101 항체를 상기 사람에게 공동-투여하고, 이어서, 1회 이상의 투약 기간 동안 상기 GA101 항체의 부재 하에 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 단독으로 상기 사람에게 투여함을 포함하는, 암의 치료 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 다중 투약 사이클 중 각각의 투약 사이클은 4주 동안인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 GA101 항체는 다중 투약 사이클 중 1회 이상의 투여 사이클 동안 투약 사이클당 1회 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 GA101 항체는 투약당 500mg 내지 1200mg의 양으로 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 다중 투약 사이클 중 1회 이상의 투약 사이클 동안 투약 사이클 내에 매일 투여되거나 또는 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 제1 투약 사이클의 모든 일수보다 적은 일수로 투여되고, 제1 투약 사이클에 이어지는 다중 투약 사이클의 투약 사이클 중에 매일 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 1일당 20mg 내지 500mg의 양으로 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 상기 GA101 항체는 다중 투약 사이클 중 적어도 6회의 투약 사이클에서 공동-투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 GA101 항체의 부재 하에 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 다중 투약 사이클 중 마지막 사이클 이후 20일 이상 동안 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 공동-투여 후에, 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 하루에 한번 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 투약당 상기 사람에게 투여되는 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 양은 제1 투약 사이클 동안 증가되고, 여기서 초기량은 10mg 내지 80mg이고 최종량은 190mg 내지 400mg인, 약제학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 다중 투약 사이클 중의 각 투약 사이클은 적어도 4주 동안이고, 상기 GA101 항체의 500mg 내지 3000mg이 다중 투약 사이클 중 1회 이상의 투약 사이클 동안 투약 사이클 당 1회 투여되고, 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 10mg 내지 300mg이 다중 투약 사이클 중 1회 이상의 투약 사이클 동안 투약 사이클 당 매일 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 다중 투약 사이클 중 마지막 사이클 이후 상기 GA101 항체의 부제 하에 상기 사람에게 투여되는 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 투여량들은 10mg 내지 300mg인, 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 다중 투약 사이클 중 마지막 사이클 이후 상기 GA101 항체의 부제 하에 상기 사람에게 투여되는 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 투여량들이 10일 이상 동안 상기 사람에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 다중 투약 사이클은 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 상기 사람에게 상승 1일 투여량(escalating daily dose amount)으로 투여되는 상승 투약 사이클을 포함하고, 상기 상승 1일 투여량이 10mg의 초기 1일 투여량 및 300mg의 최종 1일 투여량을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서,

- i) 상기 다중 투약 사이클 중 각 투약 사이클은 28일이고;
- ii) 상기 GA101 항체는 2주 이상의 제1 투약 사이클 동안 주당 1회 투여되고, 상기 다중 투약 사이클 중 제1 투약 사이클 이후 투약 사이클당 1회 투여되고;
- iii) 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 제1 투약 사이클에서 시작하여 상기 사람에게 매일 투여되고;
- iv) 상기 매일 투여에서 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 용량은 제1 투약 사이클에서 투여되는 제1 용량으로부터 제1 투약 사이클 후 투약 사이클에서 상기 사람에게 투여되는 제2 용량으로 증가되는, 약제학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 GA101 항체의 제1 투여량은 제1 투약 사이클의 1일 및 2일차에 분할 용량으로 상기 사람에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 상기 GA101 항체의 제1 투여 이후 제1 투약 사이클에서 시작하여 매일 상기 사람에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 18

제15항에 있어서, 상기 사람에게 투여되는 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 상기 제1 용량은 투약당 10mg 내지 80mg이고, 상기 제2 용량은 투약당 190mg 내지 400mg인, 약제학적 조성물.

청구항 19

제15항에 있어서, 상기 GA101 항체의 유효량은 500mg 내지 3000mg인, 약제학적 조성물.

청구항 20

제15항에 있어서, 상기 GA101 항체, 및 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 둘 모두 상기 다중 투약 사이클의 6 사이클 동안 상기 사람에게 공동-투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 21

제18항에 있어서, 상기 GA101 항체의 유효량은 500mg 내지 3000mg인, 약제학적 조성물.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 GA101 항체의 유효량은 1000mg인, 약제학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 GA101 항체, 및 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 둘 모두 상기 다중 투약 사이클의 6 사이클 동안 상기 사람에게 공동-투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 24

제18항에 있어서, 상기 사람에게 투여되는 상기 GDC-0199 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 상기 제2 용량은 400mg인, 약제학적 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GA101 항체는 서열번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 서열번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항-사람 CD20 항체인, 약제학적 조성물.

청구항 26

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GA101 항체는 서열번호: 9의 아미노산 서열 및 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 27

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GA101 항체는 오비누투주마브인, 약제학적 조성물.

청구항 28

제25항에 있어서, 상기 GA101 항체는 서열번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 GA101 항체는 오비누투주마브인, 약제학적 조성물.

청구항 30

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 CDD20-발현 암인, 약제학적 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 암은 비-고형 종양인, 약제학적 조성물.

청구항 32

제30항에 있어서, 상기 암은 림프종 또는 백혈병인, 약제학적 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 백혈병은 만성 림프구성 백혈병(CLL)인, 약제학적 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 사람은 재발성 또는 난치성 또는 이전에 치료되지 않은 만성 림프구성 백혈병을 앓고 있는, 약제학적 조성물.

청구항 35

제30항에 있어서, 상기 암은 비-호지킨 림프종(NHL)인, 약제학적 조성물.

청구항 36

제30항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 약제학적 조성물.

청구항 37

제30항에 있어서, 상기 암은 여포성 림프종인, 약제학적 조성물.

청구항 38

제30항에 있어서, 상기 암은 거대 세포 림프종이고, 상기 거대 세포 림프종은 B-세포 미만성 거대 세포 림프종(B-cell diffuse large cell lymphoma)인, 약제학적 조성물.

청구항 39

제25항에 있어서, 상기 암은 CDD20-발현 암인, 약제학적 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 암은 비-고형 종양인, 약제학적 조성물.

청구항 41

제39항에 있어서, 상기 암은 림프종 또는 백혈병인, 약제학적 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 백혈병은 만성 림프구성 백혈병(CLL)인, 약제학적 조성물.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 사람은 재발성 또는 난치성 또는 이전에 치료되지 않은 만성 림프구성 백혈병을 앓고 있는, 약제학적 조성물.

청구항 44

제39항에 있어서, 상기 암은 비-호지킨 림프종(NHL)인, 약제학적 조성물.

청구항 45

제39항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 약제학적 조성물.

청구항 46

제39항에 있어서, 상기 암은 여포성 림프종인, 약제학적 조성물.

청구항 47

제39항에 있어서, 상기 암은 거대 세포 림프종이고, 상기 거대 세포 림프종은 B-세포 미만성 거대 세포 림프종(B-cell diffuse large cell lymphoma)인, 약제학적 조성물.

청구항 48

제29항에 있어서, 상기 암은 CDD20-발현 암인, 약제학적 조성물.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 암은 비-고형 종양인, 약제학적 조성물.

청구항 50

제48항에 있어서, 상기 암은 림프종 또는 백혈병인, 약제학적 조성물.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 백혈병은 만성 림프구성 백혈병(CLL)인, 약제학적 조성물.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 사람은 재발성 또는 난치성 또는 이전에 치료되지 않은 만성 림프구성 백혈병을 앓고 있는, 약제학적 조성물.

청구항 53

제48항에 있어서, 상기 암은 비-호지킨 림프종(NHL)인, 약제학적 조성물.

청구항 54

제48항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병(AML)인, 약제학적 조성물.

청구항 55

제48항에 있어서, 상기 암은 여포성 림프종인, 약제학적 조성물.

청구항 56

제48항에 있어서, 상기 암은 거대 세포 림프종이고, 상기 거대 세포 림프종은 B-세포 미만성 거대 세포 림프종(B-cell diffuse large cell lymphoma)인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은, 2012년 9월 7일에 출원된 미국 가특허출원 제61/698,379호에 대한 우선권을 주장하고, 이의 내용은 그 전문이 인용에 의해 본원에 포함된다.

[0002] 기술분야

[0003] 본 발명은, 암, 특히, CD20-발현 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한, II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 포함하는, 병용 치료요법에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] CD20 분자(사람 B-림프구-제한된 분화 항원 또는 Bp35라고도 칭함)는, 프레(pre)-B 및 성숙 B 림프구 상에 위치된, 분자량이 대략 35kD인 소수성 막관통 단백질이다(Valentine, M.A., et al., J. Biol. Chem. 264 (19) (1989) 11282-11287; 및 Einfield, D.A., et al. EMBO J. 7(3) (1988) 711-717). CD20은, 말초 혈액 또는 림프 기관 유래의 B 세포의 90% 초과와 표면 상에서 발견되고, 조기 프레-B 세포 발달 동안에 발현되며, 형질 세포 분화까지 남아 있다. CD20은 정상 B 세포 및 악성 B 세포 상의 둘 다에 존재한다. 특히, CD20은 B 세포 비-호지킨 림프종(NHL)의 90% 초과에서 발현되지만(Anderson, K.C., et al., Blood 63(6) (1984) 1424-1433), 조혈모 세포, 프로(pro)-B 세포, 정상 형질 세포, 또는 기타 정상 조직에서는 발견되지 않는다(Tedder, T.F., et al., J. Immunol. 135(2) (1985) 973-979).

[0005] CD20 단백질의 85개 아미노산 카복실-말단 영역은 세포질 내에 위치한다. 이러한 영역의 길이는, 다른 B 세포-특이적 표면 구조, 예를 들면, IgM, IgD, 및 IgG 중쇄 또는 조직적합성 항원 클래스 II a 또는 β 쇠의 길이와는 대조적이고, 이는, 각각 3, 3, 28, 15, 및 16개의 아미노산의 상대적으로 짧은 세포질내 영역을 갖는다 (Komaromy, M., et al., NAR 11 (1983) 6775-6785). 마지막 61개의 카복실-말단 아미노산들 중에서도, 21개는 산성 잔기이고, 반면, 단지 2개만이 염기성이며, 이는, 이러한 영역이 강한 순수 음 전하를 가짐을 나타낸다. GenBank 수탁번호는 NP-690605이다. CD20은, B 세포의 활성화 및 분화 프로세스의 초기 단계(들)을 조절하는 것에 관여할 수도 있고(Tedder, T.F., et al., Eur. J. Immunol. 16 (1986) 881-887), 칼슘 이온 채널로서 기능할 수 있는 것(Tedder, T.F., et al., J. Cell. Biochem. 14D (1990) 195)으로 생각된다.

[0006] 항-CD20 항체의 CD20 결합 및 생물학적 활성의 방식이 유의하게 상이한 2개의 상이한 유형의 항-CD20 항체들이 존재한다(Cragg, M.S., et al., Blood 103 (2004) 2738-2743; 및 Cragg, M.S., et al., Blood 101 (2003) 1045-1052). I형 항체, 예를 들면, 리툭시마브는, 보체 매개된 세포독성에 있어서 강하고, 반면, II형 항체, 예를 들면, 토시투모마브(B1), 11B8, AT80 또는 사람화된 B-Ly1 항체는, 포스파티딜세린 노출이 수반되는 카스파제-독립적 아포토시스를 통한 표적 세포 사멸을 효과적으로 개시한다.

[0007] I형 및 II형 항-CD20 항체들의 공유된 공통 특성은 하기 표 1에 요약한다.

표 1

I형 및 II형 항-CD20 항체들의 특성

I형 항-CD20 항체	II형 항-CD20 항체
I형 CD20 에피토프	II형 CD20 에피토프
지질 래프트(lipid raft)에 CD20을 국재화시킴	지질 래프트에 CD20을 국재화시키지 않음
증가된 CDC (IgG1 이소타입의 경우)	감소된 CDC (IgG1 이소타입의 경우)
ADCC 활성 (IgG1 이소타입의 경우)	ADCC 활성 (IgG1 이소타입의 경우)
완전한 결합 능력	감소된 결합 능력
동형 응집	보다 강한 동형 응집
가교-결합시 아포토시스 유도	가교-결합 부재시 강력한 세포 사멸 유도

[0008]

[0009] Bcl-2 패밀리의 단백질은, 발달 신호(developmental cue)에 의해, 그리고, 다중 스트레스 신호에 대한 반응으로 유발된 프로그래밍된 세포 사멸을 조절한다(Cory, S., and Adams, J.M., Nature Reviews Cancer 2 (2002) 647-656; Adams, Genes und Development 17 (2003) 2481-2495; Danial, N.N., and Korsmeyer, S.J., Cell 116 (2004) 205-219). 반면, 세포 생존은 Bcl-2 자체 및 몇몇의 가까운 관계물들(Bcl-xL, Bcl-W, Mcl-1 및 A1)에 의해 촉진되고, 이는 3개 또는 4개의 보존된 Bcl-2 상동성(BH) 영역들을 갖고, 아포토시스는 2개의 다른 서브-패밀리에 의해 유도된다. 세포 사멸에 대한 초기 신호는, Bad, Bid, Bim, Puma 및 Noxa를 포함하는 다양한 그룹의 BH3-만의 단백질(BH3-only protein)에 의해 전달되고, 이는 공동으로 소형 BH3 상호작용 도메인만을 갖는다(Huang and Strasser, Cell 103 (2000) 839-842). 그러나, BH1-BH3을 함유하는 다중-도메인 단백질인 Bax 또는 Bak는, 세포 사멸에 대한 전념이 요구된다(Cheng, et al., Molecular Cell 8 (2001) 705-711; Wei, M.C., et al., Science 292 (2001) 727-730; Zong, W.X., et al., Genes and Development 15 148 (2001) 1-1486). 활성화된 경우, 이들은, 미토콘드리아의 외막을 투과하여, 세포를 해체시키는 카스파제를 활성화시키는데 필요한 프로-아포토시스 유발성 인자(예를 들면, 사이토크롬 C)를 방출할 수 있다(Wang, K., Genes and Development 15 (2001) 2922-2933; (Adams, 2003 supra); Green, D.R., and Kroemer, G., Science 305 (2004) 626-629).

[0010] Bcl-2 패밀리의 이들 3개의 분획의 구성원들 사이의 상호작용은, 세포가 생존하거나 사멸되는지의 여부를 지시한다. BH3-만의 단백질이, 예를 들면, DNA 손상에 대한 반응으로 활성화된 경우, 이들은 이들의 BH3 도메인을 통해 이들의 프로-생존 관계물들 상의 그루브(groove)에 결합할 수 있다(Sattler, et al., Science 275 (1997) 983-986). 그러나, BH3-만의 단백질 및 Bcl-2-유사 단백질이 Bax 및 Bak의 활성화를 제어하는 방법은, 잘 이해되어 있지 않다(Adams, 2003 supra). 대부분의 주의를 Bax에 집중되어 왔다. 이러한 가용성 단량체성 단백질(Hsu, Y.T., et al., Journal of Biological Chemistry 272 (1997) 13289-1 3834; Wolter, K.G., et al., Journal of Cell Biology 139 (1997) 1281-92)은, 보통 이의 그루브에 삽입된 막 표적화 도메인을 갖고, 이는 아마도 세포질 정위(cytosolic localization)를 해명할 것이다(Nechushtan, A., et al., EMBO Journal 18 (1999) 2330- 2341; Suzuki, et al., Cell 103 (2000) 645-654; Schinzel, A., et al., J Cell Biol 164 (2004) 1021-1032). 몇몇의 비관련 펩타이드/단백질은, Bax 활성을 조정하는 것으로 제안되어 왔고, 문헌[Lucken-Ardjomande, S., and Martinou, J.C., J Cell Sci 118 (2005) 473-483]에서 검토되었지만, 이들의 생리학적 관련성은 아직 확립되어야 한다. 대안으로, Bax는 소정 BH3-만의 단백질에 의한 직접적인 연결을 통해 활성화될 수 있고(Lucken-Ardjomande, S., and Martinou, J.C, 2005 supra), 절삭된 형태의 Bid인 tBid가 가장 잘 문서화되어 있다(Wei, M.C., et al., Genes und Development 14 (2000) 2060-2071; Kuwana, T., et al., Cell 111 (2002) 331-342; Roucou, X., et al., Biochemical Journal 368 (2002) 915-921; Cartron, P.F., et al., Mol Cell 16 (2004) 807-818). 다른 문헌[Adams 2003 supra]에서 논의되는 바와 같이, Bcl-2가 Bax에 직접 연결되는 가장 오래된 모델(Oltvai, Z.N., et al., Cell 74 (1993) 609-619)은, Bcl-2가, 결합된 막이고, 한편, Bax가 세포질성이므로 문제가 되었고, 이들의 상호작용은, 세포 용해에 사용되는 세제에 매우 의존적인 것으로 보인다(Hsu, Y.T., and Youle, 1997 supra). 그럼에도 불구하고, Bax의 BH3 영역은 Bcl-2와의 회합을 중재할 수 있고(Zha, H., and Reed, J., Journal of Biological Chemistry 272 (1997) 31482-88; Wang, K., et al., Molecular and Cellular Biology 18 (1998) 6083-6089), Bcl-2는, 비록 이중이량체가 검출될 수 없을 지라도 Bax의 올리고머화를 방지한다는 것이 잘 확립되어 있다(Mikhailov, V., et al., Journal of Biological Chemistry 276 (2001) 18361-18374). 따라서, 프로-생존 단백질이 Bax 활성화를 직접적으로 또는 간접적으로 제한하는지의 여부가 여전히 불명확하다.

[0011] Bax 및 Bak가 대부분의 상황에서 기능적으로 등가인 것처럼 보이지만(Lindsten, T., et al., Molecular Cell 6 (2000) 1389-1399; Wei, M.C., et al., 2001 supra), 이들의 조절의 실질적 차이는 건강한 세포에서의 이들의 독특한 정위로부터 기대될 수 있다. 대부분이 세포질성인 Bax와는 달리, Bak는 미토콘드리아의 외막 상에 그리고 건강한 세포의 세포질 망상구조(endoplasmic reticulum) 상에 복합체로 존재한다(Wei, M.C., et al., 2000 supra; Zong, W.X., et al., Journal of Cell Biology 162 (2003) 59-69). 그럼에도 불구하고, 세포독성 신호를 받는 즉시, Bax 및 Bak 둘 다는 입체배좌(conformation)를 변화시키고, Bax는 소기관 막으로 전위되고, 여기서, 이어서, Bax 및 Bak 둘 다는, 회합하여 막 투과성화를 유도할 수 있는 동중-올리고머를 형성한다(Hsu, Y.T., et al., PNAS 94 (1997) 3668-3672; Wolter, K.G., et al., 1997 supra; Antonsson, B., et al., Journal of Biological Chemistry 276 (2001) 11615-11623; Nechushtan, A., et al., Journal of Cell Biology 153 (2001) 1265-1276; Wei, M.C., et al., 2001 supra; Mikhailov, V., et al., Journal of Biological Chemistry 278 (2003) 5367-5376).

[0012] 각종 Bcl-2 억제제가 존재하고, 이들은 모두 Bcl-2 패밀리의 단백질의 프로생존성 구성원을 억제하는 동일한 특성을 가지므로, 암의 치료에 대한 유망한 후보물이다. 이러한 Bcl-2 억제제로는, 예를 들면, 오블리메르센(Oblimersen), SPC-2996, RTA-402, 고시폴(Gossypol), AT-101, 오바토클락스(Obatoclax) 메실레이트, A-371191, A-385358, A-438744, ABT-737, ABT-263, AT-101, BL-11, BL-193, GX-15-003, 2-메톡시안티마이신 A₃, HA-14-1, KF-67544, 푸르푸로갈린(Purpurogallin), TP-TW-37, YC-137 및 Z-24가 있고, 예를 들면, 문헌[Zhai, D., et al., Cell Death and Differentiation 13 (2006) 1419-1421]에 기술되어 있다.

[0013] 문헌[Smith, M. R., et al, Molecular Cancer Therapeutics 3(12) (2004) 1693-1699 및 Ramanarayanan, J. et al., British Journal of Haematology 127(5) (2004) 519-530]은, 안티센스 Bcl-2 올리고뉴클레오타이드(오블리메르센)와의 I형 항-CD20 항체(리툽시마브)의 병용을 나타낸다.

발명의 내용

[0014] **본 발명의 요약**

[0015] 본원에는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 공동-투여함을 포함하는, 암을 앓고 있는 환자의 치료 방법이 제공된다. 공동-투여는 동시적 또는 어느 한 순서로의 순차적일 수

있다.

- [0016] 본 발명에서 사용하기 위한 II형 항-CD20 항체의 예는 GA101 항체이다.
- [0017] 한 실시형태에서, II형 항-CD20 항체는, 증가된 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 갖는다.
- [0018] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체의 Fc 영역의 올리고사카라이드의 적어도 40%는 비-푸코실화된다.
- [0019] 한 실시형태에서, 선택적 Bcl-2 억제제는 GDC-0199(ABT-199로서도 알려져 있음), 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.
- [0020] 한 실시형태에서, 암은 비-고형 종양이다.
- [0021] 소정 실시형태에서, 암의 치료를 필요로 하는 사람에서의 암의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 상기 사람에게 GA101 항체 및/또는 GDC-0199를 다중 투약 사이클로 투여함을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 사람에서의 암의 치료 방법이 제공된다. 한 실시형태에서, 다중 투약 사이클 중 각각의 투약 사이클은 적어도 1주 동안이다. 한 실시형태에서, 다중 투약 사이클 중 각각의 투약 사이클은 적어도 2주 동안, 적어도 3주 동안, 적어도 4주 동안, 적어도 5주 동안, 또는 적어도 6주 동안이다.
- [0022] GA101 항체 및 GDC-0199가 사람에게 다중 투약 사이클로 투여되는 한 실시형태에서, GA101 항체는, 예를 들면, 다중 투약 사이클 중 1회 이상의 투약 사이클 동안 투약 사이클당 1회 투여될 수 있다. 용량당 투여되는 GA101의 양은, 예를 들면, 약 300mg 내지 약 3000mg, 또는 약 500mg 내지 약 3000mg, 또는 약 500mg 내지 약 1200mg이다.
- [0023] GA101 항체 및 GDC-0199가 사람에게 다중 투약 사이클로 투여되는 한 실시형태에서, GDC-0199는, 예를 들면, 다중 투약 사이클 중 1회 이상의 투약 사이클 동안 투약 사이클 내에 매일 투여될 수 있다. 한 실시형태에서, GDC-0199는 초기 투약 사이클의 일수 전보다 적게 투여되고, 초기 투약 사이클에 이어지는 다중 투약 사이클의 투약 사이클의 매일 투여된다. 1일당 투여되는 GDC-0199의 양은 약 10mg 내지 약 1,000mg, 약 20mg 내지 약 800mg, 약 20mg 내지 약 500mg, 또는 약 50mg 내지 약 300mg일 수 있다.
- [0024] 한 실시형태에서, GA101 항체 및 GDC-0199 둘 다는 환자에게 다중 투약 사이클 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회, 또는 8회 초과 투약 사이클로 투여된다.
- [0025] 암의 치료를 필요로 하는 사람에게 GA101 항체 및 GDC-0199 둘 다를 다중 투약 사이클로 투여함을 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 사람에서의 암의 치료를 위해 제공되는 방법의 소정 실시형태에서, 다중 투약 사이클 중 마지막 투약 사이클 후에, 단독의 GDC-0199가 GA101 항체의 부재하에 사람에게 투여될 수 있거나, 단독의 GA101 항체가 GDC-0199의 부재하에 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들면, GDC가 (예를 들면, GDC-0199 및 GA101 항체 둘 다가 사람에게 투여되는 다중 투약 사이클 중 마지막 사이클 후에) 사람에게 단독으로 투여되는 경우, GDC-0199는 사람에게 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9일 동안, 또는 10일 이상 동안, 20일 이상 동안, 또는 30일 이상 동안 투여될 수 있다.
- [0026] 제공되는 방법의 또 다른 실시형태에서, GA101 항체 및 GDC-0199는 환자에게 다중 투약 사이클로 투여되고, 다중 투약 사이클은, GDC-0199가 환자에게 상승 투약 사이클 동안 상승 1일 투약량으로 투여되는 상승 투약 사이클을 포함한다.
- [0027] 본원에는 GDC-0199와의 병용하여 암을 치료하기 위한 의약의 제조를 위한 GA101 항체의 용도가 제공된다. 또한, 본원에는 GA101 항체와 병용하여 암을 치료하기 위한 의약의 제조를 위한 GDC-0199의 용도가 제공된다.
- [0028] 다른 양상에서, 본원에는 사람에서의 암을 치료하기 위한 GA101 항체 및 GDC-0199의 병용물이 제공된다. 병용물은, 예를 들면, 하기에 기술되는 투약 스케줄에 따라 사람에게 투여될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0029] **도 1.** Bcl-2 억제제(ABT-199, 즉, GDC-0199)와의 II형 항-CD20 항체(GA101 항체, 이러한 경우, 오비누투주마브)의 병용 치료의 항종양 활성. x-축 아래의 화살표 및 실선은 각각 GA101 및 GDC-0199의 투약일을 나타낸다.
- 도 2.** 오비누투주마브와 GDC-199를 투여하기 위한 예시 투약 스케줄.
- 도 3.** 오비누투주마브와 GDC-199를 투여하기 위한 예시 투약 스케줄.
- 도 4.** 사람 Z138 맨틀 세포 림프종 세포에 대한, 단독으로 또는 GDC-0199와 병용하여 사용된 II형 항-CD20 항

체(오비누투주마브, 즉, R05072759)의 항종양 활성, 및 단독으로 또는 GDC-0199와 병용하여 사용된 I형 항-CD20 항체(리툰시마브)의 항종양 활성.

도 5. GDC-0199로의 단일 제제 치료에 이은 II형 항-CD20 항체(GA101 항체, 이러한 경우, 오비누투주마브)와의 GDC-0199의 병용 치료가 종양 재성장을 지연시킴을 입증하는 공격형 림프종의 이중이식체 모델로부터의 결과.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 본 발명은, 상기 기술되어 있는 방법에 관한 것이다.
- [0031] 또한, 본 발명은, 암의 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 상기 사람에게, GA101 항체 또는 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1회 이상의 투약 기간 동안 투여하고, 이어서, 상기 GA101 항체 및 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1회 이상의 투약 기간 동안 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0032] 또한, 본 발명은, 암의 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 상기 사람에게, GA101 항체 또는 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드의 유효량을 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14일 동안 투여하고, 이어서, 상기 GA101 항체 및 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1회 이상의 투약 기간 동안 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0033] 또한, 본 발명은, 암의 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 상기 GA101 항체의 유효량을 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일 동안 투여하고, 이어서, 상기 GA101 항체 및 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1회 이상의 투약 기간 동안 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0034] 또한, 본 발명은, 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일 동안 투여하고, 이어서, 상기 GA101 항체 및 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1회 이상의 투약 기간 동안 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0035] 또한, 본 발명은, 암의 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 상기 GA101 항체의 유효량을 1, 2, 3, 4, 5 또는 6사이클 동안 투약 기간마다 1회 투여하고, 이어서, 투약 기간마다 1회의 상기 GA101 항체의 유효량과, 1회 이상의 투약 기간 동안 매일 1, 2 또는 3회의 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.
- [0036] 또한, 본 발명은, 암의 치료를 필요로 하는 사람의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 1, 2, 3, 4, 5 또는 6회의 투약 기간 동안 1, 2 또는 3회 투여하고, 이어서, 투약 기간마다 1회의 상기 GA101 항체의 유효량과, 1회 이상의 투약 기간 동안 매일 1, 2 또는 3회의 2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-N-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰닐)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.

- [0037] 또한, 본 발명은, 상기 방법들 중 어느 하나에 있어서, 상기 GA101 항체의 유효량이 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 또는 3000mg이고, 2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량이 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 또는 1000mg인, 방법에 관한 것이다.
- [0038] 또한, 본 발명은, 상기 방법들 중 어느 하나에 있어서, 상기 GA101 항체의 유효량이 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500mg이고, 2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량이 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300mg인, 방법에 관한 것이다.
- [0039] 또한, 본 발명은, 상기 방법들 중 어느 하나에 있어서, 상기 암이 NHL인 경우, 상기 GA101 항체의 유효량이 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500mg이고, 2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량이 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 및 800mg인, 방법에 관한 것이다.
- [0040] 또한, 본 발명은, 상기 방법들 중 어느 하나에 있어서, 상기 암이 AML인 경우, 상기 GA101 항체의 유효량이 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500mg이고, 2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량이 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 및 800mg인, 방법에 관한 것이다.
- [0041] 또한, 본 발명은, 상기 방법들 중 어느 하나에 있어서, 상기 GA101 항체 및 2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰)벤즈아미드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 각각의 투약 기간 동안 순차적으로 공동-투여되고, 각각의 투약 기간이 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14일인, 방법에 관한 것이다.
- [0042] 본원의 용어 "항체"는, 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중 특이적 항체(예를 들면, 이특이적 항체), 및 항체 단편이 바람직한 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 각종 항체 구조를 포함한다.
- [0043] 본원에서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는, 실질적으로 동종인 항체들의 집단으로부터 수득된 항체를 말하고, 즉, 예를 들면, 천연 발생 돌연변이를 함유하거나 모노클로날 항체 제제의 생산 동안에 발생하는 가능한 변이체 항체(이러한 변이체는 일반적으로 미량으로 존재함)를 제외한 집단을 포함하는 개별 항체들이 동일하고/동일하거나 동일한 에피토프에 결합한다. 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)들에 대항하여 지시되는 상이한 항체들을 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대항하여 지시된다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은, 실질적으로 동종인 항체들의 집단으로부터 수득되는 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 이해되지 않는다. 예를 들면, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는, 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방

법, 파지-디스플레이 방법, 및 사람 면역글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 유전자 이식 동물을 이용하는 방법을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 각종 기술에 의해 제조될 수 있고, 이러한 방법들 및 모노클로날 항체를 제조하기 위한 다른 예시적 방법은 본원에 기술되어 있다.

[0044] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체는 모노클로날 항체이다.

[0045] 용어 "키메라 항체"는, 하나의 공급원 또는 중으로부터의 가변 영역, 즉, 결합 영역, 및 상이한 공급원 또는 중으로부터 유도된 불변 영역의 적어도 일부를 포함하는, 모노클로날 항체를 말하고, 일반적으로 재조합 DNA 기술에 의해 제조된다. 무린 가변 영역 및 사람 불변 영역을 포함하는 키메라 항체가 특히 바람직하다. 이러한 무린/사람 키메라 항체는, 무린 면역글로불린 가변 영역을 암호화하는 DNA 절편 및 사람 면역글로불린 불변 영역을 암호화하는 DNA 절편을 포함하는, 발현된 면역글로불린 유전자의 생성물이다. 본 발명에 의해 포함되는 "키메라 항체"의 다른 형태는, 클래스 또는 서브클래스가 본래의 항체의 클래스 또는 서브클래스로부터 변형되거나 변화된 것들이다. 또한, 이러한 "키메라" 항체는, "클래스-전환된(class-switched) 항체"로서 언급된다. 키메라 항체의 생산 방법은, 현재 당해 분야에 익히 공지되어 있는 종래의 재조합 DNA 및 유전자 형질감염 기술을 포함한다. 예를 들면, 문헌[Morrison, S.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851-6855; US 5,202,238 및 US 5,204,244]을 참조한다.

[0046] 용어 "사람화된 항체"는, 모 면역글로불린의 CDR과 비교하여 상이한 특이성의 면역글로불린의 CDR을 포함하도록 프레임워크 또는 "상보성 결정 영역(CDR)"이 변형된 항체를 말한다. 바람직한 실시형태에서, 무린 CDR을 사람 항체의 프레임워크 영역에 절편이식시켜 "사람화된 항체"를 제조한다. 예를 들면, 문헌[Riechmann, L., et al., Nature 332 (1988) 323-327; 및 Neuberger, M.S., et al., Nature 314 (1985) 268-270]을 참조한다. 특히 바람직한 CDR은, 키메라 및 이기능성 항체에 대해 상기 언급된 항원을 인식하는 서열을 나타내는 것들에 상응한다.

[0047] 본원에서 사용되는 용어 "사람 항체"는, 사람 생식선 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 사람 항체는 당해 분야에 익히 공지되어 있다(van Dijk, M.A., and van de Winkel, J.G., Curr. Opin. Pharmacol. 5 (2001) 368-374). 이러한 기술에 근거하여, 매우 다양한 표적에 대해 대항하는 사람 항체가 생산될 수 있다. 사람 항체의 예는, 예를 들면, 문헌[Kellermann, S. A., et al., Curr Opin Biotechnol. 13 (2002) 593-597]에 기술되어 있다.

[0048] 본원에서 사용되는 용어 "재조합 사람 항체"는, 재조합 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나, 단리되는 모든 사람 항체, 예를 들면, 숙주 세포, 예를 들면, NSO 또는 CHO 세포로부터, 또는 숙주 세포에 형질감염된 재조합 발현 벡터를 이용하여 발현된 사람 면역글로불린 유전자 또는 항체에 대해 유전자 이식성인 동물(예를 들면, 마우스)로부터 단리된 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 이러한 재조합 사람 항체는, 재배열된 형태의 사람 생식선 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변 및 불변 영역을 갖는다. 본 발명에 따른 재조합 사람 항체는 생체내 체세포 초돌연변이되었다. 따라서, 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 사람 생식선 VH 및 VL 서열로부터 유도되고 사람 생식선 VH 및 VL 서열과 관련되어 있지만 생체내 사람 항체 생식선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재할 수 없는 서열이다.

[0049] 본원에서 사용되는 "특이적으로 결합하는" 또는 "에 특이적으로 결합한다"는, 원하지 않는 표적 또는 비특이적 표적에 대한 결합으로부터 구별되도록 표적(예를 들면, 사람 CD20에 특이적으로 결합하는 항체)에 대해 충분히 선택적인 결합을 말한다. 한 실시형태에서, 본 발명의 GA101 항체는 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$, 또는 $\leq 0.001\text{nM}$ (예를 들면, 10^{-8}M 이하, 예를 들면, 10^{-8}M 내지 10^{-13}M , 예를 들면, 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 사람 CD20에 대한 결합 친화도(Kd)를 갖는다. 또 다른 실시형태에서, KD는 10^{-10}mol/l 이하(예를 들면, 10^{-12}mol/l)이다. 결합 친화도는 표준 결합 검정, 예를 들면, CD20 발현 세포에 대한 스캐차드 플롯(Scatchard plot) 분석으로 측정된다.

[0050] 본원에서 사용되는 용어 "핵산 분자"는, DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하는 것으로 의도된다. 핵산 분자는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있다. 한 실시형태에서는 이중-가닥의 DNA이다.

[0051] "불변 도메인"은 항원에 대한 항체의 결합에 직접적으로 관여하지 않지만, 이펙터 기능(ADCC, 보체 결합, 및 CDC)에 관여한다.

[0052] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은, 항원에 대한 항체의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 말한다. 본래 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인(각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의

도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR)들 및 3개의 초가변성 영역(HVR)들을 포함한다. (예를 들면, 문헌 [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)]을 참조한다.)

- [0053] 본원에서 사용되는 용어 "초가변성 영역" 또는 "HVR"은, 서열에서 초가변성이고/이거나("상보성 결정 영역" 또는 "CDR"), 구조적으로 정의된 루프를 형성하고/하거나("초가변성 루프"), 항원-접촉성 잔기를 함유하는("항원 접촉"), 항체 가변 도메인의 영역의 각각을 말한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR들: VH 내의 3개(H1, H2, H3), 및 VL 내의 3개(L1, L2, L3)를 포함한다. 본원의 예시적 HVR로는 하기가 포함된다:
- [0054] (a) 아미노산 잔기 26-32(L1), 50-52(L2), 91-96(L3), 26-32(H1), 53-55(H2), 및 96-101(H3)에서 발생하는 초가변성 루프[Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)];
- [0055] (b) 아미노산 잔기 24-34(L1), 50-56(L2), 89-97(L3), 31-35b(H1), 50-65(H2), 및 95-102(H3)에서 발생하는 CDR[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)];
- [0056] (c) 아미노산 잔기 27c-36(L1), 46-55(L2), 89-96(L3), 30-35b(H1), 47-58(H2), 및 93-101(H3)에서 발생하는 항원 접촉[MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)]; 및
- [0057] (d) HVR 아미노산 잔기 46-56(L2), 47-56(L2), 48-56(L2), 49-56(L2), 26-35(H1), 26-35b(H1), 49-65(H2), 93-102(H3), 및 94-102(H3)를 포함하는, (a), (b), 및/또는 (c)의 조합.
- [0058] 당해 분야에 인지되어 있는 CD20의 동의어로는 B-림프구 항원 CD20, B-림프구 표면 항원 B1, Leu-16, Bp35, BM5, 및 LF5가 포함된다.
- [0059] 본 발명에 따른 용어 "항-CD20 항체"는, CD20 항원에 특이적으로 결합하는 항체이다. CD20 항원에 대한 항-CD20 항체의 결합 특성 및 생물학적 활성에 의존하여, 2개의 유형의 항-CD20 항체(I형 및 II형 항-CD20 항체)는 문헌[Cragg, M.S., et al., Blood 103 (2004) 2738-2743; 및 Cragg, M.S., et al., Blood 101 (2003) 1045-1052]에 따라 구별될 수 있고, 표 2를 참조한다.

표 2

I형 및 II형 항-CD20 항체들의 특성

I형 항-CD20 항체	II형 항-CD20 항체
I형 CD20 에피토프	II형 CD20 에피토프
지질 래프트(lipid raft)에 CD20을 국재화시킴	지질 래프트에 CD20을 국재화시키지 않음
증가된 CDC (IgG1 이소타입의 경우)	감소된 CDC (IgG1 이소타입의 경우)
ADCC 활성 (IgG1 이소타입의 경우)	ADCC 활성 (IgG1 이소타입의 경우)
완전한 결합 능력	감소된 결합 능력
동형 응집	보다 강한 동형 응집
가교-결합시 아포토시스 유도	가교-결합 부재시 강력한 세포 사멸 유도

- [0060]
- [0061] I형 및 II형 항-CD20 항체의 한 특성은 이들의 결합 방식이다. I형 및 II형 항-CD20 항체는, 리툽시마브에 대한 상기 항-CD20 항체의 라지(Raji) 세포(ATCC-번호 CCL-86) 상의 CD20에 대한 결합 능력의 비에 의해 분류될 수 있다.
- [0062] II형 항-CD20 항체는, 리툽시마브에 대한 상기 항-CD20 항체의 라지(Raji) 세포(ATCC-번호 CCL-86) 상의 CD20에 대한 결합 능력의 비가 0.3 내지 0.6이고, 한 실시형태에서는 0.35 내지 0.55이고, 다른 실시형태에서는 0.4 내지 0.5이다. 이러한 II형 항-CD20 항체의 예로는, 예를 들면, 토시투모마브(B1 IgG2a), GA101 항체 IgG1(WO

2005/044859에 개시되어 있는 키메라 사람화된 IgG1 항체), 11B8 IgG1(WO 2004/035607에 개시되어 있음), 및 AT80 IgG1이 포함된다. 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체는, GA101 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 모노클로날 항체이다(WO 2005/044859에 개시되어 있음).

"리툽시마브에 대한 항-CD20 항체의 라지 세포(ATCC-번호 CCL-86) 상의 CD20에 대한 결합 능력의 비"는, 실시예 번호 2에 기술되어 있는 바와 같이, 라지 세포(ATCC 번호 CCL-86)로의 FACSArray(Becton Dickinson)에서 Cy5와 접합된 상기 항-CD20 항체 및 Cy5와 접합된 리툽시마브를 이용한 직접적 면역형광성 측정(평균 형광성 강도(MFI)가 측정된다)에 의해 측정하고, 하기와 같이 계산한다:

$$\text{Raji 세포(ATCC-번호 CCL-86) 상의 CD20에 대한 결합 능력의 비} = \frac{\text{MFI(Cy5- 항 - CD20 항체)}}{\text{MFI(Cy5-리툽시마브)}} \times \frac{\text{Cy5- 표지화 비(Cy5-리툽시마브)}}{\text{Cy5- 표지화 비(Cy5- 항 - CD20 항체)}}$$

MFI는 평균 형광성 강도이다. 본원에서 사용되는 "Cy5-표지화 비"는 분자 항체당 Cy-5표지 분자의 수를 의미한다.

전형적으로, 상기 II형 항-CD20 항체는, 리툽시마브에 대한 상기 제2 항-CD20 항체의 라지 세포(ATCC-번호 CCL-86) 상의 CD20에 대한 결합 능력의 비가 0.3 내지 0.6이고, 한 실시형태에서는 0.35 내지 0.55이고, 또 다른 실시형태에서는 0.4 내지 0.5이다.

한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체, 예를 들면, GA101 항체는 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 증가시켰다.

"증가된 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 갖는 항체"는, 용어가 본원에서 정의되는 바와 같이, 당해 분야의 숙련가들에게 공지되어 있는 임의의 적합한 방법에 의한 측정시 증가된 ADCC를 갖는 항체를 의미한다. 하나의 인정되는 시험관내 ADCC 검정은 하기와 같다:

1) 상기 검정은, 항체의 항원-결합 영역에 의해 인식되는 표적 항원을 발현하는 것으로 공지되어 있는 표적 세포를 사용한다;

2) 상기 검정은, 무작위 선택된 건강한 공여자의 혈액으로부터 단리된 사람 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 이펙터 세포로서 사용한다;

3) 상기 검정은 하기 프로토콜에 따라 수행한다:

i) PBMC는, 표준 밀도 원심분리 절차를 이용하여 단리하고, RPMI 세포 배양 배지에 5×10^6 세포/ml로 현탁시킨다;

ii) 표적 세포는, 표준 조직 배양 방법에 의해 성장시키고, 90% 초과 생존력을 갖는 대수 성장기(exponential growth phase)로부터 수거하고, RPMI 세포 배양 배지에서 세척하고, 100 마이크로-퀴리(micro-Curie)의 ^{51}Cr 으로 표지화하고, 세포 배양 배지로 2회 세척하고, 10^5 세포/ml의 밀도로 세포 배양 배지 중에 재현탁시킨다;

iii) 상기의 최종 표적 세포 현탁액 100마이크로리터를 96-웰 미세적정 플레이트의 각 웰로 이동시킨다;

iv) 항체를 세포 배양 배지에 4000ng/ml 내지 0.04ng/ml로 일련-희석시키고, 얻어진 항체 용액 50마이크로리터를 96-웰 미세적정 플레이트의 표적 세포에 첨가하여, 상기 전체 농도 범위에 걸친 다양한 항체 농도를 삼중으로 시험한다;

v) 최대 방출(MR) 대조군을 위해, 표지화된 표적 세포를 함유하는 플레이트의 3개의 추가의 웰은, 항체 용액(상기 iv) 대신에 비-이온성 세제(Nonidet, Sigma, St. Louis)의 2%(VN) 수용액 50마이크로리터를 수용한다;

vi) 자발적 방출(SR) 대조군을 위해, 표지화된 표적 세포를 함유하는 플레이트의 3개의 추가의 웰은, 항체 용액(상기 iv) 대신에 RPMI 세포 배양 배지 50마이크로리터를 수용한다;

vii) 이어서, 96-웰 미세적정 플레이트를 1분 동안 50xg로 원심분리하고, 4°C에서 1시간 동안 항온배양

한다;

- [0079] viii) PBMC 현탁액(상기 i) 50마이크로리터를 각각의 웰에 첨가하여 25:1의 이펙터:표적 세포 비를 수득하고, 플레이트를 37℃, 5% CO₂ 대기 하의 항온배양기에 4시간 동안 둔다.
- [0080] ix) 각각의 웰로부터의 세포-불포함 상청을 수거하고, 실험적으로 방출된 방사능(ER)을 감마 계수기를 이용하여 정량한다;
- [0081] x) 특이적 용해 백분율을 식 $(ER-MR)/(MR-SR) \times 100$ [여기서, 상기 ER은 항체 농도에 대해 정량된 평균 방사능(상기 ix 참조)이고, 상기 MR은 MR 대조군(상기 v 참조)에 대해 정량된 평균 방사능(상기 ix 참조)이고, 상기 SR은 SR 대조군(상기 vi 참조)에 대해 정량된 평균 방사능(상기 ix 참조)이다]에 따라 각각의 항체 농도에 대해 계산한다;
- [0082] 4) "증가된 ADCC"는, 상기 시험된 항체 농도 범위 내에서 관찰된 특이적 용해의 최대 백분율의 증가, 및/또는 상기 시험된 항체 농도 범위 내에서 관찰된 특이적 용해의 최대 백분율의 1/2을 달성하는데 요구되는 항체 농도의 감소로서 정의된다. 한 실시형태에서, GnTIII를 과발현하도록 조작되고/조작되거나 푸코실트랜스퍼라제 8(FUT8) 유전자로부터 감소된 발현을 갖도록 조작된(예를 들면, FUT8 녹아웃(knock out)에 대해 조작된 것을 포함하는) 숙주 세포에 의해 경쟁자 항체(증가된 ADCC가 결여되어 있음)가 생산되지 않았음을 제외하고는 ADCC의 증가는, 당해 분야 숙련가들에게 공지되어 있는, 동일한 표준 생산, 정제, 제형화 및 보관 방법을 이용하여, 동일한 유형의 숙주 세포에 의해 생산된, 동일한 항체에 의해 매개된, 상기 검정으로 측정된, ADCC에 관한 것이다.
- [0083] 상기 "증가된 ADCC"는, 예를 들면, 상기 항체의 돌연변이 및/또는 당 조작(glycoengineering)에 의해 수득될 수 있다. 한 실시형태에서, 항체는, 예를 들면, 문헌[WO 2003/011878(Jean-Mairet et al.); US 특허 제6,602,684호(Umana et al.); US 2005/0123546(Umana et al.), Umana, P., et al., Nature Biotechnol. 17 (1999) 176-180]에서, GlcNAc에 의해 이등분되는 항체의 Fc 영역에 부착된 바이안테너리(biantennary) 올리고사카라이드를 갖도록 당 조작된다. 다른 실시형태에서, 항체는, 단백질 푸코실화가 결핍된 숙주 세포(예를 들면, Lec13 CHO 세포 또는 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자(FUT8)가 결실되거나 FUT 유전자 발현이 녹 다운된 세포(예를 들면, 문헌[Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); 및 WO2003/085107]을 참조한다)에서 항체를 발현시킴으로써 Fc 영역에 부착된 탄수화물 상에 푸코스가 결여되도록 당 조작된다. 또 다른 실시형태에서, 항체 서열은, ADCC를 향상시키도록 항체 서열의 Fc 영역에서 조작되었다(예를 들면, 한 실시형태에서, 이러한 조작된 항체 변이체는, Fc 영역의 위치 298, 333, 및/또는 334(잔기의 EU 넘버링)에서 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다).
- [0084] 용어 "보체-의존적 세포독성(CDC)"는, 보체의 존재시 본 발명에 따른 항체에 의한 사람 종양 표적 세포의 용해를 말한다. CDC는, 보체의 존재시 본 발명에 따른 항-CD20 항체로 CD20 발현 세포의 체제를 처리함으로써 측정될 수 있다. CDC는, 항체가 100nM의 농도에서 4시간 후 종양 세포의 20% 이상의 용해(세포 사멸)를 유도하는 경우에 발견된다. 한 실시형태에서, 상기 검정은, ⁵¹Cr 또는 Eu 표지화된 종양 세포 및 방출된 ⁵¹Cr 또는 Eu의 측정값을 이용하여 수행된다. 대조군은, 보체의 존재 항체의 부재 하의 종양 표적 세포의 항온배양을 포함한다.
- [0085] 본원에서 사용되는 용어 "GA101 항체"는, 사람 CD20에 결합하는 하기 항체들 중 어느 하나를 말한다: (1) 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체; (2) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는 항체; (3) 서열번호 9의 아미노산 서열 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 항체; (4) 오비누투주마브로서 공지되어 있는 항체, 또는 (5) 서열번호 9의 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 10의 아미노산 서열과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 항체. 한 실시형태에서, GA101 항체는 IgG1 이소타입 항체이다.
- [0086] 올리고사카라이드 구성성분은, 물리적 안정성, 프로테아제 공격에 대한 내성, 면역 시스템과의 상호작용, 약동학, 및 특이적 생물학적 활성을 포함하는, 치료학적 당단백질의 효능과 관련된 특성에 유의하게 영향을 미칠 수 있다. 이러한 특성은 올리고사카라이드의 존재 또는 부재뿐만 아니라 올리고사카라이드의 특이적 구조에도 의존할 수 있다. 올리고사카라이드 구조와 당단백질 기능 사이의 소정의 일반화가 이루어질 수 있다. 예를

들면, 소정 올리고사카라이드 구조는 특이적 탄수화물 결합 단백질과의 상호작용을 통한 혈류로부터의 당단백질의 신속한 청소를 매개하고, 한편, 다른 올리고사카라이드 구조는 항체에 의해 결합되어 바람직하지 못한 면역 반응을 유발할 수 있다(Jenkins, N., et al., Nature Biotechnol. 14 (1996) 975-981).

[0087] 포유동물 세포는, 사람 적용에 가장 적합한 형태로 단백질을 당화시키는 포유동물 세포의 능력으로 인하여 치료학적 당단백질의 생산에 바람직한 숙주이다(Cumming, D.A., et al., Glycobiology 1 (1991) 115-130; Jenkins, N., et al., Nature Biotechnol. 14 (1996) 975-981). 박테리아는, 극히 드물게 단백질을 당화시키고, 다른 유형의 통상의 숙주, 예를 들면, 효모, 사상 진균, 곤충 및 식물 세포와 같이, 혈류로부터의 신속한 청소, 바람직하지 못한 면역 상호작용, 그리고, 몇몇의 특정한 경우에는 감소된 생물학적 활성과 관련된 당화 패턴을 수득한다. 포유동물 세포들 중에서도, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포가 최근 20년 동안 가장 흔하게 사용되어 왔다. 적합한 당화 패턴을 제공하는 것 이외에도, 이들 세포는, 유전적으로 안정하고 고도로 생산성인 클로날 세포주의 일관된 생성을 가능하게 한다. 이들은 혈청 불포함 배지를 이용한 간단한 생물 반응기에서 고밀도로 배양될 수 있고, 안전하고 재현가능한 생물 공정(bioprocess)의 발달을 가능하게 한다. 다른 통상적으로 사용되는 동물 세포로는 베이비 햄스터 신장(BHK) 세포, NS0- 및 SP2/0-마우스 골수종 세포가 포함된다. 보다 최근에는 유전자전이 동물로부터의 생산도 시험되었다. (Jenkins, N., et al., Nature Biotechnol. 14 (1996) 975-981).

[0088] 모든 항체는, 중쇄 불변 영역 내의 보존된 위치에 탄수화물 구조를 함유하고, 각각의 이소타입은, 단백질 어셈블리(assembly), 분비 또는 기능적 활성화에 가변적으로 영향을 미치는 N-링크된 탄수화물 구조의 별개의 어레이(array)를 갖는다. (Wright, A., and Monison, S. L., Trends Biotech. 15 (1997) 26-32). 부착된 N-링크된 탄수화물의 구조는 프로세싱의 정도에 따라 현저하게 변하고, 고-만노스, 다중으로-분기된 올리고사카라이드 및 바이안테너리 복합 올리고사카라이드를 포함할 수 있다. (Wright, A., and Morrison, S. L., Trends Biotech. 15 (1997) 26-32). 전형적으로, 모노클로날 항체도 다중 글리코형(glycoform)으로서 존재하도록 하는 특정 당화 부위에 부착된 코어 올리고사카라이드 구조의 이종성 프로세싱이 존재한다. 마찬가지로, 항체 당화의 주요 차이는 세포주 사이에서 발생하고, 상이한 배양 조건 하에 성장된 주어진 세포주에 대해서 심지어 작은 차이라도 나타남이 밝혀졌다. (Lifely, M. R., et al., Glycobiology 5 (1995) 813-822).

[0089] 단순한 생산 프로세스를 유지하고 유의한 바람직하지 못한 부작용을 잠재적으로 회피하면서 효력에 있어서 큰 증가를 수득하기 위한 한 방법은, 문헌[Umaña, P., et al., Nature Biotechnol. 17 (1999) 176-180 및 US 6,602,684]에 기술되어 있는 바와 같이 모노클로날 항체의 올리고사카라이드 구성성분을 조작함으로써 모노클로날 항체의 자연적 세포-매개된 이펙터 기능을 향상시키는 것이다. 암 면역 치료요법에서 가장 흔하게 사용되는 항체인 IgG1 유형의 항체는, 각각의 CH2 도메인 내의 Asn297에 보존된 N-링크된 당화 부위를 갖는 당단백질이다. Asn297에 부착된 2개의 복합 바이안테너리 올리고사카라이드들은 CH2 도메인들 사이에 매립되어 폴리펩타이드 백본과의 광범위한 접촉을 형성하고, 이들의 존재는 항체에 대해 이펙터 기능, 예를 들면, 항체의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 매개하는데 필수적이다(Lifely, M. R., et al., Glycobiology 5 (1995) 813-822; Jefferis, R., et al., Immunol. Rev. 163 (1998) 59-76; Wright, A., and Morrison, S. L., Trends Biotechnol. 15 (1997) 26-32).

[0090] 이등분된 올리고사카라이드의 형성을 촉진시키는 글리코실트랜스퍼라제인 $\beta(1,4)$ -N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III("GnTIII")의 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포에서의 과발현이, 조작된 CHO 세포에 의해 생산되는 항신경모세포종 키메라 모노클로날 항체(chCE7)의 시험관내 ADCC 활성을 유의하게 증가시킨다는 것은 기존에 밝혀져 있었다. (문헌[Umaña, P., et al., Nature Biotechnol. 17 (1999) 176-180; 및 WO 99/154342]을 참조하고, 상기 문헌들의 전문은 본원에 인용에 의해 포함된다). 항체 chCE7은, 높은 종양 친화성 및 특이성을 갖지만, GnTIII 효소가 결여되어 있는 표준 산업적 세포주에서 생산되는 경우에 임상학적으로 유용한 효력이 너무 적은 비접합된 모노클로날 항체의 큰 부류에 속한다(Umana, P., et al., Nature Biotechnol. 17 (1999) 176-180). ADCC 활성의 큰 증가는, GnTIII를 발현하도록 항체 생산성 세포를 조작함으로써 얻어질 수 있었고, 또한, 이는, 천연-발생 항체에서 발견된 수준 초과와, 이등분된 비-푸코실화된 올리고사카라이드를 포함하는 불변 영역(Fc)-회합된 이등분된 올리고사카라이드의 증가를 초래하였음을 밝힌 것은 이 연구가 처음이었다.

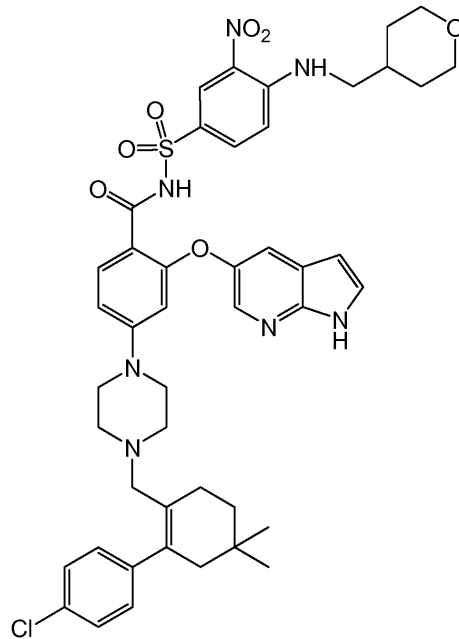
[0091] 한 실시형태에서, 본 발명의 GA101 항체를 포함하는 조성물은, 증가된 ADCC 활성을 갖도록 조작된 GA101 항체를 포함한다.

[0092] 본원에서 사용되는 용어 "Bcl-2"는, Bcl-2 계열의 단백질들 중 한 구성원인 Bcl-2 단백질(Swiss Prot ID 번호 P10415)을 말한다(Cory, S., and Adams, J.M., Nature Reviews Cancer 2 (2002) 647-656; Adams, Genes und

Development 17 (2003) 2481-2495; Danial, N.N., and Korsmeyer, S.J., Cell 116 (2004) 205-219; Petros, A. M., Biochim Biophys Acta 1644 (2004) 83-94).

[0093] 본원에서 사용되는 용어 "선택적 Bcl-2 억제제"는, 하기 화학식 I의 Bcl-2 억제제인 2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰일)벤즈아미드(즉, ABT-199 또는 GDC-0199)를 말하고, 이는 문헌[국제 공보 제WO2010/138588호 및 미국 공개 제US2010/0305122호]에 기술되어 있고, 이들 문헌은 본원에 인용에 의해 포함된다.

[0094] [화학식 I]



2-(1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-5-일옥시)-4-(4-((2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸사이클로헥스-1-에닐)메틸)피페라진-1-일)-*N*-(3-니트로-4-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아미노)페닐설폰일)벤즈아미드

[0095]

[0096] 용어 "CD20 항원의 발현"은, 세포, 예를 들면, T-세포 또는 B-세포에서의 CD20 항원 발현의 유의한 수준을 나타내는 것으로 의도된다. 한 실시형태에서, 본 발명의 방법에 따라 치료되는 환자는, B-세포 종양 또는 암에 대해 유의한 수준의 CD20을 발현한다. "CD20 발현 암"을 갖는 환자는, 당해 분야에 공지되어 있는 표준 검정에 의해 결정될 수 있고, 예를 들면, CD20 항원 발현은, 상응하는 mRNA의 면역조직화학적(IHC) 검출, FACS를 이용하거나 PCR-기반 검출을 통해 측정된다.

[0097] 본원에서 사용되는 용어 "CD20 발현 암"은, 암 세포가 CD20 항원의 발현을 나타내는 모든 암을 말한다. 이러한 CD20 발현 암은, 예를 들면, 림프종, 림프구성 백혈병, 폐암, 비 소세포 폐(NSCL)암, 기관지 폐포 세포 폐암, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안구내 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부의 암, 위암(stomach cancer, gastric cancer), 결장암, 유방암, 자궁암, 난관의 암종, 자궁내막의 암종, 자궁경부의 암종, 질의 암종, 외음부의 암종, 호지킨 질환, 식도의 암, 소장암, 내분비계의 암, 갑상선의 암, 부갑상선의 암, 부신의 암, 연조직의 육종, 요도의 암, 음경의 암, 전립선암, 방광의 암, 신장 또는 요관의 암, 신장 세포 암종, 신우의 암종, 중피종, 간세포암, 담관암, 중추 신경계(CNS)의 신생물, 척추 측 종양, 뇌간 교종, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 신경초종, 상의세포종, 수포세포종, 뇌수막종, 편평 세포 암종, 뇌하수체 선종일 수 있고, 상기 암들 중 어느 암의 난치성 버전, 또는 상기 암들 중 하나 이상의 조합이 포함된다.

[0098] 한 실시형태에서, 본원에서 사용되는 CD20 발현 암은 림프종(예를 들면, B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)) 및 림프구성 백혈병을 말한다. 이러한 림프종 및 림프구성 백혈병으로는, 예를 들면, 다른 유형의 림프종들 및 림프구성 백혈병들 중에서; a) 여포성 림프종, b) 소형 비-분할(non-cleaved) 세포 림프종/버킷(Burkitt) 림프종(풍토성 버킷 림프종, 산발성 버킷 림프종 및 비-버킷 림프종 포함), c) 변연부 림프종(결절외 변연부 B 세포 림프종(점막-관련 림프 조직 림프종, MALT), 결절 변연부 B 세포 림프종 및 비장 변연부 림프종 포함), d) 맨틀 세포 림프종(MCL), e) 거대 세포 림프종(B-세포 미만성 거대 세포 림프종(DLCL), 미만성 혼합 세포 림프종, 면역

모세포 림프종, 원발성 종격동 B-세포 림프종, 혈관 중심성 림프종-폐 B-세포 림프종 포함), f) 모발상 세포 백혈병, g) 림프구성 림프종, 발텐스트롬 마크로글로불린혈증, h) 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL)/소형 림프구성 림프종(SLL), B-세포 전림프구성 백혈병, i) 형질 세포 신생물, 형질 세포 골수종, 다발성 골수종, 형질 세포종, j) 호지킨 질환, k) 급성 골수성 백혈병(AML)이 포함된다.

[0099] 한 실시형태에서, CD20 발현 암은 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)이다. 다른 실시형태에서, CD20 발현 암은 맨틀 세포 림프종(MCL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), B-세포 미만성 거대 세포 림프종(DLCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 버킷 림프종, 모발상 세포 백혈병, 여포성 림프종, 다발성 골수종, 변연부 림프종, 이식 후 림프증식성 장애(PTLD), HIV 관련 림프종, 발텐스트롬 마크로글로불린혈증, 또는 원발성 CNS 림프종이다.

[0100] 본원에서 사용되는 "재발성 또는 난치성" CLL은, 적어도 1회의 화학 치료요법 포함 치료 용법을 투여받은 CLL 환자를 포함한다. 재발된 환자는, 일반적으로 이전의 화학 치료요법-포함 치료 용법에 대한 반응에 이어서 진행성 질환을 발병하였다. 난치성 환자는, 일반적으로 마지막 이전의 화학 치료요법-포함 용법에 대해 반응하는데 실패하였거나 6개월 내에 재발하였다.

[0101] 본원에서 사용되는 "이전에 치료되지 않은"은, CLL로 진단되었지만, 일반적으로, 이전의 화학 치료요법 또는 면역 치료요법을 투여받지 않은 환자를 포함한다. (예를 들면, 압박 징후 또는 증상의 완화를 위한) 응급의 국소-영역 방사선 치료요법 또는 코르티코스테로이드의 병력을 가진 환자도 이전에 치료되지 않은 것으로 간주될 수 있다.

[0102] 본원에서 사용되는 용어 "치료하는"은, 달리 나타내지 않는 한, 종양의 성장, 종양 전이, 또는 환자에서의 다른 암-유발 또는 신생물성 세포의 진행을 역전시키거나, 완화시키거나, 억제시키거나, 또는 이들을 부분적으로 또는 완전하게 예방하는 것을 의미한다. 본원에서 사용되는 용어 "치료"는, 달리 나타내지 않는 한, 치료하는 것의 행위를 말한다.

[0103] 용어 "치료 방법" 또는 이의 등가 용어는, 예를 들면, 암에 적용되는 경우, 환자에서 암 세포의 수를 감소시키거나 제거하도록, 또는 암의 증상을 완화시키도록 고안된 행위의 절차 또는 과정을 말한다. 암 또는 다른 증식성 장애의 "치료 방법"은, 암 세포 또는 다른 장애가 실제로 제거될 것임, 세포 또는 장애의 수가 실제로 감소될 것임, 또는 암 또는 다른 장애의 증상이 실제로 완화될 것임을 반드시 의미하는 것은 아니다. 보통, 암의 치료 방법은, 낮은 성공 가능성을 가지고도 수행될 것이지만, 이는, 병력 및 추정되는 환자의 생존 기대가 주어진 경우, 이로인 행위의 전체 과정을 유도하는 것으로 생각된다. 용어 "공동-투여" 또는 "공동-투여하는"은, 2개의 별도의 제형들로서의 상기 II형 항-CD20 항체 및 상기 선택적 Bcl-2 억제제의 투여를 말한다. 공동-투여는 동시적 또는 어느 한 순서로의 순차적일 수 있다. 한 추가의 실시형태에서, 둘 다(또는 모든) 활성제가 동시에 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 존재한다. 상기 II형 항-CD20 항체 및 상기 선택적 Bcl-2 억제제는, (예를 들면, 지속적 주입을 통한 정맥내(i.v.)를 통해) 동시에 또는 순차적으로 공동-투여된다(항체를 위해 1회, 그리고, 결국 Bcl-2 억제제를 위해 1회; 또는 Bcl-2 억제제는 경구 투여된다). 치료학적 제제 둘 다가 순차적으로 공동-투여되는 경우, 상기 제제들은, "특정 기간"만큼 떨어진 2회의 별도의 투여들로 투여된다. 용어 특정 기간은 1시간 내지 15일의 임의의 기간을 의미한다. 예를 들면, 제제들 중 하나는 다른 제제의 투여로부터 약 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1일, 또는 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1시간 내에 투여될 수 있고, 한 실시형태에서, 특정 기간은 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1일, 또는 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1시간이다.

[0104] 용어 "동시에"는, 동일한 시점에 또는 일반적으로 1시간 미만의 짧은 시간 내에를 의미한다.

[0105] 본원에 사용되는 투약 기간은, 각각의 치료학적 제제가 적어도 1회 투여되는 동안의 시간을 의미한다. 투약 사이클은 일반적으로 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30일이고, 한 실시형태에서는 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14일, 예를 들면, 7일 또는 14일이다.

[0106] 소정 실시형태에서, 투약 기간은 투약 사이클이다.

[0107] 항체는, 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상의학에 의해 시도되고 있는 조직, 시스템, 동물, 또는 사람의 생물학적 반응 또는 의학적 반응을 유발할 것인 각각의 화합물 또는 조합물의 양인 "치료학적 유효량"(또는 간단히 "유효량")으로 환자에게 투여된다는 것은 자명하다. 치료학적 제제의 유효량의 투여는 단일 투여 또는 분할 용

량(split dose) 투여될 수 있다. "분할 용량 투여"는, 다중 용량, 바람직하게는 2회로의 분할이고, 1 또는 2일 내에 투여된다. 예를 들면, 선택적 BCL-2 억제제 100mg이 유효한 것으로 여겨지는 경우, 1회의 100mg 투여 또는 2회의 50mg 투여들로 투여될 수 있다. 분할 용량 투여는, 부작용을 감소시키기 위해 투약 기간의 초반에 때때로 바람직하다. 유효량이 분할 투약으로 투여되는 경우, 이는 여전히 유효량의 1회 투여로 간주된다. 예를 들면, 선택적 Bcl-2 억제제의 유효량이 100mg이고, 이 유효량이 2회의 50mg 용량들로, 예를 들면, 2일의 기간에 걸쳐 투여되는 경우, 1회의 유효량만이 상기 기간 동안 투여되는 것이다.

[0108] 상기 II형 항-CD20 항체 및 상기 Bcl-2 억제제의 공동-투여의 양, 및 공동-투여의 시점은, 치료되는 환자의 유형(종, 성별, 연령, 체중 등) 및 상태, 및 치료되는 질환 또는 병태의 중증도에 의존할 것이다. 상기 II형 항-CD20 항체 및 상기 Bcl-2 억제제는, 한번에 또는 일련의 치료들에 걸쳐 환자에게 적합하게 공동-투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 의존하여, 환자에게의 약물 둘 다의 공동-투여를 위한 초기 후보 용량은 약 1 μ g/kg 내지 50mg/kg(예를 들면, 0.1 내지 20mg/kg)의 상기 II형 항-CD20 항체, 및 0.1mg/kg 내지 200mg/kg(예를 들면, 10 내지 150mg/kg)의 상기 선택적 Bcl-2 억제제이다. 투여가 정맥내인 경우, 상기 II형 항-CD20 항체 또는 상기 Bcl-2 억제제에 대한 초기 주입 시간은 후속 주입 시간보다 더 길 수 있고, 예를 들면, 초기 주입을 위해 대략 90분이고, 후속 주입을 위해서는 대략 30분(초기 주입을 잘 견딘 경우)이다.

[0109] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체의 바람직한 용량은, 약 0.05mg/kg 내지 약 30mg/kg, 바람직하게는 1mg/kg 내지 30mg/kg의 범위 내일 것이고; 또는 500mg 내지 300mg의 플랫폼 용량(flat dose)일 것이다. 따라서, 약 0.5mg/kg, 2.0mg/kg, 4.0mg/kg, 10mg/kg 또는 30mg/kg의 1회 이상의 용량 또는 500mg 내지 3000mg의 플랫폼 용량(또는 이들의 임의의 조합)은 환자에게 공동-투여될 수 있다. 상기 Bcl-2 억제제의 바람직한 용량은, 20mg/kg 내지 약 150mg/kg, 바람직하게는 1mg/kg 내지 10mg/kg의 범위 내일 것이다. 환자의 유형(종, 성별, 연령, 체중 등) 및 상태에, 그리고, 항-CD20 항체 및 Bcl-2 억제제의 유형에 의존하여, 상기 항-CD20 항체의 용량 및 투여 스케줄은 Bcl-2 억제제의 용량과 상이할 수 있다. 예를 들면, 상기 항-CD20 항체는, 예를 들면, 1 내지 3주마다 투여될 수 있고, 상기 Bcl-2 억제제는 매일 또는 2 내지 7일마다 투여될 수 있다. 또한, 보다 높은 초기 부하 용량, 이어서, 1회 이상의 보다 낮은 용량들이 투여될 수도 있다.

[0110] 본 발명은, 부분적으로, II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0111] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 조성물은, CD20 발현 암을 앓고 있는 환자에서의 전이 또는 추가의 전파(dissemination)를 예방하거나 감소시키는데 유용하다. 상기 조성물은, 이러한 환자의 생존 지속기간을 증가시키고, 이러한 환자의 무진행 생존(progression free survival)을 증가시키고, 반응의 지속기간을 증가시키고, 생존 지속기간, 무진행 생존, 반응 속도 또는 반응의 지속기간에 의한 측정시 치료된 환자의 통계학적으로 유의하고 임상학적으로 중요한 개선을 초래하는데 유용하다. 바람직한 실시형태에서, 상기 조성물은, 환자들의 그룹에서 반응 속도를 증가시키는데 유용하다.

[0112] 본 발명의 맥락에서, 추가의 다른 세포독성 제제, 화학 치료요법 제제 또는 항암제, 또는 이러한 제제들의 효과를 향상시키는 화합물(예를 들면, 사이토카인)은 CD20 발현 암의 II형 항-CD20 항체 및 Bcl-2 억제제 조합 치료에서 사용될 수 있다. 이러한 분자들은, 의도된 목적에 유효한 양으로 조합하여 적합하게 존재한다. 바람직하게는, II형 항-CD20 항체 및 Bcl-2 억제제 조합 치료는, 이러한 추가의 세포독성 제제, 화학 치료요법 제제 또는 항암제, 또는 이러한 제제들의 효과를 향상시키는 화합물의 부제 하에 사용된다.

[0113] 이러한 제제로는, 예를 들면, 알킬화 제제 또는 알킬화 작용을 지닌 제제, 예를 들면, 사이클로포스파미드(CTX; 예를 들면, CYTOXAN®), 클로람부실(CHL; 예를 들면, LEUKERAN®), 시스플라틴(CisP; 예를 들면, PLATINOL®), 부설판(예를 들면, MYLERAN®), 멜팔란, 카르무스틴(BCNU), 스트렙토조토신, 트리에틸렌멜라민(TEM), 및 미토마이신 C 등; 항-대사물질, 예를 들면, 메토트렉세이트(MTX), 에토포시드(VP16; 예를 들면, VEPESID®), 6-메르캅토피린(6MP), 6-티오구아닌(6TG), 시타라빈(Ara-C), 5-플루오로우라실(5-FU), 카페시타빈(예를 들면, XELODA®), 및 다카르바진(DTIC) 등; 항생제, 예를 들면, 악티노마이신 D, 옥소루비신(DXR; 예를 들면, ADRIAMYCIN®), 다우노루비신(다우노마이신), 블레오마이신, 및 미트라마이신 등; 알칼로이드, 예를 들면, 빈카알칼로이드, 예를 들면, 빈크리스틴(VCR), 및 빈블라스틴 등; 및 기타 항종양 제제, 예를 들면, 파클리탁셀(예를 들면, TAXOL®) 및 파클리탁셀 유도체, 세포정지제, 글루코코르티코이드, 예를 들면, 덱사메타손(DEX; 예를 들면, DECADRON®) 및 코르티코스테로이드, 예를 들면, 프레드니손, 뉴클레오시드 효소 억제제, 예를 들면, 하이드록시우레아, 아미노산 결핍 효소, 예를 들면, 아스파라기나제, 류코보린 및 다른 엽산 유도체, 및 유사한 다양한 항종양제가 포함된다. 하기 제제들도 추가의 제제로서 사용될 수 있다: 아르니포스틴(예를 들면, ETHYOL®), 닥티노마이신, 메클로르에타민(질소 머스타드), 스트렙토조신, 사이클로포스파미드, 로무스틴

(CCNU), 독소루비신 리포(예를 들면, DOXIL®), 겐시타빈(예를 들면, GEMZAR®), 다우노루비신 리포(예를 들면, DAUNOXOME®), 프로카르바진, 미토마이신, 도세탁셀(예를 들면, TAXOTERE®), 아테스류킨, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 클라드리빈, 캄프토테신, CPT 11(이리노테칸), 10-하이드록시 7-에틸-캄프토테신(SN38), 플록스우리딘, 플루다라빈, 이포스파미드, 이다루비신, 메스나, 인터페론 베타, 인터페론 알파, 미토크산트론, 토포테칸, 류프롤리드, 메게스트롤, 멜팔란, 메르캅토피린, 폴리카마이신, 미토탄, 페가스파르가제, 펜토스타틴, 피포브로만, 폴리카마이신, 타목시펜, 테니포시드, 테스토락톤, 티오구아닌, 티오테파, 우라실 머스타드, 비노렐빈, 클로람부실. 바람직하게는 II형 항-CD20 항체 및 Bcl-2 억제제 조합 치료는 이러한 추가의 제제의 부재 하에 사용된다.

[0114] 화학 치료학적 용법에서 상기에 기술되어 있는 세포독성 제제 및 항암제, 및 단백질 키나제 억제제와 같은 항증식성 표적-특이적 항암 약물을 사용하는 것은, 일반적으로 암 치료요법 분야에 익히 특성확인되어 있고, 본원에서 이들은 용도는, 일부의 조정으로, 내성 및 유효성을 모니터링하기 위한, 그리고, 투여 경로 및 용량을 제어하기 위한 동일한 고려사항들에 영향을 받는다. 예를 들면, 세포독성 제제의 실제 용량은, 조직 배양 방법을 이용하여 측정된 환자의 배양된 세포 반응에 따라 다를 수 있다. 일반적으로, 용량은 추가의 다른 제제의 부재 하에 사용된 양과 비교하여 감소될 것이다.

[0115] 유효한 세포독성 제제의 전형적인 용량은, 제조업자에 의해 추천되는 범위 내일 수 있고, 시험관내 반응 또는 동물 모델에서의 반응에 의해 나타내어지는 범위는 약 10배(one order of magnitude) 이하의 농도 또는 양만큼 감소될 수 있다. 따라서, 실제 용량은 의사의 판단, 환자의 상태, 및 처음으로 배양된 악성 세포 또는 조직배양된 조직 샘플의 시험관내 반응성, 또는 적절한 동물 모델에서 관찰된 반응에 근거한 치료학적 방법의 유효성에 따를 것이다.

[0116] 본 발명과 관련하여, II형 항-CD20 항체 및 Bcl-2 억제제의 CD20 발현 암의 병용 치료에 추가하여 유효량의 이온화 방사선을 수행할 수 있고/있거나, 방사성 약제가 사용될 수 있다. 방사선의 공급원은, 치료되는 환자에 대해 외부적 또는 내부적일 수 있다. 공급원이 환자에 대해 외부적인 경우, 치료요법은 외부 광선 방사선 치료요법(EBRT)으로서 공지되어 있다. 방사선의 공급원이 환자에 대해 내부적인 경우, 치료는 근접 방사선 치료요법(BT: brachytherapy)이라고 칭한다. 본 발명과 관련하여 사용하기 위한 방사성 원자는, 라듐, 세슘-137, 이리듐-192, 아메리슘-241, 금-198, 코발트-57, 구리-67, 테크네튬-99, 요오드-123, 요오드-131, 및 인듐-111을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 그룹으로부터 선택될 수 있다. 또한, 이러한 방사성 동위원소로 항체를 표지할 수도 있다. 바람직하게, II형 항-CD20 항체 및 Bcl-2 억제제 병용 치료는 이러한 이온화 방사선 부재 하에 사용된다.

[0117] 방사선 치료요법은, 절제 불가능하거나 수술이 불가능한 종양 및/또는 종양 전이를 제어하기 위한 표준 치료이다. 방사선 치료요법이 화학 치료요법과 병용된 경우에 향상된 결과가 나타났다. 방사선 치료요법은, 표적 부위에 전달된 고용량의 방사선이 종양 및 정상 조직 둘 다에서의 생식 세포의 사멸을 초래할 것이라는 원칙에 근거한다. 방사선 용량 용법은 일반적으로 방사선 흡수된 용량(Gy), 시간, 선량 분할(fractionation)의 관점에서 정의되고, 종양학자에 의해 주의 깊게 정의되어야만 한다. 환자가 투여받는 방사선의 양은 각종 고려사항들에 의존할 것이지만, 2개의 가장 중요한 고려사항들은, 신체의 다른 중용한 구조 또는 기관과 관련된 종양의 위치, 및 종양이 퍼진 정도이다. 방사선 치료를 경험하고 있는 환자에 대한 전형적인 치료 과정은, 환자에게 1주일 5일 약 1.8 내지 2.0Gy의 단일 1일 선량(fraction)으로 투여되는 10 내지 80Gy의 총 용량을 이용한 1 내지 6주 기간에 걸친 치료 스케줄일 것이다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 사람 환자의 종양이 본 발명 및 방사선의 병용 치료로 치료되는 경우에 상승작용(synergy)이 존재한다. 즉, 본 발명의 병용을 포함하는 제제의 수단에 의한 종양 성장의 억제는, 방사선과, 임의로, 추가의 화학 치료학적 제제 또는 항암제와 병용하는 경우에 향상된다. 보조의 방사선 치료요법의 매개변수들은, 예를 들면, WO 99/60023에 포함된다.

[0118] II형 항-CD20 항체는, 공지의 방법에 따라, 볼루스로서의 정맥내 투여에 의해 또는 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활막내, 또는 척수강내 경로에 의한 일정 기간에 걸친 연속적 주입에 의해 환자에게 투여된다. 항체의 정맥내 또는 피하 투여가 바람직하다.

[0119] Bcl-2 억제제는, 공지의 방법에 따라, 예를 들면, 볼루스로서의 정맥내 투여에 의해 또는 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활막내, 척수강내, 또는 경구 경로에 의한 일정 기간에 걸친 연속적 주입에 의해 환자에게 투여된다. Bcl-2 억제제의 정맥내, 피하 또는 경구 투여가 바람직하다.

[0120] 또한, 본 발명은, CD20 발현 암을 앓고 있는 환자의 병용 치료를 위한 II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 포함하는 키트에 관한 것이다.

- [0121] 본 발명의 실시형태에서, 상기 키트는 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함한다. 상기 키트는, 바람직하게는 별도의 추가의 컨테이너에 보관되는 멸균 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 키트는, CD20 발현 암 질환, 바람직하게는 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)에 대한 방법으로서의 병용 치료의 사용을 지시하는 인쇄된 지침서를 포함하는 패키지 삽입물을 추가로 포함할 수 있다.
- [0122] 용어 "패키지 삽입물"은 치료학적 생성물의 시판 패키지에 관례상 포함되는 지침서를 말하고, 이는, 이러한 치료학적 생성물의 사용에 관한, 지시사항, 용도, 용량, 투여, 사용 금지 사유, 및/또는 주의에 대한 정보를 포함할 수 있다.
- [0123] 바람직한 실시형태에서, 제조 컨테이너의 물품은, 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함한다. 제조 물품은, 바람직하게는 별도의 추가의 컨테이너에 보관되는 멸균 희석제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0124] 본원에서 사용되는 "약제학적으로 허용되는 담체"는, 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장성 제제 및 흡수 지연제를 포함하는 약제학적 투여에 적합한 임의의 물질 및 모든 물질, 및 약제학적 투여에 적합한 다른 물질 및 화합물을 포함하는 것으로 의도된다. 임의의 종래의 매질 또는 제제가 활성 화합물에 비적합한 한을 제외하고, 본 발명의 조성물에서 이들의 사용이 고려된다. 또한, 보충 활성 화합물도 상기 조성물에 포함될 수 있다.
- [0125] *약제학적 조성물 및 방법*
- [0126] 약제학적 조성물은, 본 발명에 따른 II형 항-CD20 항체 또는 항-Bcl-2 활성 제제를 약제학적으로 허용되는 무기 또는 유기 담체와 함께 프로세싱함으로써 얻어질 수 있다. 락토스, 옥수수 전분 또는 이의 유도체, 탈크, 및 스테아르산 또는 이의 염 등을 예를 들면, 정제, 코팅된 정제, 드라제(dragee) 및 경질 젤라틴 캡슐을 위한 이러한 담체로서 사용할 수 있다. 연질 젤라틴 캡슐에 적합한 담체는, 예를 들면, 식물성 오일, 왁스, 지방, 및 반고체 및 액체 폴리머 등이다. 그러나, 활성 물질의 성질에 따르면, 연질 젤라틴 캡슐의 경우에는 일반적으로 담체가 요구되지 않는다. 용액 및 시럽의 생산에 적합한 담체는, 예를 들면, 물, 폴리올, 글리세롤, 및 식물성 오일 등이다. 좌제에 적합한 담체는, 예를 들면, 천연 또는 경화 오일, 왁스, 지방, 및 반고체 또는 액체 폴리머 등이다.
- [0127] 또한, 약제학적 조성물은, 보존제, 가용화제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 감미제, 착색제, 향미제, 삼투압을 변화시키기 위한 염, 완충제, 봉쇄제 또는 항산화제를 함유할 수 있다. 또한, 이들은 다른 치료학적으로 유용한 물질도 함유할 수 있다.
- [0128] 상기 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0129] 본 발명은, (i) II형 항-CD20 항체의 제1 유효량, 또는 (ii) 선택적 Bcl-2억제제의 제2 유효량을 포함하는, 특히, 암에 사용하기 위한 약제학적 조성물을 추가로 제공한다. 이러한 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 임의로 포함한다.
- [0130] 본 발명에 따라 사용된 II형 항-CD20 항체 단독의 약제학적 조성물은, 바람직한 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 혼합함으로써 보관을 위해 동결건조된 제형 또는 수용액의 형태로 제조된다. 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제는, 사용된 용량 및 농도에서 수용체에 대해 비독성이고, 완충제, 예를 들면, 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예를 들면, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예를 들면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥사놀; 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예를 들면, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역 글로불린; 친수성 중합체, 예를 들면, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들면, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스티린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예를 들면, EDTA; 당, 예를 들면, 슈크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 카운터-이온, 예를 들면, 나트륨; 금속 착체(예를 들면, Zn-단백질 착체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예를 들면, TWEENTM, PLURONICSTM 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.
- [0131] 항-Bcl-2 활성 제제의 약제학적 조성물 단독, 예를 들면, Bcl-2 억제제는, 이들의 약제학적 특성에 의존하고; 예를 들면, 소형 화학적 화합물, 예를 들면, ABT-737, ABT-199 또는 ABT-263의 경우, 한 제형은, 예를 들면, 하기일 수 있다:

[0132] a) 정제 제형(습윤 과립화):

항목	성분	mg/정제			
1.	화학식 I 의 화합물	5	25	100	500
2.	락토스 무수 DTG	125	105	30	150
3.	Sta-Rx 1500	6	6	6	30
4.	미세결정 셀룰로스	30	30	30	150
5.	마그네슘 스테아레이트	1	1	1	1
	총	167	167	167	831

[0133]

[0134] 제조 절차:

- [0135] 1. 항목 1, 2, 3 및 4를 혼합하고 정제수로 과립화시킨다.
- [0136] 2. 상기 과립을 50℃에서 건조시킨다.
- [0137] 3. 상기 과립을 적합한 분쇄 장비에 통과시킨다.
- [0138] 4. 항목 5를 첨가하고, 3분 동안 혼합시키고; 적합한 압력으로 압축시킨다.

[0139] b) 캡슐 제형:

항목	성분	mg/캡슐			
1.	화학식 I 의 화합물	5	25	100	500
2.	수성 락토스	159	123	148	---
3.	옥수수 전분	25	35	40	70
4.	탈크	10	15	10	25
5.	마그네슘 스테아레이트	1	2	2	5
	총	200	200	300	600

[0140]

[0141] 제조 절차:

- [0142] 1. 적합한 혼합기에서 항목 1, 2 및 3을 30분 동안 혼합한다.
- [0143] 2. 항목 4 및 5를 3분 동안 첨가한다.
- [0144] 3. 적합한 캡슐에 채운다.

[0145] 본 발명의 한 추가의 실시형태에서, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은, 상기 II형 항-CD20 항체 및 상기 Bcl-2 억제제에 대한 2개의 별도의 제형들이다.

[0146] 또한, 활성 성분은, 예를 들면, 코아세르베이션(coacervation)에 의해 또는 인종간 중합체화에 의해 제조된 미세캡슐, 예를 들면, 콜로이달 약물 전달 시스템(예를 들면, 리포솜, 알부민 마이크로스피어(microsphere), 마이크로에멀전, 나노-입자 및 나노캡슐) 중의 또는 매크로에멀전 중의 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-미세캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 미세캡슐 내에 봉입될 수 있다. 이러한 기술은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0147] 서방형(sustained-release) 제제가 제조될 수 있다. 서방형 제제의 적합한 예로는, 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스가 포함되고, 이 매트릭스는 성형품의 형태, 예를 들면, 필름, 또는 미세캡슐로 존재한다. 서방형 매트릭스의 예로는 폴리에스테르, 하이드로겔(예를 들면, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락타이드(US 3,773,919), L-글루탐산과 감마-에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들면, LUPRON DEPOT™(락트산-글리콜산 및 류프롤라이드 아세테이트로 이루어진 주사가능한 마이크로스피어), 및 폴리-D-(-)3-하이드록시부티르산이 포함된다.

[0148] 생체내 투여를 위해 사용되는 제형은 멸균되어야만 한다. 이는 멸균 여과 멤브레인을 통한 여과에 의해 쉽게

달성된다.

- [0149] 소정 실시형태에서, 암을 치료하기 위해 GA-101 항체의 유효량이 GDC-0199의 유효량과의 병용물로 제조되는, 제조 방법이 제공된다.
- [0150] 몇몇의 실시형태에서, 암을 치료하기 위해 GDC-0199이 유효량이 GA-101 항체의 유효량과의 병용물로 제조되는, 제조 방법이 제공된다.
- [0151] 제공되는 제조 방법에서, GA-101 항체의 유효량은, 예를 들면, 500mg 내지 1g일 수 있거나, 예를 들면, 상기 단락들에서 상기에 논의된 유효량일 수 있다. 제공되는 제조 방법에서, GDC-0199의 유효량은, 예를 들면, 20mg 내지 1g일 수 있거나, 예를 들면, 상기 단락들에서 상기에 논의된 유효량일 수 있다. 치료되는 암은, 예를 들면, 본 출원의 다른 곳에서 논의되는 것들 중 임의의 것일 수 있다.
- [0152] 본 발명은, 부분적으로, 암, 특히, CD20-발현 암을 앓고 있는 환자의 치료 방법으로서, 상기 방법은, 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 공동-투여함을 포함하는, 방법에 관한 것이다. 상기 II형 항-CD20 항체 및 항-Bcl-2 활성 제제는 유효량으로 투여된다.
- [0153] 소정 실시형태에서, 투약 사이클은 289일 동안이다.
- [0154] 본원에서 제공되는 환자에서의 암을 치료하는 방법의 소정 실시형태에서, 상기 방법은, 환자에게 1회 이상의 투약 사이클 동안 II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2를 투여함을 포함한다. 한 실시형태에서, 1회 이상의 투약 사이클은 각각 적어도 1주 동안 지속된다. 다른 실시형태에서, 1회 이상의 투약 사이클은 각각 적어도 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 또는 9주 초과 동안이다. 한 실시형태에서, 각각의 투약 사이클은 4주이다.
- [0155] 한 실시형태에서, 치료학적 제제는 환자에게 1회의 투약 사이클 동안 투여된다.
- [0156] 다른 실시형태에서, 치료학적 제제는 환자에게 1회 초과와 투약 사이클 동안, 예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7회, 또는 7회 초과와 투약 사이클 동안 투여된다. 예로서, 투약 사이클이 4주인 경우, 환자에게 하나 또는 둘 다의 치료학적 제제가 6회의 투약 사이클에 걸쳐 투여되고, 치료 용법은, 도 3에 나타난 투약 스킴에 설명되는 바와 같이 24주 동안일 것이다.
- [0157] 소정 실시형태에서, 암의 치료를 필요로 하는 환자에서의 암의 치료 방법으로서, 상기 사람에게 GA101 항체 및/또는 GDC-0199를 다중 투약 사이클로 투여함을 포함하는, 방법이 제공된다.
- [0158] 소정 실시형태에서, GA101 항체 및 GDC-199는, 다중 투약 사이클의 1회 이상의 투약 사이클로 환자에게 둘 다 투여되고, GA101 항체 및 GDC-0199 중 하나는 다중 투약 사이클의 1회 이상의 투약 사이클로 투여된다.
- [0159] 본원에서 제공되는 치료 방법의 소정 실시형태에서, 치료학적 제제는, 환자에게, 2 또는 3회의 치료기(treatment phase)를 포함하는 투약 스킴으로 투여되고, 여기서, 각각의 치료기는, 다른 치료기들과 투약 사이클이 상이한 적어도 1회의 투약 사이클을 포함한다. 예를 들면, 투약 사이클이 4주를 포함하는 한 실시형태에서, II형 항-CD20 항체는, 환자에게 2주 이상의 제1 투약 사이클(예를 들면, 제1 치료기) 동안 주당 1회 투여될 수 있고, 제1 투약 사이클에 이어지는 투약 사이클(예를 들면, 제2 치료기)에서 투약 사이클당 1회 투여될 수 있다.
- [0160] 본원에서 제공되는 치료 방법의 소정 실시형태에서, II형 항-CD20 항체는, 환자에게 적어도 1주의 투약 사이클 동안 주당 1회 투여된다. 몇몇의 실시형태에서, 투약 사이클이 2주 이상 동안인 경우, II형 항-CD20 항체는 환자에게 투약 사이클당 1회 투여된다.
- [0161] 본원에서 제공되는 치료 방법의 소정 실시형태에서, GDC-0199는 투약 사이클의 1일 1회 투여된다.
- [0162] GDC-0199 및 II형 항-CD20 항체 둘 다는, 예를 들면, 투약 사이클 내에서 환자에게 투여될 수 있다. 소정 투약 사이클에서, 하나의 치료학적 제제가 단독으로 환자에게 투여된다.
- [0163] 치료학적 제제가, 다중 투약 사이클을 포함하는 투약 스킴으로 환자에게 투여되는, 제공되는 방법의 소정 실시형태에서, 다중 투약 사이클은, 투약 사이클을 갖는 제1 치료기를 포함하고, 여기서, 각각의 투약 사이클에서 II형 항-CD20 항체는 투약 사이클당 1회 투여되고, GDC-0199는 투여 사이클의 매일마다 투여된다. 제1 치료기의 이러한 투약 사이클은, 예를 들면, 각각 4주 동안일 수 있다. 몇몇의 실시형태에서, 다중 투약 사이클은 제2 치료기를 추가로 포함할 수 있고, 여기서, II형 항-CD20 항체가 단독으로 환자에게 투여되거나, GDC-0199가

단독으로 환자에게 투여된다(예를 들면, 유지기(maintenance phase)).

- [0164] II형 항-CD20 항체 및 GDC-0199 둘 다가 (예를 들면, 치료기에서) 1회 이상의 투약 사이클 동안 환자에게 투여되는, 본원에서 제공되는 방법의 몇몇의 실시형태에서, 이어서, (예를 들면, 유지기에서) 환자에게 GDC-0199 단독이 투여될 수 있다.
- [0165] 병용 치료요법에 따라 GDC-0199가 단독으로 환자에게 투여되는 소정 실시형태에서, GDC-0199는, 환자에게, 예를 들면, 1일 1회, 2일 1회, 3일, 4일, 5일 또는 6일 1회, 또는 1주 1회 투여될 수 있다.
- [0166] 병용 치료요법에 따라 II형 항-CD20 항체가 단독으로 환자에게 투여되는 소정 실시형태에서, II형 항-CD20 항체는, 환자에게, 예를 들면, 1주 1회, 2주마다 1회, 또는 1달에 1회 투여될 수 있다.
- [0167] 본원에서 제공되는 치료 방법의 소정 실시형태에서, 환자에게 투여되는 용량당 GDC-0199의 양은 제1 투약 사이클 동안 증가된다. 예를 들면, 제1 투약 사이클에서 환자에게 투여되는 GDC-0199의 양이 첫번째주의 50mg 용량으로부터 두번째주의 100mg 용량으로, 3번째 주의 300mg 용량으로 상승되는 예시 투약 스킴에 관한 도 2를 참조한다.
- [0168] 소정 실시형태에서, II형 항-CD20 항체의 투여 전에 상승 용량의 GDC-0199가 투여된다. 다른 실시형태에서는 II형 항-CD20 항체가 환자에게 투여된 후에 상승 용량의 GDC-0199가 환자에게 투여된다.
- [0169] 본원에서 제공되는 치료 방법의 몇몇의 실시형태에서, 용량당 환자에게 투여되는 GDC-0199의 양은 제1 투약 사이클 동안 10mg 내지 80mg의 초기량으로부터 190mg 내지 400mg의 최종량으로 증가된다. 소정 실시형태에서, 환자에게 투여되는 용량당 GDC-0199의 양은 50mg 또는 100mg으로 시작하여 용량당 300mg으로 증가된다. 몇몇의 실시형태에서, 환자에게 투여된 초기 용량 중의 GDC-0199의 양은, 예를 들면, 20mg 내지 60mg(예를 들면, 20mg, 25mg, 30mg, 35mg, 40mg, 45mg, 50mg, 55mg, 또는 60mg 용량), 이어서, 100mg, 200mg, 300mg 이상의 GDC-0199의 투약량일 수 있다.
- [0170] 본원에서 제공되는 방법의 소정 실시형태에서, GDC-0199의 용량은, II형 항-CD20 항체의 제1 투여 전에 증가하는 양으로 환자에게 투여된다. 몇몇의 실시형태에서, GDC-0199의 용량은, II형 항-CD20 항체의 제1 투여 후에 증가하는 양으로 환자에게 투여된다.
- [0171] 본원에서 사용되는 용어 "환자"는, 전형적으로, 임의의 목적을 위해 II형 항-CD20 항체를 이용한 치료를 필요로 하는 사람(예를 들면, CD20 발현 암을 앓고 있는 환자), 그리고, 한 실시형태에서는 암, 또는 전암성 병태 또는 병변을 치료하기 위한 이러한 치료를 필요로 하는 사람을 말한다. 그러나, 용어 "환자"는, 또한, 비-사람 동물, 바람직하게는 포유동물, 그 중에서도, 예를 들면, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 양 및 비-사람 영장류를 말한다.
- [0172] 본 발명은, 선택적 Bcl-2 억제제와 병용되는 CD20 발현 암 치료용 II형 항-CD20 항체를 추가로 포함한다.
- [0173] 본 발명은, 선택적 Bcl-2 억제제와 병용되는 C20 발현 암을 앓고 있는 환자 치료용 II형 항-CD20 항체를 추가로 포함한다.
- [0174] 본 발명은, CD20 발현 암 치료용 II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 추가로 포함한다.
- [0175] 본 발명은, CD20 발현 암을 앓고 있는 환자 치료용 II형 항-CD20 항체 및 선택적 Bcl-2 억제제를 추가로 포함한다.
- [0176] 한 실시형태에서, 상기 선택적 Bcl-2 억제제는 ABT-199이다.
- [0177] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체는, 리툭시마브에 대한 상기 II형 항-CD20 항체의 라지 세포(ATCC-번호 CCL-86) 상의 CD20에 대한 결합 능력의 비가 0.3 내지 0.6, 한 실시형태에서는 0.35 내지 0.55, 다른 실시형태에서는 0.4 내지 0.5이다.
- [0178] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체는 GA101 항체이다.
- [0179] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체는 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 증가시켰다.
- [0180] 본원에서 제공되는 환자에서의 암의 치료 방법의 소정 실시형태에서, 암은 비-고형 종양이다. 한 실시형태에서, 비-고형 종양은 CD20 발현 비-고형 종양이다. 본원에서 제공되는 방법에서 치료될 수 있는 예시의 비-고형 종양으로는, 예를 들면, 백혈병 또는 림프종이 포함된다. 한 실시형태에서, 비-고형 종양은 B 세포

림프종이다.

[0181] 한 실시형태에서, CD20 발현 암은 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)이다.

[0182] 한 실시형태에서, 상기 II형 항-CD20 항체는 모노클로날 항체이다.

[0183] 하기 실시예, 서열목록 및 도면은, 본 발명의 이해를 돕기 위해 제공되고, 이의 실제 범위는 첨부된 특허청구범위에 제시된다. 본 발명의 정신으로부터 벗어나지 않으면서 제시된 절차에서 변형이 이루어질 수 있음이 이해된다.

[0184] 실시예

[0185] **실시예 1. GDC-0199 및 오비누투주마브의 병용물을 이용한 림프종의 치료**

[0186] 비임상학적 데이터는, GDC-0199와 GA101(이 경우에는 오비누투주마브)의 병용물이, 각각의 약물이 단독으로 투여되는 경우보다 더 많은 항종양 활성을 나타낼 것이라는 가설을 지지한다. 본 연구는, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 유도된 세포주 SU.DHL-4인 공격형 림프종의 비-호지킨 림프종(NHL) 이종이식체 모델을 사용하였다. 오비누투주마브는 1mg/kg의 용량으로 3주 동안 매주 2회 IV 투여되었고, 종양 울체(tumor stasis)를 달성하였고, 이어서, 성장 지연되었다. GDC-0199는 21일 동안 100mg/kg QD로 투여되었고, 또한, 울체를 입증하였고, 이어서, 종양 성장이 지연되었다. 그러나, GDC-0199와 오비누투주마브의 병용물은, 종양 퇴행을 초래하는 추가의 효과보다 더 큰 효과를 유도하였다(8 부분 퇴행(PR) 중 5; 도 1 참조). 3주의 병용 치료요법은, 단일 제제 투여로 관찰된 76%(GA101) 및 80%(GDC 0199) TGI에 비하여 향상된 종양 성장 억제(TGI)(118% TGI)를 초래하였다(도 1 참조). 또한, GA101이 GDC 0199와 병용된 경우에, 단일 제제 투여와 비교하여 증가된 종양 퇴행(5PR)이 관찰되었다. 추가로, TGI는, 단일 제제로서 GA101로의 30% 및 GDC 0199로의 25% TGI에 비하여, 31일째(투약 종료 10일 후)에 116% TGI가 관찰되었으므로 21일째에 종료된 치료 후에 병용 치료 그룹에서 지속되었다. 요약하면, GDC 0199와의 병용물로의 GA101은, NHL 이종이식체 모델에서 별도로 투여된 각각의 제제와 비교하여 증가된 TGI 및 종양 퇴행을 초래하였다.

[0187] 이러한 연구에서, GA101 및 GDC-0199에 대한 비히클은 각각 염수 및 60%의 phosal이었다. 도 1에서, GDC-0199의 용량은 mg/kg체중의 유리 염기 당량(free base equivalent)으로서 표현된다. 결과는, 시간(일)[여기서, 0일은 치료 첫날이다]에 대한 각각의 치료 그룹에 관한 직선형 복합 효과 모델링에 의한 측정시 핏팅된 종양 체적으로서 표현된다.

[0188] **실시예 2. 재발성 또는 난치성 또는 이전에 치료되지 않은 만성 림프구성 백혈병을 지닌 환자에서의 GDC-0199 및 오비누투주마브의 Ib기 다기관 연구.**

[0189] 2개의 스케줄이 평가될 것이다: 제1 오비누투주마브 주입 전에 3주 동안 상승하는 용량으로 투여되는 GDC-0199로 이루어지는, 스케줄 A(도 2), 및 처음으로 투여되는 오비누투주마브, 이어서, 상승하는 용량의 GDC-0199로 이루어지는, 스케줄 B(도 3). 스케줄 A, 및 스케줄 B의 코호트 1은 동시에 등록될 것이다. 또한, 용량-조사(dose-finding) 단계는, 제1 오비누투주마브 주입 전의 GDC-0199의 투여(스케줄 A)가 주입 반응의 보다 낮은 발생률(incidence)을 초래하여 오비누투주마브 및 코르티코스테로이드 예비투약(premedication)의 분할 용량에 대한 요구를 감소시킬 것인지를 평가할 것이다.

[0190] 확장 단계는 각각 20명의 환자의 2개의 확장 코호트(재발성/난치성 및 이전에 치료되지 않은 CLL)를 포함할 것이고, 선택된 병용 용량 및 스케줄의 안전성 및 예비 효능(preliminary efficacy)을 평가할 것이다.

[0191] 스케줄 A에서, GDC-0199 및 오비누투주마브의 병용 치료는, 오비누투주마브 및 GDC-0199 QD의 총 8회 주입을 포함하는 각각 28일의 총 7사이클 동안 투여될 것이다.

[0192] 스케줄 B에서, GDC-0199 및 오비누투주마브의 병용 치료는, 오비누투주마브(8회 용량; 제1 용량은 2회의 주입으로 분할될 것이다) 및 GDC-0199 QD의 총 9회 주입을 포함하는 각각 28일의 총 6사이클 동안 투여될 것이다.

[0193] GDC-0199 단일 치료요법은, 상기 기술되어 있는 병용 치료의 6 내지 7사이클을 지닌 환자에서 지속될 수 있다(예를 들면, 이들이, 허용되는 독성을 갖고 아직 최대 임상 반응을 달성하지 않은(즉, 적어도 2개월 동안 아직 안정화되지 않은 종양 부하(tumor burden)의 개선/감소를 지속하고 있는) 경우)). 이러한 환자는, 이들이, 처음 발생하는 것이 어느 것이든지, 최대 반응을 달성할 때까지 또는 마지막 환자가 등록된지 1년 후까지, GDC-0199 단일 치료요법을 지속할 수 있다.

[0194] **실시예 3. GDC-0199 및 I형 항-CD20 항체(리툰시마브)의 병용 치료와 비교한 GDC-0199 및 II형 항-CD20 항체**

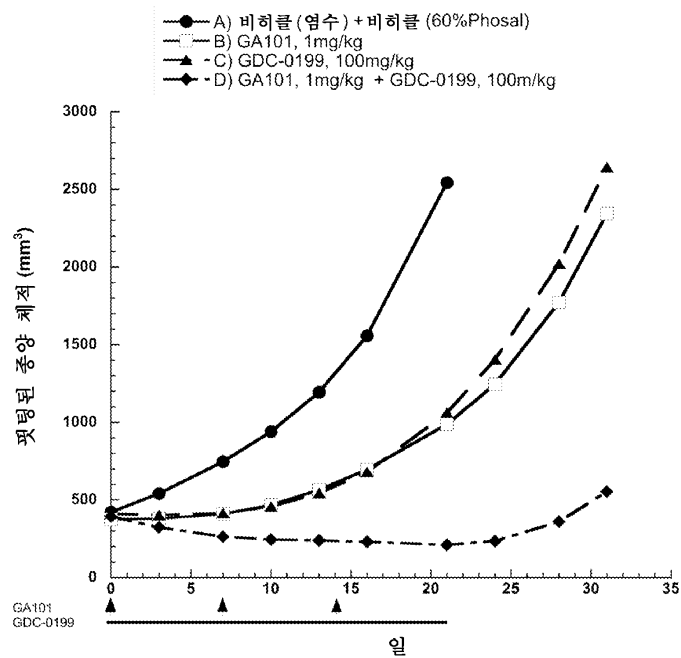
(오비누투주마브)의 병용 치료의 항종양 활성.

- [0195] 시험 제제. II형 항-CD20 항체는 GA101 항체 IgG1[Roche GlycArt(Schlieren, Switzerland)로부터의 스톡 용액 (농도 9.4mg/ml)으로서 제공된, WO 2005/044859에 개시되어 있는 키메라 사람화된 IgG1 항체(상기 문헌에서 B-HH6-B-KV1 GE라고 칭함, 또한, 오비누투주마브 또는 R05072759로서도 공지되어 있음)]이었다. 항체 완충제로는 히스티딘 트레할로스, 및 폴리소르베이트 20이 포함된다. 항체 용액은, 주사하기 전에 스톡으로부터 PBS 중에 적절하게 희석되었다. GD-0199는 Genentech Inc.(CA, USA)로부터 수득하였다.
- [0196] 세포주 및 배양 조건. 사람 Z138 맨틀 세포 림프종 세포주는, 5% CO₂의 수분-포화 대기의 37°C에서, 10% 소 태 아 혈청(PAA Laboratories, Austria) 및 2mM L-글루타민이 보충된 DMEM에서 일상적으로 배양된다. 세포를 MATRIGEL과 공동-주사하였다.
- [0197] 동물. 도착시 5 내지 6주령인 암컷 SCID 베이지 마우스(Charles River, Sulzfeld, Germany로부터 구매함)는, 이행된 가이드라인(GV-Solas; Felasa; TierschG)에 따라 12h 명/12h 암의 1일 사이클로의 특정-병원체-불포함 조건 하에 유지시켰다. 실험 연구 프로토콜은 지방 정부에 의해 검토되고 승인되었다(Regierung von Oberbayern; registration no. 55.2-1-54-2531.2-26-09). 도착 후, 동물은, 새로운 환경에 익숙해지도록, 그리고, 관찰을 위해, 동물 수용시설의 격리부에서 1주 동안 유지되었다. 정기적으로 지속적인 건강 모니터링을 수행하였다. 식이 음식(Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG) 및 물(여과됨)을 임의로 제공하였다.
- [0198] 모니터링. 동물은, 임상 증상 및 역 효과의 검출에 대해 매일 제어되었다. 실험에 대한 모니터링을 위해, 동물의 체중을 매주 2회 기록하였고, 스테이징(staging) 후에 캘리퍼(caliper)에 의해 종양 체적을 측정하였다.
- [0199] 동물의 치료. 동물 치료는, 종양 세포 접종 후 18일째 임의배정(randomisation)일에 시작하였다. R05072759 또는 리투시마브를 단일 제제로서 3주 동안 매주 1회(18, 25, 32일째) 1mg/kg의 용량으로 i.p. 투여하였다. 같은 날에 상응하는 비히클을 투여하였다. GDC-0199를 17일에 걸쳐 매일 1회(18일째 내지 34일째) 100mg/kg의 용량으로 p.o. 제공하였다. 병용 치료요법 그룹에서는 항체 및 GDC-0199를 동일한 용량으로, 그리고, 동일한 날에 투여하였다.
- [0200] 생체내 종양 성장 억제 연구. 종양 체적 발달에 대한 치료요법의 결과는 도 4에 나타난다. 종양 세포 접종 후 35일째에, 대조군 그룹에 비하여, 리투시마브, GDC-0199, R05072759, GDC-0199 + 리투시마브의 병용물 또는 GDC-0199 + R05072759의 병용물이 제공된 동물에서 각각 32%, 59%, 73%, 96% 또는 106%(퇴행)의 종양 성장 억제가 있었다.
- [0201] 실시예 4. 오비누투주마브와의 병용 이후의 단일 제제로서의 GDC-0199의 투여는 종양 재성장의 유의한 지연을 초래한다.
- [0202] 본 실시예는, 상기 실시예 1에 논의된 DLBCL SU-DHL-4 이중이식체 모델을 이용한 결과를 기술한다. 처음에, GDC-0199를 GA101(본 실시예에서는 오비누투주마브)과 병용하여 연속적인 21일 동안 3주 동안 1mg/kg으로 경구 투약하였다. 후자는 각각의 제제 단독으로 관찰된 54%(GA101) 및 24%(GDC-0199) TGI에 비하여 향상된 TGI(91%)를 초래하였다(도 5). 22일째에, 병용 코호트에서 종양을 지닌 마우스는, 100mg/kg의 GDC-0199를 단독으로 추가의 24일 동안 계속해서 투약하였다. 후자는, 21일 기간에 걸친 GA101 및 GDC-0199의 병용물로 치료된 마우스와 비교한 경우, 종양 재성장의 유의한 지연을 초래하였다(병용 코호트의 종양 진행에 대한 시간 = 38일 vs. GDC-0199로의 지속적 치료 = 45일(도 5)). 따라서, GA101과의 병용 이후의 GDC-0199로의 단일-제제 치료는 생체내에서 효능을 지속시킨다. 이들 결과는, GDC-0199를 이용한 유지 치료요법에 대한 이점을 시사한다.
- [0203] 도 5에서, 대조군은 GA101를 위한 염수 비히클+ GDC-0199를 위한 60% phosal 비히클이다. GA101은 3주 동안 매주 1회(QW) 정맥내 투약하였고, GDC-0199는 단일 제제로서 또는 병용물로 21일 동안(QD x 21) 매일(QD) 경구 투약하였다. 상기에 설명된 바와 같이, 종양을 지닌 마우스의 코호트에는, 또한, 21일째 종료된 병용 치료 후 추가의 24일 동안(QD x 45) GDC-0199를 단독으로 투약하였다. x-축 아래에, 치료 기간을 병용 코호트에 대해 흑색 실선()으로 나타내고, 한편, 지속적 단일 제제 GDC-0199 치료는 흑색 파선()으로 나타낸다.
- [0204] 본 명세서에 인용된 모든 공보 및 특허 출원은, 각각의 개별 공보 또는 특허 출원이 구체적으로 그리고 개별적으로 인용에 의해 포함되는 것으로 나타내어지는 것처럼 본원에 인용에 의해 포함된다. 상기 발명은 이해의 명확성 목적을 위해 도해 및 실시예의 방법으로 일부 상세하게 기술되어 있지만, 첨부된 특허청구범위의 정신 또는 범위로부터 벗어나지 않으면서 소정 변화 및 변형이 이루어질 수 있음은 본 발명의 교시의 관점에서 당해 본

야 숙련가들에게 용이하게 이해될 것이다.

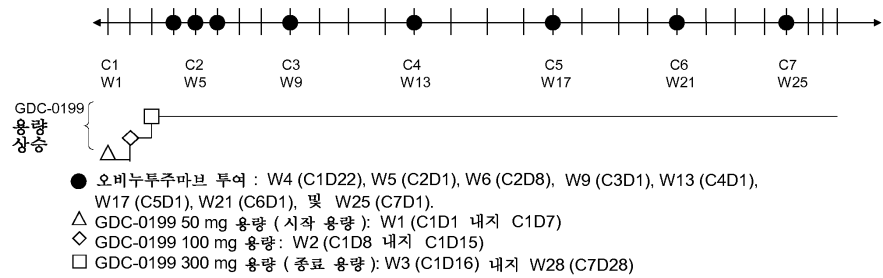
도면

도면1



도면2

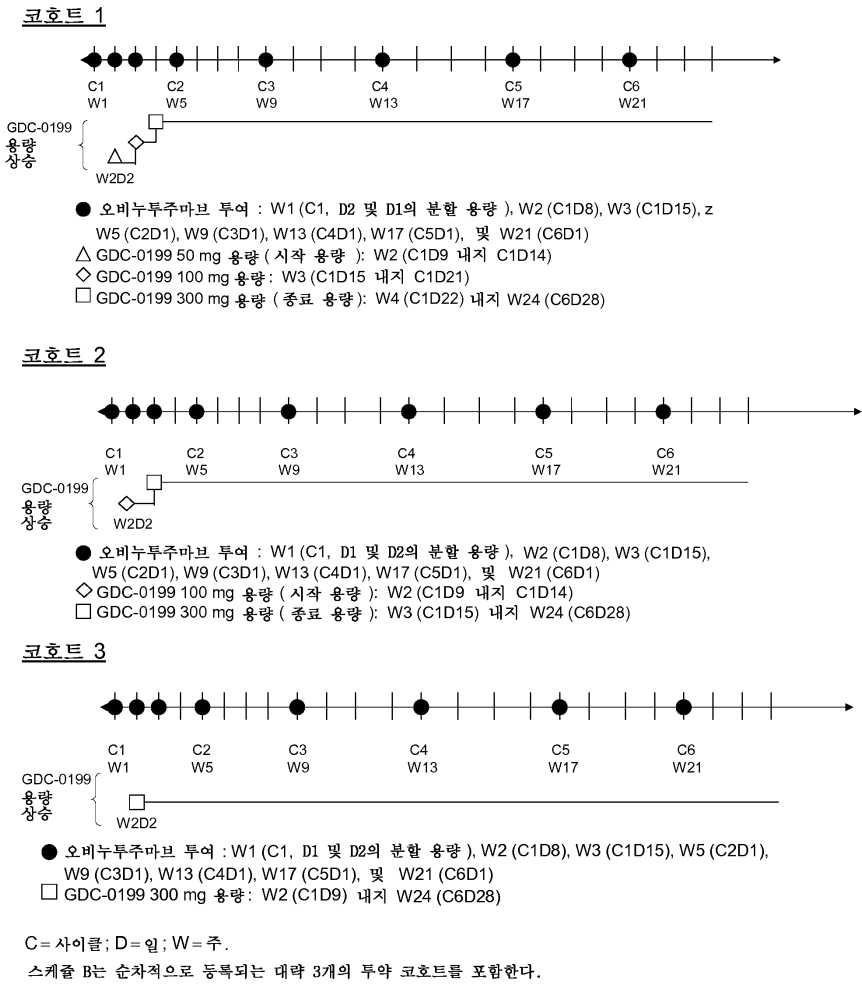
스케줄 A 투약 스키마(schema): 오비니투주마브를 시작하기 전에
3주 동안의 GDC-0199 스텝-업(Step-Up)



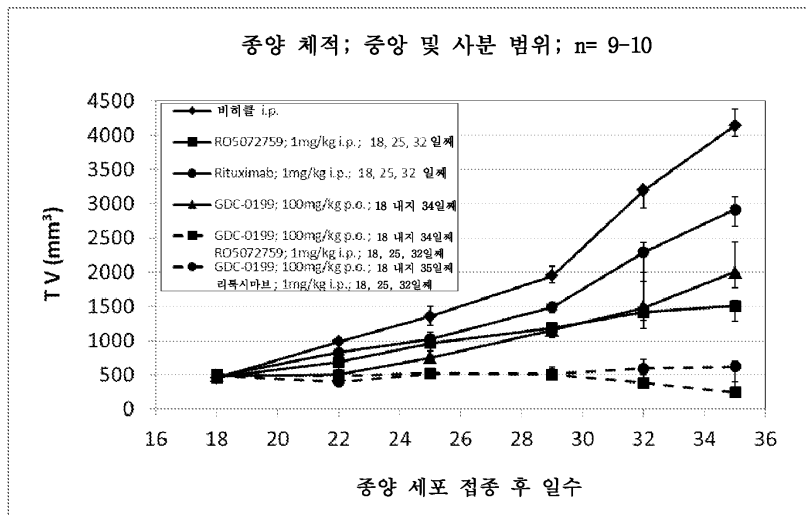
C = 사이클 ; D = day; W = 주.

도면3

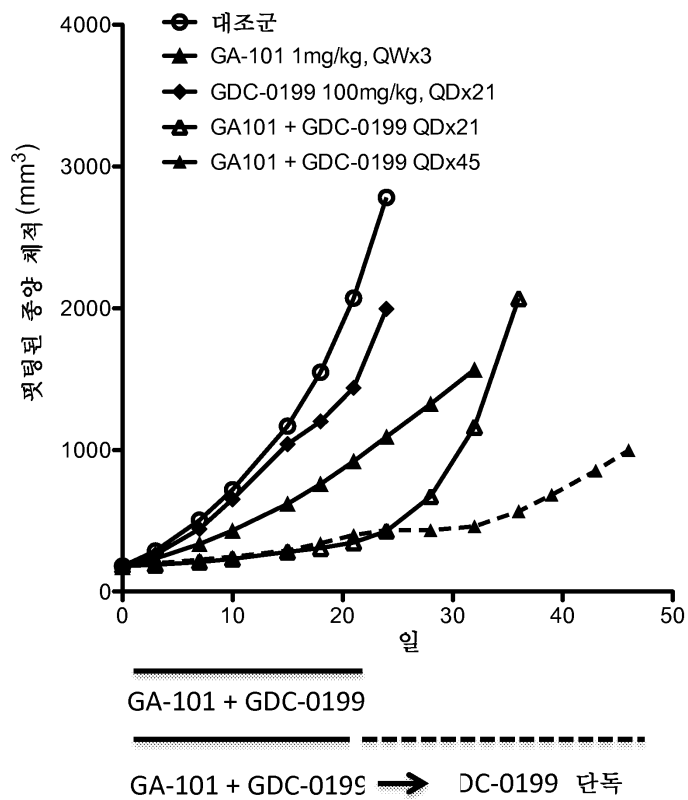
스케줄 B 투약 스키마: GDC-0199 용량-상승 전에 투여된
오비누투주마브



도면4



도면5



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC.;

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

<120> COMBINATION THERAPY OF A TYPE II ANTI-CD20 ANTIBODY WITH A SELECTIVE BCL-2 INHIBITOR

<130> 12655-087-999

<150> US 61/698,379

<151> 2012-09-07

<160> 10

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of HVR-H1 of GA101 Antibody

<400> 1

Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<

220><223> Sequence of HVR-H2 of GA101 Antibody

<400> 2

Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp

1 5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of HVR-H3 of GA101 Antibody

<400> 3

Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of HVR-L1 of GA101 Antibody

<400> 4

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of HVR-L2 of GA101 Antibody

<400> 5

Gln Met Ser Asn Leu Val Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of HVR-L3 of GA101 Antibody

<400> 6

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of VH of GA101 Antibody

<400> 7

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser

20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of VL of GA101 Antibody

<400> 8

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95

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

Arg Thr Val
115

<210> 9

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of Heavy Chain Full Sequence of GA101 Antibody

<400> 9

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser

20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195	200	205	
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210	215	220	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245	250	255	
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	

<210> 10

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Sequence of Light Chain Full Sequence of GA101 Antibody

<400> 10

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215