



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년10월17일
 (11) 등록번호 10-1786142
 (24) 등록일자 2017년10월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/337 (2006.01) *A61K 47/42* (2017.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61P 35/04* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7027815
- (22) 출원일자(국제) 2011년03월25일
 심사청구일자 2016년03월24일
- (85) 번역문제출일자 2012년10월25일
- (65) 공개번호 10-2013-0062922
- (43) 공개일자 2013년06월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/030037
- (87) 국제공개번호 WO 2011/119988
 국제공개일자 2011년09월29일
- (30) 우선권주장
 61/318,153 2010년03월26일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 US06537579 B1*
 KR1020070091051 A
 WO2007027819 A2
 WO2011025838 A1
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 아브락시스 바이오사이언스, 엘엘씨
 미국 뉴저지주 07901 서밋 모리스 애비뉴 86
- (72) 발명자
 여, 위니
 중국 홍콩 에스에이알 샤팀 더 차이니즈 유니버시티 오브 홍콩 패컬티 오브 메디슨 디파트먼트 오브 클리니컬 온콜로지
 옹, 나탈리
 중국 홍콩 에스에이알 샤팀 더 차이니즈 유니버시티 오브 홍콩 패컬티 오브 메디슨 디파트먼트 오브 아나토미컬 앤드 셀룰라 패솔로지
- (74) 대리인
 양영준, 양영환

전체 청구항 수 : 총 51 항

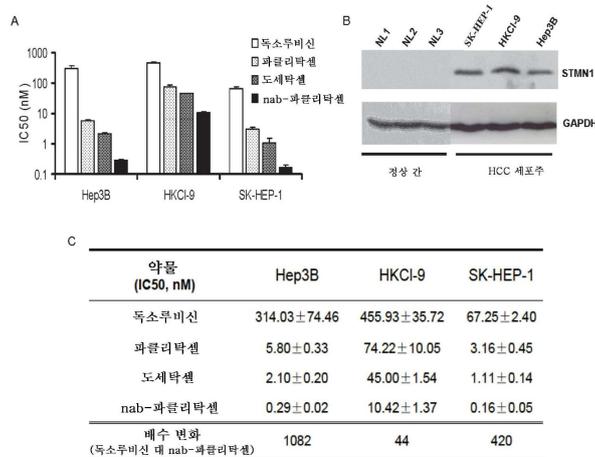
심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 간세포 암종의 치료 방법

(57) 요약

본 발명은 탄산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하는 것에 의해 간세포 암종 (HCC)을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명은 탄산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, 및 또 다른 작용제, 예컨대 미세소관 분해(disassembly)를 억제하는 작용제를 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC를 치료하는 조합 요법 방법을 또한 제공한다.

대표도



명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

탄산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는, 간세포 암종(HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하기 위한 제약 조성물로, 하나 이상의 다른 제제와 투여되며, 여기서 다른 제제가 항-스타트민 1(STMN1) 리보자임, SMTN1에 대한 siRNA, STMN1에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드, 갬부지(gamboge), 갬부지산 및 갬보젠산의 군에서 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 다른 제제와 동시에 또는 순차적으로 투여되는 제약 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서, 다른 제제와 동반적으로 투여되는 제약 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제2항에 있어서, 다른 제제가 항-스타트민 1(STMN1) 리보자임 또는 STMN1에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드인 제약 조성물.

청구항 8

제2항에 있어서, 다른 제제가 STMN1에 대한 siRNA인 제약 조성물.

청구항 9

제2항에 있어서, 다른 제제가 갬부지(gamboge), 갬부지산 또는 갬보젠산인 제약 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, HCC가 간 세포 암종(liver cell carcinoma), HCC의 섬유증판성 변종, 또는 혼합형 간세포 담관암종인 제약 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 비경구적으로 투여되는 제약 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 정맥 내로, 동맥 내로, 간 내로 또는 문맥 내로 투여되는 제약 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 정맥 내로 투여되는 제약 조성물.

청구항 16

제12항에 있어서, 타산이 파클리탁셀(paclitaxel)인 제약 조성물.

청구항 17

제12항에 있어서, 제약 조성물 내의 나노입자의 평균 직경이 200 nm 이하인 제약 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 나노입자 내의 타산이 알부민으로 코팅된 것인 제약 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 알부민이 인간 혈청 알부민인 제약 조성물.

청구항 20

제18항에 있어서, 알부민이 인간 알부민인 제약 조성물.

청구항 21

제17항에 있어서, 개체가 인간인 제약 조성물.

청구항 22

제12항에 있어서, 나노입자 내의 타산이 알부민으로 코팅된 것인 제약 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 알부민이 인간 혈청 알부민인 제약 조성물.

청구항 24

제22항에 있어서, 알부민이 인간 알부민인 제약 조성물.

청구항 25

제12항에 있어서, 개체가 인간인 제약 조성물.

청구항 26

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, HCC가 초기 HCC, 비-전이성 HCC, 원발성 HCC, 진행성 HCC, 국소 진행성 HCC, 전이성 HCC, 관해기의 HCC, 재발성 HCC, 보조 환경(adjunct setting)에서의 HCC, 또는 선행 보조 환경(neoadjuvant setting)에서의 HCC인 제약 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 비경구적으로 투여되는 제약 조성물.

청구항 28

제27항에 있어서, 정맥 내로, 동맥 내로, 간 내로 또는 문맥 내로 투여되는 제약 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 정맥 내로 투여되는 제약 조성물.

청구항 30

제26항에 있어서, 탁산이 파클리탁셀인 제약 조성물.

청구항 31

제26항에 있어서, 제약 조성물 내의 나노입자의 평균 직경이 200 nm 이하인 제약 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 제약 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 알부민이 인간 혈청 알부민인 제약 조성물.

청구항 34

제32항에 있어서, 알부민이 인간 알부민인 제약 조성물.

청구항 35

제31항에 있어서, 개체가 인간인 제약 조성물.

청구항 36

제26항에 있어서, 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 제약 조성물.

청구항 37

제36항에 있어서, 알부민이 인간 혈청 알부민인 제약 조성물.

청구항 38

제36항에 있어서, 알부민이 인간 알부민인 제약 조성물.

청구항 39

제26항에 있어서, 개체가 인간인 제약 조성물.

청구항 40

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 비경구적으로 투여되는 제약 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서, 정맥 내로, 동맥 내로, 간 내로 또는 문맥 내로 투여되는 제약 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 정맥 내로 투여되는 제약 조성물.

청구항 43

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 탁산이 파클리탁셀인 제약 조성물.

청구항 44

제43항에 있어서, 제약 조성물 내의 나노입자의 평균 직경이 200 nm 이하인 제약 조성물.

청구항 45

제44항에 있어서, 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 제약 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, 알부민이 인간 혈청 알부민인 제약 조성물.

청구항 47

제43항에 있어서, 알부민이 인간 알부민인 제약 조성물.

청구항 48

제43항에 있어서, 개체가 인간인 제약 조성물.

청구항 49

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 제약 조성물 내의 나노입자의 평균 직경이 200 nm 이하인 제약 조성물.

청구항 50

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 제약 조성물.

청구항 51

제50항에 있어서, 알부민이 인간 혈청 알부민인 제약 조성물.

청구항 52

제50항에 있어서, 알부민이 인간 알부민인 제약 조성물.

청구항 53

제2항 내지 제4항 및 제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 개체가 인간인 제약 조성물.

청구항 54

삭제

청구항 55

(i) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물,
(ii) 항-스타트민 1(STMN1) 리보자임, SMTN1에 대한 siRNA, STMN1에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드, 캡부지, 캡부지산 및 캡보젠산의 군에서 선택되는, 유효량의 하나 이상의 다른 제제, 및
(iii) 상기 나노입자 조성물 및 상기 다른 제제를 HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC 치료를 위해 투여하기 위한 설명서
를 포함하는 키트.

청구항 56

삭제

청구항 57

제55항에 있어서, 다른 제제가 STMN1에 대한 siRNA인 키트.

청구항 58

제55항에 있어서, 다른 제제가 캡부지, 캡부지산 또는 캡보젠산인 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

기술 분야

[0002]

본 발명은 탁산(taxane) 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하는 것에 의한 간세포 암종(HCC)의 치료를 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003]

배경

[0004]

간세포 암종(HCC)은 세계적으로 5번째로 가장 통상적인 암이고, 암-관련 사망의 세번째로 가장 통상적인 원인이다. 문헌 [Parkin D. M., Lancet Oncology 2:533-43 (2001)] 참조. 이러한 질환은 종종 임상 소견 과정에서 늦게 진단된다. 그 결과, 환자의 10-15%만이 치유 수술의 후보이다. 대다수의 HCC 환자에 대해, 전신 화학요법 또는 지지 요법이 주요 치료 선택권이다. 그럼에도 불구하고, 대부분의 화학요법제는 제한된 유효성을 나타내고, 환자 생존을 개선시킬 수 없었다. 예를 들어, 문헌 [Yeo W. et al., J. of the National Cancer Institute 97:1532-8 (2005)], [Gish R. G. et al., J. of Clinical Oncology 25:3069-75 (2007)], [Ramanathan R. K. et al., J. of Clinical Oncology 24:4010 (2006)], 및 [O'Dwyer P. J. et al., J. of Clinical Oncology 24:4143 (2006)] 참조. B형 간염-관련 HCC 환자에서의 VEGF 수용체, PDGF 수용체, 및 Raf의 경구 다중-키나제(multi-kinase) 억제제인 소라페닙(Sorafenib)의 최근의 III상 무작위화 시험은 진행된 병기 환자의 생존을 연장하는 것을 최초로 나타냈다. 문헌 [Cheng A. L. et al., Lancet Oncology 10:25-34 (2009)] 참조. 그러나, 전체적인 생존 중앙값은 겨우 위약 군에서의 4.2개월에서 치료 군에서의 6.5개월로만 증가하였다. 또한, HCC는 빈번하게 화학요법-내성이고, 다중-약물 내성 유전자, 예컨대 MDR1 (P-gp) 및 다중-약물 내성 단백질 (MRP)을 과다발현하는 것으로 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Ng I. et al., American J. of Clinical Pathology 113:355-63 (2000)], [Endicott J. A. et al., Annual Review of Biochemistry 58:137-71 (1989)], 및 [Park J. G. et al., J. of the National Cancer Institute 86:700-5 (1994)] 참조. 대부분의 HCC 환자의 불리한 임상 과정은 더욱 효율적인 화학요법 및 표적화 전략 개발에 대한 더 많은 요구를 강조한다.

[0005]

탁산 (예컨대 파클리탁셀(paclitaxel) 및 도세탁셀(docetaxel))은 광범위한 인간 암에 대한 항-종양 활성이 있는 디테르페노이드 약물 부류이다. 파클리탁셀은 주목의 나무 껍질에서 최초로 단리되었고, 미세소관을 파괴하는 정상적인 기능을 방해함으로써 작용하는 것으로 공지되었다. 파클리탁셀은 미세소관의 구성 단위인 튜불린의 β 서브유닛에 결합하여, 미세소관 구조의 과다안정화를 야기한다. 생성된 파클리탁셀/미세소관 구조가 분해(disassembly)될 수 없고, 이에 의해 유사분열을 정지시키고 혈관생성을 억제한다. 파클리탁셀이 다양한 악성 종양 세포 예컨대 유방암, 흑색종 및 난소암에 대해 효과적인 것으로 나타났지만, HCC에 대한 이의 효과는 의문이었다. HCC 환자에 대한 파클리탁셀의 II상 임상 시험이 문헌 [British Journal of Cancer, 78(1), 24-39, 1998]에서 보고되었고, 이는 파클리탁셀이 HCC 환자에서 유의한 항암 효과가 없는 것으로 결론지었다. 반면에, 도세탁셀은 파클리탁셀보다 HCC 세포에 대해 더욱 활성인 것으로 보고되었다. 미국 특허 출원 번호 2008/0045584.

[0006]

알부민을 기초로 하는 나노입자 조성물이 실질적으로 수불용성인 약물 예컨대 탁산을 전달하기 위한 약물 전달 시스템로서 개발되었다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,916,596; 6,506,405; 6,749,868, 및 6,537,579, 7,820,788 및 또한 미국 특허 공개 번호 2007/0082838 참조. 알부민을 기초로 하는 나노입자 기술은 실질적으로 수불용성인 약물을 질환 부위로 수송 및 전달하는 단백질 알부민의 천연 성질을 이용한다. 이러한 나노입자는 신체 자체의 수송 프로세스 내로 쉽게 혼입되고, 알부민에 대한 종양의 인력을 활용할 수 있어서, 나노입자 내의 활성 약물을 더 높은 농도로 표적 부위로 전달하는 것을 가능하게 한다. 또한, 알부민을 기초로 하는 나노입자 기술은 투여 프로세스에서 독성 화학물질, 예컨대 용매를 피함으로써 약물의 용해도를 개선하는 능력을 제공하여, 용매와 관련된 부작용의 제거를 통해 잠재적으로 안전성을 개선한다.

[0007]

본원에서 언급된 모든 간행물, 특허, 특허 출원 및 공개된 특허 출원의 개시내용은 이에 의해 전문이 본원에 참고로 포함된다.

발명의 내용

[0008] **발명의 개요**

[0009] 본 발명은, 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물 (이하, "나노입자 조성물" 또는 "탁산 나노입자 조성물"로 또한 지칭됨)의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 탁산은 도세탁셀이다. 일부 실시양태에서, 알부민은 인간 혈청 알부민이다. 일부 실시양태에서, 나노입자는 알부민으로 코팅된 파클리탁셀 (또는 도세탁셀)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기는 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)이다. 일부 실시양태에서, 조성물은 파클리탁셀의 알부민-안정화 나노입자 제형 (Nab-파클리탁셀 (아브락산®))을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 Nab-파클리탁셀 (아브락산®)이다.

[0010] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅되고, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Nab-파클리탁셀을 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 유효량의 Nab-파클리탁셀을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0011] 일부 실시양태에서, 조성물이 정맥 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 문맥 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 동맥 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 복막 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 간 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0012] HCC를 치료하기 위한 조합 요법 방법이 또한 제공된다. 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 나노입자 조성물 및 기타의 작용제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제는 동반적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 탁산은 도세탁셀이다. 일부 실시양태에서, 알부민은 인간 혈청 알부민이다. 일부 실시양태에서, 나노입자는 알부민으로 코팅된 파클리탁셀 (또는 도세탁셀)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기는 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)이다. 일부 실시양태에서, 조성물은 파클리탁셀의 알부민-안정화 나노입자 제형 (Nab-파클리탁셀 (아브락산®))을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 Nab-파클리탁셀 (아브락산®)이다.

[0013] 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 직접적으로 또는 간접적으로 미세소관 분해를 촉진하는 분자를 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 미세소관 분해를 촉진하는 분자의 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 미세소관 조립을 촉진하는 분자의 발현을 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 ABP1, ARHGAP4, HSPA8, LCP1, PACSIN2, RUNX1T1, STMN1, 튜불린, 및 TUBB4로 이루어진 군으로부터 선택된 분자를 억제한다.

[0014] 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 직접적으로 또는 간접적으로 미세소관 조립을 촉진하는 분자를 활성화한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 미세소관 조립을 촉진하는 분자의 활성을 강화한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 미세소관 조립을 촉진하는 분자의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 ABI1, BCL2L11, CDC42, CHRM3, CNN3, CSMD1, DDOST, DOCK7, EHMT2, ENAH, ERMAP, ERLF1, HDAC5, LDLRAP1, MCF2, OLA1, RASA1, SHC2, STMN2, 및 TRIP10으로 이루어진 군으로부터 선택된 분자를 활성화한다.

[0015] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1 (스타트민(Stathmin) 1)을 억제하는 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 STMN1을 억제하는 작용제는 HCC 치료에 대한 상승작용적 효과가 있다. 일부 실시양태에서, STMN1을 억제하는 작용제는 나노입자 조성물

로의 치료에 대해 HCC 세포를 감작시킨다.

- [0016] 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1의 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 튜불린에 대한 STMN1의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1의 인산화를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 작용제는 크산톤(Xanthone) 패밀리의 분자이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 갬부지(gamboge) 또는 그의 유도체이다. 갬부지 및 유도체에는, 예를 들어, 갬부지산(gambogic acid) (GA) 및 갬보젠산(gambogenic acid) (GEA)이 포함된다.
- [0017] 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1의 발현을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 항-STMN1 리보자임 (예컨대 Rz184 및 Rz305)이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1에 대한 안티센스(antisense) 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1에 대한 소형 간섭 RNA (siRNA)이다. 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1을 억제하며 STMN1에 대한 siRNA를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 STMN1에 대한 siRNA를 1개 초과로 포함한다.
- [0018] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량, 및 (b) STMN1을 억제하는 조성물 (예컨대 STMN1에 대한 siRNA를 포함하는 조성물)의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량, 및 (b) STMN1을 억제하는 조성물 (예컨대 STMN1에 대한 siRNA를 포함하는 조성물)의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0019] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅되고, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량, 및 (b) STMN1을 억제하는 조성물 (예컨대 STMN1에 대한 siRNA를 포함하는 조성물)의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀을 포함하는 조성물의 유효량, 및 (b) STMN1을 억제하는 조성물 (예컨대 STMN1에 대한 siRNA를 포함하는 조성물)의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀의 유효량, 및 (b) STMN1을 억제하는 조성물 (예컨대 STMN1에 대한 siRNA를 포함하는 조성물)의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0020] 본원에 기술된 방법으로 치료될 수 있는 HCC에는 간 세포 암종, HCC의 섬유층관성 변종, 및 혼합형 간세포 담관 암종이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 일부 실시양태에서, HCC는 초기 HCC, 비-전이성 HCC, 원발성 HCC, 진행성 HCC, 국소 진행성 HCC, 전이성 HCC, 관해기의 HCC, 재발성 HCC, 보조 환경(adjutant setting)에서의 HCC, 또는 선행 보조 환경(neoadjuvant setting)에서의 HCC 중 어느 하나이다. 일부 실시양태에서, HCC는 화학요법제의 비-나노입자 제형 (예컨대 파클리탁셀의 비-나노입자 제형)으로의 치료에 대해 내성이다.
- [0021] 본원에 기술된 방법은 하기의 목적 중 임의의 하나 이상을 위해 사용될 수 있다: HCC의 하나 이상의 증상을 경감시킴, HCC의 진행을 지연시킴, HCC 환자에서의 종양 크기를 축소함, HCC 종양 성장을 억제함, 전체적인 생존을 연장함, 무질환 생존을 연장함, HCC 질환 진행까지의 시간을 연장함, HCC 종양 전이를 방지하거나 지연시킴, 기존의 HCC 종양 전이를 감소시킴 (예컨대 근절시킴), 기존의 HCC 종양 전이의 발생률 또는 부하를 감소시킴, HCC의 재발을 방지함.
- [0022] 본원에 기술된 방법에 유용한 조성물 (예컨대 제약 조성물), 의약, 키트, 및 단위 투여량이 또한 제공된다.
- [0023] 본 발명의 이러한 측면 및 장점 및 기타 측면 및 장점이 이어지는 상세한 설명 및 첨부된 청구항으로부터 명백해질 것이다. 본원에 기술된 다양한 실시양태의 한가지, 일부 또는 모든 성질이 조합되어 본 발명의 다른 실시양태를 형성할 수 있음을 이해하여야 한다.

도면의 간단한 설명

[0024] **도면의 간단한 설명**

도 1A는 HCC에서의 상위 10개의 기능적 온톨로지(functional ontology)를 밝히는 인제뉴어티 경로 분석 (Ingenuity Pathway Analysis)을 나타낸다. 세포 조립 및 조직화에서 수반되는 상향 조절된 유전자 및 하향 조절된 유전자가 제시된다. 도 1B는 STMN1-튜블린 축 경로를 도해한다.

도 2A는 HCC에서의 탁산 및 독소루비신(Doxorubicin)의 세포독성 효과를 나타낸다. Hep3B, HKC1-9 및 SK-HEP-1 세포주를 증가되는 농도의 독소루비신, 파클리탁셀 (탁솔(Taxol)®), 도세탁셀 (탁소테레(Taxotere)®), 및 Nab-파클리탁셀 (아브락산®)로 48시간 동안 처리하였다. 세포 생존력에 대한 효과를 MTT에 의해 조사하였고, IC50 값을 결정하였다. 실험을 3회 반복하였고, 이를 평균 ± SD로 표시하였다. 도 2B는 웨스턴 블롯팅에 의해 검출된 바와 같은 정상 간 및 HCC 세포주에서의 STMN1의 발현을 나타낸다. 도 2C는 여러 HCC 세포주에서 시험된 약물의 IC50 값을 나타낸다.

도 3은 Nab-파클리탁셀로 처리된 Hep3B 및 SK-HEP1 세포에서의 미세소관 형태를 나타낸다. 5 ng/ml Nab-파클리탁셀로 24시간 동안 처리된 세포를 4% 파라포름알데히드에서 고정하고, β-튜블린에 대해 염색하였다 (a, d, g, j). DAPI로 핵을 대비염색하였다 (b, e, h, k). (a 내지 c): Hep3B 대조군; (d 내지 f): Nab-파클리탁셀로 처리된 Hep3B; (g 내지 i): SK-HEP1 대조군; (j 내지 l): Nab-파클리탁셀로 처리된 SK-HEP1. 도면 내의 삽입물 (d 내지 f) 및 (j 내지 l)은 동일한 슬라이드의 상이한 구역으로부터의 포착물이다. Nab-파클리탁셀로 처리된 세포가 더 높은 정도의 미세소관 중합 (화살표)을 나타냈다. 2회의 독립적인 실험으로부터의 대표 영상이 제시된다.

도 4A는 Nab-파클리탁셀로 처리된 Hep3B 및 SK-HEP1의 세포 주기 프로파일을 나타낸다. 여러 농도의 Nab-파클리탁셀로 12시간 동안 처리된 세포를 수확하고, PI로 염색하고, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 도 4B는 다양한 농도의 Nab-파클리탁셀에 반응한 Hep3B 및 SK-HEP1에서의 G2M 대 G0/G1 집단의 비를 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (일원 ANOVA). 도 4C는 Hep3B 및 SK-HEP1 세포에서의 TUNEL 분석이 48시간 동안 100 ng/ml의 Nab-파클리탁셀로 처리 후 아포토시스성 세포의 개수에서의 증가를 나타냈음을 나타낸다. DAPI로 핵을 대비염색하였다. 제시된 영상은 2회의 독립적인 실험을 대표한다. 도 4D는 적용되는 Nab-파클리탁셀의 농도가 증가됨에 따라 아포토시스성 세포의 백분율이 증가됨을 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (일원 ANOVA). 도 4E는 Nab-파클리탁셀로 처리된 Hep3B 및 SK-HEP1에서의 PARP에 대한 웨스턴 블롯을 나타내고, 이는 절단된 PARP의 양이 시간에 따라 증가함을 실연한다.

도 5A는 생체 내에서의 HCC 종양 성장에 대한 Nab-파클리탁셀의 효과를 나타낸다. 도 5B는 약물 처리로부터의 마우스의 체중에서의 변화 백분율을 나타낸다. 도 5C는 실험 동안의 마우스 상태에 따라 작성된 생존 곡선을 나타낸다. 비히클 군과 약물 처리 군 사이의 유의한 차이가 관찰되었다 (PBS 군과 비교하여 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$). 도 5D는 대표적인 대조군 및 Nab-파클리탁셀로 처리된 마우스의 IVIS 영상을 나타낸다.

도 6은 STMN1 유전자 발현을 침묵시킨 후의 약물 민감도에 대한 효과를 나타낸다. 도 6A는 siRNA 녹다운 (knockdown) 후 제1일 및 제3일의 STMN1 수준을 나타낸다. STMN1 발현을 웨스턴 블롯에 의해 결정하였다 (도 6A). 영상은 3회의 독립적인 실험을 대표한다. 도 6B는 STMN1을 침묵시키는 것이 제3일에 Hep3B 세포 생존력을 약 40% 만큼 억제한다는 것을 나타낸다. 데이터는 3회의 독립적인 실험의 평균 ± SD로 표시된다 (si모조군과 비교하여 ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$). 도 6C는 STMN1 발현을 침묵시키는 것이 STMN1-과다발현 세포를 항-미세소관 약물에 대해 감작시켰음을 나타낸다. siSTMN1로 형질감염된 Hep3B 세포를 48h 동안 독소루비신, 파클리탁셀 및 Nab-파클리탁셀로 처리하였다. 독특한 상승작용적 효과가 Nab-파클리탁셀로 시사되었다. 제시된 결과는 2회 이상의 독립적인 실험으로부터의 평균 ± SD를 나타낸다 (si모조군과 비교하여 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] **발명의 상세한 설명**

[0026] 본 발명은 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하는 것에 의해 HCC를 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물을 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제 (예컨대 STMN1의 억제제)와 함께 투여하는 것에 의해 HCC를 치료하기 위한 조합 요법 방법이 또한 제공된다.

[0027] 시험관내 세포 생존력 검정 및 마우스 이종이식 연구를 사용하여, 본 발명자들은 파클리탁셀의 알부민-안정화

나노입자 제형, 즉, Nab-파클리탁셀이 파클리탁셀 (파클리탁셀 또는 탁솔®) 및 도세탁셀 (도세탁셀 또는 탁소테레®)의 비-나노입자 제형의 것보다 15배 더 낮고, 독소루비신보다 약 450배 더 적은 효과적인 IC50 용량을 나타냈음을 발견하였다. Nab-파클리탁셀이 파클리탁셀, 도세탁셀, 및 독소루비신과 비교하여 숙주 세포에 독성이 덜하면서 이중이식 종양 성장을 쉽게 억제하였음을 생체내 동물 연구가 또한 나타냈다. 본 발명자들은 Nab-파클리탁셀과 조합된 주요 미세소관 조절 유전자인 STMN1의 유전자 침묵화가 HCC 세포를 사멸시키는 것에서 독특한 상승작용적 효과를 나타냈음을 추가로 발견하였다. 따라서 본 발명은 알부민 및 탁산의 나노입자 조성물을 단독으로 또는 또 다른 작용제, 예컨대 미세소관 분해를 억제하는 작용제 (예컨대 STMN1의 억제제)와 조합하여 투여하는 것에 의해 HCC를 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다.

[0028] 한 측면에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0029] 또 다른 측면에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는 HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0030] 본원에 기술된 방법에 유용한 조성물 (예컨대 제약 조성물), 의약, 키트, 및 단위 투여량이 또한 제공된다.

[0031] **정의**

[0032] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료" 또는 "치료하기"는 이롭거나 원하는 결과 (임상 결과 포함)를 수득하기 위한 접근법이다. 본 발명의 목적을 위해, 이롭거나 원하는 임상 결과에는 하기의 것들 중 하나 이상이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다: 질환으로부터 초래되는 하나 이상의 증상을 경감시킴, 질환 정도를 감소시킴, 질환을 안정화시킴 (예를 들어, 질환의 악화를 방지하거나 또는 지연시킴), 질환의 확산 (예를 들어, 전이)를 방지하거나 지연시킴, 질환의 재발을 방지하거나 지연시킴, 질환의 진행을 지연시키거나 감소시킴, 질환 상태를 호전시킴, 질환의 완화 (부분적 또는 전체적)를 제공함, 질환을 치료하는데 요구되는 하나 이상의 다른 의약의 용량을 감소시킴, 질환의 진행을 지연시킴, 삶의 질을 증가시킴, 및/또는 생존을 연장함. HCC의 병리학적 결과의 감소도 "치료"에 또한 포함된다. 본 발명의 방법은 이러한 치료 측면들 중 임의의 하나 이상을 고려한다.

[0033] 용어 "개체"는 포유동물을 지칭하고, 인간, 소, 말, 고양이과 동물, 깃과 동물, 설치류, 또는 영장류를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0034] 본원에서 사용된 바와 같이, "위험에 처한" 개체는 HCC가 발달될 위험에 처해 있는 개체이다. "위험에 처한" 개체는 본원에 기술된 치료 방법 이전에 검출가능한 질환에 걸렸을 수 있거나 또는 걸리지 않았을 수 있고, 검출가능한 질환을 나타냈을 수 있거나 또는 나타내지 않았을 수 있다. "위험에 처한"은 개체가 본원에 기술된, HCC의 발달과 상호관련되는 측정가능한 파라미터인 소위 위험 인자를 하나 이상 갖는다는 것을 나타낸다. 이러한 위험 인자들 중 하나 이상을 갖는 개체는 이러한 위험 인자(들)이 없는 개체보다 암이 발달될 가능성이 더 높다.

[0035] "보조 환경"은 개체가 HCC의 이력이 있고, 수술 (예를 들어, 수술 절제), 방사선요법 및 화학요법을 포함하지만 이에 한정되지 않는 요법에 대해 일반적으로 (그러나 필수적이지는 않음) 반응성이었던 임상 환경을 지칭한다. 그러나, HCC 이력으로 인해, 이러한 개체들은 질환 발달의 위험에 처한 것으로 간주된다. "보조 환경"에서의 치료 또는 투여는 후속적 치료 방식을 지칭한다. 위험의 정도 (예를 들어, 보조 환경에서의 개체가 "고위험" 또는 "저위험"으로 간주될 때)는 몇몇 인자, 가장 일반적으로는 최초로 치료되었을 때의 질환의 정도에 좌우된다.

[0036] "선행 보조 환경"은 방법이 1차/결정적 요법 전에 수행되는 수행되는 임상 환경을 지칭한다.

[0037] 본원에서 사용된 바와 같이, HCC의 발달을 "지연시킴"은 질환의 발달을 미루고/미루거나, 방해하고/하거나, 감소시키고/시키거나, 지체시키고/시키거나, 안정화시키고/시키거나, 연기하는 것을 의미한다. 이러한 지연은 치료되는 개체 및/또는 질환의 이력에 따라 시간 길이가 변할 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의한 지연은 개체에서 질환이 발달되지 않는다는 점에서 방지를 사실상 포함할 수 있다. HCC의 발달을 "지연시키는" 방법은 방법을 사용하지 않는 것과 비교했을 때, 소정의 시간 틀에서 질환 발달 가능성을 감소시키고/시키거나 소정의 시간 틀에서 질환 정도를 감소시키는 방법이다. 전형적으로 이같은 비교는 통계적으로 유의한 수의 대상체를 사용하여 임상 연구를 기초로 한다. 전산화 축 단층촬영술 (CAT 스캔), 자기 공명 영상화 (MRI), 복부 초음파, 응고 시험, 동맥조영술, 또는 생검을 포함하지만 이에 한정되지 않는 표준 방법을 사용하여 HCC 발달이 검출가능할 수 있다. 발달은 초기에 검출가능할 수 있고 발생, 재발 및 발병을 포함하는 HCC

진행을 또한 지칭할 수 있다.

- [0038] 본원에서 사용된 바와 같이, "조합 요법"은 제1 작용제가 또 다른 작용제와 함께 투여되는 것을 의미한다. "~와 함께"는 한 치료 양식을 또 다른 치료 양식에 더하여 투여하는 것, 예컨대 본원에 기술된 나노입자 조성물을 동일한 개체에게 다른 작용제를 투여하는 것에 더하여 투여하는 것을 지칭한다. 따라서, "~와 함께"는 한 치료 양식을 개체에게 다른 치료 양식을 전달하기 전, 전달하는 동안 또는 전달한 후에 투여하는 것을 지칭한다.
- [0039] 본원에서 사용된 용어 "유효량"은 특정 장애, 병태 또는 질환을 치료하는데, 예컨대 이의 증상들 중 하나 이상을 호전시키고/시키거나, 고식시키고/시키거나, 줄이고/줄이거나, 지연시키는데 충분한 화합물 또는 조성물의 양을 지칭한다. HCC와 관련하여, 유효량은 HCC에서 종양이 축소되게 하고/하거나, 종양의 성장 속도를 감소시키거나 (예컨대 종양 성장을 억제함), 기타 원치 않는 세포 증식을 방지하거나 지연시키는데 충분한 양을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유효량은 HCC의 발달을 지연시키는데 충분한 양이다. 일부 실시양태에서, 유효량은 재발을 방지하거나 지연시키는데 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. HCC의 경우에, 약물 또는 조성물의 유효량은 (i) HCC 세포의 수를 감소시킬 수 있고/있거나; (ii) 종양 크기를 감소시킬 수 있고/있거나; (iii) 주변 장기 내로의 HCC 암 세포 침윤을 어느 정도 억제, 지체, 감속시키고, 바람직하게는 정지시킬 수 있고/있거나; (iv) 종양 전이를 억제할 수 있고/있거나 (즉, 종양 전이를 어느 정도 감속시키고, 바람직하게는 정지시킴); (v) 종양 성장을 억제할 수 있고/있거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 방지하거나 지연시킬 수 있고/있거나; (vii) HCC와 관련된 증상들 중 하나 이상을 어느 정도 해소할 수 있다.
- [0040] 용어 "동시 투여"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 조합 요법에서의 제1 요법 및 제2 요법이 약 15분 이하, 예컨대 약 10분, 5분 또는 1분 중 어느 하나 이하의 시간 간격으로 투여되는 것을 의미한다. 제1 요법 및 제2 요법이 동시에 투여될 때, 제1 요법 및 제2 요법은 동일한 조성물 (예를 들어, 제1 요법 및 제2 요법 둘 모두를 포함하는 조성물) 내에, 또는 별도의 조성물들 (예를 들어, 한 조성물 내에 제1 요법이, 또 다른 조성물 내에 제2 요법이 함유됨) 내에 함유될 수 있다.
- [0041] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "순차적 투여"는 조합 요법에서의 제1 요법 및 제2 요법이 약 15분을 초과하는, 예컨대 약 20분, 30분, 40분, 50분, 60분 또는 이를 초과하는 분 중 어느 하나를 초과하는 시간 간격으로 투여되는 것을 의미한다. 제1 요법 또는 제2 요법 중 어느 쪽이든 먼저 투여할 수 있다. 제1 요법 및 제2 요법은 별도의 조성물들 내에 함유되고, 이러한 조성물들은 동일한 패키지 또는 키트 또는 상이한 패키지 또는 키트 내에 함유될 수 있다.
- [0042] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "동반적 투여"는 조합 요법에서의 제1 요법의 투여와 제2 요법의 투여가 서로 중첩되는 것을 의미한다.
- [0043] 본원에서 사용된 바와 같이, "제약상 허용되는" 또는 "약리학상 상용성(compatible)"은 생물학적으로 또는 다른 방식으로 부적절하지 않은 물질을 의미하고, 예를 들어, 이러한 물질은 어떠한 유의한 부적절한 생물학적 효과도 야기하지 않으면서 또는 자신이 함유되는 조성물의 다른 성분들 중 어떠한 것과도 해로운 방식으로 상호작용하지 않으면서 환자에게 투여되는 제약 조성물 내로 혼입될 수 있다. 제약상 허용되는 담체 또는 부형제는 바람직하게는 독성학적 및 제작 시험의 요구 기준을 만족시켰고/시켰거나 미국 식품 의약국(U.S. Food and Drug Administration)에서 작성한 불활성 성분 가이드(Inactive Ingredient Guide) 상에 포함된다.
- [0044] 본원에 기술된 발명의 측면 및 실시양태들은 측면 및 실시양태로 "이루어지는 것" 및/또는 "본질적으로 이루어지는 것"을 포함하는 것으로 이해된다.
- [0045] 본원에서 값 또는 파라미터에 대해 언급되는 "약"은 이러한 값 또는 파라미터 자체에 지시되는 변형을 포함 (및 기술)한다. 예를 들어, "약 X"를 언급하는 기술은 "X"의 기술을 포함한다.
- [0046] 본원 및 첨부된 청구항에서 사용된 바와 같이, 단수 형태인 "a", "an" 및 "the"는 문맥적으로 명확하게 달리 지시되지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다.
- [0047] **HCC를 치료하는 방법**
- [0048] 본 발명은 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법을 또한 제공한다. 하기의 HCC 치료 방법에 관한 언급 및 설명은 예시적이고, 이러한 설명은 조합 요법을 사용하여 HCC를 치료하는 방법에

동등하게 적용되고 이를 포함하는 것으로 이해된다.

- [0049] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0050] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0051] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅되고, 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 이때 나노입자 내의 파클리탁셀이 알부민으로 코팅되고, 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Nab-파클리탁셀을 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 유효량의 Nab-파클리탁셀을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0052] 일부 실시양태에서, HCC는 초기 HCC, 비-전이성 HCC, 원발성 HCC, 진행성 HCC, 국소 진행성 HCC, 전이성 HCC, 관해기의 HCC, 또는 재발성 HCC이다. 일부 실시양태에서, HCC는 국소화된 절제가능한 것 (즉, 수술에 의한 완전한 제거를 허용하는 간의 일부에 국한된 종양), 국소화된 절제불가능한 것 (즉, 매우 중요한 혈관 구조가 수반되기 때문에 또는 간이 손상되기 때문에, 국소화된 종양이 절제가 불가능할 수 있음), 또는 절제불가능한 것 (즉, 종양이 모든 간엽을 수반하고/하거나 다른 기관 (예를 들어, 폐, 림프절, 골)로 확산되었음)이다. 일부 실시양태에서, HCC는, TNM 분류에 따르면, I기 종양 (혈관 침범이 없는 단일 종양), II기 종양 (혈관 침범이 있는 단일 종양, 또는 모두 5 cm 이하인 다발 종양), III기 종양 (어느 하나가 5 cm를 초과하는 다발성 종양, 또는 문맥 또는 간정맥의 주요 분지에 연루된 종양), IV기 종양 (담낭을 제외한 인접한 기관을 직접적으로 침범하였거나 또는 장측 복막이 천공된 종양), N1 종양 (국소적인 림프절 전이), 또는 M1 종양 (원위부 전이)이다. 일부 실시양태에서, HCC는, AJCC (미국 암 공동 위원회(American Joint Commission on Cancer)) 병기결정 기준에 따르면, T1기, T2기, T3기, 또는 T4기 HCC이다. 일부 실시양태에서, HCC는 간 세포 암종, HCC의 섬유층관성 변종, 및 혼합형 간세포 담관암종 중 어느 하나이다.
- [0053] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 국소화된 절제가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 국소화된 절제가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 국소화된 절제가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 국소화된 절제가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0060] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0061] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅되고, 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알루미늄으로 코팅되고, 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, *Nab*-파클리탁셀을 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 유효량의 *Nab*-파클리탁셀을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체 (예를 들어, 인간)에서 절제불가능한 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0062] 본원에서 제공된 방법은 HCC로 진단되었거나 HCC에 걸린 것으로 추측되는 개체 (예를 들어, 인간)를 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 개체의 연령은 약 35세, 40세, 45세, 50세, 55세, 60세, 65세, 70세, 75세, 80세, 또는 85세 중 어느 하나 이상이다. 일부 실시양태에서, 개체는 아시아인 혈통이다. 일부 실시양태에서, 개체는 남성이다. 일부 실시양태에서, 개체는 여성이다. 일부 실시양태에서, 개체의 HCC는 초기 단계의 HCC, 비-전이성 HCC, 원발성 HCC, 진행성 HCC, 국소 진행성 HCC, 전이성 HCC, 관해기의 HCC, 또는 재발성 HCC이다. 일부 실시양태에서, 개체는 AJCC (미국 암 공동 위원회) 병기결정 기준에 따른 T1기, T2기, T3기, 또는 T4기 HCC를 갖는다. 일부 실시양태에서, 개체는 HBsAg 양성이다. 일부 실시양태에서, 개체는 HBsAg 음성이다. 일부 실시양태에서, 개체는 기저의 간 경변이 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 기저의 간 경변이 없다. 일부 실시양태에서, 개체는 체시시 단일 병변이 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 체시시 다발성 병변이 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어, 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 HCC 치료에 대해 내성이다. 일부 실시양태에서, 개체는 초기에는 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어, 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 HCC 치료에 대해 반응성이지만, 치료 후에 진행되었다.

[0063] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, 탁산 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HBsAg 양성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HBsAg 양성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HBsAg 양성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HBsAg 양성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0064] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알루미늄 (예컨대 인간 혈청 알루미늄)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HBsAg 양성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실

함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0070] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하고, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0071] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅되고, 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 파클리탁셀 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 파클리탁셀이 알부민으로 코팅되고, 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, *Nab*-파클리탁셀을 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 유효량의 *Nab*-파클리탁셀을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 다른 작용제 (예컨대 탁산의 비-나노입자 제형, 예를 들어 탁솔® 또는 탁소테레®)로의 치료에 대해 내성인 개체 (예를 들어, 인간)에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0072] 일부 실시양태에서, 개체는 HCC와 연관된 하나 이상의 증상을 나타내는 인간이다. 일부 실시양태에서, 개체의 HCC는 초기 단계이다. 일부 실시양태에서, 개체의 HCC는 진행된 단계이다. 일부 실시양태에서, 개체는 유전적으로 또는 다른 방식으로 HCC가 발달되기 쉽다 (예를 들어, 위험 인자를 갖고 있다). 이러한 위험 인자에는 연령, 성별, 인종, 식이, 선행 질환 이력, 전조 질환 (예를 들어, B형 간염 또는 C형 간염 바이러스 감염, 간 경변)의 존재, 유전학적 (예를 들어, 유전성) 고려사항, 및 환경적인 노출이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 일부 실시양태에서, HCC에 대한 위험에 처한 개체에는, 예를 들어, HCC를 겪은 친척이 있는 개체, 및 유전학적 또는 생화학적 마커의 분석에 의해 위험이 결정되는 개체가 포함된다. 일부 실시양태에서, 개체는 SPARC 발현에 대해 양성이다 (예를 들어, IHC 표준을 기초로 함). 일부 실시양태에서, 개체는 SPARC 발현에 대해 음성이다.

[0073] 본원에서 제공되는 방법은 보조 환경에서 실행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 선행 보조 환경에서 실행되고, 즉, 방법이 1차/결정적 요법 전에 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 기존에 치료되었던 개체를 치료하는데 사용된다. 임의의 본원에서 제공되는 치료 방법이 기존에 치료되지 않은 개체를 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 1선(first-line) 요법으로 사용된다. 일부 실시양태에서, 방법은 2선(second-line) 요법으로 사용된다.

[0074] 본원에 기술된 방법들은 HCC 치료의 다양한 측면에 유용하다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC 세포 증식 (예컨대 HCC 종양 성장)을 억제하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 약 10% 이상 (예를 들어, 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 중 어느 하나 이상이 포함됨)의 세포 증식이 억제된다. 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 탁산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 탁산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0075] 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC 종양 전이를 억제하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 약 10% 이상 (예를 들어, 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 중 어느 하나 이상이 포함됨)의 전이가 억제

된다. 일부 실시양태에서, 림프절로의 전이를 억제하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 폐로의 전이를 억제하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0076] 일부 실시양태에서, 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 기존의 HCC 종양 전이 (예컨대 폐 전이 또는 림프절로의 전이)를 감소시키는 (예컨대 근절시키는) 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 약 10% 이상 (예를 들어, 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 중 어느 하나 이상이 포함됨)의 전이가 감소된다. 일부 실시양태에서, 림프절로의 전이를 감소시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 폐로의 전이를 감소시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0077] 일부 실시양태에서, 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 기존의 HCC 종양 전이 (예컨대 폐 전이 또는 림프절로의 전이)의 발생률 또는 부하를 감소시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0078] 일부 실시양태에서, 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC 종양 크기를 감소시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 종양 크기가 약 10% 이상 (예를 들어, 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 중 어느 하나 이상이 포함됨) 감소된다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0079] 일부 실시양태에서, 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC의 질환 진행까지의 시간을 연장하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 질환 진행까지의 시간을 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 또는 12주 중 어느 하나 이상만큼 연장한다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0080] 일부 실시양태에서, 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC에 걸린 개체의 생존을 연장하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 개체의 생존을 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 18개월, 또는 24개월 중 어느 하나 이상만큼 연장한다. 일부 실시양태에서, 타산은 파클리탁셀이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0081] 일부 실시양태에서, 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC에 걸린 개체에서 하나 이상의 증상을 경감시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 정맥내 투여에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자 내의 타산이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0082] 임의의 본 섹션에 기술된 실시양태가 "조합 요법 방법" 섹션에서 제공되는 실시양태에 적용되는 것으로 이해된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, a) 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, 및 b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 나노입자 조성물 및 STMN1 억제제가 동반적으로 투여되는 것인, HCC에 걸린 개체에서 하나 이상의 증상을 경감시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, a) 알부민으로 코팅된 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 (예컨대 아브락산®)의 유효량, 및 b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 나노입자 조성물 및 STMN1 억제제가 동반적으로 투여되는 것인, HCC에 걸린 개체에서 하나 이상의 증상을 경감시키는 방법이 제공된다.

[0083] 일부 실시양태에서, a) 타산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, 및 b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 나노입자 조성물 및 STMN1 억제제가 동반적으로 투여되는

것인, 개체에서 기존의 HCC 종양 전이 (예컨대 폐 전이 또는 림프절로의 전이)를 감소시키는 (예컨대 근절시키는) 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, a) 알루미늄으로 코팅된 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 (예컨대 아브락산®)의 유효량, 및 b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 이때 나노입자 조성물 및 STMN1 억제제가 동반적으로 투여되는 것인, 개체에서 기존의 HCC 종양 전이 (예컨대 폐 전이 또는 림프절로의 전이)를 감소시키는 (예컨대 근절시키는) 방법이 제공된다.

[0084] **조합 요법 방법**

[0085] 일부 실시양태에서 탁산 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하는 방법이 하나 이상의 기타의 작용제의 투여와 함께 수행된다.

[0086] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅되고, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 미세소관 분해를 억제하는 작용제가 동반적으로 투여된다.

[0087] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제는 HCC 치료에 대한 상승작용적 효과가 있다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 나노입자 조성물로의 치료에 대해 HCC 세포를 감각시킨다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 직접적으로 또는 간접적으로 미세소관 분해를 촉진하는 분자를 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 미세소관 분해를 촉진하는 분자의 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 미세소관 조립을 촉진하는 분자의 발현을 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 ABP1, ARHGAP4, HSPA8, LCP1, PACSIN2, RUNX1T1, STMN1, 튜불린, 및 TUBB4로 이루어진 군으로부터 선택된 분자를 억제한다.

[0088] 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 직접적으로 또는 간접적으로 미세소관 조립을 촉진하는 분자를 활성화한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 미세소관 조립을 촉진하는 분자의 활성을 강화한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 미세소관 조립을 촉진하는 분자의 발현을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 ABI1, BCL2L11, CDC42, CHRM3, CNN3, CSMD1, DDOST, DOCK7, EHMT2, ENAH, ERMAP, ERLF1, HDAC5, LDLRAP1, MCF2, OLA1, RASA1, SHC2, STMN2, 및 TRIP10으로 이루어진 군으로부터 선택된 분자를 활성화한다.

[0089] 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 STMN1을 억제한다. STMN1 (스타트민 1)은 유사분열 방추체의 구축 및 기능에서 수반되는 미세소관-불안정화 인단백질이다. 문헌 [Rana et al., Expert Rev. Anticancer The. 8(9), 1461-1470 (2008)]. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1을 억제하는 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1의 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 튜불린에 대한 STMN1의 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1의 인산화를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 작용제는 STMN1에 대한 항체이다.

[0090] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나

노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 이때 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅되고, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)의 유효량; 및 (b) STMN1 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 STMN1 억제제가 동반적으로 투여된다.

[0091] 일부 실시양태에서, 작용제는 크산톤 패밀리의 분자이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 갬부지 또는 그의 유도체이다. 갬부지 및 유도체에는, 예를 들어, 갬부지산 (GA) 및 갬부젠산 (GEA)이 포함된다. 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, a) 탁산 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, 및 b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 a) 파클리탁셀 및 알루미늄을 포함하는 나노입자 (예컨대 *Nab*-파클리탁셀)를 포함하는 조성물의 유효량, 및 b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 갬부지 또는 그의 유도체는 HCC에서 세포 증식 또는 전이를 억제하는 것에서 유효량의 탁산 나노입자 조성물과 조합될 때 상승작용적 효과가 있다. 일부 실시양태에서, 갬부지 또는 그의 유도체는 탁산 나노입자 조성물 (예컨대 *Nab*-파클리탁셀)에 대해 HCC 세포를 감작시킨다.

[0092] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅된 것인 조성물의 유효량; 및 (b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알루미늄으로 코팅되고, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)의 유효량; 및 (b) 갬부지 또는 그의 유도체의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 갬부지 또는 그의 유도체가 동반적으로 투여된다.

[0093] 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 STMN1의 발현을 억제한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 항-STMN1 리보자임 (예컨대 Rz184 및 Rz305)이다. 일부 실시양태에서, STMN1 억제제는 STMN1의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 안티센스 올리고데옥시뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 안티센스 올리고데옥시리보뉴클레오티드이다. 다른 실시양태에서, STMN1 억제제는 소형 간섭 RNA (siRNA)이다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 STMN1에 대한 siRNA를 1개 초과로 포함하는 조성물이다. STMN1에 대한 적절한 siRNA가 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, STMN1 si게놈스마트(siGenomeSMART) 풀(pool)은 STMN1에 대한 4개의 siRNA의 혼합물이다.

[0094] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알루미늄을 포함하는 나노입자를 포함

하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1에 대한 siRNA의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된 것인 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1에 대한 siRNA의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1에 대한 siRNA의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하며, 여기서 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅되고, 나노입자 조성물 내의 나노입자의 평균 입자 크기가 약 200 nm 이하 (예컨대 약 200 nm 미만)인 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1에 대한 siRNA의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, (a) *Nab*-파클리탁셀 (아브락산®)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) STMN1에 대한 siRNA의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 STMN1에 대한 siRNA가 동반적으로 투여된다.

[0095] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) TUBB4의 억제제인 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 TUBB4의 중합을 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 TUBB4의 발현을 억제한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, TUBB4 억제제는 TUBB4의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, TUBB4 억제제는 TUBB4에 대한 siRNA이다. 일부 실시양태에서, 유효량의 탁산 나노입자 조성물 및 TUBB4 억제제는 HCC에서 세포 증식 또는 전이를 상승작용적으로 억제한다. 일부 실시양태에서, TUBB4 억제제는 탁산 나노입자 조성물 (예컨대 *Nab*-파클리탁셀)에 대해 HCC 세포를 감작시킨다.

[0096] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) DOCK7의 활성화제인 기타의 작용제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0097] 본원에 기술된 기타의 작용제들은 작용제 자체, 이의 제약상 허용되는 염, 및 이의 제약상 허용되는 에스테르, 뿐만 아니라 입체이성질체, 거울상이성질체, 라세미 혼합물 등일 수 있다. 기술된 바와 같은 기타의 작용제 또는 작용제들, 뿐만 아니라 작용제(들)를 함유하는 제약 조성물이 투여될 수 있고, 이때 제약 조성물은 제약상 허용되는 담체, 비히클 등을 포함한다.

[0098] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산에 더하여 2가지 이상의 화학요법제가 투여된다. 이러한 2가지 이상의 화학요법제는 (필수적이지는 않지만) 상이한 화학요법제 부류에 속할 수 있다. 이러한 조합의 예가 본원에서 제공된다. 기타 조합이 또한 구상된다.

[0099] 따라서, 예를 들어, 일부 실시양태에서, a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, b) STMN1에 대한 siRNA의 유효량, 및 c) 갬부지 및 그의 유도체의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, b) STMN1 억제제의 유효량; 및 c) TUBB4 억제제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, a) 탁산 및 알부민 (예를 들어, 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량, b) STMN1 억제제의 유효량, 및 c) DOCK7 활성화제의 유효량을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다.

[0100] 임의의 본원에 기술된 HCC 치료 방법에서 사용하기 위한, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 제약 조성물이 또한 제공된다.

[0101] 본원 (예컨대 상기 "HCC를 치료하는 방법" 섹션)에 기술된 임의의 HCC 치료 방법이 조합 요법의 설명에 적용되고 이를 포함하는 것으로 이해된다. 일부 실시양태에서, 개별 요법에 일반적으로 사용되는 양과 비교하여 더 낮은 양의 각각의 제약상 활성인 화합물이 조합 요법의 일부로서 사용된다. 일부 실시양태에서, 개별적인 화합물들 중 어느 하나를 단독으로 사용하는 것과 동일하거나 이보다 큰 치료 이익이 조합 요법을 사용하여 달성된

다. 일부 실시양태에서, 동일하거나 더 큰 치료 이익이 개별 요법에 대해 일반적으로 사용되는 양보다 더 작은 양 (예를 들어, 더 낮은 용량 또는 덜 빈번한 투여 일정)의 제약상 활성인 화합물을 조합 요법에서 사용하여 달성된다. 예를 들어, 소량의 제약상 활성인 화합물의 사용이 이러한 화합물과 연관된 하나 이상의 부작용의 횟수, 중증도, 빈도 또는 기간에서의 감소를 초래할 수 있다.

[0102] 본원에 기술된 방법들에 대한 투여 요법이 하기에서 추가로 제공된다.

[0103] **추가적인 예시적인 실시양태**

[0104] 일부 실시양태에서, 본 출원은 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 간세포 암종 (HCC) 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법을 제공한다.

[0105] 일부 실시양태에서, (a) 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 개체에 투여하는 것을 포함하는, HCC 치료를 필요로 하는 개체에서 HCC를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제는 동반적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 직접적으로 또는 간접적으로 미세소관 분해를 촉진하는 분자를 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 ABP1, ARHGAP4, HSPA8, LCP1, PACSIN2, RUNX1T1, STMN1, 및 튜블린, 및 TUBB4로 이루어진 군으로부터 선택된 분자를 억제한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 STMN1의 억제제이다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 STMN1에 대한 siRNA이다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 깬부지 또는 그의 유도체이다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 직접적으로 또는 간접적으로 미세소관 조립을 촉진하는 분자를 활성화한다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 ABI1, BCL2L11, CDC42, CHRM3, CNN3, CSMD1, DDOST, DOCK7, EHMT2, ENAH, ERMAP, ERLF1, HDAC5, LDLRAP1, MCF2, OLA1, RASA1, SHC2, STMN2, 및 TRIP10으로 이루어진 군으로부터 선택된 분자를 활성화한다.

[0106] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, HCC는 간 세포 암종, HCC의 섬유증 관련성 변종, 또는 혼합형 간세포 담관암종이다.

[0107] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, HCC는 초기 HCC, 비-전이성 HCC, 원발성 HCC, 진행성 HCC, 국소 진행성 HCC, 전이성 HCC, 관해기의 HCC, 재발성 HCC, 보조 환경에서의 HCC, 또는 선행 보조 환경에서의 HCC이다.

[0108] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물이 비경구적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물이 정맥 내로, 동맥 내로, 간 내로 또는 문맥 내로 투여된다.

[0109] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, 탁산은 파클리탁셀이다.

[0110] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자의 평균 직경은 약 200 nm 이하이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자의 평균 직경은 약 200 nm 미만이다.

[0111] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, 나노입자 내의 탁산이 알부민으로 코팅된다.

[0112] 이러한 섹션에서 상기에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따른 일부 실시양태에서, 개체는 인간이다.

[0113] **나노입자 조성물의 투여, 및 이의 투여 방법**

[0114] 개체 (예컨대 인간)에게 투여되는 탁산 나노입자 조성물의 용량은 특정 조성물, 투여 방식, 및 치료되는 HCC의 유형에 따라 변할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물의 양은 객관적 반응 (예컨대 부분적인 반응 또는 완전한 반응)을 초래하는데 효과적이다. 일부 실시양태에서, 탁산 나노입자 조성물의 양은 개체에서 완전한 반응을 초래하는데 충분하다. 일부 실시양태에서, 탁산 나노입자 조성물의 양은 개체에서 부분적인 반응을 초래하는데 충분하다. 일부 실시양태에서, 투여되는 탁산 나노입자 조성물의 양 (예를 들어, 단독으로 투여될 때)은 탁산 나노입자 조성물로 치료된 개체들의 집단에서 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 64%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 또는 90% 중 어느 하나를 초과하는 전체적인 반응률을 일으키는데 충분하다. 본원에 기술된 치료 방법에 대한 개체의 반응은, 예를 들어, RECIST 수준을 기초로 결정될 수 있다.

[0115] 일부 실시양태에서, 조성물의 양은 개체의 무진행 생존을 연장하는데 충분하다. 일부 실시양태에서, 조성물의 양은 개체의 전체적인 생존을 연장하는데 충분하다. 일부 실시양태에서, 조성물의 양 (예를 들어, 단독으로 투

여될 때)은 탁산 나노입자 조성물로 치료된 개체들의 집단에서 약 50%, 60%, 70%, 또는 77% 중 어느 하나를 초과하는 임상 이익을 일으키는데 충분하다.

- [0116] 일부 실시양태에서, 1차 요법, 2차 요법 또는 조합 요법에서의 조성물의 양은 치료 전의 동일한 대상체에서의 상응하는 종양 크기, HCC 세포 개수, 또는 종양 성장 속도와 비교하여 또는 치료를 받지 않은 다른 대상체에서의 상응하는 활성과 비교하여 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 중 어느 하나 이상만큼 종양 크기를 감소시키는데, 암 세포 개수를 감소시키는데, 또는 종양의 성장 속도를 감소시키는데 충분한 양이다. 표준 방법, 예컨대 정제된 효소로의 시험관내 검정, 세포-기반 검정, 동물 모델, 또는 인간 시험을 사용하여 이러한 효과의 규모를 측정할 수 있다.
- [0117] 일부 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 양은 독성학적 효과 (즉, 임상적으로 허용되는 독성 수준을 초과하는 효과)를 유도하는 수준 미만이거나, 또는 조성물이 개체에게 투여될 때 잠재적인 부작용이 제어 또는 허용될 수 있는 수준이다.
- [0118] 일부 실시양태에서, 조성물의 양은 동일한 투여 요법 후의 조성물의 최대 허용 용량 (MTD: maximum tolerated dose)에 가깝다. 일부 실시양태에서, 조성물의 양은 MTD의 약 80%, 90%, 95%, 또는 98% 중 어느 하나를 초과한다.
- [0119] 일부 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 양은 하기의 범위들 중 어느 하나 내에 포함된다: 약 0.1 mg 내지 약 500 mg, 약 0.1 mg 내지 약 2.5 mg, 약 0.5 내지 약 5 mg, 약 5 내지 약 10 mg, 약 10 내지 약 15 mg, 약 15 내지 약 20 mg, 약 20 내지 약 25 mg, 약 20 내지 약 50 mg, 약 25 내지 약 50 mg, 약 50 내지 약 75 mg, 약 50 내지 약 100 mg, 약 75 내지 약 100 mg, 약 100 내지 약 125 mg, 약 125 내지 약 150 mg, 약 150 내지 약 175 mg, 약 175 내지 약 200 mg, 약 200 내지 약 225 mg, 약 225 내지 약 250 mg, 약 250 내지 약 300 mg, 약 300 내지 약 350 mg, 약 350 내지 약 400 mg, 약 400 내지 약 450 mg, 또는 약 450 내지 약 500 mg. 일부 실시양태에서, 유효량의 조성물 (예를 들어, 단위 투여량 형태) 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 양은 약 5 mg 내지 약 500 mg, 예컨대 약 30 mg 내지 약 300 mg 또는 약 50 mg 내지 약 200 mg의 범위 내이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 농도는 물거나 (약 0.1 mg/ml), 또는 진하고 (약 100 mg/ml), 예를 들어 약 0.1 내지 약 50 mg/ml, 약 0.1 내지 약 20 mg/ml, 약 1 내지 약 10 mg/ml, 약 2 mg/ml 내지 약 8 mg/ml, 약 4 내지 약 6 mg/ml, 또는 약 5 mg/ml 중 어느 하나가 이에 포함된다. 일부 실시양태에서, 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 농도는 약 0.5 mg/ml, 1.3 mg/ml, 1.5 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 또는 50 mg/ml 중 어느 하나 이상이다. 일부 실시양태에서, 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 농도는 약 100 mg/ml, 90 mg/ml, 80 mg/ml, 70 mg/ml, 60 mg/ml, 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 또는 5 mg/ml 중 어느 하나 이하이다.
- [0120] 나노입자 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 예시적인 유효량에는 약 25 mg/m², 30 mg/m², 50 mg/m², 60 mg/m², 75 mg/m², 80 mg/m², 90 mg/m², 100 mg/m², 120 mg/m², 125 mg/m², 150 mg/m², 160 mg/m², 175 mg/m², 180 mg/m², 200 mg/m², 210 mg/m², 220 mg/m², 250 mg/m², 260 mg/m², 300 mg/m², 350 mg/m², 400 mg/m², 500 mg/m², 540 mg/m², 750 mg/m², 1000 mg/m², 또는 1080 mg/m² 중 어느 하나 이상의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 다양한 실시양태에서, 조성물은 약 350 mg/m², 300 mg/m², 250 mg/m², 200 mg/m², 150 mg/m², 120 mg/m², 100 mg/m², 90 mg/m², 50 mg/m², 또는 30 mg/m² 중 어느 하나 미만의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 투여 당 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 양은 약 25 mg/m², 22 mg/m², 20 mg/m², 18 mg/m², 15 mg/m², 14 mg/m², 13 mg/m², 12 mg/m², 11 mg/m², 10 mg/m², 9 mg/m², 8 mg/m², 7 mg/m², 6 mg/m², 5 mg/m², 4 mg/m², 3 mg/m², 2 mg/m², 또는 1 mg/m² 중 어느 하나 미만이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 유효량은 하기의 범위들 중 어느 하나 내에 포함된다: 약 1 내지 약 5 mg/m², 약 5 내지 약 10 mg/m², 약 10 내지 약 25 mg/m², 약 25 내지 약 50 mg/m², 약 50 내지 약 75 mg/m², 약 75 내지 약 100 mg/m², 약 100 내지 약 125 mg/m², 약 125 내지 약 150 mg/m², 약 150 내지 약 175 mg/m², 약 175 내지 약 200 mg/m², 약 200 내지 약 225 mg/m², 약 225 내지 약 250 mg/m², 약 250 내지 약 300 mg/m², 약 300 내지 약 350 mg/m², 또는 약 350 내지 약 400 mg/m². 일부 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 유효량은 약 5 내지 약 300 mg/m², 예컨대 약 100 내지 약 150 mg/m², 약 120 mg/m², 약 130 mg/m², 또는 약 140 mg/m²이다.
- [0121] 상기 측면들 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 유효량은 약 1 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3.5 mg/kg, 5 mg/kg, 6.5 mg/kg, 7.5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30

mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg, 또는 60 mg/kg 중 어느 하나 이상을 포함한다. 다양한 실시양태에서, 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 유효량은 약 350 mg/kg, 300 mg/kg, 250 mg/kg, 200 mg/kg, 150 mg/kg, 100 mg/kg, 50 mg/kg, 25 mg/kg, 20 mg/kg, 10 mg/kg, 7.5 mg/kg, 6.5 mg/kg, 5 mg/kg, 3.5 mg/kg, 2.5 mg/kg, 또는 1 mg/kg 중 어느 하나 미만의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)을 포함한다.

[0122] 나노입자 조성물의 투여를 위한 예시적인 투여 빈도는 매일, 2일마다, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다, 중단 없이 매주, 4주 중 3주, 3주마다 1번, 2주마다 1번, 또는 3주 중 2주를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 조성물은 대략적으로 2주마다 1번, 3주마다 1번, 4주마다 1번, 6주마다 1번, 또는 8주마다 1번 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 1주일에 약 1×, 2×, 3×, 4×, 5×, 6× 또는 7× (즉, 매일) 중 어느 하나 이상으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 각각의 투여 사이의 간격은 약 6개월, 3개월, 1개월, 20일, 15일, 14일, 13일, 12일, 11일, 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일, 또는 1일 중 어느 하나 미만이다. 일부 실시양태에서, 각각의 투여 사이의 간격은 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 8개월, 또는 12개월 중 어느 하나를 초과한다. 일부 실시양태에서, 투여 일정 중에 투여가 중단되지 않는다. 일부 실시양태에서, 각각의 투여 사이의 간격은 약 1주일 이하이다.

[0123] 일부 실시양태에서, 투여 빈도는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회 및 11회에 대해 2일마다 1번이다. 일부 실시양태에서, 투여 빈도는 5회에 대해 2일마다 1번이다. 일부 실시양태에서, 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)이 10일 이상의 기간에 걸쳐 투여되고, 이때 각각의 투여 사이의 간격은 약 2일 이하이고, 각각의 투여 시의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 용량은 약 0.25 mg/m² 내지 약 250 mg/m², 약 0.25 mg/m² 내지 약 150 mg/m², 약 0.25 mg/m² 내지 약 75 mg/m², 예컨대 약 0.25 mg/m² 내지 약 25 mg/m², 또는 약 25 mg/m² 내지 약 50 mg/m²이다.

[0124] 조성물의 투여가 장기간에 걸쳐, 예컨대 약 1개월에서 약 7년까지 연장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 약 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 18개월, 24개월, 30개월, 36개월, 48개월, 60개월, 72개월, 또는 84개월 중 어느 하나 이상의 기간에 걸쳐 투여된다.

[0125] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 투여량은 3주 일정으로 제공되는 경우에 5-400 mg/m² 범위일 수 있거나, 또는 매주 일정으로 제공되는 경우에 5-250 mg/m² (예컨대 80-150 mg/m², 예를 들어 100-120 mg/m²) 범위일 수 있다. 예를 들어, 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 양은 3주 일정으로 약 60 내지 약 300 mg/m² (예를 들어, 약 260 mg/m²)이다.

[0126] 나노입자 조성물 (예를 들어, 파클리탁셀/알부민 나노입자 조성물)의 투여를 위한 기타 예시적인 투여 일정에는 중단 없이 매주 100 mg/m²; 4주 중 3주 동안 매주 75 mg/m²; 4주 중 3주 동안 매주 100 mg/m²; 4주 중 3주 동안 매주 125 mg/m²; 3주 중 2주 동안 매주 125 mg/m²; 중단 없이 매주 130 mg/m²; 2주마다 1번 175 mg/m²; 2주마다 1번 260 mg/m²; 3주마다 1번 260 mg/m²; 3주마다 180-300 mg/m²; 중단 없이 매주 60-175 mg/m²; 1주일에 2번 20-150 mg/m²; 및 1주일에 2번 150-250 mg/m²가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 조성물의 투여 빈도는 투여하는 의사의 판단을 기초로 치료 과정에 걸쳐 조정될 수 있다.

[0127] 일부 실시양태에서, 개체는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 치료 사이클 중 어느 하나 이상 동안 치료된다.

[0128] 본원에 기술된 조성물은 약 24시간 미만의 주입 시간에 걸쳐 조성물을 개체에게 주입하는 것을 허용한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 조성물은 약 24시간, 12시간, 8시간, 5시간, 3시간, 2시간, 1시간, 30분, 20분, 또는 10분 중 어느 하나 미만의 주입 기간에 걸쳐 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 약 30분의 주입 기간에 걸쳐 투여된다.

[0129] 나노입자 조성물 내의 탁산 (일부 실시양태에서, 파클리탁셀)의 기타 예시적인 용량에는 약 50 mg/m², 60 mg/m², 75 mg/m², 80 mg/m², 90 mg/m², 100 mg/m², 120 mg/m², 160 mg/m², 175 mg/m², 200 mg/m², 210 mg/m², 220 mg/m², 260 mg/m², 및 300 mg/m² 중 어느 하나가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 예를 들어, 나노입자 조성물 내의 파클리탁셀의 투여량은 3주 일정으로 제공되는 경우에 약 100-400 mg/m² 범위일 수 있거나, 또는 매주 일정으로 제공되는 경우에 약 50-250 mg/m² 범위일 수 있다.

[0130] 나노입자 조성물은 정맥내, 동맥내, 복막내, 폐내, 경구, 흡입, 방광내, 근육내, 기관내, 피하, 안구내, 경막내, 경점막, 및 경피가 예를 들어 포함되는 다양한 경로를 통해 개체 (예컨대 인간)에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물의 지속적인 연속 방출 제형이 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물이 정맥 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 문맥 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 동맥 내로

투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 복막 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 간 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물이 간 동맥 주입에 의해 투여된다.

[0131] **조합 요법의 투여 방식**

[0132] 상기 섹션에서 기술된 투여 요법은 단독요법 및 조합 요법 환경 둘 모두에 적용된다. 조합 요법 방법에 대한 투여 방식이 하기에서 추가로 기술된다.

[0133] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제 (본원에 기술된 특정 화학요법제가 포함됨)가 동시에 투여된다. 약물들이 동시에 투여되는 경우, 나노입자 내의 약물 및 기타의 작용제는 동일한 조성물 (예를 들어, 나노입자 및 기타의 작용제 둘 모두를 포함하는 조성물) 내에 또는 별도의 조성물들 (예를 들어, 한 조성물 내에 나노입자가 함유되고, 또 다른 조성물 내에 기타의 작용제가 함유됨) 내에 함유될 수 있다.

[0134] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제가 순차적으로 투여된다. 나노입자 조성물 또는 기타의 작용제 중 어느 쪽이든 먼저 투여될 수 있다. 나노입자 조성물 및 기타의 작용제는 별도의 조성물들 내에 함유되고, 이러한 조성물들은 동일한 패키지 또는 상이한 패키지 내에 함유될 수 있다.

[0135] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 동반적이고, 즉, 나노입자 조성물의 투여 기간과 기타의 작용제의 투여 기간이 서로 중첩된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물이 기타의 작용제의 투여 전에 1 사이클 이상 (예를 들어, 2, 3, 또는 4 사이클 중 어느 하나 이상) 동안 투여된다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제가 1주, 2주, 3주 또는 4주 중 어느 하나 이상 동안 투여된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 거의 동시에 (예를 들어, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 중 어느 하나 이내) 시작된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 거의 동시에 (예를 들어, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 중 어느 하나 이내) 종결된다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제의 투여가 나노입자 조성물의 투여 종결 후에 계속된다 (예를 들어, 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 12개월 중 어느 하나 동안). 일부 실시양태에서, 기타의 작용제의 투여가 나노입자 조성물의 투여 시작 후에 (예를 들어, 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 12개월 중 어느 하나 후에) 시작된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 거의 동시에 시작 및 종결된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 거의 동시에 시작되고, 기타의 작용제의 투여가 나노입자 조성물의 투여 종결 후에 계속된다 (예를 들어, 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 12개월 중 어느 하나 동안). 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 거의 동시에 정지되고, 기타의 작용제의 투여가 나노입자 조성물의 투여 시작 후에 (예를 들어, 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 12개월 중 어느 하나 후에) 시작된다. 일부 실시양태에서, 방법은 1회를 초과하는 치료 사이클을 포함하고, 이때 치료 사이클 중 하나 이상이 (a) 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물의 유효량; 및 (b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량의 투여를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료 사이클은 약 21일 이상 (예컨대 약 21일)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료 사이클은 약 21일 미만 (예를 들어, 매주 또는 매일)을 포함한다.

[0136] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여가 비-동반적이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물의 투여가 기타의 작용제가 투여되기 전에 종결된다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제의 투여가 나노입자 조성물이 투여되기 전에 종결된다. 이러한 2개의 비-동반적인 투여 사이의 시간 간격은 약 2주 내지 8주 범위, 예컨대 약 4주일 수 있다.

[0137] 투여하는 의사의 판단을 기초로 치료 과정 중에 약물-함유 나노입자 조성물 및 기타의 작용제의 투여 빈도가 조정될 수 있다. 별도로 투여되는 경우, 약물-함유 나노입자 조성물 및 기타의 작용제가 상이한 투여 빈도 또는 간격으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 약물-함유 나노입자 조성물은 매주 투여될 수 있는 한편, 화학요법제는 더 또는 덜 빈번하게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 약물-함유 나노입자 및/또는 화학요법제의 지속적인 연속 방출 제형이 사용될 수 있다. 지속 방출을 달성하기 위한 다양한 제형 및 장치가 당업계에 공지되어 있다. 본원에 기술된 투여 구성들의 조합이 또한 사용될 수 있다.

[0138] 나노입자 조성물 및 기타의 작용제를 동일한 투여 경로 또는 상이한 투여 경로를 사용하여 투여할 수 있다. 일부 실시양태에서 (동시 투여 및 순차적 투여 둘 모두), 나노입자 조성물 내의 탁산 및 기타의 작용제가 미리 정해진 비율로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산과 기타의 작용제의 중량비

는 약 1 대 1이다. 일부 실시양태에서, 중량비는 약 0.001 내지 약 1 및 약 1000 내지 약 1, 또는 약 0.01 내지 약 1 및 100 내지 약 1일 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산과 기타의 작용제의 중량비는 약 100:1, 50:1, 30:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 및 1:1 중 어느 하나 미만이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산과 기타의 작용제의 중량비는 약 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 30:1, 50:1, 100:1 중 어느 하나 초과이다. 기타 비율이 구상된다.

[0139] 탁산 및/또는 기타의 작용제에 요구되는 용량은 (필수적이지는 않지만) 각각의 작용제가 단독으로 투여되는 경우에 일반적으로 요구되는 것보다 낮을 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 치료량 미만의 양의 나노입자 조성물 내의 약물 및/또는 기타의 작용제가 투여된다. "치료량 미만의 양" 또는 "치료 수준 미만의 수준"은 치료량보다 적은, 즉, 나노입자 조성물 내의 약물 및/또는 기타의 작용제가 단독으로 투여되는 경우에 일반적으로 사용되는 양보다 적은 양을 지칭한다. 이러한 감소는 소정의 투여 시에 투여되는 양 및/또는 소정의 시간 간격에 걸쳐 투여되는 양 (감소된 빈도)의 관점에서 반영될 수 있다.

[0140] 일부 실시양태에서, 동일한 치료 정도를 일으키는데 요구되는 나노입자 조성물 내의 약물의 정상적인 용량이 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 이를 초과하는 % 중 어느 하나 이상만큼 감소되는 것을 허용하도록 충분한 화학요법제가 투여된다. 일부 실시양태에서, 동일한 치료 정도를 일으키는데 요구되는 기타의 작용제의 정상적인 용량이 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 이를 초과하는 % 중 어느 하나 이상만큼 감소되는 것을 허용하도록 충분한 나노입자 조성물 내의 약물이 투여된다.

[0141] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산 및 기타의 작용제 둘 모두의 용량이 단독으로 투여되는 경우의 이들 각각의 상응하는 정상 용량과 비교하여 감소된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산 및 기타의 작용제 둘 모두가 치료 수준 미만의 수준, 즉 감소된 수준으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 및/또는 기타의 작용제의 용량은 확립된 최대 독성 용량 (MTD: maximum toxic dose)보다 실질적으로 적다. 예를 들어, 나노입자 조성물 및/또는 기타의 작용제의 용량은 MTD의 약 50%, 40%, 30%, 20%, 또는 10% 미만이다.

[0142] 본원에 기술된 투여 구성들의 조합이 사용될 수 있다. 본원에 기술된 조합 요법 방법은 단독으로, 또는 또 다른 요법, 예컨대 화학요법, 방사선 요법, 수술, 호르몬 요법, 유전자 요법, 면역요법, 화학면역요법, 간동맥을 기초로 하는 요법, 냉동요법, 초음파 요법, 간 이식, 국소 절제 요법, 고주파 절제 요법, 광역학 요법 등과 함께 수행될 수 있다. 추가적으로, HCC가 발달할 위험이 더 큰 사람은 이러한 질환의 발달을 억제하고/하거나 지연시키는 치료를 받을 수 있다.

[0143] 본원에 기술된 기타의 작용제는 다양한 경로, 예컨대 정맥내, 동맥내, 복막내, 폐내가 포함되는 비경구, 경구, 흡입, 방광내, 근육내, 기관내, 피하, 안구내, 경막내 또는 경피 경로를 통해 개체 (예컨대 인간)에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제가 정맥 내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물이 경구 투여된다.

[0144] 기타의 작용제의 투여 빈도는 나노입자 조성물의 빈도와 동일하거나 상이할 수 있다. 예시적인 빈도가 상기에서 제공된다. 추가적인 예로서, 기타의 작용제는 하루에 3번, 하루에 2번, 매일, 일주일에 6번, 일주일에 5번, 일주일에 4번, 일주일에 3번, 일주일에 2번, 매주 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 기타의 작용제는 하루에 2번 또는 하루에 3번 투여된다. 기타의 작용제의 예시적인 양에는 하기의 범위들 중 어느 하나가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다: 약 0.5 내지 약 5 mg, 약 5 내지 약 10 mg, 약 10 내지 약 15 mg, 약 15 내지 약 20 mg, 약 20 내지 약 25 mg, 약 20 내지 약 50 mg, 약 25 내지 약 50 mg, 약 50 내지 약 75 mg, 약 50 내지 약 100 mg, 약 75 내지 약 100 mg, 약 100 내지 약 125 mg, 약 125 내지 약 150 mg, 약 150 내지 약 175 mg, 약 175 내지 약 200 mg, 약 200 내지 약 225 mg, 약 225 내지 약 250 mg, 약 250 내지 약 300 mg, 약 300 내지 약 350 mg, 약 350 내지 약 400 mg, 약 400 내지 약 450 mg, 또는 약 450 내지 약 500 mg. 예를 들어, 기타의 작용제는 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)의 용량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, STMN1 억제제가 5회에 대해 2일마다 약 1-100 mg/kg (예를 들어, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 80 mg/kg이 포함됨)으로 투여된다.

[0145] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 45 mg/m² 내지 약 350 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40

mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 80 mg/m² 내지 약 350 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 80 mg/m² 내지 약 300 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 150 mg/m² 내지 약 350 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 80 mg/m² 내지 약 150 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 유효량은 약 100 mg/m²이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 170 mg/m² 내지 약 200 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산의 유효량은 약 200 mg/m² 내지 약 350 mg/m²이고, 기타의 작용제의 유효량은 약 1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg (예를 들어 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 40 mg/kg 내지 약 60 mg/kg, 약 60 mg/kg 내지 약 80 mg/kg, 약 80 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 120 mg/kg, 약 120 mg/kg 내지 약 140 mg/kg, 약 140 mg/kg 내지 약 200 mg/kg이 포함됨)이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀)의 유효량은 약 260 mg/m²이다. 상기 방법들 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 기타의 작용제의 유효량은 약 20-30 mg/kg, 약 30-40 mg/kg, 약 40-50 mg/kg, 약 50-60 mg/kg, 약 60-70 mg/kg, 약 70-80 mg/kg, 약 80-100 mg/kg, 또는 약 100-120 mg/kg이다.

[0146] 일부 실시양태에서, 기타의 작용제의 적합한 용량은, 대략적으로, 기타의 작용제가 단독으로 또는 다른 작용제와 조합되어 투여되는 임상 요법에서 이미 사용된 용량이다.

[0147] **나노입자 조성물**

[0148] 본원에 기술된 나노입자 조성물은 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 (다양한 실시양태에서, 본질적으로 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)으로 이루어지는) 나노입자를 포함한다. 수용성이 불량한 약물 (예컨대 탁산)의 나노입자가, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,916,596; 6,506,405; 6,749,868, 6,537,579, 7,820,788에서, 그리고 또한 미국 특허 공개 번호 2006/0263434, 및 2007/0082838; PCT 특허 출원 W008/137148에서 개시되었고, 이들 각각은 전문이 참고로 포함된다.

[0149] 일부 실시양태에서, 조성물은 평균 직경이 약 1000 나노미터 (nm) 이하, 예컨대 약 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 및 100 nm 중 어느 하나 이하인 나노입자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 나노입자의 평균 직경은 약 200 nm 이하이다. 일부 실시양태에서, 나노입자의 평균 직경은 약 150 nm 이하이다. 일부 실시양태에서, 나노입자의 평균 직경은 약 100 nm 이하이다. 일부 실시양태에서, 나노입자의 평균 직경은 약 20 내지 약 400 nm이다. 일부 실시양태에서, 나노입자의 평균 직경은 약 40 내지 약 200 nm이다. 일부 실시양태에서, 나노입자는 멸균 여과될 수 있다.

[0150] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 조성물 내의 나노입자의 평균 직경은 약 200 nm 이하이고, 예를 들어 약 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70, 또는 60 nm 중 어느 하나 이하가 이에 포함된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자의 약 50% 이상 (예를 들어, 약 60%, 70%, 80%, 90%, 95

%, 또는 99% 중 어느 하나 이상)이 직경이 약 200 nm 이하이고, 예를 들어 약 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70, 또는 60 nm 중 어느 하나 이하가 이에 포함된다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 나노입자의 약 50% 이상 (예를 들어, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99% 중 어느 하나 이상)이 약 20 내지 약 400 nm의 범위 내에 속하고, 예를 들어, 약 20 내지 약 200 nm, 약 40 내지 약 200 nm, 약 30 내지 약 180 nm, 및 약 40 내지 약 150, 약 50 내지 약 120 및 약 60 내지 약 100 nm 중 어느 하나가 이에 포함된다.

- [0151] 일부 실시양태에서, 알부민은 디설피드 결합을 형성할 수 있는 술폰히드랄 기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 조성물의 나노입자 부분 내의 알부민의 약 5% 이상 (예를 들어, 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90% 중 어느 하나 이상이 포함됨)이 가교된다 (예를 들어, 하나 이상의 디설피드 결합을 통해 가교된다).
- [0152] 일부 실시양태에서, 나노입자는 알부민 (예를 들어, 인간 혈청 알부민)으로 코팅된 탁산 (예컨대 파클리탁셀)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 나노입자 형태 및 비-나노입자 형태 둘 모두 (예를 들어, 파클리탁셀 용액 형태 또는 가용성 알부민/나노입자 복합체 형태)의 탁산을 포함하고, 이때 조성물 내의 탁산의 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99% 중 어느 하나 이상이 나노입자 형태이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 내의 탁산이 중량 기준으로 나노입자의 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99% 중 어느 하나 초과를 구성한다. 일부 실시양태에서, 나노입자는 비-중합체성 매트릭스를 갖는다. 일부 실시양태에서, 나노입자는 중합체성 물질 (예컨대 중합체성 매트릭스)이 실질적으로 없는 탁산의 코어(core)를 포함한다.
- [0153] 일부 실시양태에서, 조성물은 조성물의 나노입자 부분 및 비-나노입자 부분 둘 모두 내에 알부민을 포함하고, 이때 조성물 내의 알부민의 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99% 중 어느 하나 이상이 조성물의 비-나노입자 부분 내에 존재한다.
- [0154] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)과 탁산의 중량비는 약 18:1 이하, 예컨대 약 15:1 이하, 예를 들어 약 10:1 이하이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)과 탁산의 중량비는 약 1:1 내지 약 18:1, 약 2:1 내지 약 15:1, 약 3:1 내지 약 13:1, 약 4:1 내지 약 12:1, 약 5:1 내지 약 10:1 중 어느 하나의 범위 내에 속한다. 일부 실시양태에서, 조성물의 나노입자 부분 내의 알부민과 탁산의 중량비는 약 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:15, 또는 이보다 낮은 비율 중 어느 하나이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)과 탁산의 중량비는 하기의 것들 중 어느 하나이다: 약 1:1 내지 약 18:1, 약 1:1 내지 약 15:1, 약 1:1 내지 약 12:1, 약 1:1 내지 약 10:1, 약 1:1 내지 약 9:1, 약 1:1 내지 약 8:1, 약 1:1 내지 약 7:1, 약 1:1 내지 약 6:1, 약 1:1 내지 약 5:1, 약 1:1 내지 약 4:1, 약 1:1 내지 약 3:1, 약 1:1 내지 약 2:1, 약 1:1 내지 약 1:1.
- [0155] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물은 상기 특징들 중 하나 이상을 포함한다.
- [0156] 본원에 기술된 나노입자는 건식 제형 (예컨대 동결건조 조성물) 내에 존재할 수 있거나, 또는 생체적합성 (biocompatible) 매질 내에 현탁될 수 있다. 적절한 생체적합성 매질에는 물, 완충 수성 매질, 염수, 완충 염수, 임의적으로 완충된 아미노산 용액, 임의적으로 완충된 단백질 용액, 임의적으로 완충된 당 용액, 임의적으로 완충된 비타민 용액, 임의적으로 완충된 합성 중합체 용액, 지질 함유 에멀전 등이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다.
- [0157] 일부 실시양태에서, 제약상 허용되는 담체는 인간 혈청 알부민을 포함한다. 인간 혈청 알부민 (HSA)은 M_r 65K의 고도로 가용성인 구형 단백질이고, 아미노산 585개로 이루어진다. HSA는 혈장 내의 가장 풍부한 단백질이고, 인간 혈장의 콜로이드 삼투압의 70-80%를 차지한다. HSA의 아미노산 서열은 총 17개의 디설피드 다리, 1개의 유리 티올 (Cys 34), 및 단일 트립토판 (Trp 214)을 함유한다. HSA 용액의 정맥내 사용이 저혈량 쇼크의 예방 및 치료를 위해 지시되었고 (예를 들어, 문헌 [Tullis, JAMA, 237, 355-360, 460-463, (1977)] 및 [Houser et al., Surgery, Gynecology and Obstetrics, 150, 811-816 (1980)] 참조), 신생아 고빌리루빈혈증의 치료에서 교환 수혈과 함께 지시되었다 (예를 들어, 문헌 [Finlayson, Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 6, 85-120, (1980)]). 기타 알부민, 예컨대 소 혈청 알부민이 구상된다. 이같은 비-인간 알부민의 사용은, 예를 들어, 이러한 조성물을 비-인간 동물에서 사용하는 상황, 예컨대 수의학 (애완 동물 및 농업용 상황 포함)에서 적합할 수 있다.
- [0158] 인간 혈청 알부민 (HSA)은 다수의 소수성 결합 부위 (HSA의 내인성 리간드인 지방산에 대해 총 8개)가 있고, 다양한 탁산 세트, 특히 중성 및 음성으로 하전된 소수성 화합물에 결합한다 (문헌 [Goodman et al., The

Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed, McGraw-Hill New York (1996)]. 2개의 고친화도 결합 부위가 HSA의 서브도메인 IIA 및 IIIA에서 제안되었고, 이들은 극성 리간드 특색에 대한 부착점으로 기능하는 표면 근처의 하전된 리신 및 아르기닌 잔기가 있는 고도로 신장된 소수성 주머니이다 (예를 들어, 문헌 [Fehske et al., Biochem. Pharmacol., 30, 687-92 (198a)], [Vorum, Dan. Med. Bull., 46, 379-99 (1999)], [Kragh-Hansen, Dan. Med. Bull., 1441, 131-40 (1990)], [Curry et al., Nat. Struct. Biol., 5, 827-35 (1998)], [Sugio et al., Protein. Eng., 12, 439-46 (1999)], [He et al., Nature, 358, 209-15 (199b)], 및 [Carter et al., Adv. Protein. Chem., 45, 153-203 (1994)] 참조). 파클리탁셀 및 프로포폴(propofol)은 HSA에 결합하는 것으로 나타났다 (예를 들어, 문헌 [Paal et al., Eur. J. Biochem., 268(7), 2187-91 (200a)], [Purcell et al., Biochim. Biophys. Acta, 1478(a), 61-8 (2000)], [Altmayer et al., Arzneimittelforschung, 45, 1053-6 (1995)], 및 [Garrido et al., Rev. Esp. Anestesiol. Reanim., 41, 308-12 (1994)] 참조). 또한, 도세탁셀이 인간 혈장 단백질에 결합하는 것으로 나타났다 (예를 들어, 문헌 [Urien et al., Invest. New Drugs, 14(b), 147-51 (1996)] 참조).

[0159] 조성물 내의 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)은 일반적으로 탁산에 대한 담체로서의 역할을 하고, 즉, 조성물 내의 알부민은 알부민을 포함하지 않는 조성물과 비교하여 탁산을 수성 매질에 더욱 쉽게 현탁될 수 있게 하거나 또는 현탁액을 유지시키는 것을 돕는다. 이는 탁산을 용해시키기 위해 독성 용매 (또는 계면활성제)를 사용하는 것을 피할 수 있게 하고, 이에 의해 개체 (예컨대 인간)에게 탁산을 투여하는 것의 하나 이상의 부작용을 감소시킬 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 조성물은 계면활성제, 예컨대 크레모포르 (Cremophor) (크레모포르 EL® (BASF) 포함)가 실질적으로 없다 (예컨대 없다). 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물에 계면활성제가 실질적으로 없다 (예컨대 없다). 조성물 내의 크레모포르 또는 계면활성제의 양이 나노입자 조성물이 개체에 투여되는 경우에 개체에서 하나 이상의 부작용(들)을 야기하는데 충분하지 않으면, 조성물에 "크레모포르가 실질적으로 없다" 또는 "계면활성제가 실질적으로 없다"는 것이다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물은 약 20%, 15%, 10%, 7.5%, 5%, 2.5%, 또는 1% 중 어느 하나 미만의 유기 용매 또는 계면활성제를 함유한다.

[0160] 본원에 기술된 조성물 내의 알부민의 양은 조성물의 다른 성분에 따라 변할 것이다. 일부 실시양태에서, 조성물은, 예를 들어, 안정적인 콜로이드성 현탁액 (예컨대 안정적인 나노입자 현탁액)의 형태로, 수성 현탁액 내에 탁산을 안정화시키는데 충분한 양으로 알부민을 포함한다. 일부 실시양태에서, 알부민은 수성 매질 내의 탁산의 침강 속도를 감소시키는 양으로 존재한다. 입자-함유 조성물에 대해, 알부민의 양은 탁산의 나노입자의 크기 및 밀도에 또한 좌우된다.

[0161] 탁산이 장기간 동안, 예컨대 약 0.1시간, 0.2시간, 0.25시간, 0.5시간, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 60시간, 또는 72시간 중 어느 하나 이상 동안 (예컨대 가시적인 침전 또는 침강 없이) 수성 매질 내에 여전히 현탁되어 있으면 탁산이 수성 현탁액에서 "안정화"된 것이다. 현탁액은 반드시는 아니지만 일반적으로 개체 (예컨대 인간)에게 투여하는데 적절하다. 현탁액의 안정성은 일반적으로 (반드시는 아니지만) 보관 온도 (예컨대 실온 (예컨대 20-25°C) 또는 냉장 조건 (예컨대 4°C))에서 평가된다. 예를 들어, 현탁액을 제조하고 나서 약 15분 후에 100배의 광학 현미경 하에 보았을 때 또는 육안에 가시적인 침전(flocculation) 또는 입자 응집을 나타내지 않으면 현탁액이 보관 온도에서 안정적인 것이다. 가속화된 시험 조건, 예컨대 약 40°C를 초과하는 온도에서 안정성을 또한 평가할 수 있다.

[0162] 일부 실시양태에서, 알부민은 수성 현탁액 내의 탁산을 특정 농도에서 안정화시키는데 충분한 양으로 존재한다. 예를 들어, 조성물 내의 탁산의 농도는 약 0.1 내지 약 100 mg/ml이고, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 50 mg/ml, 약 0.1 내지 약 20 mg/ml, 약 1 내지 약 10 mg/ml, 약 2 mg/ml 내지 약 8 mg/ml, 약 4 내지 약 6 mg/ml, 약 5 mg/ml 중 어느 하나가 이에 포함된다. 일부 실시양태에서, 탁산의 농도는 약 1.3 mg/ml, 1.5 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 및 50 mg/ml 중 어느 하나 이상이다. 일부 실시양태에서, 조성물에 계면활성제 (예컨대 크레모포르)가 없거나 또는 실질적으로 없도록, 알부민이 계면활성제 (예컨대 크레모포르)의 사용을 피하는 양으로 존재한다.

[0163] 일부 실시양태에서, 조성물은, 액체 형태에서, 약 0.1% 내지 약 50% (w/v) (예를 들어 약 0.5% (w/v), 약 5% (w/v), 약 10% (w/v), 약 15% (w/v), 약 20% (w/v), 약 30% (w/v), 약 40% (w/v), 또는 약 50% (w/v))의 알부민을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은, 액체 형태에서, 약 0.5% 내지 약 5% (w/v)의

알부민을 포함한다.

[0164] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물 내의 알부민, 예를 들어, 알부민, 대 탁산의 중량비는 충분한 양의 탁산이 세포에 결합하거나 세포에 의해 수송되도록 하는 것이다. 상이한 알부민과 탁산 조합들에 대해 알부민 대 탁산의 중량비가 최적화되어야 할 것이지만, 일반적으로 알부민, 예를 들어, 알부민 대 탁산의 중량비 (w/w)는 약 0.01:1 내지 약 100:1, 약 0.02:1 내지 약 50:1, 약 0.05:1 내지 약 20:1, 약 0.1:1 내지 약 20:1, 약 1:1 내지 약 18:1, 약 2:1 내지 약 15:1, 약 3:1 내지 약 12:1, 약 4:1 내지 약 10:1, 약 5:1 내지 약 9:1, 또는 약 9:1이다. 일부 실시양태에서, 알부민 대 탁산 중량비는 약 18:1 이하, 15:1 이하, 14:1 이하, 13:1 이하, 12:1 이하, 11:1 이하, 10:1 이하, 9:1 이하, 8:1 이하, 7:1 이하, 6:1 이하, 5:1 이하, 4:1 이하, 및 3:1 이하 중 어느 하나이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민) 대 탁산의 중량비는 하기의 것들 중 어느 하나이다: 약 1:1 내지 약 18:1, 약 1:1 내지 약 15:1, 약 1:1 내지 약 12:1, 약 1:1 내지 약 10:1, 약 1:1 내지 약 9:1, 약 1:1 내지 약 8:1, 약 1:1 내지 약 7:1, 약 1:1 내지 약 6:1, 약 1:1 내지 약 5:1, 약 1:1 내지 약 4:1, 약 1:1 내지 약 3:1, 약 1:1 내지 약 2:1, 약 1:1 내지 약 1:1.

[0165] 일부 실시양태에서, 알부민은 조성물이 개체 (예컨대 인간)에게 어떠한 부작용도 없이 투여되도록 한다. 일부 실시양태에서, 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)은 인간에게 탁산을 투여하는 것의 하나 이상의 부작용을 감소시키는데 효과적인 양으로 존재한다. 용어 "탁산 투여의 하나 이상의 부작용을 감소시킴"은 탁산에 의해 야기되는 하나 이상의 바람직하지 않은 효과, 뿐만 아니라 탁산을 전달하는데 사용된 전달 비히클 (예컨대 탁산을 주사에 적절하게 하는 용매)에 의해 야기되는 부작용의 감소, 경감, 제거 또는 기피를 지칭한다. 이같은 부작용에는, 예를 들어, 골수억제, 신경독성, 과민증, 염증, 정맥 자극, 정맥염, 통증, 피부 자극, 말초 신경병증, 중성구감소증성 발열, 아나필락시스성 반응, 정맥성 혈전증, 혈관외유출, 및 이들의 조합이 포함된다. 그러나, 이러한 부작용들은 단지 예시적이고, 탁산과 연관된 기타 부작용, 또는 부작용들의 조합이 감소될 수 있다.

[0166] 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물은 아브락산® (Nab-파클리탁셀)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 조성물은 아브락산® (Nab-파클리탁셀)이다. 아브락산®은 인간 알부민 USP에 의해 안정화된 파클리탁셀의 제형이고, 이는 직접적으로 주사가 가능한 생리 용액에 분산될 수 있다. 적절한 수성 매질 예컨대 0.9% 염화나트륨 주사액 또는 5% 텍스트로스 주사액에 분산되는 경우, 아브락산®은 파클리탁셀의 안정적인 콜로이드성 현탁액을 형성한다. 콜로이드성 현탁액 내의 나노입자의 평균 입자 크기는 약 130 나노미터이다. HSA는 물에 자유롭게 가용성이기 때문에, 아브락산®은 묽음 (0.1 mg/ml 파클리탁셀) 내지 진함 (20 mg/ml 파클리탁셀) 범위의 광범위한 농도 (예를 들어 약 2 mg/ml 내지 약 8 mg/ml, 또는 약 5 mg/ml가 포함됨)로 재구성될 수 있다.

[0167] 나노입자 조성물의 제조 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 탁산 (예컨대 파클리탁셀) 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 함유하는 나노입자를 고전단력의 조건 (예를 들어, 초음파처리, 고압 균질화 등) 하에 제조할 수 있다. 이러한 방법들이, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,916,596; 6,506,405; 6,749,868, 6,537,579 및 7,820,788에, 그리고 또한 미국 특허 공개 번호 2007/0082838, 2006/0263434 및 PCT 출원 WO08/137148에 개시되어 있다.

[0168] 간략하게, 탁산 (예컨대 파클리탁셀)을 유기 용매에 용해시키고, 이러한 용액을 알부민 용액에 첨가할 수 있다. 혼합물을 고압 균질화에 적용한다. 그 후, 유기 용매를 증발에 의해 제거할 수 있다. 수득된 분산액을 추가로 동결건조시킬 수 있다. 적절한 유기 용매에는, 예를 들어, 케톤, 에스테르, 에테르, 염소화 용매, 및 당업계에 공지된 기타 용매가 포함된다. 예를 들어, 유기 용매는 염화메틸렌 또는 클로로포름/에탄올 (예를 들어, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 또는 9:1의 비율)일 수 있다.

[0169] **나노입자 조성물 내의 기타 성분**

[0170] 본원에 기술된 나노입자는 다른 작용제, 부형제 또는 안정화제를 포함하는 조성물 내에 존재할 수 있다. 예를 들어, 나노입자의 음성 제타 전위를 증가시킴으로써 안정성을 증가시키기 위해, 하나 이상의 음성으로 하전된 성분이 첨가될 수 있다. 이같은 음성으로 하전된 성분의 예로는 글리코콜산, 콜산, 케노데옥시콜산, 타우로콜산, 글리코케노데옥시콜산, 타우로케노데옥시콜산, 리토콜산, 우르소데옥시콜산, 데히드로콜산 등으로 이루어진 담즙산의 담즙염; 팔미토일올레오일포스파티딜콜린, 팔미토일리놀레오일포스파티딜콜린, 스테아로일리놀레오일포스파티딜콜린, 스테아로일올레오일포스파티딜콜린, 스테아로일아라키도일포스파티딜콜린, 및 디팔미토일포스파티딜콜린과 같은 포스파티딜콜린이 포함되는 레시틴 (난황) 기재 인지질이 포함되는 인지질이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 기타 인지질에는 L- α -디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 디올레오일포스파티딜콜린 (DOPC), 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 수소화 대두 포스파티딜콜린 (HSPC), 및 기타 관련 화합물이 포함된다. 음성으로 하전된 계면활성제 또는 유화제, 예를 들어, 나트륨 콜레스테릴 술페이트 등이 첨가제로서 또

한 적절하다.

[0171] 일부 실시양태에서, 조성물은 인간에게 투여하는데 적절하다. 일부 실시양태에서, 조성물은 수의학 상황, 애완동물 및 농업용 동물에서와 같이 포유동물에게 투여하는데 적절하다. 나노입자 조성물의 광범위한 적절한 제형이 존재한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,916,596, 6,096,331 및 7,820,788 참조). 하기의 제형 및 방법은 단지 예시적이고, 결코 제한적이지 않다. 경구 투여에 적절한 제형은 (a) 액체 용액, 예컨대 물, 염수 또는 오렌지 주스와 같은 희석제에 희석된 유효량의 화합물, (b) 고체 또는 과립으로서 미리 정해진 양의 활성 성분을 각각 함유하는 캡슐, 사체(sachet) 또는 정제, (c) 적합한 액체 내의 현탁액, 및 (d) 적절한 에멀전으로 이루어질 수 있다. 정제 형태는 락토스, 만니톨, 옥수수 전분, 감자 전분, 미세결정질 셀룰로스, 아카시아, 젤라틴, 콜로이드성 이산화규소, 크로스카르멜로스 나트륨, 활석, 스테아르산마그네슘, 스테아르산, 및 기타 부형제, 착색제, 희석제, 완충제, 보습제, 보존제, 향미제 및 약리학상 상용성인 부형제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 로젠지 형태는 향미제, 일반적으로는 수크로스 및 아카시아 또는 트래거캔스 내의 활성 성분을 포함할 수 있고, 뿐만 아니라 알약은 불활성 기재, 예컨대 젤라틴 및 글리세린, 또는 수크로스 및 아카시아 내의 활성 성분을 포함하며, 에멀전, 겔 등은 활성 성분 에 더하여 당업계에 공지된 부형제를 함유한다.

[0172] 적절한 담체, 부형제, 및 희석제의 예로는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 검, 인산칼슘, 알기네이트, 트래거캔스, 젤라틴, 규산칼륨, 미세결정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 염수 용액, 시럽, 메틸셀룰로스, 메틸- 및 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산마그네슘, 및 미네랄 오일이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 제형은 윤활제, 습윤화제, 유화 및 현탁화 작용제, 보존제, 감미제 또는 향미제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0173] 비경구 투여에 적절한 제형에는 수성 및 비-수성, 등장성 멸균 주사 용액 (항산화제, 완충제, 정균제, 및 제형을 의도되는 수용자의 혈액과 상용성이게 하는 용질을 함유할 수 있음), 및 수성 및 비-수성 멸균 현탁액 (현탁화제, 용해제, 증점제, 안정화제, 및 보존제를 포함할 수 있음)이 포함된다. 제형은 단위-용량 또는 다회-용량의 밀봉 용기, 예컨대 앰플 및 바이알 내에서 제시될 수 있고, 주사하기 위해 사용 직전에 멸균 액체 부형제, 예를 들어, 물을 첨가하는 것만을 필요로 하는 냉동-건조 (동결건조) 조건에서 보관될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액이 앞서 기술된 종류의 멸균 분말, 과립, 및 정제로부터 제조될 수 있다. 주사가능한 제형이 바람직하다.

[0174] 일부 실시양태에서, 조성물은 pH가 약 4.5 내지 약 9.0 범위 (예를 들어, 약 5.0 내지 약 8.0, 약 6.5 내지 약 7.5, 및 약 6.5 내지 약 7.0 중 어느 하나의 pH 범위가 포함됨)이도록 제형화된다. 일부 실시양태에서, 조성물의 pH가 약 6 이상 (예를 들어, 약 6.5, 7, 또는 8 중 어느 하나 (예컨대 약 8) 이상이 포함됨)이도록 제형화된다. 또한 조성물은 적절한 양성 조절제, 예컨대 글리세롤의 첨가에 의해 혈액과 등장성이도록 제조될 수 있다.

[0175] **키트, 의약, 및 조성물**

[0176] 본 발명은 본원에 기술된 방법들 중 어느 하나에서 사용하기 위한 키트, 의약, 조성물, 및 단위 투여량 형태를 또한 제공한다.

[0177] 본 발명의 키트는 탁산-함유 나노입자 조성물 (또는 단위 투여량 형태 및/또는 제조품) 및/또는 또 다른 작용제 (예컨대 본원에 기술된 작용제들)를 포함하는 하나 이상의 용기를 포함하고, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 방법들 중 어느 하나에 따라 사용하기 위한 설명서를 추가로 포함한다. 키트는 치료에 적절한 개체의 선택에 관한 설명을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 키트 내에 공급되는 설명서는 전형적으로 표지 또는 패키지 삽입물 (예를 들어, 키트 내에 포함된 종이 시트) 상의 서면화된 설명서이지만, 기계에서 판독가능한 설명서 (예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크 상에 보유된 설명서)가 또한 허용가능하다.

[0178] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 키트는 a) 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물, 및 b) HCC의 치료를 위해 나노입자 조성물을 투여하는 것에 대한 설명서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물, b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물, 및 b) HCC의 치료를 위해 나노입자 조성물을 투여하는 것에 대한 설명서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는 조성물, b) 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제의 유효량, 및 c) HCC의 치료를 위해 나노입자 조성물 및 기타의 작용제를 투여하는 것에 대한 설명서를 포함한다. 나노입자 및 기타의 작용제는 별도의 용기들 내에 또는 단일 용기 내에 존재할 수 있다. 예를

들어, 키트는 1개의 독특한 조성물, 또는 2개 이상의 조성물 (이때, 한 조성물은 나노입자를 포함하고, 한 조성물은 또 다른 작용제를 포함함)을 포함할 수 있다.

[0179] 본 발명의 키트는 적절한 포장물 내에 존재한다. 적절한 포장물에는 바이알, 병, 단지, 가요성 포장물 (예를 들어, 밀봉된 마일라(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 키트는 추가적인 성분 예컨대 완충제 및 설명 정보를 임의적으로 제공할 수 있다. 따라서 본 출원은 바이알 (예컨대 밀봉 바이알), 병, 단지, 가요성 포장물 등을 포함하는 제조품을 또한 제공한다.

[0180] 나노입자 조성물의 사용에 관한 설명서는 의도되는 치료를 위한 투여량, 투여 일정, 및 투여 경로에 관한 정보를 일반적으로 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크(bulk) 포장물 (예를 들어, 다회-용량 포장물), 또는 단위 용량 미만의 용량(sub-unit dose)일 수 있다. 예를 들어, 장기간, 예컨대 1주일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 2주일, 3주일, 4주일, 6주일, 8주일, 3개월, 4개월, 5개월, 7개월, 8개월, 9개월 또는 이를 초과하는 기간 중 어느 하나 동안 효과적인 개체 치료를 제공하도록 충분한 투여량의 본원에 개시된 바와 같은 탁산 (예컨대 탁산)을 함유하는 키트가 제공될 수 있다. 키트는 약국, 예를 들어, 병원 약국 및 조제 약국에서의 보관 및 사용에 충분한 양으로 포장된 다중 단위 용량의 탁산 및 제약 조성물 및 사용 설명서를 또한 포함할 수 있다.

[0181] 본원에 기술된 방법들에 유용한 의약, 조성물, 및 단위 투여량 형태가 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는, HCC를 치료하는 것에서 사용하기 위한 의약 (또는 조성물)이 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자를 포함하는, 미세소관 분해를 억제하는 기타의 작용제와 함께 HCC를 치료하는 것에서 사용하기 위한 의약 (또는 조성물 또는 단위 투여량 형태)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 탁산 및 알부민 (예컨대 인간 혈청 알부민)을 포함하는 나노입자 및 미세소관 분해를 억제하는 하나 이상의 기타의 작용제를 포함하는, HCC를 치료하는 것에서 사용하기 위한 의약 (또는 조성물 또는 단위 투여량 형태)가 제공된다.

[0182] 당업자는 여러 실시양태가 본 발명의 범주 및 취지 내에서 가능하다는 것을 인지할 것이다. 이제 하기의 비제한적인 실시예를 참조로 본 발명이 더욱 상세하게 기술될 것이다. 하기의 실시예는 본 발명을 추가로 설명하지만, 당연히, 어떠한 방식으로도 이의 범주를 한정하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0183] **실시예**

[0184] **실시예 1. 시험관내 및 생체내 간세포 암종 (HCC) 모델에서의 나노입자 (Nab-파클리탁셀)의 효능 평가**

[0185] 이러한 실시예는 시험관내 및 생체내 HCC 모델에서의 Nab-파클리탁셀의 활성을 실연한다.

[0186] **물질 및 방법**

[0187] **발현 프로파일링 및 정보과학 분석**

[0188] 43쌍의 HCC 종양 및 인접한 비-종양 간에 대한 유전자 발현 프로파일링을 문헌 [Wong N. et al., Clinical Cancer Research 11:1319-26 (2005)]에 기술된 방법에 따라 수행하였다. 연구된 사례들의 인구통계학적 정보가 표 1에서 제시된다. 3명의 개체로부터의 정상 간 RNA를 풀링(pooling)하고, 어레이 혼성화 (앰비온(Ambion), 텍사스주 오스틴; 클론텍 래버러토리 인크.(Clontech Laboratory Inc.), 캘리포니아주 팔로 알토; 및 스트라타진(Stratagene), 캘리포니아주 라 호야)에서 기준 대조군으로 사용하였다. 간략하게, 시험 샘플 및 정상 간 풀(pool)로부터의 역전사된 RNA를 형광 Cy5-dCTP 또는 Cy3-dCTP로 차별적으로 표지하였다. 표지된 cDNA를 19K cDNA 어레이 (온타리오 캔서 인스티튜트(Ontario Cancer Institute), 캐나다) 상으로 공동-혼성화시켰다. 스캔 어레이(ScanArray) 5000 (패카드 바이오사이언스(Packard BioScience), 영국)에 의해 포착된 혼성화된 신호를 진픽스 프로4.0(GenePix Pro4.0) (액손(Axon), 캘리포니아주)로 분석하였다. 이중 스폿(spot) 및 염료 교환(dye swap) 실험으로부터의 결과를 평균하고, 각각의 전사물에 대한 표준화된 강도비를 정보과학 분석에 적용하여, 악성 HCC 전환에서 수반되는 유력한 유전자를 결정하였다.

표 1

유전자 발현 프로파일링에 의해 연구된 43명의 HCC 환자의 인구통계학 정보

		HCC 환자 (n=43)
성별	남성	35 (81.4%)
	여성	8 (18.6%)
연령	중앙값 (4분위수)	58 (50-67)
	IIIsAg	
	양성	40 (93.0%)
	음성	3 (7.0%)
기저의 간 경변	존재	37 (86.0%)
	부재	6 (14.0%)
AJCC 병기	T1기	6 (14.0%)
	T2기	23 (53.5%)
	T3기	10 (23.3%)
	T4기	4 (9.3%)
제시시 병변 개수	1개	27 (62.8%)
	다발성	16 (37.2%)

[0189]

[0190]

조합된 모수 및 비-모수 분석을 수득된 마이크로어레이 프로파일에 대해 수행하였다. 각각의 유전자에 대한 통계학적 유의성 (P-값)을 마이크로어레이에 대한 유의 분석 (SAM: Significant Analysis for Microarray)을 사용하는 쌍별 순열 t-검정 및 쌍체 윌콕슨(Wilcoxon) 부호 순위 검정을 기초로 하여 계산하였다. 본페로니(Bonferonni) 또는 오발견율(False Discovery Rate) 분석을 사용하여 다중 가설 시험에 대한 수정을 또한 수행하였다. 유전자의 유의성을 확립하기 위해, SAM 및 윌콕슨 시험으로부터의 조합된 P-값을 평균하였고, 순위결정에 의해 우위에 대해 채점하였다. 상위 5% 백분위수 순위 (≥ 1.8 배 중앙값 상향- 또는 하향-조정에서)의 유전자를 선택하고, 추가로 인제뉴어티 경로 분석 (IPA; ingenuity.com의 월드 와이드 웹)에 의한 기능성 온톨로지 분석에 적용하였다.

[0191]

세포 배양 및 탁산 약물

[0192]

ATCC로부터 취득한 인간 간암 세포주 Hep3B 및 SK-HEP1을 10% 소 태아 혈청이 보충된 돌베코 변형 이글 배지 + 글루타맥스(Glutamax)-1 (깁코-BRL(Gibco-BRL), 미국 뉴욕주 그랜드 아일랜드)에서 배양하였다. HKC1-9 (문헌 [Chan K.Y.Y. et al., Modern Pathology 19:1546-54 (2006)]에 기술된 바와 같음)를 1% L-글루타민 및 10% 소 태아 혈청이 보충된 AIMV 배지 (깁코-BRL)에서 배양하였다. 모든 세포를 37°C에서 5% CO₂의 습윤화 대기 하에 배양하였다.

[0193]

독소루비신을 EBEWE 파마 게스(EBEWE Pharma Ges) (오스트리아 운터라흐)로부터 수득하고, 4°C에서 2 mg/ml의 농도로 보관하였다. 파클리탁셀 (탁솔®)을 브리스틀-마이어스 스쿼브(Bristol-Myers Squibb) (미국 뉴저지주 프린스턴)으로부터 수득하고, -20°C에서 527 mg의 정제된 크레모포르 EL 및 49.7% 탈수 알콜 내의 6 mg/ml의 농도로 보관하였다. 도세탁셀 (탁소테레®)을 아벤티스 파마 소시에떼아노님(Aventis Pharma SA) (프랑스 파리)로부터 수득하고, 4°C에서 13% w/w 에탄올 내의 10 mg/ml의 농도로 보관하였다. 나노입자 알부민-결합(nab)-파클리탁셀 (Nab-파클리탁셀)이 이러한 실험에서 사용되었다. 공급된 Nab-파클리탁셀의 각각의 바이알은 900 mg의 알부민 내에 안정화된 100 mg의 파클리탁셀을 함유한다. 재구성 시, 20 ml의 PBS를 첨가하여 5 mg/ml Nab-파클리탁셀의 모액(stock) 농도를 제공하였고, 사용할 때까지 -20°C에서 보관하였다.

[0194]

세포 생존력 검정

[0195]

MTT 검정에 의해 세포 생존력을 측정하였다. 96-웰 플레이트에서 3000개의 세포/웰의 밀도로 성장된 세포를 지시된 바와 같이 약물 또는 siRNA 형질감염으로 처리하였다. 파클리탁셀, 도세탁셀 및 Nab-파클리탁셀은 48h 동안 0 내지 40 µg/ml 범위의 여러 농도에서 시험한 한편, 독소루비신은 48h 동안 0 내지 150 µg/ml 범위의 농도에서 시험하였다. 형성된 포르마잔을 570 nm에서 측정하였고, 세포 생존력은 3회의 독립적인 실험에서의 5개의 사본으로부터의 최대 흡광도의 백분율로서 표현되었다. 세포 생존 곡선으로부터 세포 생존을 50%만큼 억제한

약물 농도 (IC50)을 결정하였다.

[0196] **면역형광 분석**

[0197] 무균성 18×18 mm 유리 커버 슬립 상에 플레이팅된 세포를 24시간 동안 부착되게 한 후, 또 다른 24h 동안 5 ng/ml *Nab*-파클리탁셀 또는 배지로 처리하였다. 그 후, 4% 파라포름알데히드 내에 고정된 세포를 1:100 희석의 항-β-튜불린 (자이메드(Zymed), 인비트로젠(Invitrogen))과 함께 인큐베이션하였다. 2차 항체인 알렉사(Alexa)-598-커플링 항-마우스 이뮤노글로불린 (몰레큘러 프로브즈(Molecular Probes), 미국 오리건주 유진)을 1:200 희석으로 적용하였다. DAPI (몰레큘러 프로브즈)에서 대비염색된 세포 핵을 형광 현미경 (니콘(Nikon) EFD-3, 일본) 하에 검사하였다. 포착후 영상 분석 및 영상 스택(stack)의 프로세싱은 어널리시스(analySIS) 소프트웨어를 사용하여 수행하였다.

[0198] **세포 주기의 유동 세포측정법 분석**

[0199] 세포 주기 분포를 여러 농도의 *Nab*-파클리탁셀에 대한 노출 후에 측정하였다. 12h 후, 모든 세포 (탈착된 세포 포함)를 수확하고, 4℃의 70% 에탄올 내에서 밤새 고정하였다. 유동 세포측정법 분석 (BD 팩스칼리버 (FACSCalibur)TM, 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson)) 전에, 고정된 세포를 RNase A 및 아이오딘화 프로피디움과 함께 인큐베이션하였다. 2회의 독립적인 실험으로부터 G₀-G₁, S 및 G₂-M 기의 평균값을 계산하였다.

[0200] **TUNEL 검정**

[0201] TUNEL 검정을 원위치 세포 사멸 검출 키트(In-Situ Cell Death Detection Kit) (로슈 어플라이드 사이언스 (Roche Applied Science), 독일 만하임)의 절차에 따라 수행하였다. 간략하게, 여러 농도의 *Nab*-파클리탁셀로 처리된 세포를 고정하고, TUNEL 반응 혼합물과 함께 1h 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. DAPI에서 대비염색된 세포 핵을 형광 현미경 (니콘 EFD-3, 일본) 하에 검사하였다. 아포토시스성 세포의 백분율을 합계 약 200개의 세포인 4개 이상의 무작위로 선택된 구역 상에서 계산하였다.

[0202] **siRNA 형질감염**

[0203] siRNA 서열에는 STMN1 si게놈스마트 풀 (si-STMN1) 및 si대조군 비-표적화 siRNA (si-모조)가 포함되었다. 모든 siRNA는 이중 가닥 RNA로 화학적으로 합성되었고 (다마콘(Dharmacon)), 제조사의 설명서에 따라 리포펙타민(Lipofectamine) 2000 (인비트로젠, 미국 캘리포니아주 칼스배드)에 의해 세포주 내로 도입되었다. 간략하게, 세포를 100 nM siRNA (si-STMN1 또는 si-모조)와 함께 인큐베이션하였다. 형질감염 6시간 후, 배지를 신선한 성장 배지로 교체하였다. STMN1의 발현을 웨스턴 블롯에 의해 모니터링하였고, 이는 억제된 발현을 3일 이상 동안 가리켰다. 0 내지 40 μg/ml 농도 범위의 파클리탁셀 및 *Nab*-파클리탁셀을 siRNA 형질감염 후 제 6시에 적용하였다. 세포 생존력에 대한 MTT 검정을 48h에 수행하였고, IC50 값을 계산하였다.

[0204] **면역블롯팅**

[0205] 48h 동안 *Nab*-파클리탁셀로 처리된 세포 및 미처리 대조군 세포로부터의 단백질 용해물을 브래드포드 단백질 검정(Bradford Protein Assay) (바이오-래드 래버러토리즈(Bio-Rad Laboratories), 미국 캘리포니아주 에르콜레스)을 사용하여 정량하였다. 동일한 양의 단백질 용해물 (30-60 μg)을 SDS-PAGE에 의해 분리하고, 니트로셀룰로스 막 (바이오-래드 래버러토리즈)으로 전기가동시켰다. 사용된 1차 항체에는 항-STMN1 (1:1000 희석), 항-PARP (1:1000 희석) (산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology), 독일 하이델베르그), 항-GAPDH (1:10,000 희석) (밀리포어 코포레이션(Millipore Corporation), 미국 매사추세츠주 베드포드)가 포함되었다. 과산화효소가 접합된 2차 항체 (항-GAPDH에 대해서는 1:10,000 희석; 기타 1차 항체에 대해서는 1:2000 희석) (산타 크루즈)와의 인큐베이션 후, 단백질 발현을 슈퍼시그널 웨스트 피코 화학발광 기질(SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate) (써모 사이언티픽(Thermo Scientific), 미국 일리노이주 록퍼드)을 사용하여 검출하였다.

[0206] **SK-HEP1/Luc^t 이종이식 모델**

[0207] SK-HEP1 세포를 반딧불이 루시페라제(luciferase) 발현 벡터로 형질감염시킴으로써 안정적인 SK-HEP1 루시페라제 클론을 제조하고, 500 μg/ml 제네티신(Geneticin) (김코-BRL)으로 4주 동안 선택하였다. 개별적인 콜로니들을 제노젠(Xenogen) (미국 캘리포니아주 알라메다)의 IVIS® 영상화기를 사용하여 생물발광 활성화에 대해 스크리닝하였다. 안정적인 발광 발현이 있는 클론을 생체내 연구용으로 사용하였다.

[0208] 평균 체중이 약 20 g인 6-8주령의 수컷 BALB/c 누드(nude) 마우스를 케타민 히드로클로라이드 (120 mg/kg) (포

트 도지 애니멀 헬스(Fort Dodge Animal Health), 미국 아이오와주 포트 도지) + 크실라진 (6 mg/kg) (포에닉스 사이언티픽, 인크.(Phoenix Scientific, Inc.), 미국 미주리주 세인트 요제프)의 복막내 주사에 의해 마취하였다. 그 후, 마취된 동물에게 200 μ l 무혈청 배지 내에 현탁된 5×10^6 개의 SK-HEP1/Luc+ 세포를 등쪽 옆구리 아래에서의 피하 주사에 의해 제공하였다. 종양 세포 접종 후 제14일에 약물 치료를 시작하였다. 마우스를 5 개의 군으로 나눴다: PBS (n=13), Nab-파클리탁셀 (n=14), 파클리탁셀 (n=9), 도세탁셀 (n=9) 및 독소루비신 (n=10). 모든 약물은 5회에 대해 2일 마다 35 mM/kg의 용량으로 제공되었다. 문헌 [Desai N. et al., Clinical Cancer Research, 12:1317-24 (2006)] 참조. 24일 동안 생체내 생물발광 영상화 및 식 [(길이 \times 폭²)/2]를 사용하는 외부 캘리퍼 치수에 의해 종양 성장을 매주 2번 모니터링하였다. 생체내 생물발광 영상화를 위해, 150 mg/kg D-루시페린을 복막내 주사에 의해 제공하고, 루시페린 주사 10분 후에, 마우스를 이소플루란에 의해 마취하고, 종양 세포 생존력을 제노젠의 IVIS® 영상화기에 의해 측정하였다.

[0209] **통계적 분석**

[0210] 데이터는 평균 \pm SD로 제시되었다. 스튜던트(Student) t-검정, 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 생존 곡선 및 일원 ANOVA 분석을 그래프패드 프리즘(Graphpad Prism) 3.0 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. $P < 0.05$ 에서 차이가 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다.

[0211] **결과**

[0212] **HCC 발달에서 수반되는 기능적 온톨로지**

[0213] 마이크로어레이 데이터셋으로부터의 유전자를 통계 방법에 따라 유의한 차별적 발현의 증거에 의해 우선 순위를 매기고 선택하였다. 약 1,000개의 유의한 공지된 유전자 (상위 5% 백분위수 변화)의 IPA 분석은 약간의 유의한 유전자 온톨로지를 시사하였고, 이는 세포 조립 및 조직화, 세포 기능 및 유지, 세포 사멸, 세포 주기, 세포 조성, 약물 및 지질 대사, 및 소분자 생화학을 포함하였다 (도 1). 특히, 세포 조립 및 조직화 카테고리가 가장 유의한 사건 순위였고, 이때 미세소관 연관 유전자 예컨대 STMN1 및 TUBB4의 과다-표시(over-representation)가 발견되었다 (도 1).

[0214] **HCC 세포에 대한 탁산의 세포독성 효과**

[0215] 상승된 STMN1 발현을 나타낸 HCC 세포주에 대한 파클리탁셀, 도세탁셀, 및 Nab-파클리탁셀의 효과를 평가하였다 (도 2B). HCC가 포함되는 다수의 암에 광범위하게 사용되는 화학요법제인 독소루비신과 비교하여 Hep3B, SK-HEP1 및 HKC1-9에서 탁산을 기초로 하는 약물들에 대한 높은 민감도가 일반적으로 발견되었다 (도 2A). 현저하게, Nab-파클리탁셀이 시험된 3가지 세포주 모두에서 가장 낮은 유효 투여량이 발견되면서 가장 높은 효능을 나타냈다. Nab-파클리탁셀에 대해 수득된 IC50은 0.29 ± 0.02 nM 내지 10.42 ± 1.37 nM 범위였고, 이는 독소루비신 (IC50 값이 105.95 ± 10.58 nM 내지 455.93 ± 35.72 nM 범위였음)보다 약 44배 내지 1082배 더 적었다 (도 2C).

[0216] **Nab-파클리탁셀 처리가 세포 주기 차단 및 아포토시스를 유도하였다**

[0217] 더 높은 정도의 미세소관 중합이 Nab-파클리탁셀로 처리된 세포에서 발견되었다 (도 3A 및 3B). 추가로, Hep3B 및 SK-HEP1 둘 모두에서, 유동 세포측정법 분석은 적용되는 Nab-파클리탁셀의 농도가 증가됨에 따라 G2/M 집단에서의 증가가 발견되었음을 가리켰고, 이는 용량-의존적 세포 주기 정지를 시사한다 ($P < 0.05$; 도 4B). 유동 세포측정법 프로파일 또한 서브(sub)-G1 분획이 Nab-파클리탁셀로의 처리 후 나타나는 것을 나타냈다 (도 4A). TUNEL 분석에 의해 SK-HEP1 및 Hep3B에서 아포토시스성 세포의 존재가 추가로 입증되었고, 상기 분석은 TUNEL 양성 세포의 개수가 사용된 Nab-파클리탁셀의 양에 상응하였음을 가리켰다 ($P < 0.001$; 도 4C 및 도 4D). 89 kDa의 절단 생성물의 존재를 모니터링함으로써 핵 단백질 PARP의 절단을 결정하였다. PARP 절단이 처리 12시간 후에 명백해졌고, 48h까지 점진적으로 증가하였다 (도 4E).

[0218] **생체내 이종이식 성장에 대한 Nab-파클리탁셀의 효과**

[0219] SK-HEP1/Luc+ 세포를 BALB/c 누드 마우스 내로 피하 주사하고, 생체 내에서의 다양한 조성물의 항-종양 효과를 검사하였다. 발달된 이종이식편을 종양 크기에 대해 치료 첫날 및 그 후 매주 2회 IVIS 영상화 및 캘리퍼 치수에 의해 측정하였다. 도 5A는 시간에 따른 각각의 치료 군에서의 종양 크기의 변화 백분율을 나타낸다. 대조군 PBS 군은 연구 기간에 걸쳐 종양 크기에서의 점진적인 증가를 나타냈다. 각각의 처리 군이 종양 크기에서의 감소를 나타낸 한편, 독소루비신, 파클리탁셀 및 도세탁셀으로부터의 독성이 특히 중증이었고, 이는 3회의 주사 이내에 더 많은 체중 감소 및 다수의 마우스의 사망을 초래하였다 (도 5B 및 도 5C). Nab-파클리탁셀 주사로

체중 감소가 또한 관찰되었지만, 이는 가장 덜 중증이었고, 마우스들이 제9일의 최종 주사 후 일반적으로 체중을 회복할 수 있었다. *Nab*-과클리탁셀의 항-종양 효과가 대조군과 비교하여 종양 크기에 대한 상당한 억제와 함께 고도로 유의하였다 ($P=0.0007$). 또한, 60%를 초과하는 마우스들이 실험 종료까지 생존하였다 (도 5B).

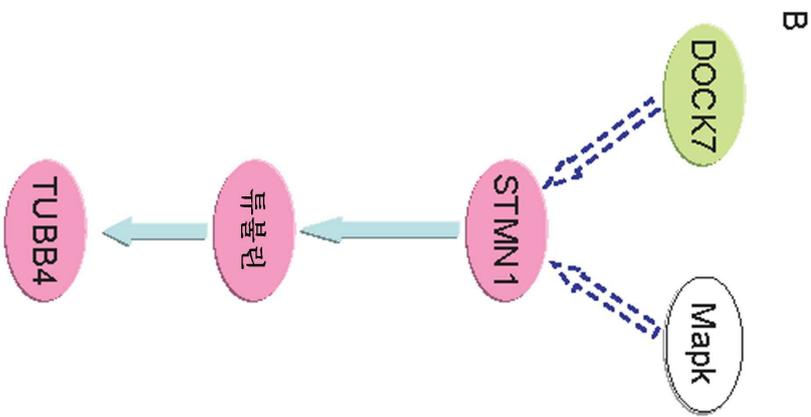
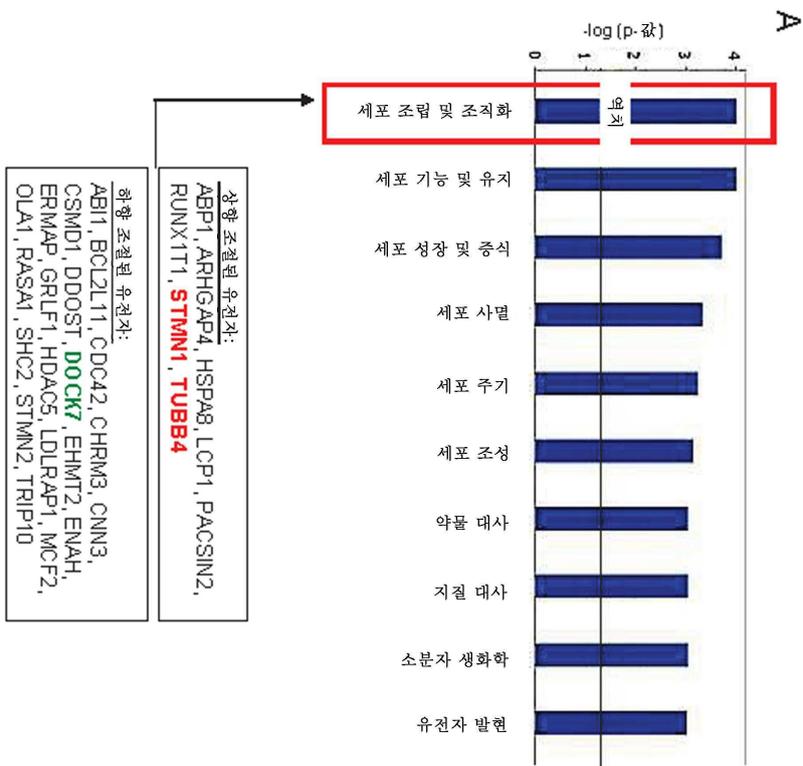
[0220] *STMN1* 녹다운이 탁산 약물에 대한 민감도를 증가시킨다

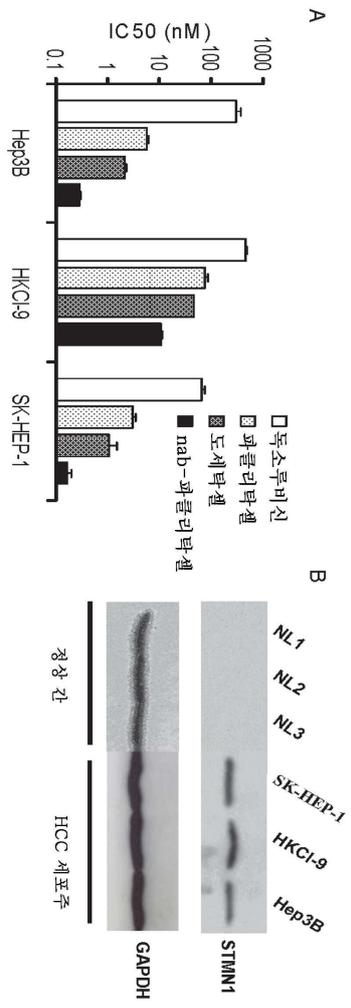
[0221] 본 발명자들은 *STMN1* 녹다운과 *Nab*-과클리탁셀 사이의 상승작용을 관찰하였다. 도 6A는 제1일 및 제3일의 siRNA 녹다운 후의 Hep3B에서의 *STMN1* 단백질 수준을 나타낸다. Hep3B에서의 특이적 *STMN1* 녹다운이 형질감염 후 제3일에 모조와 비교하여 세포 생존력에서의 약 40% 감소를 나타냈다 (도 6B). 탁산과의 조합 연구에서, si-*STMN1*로 형질감염된 Hep3B는 *Nab*-과클리탁셀에 대해 7.7배 더 민감하였고 (IC₅₀, 0.04±0.004 nM 대 0.31±0.04 nM), 과클리탁셀에 대해 2.7배 더 민감하였다 (IC₅₀, 1.95±0.28 nM 대 5.17±0.06 nM) (도 6C). 대조적으로, *STMN1*의 녹다운은 미세소관을 표적으로 하지 않는 약물인 독소루비신의 민감도에 대한 효과가 없었다.

[0222] 상기의 발명이 이해를 명확하게 하기 위한 목적으로 예시 및 실시예의 방식으로 일부 상세하게 기술되었지만, 특정한 미미한 변화 및 변형이 실행될 것임이 당업자에게 명백하다. 따라서, 상세한 설명 및 실시예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

도면

도면1



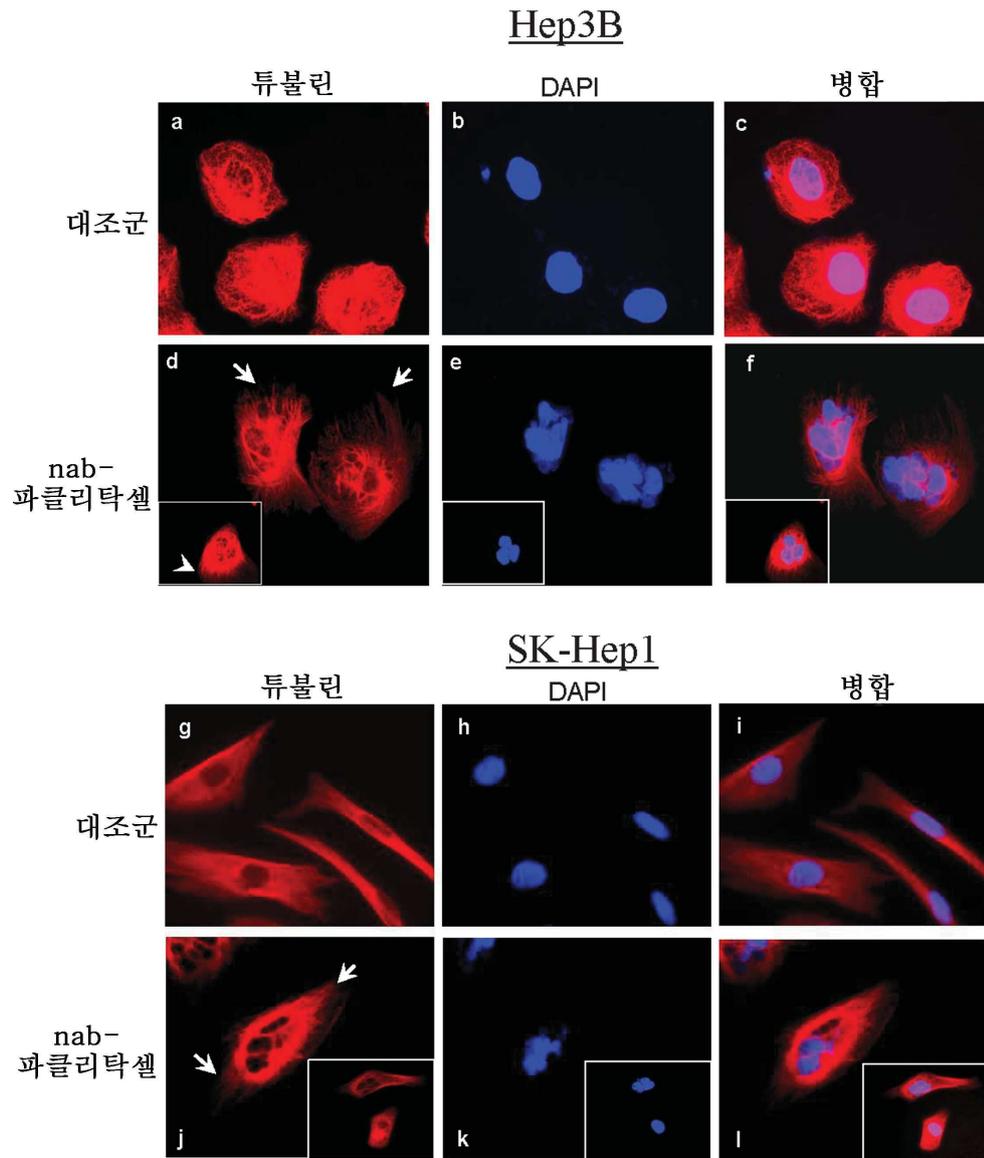


C

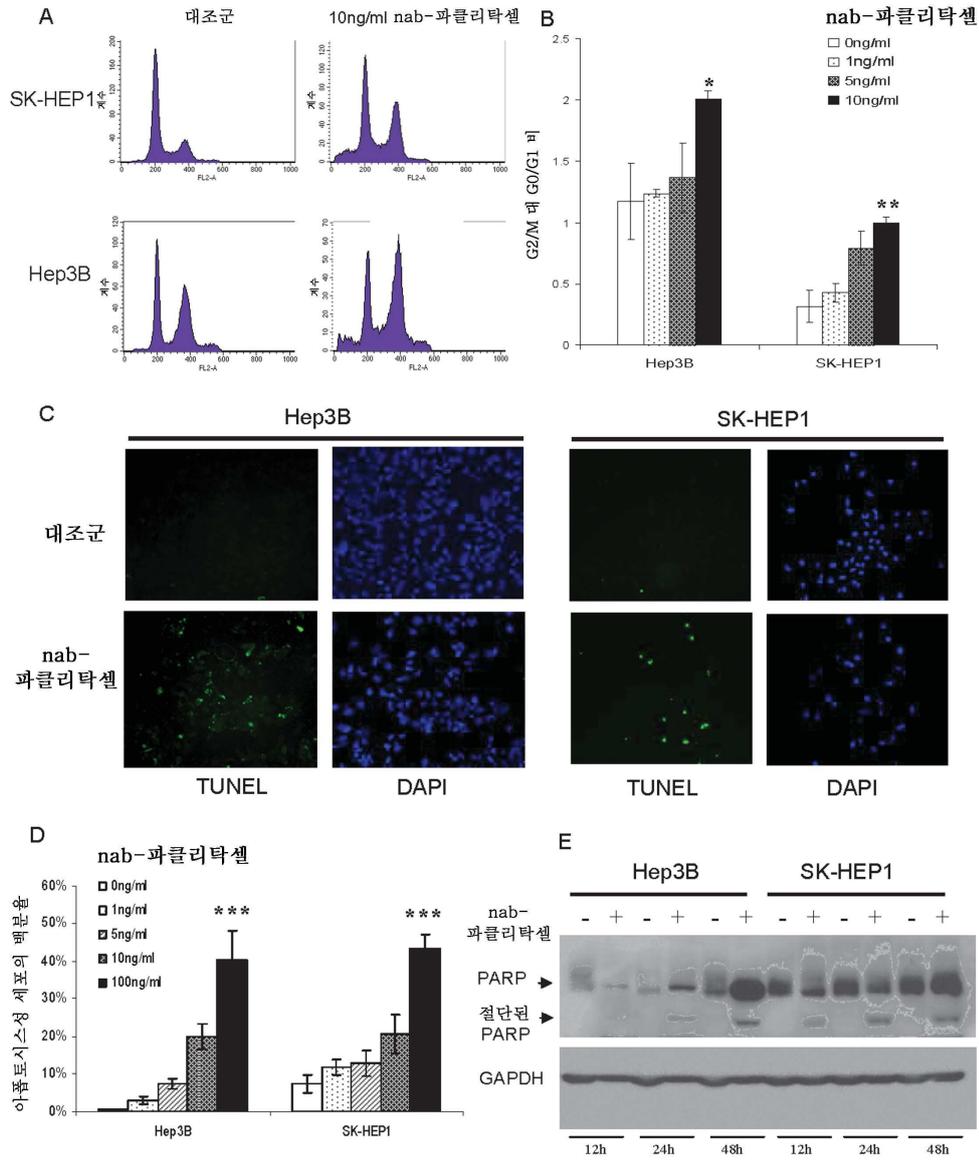
약물 (IC50, nM)	Hep3B	HKCl-9	SK-HEP-1
독소루비신	314.03 ± 74.46	455.93 ± 35.72	67.25 ± 2.40
파클리탁셀	5.80 ± 0.33	74.22 ± 10.05	3.16 ± 0.45
도세탁셀	2.10 ± 0.20	45.00 ± 1.54	1.11 ± 0.14
nab-파클리탁셀	0.29 ± 0.02	10.42 ± 1.37	0.16 ± 0.05
배수 변화 (독소루비신 배 nab-파클리탁셀)	1082	44	420

도면2

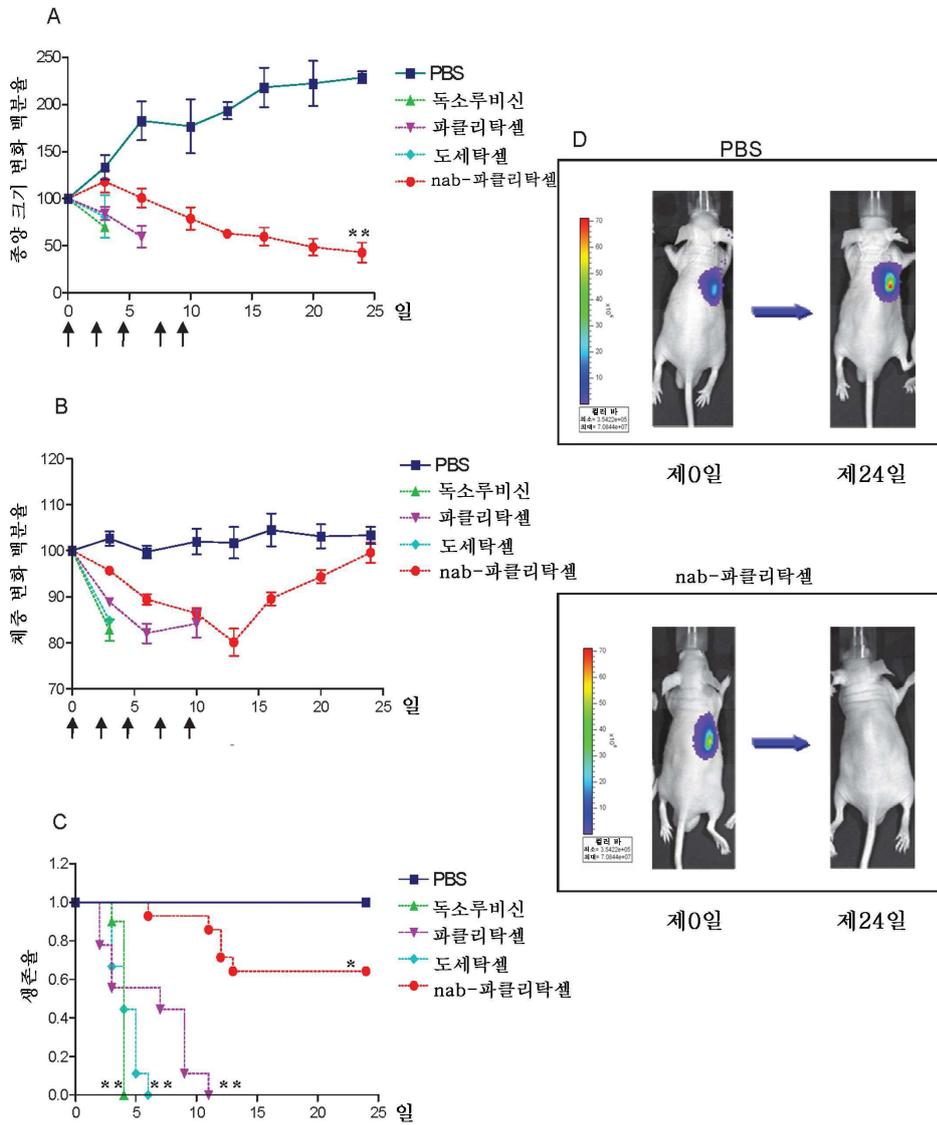
도면3



도면4



도면5



도면6

