



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0077155
(43) 공개일자 2016년07월01일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 31/573 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 39/3955 (2013.01)
A61K 31/573 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7013974</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2014년10월31일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년05월26일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2014/063380</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2015/066450
국제공개일자 2015년05월07일</p> <p>(30) 우선권주장
61/898,309 2013년10월31일 미국(US)
14306220.6 2014년07월31일
유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인
사노피
프랑스 75008 파리 튀 라 보에티에 54</p> <p>(72) 발명자
드슬랑데, 앙투안
미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에
이-505에이 코퍼레이트 드라이브 55 사노피 내
그제고제프스키, 크쥐시토프, 제이.
미국 07869 뉴저지주 랜돌프 에버데일 로드 35
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
양영준, 심미성</p> |
|---|--|

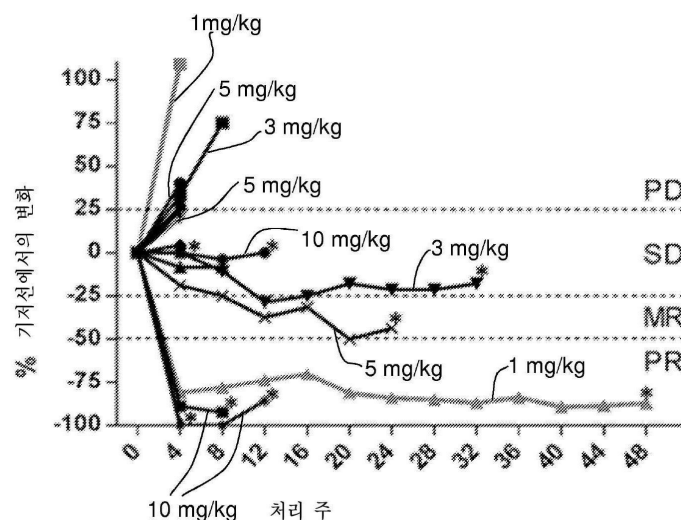
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 인간 암을 치료하기 위한 특이적 항-CD38 항체

(57) 요약

본원은 아포토시스, 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC), 및 보체-의존성 세포독성의 유도에 의해 CD38+ 세포를 사멸시킬 수 있는 CD38에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것이다. 기술된 항체는 약제로서 또는 약제의 제조시에 사용될 수 있으며, 여기서 항체는 약 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에 투여될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 약제는 인간에서 CD38+ 다발성 골수종을 치료하기 위한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07K 16/2896 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/734 (2013.01)
C07K 2317/75 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

오주, 마리-로르

미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에
이-505에이 코퍼레이트 드라이브 55 사노피 내

툼킨슨, 블레이크

미국 02493 매사추세츠주 웨스턴 선셋 로드 101

명세서

청구범위

청구항 1

CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 인간 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종을 갖는 인간 개체를 치료하는 방법으로서, 상기 항체는 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에게 투여되는, 방법.

청구항 2

재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종의 치료시 약제로서 사용하기 위한 CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 약학적 조성물로서, 상기 항체는 약 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에게 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체는 아포토시스, 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC), 및 보체-의존성 세포독성(CDC)의 유도에 의해 인간 개체에서 CD38⁺ 세포를 사멸시킬 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 개체는 하기로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 질환을 갖는, 방법 또는 약학적 조성물:

- a) 약 0.5 g/dL 초과와 측정 가능한 혈청 M-단백질 수준,
 - b) 약 200 mg 초과와 소변 M-단백질 수준(24-시간 소변),
 - c) 비정상 FLC 비율과 함께 약 10 mg/dL 초과와 혈청 유리 경쇄(FLC)의 증가된 수준,
- 및 이들의 조합.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 13, 37, 및 15로 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적인 상보성-결정 영역(CDRs)을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 16, 17, 및 18로 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적인 상보성-결정 영역(CDRs)을 포함하는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 SEQ ID NO: 50으로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 적어도 하나의 중쇄 및 SEQ ID NO: 52로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함하는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량은 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg인, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량은 약 5 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 20 mg/kg인, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량의 상기 항체는 정맥내 투여되는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량의 상기 항체는 주 1 회 또는 2 주마다 1 회 투여되는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량은 2 주마다 1 회 투여되는 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg인, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량은 주 1 회 투여되는 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg인, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 안전한 치료학적 용량의 상기 항체는 약 0.042 mg/hr 내지 약 250 mg/hr 범위의 초기 주입 속도로 투여되는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 텍사메타손과 병용하여 투여되는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 약 20 mg/kg 이하의 용량으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 항체에 대한 자가항체를 생성하지 않는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 2 주마다 약 1 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 탐지 가능한 CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 2 주마다 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 적어도 약 84.1% CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 2 주마다 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 적어도 약 97.7% CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 2 주마다 약 5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 매주 약 5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 21

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 2 주마다 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 매주 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 방법 또는 약학적 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 약학적 조성물을 포함하는 단위 투여형.

청구항 24

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 약학적 조성물 및 컨테이너를 포함하는 제조 물품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2013년 10월 31일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/898,309 및 2014년 7월 31일자로 출원된 유럽 특허 출원 번호 EP14306220.6에 대한 우선권을 주장하며, 이들 둘 모두는 모든 목적을 위해 전체가 본 출원에 참조로 통합되었다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 본원에 기재된 서열을 정확하게 재현하는 컴퓨터로 판독 가능한 형태의 서열 목록을 수반한다.

[0005] 기술분야

[0006] 본원은 항체를 사용하여 질병을 치료하는 것에 관한 것이다. 더 구체적으로는, 다발성 골수종과 같은 암을 치료하기 위한 약제로서 또는 약제의 제조시에 항-CD38 항체의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] CD38은 긴 C-말단 세포외 도메인 및 짧은 N-말단 세포질 도메인을 갖는 45 kD의 II형 막형단 당단백질이다. CD38 단백질은 환형 ADP-리보스(cADPR)로의 NAD⁺의 전환을 촉매할 수 있고 또한 cADPR을 ADP-리보스로 가수분해할 수 있는 이작용성 체외효소(bifunctional ectoenzyme)이다.

[0008] CD38은 많은 혈액학적 악성종양 및 다양한 혈액학적 악성종양 유래의 세포주에서 상향 조절된다. 게다가, 혈액학적 시스템의 원시 다능성 줄기 세포 대부분은 CD38⁺이다. 혈액학적 악성종양에서의 CD38 발현 및 만성 림프성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia; CLL)에서의 병 진행에 대한 이의 상관관계가 CD38을 항체 치료를 위한 매력적인 표적으로 만든다.

[0009] CD38을 특이적으로 인식하는 항-CD38 항체는 이전에 예를 들어, 국제 특허 출원 W02006/099875에 기재되었다. 그러나 이들 항체는 단일 제제로서 사용되어 CD38⁺ 발현 세포와 함께 인큐베이션 되었을 때 아포토시스를 유도하는데 실패했다.

[0010] 38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31 및 38SB39와 같은 특이적 모노클로날 항-CD38 항체는 국제 특허 출원 제 W02008/047242호에 이전에 기재되었다. W02008/047242는 이들 특이적 항-CD38 항체의 세 가지 세포독성 활성인 아포토시스, ADCC 및 CDC를 기재한다.

[0011] 게다가, 사이타라빈, 빈크리스틴, 사이클로포스포마이드 및 멜파란과 같은 세포독성 제제와 병용된 이들 특이적 항-CD38⁺ 항체의 용도는 국제 특허 출원 W02010/061357, W02010/061358, W02010/061359 및 W02010/061360에서 보고되었다. 그러나 단일 제제로서 항-CD38 항체의 용도는 보고된 바 없다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0012] **발명의 요약**
- [0013] 일 구현예에서, 본원은 약제로서의 사용을 위한 CD38에 특이적으로 결합하는 항체에 관한 것으로, 여기서 항체는 약 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에 투여된다.
- [0014] 다른 구현예에서, 기술된 항체의 안전한 치료학적 용량은 약 5 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 20 mg/kg이다.
- [0015] 다른 구현예에서, 본원은 또한 CD38에 특이적으로 결합하는 항체 또는 CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것으로, 여기서 항체 또는 약학적 조성물은 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종의 치료시 약제로서 사용될 수 있으며, 여기서 항체는 약 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에 투여된다.
- [0016] 다른 구현예에서, 본원은 또한 화학요법에 대한 환자의 부담을 감소시키는 단일 제제로서의 항-CD38 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0017] 다른 구현예에서, 본원은 추가로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체의 인간 개체에 대한 안전한 치료학적 용량에 관한 것으로, 여기서 상기 안전한 치료학적 용량은 20 mg/kg 이하, 또는 약 20 mg/kg 이하이다.
- [0018] 다른 구현예에서, 본원은 또한 치료를 필요로 하는 인간 개체의 CD38⁺ 혈액학적 악성종양의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 20 mg/kg 이하, 또는 약 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 유효량으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 상기 인간 개체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0019] 다른 구현예에서, 본원은 또한 치료를 필요로 하는 인간 개체의 CD38⁺ 다발성 골수종의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 CD38에 특이적으로 결합하는 항체의 유효량을 상기 인간 개체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0020] 다른 구현예에서, 본원은 또한 약제의 제조를 위한 CD38에 특이적으로 결합하는 상기 항체의 용도에 관한 것으로, 여기서 상기 항체 20 mg/kg 이하, 또는 약 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에 투여된다.
- [0021] 일 구현예에서, 약제는 CD38⁺ 혈액학적 악성종양, 상세하게는 다발성 골수종, 아주 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 CD38⁺ 다발성 골수종의 치료를 위한 것이다.
- [0022] 다른 구현예에서, 본원은 추가로 CD38⁺ 다발성 골수종, 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 CD38⁺ 다발성 골수종의 치료용 약제의 제조를 위한 CD38에 특이적으로 결합하는 상기 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0023] 일 구현예에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편은 약제로서의 용도에 대해서 기재되며, 여기서 항체 또는 에피토프 결합 단편이 약 20 mg/kg 이하의 용량으로 인간 개체에게 투여됐을 때 항체 또는 에피토프 결합 단편은 인간 개체에서 상기 항체 또는 에피토프 결합 단편에 대한 자가항체의 생성을 유발하지 않는다.
- [0024] 다른 구현예에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편은 약제로서의 용도에 대해서 기재되며, 여기서 항체 또는 에피토프 결합 단편은 2 주마다 약 1 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여했을 때 인간 개체에서 탐지 가능한 CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있다.
- [0025] 다른 구현예에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편은 약제로서의 용도에 대해서 기재되며, 여기서 항체 또는 에피토프 결합 단편은 2 주마다 약 10 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여했을 때 인간 개체에서 적어도 약 84.1% CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있다.
- [0026] 다른 구현예에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편은 약제로서의 용도에 대해서 기재되며, 항체 또는 에피토프 결합 단편은 2 주마다 약 10 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여했을 때 인간 개체에서 적어도 약 97.7% CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있다.

- [0027] 다른 구현예에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편은 약제로서의 용도에 대해서 기재되며, 항체 또는 에피토프 결합 단편은 2 주마다 또는 매주 약 5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여했을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있다.
- [0028] 다른 구현예에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편은 약제로서의 용도에 대해서 기재되며, 항체 또는 에피토프 결합 단편은 2 주마다 또는 매주 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여했을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있다.
- [0029] 다른 구현예에서, 임의의 기술된 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물이 또한 기재된다.
- [0030] 다른 구현예에서, 본원은 본원에 기재된 약학적 조성물을 포함하는 단위 투여형을 제공한다.
- [0031] 다른 구현예에서, 본원은 또한 본원에 기재된 약학적 조성물 및 컨테이너를 포함하는 제조 물품을 제공한다.
- [0032] 다른 구현예에서, 기술된 방법은 CD38이 비정상적으로 상향 조절된 질병 또는 장애를 갖는 인간 개체를 치료하는데 적합할 수 있다. 이러한 방법은 다른 단계들 중에서, CD38에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 이의 에피토프 결합 단편을 인간 개체에 투여하는 단계를 포함할 수 있으며, 여기서 항체는 2 주마다 또는 매주 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 인간 개체에 투여했을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있다. 일 양태에서, 이러한 질병 또는 장애는 CD38⁺ 혈액학적 악성종양이다. 다른 양태에서, 이러한 질병 또는 장애는 CD38⁺ 다발성 골수종이다.

도면의 간단한 설명

- [0033] 도 1: 상이한 용량들(1, 3, 5 및 10 mg/kg)의 특이적 항-CD38 항체 hu38SB19로 치료된 다발성 골수종(N=17)을 갖는 환자에서 시간에 따른 반응을 보이는 그래프이다. (일부 환자는 진행성 질병 때문에 단기 치료 후 제외되었다. 그러나 몇몇 환자는 치료 동안 안정화되었으며 1 mg/kg 및 10 mg/kg의 용량 수준에서 다른 환자는 부분 반응을 보인다. PR= 부분 반응(partial response), MR= 최소 반응(minimal response), SD= 안정적 질병(stable disease) 또는 PD=진행성 질병(progressive disease).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0034] 본원의 문맥에서 용어 "CD38"은 긴 C-말단 세포외 도메인 및 짧은 N-말단 세포질 도메인을 갖는 45 kD의 II형 막횡단 당단백질인 CD38 단백질을 의미한다. CD38 단백질은 환형 ADP-리보스(cADPR)로의 NAD⁺의 전환을 촉매할 수 있고 또한 cADPR을 ADP-리보스로 가수분해할 수 있는 이작용성 체외효소이다. 개체 발생(ontogeny) 동안, CD38은 CD34⁺ 위탁 줄기 세포(committed stem cell) 및 림프구 세포, 적혈구 세포 및 골수성 세포의 계통 결정된(lineage-committed) 전구체 상에 나타났다. CD38 발현은 T 및 B 세포 발달의 상이한 단계에서 발현 수준을 다양화하면서 림프구성 계통에서 주로 지속된다.
- [0035] 신호 전달에서의 CD38⁺의 역할은 국제 특허 출원 W02008/047242에 추가로 기재되어 있다. 특히, CD38은 예를 들어 Genbank 기탁 번호 NP_001766.2(2013년 10월 7일자로 입수 가능)로서의 아미노산 서열을 포함하는 II형 막횡단 단백질을 의미한다.
- [0036] CD38은 많은 혈액학적 악성종양 및 다양한 혈액학적 악성종양으로부터 유래된 세포주에서 상향 조절된다.
- [0037] "혈액학적 악성종양"은 혈액, 골수 및 림프절에 영향을 미치는 암의 유형이다. 이들 세 가지는 면역 체계를 통해 긴밀하게 연결되어 있어, 이들 세 가지 중 하나에 영향을 미치는 질병은 나머지에도 영향을 줄 수도 있다. 혈액학적 악성종양은 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma; NHL)(예를 들어, 버킷 림프종(Burkitt's lymphoma; BL) 및 T 세포 림프종(T 세포 lymphoma; TCL) 포함), 다발성 골수종(multiple myeloma; MM), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia; CLL)(예를 들어, B 만성 림프구성 백혈병(B chronic lymphocytic leukemia; B-CLL) 및 모발상 세포성 백혈병(hairy cell leukemia; HCL)와 같음), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia; ALL), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia; AML), 호지킨 림프종(Hodgkin's Lymphoma; HL), 및 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia; CML)을 포함한다.
- [0038] 다른 한편으로, 혈액학적 시스템의 원시 다능성 줄기 세포의 대부분은 CD38⁻이다. 혈액학적 악성종양에서의 CD38 발현 및 질병 진행에 대한 이의 상관관계는 항체 치료에서 CD38을 매력적인 표적으로 만든다.

- [0039] "CD38⁺ 세포"는 CD38 단백질을 발현하는 세포이다. 특히, CD38⁺ 세포는 포유류 세포이다. 일 구현예에서 CD38⁺ 세포는 CD38 단백질을 발현하는 비-호지킨 림프종(NHL), 다발성 골수종(MM), 만성 림프구성 백혈병(CLL), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 호지킨 림프종(HL), 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포이다.
- [0040] 그러므로 "CD38⁺ 혈액학적 악성종양"은 상기 기재한 바와 같이 혈액학적 악성종양이며, 여기서 암세포는 CD38⁺ 세포이거나 이를 포함한다.
- [0041] 본원의 문맥에서 CD38⁺ 혈액학적 악성종양은 상세하게는 비-호지킨 림프종(NHL)(예를 들어, 버킷 림프종(BL) 및 T 세포 림프종(TCL) 포함), 다발성 골수종(MM), 만성 림프구성 백혈병(CLL)(예를 들어, B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL) 또는 모형 세포성 백혈병(HCL)과 같음), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 호지킨 림프종(HL), 및 만성 골수성 백혈병(CML)으로 구성된 군으로부터 선택된 것으로, 암세포는 CD38⁺ 세포이거나 이를 포함한다.
- [0042] 특히, CD38⁺ 혈액학적 악성종양은 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL), 다발성 골수종(MM), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(B-세포 ALL) 및/또는 만성 림프구성 백혈병(CLL), 더 상세하게는 다발성 골수종(MM), 아주 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종이다.
- [0043] 혈액학적 악성종양을 확인하는 방법은 당업자에게 공지된 것으로, 제1 단계로서 완전 혈구 측정(complete blood count; CBC) 및 말초혈액 도말(peripheral blood smear) 시험을 포함한다. 최종 진단은 일반적으로 유세포 분석, 세포유전학 및 추가로 분자 기술이 최종적으로 보완된 적절한 골수 흡인법 및/또는 형태학 연구에 대한 생검을 필요로 한다.
- [0044] 이러한 혈액학적 악성종양으로부터 유래된 세포가 CD38⁺인지 확인하기 위한 기술은 당업자에게 공지된 것으로, 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응(PCR) 및/또는 웨스턴 블롯 분석과 같은 면역화학적 방법과 같은 표준 분자 생물학 기술을 포함한다.
- [0045] 본원의 문맥에서, "개체"는 인간을 의미한다.
- [0046] 상세하게는, 본원에서 "개체" 및/또는 "이를 필요로 하는 개체"는 CD38⁺ 혈액학적 악성종양이 발생하여 의학적 관리 또는 치료 중에 있는 개인을 의미한다. 그러므로 용어 개체는 본원에서 환자를 의미할 수 있다.
- [0047] 본원에 따른 개체는 남성 또는 여성일 수 있다.
- [0048] 일부 구현예에서, 개체는 항암 요법으로 이전에 치료를 받았다. 상세하게는, 상기 이전의 항암 요법은 화학요법, 표적 암 요법, 방사선요법, 골수 및/또는 줄기 세포 이식 및 면역요법으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0049] "화학요법"은 표준 양생법의 일부로서 하나 이상의 세포독성 항종양 약물(화학치료 약물)로 암을 치료하는 것을 의미한다. 화학 약물은 일반적으로 주기적으로 주어져지며, 여기서 회복을 위한 신체 시간을 허용하기 위해 치료 기간 이후 휴식 기간이 이어진다.
- [0050] 예를 들어 혈액학적 악성종양을 치료하기 위해 사용되는 "화학 약물(Chemo drugs)"은 사이타라빈(시토신 아라비노시드 또는 ara-C) 및 안트라사이클린 약물(예컨대 다우노루비신 및/또는 다우노마이신, 독소루비신 및 리포솜 독소루비신, 이다루비신, 및 미톡산트론), 젬투주맙, 클로파라빈, 클라드리빈, 수산화요소(hydra®), 에토포시드, 암사크린, FLT3-저해제, 및 탈메틸화제(5-아자사이티딘 및 데시타빈), 멜파란, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 볼테조밋과 같은 포로테아좀 저해제, 레날리도미드, 탈리도미드 및/또는 포말리도미드, 상세하게는 볼테조밋 및/또는 레날리도미드이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0051] "표적 암 요법"은 종양 성장 및 진행에 관련된 특정 분자를 방해하여 암의 성장 및 확산을 막는 약물 또는 다른 물질을 의미한다.
- [0052] "방사선요법" 또는 "방사선"은 암 세포를 제거하기 위해 고-에너지 방사선을 사용한다. 방사선요법은 골수 또는 말초 혈액 줄기 세포 이식 전에 사용될 수 있다.
- [0053] "골수 및/또는 줄기 세포 이식"은 고용량의 화학요법 및/또는 방사선요법에 의해 파괴된 줄기 세포를 회복시키

는 것을 목적으로 하는 세포 이식을 의미한다. 줄기 세포의 원천은 골수, 말초 혈액 또는 탯줄 혈액을 포함한다. 이식된 줄기 세포의 원천에 따라, 과정은 골수 이식(bone marrow transplant; BMT) 또는 말초 혈액 줄기 세포 이식(peripheral blood stem cell transplant; PBSCT) 또는 탯줄 혈액 이식(umbilical cord blood transplant; UCBT)으로 구분될 수 있다. 게다가 골수 및/또는 줄기 세포 이식은 자가 줄기 세포 이식 및/또는 동종이계 이식을 의미할 수 있다.

- [0054] "자가 이식"에서, 개체 자신의 줄기 세포가 그 또는 그녀의 골수 또는 말초 혈액으로부터 제거된다. 이들은 사람이 치료(고용량 화학요법 및/또는 방사선)받는 동안 냉동 보관된다. "퍼징(purging)"으로 명명된 과정이 시료 내의 임의의 백혈병 세포를 제거하기 위한 시도로서 사용될 수 있다. 그런 다음 줄기 세포는 치료 후 개체의 혈액 내로 재주입된다.
- [0055] "동종이계 이식"은 매칭된 기증자로부터의 이식이다. 동종이계 골수 이식의 장점은 기증자로부터 이식된 세포가 새로운 면역 체계를 수립하여 백혈병 세포를 외래 물질로서 탐지하여 이들을 제거할 수 있다는 것이다. 동종이계 이식의 단점은 매치되는 기증자가 한정되며 부작용이 있다는 것이다.
- [0056] "면역요법"은 개체의 면역 체계를 자극하여 질병의 원인이 되는 악성 종양 세포를 공격하는 것을 의미한다. 이는 예를 들어, 암 백신을 투여하여 개체 자신의 면역 체계가 종양 세포를 파괴될 표적으로서 인식하도록 훈련되는, 개체의 면역화를 통해, 또는 치료적 항체로 종양 세포를 파괴하도록 개체의 면역 체계가 보장되는 경우에 있어서, 약물로서 치료적 항체의 투여를 통해 실행될 수 있다.
- [0057] 본원의 문맥에서, 개체는 상기 정의한 바와 같이, 표준 항암 요법에 의해 혈액학적 악성종양에 대해 이전에 치료받았을 수 있으나, 재발하였고/하였거나 불응성이었다.
- [0058] 그러므로 특정 구현예에서, 개체는 $CD38^{+}$ 다발성 골수종, 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 $CD38^{+}$ 다발성 골수종을 앓고 있다.
- [0059] "재발성"은 개체에서 혈액학적 악성종양이 치료되고 개선되었으나 혈액학적 악성종양이 재발한 개체를 의미한다.
- [0060] "불응성"은 개체에서 혈액학적 악성종양이 치료되었지만 전혀 개선되지 않아서 혈액학적 악성종양이 진행된 개체를 의미한다.
- [0061] 일 구현예에서, 개체는 볼테조밋 및/또는 레날리도미드로 이전에 치료받았다.
- [0062] 일 구현예에서, 개체는 자가 줄기 세포 이식(autologous stem cell transplant; ASCT)을 이전에 받았다.
- [0063] 일 구현예에서, 개체는 자가 이식 후 6 개월 이내에 재발하였다.
- [0064] 다발성 골수종 및 염색체 결실(chromosomal deletion) 17p, 전좌(translocations) t(4, 14), t(14, 16), t(14, 20) 또는 3 카피 초과 1q21과 같은 증폭과 같은 특정 유전적 특징을 갖는 개체가 더 악화된 결과와 연관됨이 당 분야에서 공지되었다.
- [0065] 그러므로 일 구현예에서, 개체는 17p 결실, t(4, 14), t(14, 16), t(14, 20) 및/또는 3 카피 초과 1q21를 갖는다.
- [0066] 최근에, 연구자들은 다발성 골수종을 갖는 개체에 대한 게놈 프로파일링 시험(genomic profiling test)을 개발하였다. 이 시험은 의사가 아주 소수의 염색체 비정상인 아닌 개체의 게놈 발현 프로파일에 근거하여 다발성 골수종을 갖는 개체를 분류할 수 있도록 허용한다.
- [0067] 일 구현예에서, 개체는 따라서 고-위험 유전자 발현 프로파일링(gene expression profiling; GEP) 시그니처를 가질 수 있다(Shaughnessy JD Jr., Zhan F, Burington BE, et al. (2007), Blood 109: 2276-2284.).
- [0068] 개체는 상기 언급된 특성들의 임의의 조합을 나타낼 수 있다.
- [0069] 다발성 골수종은 모노클로날 단백질(M 단백질)의 존재에 의해 탐지될 수 있다.
- [0070] "M-단백질"은 파라단백질(paraprotein)(모노클로날 단백질, 또는 M 단백질)을 나타낸다. 이 파라단백질은 혈장 세포의 클론 증식에 의해 과량으로 생산된 면역글로불린 또는 면역글로불린 경쇄이다. 특정 임계값보다 더 높은 양이 다발성 골수종을 나타낸다. M-단백질은 소변뿐만 아니라 혈청에서도 일반적으로 정량된다.
- [0071] 혈청에서의 M-단백질 수준은 전형적으로 혈청 전기영동 또는 예를 들어 특이적 면역글로불린 검정에 의해 측정

된다; 그러나, 정상 면역글로불린이 결과에 포함되므로 특이적 면역글로불린 정량은 언제나 M-단백질을 과대측정한다. 이러한 이유로, M-단백질의 기저선 및 후속 측정은 동일한 방법에 의해 실행되어야 한다(Riches PG et al., 1991).

- [0072] 일 구현예에서, 0.5 g/dL 초과 혈청 내 M-단백질은 다발성 골수종을 나타낸다. 다른 구현예에서, 약 0.5 g/dL 초과 혈청 내 M-단백질은 다발성 골수종을 나타낸다.
- [0073] 소변 내 M-단백질은 24 시간에 걸쳐 측정된 소변 내에서 분비된 M-단백질을 의미한다. 24 시간에 걸쳐 분비된 단백질의 총량은 전형적으로 측정되며 농축된 소변 단백질의 전기영동에 의해 결정된 소변 M-단백질의 백분율 수치와 곱해진다.
- [0074] 일 구현예에서, 24 시간 소변에서 200 mg 초과 소변 내 M-단백질은 다발성 골수종을 나타낸다. 다른 구현예에서, 24 시간 소변 내에서 약 200 mg 초과 소변 내 M-단백질은 다발성 골수종을 나타낸다.
- [0075] 다발성 골수종은 소변에서 발견된 면역글로불린 경쇄에 의해 추가로 확인될 수 있으며, 이 파라단백질은 벤스 존스(Bence Jones) 단백질이라고 불리며, 유리 경쇄로 구성된 소변의 파라단백질이며, 여기서 경쇄는 람다(λ) 및/또는 카파(κ) 유리 경쇄이다. 이들 유리 경쇄(free light chains; FLC)는 상업적 시험에 의해 측정될 수 있다. 유리 경쇄 측정은 FLC 람다에 대한 FLC 카파의 유리 경쇄 비율(FLC)(FLC κ/λ 비율)을 제공하는 FLC 카파 및 FLC 람다 유리 경쇄의 측정을 말하며, 여기서 정상 FLC κ/λ 비율은 0.26 내지 1.65의 범위이다.
- [0076] 다발성 골수종을 갖는 환자에서, 경쇄 중 어느 하나인 카파 또는 람다는 FLC κ/λ 비율의 변화를 야기하도록 우세하게 생산될 수 있다.
- [0077] 따라서 다발성 골수종을 나타내는 비정상 FLC κ/λ 비율은 0.26 미만 또는 1.65 초과 FLC κ/λ 비율이다.
- [0078] 일 구현예에서, 10 mg/dL 초과 FLC 및 비정상 FLC 비율을 갖는 상승된 혈청 유리 경쇄(FLC)는 다발성 골수종을 나타낸다. 다른 구현예에서, 약 10 mg/dL 초과 FLC 및 비정상 FLC 비율을 갖는 상승된 유리 경쇄(FLC)는 다발성 골수종을 나타낸다.
- [0079] 그러므로 일 구현예에서, 다발성 골수종을 갖는 개체는 a) 약 0.5 g/dL 초과 측정 가능한 혈청 M-단백질, 및/또는 b) 약 200 mg 초과 소변 M-단백질(24 시간 소변), 및/또는 c) 약 10 mg/dL 초과 FLC 및 비정상 FLC 비율을 갖는 상승된 혈청 유리 경쇄(FLC)를 갖는다.
- [0080] 일 구현예에서, 개체는 주입된 단백질 산물에 내성이 있다.
- [0081] 본원의 문맥에서 항체는 CD38에 특이적으로 결합한다. 구현예에 따라, 본원의 프레임 내에서 사용될 항-CD38 항체는 아포토시스, 항체-의존성 세포 매개 세포독성(ADCC), 및 보체-의존성 세포독성(CDC)의 유도에 의해 CD38⁺ 세포를 사멸시킬 수 있다.
- [0082] 본원에서 사용된 바와 같은, "아포토시스"는 프로그램된 세포사의 과정을 의미한다.
- [0083] "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 또는 "ADCC"는 면역 체계의 이펙터 세포가, 막-표면 항원이 특이적 항체에 의해 결합되는 표적 세포를 활발히 용해시키는 세포-매개된 면역 방어의 메커니즘을 의미한다.
- [0084] 본원의 문맥에서, "보체-의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체계(complement system) 단백질의 존재시 표적 세포의 용해를 의미한다.
- [0085] 본원에서 사용된 바와 같은, "접합체", "면역접합체", "항체-약물 접합체" 또는 "ADC"는 동일한 의미를 가지며 서로 교체 가능하다.
- [0086] "항체"는 두 중쇄가 이황화 결합으로 서로 연결되고 각 중쇄가 이황화 결합에 의해 경쇄에 연결된 천연 또는 통상적인 항체일 수 있다. 람다(λ) 및 카파(κ)의 두 유형의 경쇄가 있다. 항체 분자의 기능적 활성을 결정하는 다섯 개의 주요 중쇄 클래스(또는 이소타입)가 있다: IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE. 각 사슬은 구별되는 서열 도메인을 포함한다. 경쇄는 가변 도메인(VL) 및 불변 도메인(CL)의 두 도메인 또는 영역을 포함한다. 중쇄는 하나의 가변 도메인(VH) 및 세 개의 불변 도메인(CH1, CH2 및 CH3, 총괄적으로 CH로 언급됨)의 네 개의 도메인을 포함한다. 경쇄(VL) 및 중쇄(VH) 둘 모두의 가변 영역은 항원에 대한 결합 인지 및 특이성을 결정한다. 경쇄(CL) 및 중쇄(CH)의 불변 영역 도메인은 항체 사슬 연합(antibody chain association), 분비, 태반통과 이동성(trans-placental mobility), 보체 결합(complement binding), 및 Fc 수용체(FcR)에 대한 결합과 같은 중요한 생물학적 특성을 부여한다. Fv 단편은 면역글로불린의 Fab 단편의 N-말단 부분이며 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄

의 가변 부분으로 구성된다. 항체의 특이성은 항체 결합 부위 및 항원 결정기 사이의 구조적 상보성에 의해 야기된다. 항체 결합 부위는 주로 초가변 또는 상보성 결정 영역(CDRs)으로부터의 잔기로 구성된다. 종종, 비-초가변(nonhypervariable) 또는 프레임워크 영역(FR)으로부터의 잔기는 전체 도메인 구조에 영향을 미치므로 결합 부위에도 영향을 준다.

- [0087] "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 네이티브 면역글로불린 결합 부위의 천연 Fv 영역의 결합 친화성 및 특이성을 함께 규정하는 아미노산 서열을 의미한다. 각 면역글로불린의 경쇄 및 중쇄는 각각 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L 및 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H으로 명명된 세 가지의 CDR을 갖는다. 그러므로 통상적인 항체 항원-결합 부위는 각각의 중쇄 및 경쇄 V 영역으로부터의 CDR 세트를 포함하는 여섯 개의 CDR을 포함한다.
- [0088] "프레임워크 영역"(FRs)은 CDRs사이, 즉, 단일 종에서의 상이한 면역글로불린 중에서 상대적으로 보호된 면역글로불린 경쇄 및 중쇄 가변 부분의 이들 부분에 끼워진 아미노산 서열을 의미한다. 각 면역글로불린의 경쇄 및 중쇄는 각각 FR1-L, FR2-L, FR3-L, FR4-L, 및 FR1-H, FR2-H, FR3-H, FR4-H으로 명명된 네 개의 FR을 갖는다.
- [0089] 본원에 기재된 바와 같이, "인간 프레임워크 영역"은 자연적으로 발생한 인간 항체의 프레임워크 영역과 실질적으로 동일한(약 85% 이상, 또는 보다 상세하게는 90%, 95%, 97%, 99% 또는 100%) 프레임워크 영역이다.
- [0090] 면역글로불린 경쇄 또는 중쇄에 관련된 CDR/FR 정의는 카바트(Kabat) 정의에 근거하여 제공된다(<http://www.bioinf.org.uk/abs/>).
- [0091] 본원에 기재된 바와 같이, 용어 "항체"는 통상적인 항체 및 이의 단편뿐만 아니라, 단일 도메인 항체 및 이의 단편, 상세하게는 단일 도메인 항체의 가변 중쇄, 및 키메라, 인간화, 이특이성 또는 다중특이성 항체를 의미한다.
- [0092] 본원에 기재된 바와 같이, 항체 또는 면역글로불린은 또한 더 최근에 기술되었으며 상보적 결정 영역이 단일 도메인 폴리펩티드의 부분인 "단일 도메인 항체"를 포함한다. 단일 도메인 항체의 예는 중쇄 항체, 자연적으로 경쇄가 없는 항체, 통상적인 4개-사슬 항체로부터 유래된 단일 도메인 항체, 조작된 단일 도메인 항체를 포함한다. 단일 도메인 항체는 마우스, 인간, 낙타, 라마, 염소, 토끼 및 소를 포함하는 임의의 종으로부터 유래된 것일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 단일 도메인 항체는 경쇄가 없는 중쇄 항체로 공지된 자연적으로 발생한 단일 도메인 항체일 수 있다. 상세하게는, 낙타과(*Camelidae*) 종, 예를 들어 낙타, 단봉낙타, 라마, 알파카 및 과나코는 자연적으로 경쇄가 없는 중쇄 항체를 생산한다. 낙타과의 중쇄 항체는 또한 CH1 도메인이 결여됐다.
- [0093] 이들 경쇄가 없는 단일 도메인 항체의 가변 중쇄는 당 분야에서 "VHH" 또는 "나노바디(nanobody)"로서 공지되어 있다. 통상적인 VH 도메인과 유사하게, VHH는 네 개의 FR 및 세 개의 CDR을 포함한다. 나노바디는 통상적인 항체에 비해 장점을 갖는다: 이들은 IgG 분자보다 약 10 배 더 작으며, 결과적으로 적절하게 접힌 기능성 나노바디는 고수율을 달성하면서 *시험관내* 발현에 의해 생산될 수 있다. 게다가, 나노바디는 매우 안정하며 프로테아제의 작용에 저항한다. 나노바디의 특성 및 생산은 Harmsen 및 De Haard에 의해 리뷰되었다(Harmsen and De Haard (2007) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77:13-22).
- [0094] 본원에 기재된 바와 같이, 용어 "모노클로날 항체" 또는 "mAb"는 특이적 항원에 대해 관여하며 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는 단일 아미노산 조성의 항체 분자를 의미한다. 모노클로날 항체는 B 세포 또는 하이브리도마의 단일 클론에 의해 생산될 수 있으나, 또한 재조합, 즉, 단백질 조작에 의해서도 생산될 수 있다.
- [0095] 용어 "키메라 항체"는 불변 영역 또는 이의 부분이 변경되거나 대체되거나 교환되어 가변 영역이 다른 종의 불변 영역에 연결되거나 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 소속된 조작된 항체를 의미한다. 키메라 항체는 또한 가변 영역 또는 이의 부분이 변경되거나 대체되거나 교환되어, 불변 영역이 다른 종의 가변 영역에 연결되거나 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 소속된 조작된 항체를 의미한다. 상세하게는 키메라 항체는 다른 항체, 상세하게는 인간 항체의 CH 도메인 및 CL 도메인과 연합된 비-인간 동물로부터 유래된 항체의 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함한다. 비-인간 동물로서, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 등과 같은 임의의 동물이 사용될 수 있다. 키메라 항체는 또한 적어도 두 개의 상이한 항원에 대해 특이성을 갖는 다중특이성 항체를 의미한다. 일 구현예에서, 키메라 항체는 마우스 기원의 가변 도메인 및 인간 기원의 불변 도메인을 갖는다.
- [0096] 용어 "인간화 항체"는 초기에 전체 또는 부분적으로 비-인간 기원이며 인간에서의 면역 반응을 피하거나 최소화하기 위해 특정 아미노산, 상세하게는 중쇄 및 경쇄의 프레임워크 영역을 대체하여 개질된 항체를 의미한다. 인간화 항체의 불변 도메인은 대부분 인간 CH 및 CL 도메인이다. 일 구현예에서, 인간화 항체는 인간 기원의 불변

도메인을 갖는다.

[0097] 카메라 항체에 대해, 인간화는 전형적으로 가변 영역 서열의 프레임워크 영역의 개질을 포함한다.

[0098] 특정 경우에서 개별적인 CDR 아미노산 잔기를 변경하는 것, 예를 들어 글리코실화 부위, 탈아미드화 부위, 원하지 않는 시스테인 잔기, ADC의 경우에는 리신 잔기를 제거하는 것이 바람직할 수 있음에도 불구하고, CDR의 일부인 아미노산 잔기는 인간화와 관련되어 전형적으로 변경되지 않을 것이다. N-결합된 글리코실화는 트리펩티드 서열 Asn-X-Ser 또는 Asn-X-Thr에서 아스파라긴 잔기에 올리고당 사슬을 부착하여 발생하는 것으로, 여기에서 X는 Pro를 제외한 임의의 아미노산이 될 수 있다. N-글리코실화 부위의 제거는 Asn 또는 Ser 중 어느 하나 및/또는 Thr 잔기를 다른 잔기로 돌연변이시킴으로써, 상세하게는 보존적 아미노산 치환에 의해 달성될 수 있다. 아스파라긴 및 글루타민 잔기의 탈아미드화는 pH 및 표면 노출과 같은 인자에 의존하여 발생할 수 있다. 아스파라긴 잔기는 주로 서열 Asn-Gly에 존재할 때 특히 탈아미드화에 민감하며 Asn-Ala와 같은 다른 디펩티드 서열에 더 적은 정도로 민감하다. 그러므로 이러한 탈아미드화 부위, 상세하게는 Asn-Gly이 CDR 서열 내에 존재할 때, 연관된 잔기 중 하나를 제거하는 보존적 치환에 의해 전형적으로 상기 부위를 제거하는 것이 바람직할 수 있다. ADC의 경우, mAb에 세포독성의 부착은 리신 측쇄 잔기에 공유 결합을 통해 제조될 수 있다. 이러한 입체 장애는 항원에 mAb가 결합하는 것을 방해할 수 있다. 그러므로 아르기닌 보존적 치환에 의해 전형적으로 리신 잔기를 제거하는 것이 바람직하다. 연관된 잔기 중 하나를 제거하기 위한 CDR 서열에서의 치환은 또한 본원에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

[0099] 인간화의 목표는 항체의 완전한 항원 결합 친화성 및 특이성을 유지하면서 인간으로의 도입을 위해, 무관 항체와 같은 이중 항체의 면역원성을 감소시키는 것이다. 인간화 항체, 또는 다른 포유동물에 의해 거부되지 않도록 개작된 항체는 리서페이싱(resurfacing) 및 CDR 그래프팅과 같은 몇몇 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 리서페이싱 기술은 항체 가변 영역의 비-CDR 표면을 변경하기 위해 분자 모델링, 통계학적 분석 및 돌연변이 유발의 조합을 사용하여 표적 숙주의 공지된 항체의 표면과 유사하게 하는 것이다.

[0100] 항체를 리서페이싱하기 위한 전략 및 방법, 및 다른 숙주 내에서 항체의 면역원성을 감소시키기 위한 다른 방법은 미국 특허 5,639,641호에 기재되었다. 간단하게는, 바람직한 방법에서, (1) 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 풀(pool)의 위치 정렬(position alignments)은 모든 가변 영역에 대한 정렬 위치가 적어도 약 98% 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역인 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 위치의 세트를 제공하도록 생성된다; (2) 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트는 설치류 항체(또는 이의 단편)에 대해 정의된다; (3) 설치류의 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트와 가장 밀접하게 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트가 확인된다; (4) 단계 (2)에서 정의된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트는 설치류 항체의 상보성-결정 영역의 임의의 잔기의 임의의 원자의 5 Å 이내에 있는 이들 아미노산 잔기를 제외하고는, 단계 (3)에서 확인된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 표면 노출된 아미노산 잔기의 세트로 치환된다; 그리고 (5) 결합 특이성을 갖는 인간화 설치류 항체가 생산된다. 그러므로 일 구현예에서 인간화 항체는 또한 "리서페이스된" 항체로 명명될 수 있다.

[0101] 항체는 CDR-그래프팅(EP0239400; W091/09967; 미국 특허 5,530,101호 및 5,585,089호), 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)(EP0592106; EP0519596; Padlan (1991) *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka *et al.* (1994) *Protein Engineering* 7(6):805-814; Roguska *et al.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91:969-973), 및 사슬 셔플링(chain shuffling)(미국 특허 5,565,332호)을 포함하는 다양한 다른 기술을 사용하여 추가로 인간화될 수 있다. 인간 항체는 파아지 디스플레이 방법을 포함하는 당 분야에서 공지된 여러 방법에 의해 만들어질 수 있다. 또한, 미국 특허 4,444,887호, 4,716,111호, 5,545,806호, 및 5,814,318호; 및 국제 특허 출원 W098/46645, W098/50433, W098/24893, W098/16654, W096/34096, W096/33735, 및 W091/10741을 참조하라.

[0102] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학 특성(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄 R기를 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환된 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 특성을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 유사한 화학 특성을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 군의 예는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 루신, 및 이소루신; 2) 지방족-히드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌, 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르트산 및 글루탐산; 및 7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌. 보존적 아미노산 치환군은: 발린-루신-이소루신, 페닐알라닌-티로신-트립토판, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파테이트, 및 아스파라긴-글루타민이다.

- [0103] (통상적인) 항체의 "단편"은 온전한 항체의 부분, 특히 온전한 항체의 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 항체 단편으로부터 형성된 Fv, Fab, F(ab')₂, Fab', dsFv, (dsFv)₂, scFv, sc(Fv)₂, 디아바디(diabody), 이중특이성 및 다중특이성 항체를 포함한다. 통상적인 항체의 단편은 또한 중쇄 항체 또는 VHH와 같은 단일 도메인 항체일 수 있다.
- [0104] 용어 "Fab"는 약 50,000 Da의 분자량 및 항원 결합 활성을 갖는 항체 단편을 의미하는 것으로, 프로테아제인 파파인으로 IgG를 처리하여 수득된 단편 중 H 사슬의 N-말단 측면의 약 절반 및 전체 L 사슬은 이황화 결합을 통해 함께 결합된다.
- [0105] 용어 "F(ab')₂"는 약 100,000 Da의 분자량 및 항원 결합 활성을 갖는 항체 단편을 의미하는 것으로, 이는 프로테아제인 펩신으로 IgG를 처리하여 수득된 단편 중 힌지 영역의 이황화 결합을 통해 결합된 Fab보다 약간 더 크다.
- [0106] 용어 "Fab'"는 약 50,000 Da의 분자량 및 항원 결합 활성을 갖는 항체 단편을 의미하는 것으로, 이는 F(ab')₂ 단편의 힌지 영역의 이황화 결합을 절단함에 의해 수득된다.
- [0107] 단쇄 Fv("scFv") 폴리펩티드는 펩티드-인코딩 링커에 의해 연결된 VH 및 VL 인코딩 유전자를 포함하는 유전자 융합으로부터 일반적으로 발현되는, 공유적으로 연결된 VH::VL 이중이량체이다. 본원의 인간 scFv 단편은 특히 유전자 재조합 기술을 사용하여 적합한 형태로 유지되는 CDR을 포함한다. 2가 및 다가 항체 단편은 1가 scFvs의 연합에 의해 자발적으로 형성할 수 있거나 2가 sc(Fv)₂와 같은 펩티드 링커에 의해 1가 scFvs를 커플링하여 생산될 수 있다.
- [0108] "dsFv"는 이황화 결합에 의해 안정화된 VH::VL 이중이량체이다.
- [0109] "(dsFv)₂"는 펩티드 링커에 의해 커플링된 두 개의 dsFv이다.
- [0110] 용어 "이특이성 항체" 또는 "BsAb"는 단일 분자 내에서 두 개의 항체의 항원-결합 부위를 결합한 항체를 의미한다. 따라서, BsAb는 두 개의 상이한 항원에 동시에 결합할 수 있다. 유전공학이 EP 2 050 764 A1에서의 사례에서 기술된 바와 같이 결합 특성 및 이펙터 기능의 원하는 세트를 갖는 항체 또는 항체 유도체를 설계하고, 개선시키고, 생산하기 위해서 증가된 빈도로 사용되어 왔다.
- [0111] 용어 "다중특이성 항체"는 단일 분자 내의 둘 이상의 항체의 항원-결합 부위가 결합한 항체를 의미한다.
- [0112] 용어 "디아바디(diabody)"는 두 개의 항원-결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 의미하는 것으로, 단편은 동일한 폴리펩티드 사슬(VH-VL)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 동일 사슬 상에서 두 도메인 사이의 페어링을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 다른 사슬의 상보적 도메인과 쌍을 이루어 두 개의 항원-결합 부위를 생성한다.
- [0113] 본원의 프레임 내에서 사용된 항체는 38SB13, 38SB18, 38SB19, 38SB30, 38SB31 및 38SB39로서 언급되는 항-CD38 모노클로날 항체 중 어느 하나일 수 있으며, 이들은 W02008/047242에 기재된 것이거나, 리서페이싱 기술을 통해 수득된 이의 유도체이다.
- [0114] 특히, 본원의 문맥에서 항-CD38 항체는 서열 SEQ ID NO: 1의 CDR-H1, 서열 SEQ ID NO: 2의 CDR-H2, 및 서열 SEQ ID NO: 3의 CDR-H3을 포함하는 적어도 하나의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 4, 5, 및 6으로 구성된 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 CDR을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다. 특히, 상기 항체는 SEQ ID NO: 44를 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 38 사슬을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다.
- [0115] 특히, 본원의 문맥에서 항-CD38 항체는 서열 SEQ ID NO: 7의 CDR-H1, 서열 SEQ ID NO: 8의 CDR-H2, 및 서열 SEQ ID NO: 9의 CDR-H3을 포함하는 적어도 하나의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 10, 11, 및 12로 구성된 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 CDR을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다. 특히, 상기 항체는 SEQ ID NO: 45를 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 39 사슬을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다.
- [0116] 특히, 본원의 문맥에서 항-CD38 항체는 서열 SEQ ID NO: 13의 CDR-H1, 서열 SEQ ID NO: 14의 CDR-H2, 및 서열 SEQ ID NO: 15의 CDR-H3을 포함하는 적어도 하나의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 16, 17, 및 18로 구성된 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 CDR을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다. 특히, 상기 항체는 SEQ ID NO: 46을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 40 사슬을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다.

- [0117] 특히, 본원의 문맥에서 항-CD38 항체는 서열 SEQ ID NO: 19의 CDR-H1, 서열 SEQ ID NO: 20의 CDR-H2, 및 서열 SEQ ID NO: 21의 CDR-H3을 포함하는 적어도 하나의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 22, 23, 및 24로 구성된 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 CDR을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다. 특히, 상기 항체는 SEQ ID NO: 47을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 41 사슬을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다.
- [0118] 특히, 본원의 문맥에서 항-CD38 항체는 서열 SEQ ID NO: 25의 CDR-H1, 서열 SEQ ID NO: 26의 CDR-H2, 및 서열 SEQ ID NO: 27의 CDR-H3을 포함하는 적어도 하나의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 28, 29, 및 30로 구성된 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 CDR을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다. 특히, 상기 항체는 SEQ ID NO: 48을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 42 사슬을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다.
- [0119] 특히, 본원의 문맥에서 항-CD38 항체는 서열 SEQ ID NO: 31의 CDR-H1, 서열 SEQ ID NO: 32의 CDR-H2, 및 서열 SEQ ID NO: 33의 CDR-H3을 포함하는 적어도 하나의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 34, 35, 및 36로 구성된 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 CDR을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다. 특히, 상기 항체는 SEQ ID NO: 49를 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO: 43 사슬을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 갖는다.
- [0120] 본원의 문맥에서 본원에 기재된 서열과 적어도 85%, 더 상세하게는 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 항체를 추가로 포함한다.
- [0121] "참고 서열과 적어도 85% 동일한" 서열은 이의 전장에서 참고 서열의 전장과 85%, 또는 더 상세하게는 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 서열이다.
- [0122] "서열 동일성"의 백분율은 두 개의 서열, 최적으로는 비교 윈도우 상에 정렬된 두 개의 서열을 비교하여 결정될 수 있으며, 비교 윈도우에서 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 서열의 부분이 두 개의 서열의 최적 정렬에서 참고 서열(첨가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교했을 때 첨가 또는 결실(즉, 갭)을 포함할 수 있다. 백분율은 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 두 서열 모두에서 발생한 위치의 수를 결정하여 매칭된 위치의 수를 산출하고, 매칭된 위치의 수를 비교 윈도우에서 위치의 총 수로 나누고 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출하여 계산된다. 비교에서 서열의 최적 정렬은 예를 들어, 문헌 [Needleman and Wunsch J. Mol. Biol. 48: 443 (1970)]의 알고리즘을 사용하여 글로벌 쌍별 정렬(global pairwise alignment)에 의해 시행된다. 서열 동일성의 백분율은 예를 들어 BLOSUM62 매트릭스를 갖는 프로그램 Needle 및, 하기 파라미터 gap-open=10, gap-extend=0.5을 사용하여 쉽게 결정될 수 있다.
- [0123] 일 구현예에서, 항-CD38 항체는 리서페이싱 기술을 통해 획득된 인간화 항-CD38 항체이다. 이러한 항체는 또한 "리서페이싱된" 항체로도 명명될 수 있다.
- [0124] 일 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나의 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 1, 2, 및 3에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 4, 5, 및 6에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함한다.
- [0125] 다른 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나의 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 7, 8, 및 9에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 10, 11, 및 12에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함한다.
- [0126] 다른 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나의 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 13, 37, 및 15에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 16, 17, 및 18에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함한다.
- [0127] 다른 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나의 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 19, 20, 및 21에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 22, 23, 및 24에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함한다.
- [0128] 다른 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나의 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 25, 26, 및 27에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 28, 29, 및 30에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세

개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함한다.

- [0129] 추가 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나의 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 31, 32, 및 33에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함하고, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 34, 35, 및 36에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적 상보성-결정 영역을 포함한다.
- [0130] 일 구현예에서, 본원은 SEQ ID NO: 50 및 51의 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 V_H 를 포함하는 리서페이싱된 항체 및/또는 인간화 항체를 제공한다. 추가 구현예에서, 리서페이싱된 버전 및/또는 인간화 버전의 항체는 SEQ ID NO: 50에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 V_H 를 포함한다. 다른 구현예에서, 인간화 버전의 항체는 SEQ ID NO: 51에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 V_H 를 포함한다.
- [0131] 다른 구현예에서, 본원은 SEQ ID NO: 52, 53, 54, 및 55의 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 V_L 을 포함하는 인간화 항체를 제공한다. 다른 구현예에서, 인간화 버전의 항체는 SEQ ID NO: 52 및 53의 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 V_L 을 포함한다. 다른 구현예에서, 인간화 버전의 항체는 SEQ ID NO: 54 및 55의 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 V_L 을 포함한다.
- [0132] 특정 구현예에서, 본원에 따른 항체는 hu38SB19로 언급되며, SEQ ID NO: 50에 의해 나타내는 아미노산 서열을 갖는 V_H 및 SEQ ID NO: 52로 나타내는 아미노산 서열을 갖는 V_L 을 포함하는 인간화 항체 및/또는 리서페이싱된 항체이다.
- [0133] 다른 구현예에서, 본원에 따른 항체는 다라투무맵(daratumumab)이다.
- [0134] 특정 구현예에서, 본원에 따른 용도를 위한 항체는 네이키드(naked) 항체, 즉, 항체-약물 접합체를 형성하기 위해 어떠한 약물에도 연결되지 않은 것이다.
- [0135] 본원에 따른 용도를 위한 항체는 CD38에 특이적으로 결합하고 아포토시스, 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)의 도입에 의해 $CD38^+$ 세포를 사멸시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 따른 용도를 위한 항체는 항체로 처리된 세포가 항-인간 IgG 이차 항체와 교차-결합되지 않았을 때에도 아포토시스의 유도에 의해 *시험관내*에서 $CD38^+$ 세포를 사멸시킬 수 있다.
- [0136] 본원의 문맥에서, 본원에 기재된 서열과 적어도 85%, 더 상세하게는 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 서열을 포함하는 인간화 항체를 추가로 포함한다.
- [0137] 본원에 따른 항체는 동물 면역화, 하이브리도마 형성 및 특이성을 갖는 항체의 선택의 표준 기술에 의해 수득될 수 있다. 특히, CD38 항체 38SB19는 국제 특허 출원 W02008/047242의 실시예 4에 기재된 바와 같이, 즉 항-CD38 항체의 경쇄 및 중쇄의 하기 클로닝 및 서열결정 프로토콜에 따라 수득된다:
- [0138] (i) 하기와 같은 38SB19 항체를 생산하는 하이브리도마 세포로부터의 RNA 제조: 총 RNA의 제조는 Qiagen's RNeasy miniprep kit를 이용하여 38SB19 항체를 생산하는 5×10^6 하이브리도마 세포로부터 수득되었다. 간단하게는, 5×10^6 세포를 펠렛화하고 350 μ L RLT 버퍼(1% β -머캅토에탄올 함유)에 재현탁시켰다. 현탁액을 21.5 게이지 바늘 및 주사기를 통해 거칠게 10회 내지 20회 통과시켜 점성이 없어질 때까지 균질화시켰다. 에탄올(350 μ L의 70% 수성 에탄올)을 균질액에 첨가하고 잘 혼합하였다. 이 용액을 2-mL 수집 튜브 내에 위치한 스핀 컬럼으로 옮기고 8000 x g 초파에서 15초간 회전시켰다. 컬럼을 500 μ L RPE 버퍼로 두 번 세척한 후, 새로운 튜브로 옮기고 30 μ L RNase 자유수 및 1-분 회전으로 용출시켰다. 용출액(30 μ L)을 컬럼에 다시 돌려놓고 두 번째로 1-분 용출 회전시켰다. 30 μ L 용출액의 분취량을 물로 희석하고 RNA 정량을 위해 260 nm에서 UV 흡광을 측정하는 데 사용하였다.
- [0139] (ii) 하기와 같은 역전사효소(RT) 반응에 의한 cDNA 제조: 가변 영역 38SB19 항체 cDNA를 Invitrogen's Superscript II kit를 사용하여 총 RNA로부터 생성하였다. 키트 프로토콜 후 바로 Qianeasy mini preps으로부터 5 mg까지의 총 RNA를 사용하였다. 간단하게는, RNA, 1 mL 랜덤 프라이머, 및 1 μ L dNTP 혼합물을 RNase 자유 멸균 증류수로 12 μ L까지 만들고 65°C에서 5 분 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음 혼합물을 얼음 위에 적어도 1 분간 두었다. 그 후, 4 μ L의 5 x 반응 버퍼, 2 μ L 0.1 M DTT, 및 1 μ L RNaseOUT을 첨가하고 혼합물을 MJ Research 써멀사이클러(thermalcycler) 내에서 25°C에서 2 분 동안 인큐베이션하였다. 55°C에서 50 분 동안 시

프팅(shifting)하기 전에 씨멀사이클러를 정지시키고 25℃에서 추가 10 분 동안 1 μL의 SuperscriptII 효소를 첨가한 후 재시작하였다. 70℃까지 15 분 동안 가열하여 반응을 열 불활성화시키고 1 μL RNase H를 첨가하고 37℃에서 20 분 동안 인큐베이션하여 RNA를 제거하였다.

[0140] (iii) 축퇴성(degenerate) PCR 반응 : 하이브리도마 세포로부터 유래된 cDNA에 대한 제1 라운드 축퇴성 PCR 반응을 위한 과정은 Wang 등 (2000) 및 Co 등(1992)에 기재된 방법에 근거한다. 이러한 라운드에서의 프라이머(표 1)는 pBluescriptII 플라스미드로의 클로닝을 촉진시키는 제한 부위를 포함한다.

표 1

축퇴성 PCR 반응에 사용된 프라이머

프라이머	서열
BamIlgG1 (SEQ ID NO. 56)	GGAGGATCCATAGACAGATGGGGGTGTCGTTTT GGC
IgG2Abam (SEQ ID NO. 57)	GGAGGATCCCTTGACCAGGCATCCTAGAGTCA
EcoMH1 (SEQ ID NO. 58)	CTTCCGGAATTCsARGTNMAGCTGSAGSAGTC
EcoMH2 (SEQ ID NO. 59)	CTTCCGGAATTCsARGTNMAGCTGSAGSAGTCW GG
SacIMK (SEQ ID NO. 60)	GGAGCTCGAYATTGTGMTSACMCARWCTMCA
HindKL (SEQ ID NO. 61)	TATAGAGCTCAAGCTTGGATGGTGGGAAGATGG ATACAGTTGGTGC

축퇴성 PCR 반응에 사용된 프라이머는 문헌 [Co et al., 1992]에 근거한 HindKL을 제외하고는 문헌 [Wang et al., 2000]에 근거하였다. 혼합된 염기는 하기와 같이 규정된다:
H=A+T+C, S=G+C, Y=C+T, K= G+T, M=A+C, R=A+G, W=A+T, V = A+C+G.

[0141]

[0142] PCR 반응 성분(표 2)을 얇은 벽(thin walled) PCR 튜브 내에서 얼음과 혼합한 후 94℃에서 예열되고 정지된 MJ 리서치 씨멀사이클러로 옮겼다. 반응은 하기와 같이 문헌 [Wang et al., 2000]으로부터 유래된 프로그램을 사용하여 수행하였다:

[0143] 명칭: Wang45

[0144] 94℃ 3:00 분

[0145] 94℃ 0:15 초

[0146] 45℃ 1:00 분

[0147] 72℃ 2:00 분

[0148] 2로 이동 29 회

[0149] 72℃ 6:00 분

[0150] 4℃ 지속

[0151] 종료.

[0152] 그런 다음, PCR 반응 혼합물을 1% 저융점 아가로스겔 상에서 진행시키고, 300 bp 내지 400 bp 밴드를 잘라내어 Zymo DNA mini 컬럼을 사용하여 정제하고, 서열결정을 위해 Agencourt biosciences로 보냈다. 각각의 5' 및 3' PCR 프라이머를 서열결정 프라이머로서 사용하여 양 방향 모두로부터 38SB19 가변 영역 cDNAs를 생성하였다.

[0153] (iv) 하기와 같은 5' 말단 서열 클로닝 : 38SB19 가변 영역 경쇄 및 중쇄 cDNA 서열을 클로닝하기 위해 사용된 축퇴성 프라이머가 5' 말단 서열을 변경시키므로, 완전한 서열을 해독하기 위해서는 추가의 서열결정 노력이 필

요하다. 상기 기재된 방법으로부터의 예비 cDNA 서열을, 38SB19 서열이 유래된 뮤린 생식세포 서열에 대한 NCBI IgBlast 사이트(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)를 검색하는데 사용하였다. PCR 프라이머는, 뮤린 항체의 리더 서열을 어닐링하여 신규한 PCR 반응이 PCR 프라이머에 의해 변경되지 않은, 완전한 가변 영역 cDNA를 산출할 수 있도록 설계하였다(표 3). PCR 반응, 밴드 정제 및 서열결정을 상기 기재한 바와 같이 수행하였다.

표 2

38SB19 가변 영역 cDNA 서열의 클로닝을 위한 경쇄 및 중쇄 PCR 반응 혼합물

경쇄 반응 혼합물	중쇄 반응 혼합물
5 μ l 10 X PCR 반응 버퍼 (Roche)	5 μ l 10 X PCR 반응 버퍼 (Roche)
4 μ l 10mM dNTP 혼합물 (각각 2.5 mM)	4 μ l 10mM dNTP 혼합물 (각각 2.5 mM)
2 μ l 주형 (RT 반응)	2 μ l 주형 (RT 반응)
5 μ l 10 μ M Sac1MK 좌측 프라이머	2.5 μ l 10 μ M EcoMH1 좌측 프라이머
5 μ l 10 μ M HindKL 우측 프라이머	2.5 μ l 10 μ M EcoMH2 좌측 프라이머
5 μ l DMSO	5 μ l 10 μ M BamIG1 우측 프라이머
0.5 μ l Taq 폴리머라아제 (Roche)	5 μ l DMSO
23.5 μ l 멸균 증류 H ₂ O	0.5 μ l Taq 폴리머라아제 (Roche)
총 50 μ l	23.5 μ l 멸균 증류 H ₂ O
	총 50 μ l

[0154]

[0155]

(v) 하기와 같은 서열 확인을 위한 펩티드 분석: 가변 영역에 대한 cDNA 서열 정보를 생식세포 불변 영역 서열과 조합하여 전장의 항체 cDNA 서열을 얻었다. 그런 다음, 중쇄 및 경쇄의 분자량을 계산하고 뮤린 38SB19 항체의 LC/MS 분석에 의해 수득된 분자량과 비교하였다. 미국 특허 8,153,765호의 표 5는 LC/MS에 의해 측정된 수치와 함께 38SB19 LC 및 HC에 대한 cDNA 서열로부터의 계산된 질량을 제공한다. 분자량 측정은 38SB19 경쇄 및 중쇄 둘 모두에 대한 cDNA 서열과 일치한다.

표 3

38SB19 제2 라운드 PCR 반응을 위해 사용된 5' 말단 뮤린 서열 프라이머

프라이머	서열
경쇄 38SB19 LC 리더 (SEQ ID NO. 62)	ATGGAGTCACAGATTCAGGTC
중쇄 38-19HCLead1 (SEQ ID NO. 63)	TTTTGAATCCAGTAACTTCAGGTGTCCACTC

[0156]

[0157]

표 3은 38SB19 제2 라운드 PCR 반응에 사용된 5' 말단 뮤린 리더 서열 프라이머를 제공한다. 3' 말단 프라이머는 각각의 불변 영역 서열에 대해 준비되어 있으므로 제1 라운드 반응에서 사용된 것과 동일하다.

[0158]

더 상세하게는, 인간화 38SB19 항체는 국제 특허 출원 W02008/047242의 실시예 5에 기재된 바와 같이, 즉 하기 프로토콜에 따라 생산될 수 있다: hu38SB19에 대한 가변 영역 서열은 Blue Heron Biotechnology에 의해 코돈-최적화되고 합성되었다. 서열은, 단쇄 및 연쇄 이중 사슬 포유류 발현 플라스미드(tandem dual chain mammalian expression plasmids) 둘 모두에서 각각의 불변 서열로 인-프레임(in-frame) 클로닝하기 위한 제한 효소 부위가 측면에 위치한다. 경쇄 가변 영역은 ps38SB19LCzv1.0 및 ps38SB19v1.00 플라스미드 둘 모두에서 EcoRI 및 BsiWI 부위로 클로닝된다(W02008/047242의 도 2A 및 2C). 중쇄 가변 영역은 ps38SB19HCNv1.0 및 ps38SB19v1.00

플라스미드 둘 모두에서 HindIII 및 ApaI 부위로 클로닝된다(WO2008/047242의 도 2b 및 2c). 이들 플라스미드는 포유류 세포에서의 일시적(transient) 또는 안정적(stable) 형질전환 중 하나에서 hu38SB19를 발현하는 데 사용될 수 있다. 유사한 발현 벡터 구성이 다른 키메라 및 인간화 항체를 생산하는데 사용되었다. HEK-293T 세포에서 hu38SB19를 발현하기 위한 일시적 형질전환은 BD biosciences로부터의 CaPO_4 시약을 사용하여 수행되었다.

제공된 프로토콜은 증가된 발현 수율을 위해 약간 개질되었다. 간단하게는, 2×10^6 HEK-293T 세포를 형질전환하기 24 시간 전에 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine; PEI)으로 코팅된 10 cm 조직 배양 플레이트 상에 위치시켰다. 형질전환은 PBS로 세포를 세척하고 1% Ultra Low IgG FBS(Hyclone)를 갖는 10 μL DMEM(Invitrogen)으로 배지를 대체하면서 시작하였다. 용액 A(10 μg DNA, 86.8 μL Ca^{2+} 용액, 및 H_2O 로 500 μL 까지 맞춤)를 볼텍싱하면서 용액 B에 적가하여 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1 분 동안 인큐베이션하고 1 mL의 혼합물을 각각 10 cm 플레이트에 적가하여 첨가하였다. 형질전환 후 대략 16 시간에, 배지를 1% Ultra Low IgG FBS를 갖는 새로운 10 mL DMEM으로 대체하였다. 대략 24 시간 후에 2 mM 나트륨 부티레이트를 각 10 cm 플레이트에 첨가하였다. 형질전환은 4 일 후에 수확하였다. 1/10 용적의 1 M Tris/HCl 버퍼, pH 8.0의 첨가에 의해 단백질 A 친화성 크로마토그래피를 위한 상청액을 제조하였다. pH-조절된 상청액을 0.22 μm 여과막을 통해 여과하고 결합 버퍼(PBS, pH 7.3)로 평형화된 단백질 A Sepharose 컬럼(HiTrap Protein A HP, 1 mL, Amersham Biosciences) 상에 로딩하였다. DNA와 같은 세포내 물질로부터의 오염을 감소시키기 위해 Q-Sepharose 프리컬럼(precolumn)(10 mL)을 시료 로딩 동안 단백질 A 컬럼의 업스트림에 연결시켰다. 시료 로딩 후, 프리컬럼을 제거하고 세척 및 용출을 위해 단백질 A 컬럼 방향을 역전시켰다. 280 nm에서 흡광이 없는 안정적 기저선이 수득될 때까지 결합 버퍼로 컬럼을 세척하였다. 0.5 mL/분의 유속을 사용하여 0.15 M NaCl, pH 2.8을 함유하는 0.1M 아세트산 버퍼로 항체를 용출시켰다. 대략 0.25 mL의 분획을 수집하였으며 1/10 용적의 1M Tris/HCl, pH 8.0을 첨가하여 중화시켰다. 피크 분획을 PBS에 대하여 두 번 밤새 투석시키고 정제된 항체를 OD₂₈₀에서의 흡광에 의해 정량하였다. 인간화 항체 및 키메라 항체 또한 약간 다른 과정으로 단백질 G 컬럼을 사용하여 정제할 수 있다.

[0159] 예시된 키메라, 인간화 및/또는 리서페이싱된 항-CD38 항체 모두는 상기 기재된 과정과 유사한 과정을 사용하여 발현되고 정제될 수 있다.

[0160] CD38⁺ 혈액학적 악성종양, 상세하게는, CD38⁺ 다발성 골수종, 더 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 CD38⁺ 다발성 골수종을 앓고 있는 개체를 치료할 수 있는 적절하게 허용된(well-tolerated) 항암 치료를 얻기 위해 발명자는 본원의 항체에 대한 투여 및 양생법의 적절한 용량을 결정하였다.

[0161] 그러므로 가속화된 용량의 단계적 증가(dose escalation) 스케줄은 용량 수준 당 평가 가능한 한 개체로, 2 주마다 0.0001 mg/kg 내지 0.1 mg/kg 범위의 처음 5 회 용량 수준으로 사용되었다. 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg 및 20 mg/kg과 같은 그 이후의 용량 수준 모두는 2 주마다 투여되었고, 10 mg/kg 또한 매주 투여되었으며, 이는 용량 수준 독성에 근거한 용량의 단계적 증가에 대한 전형적인 3+3 설계에 따른 것으로, 사이클의 중간값은 투여에 대해 2.0 내지 50.0의 범위였다.

[0162] 본 연구 내에서, 발명자는 사용된 항체가 10 mg/kg보다 많은 최대 허용 투여량(maximum tolerated dose)으로 관리될 수 있는 안전한 프로필을 가진 것을 입증하였다.

[0163] 발명자에 의해 수행된 면역원성 연구는 인간 개체가 항-CD38 항체에 대한 항체를 생산하지 않음을 보여주었다.

[0164] 게다가, 낮은 용량에서 높은 수용체 점유에 의해 입증되어, 발명자는 본원의 항체가 인간에서 높은 결합 효율을 가지는 것을 보여줄 수 있다. 수용체 점유는 예를 들어 1 mg/kg의 용량 수준에서 탐지되었으며 2 주마다 10 mg/kg에서 84.1 내지 97.7%의 범위에 도달했다.

[0165] 수용체 점유는 전형적으로 CD38 항원의 다른 두 에피토프에 결합하는 두 모노클로날 항체(mAbs)를 사용하여 평가된다. mAb1은 동일한 에피토프, 예를 들어 hu38SB19에 대해 특이적이므로, (예를 들어 hu38SB19에 의해 점유되지 않은) 자유 CD38 부위의 리포터이다. hu38SB19와는 다른 에피토프로 향하는 이차 모노클로날 항체, mAb2는 CD38⁺ 세포의 존재에 대한 양성 조절 및 시험관내 약물 스파이킹(drug spiking) 후 세포 표면에 남아있는 CD38 항원의 양의 평가를 제공한다. 캘리브레이터로서의 비드의 사용 및 간접 탐지는 hu38SB19의 결합 능력의 어떠한 개질 없이 정량적 접근을 허용한다. 이러한 결과들의 조합은 세포 당 수용체 밀도 및 점유를 제공한다.

[0166] 0.03 내지 3 mg/kg 용량 범위에서 사이클 1에서의 C_{max} 에 비교하여 사이클 2에서의 C_{max} 의 상당한 증가는 없었다.

- [0167] 본 발명자는 항체가 5 mg/kg의 용량 수준에서 1 명의 환자 및 10 mg/kg의 용량 수준에서 5 명의 환자에서의 C_{max} 에 대한 임계값을 갖는 종양 성장 저해에 도달했음을 또한 입증했다.
- [0168] 발명자들은 특히 $CD38^{+}$ 혈액학적 악성종양, 상세하게는 $CD38^{+}$ 다발성 골수종, 가장 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 $CD38^{+}$ 다발성 골수종을 앓고 있는 개체는, 본원의 항- $CD38$ 항체가 1 mg/kg, 5 mg/kg 및 10 mg/kg의 용량으로 투여됐을 때 특별한 반응을 보이는 것을 입증했다.
- [0169] 발명자들은 특히, 종양 성장 저해 임계값은 5 mg/kg의 용량 수준에서 1 명의 환자 및 10 mg/kg의 용량 수준에서 5 명의 환자에서의 C_{max} 에서 도달했음을 관찰했다.
- [0170] 본원에 따르면, 항체는 약제로서 사용하기 위한 것으로, 상기 항체는 20 mg/kg 또는 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량에서 인간 개체에 투여된다.
- [0171] 일 구현예에서, 항체 $CD38^{+}$ 혈액학적 악성종양을 치료하기 위해, 상세하게는 다발성 골수종을 치료하기 위해, 가장 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종을 치료하기 위한 용도이다.
- [0172] 본원의 문맥에서 치료될 $CD38^{+}$ 혈액학적 악성종양은 " $CD38^{+}$ 혈액학적 악성종양" 섹션에서 정의된다.
- [0173] 인간 개체는 "개체" 섹션에서 상기와 같이 정의된다.
- [0174] 본원의 문맥에서, 본원에 기재된 바와 같은 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 이러한 용어가 적용되는 장애 또는 질환, 또는 이러한 장애 또는 질환의 하나 이상의 증상의 진행을 역전, 완화, 저해시키거나 예방하는 것을 의미한다.
- [0175] 본원에 기재된 바와 같은 용어 " $CD38^{+}$ 혈액학적 악성종양을 치료하는"은 종양의 $CD38^{+}$ 악성 세포의 성장 및/또는 상기 $CD38^{+}$ 종양으로부터의 전이의 진행의 저해를 의미한다. 이러한 치료는 또한 종양 성장의 퇴행, 즉, 측정 가능한 종양의 크기의 감소를 야기했다. 특히, 이러한 치료는 $CD38^{+}$ 종양 또는 $CD38^{+}$ 전이의 완전한 퇴행을 이끌었다.
- [0176] 본원의 문맥에서 항체의 "치료학적 유효량"은 발명자들에 의해 발견되고 본원에서 기재된 바와 같이 상기 $CD38^{+}$ 혈액학적 악성종양을 치료하기에 충분한 항체의 양을 의미한다.
- [0177] 특정 구현예에서, 개체에 투여된 항체의 상기 항체의 치료학적 유효량은 0.0001 mg/kg 내지 20 mg/kg 범위의 용량, 상세하게는 1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 더 상세하게는 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 7.5 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg 또는 20 mg/kg 범위의 용량이다.
- [0178] 일 구현예에서, 본원의 항체는 주 1 회 또는 2 주마다 1 회 투여될 수 있다.
- [0179] 다른 구현예에서, 개체에 투여된 항체의 상기 치료학적 유효량은 예를 들어 주 1 회 또는 2 주마다 1 회 1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 3 mg/kg 내지 20 mg/kg, 5 mg/kg 내지 20 mg/kg, 또는 10 mg/kg 내지 20 mg/kg 범위의 용량이다. 실제로, 이들 용량은 일부 개체에서 효능이 나타나는 동안 안정성을 보였다.
- [0180] 또 다른 구현예에서, 개체에 투여된 항체의 상기 치료학적 유효량은 주 1 회 10 mg/kg, 또는 예를 들어, 주 1 회 또는 2 주마다 1 회 20 mg/kg이다.
- [0181] 일부 구현예에서, 본원의 항체는 1 주 또는 2 주 투여 각각의 사이에 간격을 갖는 간헐적 프로그램에 따라 투여될 수 있으며, 이는 이전 투여에 대한 내성에 따라 1 내지 2 주 연장될 수 있다. 그러나 발명자 대부분 심각한 지 않은 부작용을 관찰하였다.
- [0182] 따라서, 특정 구현예에서, 항체의 투여는 이전의 사이클 후 직접적으로 신규한 사이클로 반복된다.
- [0183] 본원에 기재된 바와 같은 "사이클"은 '주 1 회' 투여의 경우 1 주를, '2 주마다 1 회' 투여의 경우 2 주에 상응하는 1 사이클을 의미한다.
- [0184] 일 구현예에서 투여 사이클의 수는 2 내지 50, 상세하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 45, 50 사이클일 수 있다.

- [0185] 따라서 본원의 항체의 투여 사이클 수는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 0, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 45, 50 사이클로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0186] 본원의 항체는 정맥내 투여된다.
- [0187] 일부 구현예에서, 용량은 질병 반응 평가 후 치료 동안 증가할 것이다.
- [0188] 본원의 문맥에서 최소 용량은 0.0001 mg/kg에 상응하며, 0.0001 mg/kg의 용량 수준은 정상 B 및 T 세포에서 10%의 이론적 CD38 수용체 점유를 나타낸다.
- [0189] 일부 구현예에서, 정맥내 투여는 특정 주입속도로 실시된다.
- [0190] 특히, 항체는 0.042 mg/hr 내지 250 mg/hr의 초기 주입 속도, 상세하게는 0.042 mg/hr의 초기 주입 속도로 투여될 것이다,
- [0191] 일부 구현예에서, 초기 주입 속도는 투여될 용량에 따른다.
- [0192] 따라서, 일 실시예에서, 본원의 항체는 전형적으로 예를 들어 총 3 mL에 대해서 0.042 mg/hr의 초기 주입 속도로 0.0001 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 0.42 mg/hr의 초기 주입 속도로 0.001 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 1.4 mg/hr의 초기 주입 속도로 0.01 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 4.2 mg/hr의 초기 주입 속도로 0.03 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 7 mg/hr의 초기 속도로 0.1 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 1.4 mg/hr의 초기 속도로 0.01 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 10.5 mg/hr의 초기 속도로 0.3 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 17.5 mg/hr의 초기 속도로 1 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 52.5 mg/hr의 초기 속도로 3 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 87.5 mg/hr의 초기 속도로 5 mg/kg의 용량으로, 예를 들어 175 mg/hr의 초기 속도로 10 mg/kg의 용량으로 및 예를 들어 250 mg/hr의 초기 속도로 20 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0193] 투여 동안 개체는 전형적으로 과민 반응의 징조가 관찰되며 투여는 과민 반응의 부재시에만 지속된다.
- [0194] 그러나 정확한 투여 시간(주 1 회 또는 2 주마다 1 회), 사이클 수 및 초기 주입 속도는 본원에서 기재된 수치 범위 내에 있을 것이나, 정확한 수치는 치료될 CD38⁺ 혈액학적 악성종양 및 장애의 심각성; 사용된 특이적 항체의 활성; 사용된 특이적 조성물, 개체의 연령, 체중, 일반 건강, 성별 및 식이를 포함하는 요소에 따라 임의의 특정 개체에 대해 담당의에 의해 결정될 수 있음이 이해될 것이다.
- [0195] 담당의가 질병 반응에 기초한 투여 양생법을 변형 및 적용할 수 있음이 이해될 것이다.
- [0196] "질병 반응"은 혈액학적 악성종양 및 단계에 대한 표준 기준에 따라 결정될 수 있다.
- [0197] 혈액학적 악성종양, 상세하게는 CD38⁺ 혈액학적 악성종양의 질환 반응을 평가하는 방법은 당업자에게 공지된다.
- [0198] 전형적으로 질병 반응을 평가하는 방법은 Karnofsky 수행 상태 평가, 특이적 마커의 정량, 골수 생검 및/또는 검사, 플라스마세포종의 방사선 이미지, 뼈 골격조사(Bone skeletal survey), M-단백질 정량(혈청 및/또는 24-시간 소변) 및 혈청 유리 경쇄 수준 또는 소변 경쇄 수준, 혈청 β 2-마이크로글로불린, 림프구 생검 및/또는 방사선 종양 평가(X-ray, 컴퓨터 단층촬영 [CT] 스캔, PET 스캔, 또는 자기 공명 영상[MRI]에 의함), 블라스트 카운트를 포함하는 혈액 계수로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0199] 혈액학적 악성종양의 질환 반응을 평가하는 가장 좋은 방법은 CD38⁺ 혈액학적 악성종양의 유형에 따른 것이며 당업자에게 공지된 것이다.
- [0200] 질병 반응의 평가로부터 수득된 결과에 근거한 질병 반응은 질병을 강조하기 위한 표준 기준에 따라 계층화되고 완전한 반응(complete response) 또는 완전한 차도(complete remission; CR), 부분 반응(partial response; PR), 안정적 질병(stable disease; SD) 또는 진행성 질병(progressive disease; PD)으로 분류될 수 있다.
- [0201] "Karnofsky 스코어"는 100 내지 0의 스코어를 의미하며, 100은 "완벽한" 건강이고 0은 사망이다.
- [0202] 반응 평가의 문맥에서 사용된 "마커"는 전형적으로 Hs-CRP, 종양 괴사 인자 알파(Tumor necrosis factor alpha; TNF- α), IL-6, IL-1- β , IFN- λ 및 CD38 수용체 밀도 및 점유와 같은 혈청 및/또는 혈장 마커를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0203] 일 실시예에서 다발성 골수종을 앓고 있는 개체에서의 질병 반응을 평가하기 위한 기술은 상기 설명한 바와 같은 골수 생검 및/또는 검사, 플라스마세포종의 방사선 이미지, 뼈 골격조사, M-단백질 정량 및 혈청 β 2-마이크

로글로볼린의 측정이다.

- [0204] 질병 반응 평가는 혈액 순환 중앙 세포(말초 혈액)에서의 수용체 밀도 및 수용체 점유, 골수 내의 블라스트 및 혈장 세포에서의 수용체 밀도 및 수용체 점유 및 인간 항-약물 항체(anti-drug antibody; ADA)의 수준을 추가로 포함할 수 있다.
- [0205] 본원의 항체는 치료 조성물을 형성하기 위해 약학적으로 허용 가능한 부형제, 및 임의로 생체분해성 고분자와 같은 서방성 매트릭스를 포함하는 약학적 조성물의 형태로 투여될 수 있다.
- [0206] "약학적으로" 또는 "약학적으로 허용 가능한"은 포유동물, 상세하게는 인간에게 적합하게 투여됐을 때 부작용, 알러지 또는 다른 부반응을 생산하지 않는 분자 성분 및 조성물을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제는 비-독성 고체, 반-고체, 또는 액체 충전제, 희석제, 캡슐화제 또는 임의의 유형의 제형 보조제를 의미한다.
- [0207] 본원의 항체를 포함하는 약학적 조성물의 형태는 개체의 치료할 질환, 병의 심각성, 연령, 체중 및 성별 등에 자연적으로 의존한다.
- [0208] 본원의 항체는 정맥내 투여를 위해 제형화된다.
- [0209] 특히, 본원의 항체를 포함하는 약학적 조성물은 주입할 수 있는 제형을 위해 약학적으로 허용 가능한 보형약을 함유할 수 있다. 이들은 특히 등장성, 멸균, 염류 용액(모노소듐 또는 디소듐 포스페이트, 나트륨, 칼륨, 칼슘 또는 마그네슘 클로라이드 등 또는 이러한 염의 혼합물), 또는 경우에 따라서 멸균수 또는 생리 식염수의 첨가 시에 주입 가능한 용액의 구성을 허용하는 건조, 상세하게는 동결-건조 조성물일 수 있다.
- [0210] 약학적 조성물을 제조하기 위해, 유효량의 본원의 항체가 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 수성 매체에 용해되거나 분산될 수 있다.
- [0211] 주입 가능한 용도에 적합한 약학적 형태는 멸균 수용액 또는 분산액 및 멸균 주사액 또는 분산액의 즉석 조제를 위한 멸균 파우더를 포함한다. 모든 경우에서, 형태는 멸균되어야 하며 용이한 주사능(syringability)이 존재하는 정도로 유동적이어야 한다. 이는 제조 및 보관 조건하에서 안정적이어야 하며 박테리아 및 균류와 같은 미생물의 오염 작용으로부터 보존되어야 한다.
- [0212] 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 이의 적합한 혼합물을 포함하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산의 경우 필요로 하는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제, 안정화제, 동해방지제 또는 항산화제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 항박테리아제 및 항진균제에 의해 야기될 수 있다. 많은 경우에서, 당류 또는 염화나트륨과 같은 등장성 제제를 포함하는 것이 바람직할 것이다.
- [0213] 멸균 주사액은 상기 열거된 몇몇의 다른 성분들을 갖는 적합한 용매 내에 필요로 하는 양으로 유효 성분을 혼합한 후, 필요로 한다면, 여과 및 멸균되어 제조된다. 일반적으로, 분산액은 다양한 멸균된 유효 성분을 기본 분산 매질 및 상기 열거된 성분으로부터 필요로 하는 다른 성분을 함유하는 멸균 보형제 내로 혼합하여 제조된다. 멸균 주사액의 조제를 위한 멸균 파우더의 경우에, 바람직한 제조 방법은 미리 멸균-여과된 이의 용액으로부터 임의의 추가 원하는 성분이 더해진 유효 성분의 파우더를 산출하는 진공-건조 및 동결-건조 기술이다.
- [0214] 제형에 따라, 용액이 투여 제형과 양립 가능한 방식으로 그리고 치료학적으로 유효한 양으로 투여될 것이다. 제형은 상기 기재된 주사액 유형과 같은 다양한 투여형으로 용이하게 투여되나, 약물 방출 캡슐 등도 또한 사용될 수 있다.
- [0215] 수용액 형태의 정맥내 투여를 위해, 예를 들어, 용액은 필요하다면 적합하게 완충화되어야 하며 액체 희석제는 우선 충분한 염수 또는 글루코스로 등장성이 되게 만들었다. 이들 특별한 수용액은 특히 정맥내 투여에 적합하다. 이와 관련하여, 사용될 수 있는 멸균 수성 배치는 본원을 고려하여 당업자에게 공지될 것이다. 예를 들어, 하나의 복용량은 1 mL 등장성 NaCl 용액에 용해되고 1000 mL 피하주입(hypodermoclysis) 유동체에 첨가되거나 제안된 주입 부위에 정맥내 주입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 ["Remington's Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, pages 1035-1038 및 1570-1580] 참조). 치료할 개체의 질환에 따라 복용량의 일부 변화가 반드시 발생할 것이다. 투여 책임자는 임의의 상황에서 개별적인 개체에게 적합한 용량을 결정할 것이다.
- [0216] 일 실시예에서 항체는 정맥내 투여용으로 제형화되므로 항체는 예를 들어 5 mg/mL(100 mg/20 mL)의 본원의 항체를 함유하는 바이알 내에 주입용 용액의 농축액으로서 존재한다.

- [0217] 개체로의 투여에서, 적합한 용적의 항체 제형이 전형적으로 예를 들어 0.9% 염화나트륨 용액의 주입 백(infusion bag) 내에 희석된다. 본원의 항체의 용량에 상응하는 최종 주입 용적은 투여될 용량 및 이에 따른 시간 당 주어진 단백질량에 따른 일정 기간 동안 투여된다.
- [0218] 특정 구현예에서, 본원에 따른 용도를 위한 항-CD38 항체는 네이키드 항체로서 투여된다. 네이키드 항-CD38 항체는 단독으로 또는 텍사메타손과 함께, 또는 임의로 텍사메타손과 함께 레날리도미드, 카르필조립, 볼테조립, 멜파란, 빈크리스틴, 사이타라빈 및 사이클로포스파미드로 구성된 군으로부터 선택된 화학요법 약물과 조합하여 투여될 수 있다. 단독으로 투여되지 않는다면, 항-CD38 항체 및 다른 약물(들)은 동시에 또는 별도로(예를 들어 일정 기간 동안 순차적으로) 투여될 수 있다.
- [0219] 본원의 항체는 피로, 메스꺼움, 발열, 기침, 구토, 고칼슘혈증, 두통, 변비, 골통, 오한, 설사, 폐렴, 빈혈증, 미각부전, 저칼륨혈증, 열 및 과혈당을 예방하거나 조절하기 위한 약제와 조합하여 투여될 수 있다.
- [0220] 다른 구현예에서, 피로, 메스꺼움, 발열, 기침, 구토, 고칼슘혈증, 두통, 변비, 골통, 오한, 설사, 폐렴, 빈혈증, 미각부전, 저칼륨혈증, 열 및 과혈당을 예방하거나 조절하기 위한 약제는 항체 치료 전에 투여될 수 있다.
- [0221] 본원의 문맥에서, 의사는 질병 반응을 평가하여 투여 양생법을 개작할 수 있다.
- [0222] 본 출원 전체에서, 용어 "포함하는(comprising)"은 특이적으로 언급된 특징뿐만 아니라 임의의, 추가의, 특정되지 않은 특징도 모두 포함하는 것으로 해석될 것이다. 본원에 기재된 바와 같은, 용어 "포함하는"의 사용은 또한 특이적으로 언급된 특징 이외의 다른 특징이 존재하지 않는 구현예를 나타낸다(즉, "구성된(consisting of)").
- [0223] 본원의 다수의 구현예는 설명의 목적으로 하기에 더 나타내나, 본원을 제한하는 것은 아니다:
- [0224] 아이템 1: 일 구현예에서, 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종을 갖는 환자의 치료 방법이 CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 항체는 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 환자에게 투여되는 것으로 기술됐다.
- [0225] 아이템 2: 다른 구현예에서, 약학적 조성물은 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종의 치료시 약제로서 사용하기 위해 CD38에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하며, 상기 항체는 20 mg/kg 이하의 안전한 치료학적 용량으로 인간 개체에게 투여되는 것으로 기술됐다.
- [0226] 아이템 3: 다른 구현예에서, 항체가 아포토시스, 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC), 및 보체-의존성 세포독성(CDC)의 유도에 의해 인간 개체에서 CD38⁺ 세포를 사멸시킬 수 있는, 아이템 1 또는 2에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0227] 아이템 4: 다른 구현예에서, 또한 환자가 (a) 약 0.5 g/dL 초과와 측정 가능한 혈청 M-단백질 수준, (b) 약 200 mg 초과와 소변 M-단백질 수준(24-시간 소변), (c) 비정상 FLC 비율을 가진 약 10 mg/dL 초과와 혈청 유리 경쇄(FLC)의 증가된 수준, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 질환을 갖는, 아이템 1 내지 3 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0228] 아이템 5: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 적어도 하나의 중쇄 및 적어도 하나 경쇄를 포함하며, 상기 중쇄는 SEQ ID NO: 13, 37, 및 15로 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적인 상보성-결정 영역(CDRs)을 포함하며, 상기 경쇄는 SEQ ID NO: 16, 17, 및 18로 나타내는 아미노산 서열을 갖는 세 개의 순차적인 상보성-결정 영역(CDRs)을 포함하는, 아이템 1 내지 4 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0229] 아이템 6: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 SEQ ID NO: 50으로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 적어도 하나의 중쇄 및 SEQ ID NO: 52로 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 적어도 하나의 경쇄를 포함하는, 아이템 1 내지 5 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0230] 아이템 7: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량이 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg인, 아이템 1 내지 6 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0231] 아이템 8: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량이 약 5 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 20 mg/kg인, 아이템 1 내지 6 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0232] 아이템 9: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량의 상기 항체가 정맥내 투여되는, 아이템 1 내지 8 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.

- [0233] 아이템 10: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량의 상기 항체가 주 1 회 또는 2 주마다 1 회 투여되는, 아이템 1 내지 9 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0234] 아이템 11: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량이 2 주마다 1 회 투여되는 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg인, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0235] 아이템 12: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량이 주 1 회 투여되는 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg인, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0236] 아이템 13: 다른 구현예에서, 또한 안전한 치료학적 용량의 상기 항체가 약 0.042 mg/hr 내지 약 250 mg/hr 범위의 초기 주입 속도로 투여되는, 아이템 1 내지 12 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0237] 아이템 14: 다른 구현예에서, 또한 항체가 텍사메타손과 병용하여 투여되는, 아이템 1 내지 13 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0238] 아이템 15: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 약 20 mg/kg 이하의 용량으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 항체에 대한 자가항체를 생성하지 않는, 아이템 1 내지 14 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0239] 아이템 16: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 2 주마다 약 1 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 상기 인간 개체에서 탐지 가능한 CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0240] 아이템 17: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 2 주마다 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg의 용량 수준으로 인간 개체에 투여됐을 때 인간 개체에서 적어도 약 84.1% CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0241] 아이템 18: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 2 주마다 약 10 mg/kg 또는 약 20 mg/kg의 용량 수준으로 상기 인간 개체에 투여됐을 때 인간 개체에서 적어도 약 97.7% CD38 수용체 점유를 나타낼 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0242] 아이템 19: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 2 주마다 약 5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 상기 인간 개체에 투여됐을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0243] 아이템 20: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 매주 약 5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 상기 인간 개체에 투여됐을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0244] 아이템 21: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 2 주마다 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 상기 인간 개체에 투여됐을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0245] 아이템 22: 다른 구현예에서, 또한 상기 항체가 매주 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 범위의 용량 수준으로 상기 인간 개체에 투여됐을 때 인간 개체에서 종양 성장을 저해할 수 있는, 아이템 1 내지 10 중 어느 하나에 따른 방법 또는 약학적 조성물이 본원에 기술됐다.
- [0246] 아이템 23: 다른 구현예에서, 또한 아이템 1 내지 22 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 포함하는 단위 투여형이 본원에 기술됐다.
- [0247] 아이템 24: 다른 구현예에서, 또한 아이템 1 내지 22 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 및 컨테이너를 포함하는 제조 물품이 본원에 기술됐다.
- [0248] **서열의 간단한 설명**
- [0249] SEQ ID NO: 1-3은 "38SB13" 항체의 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H의 서열을 보인다.
- [0250] SEQ ID NO: 4-6은 "38SB13" 항체의 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L의 서열을 보인다.
- [0251] SEQ ID NO: 7-9는 "38SB18" 항체의 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H의 서열을 보인다.

- [0252] SEQ ID NO: 10-12는 "38SB18" 항체의 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L의 서열을 보인다.
- [0253] SEQ ID NO: 13-15는 "38SB19" 항체의 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H의 서열을 보인다.
- [0254] SEQ ID NO: 16-18은 "38SB19" 항체의 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L의 서열을 보인다.
- [0255] SEQ ID NO: 19-21은 "38SB30" 항체의 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H의 서열을 보인다.
- [0256] SEQ ID NO: 22-24는 "38SB30" 항체의 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L의 서열을 보인다.
- [0257] SEQ ID NO: 25-27은 "38SB31" 항체의 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H의 서열을 보인다.
- [0258] SEQ ID NO: 28-30은 "38SB31" 항체의 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L의 서열을 보인다.
- [0259] SEQ ID NO: 31-33은 "38SB39" 항체의 CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H의 서열을 보인다.
- [0260] SEQ ID NO: 34-36은 "38SB39" 항체의 CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L의 서열을 보인다.
- [0261] SEQ ID NO: 37은 인간화 "38SB19" 항체의 CDR2-H의 서열을 보인다.
- [0262] SEQ ID NO: 38- 43은 항체의 VL 서열을 보인다.
- [0263] SEQ ID NO: 44- 49는 항체의 VH 서열을 보인다.
- [0264] SEQ ID NO: 50- 51은 인간화 항체의 VH 서열을 보인다.
- [0265] SEQ ID NO: 52-55는 인간화 항체의 VL 서열을 보인다.
- [0266] SEQ ID NO: 56-61은 항-CD38 항체의 경쇄 및 중쇄의 클로닝 및 서열결정을 위한 1차 라운드 PCR 반응을 위해 사용된 프라이머의 서열을 보인다.
- [0267] SEQ ID NO: 62-63은 항-CD38 항체의 경쇄 및 중쇄의 클로닝 및 서열결정을 위한 38SB19 2차 라운드 축퇴성 PCR 반응을 위해 사용된 5' 말단 묶임 리더 서열 프라이머를 보인다.
- [0268] 본원은 하기 실시예에 의해 더 설명될 것이다.
- [0269] **실시예 1**
- [0270] 발명자는 항체 hu38SB19를 위해, CD38⁺ 혈액학적 악성종양, 상세하게는, 다발성 골수종, 더 상세하게는 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종을 앓고 있는 환자를 치료할 수 있는 적절하게 허용된 항암 치료를 얻기 위한 투여 및 양생법의 적절한 용량을 결정하였다.
- [0271] 그러므로 하기 실시예는 인간의 다발성 골수종과 같은 CD38⁺ 혈액학적 악성종양의 유효한 치료를 위해 이러한 특이적 항-CD38 항체 hu38SB19의 안전한 치료학적 용량을 입증하는 1상 임상실험의 결과를 나타낸다.
- [0272] **환자**
- [0273] 총 32명의 환자가 연구에서 치료되었다. 집단의 40.6%는 여성이었으며; 평균 연령은 64.8(±8.8)세였다. Kornofsky 상태는 모든 환자에서 60% 초과였다.
- [0274] 32명의 환자는 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)을 갖는 3명의 환자, 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 갖는 2명의 환자, 및 다발성 골수종(MM)을 갖는 27명의 환자를 포함했다.
- [0275] 다발성 골수종 환자의 80.0%는 평균 연령 63.6(±8.0)세의 여성이었다. 다발성 골수종 환자는 이전의 항암 요법으로서 케이스의 100%에서 볼테조립, 92.6%에서 레날리도미드, 및 81.5%에서 자가 줄기 세포 이식(ASCT)을 받았다.
- [0276] **방법**
- [0277] 네이키드 인간화 IgG1 모노클로날 항체(mAb) hu38SB19를 표준 요법 중 또는 후에 진행하거나 유효한 표준 요법이 존재하지 않는 선택된 CD38⁺ 혈액학적 악성종양을 갖는 성인 환자에게 매주(QW) 또는 2 주(Q2W) 마다 단일 제제 IV 주입으로 투여되었다.
- [0278] 가속화된 용량 단계적 증가 스케줄은 독성 용량 수준(DLT)을 실험하지 않으면 용량 수준 당 1 명의 평가 가능한 환자로 처음 5회 용량 수준(DL)(2 주마다 0.0001 mg/kg 내지 0.1 mg/kg)에 대해 사용되었다. 모든 후속 용량

수준(2 주마다 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg 및 매주 10 mg/kg)이 용량 수준 독성에 근거한 용량 단계적 증가를 위한 전형적인 3+3 설계를 따랐다.

[0279] 32명의 환자는 용량 수준 독성 종점(endpoint) 평가에 대해 그리고 32명의 환자는 종양 반응 평가에 대해 평가 가능하였다.

[0280] 사이클의 중간값은 2.0 내지 50.0의 범위이다.

[0281] 결과

[0282] 32명의 환자는 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)을 갖는 3명의 환자, 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 갖는 2명의 환자, 및 다발성 골수종(MM)을 갖는 27명의 환자를 포함하여 모든 용량 수준으로 치료되었다.

[0283] 2 주마다 20 mg/kg의 용량 수준 및 주 1 회 10 mg/kg 용량에 관한 연구는 현재 평가되고 최대 허용 용량은 도달되지 않았다.

[0284] 용량 제한 독성은 DL 0.3 mg/kg에서 사이클 1 및 DL 3.0 mg/kg에서 사이클 1 동안 그레이트 2(Grade 2) 주입 반응으로 제한된다. 이는 메틸프레드니손, 디펜히드라민, 라니티딘 및 아세트아미노펜으로 정기적 전처리의 구현에 의해 경감되었다.

[0285] 인과관계와 상관없이 모든 용량 수준에서 가장 빈번하게 발생한 부작용($\geq 10\%$)은, 피로(46.9%), 메스꺼움(31.3%), 발열(28.1%), 기침(25%), 구토(21.9%), 고칼슘혈증(18.8%)이며, 환자의 15.6%에서 두통, 변비, 골통, 오한 및 설사가 각각 발생한다. 게다가, 환자의 12.5%에서 폐렴, 빈혈, 미각부전 및 저칼슘혈증이 각각 발생했다.

[0286] 치료와 관련된 심각한 부작용은 열(3.1%), 고칼슘혈증(3.1%) 및 하나의 그레이트 2 주입 반응(3.1%)과 연관된 그레이트 3 폐렴(6.3%)을 포함한다.

[0287] 2 주마다 1.0 mg/kg 내지 10 mg/kg의 용량 수준으로 치료된 19명의 환자 중, 1명은 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 갖고, 1명은 비-호지킨 림프종(NHL)을 갖고 17명은 다발성 골수종(MM)을 가졌다.

[0288] 17명의 다발성 골수종 환자는 더 나이가 많고 예비치료를 많이 받은 환자였다; 64세의 평균 연령(범위: 55-74); 및 평균 7회의 이전 양생법(범위: 2-14). 모든 MM 환자는 이전에 레날리도미드 및 볼테조밋을 받았었다. 진단에서부터 hu38SB19로의 1차 투여까지의 평균 시간은 6. 8년이였다(범위 1.8 - 16.8년).

[0289] European Group for Bone Marrow and Transplant(EBMT) 다발성 골수종 기준에 따라, 이 군에서의 반응(도 1)은 1 mg/kg(n = 3) 및 5 mg/kg(n=3)에서 1명의 부분 반응(PR), 및 3 mg/kg(n = 6)의 용량 수준에서 1명의 최소 반응(MR)을 포함하였다. 용량 수준 10 mg/kg은 치료된 6 명의 다발성 골수종 환자 중에서 3명의 부분 반응(PR) 및 2명의 안정적 질병(SD)을 입증했다.

[0290] 1 mg/kg DL 또는 초과로 치료된 19명의 환자에서 평균 치료 시간은 8주(범위: 2-50주)이다.

[0291] 면역원성 연구는 항-hu38SB19 항체를 보이지 않았다.

[0292] 수용체 점유는 1 mg/kg의 용량 수준으로부터 탐지될 수 있으며 10 mg/kg에서 84.1 내지 97.7%의 범위에 도달될 수 있다.

[0293] 약동학 분석(pharmacokinetic analysis; PK)은 5 mg/kg 및 10 mg/kg 사이의 유사한 범위에서 클리어런스(clearance)를 갖는 0.03 내지 10 mg/kg 용량 범위 전반에서 노출의 용량 비례 증가보다 더 높음을 보인다.

[0294] 누적은 0.03 내지 3 mg/kg 용량 범위 전반에서 사이클 2에서의 C_{max} 에 근거하여 관찰되지 않았다.

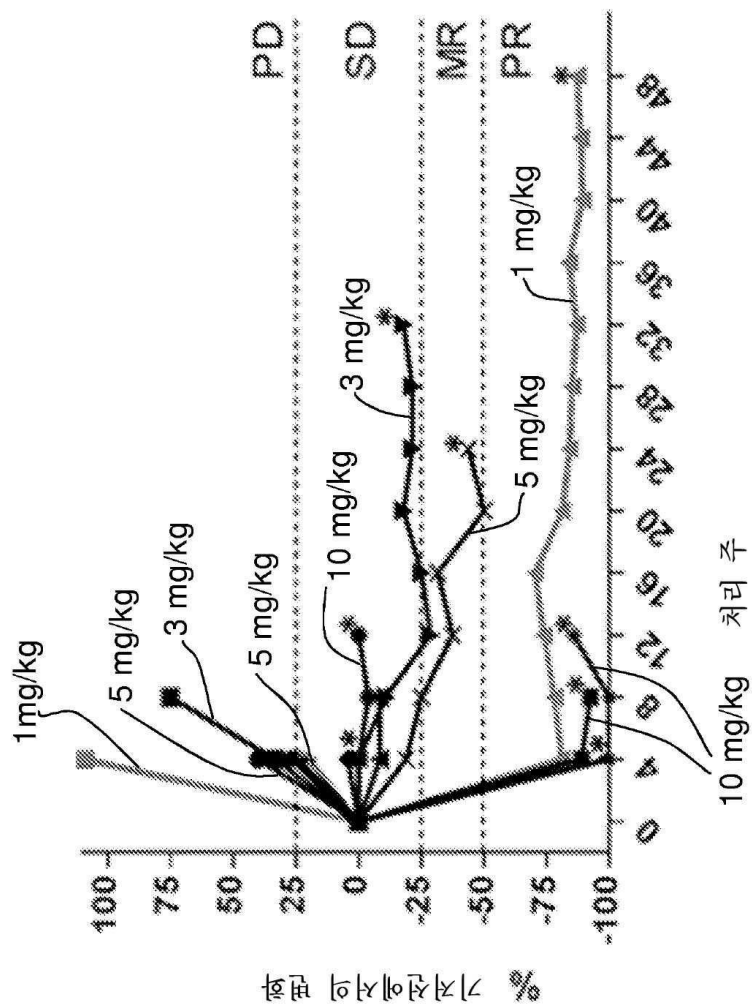
[0295] 종양 성장 저해 임계값은 DL 5 mg/kg에서 1명의 환자 및 DL 10 mg/kg에서 5명의 환자에 대해 C_{max} 에 이르렀다.

[0296] 항-CD38 항체 hu38SB19는 예비치료를 많이 받은 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종 환자를 포함하는 환자에서 단일 제제 활성을 고무시킴을 입증한다.

[0297] 본 출원 전체에서 인용되거나 하기 열거된 모든 인용문헌(문헌 참조, 특허, 특허 출원 및 웹사이트)의 내용은 모든 목적을 위해 본원에 그의 전체가 참고로 명확하게 통합된다. 본원은 다른 방식으로 나타내지 않는 한, 당 분야에서 공지된 면역학, 분자 생물학 및 세포 생물학의 통상적인 기술을 사용할 수 있다.

도면

도면1



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Sanofi
- <120> Specific anti-CD38 antibodies for treating human cancers
- <130> 562803
- <160> 63
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> Mus sp.
- <400> 1

Ser Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 2

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210

> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 3

Arg Gly Phe Ala Tyr

1 5

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 4

Arg Ala Ser Glu Ser Val Glu Ile Tyr Gly Asn Gly Phe Met Asn

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 5

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 6

Gln Gln Ile Asn Glu Asp Pro Phe Thr

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 7

Asn Ser Gly Met Asn

1 5

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 8

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 9

Arg Gly Phe Val Tyr

1 5

<210> 10

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 10

Arg Ala Ser Glu Ser Val Ala Ile Tyr Gly Asn Ser Phe Leu Lys

1 5 10 15

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 11

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 12

Gln Gln Ile Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 13

Asp Tyr Trp Met Gln

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 14

Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 15

Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 16

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val Val Ala

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 17

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 18

Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 19

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 19

Gly Ser Trp Met Asn

1 5

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 20

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

1 5 10 15

Asp

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 21

Trp Gly Thr Phe Thr Pro Ser Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 22

Lys Ala Ser Gln Asp Val Val Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 23

Ser Ala Ser His Arg Tyr Thr

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 24

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Thr Thr

1 5

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 25

Ser Tyr Thr Leu Ser

1 5

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 26

Thr Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 27

Asp Phe Asn Gly Tyr Ser Asp Phe

1 5

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 28

Lys Ala Ser Gln Val Val Gly Ser Ala Val Ala

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 29

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 30

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 31

Asn Phe Gly Met His

1 5

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 32

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

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 33

Ser Tyr Tyr Asp Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 34

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 35

Ser Ala Ser Ser Arg Tyr Ser

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 36

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 37

Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213>

> Mus sp.

<400> 38

```

Asn Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1           5           10          15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Glu Ile Tyr
          20          25          30
Gly Asn Gly Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
          35          40          45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
          50          55          60

```

```

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asp
65          70          75          80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn
          85          90          95
Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
          100         105         110

```

<210> 39

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 39

```

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

1           5           10          15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ala Ile Tyr
          20          25          30
Gly Asn Ser Phe Leu Lys Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
          35          40          45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
          50          55          60

```

```

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

65          70          75          80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn

```

85 90 95
 Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<210> 40

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 40

Asp Ile Val Met Ala Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
 20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 41

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 41

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Leu Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Val Thr Ala
 20 25 30

Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Ala Ser His Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ile Ser Val Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Phe Arg Arg
100 105

<210> 42

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 42

Asp Thr Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Ile Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Val Val Gly Ser Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 43

<

211> 108

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 43

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ile Met Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Ser Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Leu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

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

100 105

<210> 44

<211> 114

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 44

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Phe

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

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

Ser Ala

<210> 45

<211> 114

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 45

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

1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Ser
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Ser Ala Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Ile Ser Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ala

<210> 46

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 46

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Thr

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 47

<211> 119

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Arg Asp Lys Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Thr Phe Thr Pro Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 48

<211> 117

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 48

Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Thr Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Thr Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Asp Phe Asn Gly Tyr Ser Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 49

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 49

Asn Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ala Tyr Ile Arg Ser Gly Ser Gly Thr Ile Tyr Tyr Ser Asp Thr Val

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Ser Tyr Tyr Asp Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115 120

<210> 50

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30
Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr

65 70 75 80
Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 51

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
Thr Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ala Thr Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
Thr Arg Asp Phe Asn Gly Tyr Ser Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 52

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

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

Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 53

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Asp Ile Val Met Ala Gln Ser His Leu Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 54

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Val Val Gly Ser Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Asp Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 55

<

211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Val Val Gly Ser Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100

<210> 56

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 56

ggaggatcca tagacagatg ggggtgtcgt ttggc 36

<210> 57

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 57

ggaggatccc ttgaccaggc atcctagagt ca 32

<210> 58

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<220><221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> s is g or c

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> r is a or g

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> n is a, c, g, or t
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> m is a or c
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> s is g or c
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)..(28)
 <223> s is g or c
 <400> 58
 ctctccggaat tcsargtnma gctgsagsag tc
 <210> 59
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> s is g or c
 <220><221> misc_feature
 <222> (15)..(15)

 <223> r is a or g
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> n is a, c, g, or t
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> m is a or c
 <220><221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> s is g or c
 <220><221> misc_feature
 <222> (28)..(28)

32

<223> s is g or c

<220><221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> w is a or t

<400> 59

cttccggaat tcsargtnma gctgsagsag tcwgg

35

<210> 60

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> y is a or g

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> m is a or c

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> s is g or c

<220><221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> m is a or c

<220><221> misc_feature

<222> (25)..(25)

<223> r is a or g

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> w is a or t

<220><221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> m is a or c

<400> 60

ggagctcgay attgtgmtsa cmcarwctmc a 31

<210> 61

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 61

tatagagctc aagcttggat ggtgggaaga tggatacagt tgggtgc 46

<210> 62

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 62

atggagtcac agattcaggt c 21

<210> 63

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 63

ttttgaattc cagtaacttc aggtgtccac tc 32