



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0007087
(43) 공개일자 2022년01월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) G01N 33/50 (2017.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7039415
- (22) 출원일자(국제) 2020년05월04일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년12월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2020/062289
- (87) 국제공개번호 WO 2020/225196
국제공개일자 2020년11월12일
- (30) 우선권주장
19172495.4 2019년05월03일
유럽특허청(EPO)(EP)

- (71) 출원인
모르포시스 아게
독일 프라네그 디-82152, 체멜바이스스트라쎄 7
- (72) 발명자
쿠파 크리스티안
독일 82152 프라네그 체멜바이스스트라쎄 7 모르포시스 아게
핑게를레 - 로브슨 권터
독일 82152 프라네그 체멜바이스스트라쎄 7 모르포시스 아게
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장훈

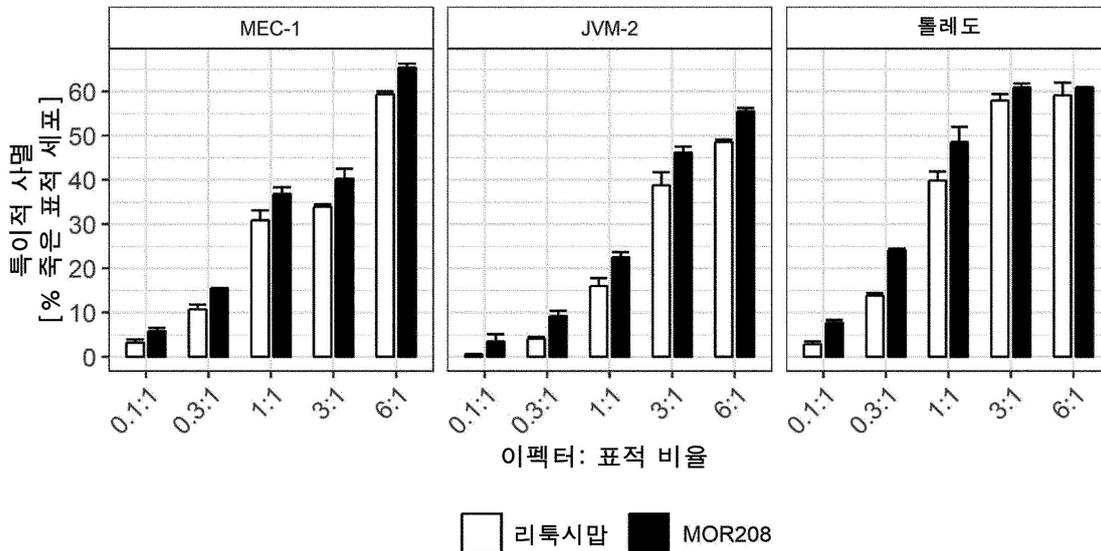
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 제한된 수의 NK 세포를 갖는 환자에서의 항-CD19 치료제

(57) 요약

본 개시는 항-CD19 항체 (MOR00208, XmAb5574)를 이용한 치료로부터 이익을 얻는 환자의 특징 및 바이오마커를 제공한다. 또한, 본 출원은 기준선에서 100 NK 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자에서 백혈병 또는 림프종 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

G01N 33/5094 (2013.01)
A61K 2039/55 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
G01N 2800/52 (2021.08)

(72) 발명자

빈더리흐 마르크

독일 82152 프라네그 제멜바이스스트라쎄 7 모르포
시스 아게

엔텔 안

독일 82152 프라네그 제멜바이스스트라쎄 7 모르포
시스 아게

명세서

청구범위

청구항 1

혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체로서, 상기 환자는 기준선에서 100 NK 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함하는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 3

제1항 내지 제2항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체는 서열

EVQLVESGGGLVHPGGLKLSKAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLIEWIGYINPYNDGTYNEKFKQGRVTISSEKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄

및 서열

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄를 포함하는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19는 서열

EVQLVESGGGLVHPGGLKLSKAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLIEWIGYINPYNDGTYNEKFKQGRVTISSEKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄

및 서열

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄를 포함하는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체는 하나 이상의 추가 억제학적 제제와 조합하여 투여되는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 억제학적 제제는 생물학적 제제 또는 화학요법 제제 또는 이의 억제학적으로 허용가능한 염인 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 하나 이상의 억제학적 제제는 치료 항체 또는 항체 단편, 질소 머스타드, 퓨린 유사체,

탈리도마이드 유사체, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, BCL-2 억제제, 브루톤 티로신 키나제 (BTK) 억제제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 하나 이상의 약제학적 제제는 리툭시맙, R-CHOP, 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜파란, 벤다무스틴, 메르캅토피린, 아자티오프린, 티오구아닌, 플루다라빈, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말리도마이드, 이델라리십, 두벨리십, 코판리십, 이브루티닙, 베네토클락스 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액암 환자는 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종 (NHL), 소림프구성 림프종 (SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)을 갖는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 갖는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 외투 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 비호지킨 림프종은 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)인 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD19 항체는 하기 특징 중 하나 이상을 증가시키는 것인, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체:

- (i) 무진행 생존 (PFS),
- (ii) 객관적 반응률 (ORR),
- (iii) 반응 지속기간 (DoR),
- (iv) 전체 생존 (OS),
- (v) 진행까지의 시간 (TTP).

청구항 14

항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함하는 것인 방법:

- a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,
- b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및
- c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.

청구항 15

제14항에 있어서, 하기 단계를 더 포함하는 것인, 방법:

- d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는 항-CD19 항체를 사용한 치료로부터 이익을 얻는 환자의 특징 및 바이오마커를 확인하는 것에 관한 것이다. 또한, 본 개시는 제한된 수의 NK 세포를 갖는 환자에서 백혈병 또는 림프종의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] CD19는 2개의 세포의 면역글로불린-유사 도메인 및 광범위한 세포질내 꼬리(cytoplasmic tail)를 함유하는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 95-kDa 막투과성 당단백질이다. 상기 단백질은 범-B(pan-B) 림프구 표면 수용체이며, 전-B(pre-B) 세포 발달의 초기 단계부터 혈장 세포로의 최종 분화 동안 하향-조절될 때까지 계속 편재적으로 발현된다. 이는 B-림프구 계통 특이적이며, 일부 여포상 수지상세포를 제외하고, 조혈줄기세포 및 다른 면역세포 상에서는 발현되지 않는다. CD19는 B 세포 수용체 (BCR) 신호전달의 양성 조절자로서 기능하며, B 세포 활성화 및 증식을 위해 그리고 체액성 면역반응의 발달에 중요하다. 이는 CD21 및 CD81과 함께 공동-자극 분자로서 작용하며, T-세포-의존성 항원에 대한 B 세포 반응에 매우 중요하다. CD19의 세포질내 꼬리는 단백질 티로신 키나제의 src-패밀리를 통해 하류 신호전달 경로를 유발하는 티로신 키나제 패밀리와 물리적으로 연관되어 있다. CD19는 거의 모든 만성 림프구성 백혈병 (CLL) 및 비호지킨 림프종 (NHL), 뿐만 아니라 급성 림프구성 백혈병 (ALL) 및 털세포 백혈병 (HCL)을 포함하는, 여러 다른 상이한 유형의 백혈병에서 고도로 발현되므로, 림프구성 기원의 암에 대한 매력적인 표적이다.

[0003] MOR00208 (이전 명칭: XmAb®5574)은 B-세포 수용체 신호전달에 관여하는 막투과성 단백질인, 항원 CD19를 표적으로 하는 인간화 단클론성 항체이다. MOR00208은 IgG Fc-영역을 조작하여 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 강화시켰으며, 이에 따라 종양 세포 사멸을 위한 핵심 매커니즘을 개선하고, 종래의 항체, 즉 비-강화된 항체와 비교하여 강화된 효능을 위한 잠재력을 제공한다. MOR00208은 여러 임상 시험에서, 예컨대 CLL, ALL 및 NHL에서 연구되었거나 현재 연구되고 있다. 이러한 시험 중 일부에서 MOR00208은 이델라리십, 레날리도마이드 또는 베네토클락스와 조합하여 사용된다.

[0004] B-MIND라고 하는 II/III상 시험에서, 벤다무스틴 (BEN)과 조합된 MOR00208의 효능 및 안전성은 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)을 가진 성인 환자에서 평가된다. 이 연구에서 MOR00208 + BEN 조합은 리톡시맙 (RTX) 및 BEN의 조합과 비교된다. 키메라 마우스/인간 항체 리톡시맙은 재발성 또는 불응성 저등급 또는 여포성 CD20 양성 B-세포 비호지킨 림프종 (NHL)을 가진 환자의 치료를 위해 1997년에 미국 식품의약국 (FDA)에 의해 처음으로 승인되었다. 유럽에서, 리톡시맙은 1998년에 NHL 환자의 치료를 위해 승인되었다.

[0005] 최근, B 세포 악성종양을 가진 환자를 위한 치료 옵션의 수가 증가하였으며, 단클론성 항체 (mAb) 및 mAb 기반 치료제의 임상적 효능은 대부분 화학요법과 조합하여 수많은 혈액 악성종양에서 입증되었다. 그러나, B 세포 악성종양을 가진 상당한 수량의 환자는 이러한 조합된 항체 화학요법에 대한 반응으로 초기 종양 관해 후 불응성 또는 재발성이다. 전반적으로, 다양한 환자 프로파일을 기반으로 하는 항체 치료제에 대한 환자의 가변적 반응률이 관찰된다. 치료의 성공을 더욱 최적화하기 위해서는 어떤 환자가 이러한 항체 치료제에 반응할 가능성이 있고/있거나 가장 잘 반응하는지 정확하게 예측하기 위한 추가 방법이 필요하다. 이러한 치료제에 대한 반응성과 각각의 바이오마커의 특정한 농도 또는 범위와 상관관계가 있는, 특정한 바이오마커 또는 환자의 특징이 발견될 수 있다.

[0006] 따라서, 항-CD19 항체를 포함하는 치료제로 암 치료와 관련하여 사용하기 위한 바이오마커 또는 특이적 환자 특징을 사용하는 방법에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 내용

발명의 요약

[0007] 리톡시맙, 시클로포스파미드, 독소루비신 염산염 (히드록시다우노마이신), 빈크리스틴 황산염 (온코빈) 및 프레드니손 (총칭하여 "R-CHOP"으로 알려짐)으로 치료받은 DLBCL 환자의 생존에 대한 자연 살해 (NK) 세포 수 (NKCC)의 영향은 Kim 등, Blood Research, 49:3, 162-169 (2014, 9월)에서 평가되었다. 앞서, 말초 NK 세포 수가 aaIPI 2-3 DLBCL 환자에서 임상 결과와 관련이 있는 것으로 보고되었다 (Plonquet 등, Ann Oncol 2007;

18:1209-15).

- [0009] 오늘까지, 기준선에서 NKCC가 항-CD20 함유 양성법을 이용한 B 세포 림프종의 치료에 대한 예후적 가치가 있음을 시사하는 증거가 나타났다 (He 등, Blood Cancer J. 2016 Aug; 6(8); Kim 등, Blood Res. 2014 Sep;49(3):162-9; Klanova 등, Blood 2017 130:727). 이전에 치료를 받은 적이 없는 FL 및 DLBCL (GALLIUM, GOYA)을 가진 2,000명 이상의 환자를 포함하는 대규모 시험에서, 기준선에서의 NKCC는 다변량 분석에 의해 독립적인 예후 매개변수인 것으로 나타났다. 기준선에서 NKCC_{high}인 환자는 NKCC_{low} 환자와 비교하여 더 나은 예후와 상관관계가 있었다. 대부분의 연구에서 컷-오프는 두 하위집단 간의 가장 높은 차등적 효과를 기반으로 선택되었으며, 일관되게 100 NK 세포/ μ L 혈액 범위에 있었다. 일반적으로 항-CD19 항체 치료제의 경우에도 NKCC_{high} 환자에 대한 양성 예후 (>100 NK 세포/ μ L 혈액)가 WO2017/207574호에 개시되어 있고, MOR00208C201 연구에서 적어도 100 NK 세포/ μ L의 컷-오프가 DLBCL 및 FL에서 MOR00208 단독요법의 치료 결과에 대한 예후로서 사용되었다.
- [0010] 그러나, 혈액암을 앓고 있는 상당수의 NKCC_{low} 환자도 있다. 따라서, 이러한 환자는 이들의 낮은 NKCC를 기반으로 암울한 예후를 갖는 것으로 간주되며, 이는 이 특정한 환자 하위집단에 대한 특정한 높은 미충족의 의학적 요구로 해석된다.
- [0011] 본 개시는 B 세포 악성종양, 예컨대 비호지킨 림프종(NHL), 만성 림프구성 백혈병(CLL) 및/또는 급성 림프구성 백혈병(ALL)을 앓고 있는 NKCC_{low} 환자의 치료를 위한 개선된 방법에 관한 것이다. 본 개시는 특히 NKCC_{low} 환자에서 B 세포 악성종양, 예컨대, 비호지킨 림프종, 만성 림프구성 백혈병 및/또는 급성 림프구성 백혈병의 치료를 위한 CD19에 특이적인 항체에 관한 것이다.
- [0012] 본 개시에서 MOR00208의 ADCC 활성은 다양한 이펙터 대 표적 (E:T) 비율로 B-세포 종양 세포주에서 항-CD20 항체 리톡시맙의 ADCC 활성과 비교되었다. 리톡시맙은 이러한 적응증에서 황금 표준 치료로 설명될 수 있다. 표적 세포주는 CD19 및 CD20 수준을 갖는 DLBCL, MCL 및 CLL로부터 유래되었으며, 이는 Boltezar 등 2018, Ginaldi 등 1998 및 Olejniczak 등 2006에 의해 보고된 바와 같이 B-세포 종양 환자 샘플에서 발견 수준의 범위에 있다. 여러 세포주에 대한 ADCC 분석에서 각각의 E:T 비율을 사용하여 MOR00208 대 리톡시맙의 우월성 및 NKCC 간의 잠재적 상관관계를 설명하였다. 얻어진 데이터는 E:T 비율이 감소함에 따라 MOR00208의 상대적 이점이 증가함을 보여주었으며, 따라서 NKCC_{low} 하위집단에서 MOR00208 우월성에 대한 근거를 제공한다. 컷-오프 결정에 이용가능한 데이터를 기반으로 NKCC_{low} 하위집단은 기준선에서 100 NK 세포/ μ L 이하를 갖는 환자로 정의된다.
- [0013] 따라서, B 세포 악성종양, 예컨대, 비호지킨 림프종, 만성 림프구성 백혈병 및/또는 급성 림프구성 백혈병으로 진단되고, 기준선에서 100 세포/ μ L 이하의 말초 NK 세포 수 기준선을 갖는 환자는 이용가능한 치료제와 비교하여 MOR00208 치료로부터 더 이익을 얻을 것이다.
- [0014] 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체를 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 NK 세포/ μ L 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는다. 한 구현예에서, 상기 환자는 1차 항-CD20 표적화 치료제 (예를 들어, 항체 리톡시맙)를 포함하여, 1차 및 3차 이하의 사전 요법에 의한 치료에 대해 내성, 무-반응성 또는 부적절하게 반응한다. 추가 구현예에서, 상기 환자는 고-용량 화학요법 및 자가 줄기세포 이식에는 적합하지 않다. 바람직한 구현예에서 상기 환자는 인간이다.
- [0015] 한 구현예에서, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.
- [0016] 추가 구현예에서, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열
- [0017] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYFTFSYVMHWRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYICARGTYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄
- [0018] 및 서열
- [0019] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄를 포함한다.

[0020] 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체는 인간, 인간화 또는 키메라 항체이다. 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체는 IgG 동종형의 것이다. 다른 구현예에서, 항체는 IgG1, IgG2 또는 IgG1/IgG2 키메라이다. 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 동종형은 항체-의존성 세포-매개 세포독성을 향상시키도록 조작된다. 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 중쇄 불변 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트(Kabat)에서와 같은 EU 인덱스를 따른다. 다른 구현예에서, 항체는 IgG1, IgG2 또는 IgG1/IgG2이고, 항-CD19 항체의 키메라 중쇄 불변 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.

[0021] 추가 구현예에서, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열

[0022] EVQLVESGGGLVPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYY YGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄

[0023] 및 서열

[0024] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTITSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTTLKADYEEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0025] **도 1: 증가하는 E:T 비율에서의 MOR00208 및 리톡시맵의 대표적인 ADCC 검정.** MOR00208 (검정색) 또는 리톡시맵 (흰색) 및 건강한 공여자로부터의 NK 세포에 의해 매개되는, % 죽은 표적 세포로 표현된 특이적 사멸에 대한 결과는 3개의 표적 세포주 MEC-1, JVM-2 및 톨레도(Toledo)에 대해 나타난다. 단일 실험에서 한 대표적인 공여자로부터의 NK 세포로 얻은 예시적인 데이터를 보여준다. 막대 및 오차 막대는 개별 실험으로부터 3회 반복 측정된 특이적 사멸의 기하 평균 및 기하 표준 편차를 표시한다.

도 2: 증가하는 E:T 비율에서의 MOR00208 및 리톡시맵의 대표적인 ADCC 검정. MOR00208 (파란색) 또는 리톡시맵 (주황색) 및 건강한 공여자로부터의 NK 세포에 의해 매개되는, 리톡시맵에 대해 정규화된 특이적 사멸의 해당 비율은 3개의 표적 세포주 MEC-1, JVM-2 및 톨레도에 대해 나타난다. 산점도는 대표적인 실험의 리톡시맵의 중앙값 대비 MOR00208 (삼각형) 및 리톡시맵 (원)의 특이적 사멸 비율에 대한 개별값을 예시한다. 점선은 95% 부트스트랩 신뢰 구간으로 기하 평균을 표시한다.

도 3: ADCC 검정에서 33명의 건강한 공여자로부터 분리된 NK 세포 그리고 MEC-1, JVM-2 및 톨레도 세포를 사용한 증가하는 E:T 비율에서의 MOR00208 및 리톡시맵의 특이적 사멸 비율. MOR00208 (흰색 삼각형) 및 리톡시맵 (검은색 원)의 ADCC 활성은 MEC-1 세포 (8명의 NK 세포 공여자, 2회의 독립적인 실험; 단일 실험에서 9명의 NK 세포 공여자), JVM-2 (8명의 NK 세포 공여자, 공여자당 2회의 독립적인 실험) 및 톨레도 세포 (10명의 NK 세포 공여자, 2회의 독립적인 실험)를 이용하여 분석하였다. 특이적 사멸 비율은 리톡시맵의 중앙값에 대한 정규화에 의해, 각 항체에 대해 결정된 % 특이적 사멸로부터 계산하였다. 각각의 원 또는 삼각형은 1명의 개별 혈액 공여자로부터의 NK 세포를 이용하여 3회 반복 수행된 1회 또는 2회의 독립적인 실험의 기하 평균값을 표시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 비호지킨 림프종("NHL")은 림프구로부터 기원하는 이종 악성종양이다. 미국(U.S.)에서, 대략 20,000명의 사망자수와 더불어, 그 발생은 연간 65,000명으로 추정된다 (American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review). 이 질환은 모든 연령대에서 발생할 수 있으며, 보통 발병은 연령에 따라 발병률이 증가하여, 40세 이상의 성인에서 시작된다. NHL은 임의의 주요 기관이 관련될 수 있지만, 림프절, 혈액, 골수 및 비장에 축적되는 림프구의 클론성 증식을 특징으로 한다. 병리학자 및 임상외에 의해 사용되는 현재의 분류 체계는 세계보건기구 (WHO) 중앙 분류로, NHL을 전구체 및 성숙한 B-세포 또는 T-세포 신생물(neoplasm)로 체계화한다. PDQ는 현재 NHL을 임상 시험에 들어가는 경우에 지연성 또는 공격성으로 나누고 있다. 지연성 NHL 그룹은 주로 여포성 아형, 소림프구성 림프종, MALT (점막-연관 림프 조직) 및 변연부로 구성되며; 지연성은 대략 50%의 새로 진단된 B-세포 NHL 환자를 포함한다. 공격성 NHL은 주로 미만성 거대 B 세포 (DLBL, "DLBCL", 또는 DLCL) (새로 진단된 모든 환자의 40%가 미만성 거대 세포를 가짐), 버킷, 및 외투 세포 ("MCL")의 조직학적 진단을 받

은 환자를 포함한다. NHL의 임상 경과는 매우 가변적이다. 임상 경과의 주요 결정 요인은 조직학적 아형이다. 대부분의 지연성 유형의 NHL은 난치병으로 간주된다. 환자는 초기에 화학요법 또는 항체 치료제에 반응하고, 대부분은 재발할 것이다. 지금까지의 연구에서는 초기 개입으로 생존의 개선을 입증하지 못하였다. 무증상 환자에서는, 환자가 증상을 보이거나 질환 속도가 가속화되는 것으로 보일 때까지 "지켜보고 기다리는" 것이 허용될 수 있다. 시간이 경과함에 따라, 질환은 더 공격적인 조직 구조로 변형될 수 있다. 생존 중앙값은 8 내지 10 년 이고, 지연성 환자는 종종 이들의 질환 치료 단계 동안 3회 이상의 치료를 받는다. 증상이 보이는 지연성 NHL 환자의 초기 치료는 조직학적으로 조합 화학요법이었다. 가장 일반적으로 사용되는 제제는 시클로포스파미드, 빈크리스틴 및 프레드니손 (CVP); 또는 시클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴, 프레드니손 (CHOP)을 포함한다. 대략 70% 내지 80%의 환자가 초기 화학요법에 반응하고, 관해 기간은 2-3년 정도 지속될 것이다. 궁극적으로 대부분의 환자는 재발한다. 항-CD20 항체인 리툽시맙의 발견 및 임상적 사용은 반응 및 생존율에 유의미한 개선을 제공하였다. 대부분의 환자에 대한 현재의 표준 치료제는 리툽시맙 + CHOP (R-CHOP) 또는 리툽시맙 + CVP (R-CVP)이다. 리툽시맙 치료제는 여러 유형의 NHL에서 효과적인 것으로 나타났으며, 현재 지연성 NHL (여포성 림프종) 및 공격성 NHL (미만성 거대 B 세포 림프종) 둘 다에 대한 1차 치료로서 승인되어 있다. 그러나, 항-CD20 단클론성 항체 (mAb)에는 상당한 한계가 있으며, 이는 1차 내성 (재발된 지연성 환자에서 50% 반응), 획득 내성 (재-치료시 50% 반응율), 드문 완전 반응 (재발된 개체군에서 2% 완전 반응율), 및 지속적인 재발 패턴을 포함한다. 마지막으로, 많은 B 세포는 CD20을 발현하지 않으므로, 많은 B-세포 장애는 항-CD20 항체 치료제를 사용하여 치료할 수 없다.

[0027] NHL 외에도 B 세포의 조절장애로 인해 발생하는 여러 유형의 백혈병이 있다. 만성 림프구성 백혈병 ("만성 림프성 백혈병" 또는 "CLL"로도 알려짐)은 B 림프구의 비정상적 축적에 의해 야기되는 일종의 성인 백혈병이다. CLL에서, 악성 림프구는 정상적이고 성숙한 것으로 보일 수 있지만, 이들은 감염에 효과적으로 대처할 수 없다. CLL은 성인에서 가장 흔한 형태의 백혈병이다. 남성은 CLL이 발병할 가능성이 여성의 2배이다. 그러나, 핵심 위험 인자는 연령이다. 신규 사례의 75% 이상이 50세 이상의 환자에서 진단된다. 매년 10,000건 초과의 사례가 진단되며, 사망자 수는 연간 거의 5,000명이다 (American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review). CLL은 난치병이나 대부분의 경우 서서히 진행된다. CLL이 있는 많은 사람은 수년 동안 정상적이고 활동적인 삶을 영위한다. 이의 느린 발병으로 인해, 초기-단계의 CLL은 일반적으로 치료하지 않는데, 초기 CLL 개입이 생존 시간 또는 삶의 질을 개선하지 개선시키지 못하는 것으로 여겨지기 때문이다. 대신에, 병태는 시간 경과에 따라 모니터링된다. 초기 CLL 치료는 정확한 진단 및 질환의 진행에 따라 달라진다. CLL 치료제에 사용되는 많은 제제가 있다. 조합 화학요법 양생법, 예컨대 FCR (플루다라빈, 시클로포스파미드 및 리툽시맙), 및 BR (이브루티닙 및 리툽시맙)은 새로-진단된 CLL 및 재발된 CLL 둘 다에 효과적이다. 동종 골수(줄기세포) 이식은 그 위험으로 인해 CLL에 대한 1차 치료로 거의 사용되지 않는다.

[0028] 다른 유형의 백혈병은 CLL 진단에 필요한 클론성 림프구증가증은 없지만, 병리학적 및 면역표현형적 특징을 공유하는, CLL 변이체로 간주되는 소림프구성 림프종 ("SLL")이다 (Campo 등, 2011). SLL의 정의는 임파선염 및/또는 비장비대증의 존재가 요구된다. 또한, 말초 혈액에서 B 림프구의 수는 $5 \times 10^9/L$ 를 초과하지 않아야 한다. SLL에 있어서, 진단은 가능하다면 언제든지 림프절 생검의 조직병리학적 평가에 의해 확인되어야 한다 (Hallek 등, 2008). SLL의 발생율은 미국에서 CLL의 대략 25%이다 (Dores 등, 2007).

[0029] 다른 유형의 백혈병은 급성 림프성 백혈병으로도 알려진, 급성 림프구성 백혈병 (ALL)이다. ALL은 골수에서 악성 및 미성숙 백혈구 (림프아구로도 알려짐)의 과생산 및 지속적 증식을 특징으로 한다. '급성'은 순환성 림프구 ("모세포")의 미분화되고 미성숙한 상태, 및 질환이 치료되지 않고 방치되는 경우 수주 내지 수개월의 기대 수명으로 빠르게 진행되는 것을 지칭한다. ALL은 아동기에 가장 흔하며, 4-5세에 최대 발병률을 갖는다. 12-16세의 아동은 다른 이들보다 이로 인해 더 쉽게 사망한다. 현재, 아동기 ALL의 적어도 80%는 치유가능한 것으로 간주된다. 매년 4,000건 미만의 사례가 진단되며, 사망자 수는 연간 거의 1,500명이다 (American Cancer Society, 2006; 및 SEER Cancer Statistics Review).

[0030] 비-특이적 B 세포 림프종에서 CD19 항체의 사용은 W02007076950호 (US 제2007154473호)에서 논의되며, 이는 둘 다 참조로 포함된다. CLL, NHL 및 ALL에서 CD19 항체의 사용은 Scheuermann 등, CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)에 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 참조로 포함된다.

[0031] CD19에 특이적인 추가 항체는 W02005012493호 (US 제7109304호), W02010053716호 (US 제12/266,999호) (Immunomedics); W02007002223호 (US 제8097703호) (Medarex); W02008022152호 (제12/377,251호) 및 W02008150494호 (Xencor), W02008031056호 (US 제11/852,106호) (Medimmune); W02007076950호 (US 제

11/648,505호) (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431호 (US 제12/253,895호) (Seattle Genetics); 및 WO2010095031호 (제12/710,442호) (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562호 및 WO2012010561호 (International Drug Development), WO2011147834호 (Roche Glycart), 및 WO 2012/156455호 (Sanofi)에 기술되어 있으며, 이는 모두 그 전체가 참조로 포함된다.

[0032] 약제학적 조성물은 활성제, 예를 들어, 인간에서 치료적 사용을 위한 항체를 포함한다. 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 추가로 포함할 수 있다.

[0033] 정의

[0034] 용어 "CD19"는 하기 동의어를 갖는, CD19로 알려진 단백질을 지칭한다: B4, B-림프구 항원 CD19, B-림프구 표면 항원 B4, CVID3, 분화 항원 CD19, MGC12802, 및 T-세포 표면 항원 Leu-12.

[0035] 인간 CD19는 하기 아미노산 서열을 갖는다:

[0036] MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTS DGPTQQLTWSRESPLKPFLLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCLKNRSSEGPSKLSMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNSQLSODLTMAPGSTLWLSGCVPPDSVSRGPLSWTHVHPKPKSLLSLELKDDRPARDMWMETGLLLPRATAQDAGKYCHRGNLTMSFHLEITARPVLWHLLRTGGWKSVAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTTRFFKVTTPPGSGPQNYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPPEEEEGEGYEEPDSSEDFEYENDSNLQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFNSAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSADWPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGWTSTR (서열번호: 13)

[0037] "MOR00208"은 항-CD19 항체이다. 아미노산 서열은 표 1에 제공된다. "MOR00208" 및 "XmAb 5574"는 표 1에 나타낸 항체를 기술하기 위한 동의어로 사용된다. MOR00208 항체는 미국 특허출원 제12/377,251호에 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 참조로 포함된다. 미국 특허출원 제12/377,251호에는 4G7 H1.52 하이브리드 S239D/I332E/4G7 L1.155 (이후 MOR00208로 명명됨)로 명명되는 항체가 기술되어 있다.

[0038] 본원에 사용된 용어 "항체"는 이황화물 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 단백질을 지칭하며, 이는 항원과 상호작용한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 더 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 초가변성 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 아미노-말단부터 카르복시-말단까지 하기의 순서대로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 용어 "항체"는, 예를 들어 단클론성 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 낙타화 항체 및 키메라 항체를 포함한다. 항체는 임의의 동종형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류일 수 있다. 경쇄 및 중쇄 둘 모두는 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나뉜다.

[0039] 본원에 사용된 어구 "항체 단편"은 항원과 (예를 들어, 결합, 입체 장애, 안정화 공간적 분포에 의해) 특이적으로 상호작용하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 일부분을 지칭한다. 결합 단편의 예에는, 이에 제한되지는 않으나 VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 단편인 Fab 단편; 힌지 영역에서 이황화물 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab)₂ 단편; VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; 항체의 단일 아암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; VH 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward *et al.*, (1989) Nature 341:544-546); 및 단리된 상보성 결정 영역(CDR)이 포함된다. 또한, Fv 단편의 2개의 도메인, VL 및 VH가 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여, VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 사슬로 만들어질 수 있도록 하는 합성 링커에 의해 연결될 수 있다 (단일쇄 Fv (scFv)로 알려짐; 예를 들어, Bird 등, (1988) Science 242:423-426; 및 Huston 등, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883 참조). 이러한 단일쇄 항체는 또한 용어 "항체 단편"에 포함되는 것으로 의도된다. 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기법을 사용하여 수득되며, 이들 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성을 위해 스크리닝된다. 항체 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라아바디, v-NAR 및 비스-scFv에 통합될 수 있다 (예를 들어, Hollinger 및 Hudson, (2005) Nature Biotechnology 23:1126-1136 참조). 항체 단편은 피브로넥틴 III형 (Fn3)과 같은 폴리펩티드를 기반으로 하는 스캐폴드에 이식될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디를 기술하는, 미국특허 제6,703,199호 참조). 항체 단편은 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께, 한 쌍의 항원-결합 부위를 형성하는, 한 쌍의 탠덤 Fv 분절 (VH-

CH1-VH-CH1)를 포함하는 단일쇄 분자에 통합될 수 있다 (Zapata 등, (1995) Protein Eng. 8:1057-1062; 및 미국특허 제5,641,870호).

- [0040] "투여되는" 또는 "투여"는 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정맥내, 근육내, 피내 또는 피하 경로와 같은 주사가 가능한 형태로, 또는 점막 경로, 예를 들어 비강 스프레이 또는 흡입용 에어로졸로서, 또는 섭취가능한 용액, 캡슐 또는 정제로서의 약물의 전달을 포함한다. 바람직하게는, 투여는 주사가 가능한 형태에 의한 것이다.
- [0041] 용어 "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하며, 이는 항체 동종형(isotype)에 따라 다르다. 항체 이펙터 기능의 비제한적 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합 및 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 항체-의존성 세포 식세포작용 (ADCP); 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.
- [0042] "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 또는 "ADCC"는 특정 세포독성 세포 (예를 들어, NK 세포, 호중구, 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체 (FcR)에 결합된 항체가 항원-보유 표적 세포에 이러한 세포독성 이펙터 세포가 특이적으로 결합할 수 있게 하고, 후속적으로 세포독소(cytotoxin)로 표적 세포를 죽이는 세포독성의 한 형태를 지칭한다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII, 및 Fc γ RIII를 발현한다.
- [0043] "보체-의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재하에서 표적 세포의 용해를 지칭한다. 고전적 보체 경로의 활성화는, 동족 항원에 결합되는 본 개시의 (적절한 하위부류의) 항체에 보체 시스템의 제1 성분 (C1q)이 결합함으로써 개시된다.
- [0044] "항체-의존성 세포 식세포작용" 또는 "ADCP"는 식세포, 예컨대 대식세포 또는 수지상 세포에 의한 내재화에 의해 항체-코팅된 표적 세포의 제거 메커니즘을 지칭한다.
- [0045] 용어 "혈액암"은 혈액-매개 종양 및 조혈 기원의 조직에서의 비정상적인 세포 성장 및/또는 증식을 수반하는 질환 또는 장애, 예컨대 림프종, 백혈병, 및 골수종을 포함한다.
- [0046] 본 문맥에서 사용된 "대상체" 또는 "환자"는 설치류, 예컨대 마우스 또는 랫트, 및 영장류, 예컨대 시노몰구스 원숭이 (*마카카 파시쿨라리스*), 레서스 원숭이 (*마카카 몰라타*) 또는 인간 (*호모 사피엔스*)을 포함하는, 임의의 포유동물을 지칭한다. 바람직하게는, 대상체 또는 환자는 영장류, 가장 바람직하게는 인간이다.
- [0047] 본원에 사용된 용어 "조작된" 또는 "변형된"은 합성 수단에 의한 (예를 들어, 재조합 기법에 의한, 시험관 내 펩티드 합성, 펩타이드의 효소적 또는 화학적 커플링 또는 이러한 기법의 일부 조합에 의한) 핵산 또는 폴리펩티드의 조작을 포함한다. 바람직하게는, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 하나 이상의 특성, 예컨대 항원 결합, 안정성, 반-감기, 이펙터 기능, 면역원성, 안전성 등을 개선하도록 조작되거나 변형된다. 바람직하게는, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 이펙터 기능, 예컨대 ADCC를 개선하도록 조작되거나 변형된다.
- [0048] 본원에 사용된 "변이체"는 하나 이상의 변형, 예를 들어 아미노산 치환, 삽입 또는 결실에 의해 참조 폴리펩티드와 상이한 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0049] 본원에 사용된 용어 "길항성" 항체는 항원과 상호작용하고, 표적 항원의 생물학적 활성이나 기능 또는 임의의 다른 표현형적 특징을 부분적으로 또는 완전히 억제하거나 중화하는 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.
- [0050] "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 본원에 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에 기술된 바와 같이 EU 인덱스라고도 하는, EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0051] 본 개시에 따라 투여되는 항체는 치료적 유효량으로 환자에게 투여된다. "치료적 유효량"은 주어진 질환 또는 장애의 임상적 징후의 일부 개선을 제공하기에 충분한 양을 지칭한다. 특정 치료적 목적에 유효한 양은 질환 또는 손상의 중증도 뿐만 아니라 대상체의 체중 및 일반적인 상태에 따라 달라질 것이다. 적절한 투여량의 결정은, 모두 숙련된 전문가의 또는 임상 과학자의 통상의 기술 범위 내에 있는, 값의 행렬을 구성하고 행렬 내의 상이한 지점을 테스트함으로써, 정례적인 실험을 사용하여 달성될 수 있음이 이해될 것이다.
- [0052] "기준선" 또는 "기준선에서"는 소정의 치료제의 투여 이전을 의미한다. 예를 들어, 소정의 항-CD19 항체의 투여 이전.

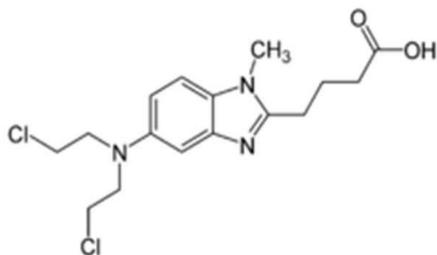
[0053] 수신자 조작 특징 (ROC) 분석은 예측도, 민감도, 특이도를 분석하여 잠재적인 바이오마커, 예컨대 NK 세포 수에 대한 컷-오프를 결정하는 데 사용될 수 있다. 최적 컷-오프를 추정하기 위한 하기 추가적인 방법이 존재한다: a) "Max.Accuracy" - 정확도를 최대화하는 컷-오프; b) "Max.DOR" - 진단 승산비를 최대화하는 컷-오프; c) "Error.rate" - 오차율을 최소화하는 컷-오프; d) "Max.Accuracy.area" - 정확도 영역을 최대화하는 컷-오프; e) "Max.Sens+Spec" - 특이도와 민감도의 합을 최대화하는 컷-오프; f) "Max.Youden" - Youden 인덱스를 최대화하는 컷-오프; g) "Se=Sp" - 민감도와 특이도가 동일한 컷-오프; h) "Min.ROC.Dist" - 그래프의 곡선 및 상부 좌측 모서리 간의 거리를 최소화하는 컷-오프; i) "Max.Efficiency" - 효율성을 최대화하는 컷-오프; 및 j) "Min.MCT" - 오분류 비용 항을 최소화하는 컷-오프. Lopez-Raton, M., Rodriguez-Alvarez, M.X, Cadarso-Suarez, C. 및 Gude-Sampedro, F. (2014). Optimal Cutpoints: An R Package for Selecting Optimal Cutpoints in Diagnostic Tests. Journal of Statistical Software 61(8), 1-36을 참조한다.

[0054] CD19에 특이적인 항체는 또한 다른 약물과 조합하여 전임상적으로 테스트하였다. 예를 들어, MOR00208은 질소 머스타드, 퓨린 유사체, 탈리도마이드 유사체, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, BCL-2 억제제 및 브루톤 티로신 키나제 (BTK) 억제제와 조합하여 테스트하였다.

[0055] "조합으로"는 하나의 치료제에 다른 치료제를 추가한 투여를 지칭한다. 이와 같이, "조합하여"는 임의의 순서로 동시에 (예를 들어, 한번에) 그리고 연속적인 투여를 포함한다. 비-제한적인 예로서, 제1 치료제 (예를 들어, 제제, 예컨대 항-CD19 항체)는 환자에게 제2 치료제 (예를 들어, 약제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염)를 투여하기 전에 (예를 들어, 1분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 8주, 9주, 10주, 11주, 또는 12주), 한번에, 또는 후에 (예를 들어, 1분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 또는 12주 이상) 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 용어 "조합"은 항-CD19 항체 및 약제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 동시에 또는 연속적으로 투여됨을 의미한다. 특정 구현예에서, 항-CD19 항체 및 약제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 별도의 조성물로 투여되며, 즉, 상기 항-CD19 항체 및 약제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 별도의 단위 투여 형태로 각각 투여된다. 항-CD19 항체 및 약제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 적절한 투여 프로토콜에 따라 동일한 날 또는 상이한 날에 임의의 순서로 투여되는 것으로 이해된다.

[0056] "질소 머스타드"는 화학요법으로 사용되는 비특이적 DNA 알킬화제이다. 알킬화제는 알킬기 (CnH2n+1)를 핵산 염기에 부가하는데, 예를 들어, 알킬기를 이미다졸 고리의 7번 질소 원자에서 DNA의 구아닌 염기에 부가한다. 알킬화 단계는 사슬간 교차-결합 (ICL)의 형성을 야기한다. 이들 ICL은 고도로 세포독성인데, 이는 이들이 기본적인 대사 과정, 예컨대 복제 및 전사를 차단하기 때문이다. 질소 머스타드는 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜파란 및 벤다무스틴을 포함한다.

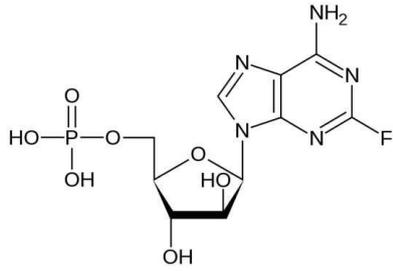
[0057] 벤다무스틴은 명칭 리보무스틴®(Ribomustin®) 및 트레안다®(Treanda®) 하에 판매되며, 이는 SDX-105로도 알려져 있다. 벤다무스틴은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 지연성 B-세포 비호지킨 림프종 (NHL), 및 기타 림프종의 치료를 위한 것이다. 벤다무스틴은 하기의 구조를 갖는다:



[0058]

[0059] 퓨린 유사체는 대사성 퓨린의 구조를 모방하고, 이에 따라 핵산의 합성을 방해하는 항대사물질이다. 플루다라빈은 예를 들어, 퓨린 뉴클레오티드인 아데닌 및 구아닌을 치환함으로써 RNA 및 DNA에 혼입될 수 있다. 퓨린 유사체는 개체의 급속 증식성 세포, 예를 들어 암 세포, 골수 세포 또는 위장관에 존재하는 세포의 성장을 억제한다. 퓨린 유사체는 메르캅토피리딘, 아자티오프린, 티오구아닌 및 플루다라빈을 포함한다. 플루다라빈 또는 플루다라빈 포스페이트 (Fludara®)는 만성 림프구성 백혈병 및 지연성 비-호지킨 림프종의 치료에서 사용되는 화학요법 약물이다. 플루다라빈은 퓨린 유사체이다. 플루다라빈은 리보뉴클레오티드 환원효소 및 DNA 중합효소를 방해하여 DNA 합성을 억제하며, S기(phase)-특이적이다 (이러한 효소는 DNA 복제 동안 고도 활성이

때문임). **플루다라빈**은 하기 구조를 갖는다:



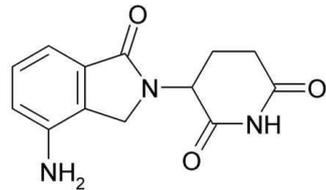
[0060]

[0061]

"**탈리도마이드 유사체**"는 이에 제한되지는 않으나, 탈리도마이드 자체, 레날리도마이드 (CC-5013, Revlimid™), 포말리도마이드 (CC4047, Actimid™) 및 W02002068414호 및 W02005016326호에 개시된 화합물을 포함하며, 이는 그 전체가 참조로 포함된다. 이 용어는 탈리도마이드 구조를 골격으로 사용하는 합성 화학적 화합물을 지칭한다 (예를 들어, 측쇄가 부가되거나 이러한 기가 모체 구조로부터 제거되었음). 유사체는, 예컨대 알킬쇄의 길이, 분자 단편의 차이에 의해, 하나 이상의 관능기, 또는 이온화에서의 4w5wwwa 변화에 의해, 탈리도마이드 및 이의 대사물질 화합물과 구조가 상이하다. 용어 "탈리도마이드 유사체"는 또한 탈리도마이드의 대사물질을 포함한다. 탈리도마이드 유사체에는 각 화합물의 S- 및 R-거울상 이성질체의 라세미 혼합물 및 S-거울상 이성질체 또는 R-거울상 이성질체가 개별적으로 포함된다. 라세미 혼합물이 바람직하다.

[0062]

탈리도마이드 유사체에는 하기 구조를 갖는 화합물, 예컨대 **레날리도마이드**가 포함된다:



[0063]

[0064]

"**포스포이노시티드 3-키나제 억제제**"는 많은 세포 기능, 예컨대 성장 조절, 대사 및 번역 개시를 위해 중요한 신호전달 경로인 PI3K/AKT/mTOR 경로의 일부인, 하나 이상의 포스포이노시티드 3-키나제 효소를 억제함으로써 기능하는 의학적 약물의 한 종류이다.

[0065]

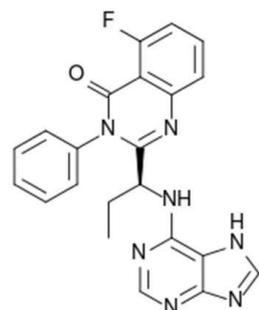
PI3K의 여러 상이한 클래스 및 동종형이 있다. 클래스 1 PI3K는 p110으로 알려진 촉매성 서브유닛을 가지며, 4 가지 유형(동종형) - p110 알파, p110 베타, p110 감마 및 p110 델타를 갖는다. 현재 연구 중인 억제제는 하나 이상의 클래스 I PI3K의 동종형을 억제한다.

[0066]

포스포이노시티드 3-키나제 억제제에는 적어도 이델라리십, 두벨리십 및 코판리십이 포함된다. 이델라리십 (GS-1101 또는 CAL-101로도 명명된 상표명 자이델리그(Zydelig))은 Gilead Sciences, Inc.에 의해 판매된다. 이델라리십은 현재 다른 동반질환(co-morbidity); 적어도 2회의 사전 전신요법을 받은 환자에서 재발된 여포성 B-세포 비-호지킨 림프종 (FL); 적어도 2회의 사전 전신요법을 받은 환자에서 재발된 소림프구성 림프종 (SLL)으로 인해 리툽시맵 단독이 적절한 치료제로 간주되는 환자에서, 리툽시맵과 조합하여 재발된 만성 림프구성 백혈병 (CLL)의 치료를 위해 분류된다. 이 물질은 포스포이노시티드 3-키나제 억제제로서 작용하며; 보다 구체적으로, 이는 효소 포스포이노시티드 3-키나제의 델타 동종형인 P110 δ를 차단한다.

[0067]

이델라리십의 화학식은 하기와 같다:



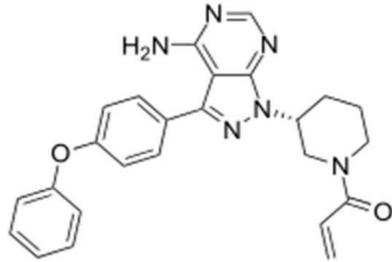
[0068]

[0069]

"**브루톤 티로신 키나제 (BTK) 억제제**"는 B-세포 발달에서 중요한 역할을 하는, 티로신-단백질 키나제 BTK 효소

를 억제함으로써 기능하는 약물의 한 종류이다. 구체적으로, BTK는 포스포티딜이노시톨 (3,4,5)-트리스포스페이트 (PIP3)에 결합하는 PH 도메인을 포함한다. PIP3 결합은 Btk가 포스포리파제 C를 인산화하도록 유도하고, 이는 결과적으로 PIP2, 포스포티딜이노시톨을 2개의 2차 메신저, 이노시톨 트리포스페이트 (IP3) 및 디아실글리세롤 (DAG)로 가수분해한 후, B-세포 신호전달 동안 하류 단백질의 활성을 조절하게 된다.

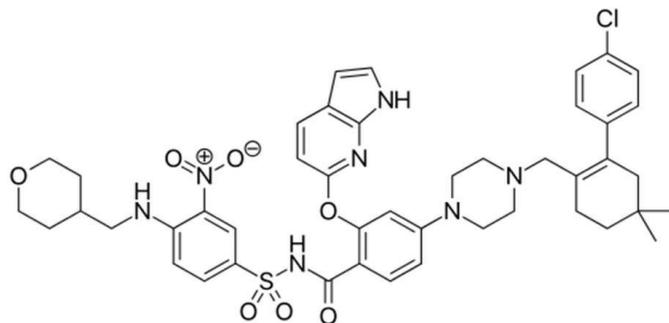
[0070] 브루톤 티로신 키나제(BTK) 억제제에는 이브루티닙이 포함된다. 이브루티닙은 Pharmacyclics, Inc 및 Johnson & Johnson's Janssen Pharmaceutical (PCI-32765로도 명명된, 상품명 임브루비카(Imbruvica))에 의해 판매된다. 이브루티닙은 현재 적어도 1회의 사전 요법을 받은 외투 세포 림프종 (MCL), 적어도 1회의 사전 요법을 받은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 17p 결실을 갖는 만성 림프구성 백혈병, 및 발텐스트롬 마크로글로불린혈증을 갖는 환자의 치료를 위해 분류된다. **이브루티닙**의 화학식은 1-[(3R)-3-[4-아미노-3-(4-페녹시페닐)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일]-1-피페리디닐]-2-프로펜-1-온이며, 하기 구조를 갖는다:



[0071]

[0072] "BCL-2 억제제"는 세포의 프로그래밍된 세포 사멸을 야기하는, 항-아포토시스 B-세포 림프종-2 (Bcl-2) 단백질을 억제함으로써 기능하는 약물의 한 종류이다. BCL-2 억제제에는 베네토클락스가 포함된다. 베네토클락스는 Abbvie 및 Genentech (GDC-0199, ABT-199, 및 RG7601로도 알려진, 상품명 VENCLEXTA™)에 의해 판매된다. 베네토클락스는 현재 적어도 1회의 사전 요법을 받은, FDA 승인 테스트에 의해 검출된 바와 같이 17p 결실을 갖는 만성 림프구성 백혈병 (CLL)을 갖는 환자의 치료를 위해 분류된다. **베네토클락스**는 미국특허 제8,546,399호 및 제9,174,982호에 기술되어 있으며, 이는 모두 그 전체가 참조로 포함된다. **베네토클락스**의 화학식은

[0073] 4-(4-([2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸-1-사이클로헥센-1-일]메틸)-1-피페라지닐)-N-({3-니트로-4-[(테트라하이드로-2H-피란-4-일메틸)아미노]페닐}설포닐)-2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)벤즈아미드이며, 하기 구조를 갖는다:



[0074]

[0075] **구현예**

[0076] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는다.

[0077] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 미만, 90 세포/ μ l 미만, 80 세포/ μ l 미만, 70 세포/ μ l 미만, 60 세포/ μ l 미만 또는 50 세포/ μ l 미만의 말초 NK 세포 수를 갖는다.

[0078] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 1 내지 최대 100 세포/ μ l, 10 내지 최대 100 세포/ μ l, 20 내지 최대 100 세포/ μ l, 30 내지 최대 100 세포/ μ l, 40 내지 최대 100 세포/ μ l, 50 내지 최대 100 세포/ μ l, 60 내지 최대 100 세포/ μ l, 70 내지 최대 100 세포/ μ l, 또는 80 내지 최대 100 세포/ μ l의 기준선에서 말초 NK 세포 수를 갖는다.

- [0079] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체의 용도에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 미만, 90 세포/ μ l 미만, 80 세포/ μ l 미만, 70 세포/ μ l 미만, 60 세포/ μ l 미만 또는 50 세포/ μ l 미만의 말초 NK 세포 수를 갖는다.
- [0080] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체의 용도에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 최대 100 세포/ μ l, 최대 90 세포/ μ l, 최대 80 세포/ μ l, 최대 70 세포/ μ l, 최대 60 세포/ μ l, 최대 50 세포/ μ l의 말초 NK 세포 수를 갖는다.
- [0081] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체의 용도에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 1 내지 최대 100 세포/ μ l, 10 내지 최대 100 세포/ μ l, 20 내지 최대 100 세포/ μ l, 30 내지 최대 100 세포/ μ l, 40 내지 최대 100 세포/ μ l, 50 내지 최대 100 세포/ μ l, 60 내지 최대 100 세포/ μ l, 70 내지 최대 100 세포/ μ l, 또는 80 내지 최대 100 세포/ μ l의 말초 NK 세포 수를 갖는다.
- [0082] 한 구현예에서, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열
- [0083] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGGTLVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄
- [0084] 및 서열
- [0085] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄
- [0086] 또는 서열번호: 7의 가변성 중쇄 및 서열번호: 8의 가변성 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 가변성 중쇄 및 가변성 경쇄를 포함한다.
- [0087] 한 구현예에서, 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체는 서열
- [0088] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGGTLVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄
- [0089] 및 서열
- [0090] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄
- [0091] 또는 서열번호: 7의 가변성 중쇄 및 서열번호: 8의 가변성 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 가변성 중쇄 및 가변성 경쇄를 포함하며, 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 중쇄 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.
- [0092] 추가 구현예에서, 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체는 서열
- [0093] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFLPASPSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPDVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSLFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄
- [0094] 및 서열
- [0095] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄
- [0096] 또는 서열번호: 7의 중쇄 및 서열번호: 8의 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적

어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

- [0097] 추가 구현예에서, 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체는 서열
- [0098] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYFTFSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTTY YGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄
- [0099] 및 서열
- [0100] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYLWFQQKPGQSPQLL IYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPDAFVYYCMQHLEYPIT FGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄
- [0101] 또는 서열번호: 7의 중쇄 및 서열번호: 8의 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적 어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, 서열 RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 중쇄 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상 기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.
- [0102] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는다. 본 개시의 한 구현예에서, 상기 치료 후 상기 혈액암 환자는
- [0103] (i) 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 13개월, 적어도 14개 월, 적어도 15개월, 적어도 16개월, 적어도 17개월, 적어도 18개월, 적어도 19개월, 적어도 20개월, 적어도 24 개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 또는 적어도 54개월의 무진행 생존 (PFS);
- [0104] (ii) 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 80%의 객관적 반 응률 (ORR);
- [0105] (iii) 적어도 10개월, 적어도 12개월, at 적어도 14개월, 적어도 16개월, 적어도 18개월, 적어도 20개월, 적어도 24개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 또는 적어도 54개월 이상의 반응 지속기 간 (DoR);
- [0106] (iv) 적어도 10개월, 적어도 12개월, 적어도 14개월, 적어도 16개월, 적어도 18개월, 적어도 20개월, 적어도 24 개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 개월 또는 적어도 54개월의 전체 생존 (OS) 또는
- [0107] (v) 전술한 것 중 하나 이상의 조합을 갖는다. 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 본원에 개시된 바와 같은 약제와 조합하여 투여된다.
- [0108] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 미만, 90 세포/ μ l 미만, 80 세포/ μ l 미만, 70 세포/ μ l 미만, 60 세포/ μ l 미만 또는 50 세포/ μ l 미만의 말초 NK 세포 수를 갖는다. 본 개시의 한 구현예에서, 상기 치료 후 상기 혈액암 환자는
- [0109] (i) 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 13개월, 적어도 14개 월, 적어도 15개월, 적어도 16개월, 적어도 17개월, 적어도 18개월, 적어도 19개월, 적어도 20개월, 적어도 24 개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 또는 적어도 54개월의 무진행 생존 (PFS);
- [0110] (ii) 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 80%의 객관적 반 응률 (ORR);
- [0111] (iii) 적어도 10개월, 적어도 12개월, at 적어도 14개월, 적어도 16개월, 적어도 18개월, 적어도 20개월, 적어도 24개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 또는 적어도 54개월 이상의 반응 지속기

간 (DoR);

- [0112] (iv) 적어도 10개월, 적어도 12개월, 적어도 14개월, 적어도 16개월, 적어도 18개월, 적어도 20개월, 적어도 24개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 개월 또는 적어도 54개월의 전체 생존 (OS) 또는
- [0113] (v) 전술한 것 중 하나 이상의 조합을 갖는다. 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 본원에 개시된 바와 같은 약제와 조합하여 투여된다.
- [0114] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체는 하기 특징 중 하나 이상을 증가시킨다:
 - [0115] (i) 무진행 생존 (PFS),
 - [0116] (ii) 객관적 반응률 (ORR),
 - [0117] (iii) 반응 지속기간 (DoR),
 - [0118] (iv) 전체 생존 (OS),
 - [0119] (v) 진행까지의 시간 (TTP).
- [0120] 다른 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상은 항-CD20 항체를 포함하는 치료에 비해 증가된다. 추가 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상은 항-CD20 항체 및 화학요법제를 포함하는 치료와 비교하여 증가된다. 추가 구현예에서, 상기 항-CD20 항체는 리툭시맙 또는 이의 바이오시밀러이다. 추가 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상은 항-CD20 항체 및 시클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴 또는 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는 치료와 비교하여 증가된다. 추가 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상은 R-CHOP를 포함하는 치료와 비교하여 증가된다.
- [0121] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 미만, 90 세포/ μ l 미만, 80 세포/ μ l 미만, 70 세포/ μ l 미만, 60 세포/ μ l 미만 또는 50 세포/ μ l 미만의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체의 투여는 개선된 무진행 생존 (PFS), 개선된 객관적 반응률 (ORR), 개선된 반응 지속기간 (DoR), 개선된 전체 생존 (OS) 또는 개선된 진행까지의 시간 (TTP)을 초래한다.
- [0122] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체의 투여는 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 무진행 생존 (PFS), 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 객관적 반응률 (ORR), 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 반응 지속기간 (DoR), 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 전체 생존 (OS) 또는 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 진행까지의 시간 (TTP)을 초래한다.
- [0123] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체의 투여는 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 무진행 생존 (PFS), 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 객관적 반응률 (ORR), 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 반응 지속기간 (DoR), 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 전체 생존 (OS) 또는 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 진행까지의 시간 (TTP)을 초래한다. 추가 구현예에서, 상기 항-CD20 항체는 리툭시맙 또는 이의 바이오시밀러이다. 추가 구현예에서, 상기 화학요법제는 시클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴 또는 프레드니손 중 하나 이상을 포함한다.
- [0124] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체에 관한 것으로, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체의 투여는 R-CHOP의 투여에 비해 개선된 무진행 생존 (PFS), R-CHOP의 투여에 비해 개선된 객관적 반응률 (ORR), R-CHOP의 투여에 비해 개선된 반응 지속기간 (DoR), R-CHOP의 투여에 비해 개선된 전체 생존 (OS) 또는 R-CHOP의 투여에 비해 개선된 진행까지의 시간 (TTP)을 초래한다.

- [0125] 한 구현예에서, 본 개시는 항-CD19 항체를 제공하며, 상기 항-CD19 항체는 12mg/kg의 농도로 투여된다.
- [0126] 추가 구현예에서, 항-CD19 항체는 매주, 격주 또는 매월 투여된다. 추가 구현예에서, 항-CD19 항체는 처음 3개월 동안은 매주 그리고 적어도 다음 3개월 동안은 격주로 투여된다. 추가 구현예에서, 항-CD19 항체는 처음 3개월 동안 매주 투여된다. 추가 구현예에서, 항-CD19 항체는 처음 3개월 동안은 매주 그리고 적어도 다음 3개월 동안은 격주로 투여된다. 다른 구현예에서, 항-CD19 항체는 처음 3개월 동안은 매주, 다음 3개월 동안은 격주로, 그리고 그 후에는 매월 투여된다. 또 다른 구현예에서, 항-CD19 항체는 처음 3개월 동안은 매주, 다음 3개월 동안은 격주로, 그리고 그 후에는 매월 투여된다.
- [0127] **조합**
- [0128] 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체를 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 미만의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체는 하나 이상의 약제와 조합하여 투여된다. 본 개시의 한 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 약제와 조합하여 투여된다. 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 하나 이상의 추가 약제 또는 하나의 추가 약제와 조합하여 투여된다. 일 측면에서, 상기 약제는 하나의 추가 약제이다.
- [0129] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 약제는 생물학적제제 또는 화학요법제이다. 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 약제는 치료 항체 또는 항체 단편, 질소 머스타드, 퓨린 유사체, 탈리도마이드 유사체, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, BCL-2 억제제 또는 브루톤 티로신 키나제 (BTK) 억제제이다. 추가 구현예에서, 상기 약제는 리톡시맙, R-CHOP, 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜파란, 벤다무스틴, 메르캅토피린, 아자티오프린, 티오구아닌, 플루다라빈, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말리도마이드, 이델라리십, 두벨리십, 코판리십, 이브루티닙 또는 베네토클락스이다.
- [0130] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 항-CD19 항체를 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체는 리톡시맙, R-CHOP, 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜파란, 벤다무스틴, 메르캅토피린, 아자티오프린, 티오구아닌, 플루다라빈, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말리도마이드, 이델라리십, 두벨리십, 코판리십, 이브루티닙 또는 베네토클락스와 조합하여 투여된다. 추가 구현예에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체를 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 항-CD19 항체는 벤다무스틴과 조합하여 투여된다.
- [0131] **적응증 및 환자**
- [0132] 본 개시는 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체를 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 혈액암 환자는 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종 (NHL), 소림프구성 림프종 (SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)을 가진다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 갖는다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 외부 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종을 가지며, 고-용량 화학요법 (HDC) 및/또는 자가 줄기-세포 이식 (ASCT)에는 적합하지 않다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)을 가지며, 고-용량 화학요법 (HDC) 및/또는 자가 줄기-세포 이식 (ASCT)에는 적합하지 않다.
- [0133] 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종을 가지며, 상기 환자는 하기 기준 중 하나 이상을 근거로 하여 선택된다:
- [0134] 1. 연령 \geq 18세
- [0135] 2. 세계 보건 기구 (WHO, 2008) 분류에 따른, 하기의 조직학적으로 확인된 진단: DLBCL NOS, THRLBCL, EBV-양성 DLBCL, DLBCL 치료 후 DLBCL 재발이 있는 DLBCL 요소가 있는 복합 림프종, 저등급 림프종 (즉, 지연성 병리학, 예컨대 여포성 림프종, 변연부 림프종)의 초기 진단에서 DLBCL 치료 후 DLBCL이 재발함에 따라 DLBCL로 변형된 질환.
- [0136] 3. 중심 병리학 검토를 위한 새로운 중앙 조직은 본 연구의 참여에 대한 부속물로 제공되어야 함. 새로운 중앙 조직 샘플을 얻을 수 없는 경우, 본 프로토콜에 대한 스크리닝 이전 \leq 3년에 획득한 보관소의 파라핀 포매된 중

양 조직을 이 목적으로 이용할 수 있어야 함.

- [0137] 4. 환자는 하기를 갖추어야 함:
- [0138] 1. 재발성 또는 불응성 DLBCL
- [0139] 2. 적어도 하나의 양차원적으로(bidimensionally) 측정가능한 질환 부위. 병변은 기준선에서 ≥ 1.5 cm의 최대 가로 지름 및 ≥ 1.0 cm의 최대 수직 지름을 가져야 함. 병변은 PET 스캔에서 양성이어야 함.
- [0140] 3. DLBCL의 치료를 위해 적어도 1차, 다만 3차 이하의 전신 사전 요법을 받았음. 적어도 1차 사전 요법에는 CD20-표적화가 포함되어 있어야 함.
- [0141] 4. ECOG 0 내지 2
- [0142] 5. ASCT 실패 후의 환자 또는 현재 연구자의 견해에 따라 간주되는 환자는 현재 후속 ASCT와 더불어 HDC에는 적합하지 않음.
- [0143] 6. 환자는 스크리닝시 하기 실험실 기준을 충족해야 함:
- [0144] a) ANC $\geq 1.5 \times 10^9/L$ (DLBCL에 의한 골수 침범에 속발성인 경우 제외)
- [0145] b) PLT $\geq 90 \times 10^9/L$ 및 활동성 출혈의 부재 (DLBCL에 의한 골수 침범에 속발성인 경우 제외)
- [0146] c) 총 혈청 빌리루빈 $\leq 2.5 \times ULN$, 길버트 증후군 (또는 길버트와 일치하는 패턴)에 속발성인 경우, 또는 림프종에 의한 간 침범이 입증되지 않은 경우 제외. 총 빌리루빈이 $\leq 5 \times ULN$ 인 경우, 길버트 증후군 또는 림프종에 의한 간 침범이 입증된 환자가 포함될 수 있음.
- [0147] d) 림프종에 의한 간 침범이 입증된 경우에, ALT, AST 및 AP $\leq 3 \times ULN$ 또는 $< 5 \times ULN$
- [0148] e) 혈청 크레아티닌 $\leq 2.0 \times ULN$ 또는 크레아티닌 청소율은 표준 Cockcroft-Gault 공식 (Cockcroft & Gault, 1976)을 사용하여 계산된 ≥ 40 mL/분이어야 함
- [0149] 7. 가임 여성 (FCBP)의 경우, 등록 전에 임신 테스트 음성이 확인되어야 함. FCBP는 연구 중 그리고 각각 MOR00208, BEN 또는 RTX의 마지막 투여 후 3, 6 또는 12개월 중 더 늦은 기간 동안 중단 없이 매우 효과적인 피임 예방 조치를 취해야 함. FCBP는 연구 과정 동안 그리고 각각 MOR00208, BEN 또는 RTX의 마지막 투여 후 3, 6 또는 12개월 중 더 늦은 기간 동안 모유 수유 및 혈액 또는 난모세포 기증을 삼가해야 함. 가임 가능성이 없는 여성에게도 헌혈에 관한 제한이 적용됨.
- [0150] 8. 남성은, 환자가 FCBP와 성적으로 활동적인 경우, 연구 중 그리고 각각 MOR00208, BEN 또는 RTX의 마지막 투여 후 3, 6 또는 12개월 중 더 늦은 기간 동안 중단 없이 효과적인 차단 피임법을 사용해야 함. 남성은 연구 참여 중 그리고 각각 MOR00208, BEN 또는 RTX의 마지막 투여 후 3, 6 또는 12개월 중 더 늦은 기간 동안 혈액 또는 정자 기증을 삼가해야 함.
- [0151] 9. 연구자의 견해에 따라, 환자는 하기를 해야 함:
- [0152] a) 모든 연구-관련 절차, 약물 사용, 및 평가를 준수할 수 있어야 함
- [0153] b) 고지된 동의를 이해하고 제공할 수 있어야 함
- [0154] c) 잠재적으로 신뢰할 수 없고/없거나 비협조적인 것으로 간주되지 않아야 함.
- [0155] 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종을 가지며, 상기 환자는 하기 제외 기준 중 하나 이상을 근거로 하여 제외된다:
- [0156] 1. 하기를 갖는 환자: 예를 들어, 원발성 종격동 (흉선) 거대 B-세포 림프종 (PMBL) 또는 버킷 림프종, 원발성 불응성 DLBCL을 포함하는, 임의의 다른 조직학적 유형의 림프종, 공지된 "이중/삼중 히트" DLBCL 유전자를 가진 환자, 현재 또는 과거 병력에서 CNS 림프종 관련
- [0157] 2. 1일차 투여 전 30일 이내에 대수술을 받은 환자
- [0158] 3. 1일차 투여 전 14일 내에 하기를 갖는 환자:
- [0159] a) 중단되지 않은 CD20-표적화 요법, 화학요법, 방사선요법, 연구용 항암 요법 또는 기타 림프종-특이적 요법

- [0160] b) 생백신 접종
- [0161] c) 활동성, 병발성 전신 감염에 필요한 비경구 항균 요법
- [0162] 4. 하기 환자:
- [0163] a) 연구자의 견해에 따르면, 사전 치료, 대수술 또는 상당한 외상성 손상의 유해한 독성 효과로부터 충분히 회복되지 않음
- [0164] b) 이전에 CD19-표적화 요법 또는 BEN으로 치료받은 적이 있음
- [0165] c) 이전에 MOR00208, RTX, 뮤린 단백질 또는 BEN과 유사한 생물학적 또는 화학적 조성의 화합물, 또는 연구 약물 제형에 포함된 부형제에 대한 심각한 알레르기 반응의 병력을 가진
- [0166] d) 고지된 동의서에 서명하기 전 ≤3 개월의 기간 내에 ASCT를 받음. ASCT의 더 먼 과거력을 갖는 환자는 연구에 등록하기 전에 완전한 혈액학적 회복을 나타내야 함.
- [0167] e) 이전에 동종 줄기세포 이식을 받은 적이 있음
- [0168] f) 다른 항암 또는 실험적 치료를 동시에 사용함
- [0169] 5. 환자가 스크리닝 전 ≥3년 동안 질환이 없는 경우를 제외하고, DLBCL 이외의 악성종양의 이전 병력. ≥3년 시간 제한에 대한 예외에는 하기의 병력이 포함됨:
- [0170] a) 피부의 기저 세포 암종
- [0171] b) 피부의 편평 세포 암종
- [0172] c) 자궁경부, 유방 및 방광의 상피내 암종
- [0173] d) 전립선암의 우연한 조직학적 발견 (T1a 또는 T1b의 종양/결절/전이 [TNM] 병기)
- [0174] 6. 하기를 갖는 환자:
- [0175] a) 혈청학적 양성 B형 및/또는 C형 간염
- [0176] b) HIV에 대해 알려진 혈청 반응 양성 또는 활동성 바이러스 감염의 병력
- [0177] c) 활동적이고, 제어되지 않는 심각한 전신성 감염 또는 패혈증의 증거
- [0178] d) 심각한 면역억제 상태의 병력 또는 증거
- [0179] e) 심각한 간 장애 (총 혈청 빌리루빈 >3 mg/dL), 길버트 증후군에 속발성인 경우, 또는 림프종에 의한 간 침범이 입증되지 않은 경우를 제외한 황달의 병력 또는 증거
- [0180] f) 연구자의 견해에 따라, 연구 참여를 배제하거나 환자의 고지된 동의를 제공하는 능력을 손상시킬 수 있는, 임상적으로 유의미한 심혈관, 뇌혈관, CNS 및/또는 기타 질환의 병력 또는 증거
- [0181] **치료 방법**
- [0182] 본 개시는 항-CD19 항체의 투여에 의해 혈액암 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/μl 이하, 90 세포/μl 이하, 80 세포/μl 이하, 70 세포/μl 이하, 60 세포/μl 이하 또는 50 세포/μl 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는다.
- [0183] 본 개시는 항-CD19 항체의 투여에 의해 혈액암 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/μl 미만, 90 세포/μl 미만, 80 세포/μl 미만, 70 세포/μl 미만, 60 세포/μl 미만 또는 50 세포/μl 미만의 말초 NK 세포 수를 갖는다.
- [0184] 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암의 치료에 사용하기 위한 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체를 포함하는 상기 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암의 치료를 위한 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체를 포함하는 상기 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종 (NHL), 소림프구성 림프종 (SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암은 비호지킨 림프종이다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부

림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 외투 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종을 가지며, 고-용량 화학요법 (HDC) 및/또는 자가 줄기-세포 이식 (ASCT)에는 적합하지 않다.

[0185] 다른 측면에서, 환자의 혈액암을 치료하는 방법이 본원에 제공되며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 가지며, 상기 방법은 치료적 유효량의 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체를 포함하는 억제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 구현예에서, 상기 환자는 1차 항-CD20 표적화 치료제 (예를 들어, 항체 리툭시맵)를 포함하여, 1차 및 3차 이하의 사전 요법에 의한 치료에 대해 내성, 무-반응성 또는 부적절하게 반응한다. 추가 구현예에서, 상기 환자는 고-용량 화학요법 및 자가 줄기세포 이식에는 적합하지 않다. 바람직한 구현예에서 상기 환자는 인간이다. 대안적인 측면에서, 상기 환자는 설치류, 예컨대 랫트 또는 마우스이다. 다른 구현예에서, 상기 환자는 혈액암, 예컨대 비호지킨 림프종을 앓고 있다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 외투 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)이다.

[0186] 다른 측면에서, 본 개시는 혈액암 환자의 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-CD19 항체의 용도를 제공하며, 상기 환자는 기준선에서 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는다.

[0187] 다른 측면에서, 본 개시는 혈액암의 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-CD19 항체의 용도를 제공한다. 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체의 용도에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 본 개시는 혈액암의 치료를 위한 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체를 포함하는 상기 억제학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종 (NHL), 소림프구성 림프종 (SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암은 비호지킨 림프종이다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 외투 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 구현예에서, 비호지킨 림프종은 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)이다. 다른 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종을 가지며, 고-용량 화학요법 (HDC) 및/또는 자가 줄기-세포 이식 (ASCT)에는 적합하지 않다.

[0188] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체는 정맥내로 투여된다. 다른 측면에서, 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체는 피하, 관절내 또는 척수내로 투여된다.

[0189] **방법**

[0190] 본 개시는 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0191] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,

[0192] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및

[0193] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.

[0194] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:

[0195] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.

[0196] 본 개시는 억제와 조합하여 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0197] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,

[0198] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및

[0199] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.

[0200] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:

- [0201] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.
- [0202] 본 개시는 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0203] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,
- [0204] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및
- [0205] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.
- [0206] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:
- [0207] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.
- [0208] 본 개시는 약제와 조합하여 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0209] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,
- [0210] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및
- [0211] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.
- [0212] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:
- [0213] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.
- [0214] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 항-CD19 항체와 조합하여 투여되는 상기 약제는 생물학적제제 또는 화학요법제이다. 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 약제는 치료 항체 또는 항체 단편, 질소 머스타드, 퓨린 유사체, 탈리도마이드 유사체, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, BCL-2 억제제 또는 브루톤 티로신 키나제 (BTK) 억제제이다. 추가 구현예에서, 상기 약제는 리툭시맙, R-CHOP, 시클로포스파미드, 클로람부실, 우라무스틴, 이포스파미드, 멜파란, 벤다무스틴, 메르캅토피린, 아자티오프린, 티오구아닌, 플루다라빈, 탈리도마이드, 레날리도마이드, 포말리도마이드, 이텔라리십, 두벨리십, 코판리십, 이브루티닙 또는 베네토클락스이다.
- [0215] 본 개시는 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 확인하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0216] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,
- [0217] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및
- [0218] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.
- [0219] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:
- [0220] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.
- [0221] 본 개시는 혈액암 환자에게 항-CD19 항체를 투여하여 혈액암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 환자는 하기 단계를 포함하는 방법에 따라 선택된다:
- [0222] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,
- [0223] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및
- [0224] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.
- [0225] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:
- [0226] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.
- [0227] 본 개시는 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0228] a) 상기 항-CD19 항체를 사용하여 치료하기 이전에 상기 환자로부터 수득한 혈액 샘플을 제공하는 단계,
- [0229] b) 말초 NK 세포 수를 결정하는 단계, 및

- [0230] c) 기준선에서 100 세포/ μ l 이하의 말초 NK 세포 수를 갖는 환자를 기준으로 환자를 선택하는 단계.
- [0231] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함한다:
- [0232] d) 상기 선택된 환자를 항-CD19 항체를 사용하여 치료하는 단계.
- [0233] 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 예측되는 이익은 개선된 무진행 생존 (PFS), 개선된 객관적 반응률 (ORR), 개선된 반응 지속기간 (DoR), 개선된 전체 생존 (OS) 또는 개선된 진행까지의 시간 (TTP) 또는 이의 조합이다.
- [0234] 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 예측되는 이익은 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 무진행 생존 (PFS), 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 객관적 반응률 (ORR), 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 반응 지속기간 (DoR), 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 전체 생존 (OS) 또는 항-CD20 항체의 투여에 비해 개선된 진행까지의 시간 (TTP) 또는 이의 조합이다.
- [0235] 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 예측되는 이익은
- [0236] (i) 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 13개월, 적어도 14개월, 적어도 15개월, 적어도 16개월, 적어도 17개월, 적어도 18개월, 적어도 19개월 또는 적어도 20개월의 무진행 생존 (PFS);
- [0237] (ii) 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 80%의 객관적 반응률 (ORR);
- [0238] (iii) 적어도 10개월, 적어도 12개월, 적어도 14개월, 적어도 16개월, 적어도 18개월, 적어도 20개월, 적어도 24개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 또는 적어도 54개월 이상의 반응 지속기간 (DoR);
- [0239] (iv) 적어도 10개월, 적어도 12개월, 적어도 14개월, 적어도 16개월, 적어도 18개월, 적어도 20개월, 적어도 24개월, 적어도 30개월, 적어도 36개월, 적어도 42개월, 적어도 48개월 또는 적어도 54개월의 전체 생존 (OS) 또는
- [0240] (v) 전술한 것 중 하나 이상의 조합이다. 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 본원에 개시된 바와 같은 약제와 조합하여 투여된다.
- [0241] 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 예측되는 이익은 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 무진행 생존 (PFS), 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 객관적 반응률 (ORR), 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 반응 지속기간 (DoR), 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 전체 생존 (OS) 또는 항-CD20 항체 및 화학요법제의 투여에 비해 개선된 진행까지의 시간 (TTP)이다. 추가 구현예에서, 상기 항-CD20 항체는 리툭시맙 또는 이의 바이오시밀러이다. 추가 구현예에서, 상기 화학요법제는 시클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴 또는 프레드니손 중 하나 이상을 포함한다.
- [0242] 본 개시의 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 예측되는 이익은 R-CHOP의 투여에 비해 개선된 무진행 생존 (PFS), R-CHOP의 투여에 비해 개선된 객관적 반응률 (ORR), R-CHOP의 투여에 비해 개선된 반응 지속기간 (DoR), R-CHOP의 투여에 비해 개선된 전체 생존 (OS) 또는 R-CHOP의 투여에 비해 개선된 진행까지의 시간 (TTP)이다.
- [0243] 본 개시의 다른 구현예에서, 상기 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 예측되는 이익은 하기 특징 중 하나 이상의 증가이다:
- [0244] (i) 무진행 생존 (PFS),
- [0245] (ii) 객관적 반응률 (ORR),
- [0246] (iii) 반응 지속기간 (DoR),
- [0247] (iv) 전체 생존 (OS),
- [0248] (v) 진행까지의 시간 (TTP).
- [0249] 다른 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상의 증가는 항-CD20 항체를 포함하는 치료와 비교된다. 추가 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상의 증가는 항-CD20 항체 및 화학요법제를 포함하는 치료

와 비교된다. 추가 구현예에서, 상기 항-CD20 항체는 리툭시맙 또는 이의 바이오시밀러이다. 추가 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상의 증가는 항-CD20 항체 및 시클로포스파미드, 아드리아마이신, 빈크리스틴 또는 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는 치료와 비교된다. 추가 구현예에서, 상기 특징 (i) 내지 (v) 중 하나 이상의 증가는 R-CHOP를 포함하는 치료와 비교된다.

[0250] 본 개시의 한 구현예에서, 상기 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법의 상기 혈액암 환자는 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 비호지킨 림프종 (NHL), 소림프구성 림프종 (SLL) 또는 급성 림프구성 백혈병 (ALL)을 갖는다. 추가 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 갖는다. 추가 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 비호지킨 림프종을 가지며, 상기 비호지킨 림프종은 여포성 림프종, 소림프구성 림프종, 점막-연관 림프 조직, 변연부 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 버킷 림프종 및 외투 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 구현예에서, 상기 혈액암 환자는 재발성 또는 불응성 미만성 거대 B-세포 림프종 (r-r DLBCL)을 갖는다.

[0251] 본 개시의 추가 구현예에서, 항-CD19 항체의 치료적 투여로부터 이익을 얻는 것으로 예측되는 혈액암 환자를 선택하는 방법의 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 서열

[0252] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS (서열번호: 7)의 가변성 중쇄

[0253] 및 서열

[0254] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (서열번호: 8)의 가변성 경쇄를 포함한다.

[0255] 추가 구현예에서, 상기 항-CD19 항체는 서열

[0256] EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTVVVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSLFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)을 갖는 중쇄

[0257] 및 서열

[0258] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호: 12)를 갖는 경쇄를 포함한다.

[0259] 다른 구현예에서, 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체는 서열번호: 7의 가변성 중쇄 및 서열번호: 8의 가변성 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 가변성 중쇄 및 가변성 경쇄를 포함한다.

[0260] 한 구현예에서, 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체는 서열번호: 7의 가변성 중쇄 및 서열번호: 8의 가변성 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 가변성 중쇄 및 가변성 경쇄를 포함하며, 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 중쇄 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.

[0261] 추가 구현예에서, 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체는 서열번호: 7의 중쇄 및 서열번호: 8의 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

[0262] 추가 구현예에서, 혈액암 환자의 치료를 위한 항-CD19 항체는 서열번호: 7의 중쇄 및 서열번호: 8의 경쇄에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄를 포함하며, 상기 항-CD19 항체는 서열 SYVMH (서열번호: 1)을 포함하는 HCDR1 영역, 서열 NPYNDG (서열번호: 2)를 포함하는 HCDR2 영역, 서열 GTYYYGTRVFDY (서열번호: 3)을 포함하는 HCDR3 영역, 서열 RSSKSLQNVNGNTYLY (서열번호: 4)를 포함하는 LCDR1 영역, RMSNLNS (서열번호: 5)를 포함하는 LCDR2 영역, 및 서열 MQHLEYPIT (서열번호: 6)을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 항-CD19 항체의 중쇄 영역은 아미노산 239D 및 332E를 포함하며, 상기 Fc 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스를 따른다.

[0263] 추가 구현예에서, 본 개시는 항-CD19 항체를 이용하여 치료되는 혈액암 환자의 말초 NK 세포 수를 결정하기 위한 수단을 포함하는 키트를 제공한다.

[0264] 추가 구현예에서, 본 개시는 항-CD19 항체를 이용한 치료에 대한 혈액암 환자의 감수성을 예측하기 위한 바이오마커로서 말초 NK 세포 수의 용도에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 기준선에서 말초 NK 세포 수는 100 세포/ μ l 이하, 90 세포/ μ l 이하, 80 세포/ μ l 이하, 70 세포/ μ l 이하, 60 세포/ μ l 이하 또는 50 세포/ μ l 이하이다. 다른 구현예에서, 기준선에서 말초 NK 세포 수는 1 내지 최대 100 세포/ μ l, 10 내지 최대 100 세포/ μ l, 20 내지 최대 100 세포/ μ l, 30 내지 최대 100 세포/ μ l, 40 내지 최대 100 세포/ μ l, 50 내지 최대 100 세포/ μ l, 60 내지 최대 100 세포/ μ l, 70 내지 최대 100 세포/ μ l, 또는 80 내지 최대 100 세포/ μ l이다.

[0265] 추가 구현예에서, 본 개시는 항-CD19 항체를 이용한 치료에 대한 혈액암 환자의 감수성을 예측하기 위한 바이오마커로서 말초 NK 세포 수의 용도에 관한 것이다. 다른 구현예에서, 기준선에서 말초 NK 세포 수는 100 세포/ μ l 미만, 90 세포/ μ l 미만, 80 세포/ μ l 미만, 70 세포/ μ l 미만, 60 세포/ μ l 미만 또는 50 세포/ μ l 미만이다. 다른 구현예에서, 기준선에서 말초 NK 세포 수는 1 내지 최대 100 세포/ μ l, 10 내지 최대 100 세포/ μ l, 20 내지 최대 100 세포/ μ l, 30 내지 최대 100 세포/ μ l, 40 내지 최대 100 세포/ μ l, 50 내지 최대 100 세포/ μ l, 60 내지 최대 100 세포/ μ l, 70 내지 최대 100 세포/ μ l, 또는 80 내지 최대 100 세포/ μ l이다.

[0266] **항체 서열**

[0267] 표 1:

	서열번호:	아미노산
HCDR1	서열번호: 1	SYVMH
HCDR2	서열번호: 2	NPYNDG
HCDR3	서열번호: 3	GTYYYGTRVFDY
LCDR1	서열번호: 4	RSSKSLQNVNGNTYLY
LCDR2	서열번호: 5	RMSNLNS
LCDR3	서열번호: 6	MQHLEYPIT

[0268]

	서열번호:	아미노산
VH	서열번호: 7	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTSY VMHWVRAQPGKLEWIGYINPYNDGTYNEK FQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDAMYYC ARGTYYYGTRVFDYWG QGTLVTVSS
VL	서열번호: 8	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNV NGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGV PDRFSGSGSGTEFTLTISLSEPEDFAVYYCMQ HLEYPIITFGAGTKLEIK
중쇄 불변 도메인	서열번호: 9	ASTKGPVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSQVHITFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPDVFLFPP KPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPPEKTI SKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTIPMLDSGFSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
경쇄 불변 도메인	서열번호: 10	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY PREAKVQKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPYTKSFNRGEC
전장 중쇄	서열번호: 11	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTSY VMHWVRAQPGKLEWIGYINPYNDGTYNEK FQGRVTISSDKSI STAYMELSSLRSEDAMYYC ARGTYYYGTRVFDYWGQTLVTVSSASTKGP SVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSQVHITFPAVLQSSGLYSLSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKS CDKTHITCPPAPPELLGGPDVFLFPPKPKDITL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPPEKTI SKTKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTIPMLDSGFSFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
전장 경쇄	서열번호: 12	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNV NGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGV PDRFSGSGSGTEFTLTISLSEPEDFAVYYCMQ HLEYPIITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVCLLNNFYPREAKVQKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPYTKSFNRGEC

[0269]

[0270]

작업예

[0271]

다양한 E:T 비율에서 DLBCL, MCL 및 CLL 세포주 내 MOR00208 및 리투시맙의 ADCC 활성

[0272]

실시예 1: 테스트된 세포주에서 CD19 및 CD20 발현의 특성화

[0273]

방법 & 데이터 분석

[0274]

본 연구에서는, QuantiBRITE™ 시스템을 사용하여 제조사의 지시에 따라 세포당 결합된 피코에리트린 (PE)-표지된 CD19 및 CD20 항체의 양을 정량화하였다. QuantiBRITE™ 시스템은 평균형광강도 (MFI) 값을 비드당 PE-분자의 수와 연관시키는 데 사용된 PE-분자의 사전-보정된 다른 수준으로 코팅된 4세트의 비드를 기반으로 한다. 각 개별 세포 유형에 대해, PE-표지된 항체로 염색시 측정된 MFI를 선형 회귀 공식에 적용하여 각각의 세포당-결합된-항체 (antibody-bound-per-cell, ABC) 값을 계산하였다. ABC 값은 Biolegend CD19-PE (Biolegend #302208; 클론 HIB19) 및 CD20-PE (Biolegend #302306; 클론 2H7) 항체가 항체당 단 하나의 PE 분자만 운반하므로, 세포당 CD19 및 CD20 분자의 수와 직접적으로 연관된다. 형광색소/ 단백질 (F/P)의 1:1 표지 비율에서 MESF (등가 용해성 형광색소의 분자) 값은 수식 $MESF/ABC = \text{유효 F/P}$ 에 따른 ABC 값에 해당한다. GraphPad PRISM™ 소프트웨어는 MFI를 ABC 값으로 변환하는 데 사용되었다.

[0275]

결과

[0276]

틀레도 (DLBCL), MEC-1 (CLL) 및 JVM-2 (MCL) 세포에서 CD19 및 CD20 발현 수준을 분석하였다. PE-표지된 항-CD19 및 항-CD20-항체와 조합한 QuantiBRITE™ 시스템을 사용하여 테스트된 B-세포 종양 세포주에서 CD19 및 CD20의 발현 수준을 결정하였다. DLBCL 세포주 틀레도의 경우, 35,721 및 28,008 세포당 결합된 항체 (ABC)의 CD19 및 CD20 발현 수준이 결정되었다 (표 1). MEC-1 세포 (CLL) 상의 CD19 및 CD20 발현은 60,925 및 71,320 ABC로 정량화된 반면, JVM-2 세포 (MCL)는 26,157의 CD19 발현 수준 및 15,540 ABC의 CD20 발현 수준을 나타내

었다.

표 1: JVM-2 (MCL), 툴레도 (DLBCL) 및 MEC-1 (CLL) 세포에 대한 CD19 및 CD20 ABC 값.

세포주	CD19 ABC	CD20 ABC
툴레도	35,721	28,008
MEC-1	60,925	71,320
JVM-2	26,157	15,540

실시예 2: 다양한 E:T 비율에서의 ADCC 활성 검정

방법 & 데이터 분석

항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)은 면역학적 세포독성 이펙터 메커니즘이며, 이는 주로 NK 세포 상의 Fc 수용체와 항체의 상호작용에 의존한다. ADCC는 항체가 표적 세포의 표면 상의 특이적 항원, 예를 들어, 암세포 상의 CD19 또는 CD20에 결합할 때 유발되며, 항체의 Fc 단편은 NK 세포와 같은 이펙터 세포 상의 Fc 수용체와 상호작용한다. 이 상호작용은 이펙터 세포를 활성화하고, 표적 세포의 용해는 퍼포린 및 그랜자임의 방출에 의해 유도된다.

이펙터 세포의 제조를 위해, 말초혈액 단핵세포 (PBMC)는 바이오콜(biocol) 분리 용액 및 셉메이트(SepMate) 튜브를 이용한 밀도-구배 원심분리로 건강한 지원자의 전혈로부터 분리하였다. 다음으로, NK 세포는 제조사의 프로토콜에 따라 MACS 키트를 통해 PBMC로부터 분리하였다. 항체 및 NK 이펙터 세포와 인큐베이션 전에, 하나의 CLL 세포주 (MEC-1), 하나의 MCL (JVM-2) 세포주 및 하나의 DLBCL 세포주 (툴레도)를 실온에서 3분 동안 1 μM의 카르복시플루오레세인 숙신이미딜 에스테르 (CFSE)로 염색하였다.

ADCC 실험에서, 웰당 2x10⁴개의 DLBCL, MCL 또는 CLL 표적 세포를 이펙터 세포로서 NK 세포와 다양한 이펙터 대 표적 (E:T) 비율로, 37°C 및 5% CO₂에서 2시간 동안 10 μg/ml 농도의 MOR00208 또는 리톡시맙과 함께 인큐베이션하였다. 종양 세포의 비특이적 NK 세포 매개 사멸은 항체의 부재하에 표적 세포와 NK 세포의 인큐베이션에 의해 결정되었다.

유세포 분석 기반 검정은, 막 불투과성이며, 손상된 막이 있는 죽은 세포의 DNA에만 삽입되는 반면 온전한 막이 있는 생존 세포에서는 제외되는, DNA 삽입 염료(intercalating dye)인 4',6-디아미디노-2-페닐인돌 (DAPI)을 사용하여 죽은 세포 및 생존 세포를 정량화함으로써 표적 세포의 사멸을 측정하는 데 활용되었다. 세포를 최종 농도 1 μg/ml의 DAPI로 염색하고, FACS 측정을 수행하기 전에 얼음 상에서 10분 동안 인큐베이션하였다.

원데이터(raw data)는 FACS Verse 기기로 수집하고, FlowJo 소프트웨어로 분석하였다. 세포 집단은 생존 세포 (DAPI 음성) 및 죽은 표적 세포 (DAPI 양성)에 대해 게이팅하였다. 데이터를 마이크로소프트 엑셀[®]로 내보내고, 하기 수식을 이용하여 죽은 세포의 백분율 및 특이적 사멸의 백분율을 계산하였다:

죽은 세포 % = 죽은 표적 세포 / (죽은 표적 세포 + 생존 표적 세포) x 100 (샘플)

특이적 사멸 % = 죽은 세포 % - NK 및 표적 세포 대조군 (항체 없음)에서 죽은 세포 %.

데이터 분석은 통계 소프트웨어 패키지 R 및 R 스튜디오 (버전 1.0.153 RStudio, Inc)를 사용하여 수행하였다. 각각의 독립적인 실험에 대해, 3회 반복으로 측정된 특이적 사멸 %는 기하 평균 및 이의 표준 편차로 요약하였다. 또한, 특이적 사멸의 비율은 리톡시맙의 중앙값으로 정규화하여 특이적 사멸 % 값으로부터 계산하였다. 시각화를 위해, 기하 평균 및 이의 95% 신뢰 구간을 계산하였다. 기하 평균의 신뢰 구간은 1,000회 반복으로 부트스트랩 재샘플링을 통해 계산하였다.

세포주당 모든 실험으로부터의 데이터를 요약하기 위해, 각 공여자의 특이적 사멸 비율은 2-단계 과정으로 결합하였다. 먼저, 개별 실험으로부터의 3회 반복 값을 기하 평균으로 집계하였다. 이후, 독립적인 실험의 기하 평균값을 개별 공여자의 각각의 E:T 비율에서 하나의 기하 평균값으로 결합하였다. 각 E:T 비율에서, 중앙값과 이의 신뢰 구간은 개별 공여자의 요약된 기하 평균값을 기반으로 10,000회 반복으로 부트스트랩 재샘플링을 통해 계산하였다 (R Core Team 2017; Davison 및 Hinkley 1997; Wickham 2017).

결과

- [0291] 툴레도 (DLBCL), MEC-1 (CLL) 및 JVM-2 (MCL) 세포에 대한 Fc 강화된 항-CD19 항체 MOR00208 및 항-CD20 항체 리툽시맙의 ADCC 활성은 건강한 인간 공여자로부터 분리된 NK 세포와 2시간 인큐베이션 후에 결정하였다.
- [0292] MOR00208 및 리툽시맙의 항-종양 활성은 10 µg/ml의 항체 농도에서 0.1:1, 0.3:1, 1:1, 3:1 및 6:1의 E:T 비율로 평가하였다. 0.1:1 내지 6:1 범위의 E:T 비율을 검정에 있어서 하위 비율 및 상위 비율로 선택하였다. 최저 비율 (1개의 NK 세포 대 10개의 종양 세포; 비율 0.1:1)은 이러한 시험관 내 검정에서 검출가능한 최소 ADCC 신호로 결정하였다. 상한 (6개의 NK 세포 대 1개의 종양 세포; 6:1)은 이러한 시험관 내 검정 조건하에서 최대 용해가 달성되는 비율로 선택하였다.
- [0293] **도 1**은 특이적 사멸 %로 나타낸 각 표적 세포주에 대한 개별 실험으로부터의 대표적인 결과를 보여주며, **도 2**는 리툽시맙에 대해 정규화된 MOR00208의 특이적 사멸 비율을 보여준다.
- [0294] **도 1**은 37°C에서의 2시간 검정에서 NK 세포의 존재하에 MOR00208 (검은색) 또는 리툽시맙 (흰색)에 의해 매개된 MEC-1 세포의 특이적 세포 사멸에 대한 하나의 대표적인 검정 결과를 보여준다. 3:1 및 6:1 E:T 비율에서, MOR00208에 의해 매개되는 40 내지 65%의 평균 특이적 사멸 수준 및 리툽시맙의 경우 34-60%가 MEC-1 세포에서 확인되었다. 예시적인 JVM-2 ADCC 검정에서, MOR00208 대 리툽시맙의 특이적 사멸은 또한 46 내지 56% 범위 대 39 내지 48% 범위로 3:1 및 6:1 E:T 비율에서 상승하였다. 툴레도 특이적 세포 사멸은 MOR00208 및 리툽시맙에 대해 대략 60%의 값으로 최고의 두 E:T 비율에서 유사하였다. 0.1:1의 최저 E:T 비율에서 리툽시맙의 특이적 사멸은 MEC-1 세포의 경우 3%인 반면, MOR00208은 6%의 특이적 사멸을 보였다. 0.1:1 E:T 비율에서, MOR00208 (3.4%) 대 리툽시맙 (0.5%)에 대해 상승된 특이적 세포 사멸을 갖는 JVM-2 세포 및 MOR00208 (8%) 대 리툽시맙 (3%)에 대해 증가된 세포 사멸을 갖는 툴레도 세포에서 유사한 발견이 이루어졌다.
- [0295] MOR00208 (검은색 삼각형) 및 리툽시맙 (원) 특이적 사멸 대 리툽시맙 중앙값의 비율은 0.1:1 E:T 비율에서 DLBCL, MCL 및 CLL 세포주를 사용한 모든 대표적인 개별 ADCC 실험의 경우에 1.9 내지 6.9배 증가하였다 (**도 2**). 3:1 및 6:1의 최고의 E:T 비율에서, 특이적 사멸은 포화 수준에 도달하였으며 (**도 1** 참조), MOR00208 대 리툽시맙의 특이적 사멸 비율에서는 최소한의 차이만 있었다 (**도 2**). 모든 실험 데이터 포인트는 3회 반복으로 평가하였다. 요약하면, E:T 적정은 3개의 B-세포 종양 세포주 및 33명의 건강한 혈액 공여자로부터 분리된 61개의 혈액 샘플의 NK 세포를 사용한 ADCC 검정에서 수행되었다. MOR00208 및 리툽시맙의 ADCC 활성은 각 공여자에 대한 2개의 독립적인 실험에서, JVM-2 세포의 경우 8명의 공여자 그리고 툴레도 세포의 경우 10명의 공여자로 평가되었다. MEC-1 세포는 2개의 독립적인 실험에서는 8명의 공여자 그리고 단일 실험에서는 9명의 추가 공여자로 테스트되었다.
- [0296] **도 3**은 각 세포주로 수행된 모든 실험의 경우에 있어서 리툽시맙에 대해 정규화된 특이적 사멸의 비율을 보여준다. 여기에서, 각 원 또는 삼각형은 1명의 개별 혈액 공여자로부터의 NK 세포를 사용하여, 3회 반복으로 수행된 2개의 독립적인 실험의 기하 평균값을 나타낸다. 리툽시맙에 대해 정규화된 MOR00208에 대한 5.3 또는 2.5배의 특이적 사멸 비율은 JVM-2 또는 툴레도 세포에서 E:T 비율 0.1:1로 확인되었고, 수많은 공여자의 중앙값으로서 나타내었다 (**도 3**). 개별 공여자의 NK 세포는 최저 E:T 비율에서 리툽시맙과 비교하여 최대 20 또는 30배까지 증가된 MOR00208의 특이적 사멸 비율을 보여주었다. 예를 들어, JVM-2 표적 세포를 갖는 공여자 296명 또는 툴레도 표적 세포를 갖는 공여자 299명 (데이터는 표시되지 않음). MEC-1 세포에서 이 효과는 17명의 상이한 공여자로부터 분리된 NK 세포를 사용한 여러 ADCC 검정의 결과로서 리툽시맙에 비해 MOR00208의 증가된 특이적 사멸 비율이 0.1:1 E:T 비율에서 평균 1.6배로 더 낮았다. 높은 E:T 비율에서 리툽시맙과 비교하여 MOR00208의 특이적 사멸 비율의 증가는 테스트된 모든 B-세포 종양 세포주에 대해 덜 뚜렷한 반면, 낮은 E:T 비율에서는 MOR00208이 리툽시맙보다 분명히 더 우수하였다. **도 3**에 나타낸 바와 같이 MOR00208의 신뢰 구간은 6:1의 E:T 비율에서 툴레도 세포를 제외하고는 리툽시맙의 신뢰 구간과 겹치지 않았으며, 이는 MOR00208 대 리툽시맙의 관찰된 우월성과 관련하여 일반적인 견고성을 시사한다. 결론적으로, 특이적 사멸의 비율은 E:T 비율이 낮을수록 증가하였으며, JVM-2 및 툴레도 세포의 경우에 가장 두드러진 반면, MEC-1 세포의 경우에는 일관된 효과를 볼 수 있었다.
- [0297] 단클론성 항체 MOR00208은 B 세포 상의 CD19 항원을 표적으로 하고, Fc 영역에 2개의 돌연변이 (S239D 및 I332E)를 가지고 있어 항체-의존성 세포-매개 세포독성을 강화시킨다. ADCC는 주로 종양 침윤성 NK 세포에 의해 매개되는, 암세포 사멸에 대한 핵심 메커니즘이다. Bhat 및 Watzl 2007은 0.05:1, 0.1:1 및 0.2:1의 낮은 E:T 비율에서 최대한의 효과와 더불어 리툽시맙의 존재하에 NK 세포의 증가된 연쇄 사멸을 보여주었다. 또한, 항체의 Fc 강화는 CD33 특이적 항체의 비-강화된 버전과 비교하여 증가된 NK 세포의 증가된 연쇄 사멸을 초래하는 것으로 보고되었다 (Romain 등, 2014). 여기에서, 리툽시맙에 대해 정규화된 MOR00208의 특이적 사멸의 비율이

0.1:1의 낮은 E:T 비율에서 1.6 내지 5.3배 증가하였으며, 이는 광범위한 건강한 공여자에 대한 NK 세포에 의해 매개되는 DLBCL로부터, MCL로부터 그리고 CLL로부터 유래된 하나의 세포주로 입증되었다. 특이적 사멸의 비율은 E:T 비율이 낮아질수록 증가하였으며, JVM-2 및 톨레도의 경우에 가장 두드러진 반면, MEC-1 세포의 경우에는 일관된 경향이 관찰되었다. 3:1 및 6:1의 최고 E:T 비율에서, MOR00208 매개 특이적 사멸은 10 µg/ml의 포화 항체 농도에서 리투시맙과 유사하였다.

[0298] 낮은 E:T 비율에서 리투시맙과 비교하여 MOR00208의 증가된 특이적 사멸은 61개의 독립적인 실험에서 톨레도, JVM-2 및 MEC-1 세포와 33명의 건강한 공여자로부터 새로 분리된 NK 세포로 검증하였다. 이러한 결과는 낮은 E:T 비율에서 NK 세포의 증가된 연쇄 사멸을 보여주고, MOR00208이 낮은 NK 세포 수를 갖는 DLBCL, MCL 및 CLL 환자에서 항종양 활성을 증가시켰다는 증거를 제공한다. 결론적으로, MOR00208의 ADCC 활성은 NK 세포가 제한된 조건하에서 리투시맙에 비해 가장 두드러진 우월성을 보였다. 따라서, 기준선에서 낮은 NKCC를 갖는 환자의 경우에는 MOR00208의 사용을 포함하는 치료가 표준 치료제 (예를 들어, 리투시맙) 보다 바람직하다.

[0299] **실시예 3: T 세포 및 NK 세포 계수**

[0300] 예로서, 말초 T 및 NK 세포 계수는 하기 절차에 따라 수행할 수 있다:

[0301] T 세포는 세포-매개 면역에서 중심적인 역할을 하는 일종의 림프구 (백혈구의 아형)이다. 이들은 세포 표면 상의 T-세포 수용체의 존재에 의해, 다른 림프구, 예컨대 B 세포 및 NK 세포와 구별될 수 있다.

[0302] 자연 살해 세포 또는 NK 세포는 선천성 면역계에 중요한 일종의 세포독성 림프구이다. NK 세포는 바이러스-감염 세포에 대해 신속한 반응을 제공하여, 감염 후 3일경에 작용하며, 종양 형성에 반응한다. 전형적으로, 면역 세포는 감염된 세포 표면 상에 존재하는 구조적 적합성 복합체 (MHC)를 감지하여, 사이토카인 방출을 유발하고, 용해 또는 아포토시스를 야기한다. 그러나, NK 세포는 이들이 항체 및 MHC의 부재하에 스트레스 받은 세포를 인식하는 능력이 있어, 훨씬 더 빠른 면역 반응을 허용하므로 유일무이하다.

[0303] **재료 및 방법**

[0304] TriTest CD3 FITC/CD16+CD56 PE/CD45 PerCP (TruCOUNT 튜브 포함), BD Biosciences, Cat: 340403 (US); 342442 (Europe). Gilson Inc.의, 20 µL, 50 µL 및 450 µL를 전달할 수 있는 피펫터 및 피펫 팁. FACS 용해 용액, BD Biosciences, Cat: 349202.

[0305] 기기: 유세포 분석기, 볼텍스

[0306] 유세포 분석의 배경:

[0307] 전혈을 백혈구 표면 항원에 특이적으로 결합하는 형광색소-표지 항체 (TriTEST 시약)로 염색한다. 세포는 레이저빔을 지나 이동하여 레이저광을 산란시킨다. 염색된 세포는 형광을 발한다. 기기에 의해 감지된, 이러한 산란 및 형광 신호는 세포의 크기, 내부 복잡성, 및 상대 형광 강도에 대한 정보를 제공한다. TriTEST 시약은 형광 유발을 채용하며, NK- 및 T-세포 림프구 집단의 직접적인 형광 게이팅을 허용하여 게이트에서 용해되지 않거나 유흥화된 적혈구의 오염을 줄인다.

[0308] 염색:

[0309] 각각의 환자 샘플에 대해서는, TruCOUNT 튜브에 샘플 식별 번호로 표지하였다. 20 µL의 TriTEST CD3/CD16+CD56/CD45 시약을 튜브의 바닥에 대고 피펫팅하였다. 50 µL의 잘 혼합된, 항응고시킨 전혈을 튜브의 바닥에 대고 피펫팅하였다. 실온 (20-25°C)에 보관된 항응고시킨 혈액 (EDTA)은 채혈 24시간 내에 염색하고, 염색 6시간 내에 분석해야 한다 (실온에서 유지하고 빛으로부터 보호해야 함). 튜브를 가볍게 볼텍싱하여 혼합하였다. 튜브를 어두운 곳에서 15분 동안 실온 (20-25°C)에서 인큐베이션하였다. 450 µL 1X FACS 용해 용액을 튜브에 첨가하였다. 튜브를 볼텍싱하고, 어두운 곳에서 15분 동안 실온 (20-25°C)에서 다시 인큐베이션하였다.

[0310] TruCOUNT 튜브를 사용하여, 알려진 부피의 샘플을 TruCOUNT 튜브에서 직접 염색한다. 튜브 내 동결건조된 펠렛을 용해시켜, 알려진 수의 형광 비드를 방출시킨다. 분석 동안, 샘플 내 양성 세포의 절대 수 (세포/µL)는 세포 이벤트를 비드 이벤트와 비교하여 결정할 수 있다.

[0311] 유세포 분석

[0312] 세포는 유세포 분석기에서 실행하기 전에 응집을 줄이기 위해, (저속으로) 철저히 볼텍싱하였다.

[0313] 데이터 분석

[0314] CD45 대 SSC 도트 플롯(dot plot)은 시각적으로 검사된다. 림프구는 저수준 내지 중수준의 SSC를 갖는 밝고, 조밀한 세포 집단으로 나타난다. 단핵구 (M) 및 과립구 (G)는 별개 집단으로 나타난다. 분석은 단핵구 및 림프구 세포 집단이 명확한 분리를 나타내는 때에 완료된다.

[0315] 림프구는 먼저 CD45 양성, 저수준 SSC 세포 집단으로 게이팅한다. CD16/CD56 대 CD3를 사전-선택한다. T-세포 (T)는 조밀하고 밝은 CD3 양성 클러스터로 나타나야 한다. NK-세포 (NK)는 조밀하고 밝은 CD16/CD56 양성 클러스터로 나타나야 한다. 게이팅이 완료되고, 상기 T, 및 NK 세포를 계수할 수 있다.

[0316] 비드 이벤트 계수는 임의의 사전-선택된 게이트 없이 CD16/CD56 대 CD3 플롯을 사용하여 수행된다. 비드는 PE/FITC 이중 양성 클러스터로 나타나야 한다.

[0317] 절대 수 계산

[0318] 샘플 내 T 세포 또는 NK 세포의 절대 수 (세포/μL 혈액)는 세포 이벤트를 비드 이벤트와 비교하여 결정한다. MultiSET 소프트웨어 또는 수동 (CellQuest 또는 다른 소프트웨어 사용) 데이터 분석을 사용할 수 있다. 수동 계수의 경우, 양성 세포가 획득된 이벤트의 수 (#)를 획득된 비드 이벤트의 수 (#)로 나눈 후, (50 μL의 전혈 샘플 부피로 나눈 총 TruCOUNT 비드 수 (로트 의존적))를 곱한다. 결과는 마이크로리터 당 절대 세포 수이다.

[0319] 수식:

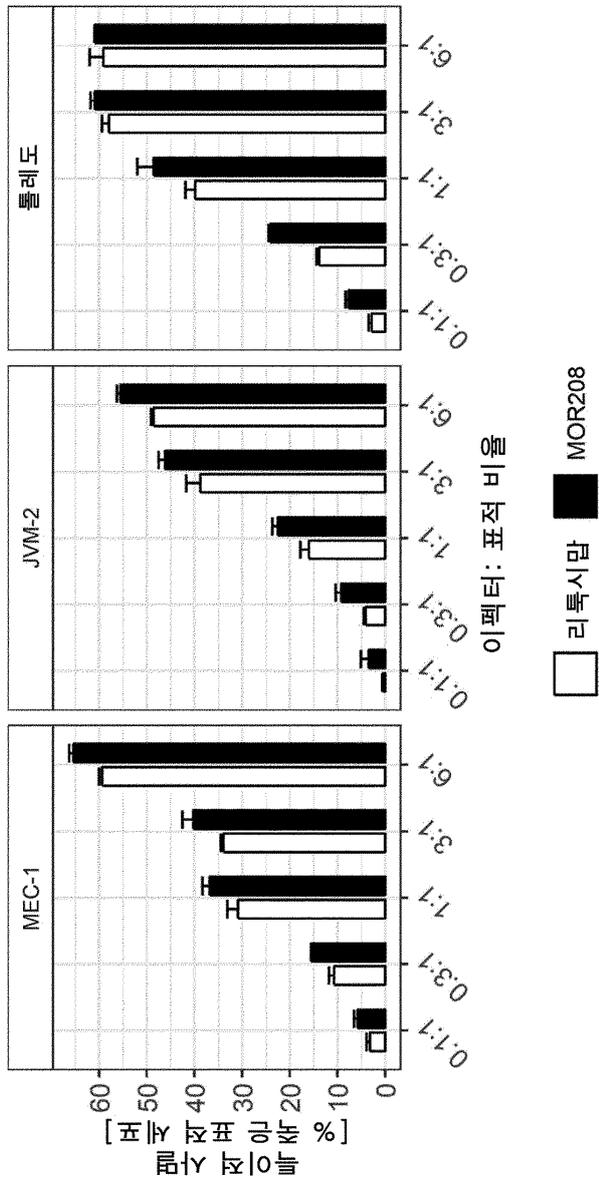
$$[0320] \frac{\text{세포 집단(T 또는 NK)을 포함하는 게이트 내의 이벤트 수}}{\text{비드 집단을 포함하는 게이트 2 내의 이벤트 수}} \times \frac{\text{총 TruCOUNT 비드의 수}}{50\mu\text{l 전혈}} = \text{세포 \# / 혈액 } \mu\text{l}$$

[0321] 예시:

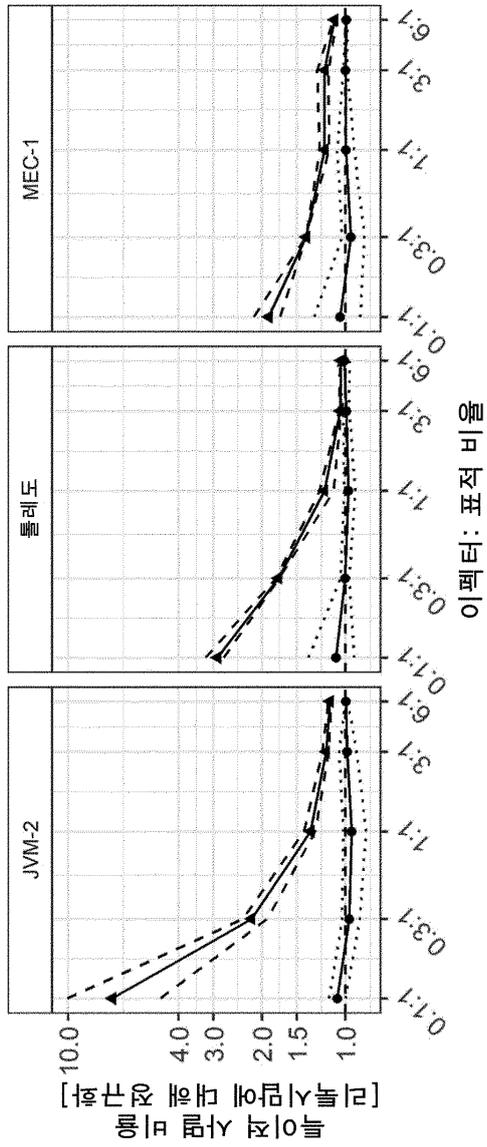
$$[0322] \frac{2709 \text{개의 획득된 T-세포}}{10\,000 \text{개의 획득된 비드}} \times \frac{\text{튜브 내 } 51\,667 \text{ 개의 총 비드}}{50\mu\text{l}} = 280 \text{ 개의 T-세포 / 혈액 } \mu\text{l}$$

도면

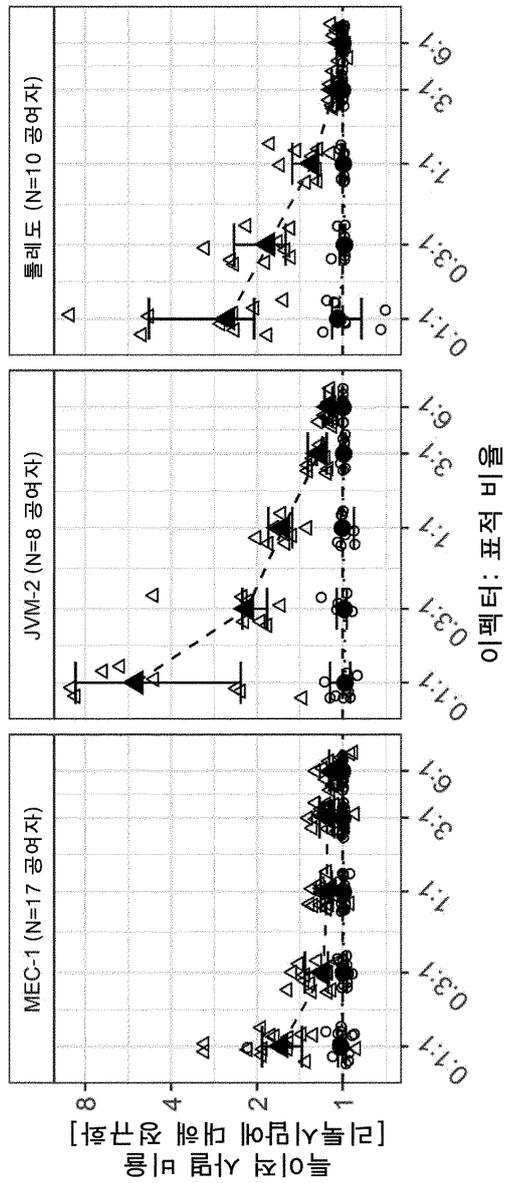
도면1



도면2



도면3



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> MORPHOSYS AG

<120> ANTI-CD19 THERAPY IN PATIENTS HAVING A LIMITED NUMBER OF NK CELLS

<130> MS301/EP-PROV

<140> EP 19172495.4

<141> 2019-05-03

<160> 13

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 1
 Ser Tyr Val Met His
 1 5
 <210> 2
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <
 223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 2
 Asn Pro Tyr Asn Asp Gly
 1 5
 <210> 3
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 3
 Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 4

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 5

Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 6

Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 7

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 8

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

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

polypeptide"

<400> 10

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

 100 105

<210> 11

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 11

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 12
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 12
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
 35 40 45
 Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
 50 55 60
 Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
 65 70 75 80
 Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
 85 90 95
 Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
 100 105 110
 Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
 115 120 125
 Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
 130 135 140
 Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala
 145 150 155 160
 Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
 165 170 175
 Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
 180 185 190
 Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
 195 200 205
 Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
 210 215 220
 Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
 225 230 235 240
 Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
 245 250 255
 Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
 260 265 270
 Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly

275 280 285
 Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
 290 295 300
 Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg

 305 310 315 320
 Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
 325 330 335
 Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
 340 345 350
 Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
 355 360 365
 Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp

 370 375 380
 Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
 385 390 395 400
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
 405 410 415
 Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
 420 425 430
 Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly

 435 440 445
 Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
 450 455 460
 Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
 465 470 475 480
 Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
 485 490 495
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln

 500 505 510
 Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
 515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
530 535 540
Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
545 550 555