



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0079568
(43) 공개일자 2020년07월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/39558 (2013.01)
C07K 16/22 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7018423(분할)
(22) 출원일자(국제) 2013년05월30일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2014-7036543
원출원일자(국제) 2013년05월30일
심사청구일자 2018년05월30일
(85) 번역문제출일자 2020년06월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/043452
(87) 국제공개번호 WO 2013/181452
국제공개일자 2013년12월05일
(30) 우선권주장
61/653,861 2012년05월31일 미국(US)

(71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
메커, 헤더
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
어빙, 브라이언
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
(74) 대리인
장덕순, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 PD-L1 축 결합 길항제 및 VEGF 길항제를 사용하여 암을 치료하는 방법

(57) 요약

본 발명은 PD-1 축 결합 길항제, 화학요법 및 임의로 VEGF 길항제를 포함하는 조합 치료 및 그의 사용 방법, 예컨대 암의 치료를 위해 종양 면역원성을 증가시키는 것과 같은 증진된 면역원성이 요구되는 상태를 치료하는 방법을 기재한다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/507 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

유효량의 항-PD-1 항체를 포함하고, 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 항-VEGF 항체, 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 사용되는 제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체가 PD-1 결합 길항제인 제약 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, PD-1 결합 길항제가 PD-1의 그의 리간드 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 것인 제약 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, PD-1 결합 길항제가 PD-1의 PD-L1에 대한 결합을 억제하는 것인 제약 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서, PD-1 결합 길항제가 PD-1의 PD-L2에 대한 결합을 억제하는 것인 제약 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서, PD-1 결합 길항제가 PD-1의 PD-L1 및 PD-L2 둘 다에 대한 결합을 억제하는 것인 제약 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체가 모노클로날 항체인 제약 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 항-PD-1 항체가 Fab, Fab'-SH, Fv, scFv 및 (Fab')₂ 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 단편인 제약 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체가 인간화 항체인 제약 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체가 인간 항체인 제약 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체가 MDX-1106인 제약 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체가 Merck 3475인 제약 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생산된 모노클로날 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프에 결합하는 것인 제약 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 항-VEGF 항체가 인간화 항체인 제약 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 항-VEGF 항체가 베바시주맙인 제약 조성물.

청구항 16

제11항에 있어서, 항-VEGF 항체가 베바시주맙인 제약 조성물.

청구항 17

제12항에 있어서, 항-VEGF 항체가 베바시주맙인 제약 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 항-VEGF 항체가 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서:

(a) 중쇄 가변 영역은 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하며, 여기서:

(i) CDRH1은 서열 24의 아미노산 서열을 포함하고;

(ii) CDRH2는 서열 25의 아미노산 서열을 포함하고;

(iii) CDRH3은 서열 26의 아미노산 서열을 포함하고;

(b) 경쇄 가변 영역은 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하며, 여기서:

(iv) CDRL1은 서열 27의 아미노산 서열을 포함하고;

(v) CDRL2는 서열 28의 아미노산 서열을 포함하고;

(vi) CDRL3은 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 제약 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서, 항-VEGF 항체가 하기 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역:

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW
INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTLLVT VSS (서열 22)

및 하기 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역:

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIFY
TSSLHSGVPS RFGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR (서열 23)

을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, 치료가 치료 중단 후에 개체에서 지속된 반응을 발생시키는 것인 제약 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서, 암이 폐암, 방광암, 유방암, 결장암 및 결장직장암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 22

제1항에 있어서, 암이 결장직장암인 제약 조성물.

청구항 23

항-PD-1 항체, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 항-VEGF 항체, 옥살리플라틴, 류코보

린 및 5-FU와 조합하여 항-PD-1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함하는 키트.

청구항 24

제23항에 있어서, 항-VEGF 항체, 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU를 추가로 포함하는 키트.

청구항 25

항-VEGF 항체, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 항-PD-1 항체, 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 항-VEGF 항체를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함하는 키트.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본원은 2012년 5월 31일에 출원된 미국 가출원 번호 61/653861을 우선권 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 본원은 EFS-웹을 통해 ASCII 포맷으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 그 전문은 본원에 참조로 포함된다. 2013년 5월 28일에 생성된 상기 ASCII 복사본은 P4926R1W0.txt로 명명되고, 크기는 14,285 바이트이다.

배경 기술

- [0005] T-세포에 2개의 별개의 신호를 제공하는 것은 항원-제시 세포 (APC)에 의한 휴면 T 림프구의 림프구 활성화에 널리 허용되는 모델이다. Lafferty et al., Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci 53: 27-42 (1975). 이 모델은 추가로 비-자기 면역 관용으로부터 자기 면역 관용의 구별을 제공한다. Bretscher et al., Science 169: 1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., P.N.A.S. USA 96: 185-190 (1999); Jenkins et al., J. Exp. Med. 165: 302-319 (1987). 일차 신호 또는 항원 특이적 신호는 주요 조직적합성-복합체 (MHC)에 의해 제시된 외래 항원 펩티드의 인식 이후에 T-세포 수용체 (TCR)를 통해 전달된다. 이차 또는 공-자극 신호는 항원-제시 세포 (APC) 상에서 발현된 공-자극 분자에 의해 T-세포로 전달되고, T-세포가 클론 증식, 시토카인 분비 및 이펙터 기능을 촉진하도록 유도한다. Lenschow et al., Ann. Rev. Immunol. 14:233 (1996). 공-자극의 부재 하에, T-세포는 항원 자극에 대해 불응성이 될 수 있고, 효과적인 면역 반응을 시작하지 않을 수 있으며, 추가로 외래 항원에 대해 소진되거나 관용이 생길 수 있다.
- [0006] 2-신호 모델에서 T-세포는 양성 및 음성 이차 공-자극 신호를 둘 다 받는다. 이러한 양성 및 음성 신호의 조절은 면역 관용을 유지하고 자가면역을 방지하면서 숙주의 보호 면역 반응을 최대화하는데 중요하다. 음성 이차 신호는 T-세포 관용을 유도하는데 필요한 것으로 보이는 반면에, 양성 신호는 T-세포 활성화를 촉진한다. 단순한 2-신호 모델이 나이브 림프구에 대해서는 여전히 유효한 설명을 제공하지만, 숙주의 면역 반응은 동적 과정이며, 공-자극 신호는 또한 항원-노출된 T-세포에도 제공될 수 있다. 공-자극 신호의 조작이 세포-기반 면역 반응을 증진시키거나 종결시키는 수단을 제공하는 것으로 밝혀졌으므로, 공-자극의 메커니즘이 치료 관심사이다. 최근에, T 세포 기능이상 또는 무반응은 억제 수용체, 프로그램화된 사멸 1 폴리펩티드 (PD-1)의 유도된 및 지속된 발현과 함께 일어나는 것으로 밝혀졌다. 그 결과, PD-1 및 PD-1과의 상호작용을 통해 신호를 전달하는 다른 분자, 예컨대 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1) 및 프로그램화된 사멸 리간드 2 (PD-L2)를 표적화하는 요법이 관심이 집중되는 영역이다.
- [0007] PD-L1은 많은 암에서 과다발현되고, 종종 불량한 예후와 연관된다 (Okazaki T et al., Intern. Immun. 2007 19(7):813) (Thompson RH et al., Cancer Res 2006, 66(7):3381). 흥미롭게도, 대부분의 종양 침윤 T 림프구는 정상 조직 내의 T 림프구 및 말초 혈액 T 림프구와 달리 PD-1을 우세하게 발현하며, 이는 종양-반응성 T 세포 상에서의 PD-1의 상향-조절이 손상된 항종양 면역 반응에 기여할 수 있다는 것을 나타낸다 (Blood 2009 114(8):1537). 이는 T 세포 활성화의 감쇠 및 면역 감시의 회피를 야기하기 위해, PD-1 발현 T 세포와 상호작용하는 PD-L1 발현 종양 세포에 의해 매개되는 PD-L1 신호전달의 사용으로 인한 것일 수 있다 (Sharpe et al., Nat Rev 2002) (Keir ME et al., 2008 Annu. Rev. Immunol. 26:677). 따라서, PD-L1/PD-1 상호작용의 억제는 종양의 CD8+ T 세포-매개 사멸을 증진시킬 수 있다.

[0008] 그의 직접적 리간드 (예를 들어, PD-L1, PD-L2)를 통한 PD-1 축 신호전달의 억제는 암의 치료를 위한 T 세포 면역 (예를 들어, 종양 면역)을 증진시키기 위한 수단으로 제안되었다. 또한, T 세포 면역에 대한 유사한 증진이 PD-L1의 결합 파트너 B7-1에 대한 결합을 억제함으로써 관찰되었다. 최적의 치유적 치료는 PD-1 수용체/리간드 상호작용의 차단을 다른 항암제와 조합하는 것일 수 있다. 다양한 암의 치료, 안정화, 예방 및/또는 발생 지연을 위한 이러한 최적의 요법에 대한 필요성이 계속 존재한다.

[0009] 본원에 개시된 모든 참고문헌, 공개물 및 특허 출원은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

발명의 내용

[0010] 본 발명은 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU, 및 PD-1 축 결합 길항제를 포함하는 조합 치료를 기재한다.

[0011] 본원은 개체에게 유효량의 PD-1 축 결합 길항제, 및 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU를 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 암을 치료하거나 암의 진행을 느리게 하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 방법은 VEGF 길항제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0012] 암은 흑색종, 결장직장암, 비소세포 폐암, 난소암, 유방암, 전립선암, 췌장암, 혈액 악성종양 또는 신세포 암종일 수 있다. 암은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료하고자 하는 대상체는 인간이다.

[0013] 일부 실시양태에서, 치료는 치료 중단 후에 개체에서 지속된 반응을 발생시킨다. 일부 실시양태에서, 치료는 대상체에서 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환을 생성한다.

[0014] 일부 실시양태에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제 또는 PD-L2 결합 길항제이다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 PD-L1에 대한 결합 및/또는 PD-1의 PD-L2에 대한 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항체 MDX-1106, CT-011 및 머크 (Merck) 3745), 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질 또는 올리고펩티드이다. 일부 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 PD-1에 대한 결합 및/또는 PD-L1의 B7-1에 대한 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항체 YW243.55.S70 및 MDX-1105), 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질 또는 올리고펩티드이다. 일부 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 PD-L2의 PD-1에 대한 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 항체, 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신 (예를 들어, 본원에 기재된 AMP-224), 융합 단백질 또는 올리고펩티드이다.

[0015] 일부 실시양태에서, VEGF 길항제는 항체, 예를 들어 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생산된 모노클로날 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프에 결합한다. 항-VEGF 항체는 인간화 항체 또는 인간 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 베바시주맙이다. 일부 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 하기 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역:

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW
INTYTGPTY AADFRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTLLV VSS (서열 22)

[0016] 및 하기 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역:

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIFY
TSSLHSGVPS RFGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR (서열 23)

[0018] 을 갖는다.

[0020] 또 다른 측면에서, 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 가진 개체에서 면역 기능을 증진시키기 위해 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 PD-1 축 결합 길항제, 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU를 포함하는 키트를 제공한다. 키트는 PD-1 축 결합 길항제, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 가진 개체에서 면역 기능을 증진시키기 위해 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 PD-1 축 결합 길항제를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함할 수 있다. 키트는 VEGF 길항제, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 가진 개체에서 면역 기능을 증진시키기 위해 PD-1 축 결합 길항제, 및 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 VEGF 길항제를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함할 수 있다. 키트는 PD-1 축

결합 길항제 및 VEGF 길항제, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 가진 개체에서 면역 기능을 증진시키기 위해 PD-1 축 결합 길항제 및 VEGF 길항제를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 항-PD-L1 항체 및 FOLFOX 공-치료에 의한 종양 부피에서의 변화를 도시하는 그래프이다. 데이터는 항-PD-L1 항체 또는 FOLFOX 단독 치료와 비교하여 종양 성장의 유의한 감소 및 지속된 항종양 효과를 증명한다.

도 2는 도 1에 제시된 치료군에 대한 체중 변화를 나타내는 그래프이다.

도 3은 FOLFOX 및 항-VEGF 항체와 조합된 항-PD-L1 항체와 비교하여 FOLFOX와 조합된 항-PD-L1 항체에 의한 종양 부피에서의 변화를 도시하는 그래프이다. 데이터는 항-VEGF 항체의 추가 투여가 FOLFOX와 조합된 항-PD-L1 항체에 의한 치료와 비교하여 종양 성장을 유의하게 감소시키고, 지속된 항종양 효과를 야기함을 증명한다.

도 4는 도 3에 제시된 치료군에 대한 체중 변화를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 일반적 기술

본원에 기재되거나 언급된 기술 및 절차는 일반적으로 잘 이해되며, 통상의 방법론, 예컨대 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); 및 Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)]에 기재된 널리 활용되는 방법론을 사용하여 당업자에 의해 통상적으로 사용된다.

II. 정의

용어 "PD-1 축 결합 길항제"는 PD-1 신호전달 축 상의 신호전달로부터 발생한 T-세포 기능이상을 제거하여 T-세포 기능을 복원 또는 증진시키는 결과를 나타내도록, PD-1 축 결합 파트너와 하나 이상의 그의 결합 파트너의 상호작용을 억제하는 분자이다. 본원에 사용된 PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제 및 PD-L2 결합 길항제를 포함한다.

용어 "PD-1 결합 길항제"는 PD-1과 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대 PD-L1, PD-L2의 상호작용으로부터 발생한 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 방해하는 분자이다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 그의 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 분자이다. 구체적 측면에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 PD-L1 및/또는 PD-L2에 대한 결합을 억제한다. 예를 들어, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체, 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질, 올리고펩티드, 및 PD-1과 PD-L1 및/또는 PD-L2의 상호작용으로부터 발생한 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 방해하는 다른 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, PD-1 결합 길항

제는 기능이상 T-세포가 덜 비-기능이상이도록, PD-1을 통한 T 림프구 매개 신호전달시에 발현되는 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통해 매개되는 음성 공-자극 신호를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체이다. 구체적인 측면에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기재된 MDX-1106이다. 또 다른 구체적인 측면에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기재된 머크 3745이다. 또 다른 구체적인 측면에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기재된 CT-011이다.

[0027] 용어 "PD-L1 결합 길항제"는 PD-L1과 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대 PD-1, B7-1의 상호작용으로부터 발생한 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 방해하는 분자이다. 일부 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 그의 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 분자이다. 구체적인 측면에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 PD-1 및/또는 B7-1에 대한 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체, 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질, 올리고펩티드, 및 PD-L1과 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대 PD-1, B7-1의 상호작용으로부터 발생한 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 방해하는 다른 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 기능이상 T-세포가 덜 비-기능이상이도록, PD-L1을 통한 T 림프구 매개 신호전달시에 발현되는 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통해 매개되는 음성 공-자극 신호를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 구체적인 측면에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기재된 YW243.55.S70이다. 또 다른 구체적인 측면에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기재된 MDX-1105이다.

[0028] 용어 "PD-L2 결합 길항제"는 PD-L2와 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대 PD-1의 상호작용으로부터 발생한 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 방해하는 분자이다. 일부 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 PD-L2의 그의 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 분자이다. 구체적인 측면에서, PD-L2 결합 길항제는 PD-L2의 PD-1에 대한 결합을 억제한다. 일부 실시양태에서, PD-L2 길항제는 항-PD-L2 항체, 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질, 올리고펩티드, 및 PD-L2와 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예컨대 PD-1의 상호작용으로부터 발생한 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 방해하는 다른 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 기능이상 T-세포가 덜 비-기능이상이도록, PD-L2를 통한 T 림프구 매개 신호전달시에 발현되는 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통해 매개되는 음성 공-자극 신호를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 PD-L2이뮤노어드헤신이다. 구체적인 측면에서, PD-L2 이뮤노어드헤신은 본원에 기재된 AMP-224이다.

[0029] "VEGF 길항제"는 하나 이상의 VEGF 수용체에 대한 그의 결합을 포함하여, VEGF 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. VEGF 길항제는 항-VEGF 항체 및 그의 항원-결합 단편, VEGF에 특이적으로 결합함으로써 1종 이상의 수용체에 대한 그의 결합을 봉쇄하는 수용체 분자 및 유도체, 항-VEGF 수용체 항체 및 VEGF 수용체 길항제, 예컨대 VEGFR 티로신 키나제의 소분자 억제제를 포함한다.

[0030] 용어 "VEGF" 또는 "VEGF-A"는 예를 들어 문헌 [Leung et al. Science, 246:1306 (1989), 및 Houck et al. Mol. Endocrin., 5:1806 (1991)]에 기재된 바와 같은 165-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자 및 관련 121-, 145-, 189- 및 206-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자, 및 이와 함께 그의 자연 발생 대립유전자 및 프로세싱된 형태를 지칭하는데 사용된다. VEGF-A는 VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F 및 PlGF를 포함하는 유전자 패밀리의 일부이다. VEGF-A는 주로 2종의 고친화도 수용체 티로신 키나제, VEGFR-1 (Flt-1) 및 VEGFR-2 (Flk-1/KDR)에 결합하며, 후자는 VEGF-A의 혈관 내피 세포 유사분열촉진 신호의 주요 전달자이다. 추가로, 뉴로필린-1이 헤파린-결합 VEGF-A 이소형에 대한 수용체로서 확인되었고, 이는 혈관 발생시에 소정의 역할을 할 수 있다. 용어 "VEGF" 또는 "VEGF-A"는 또한, 비-인간 종, 예컨대 마우스, 래트 또는 영장류로부터의 VEGF를 지칭한다. 때때로, 특정한 종으로부터의 VEGF는 인간 VEGF의 경우에는 hVEGF, 또는 뮤린 VEGF의 경우에는 mVEGF와 같은 용어로 표시된다. 용어 "VEGF"는 또한 165-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자의 아미노산 8 내지 109 또는 1 내지 109를 포함하는 폴리펩티드의 말단절단된 형태 또는 단편을 지칭하는데 사용된다. 임의의 이러한 형태의 VEGF에 대한 언급은, 본원에서 예를 들어 "VEGF (8-109)", "VEGF (1-109)" 또는 "VEGF165"에 의해 확인할 수 있다. "말단절단된" 천연 VEGF에 대한 아미노산 위치는 천연 VEGF 서열에 나타내어진 바와 같이 넘버링된다. 예를 들어, 말단절단된 천연 VEGF에서의 아미노산 위치 17 (메티오닌)은 또한 천연 VEGF에서의 위치 17 (메티오닌)이다. 말단절단된 천연 VEGF는 KDR 및 Flt-1 수용체에 대해 천연 VEGF와 대등한 결합 친화도를 갖는다.

[0031] "항-VEGF 항체"는 VEGF에 충분한 친화도 및 특이성으로 결합하는 항체이다. 선택된 항체는 통상적으로 VEGF에 대해 결합 친화도를 가질 것이고, 예를 들어 항체는 100 nM-1 pM의 Kd 값으로 hVEGF에 결합할 수 있다. 항체 친화도는 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 기반 검정 (예컨대 PCT 출원 공개 번호 WO2005/012359에 기재된 바와

같은 비아코어(BIAcore) 검정); 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA); 및 경쟁 검정 (예를 들어, RIA)에 의해 결정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-VEGF 항체는 VEGF 활성이 수반되는 질환 또는 상태를 표적화하고 이를 방해하는데 있어서 치료제로서 사용될 수 있다. 또한, 항체는, 예를 들어 치료제로서의 그의 유효성을 평가하기 위해 다른 생물학적 활성 검정에 적용될 수 있다. 이러한 검정은 당업계에 공지되어 있고, 항체에 대한 표적 항원 및 의도된 용도에 따라 달라진다. 예는 HUVEC 억제 검정; 종양 세포 성장 억제 검정 (예를 들어, WO 89/06692에 기재된 바와 같음); 항체-의존성 세포 세포독성 (ADCC) 및 보체-매개 세포독성 (CDC) 검정 (미국 특허 5,500,362); 및 효능작용 활성 또는 조절 검정 (WO 95/27062 참조)을 포함한다. 항-VEGF 항체는 통상적으로 다른 VEGF 상동체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C에도 결합하지 않을 것이고, 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF 또는 bFGF에도 결합하지 않을 것이다.

[0032] "키메라 VEGF 수용체 단백질"은 적어도 2종의 상이한 단백질로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 VEGF 수용체 분자이며, 이 중 적어도 1종은 VEGF 수용체 단백질로서 존재한다. 특정 실시양태에서, 키메라 VEGF 수용체 단백질은 VEGF에 결합하여 그의 생물학적 활성을 억제할 수 있다.

[0033] "항혈관신생제" 또는 "혈관신생 억제제"는 혈관신생, 혈관생성 또는 바람직하지 않은 혈관 투과성을 직접 또는 간접적으로 억제하는 소분자량 물질, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 단리된 단백질, 재조합 단백질, 항체, 또는 이들의 접합체 또는 융합 단백질을 지칭한다. 항혈관신생제는 혈관신생 인자 또는 그의 수용체에 결합하고 이것의 혈관신생 활성을 차단하는 작용제를 포함한다는 것을 이해해야 한다. 예를 들어, 항혈관신생제는 상기 정의된 바와 같은 혈관신생제에 대한 항체 또는 기타 길항제, 예를 들어 VEGF-A 또는 VEGF-A 수용체 (예를 들어, KDR 수용체 또는 Flt-1 수용체)에 대한 항체, 항-PDGFR 억제제, 예컨대 글리벡(Gleevec)TM (이마티닙 메실레이트)이다. 항혈관신생제는 또한 천연 혈관신생 억제제, 예를 들어 안지오테나신, 엔도스타틴 등을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Klagsbrun and D'Amore, Annu. Rev. Physiol., 53:217-39 (1991); Streit and Detmar, Oncogene, 22:3172-3179 (2003)] (예를 들어, 악성 흑색종에서의 항혈관신생 요법을 열거한 표 3); 문헌 [Ferrara & Alitalo, Nature Medicine 5:1359-1364 (1999); Tonini et al., Oncogene, 22:6549-6556 (2003)] (예를 들어, 공지된 항혈관신생 인자를 열거한 표 2); 및 문헌 [Sato. Int. J. Clin. Oncol., 8:200-206 (2003)] (예를 들어, 표 1은 임상 시험에 사용된 항혈관신생제를 열거함)을 참조한다.

[0034] 면역 기능이상성의 문맥에서 용어 "기능이상"은 항원 자극에 대한 감소된 면역 반응성의 상태를 지칭한다. 이 용어는 항원 인식이 일어날 수 있지만 그로 인한 면역 반응이 감염 또는 종양 성장을 제어하는데 효과적이지 않은 소진 및/또는 무반응 둘 다의 공통 요소를 포함한다.

[0035] "T 세포 기능을 증진시키는 것"은 T-세포가 지속된 또는 증폭된 생물학적 기능을 갖도록 유도, 유발 또는 자극하는 것, 또는 소진된 또는 불활성 T-세포를 재생 또는 재활성화시키는 것을 의미한다. T 세포 기능을 증진시키는 것의 예는 CD8⁺ T-세포로부터 γ -인터페론의 분비를 증가시키는 것, 증식을 증가시키는 것, 항원 반응성 (예를 들어, 바이러스 또는 병원체 제거)을 개입 이전의 수준에 비해 증가시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 증진 수준은 적어도 50%, 대안적으로 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 120%, 150%, 200%이다. 이러한 증진을 측정하는 방식은 당업자에게 공지되어 있다.

[0036] "T 세포 기능이상 장애"는 항원 자극에 대한 감소된 반응성을 특징으로 하는 T-세포의 장애 또는 상태이다. 특정한 실시양태에서, T-세포 기능이상 장애는 PD-1을 통한 부적절한 증가된 신호전달과 특이적으로 연관된 장애이다. 또 다른 실시양태에서, T-세포 기능이상 장애는 T-세포가 무력하거나 또는 시토킨 분비, 증식 또는 세포용해 활성을 수행하는 능력이 감소된 것이다. 구체적인 측면에서, 감소된 반응성은 면역원을 발현하는 병원체 또는 종양을 비효과적으로 제어한다. T-세포 기능이상을 특징으로 하는 T 세포 기능이상 장애의 예는 미해결 급성 감염, 만성 감염 및 종양 면역을 포함한다.

[0037] "종양 면역"은 종양이 면역 인식 및 제거를 회피하는 과정을 지칭한다. 이에 따라, 치료 개념으로서 종양 면역은 이러한 회피가 감소되는 경우에 "치료"되고, 종양은 면역계에 의해 인식되어 공격받는다. 종양 인식의 예는 종양 결합, 종양 수축 및 종양 제거를 포함한다.

[0038] "면역원성"은 면역 반응을 일으키기 위한 특정한 물질의 능력을 지칭한다. 종양은 면역원성이고, 면역 반응에 의한 종양 세포의 제거에서 종양 면역원성 도움을 증진시킨다. 종양 면역원성을 증진시키는 것의 예는, VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 항-PDL 항체 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU에 의한 치료를 포함한다.

[0039] "지속된 반응"은 치료 중단 후에 종양 성장 감소에 대한 지속된 효과를 지칭한다. 예를 들어, 종양 크기는 투여 단계 초기의 크기와 비교하여 동일하거나 보다 작게 남아 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 지속된 반응은

적어도 치료 지속기간과 동일한 지속기간, 치료 지속기간의 적어도 1.5X, 2.0X, 2.5X 또는 3.0X 길이의 지속기간을 갖는다.

[0040] 용어 "항체"는 모노클로날 항체 (이뮤노글로불린 Fc 영역을 갖는 전장 항체 포함), 폴리클로날 특이성을 갖는 항체 조성물, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체, 디아바디 및 단일-쇄 분자, 뿐만 아니라 항체 단편 (예를 들어, Fab, F(ab')₂ 및 Fv)을 포함한다. 용어 "이뮤노글로불린" (Ig)은 본원에서 "항체"와 상호교환 가능하게 사용된다.

[0041] 기본 4-쇄 항체 단위는 2개의 동일한 경쇄 (L) 및 2개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된 이중사량체 당단백질이다. IgM 항체는 J 쇠로 불리는 추가의 폴리펩티드와 함께 5개의 기본 이중사량체 단위로 이루어지고, 10개의 항원 결합 부위를 함유하는 한편, IgA 항체는 중합되어 J 쇠와 조합된 다량 조립체를 형성할 수 있는 2-5개의 기본 4-쇄 단위를 포함한다. IgG의 경우에, 4-쇄 단위는 일반적으로 약 150,000 달톤이다. 각각의 L 쇠는 1개의 공유 디설피드 결합에 의해 H 쇠에 연결되지만, 2개의 H 쇠는 H 쇠 이소형에 따라 1개 이상의 디설피드 결합에 의해 서로 연결된다. 또한, 각각의 H 및 L 쇠는 일정한 간격을 두고 이격된 쇠내 디설피드 가교를 갖는다. 각각의 H 쇠는 N-말단에 가변 도메인 (V_H)을 갖고, 이어서 α 및 γ 쇠 각각의 경우에는 3개의 불변 도메인 (C_H), μ 및 ε 이소형의 경우에는 4개의 C_H 도메인을 갖는다. 각각의 L 쇠는 N-말단에서 가변 도메인 (V_L)을 갖고, 이어서 그의 다른 말단에서 불변 도메인을 갖는다. V_L은 V_H와 정렬되고, C_L은 중쇄의 제1 불변 도메인 (C_{H1})과 정렬된다. 특정한 아미노산 잔기는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 사이의 인터페이스를 형성한다고 여겨진다. V_H 및 V_L의 쌍형성은 함께 단일 항원-결합 부위를 형성한다. 상이한 부류의 항체의 구조 및 특성에 대해서는, 예를 들어 문헌 [Basic and Clinical Immunology, 8th Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994] (페이지 71 및 챕터 6)을 참조한다. 임의의 척추동물 종으로부터의 L 쇠는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여 카파 및 람다라고 불리는 명백하게 구분되는 2종의 유형 중 1종에 배정될 수 있다. 이뮤노글로불린은 중쇄의 불변 도메인 (CH)의 아미노산 서열에 따라 상이한 부류 또는 이소형으로 배정될 수 있다. 5가지 부류의 이뮤노글로불린: 각각 α, δ, ε, γ 및 μ로 지정된 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재한다. γ 및 α 부류는 CH 서열 및 기능에서 비교적 작은 차이에 기초하여 하위부류로 추가로 분류되고, 예를 들어 인간은 하기 하위부류: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2를 발현한다.

[0042] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노-말단 도메인을 지칭한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각 "VH" 및 "VL"로 지칭될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 (동일한 부류의 다른 항체에 비해) 항체의 가장 가변적인 부분이고, 항원 결합 부위를 함유한다.

[0043] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 절편의 서열이 항체마다 광범위하게 상이하다는 사실을 지칭한다. V 도메인은 항원 결합을 매개하고, 그의 특정한 항원에 대한 특정한 항체의 특이성을 규정한다. 그러나, 가변성은 가변 도메인의 전체 범위에 걸쳐 균등하게 분포되지 않는다. 대신에, 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역 (HVR)으로 불리는 3개의 절편에 집중되어 있다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)으로 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 주로 베타-시트 배위를 채택하여 3개의 HVR에 의해 연결되어 있는 4개의 FR 영역을 포함하며, 이는 베타-시트 구조를 연결하고 일부 경우에는 상기 베타-시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 각각의 쇠 내의 HVR은 FR 영역에 의해 매우 근접하게 함께 유지되고, 다른 쇠로부터의 HVR과 함께 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다 (문헌 [Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)] 참조). 불변 도메인은 항체의 항원에 대한 결합에 직접 수반되지 않지만, 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포 독성에서 항체의 참여를 나타낸다.

[0044] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉 이러한 집단을 구성하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이 및/또는 번역후 변형 (예를 들어, 이성질체화, 아미드화)을 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 고도로 특이적이어서, 단일 항원 부위에 대해 지시된다. 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 대조적으로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 그의 특이성 이외에도, 모노클로날 항체는 하이브리도마 배양에 의해 합성되고, 다른 이뮤노글로불린에 의해 오염되지 않는다는 점에서 유리하다. 수식어 "모노클로날"은 항체의 특징이 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 것임을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산이 필요하다는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를

들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는, 예를 들어 하이브리도마 방법 (예를 들어, 문헌 [Kohler and Milstein., Nature, 256:495-97 (1975); Hongo et al., Hybridoma, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)]), 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조), 파지-디스플레이 기술 (예를 들어, 문헌 [Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004)] 참조), 및 인간 이뮤노글로불린 서열을 코딩하는 인간 이뮤노글로불린 유전자좌 또는 유전자의 일부 또는 전부를 갖는 동물에서 인간 또는 인간-유사 항체를 생산하는 기술 (예를 들어, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; 문헌 [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., Nature 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993)]; 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016; 문헌 [Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996); 및 Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995)] 참조)을 비롯한 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0045] 용어 "네이키드 항체"는 세포독성 모이어티 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체를 지칭한다.

[0046] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 항체 단편과 대조적으로, 그의 실질적으로 무손상인 형태의 항체를 지칭하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 구체적으로, 전체 항체는 Fc 영역을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 갖는 것들을 포함한다. 불변 도메인은 천연 서열 불변 도메인 (예를 들어, 인간 천연 서열 불변 도메인) 또는 그의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 일부 경우에, 무손상 항체는 하나 이상의 이펙터 기능을 가질 수 있다.

[0047] "항체 단편"은 무손상 항체의 일부, 바람직하게는 무손상 항체의 항원 결합 및/또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아마디; 선형 항체 (미국 특허 5,641,870, 실시예 2; 문헌 [Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062] 참조); 단일-쇄 항체 분자 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다. 항체의 파파인 소화는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원-결합 단편, 및 나머지 "Fc" 단편 (이 명칭은 용이하게 결정화되는 능력을 반영함)을 생산한다. Fab 단편은 H 쇠의 가변 영역 도메인 (V_H) 및 1개의 중쇄의 제1 불변 도메인 (C_{H1})과 함께 전체 L 쇠로 이루어진다. 각각의 Fab 단편은 항원 결합에 대해 1가이고, 즉 단일 항원-결합 부위를 갖는다. 항체의 펩신 처리는 상이한 항원-결합 활성을 갖는 2개의 디설피드 연결된 Fab 단편에 대략 상응하는 단일의 대형 F(ab')₂ 단편을 생성시키고, 여전히 항원에 가교될 수 있다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 1개 이상의 시스테인을 포함하는 C_{H1} 도메인의 카르복시 말단에 몇 개의 추가의 잔기를 갖는다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 본원에서 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올 기를 보유하는 Fab'에 대한 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 본래 그들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생산되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링이 또한 공지되어 있다.

[0048] Fc 단편은 디설피드에 의해 함께 유지되어 있는 H 쇠 둘 다의 카르복시-말단 부분을 포함한다. 항체의 이펙터 기능은 Fc 영역 내의 서열에 의해 결정되고, 이 영역은 또한 특정 유형의 세포 상에서 발견되는 Fc 수용체 (FcR)에 의해 인식된다.

[0049] "Fv"는 완전한 항원-인식 및 -결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이 단편은 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 영역 도메인이 단단하게 비공유 회합된 이량체로 이루어진다. 이들 2개 도메인이 폴딩되어 6개의 초가변 루프 (H 및 L 쇠로부터 각각 3개의 루프)가 형성되는데, 이는 항원 결합을 위한 아미노산 잔기를 제공하고 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 HVR만을 포함하는 Fv의 절반)일지라도 전체 결합 부위보다 친화도가 낮은 하지만 항원을 인식하고 그에 결합하는 능력을 갖는다.

[0050] "sFv" 또는 "scFv"로도 약칭되는 "단일-쇄 Fv"는 단일 폴리펩티드 쇠에 연결된 V_H 및 V_L 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩티드는 sFv가 항원 결합에 목적하는 구조를 형성할 수 있도록 하는, V_H 및 V_L 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. sFv의 검토를 위해서는 문헌 [Pluckthun in The

Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.

- [0051] 본 발명의 항체의 "기능적 단편"은 일반적으로 무손상 항체의 항원 결합 또는 가변 영역, 또는 변형된 FcR 결합 능력을 보유하거나 갖는 항체의 Fc 영역을 포함하는 무손상 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 예는 선형 항체, 단일-쇄 항체 분자 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.
- [0052] 용어 "디아바디"는 V_H 와 V_L 도메인 사이의 짧은 링커 (약 5-10개 잔기)를 갖는 sFv 단편 (상기 단락 참조)을 구축함으로써 V 도메인의 쇠내 쌍 형성이 아닌 쇠간 쌍 형성을 달성하여 2가 단편, 즉 2개의 항원-결합 부위를 갖는 단편을 생성하여 제조된 소형 항체 단편을 지칭한다. 이중특이적 디아바디는 2개 항체의 V_H 및 V_L 도메인이 상이한 폴리펩티드 쇠에 존재하는 2개의 "가교" sFv 단편으로 이루어진 이중이량체이다. 디아바디는 예를 들어 EP 404,097; WO 93/11161; 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]에 보다 상세하게 기재되어 있다.
- [0053] 본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 종으로부터 유래되거나 특정한 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이고, 쇠(들)의 나머지 부분은 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체 (이뮤노글로불린), 뿐만 아니라 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이러한 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 번호 4,816,567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). 본원에서 관심 키메라 항체는 프림티즈드(PRIMATIZED)® 항체를 포함하며, 여기서 항체의 항원-결합 영역은 예를 들어 마카크 원숭이를 관심 항원으로 면역시킴으로써 생산된 항체로부터 유래된다. 본원에 사용된 "인간화 항체"는 "키메라 항체"의 하위세트로 사용된다.
- [0054] 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 한 실시양태에서, 인간화 항체는 수용자의 HVR (이하 정의됨)로부터의 잔기가 비-인간 종 (공여자 항체), 예컨대 목적하는 특이성, 친화도 및/또는 능력을 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류의 HVR로부터의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 프레임워크 ("FR") 잔기를 상응하는 비-인간 잔기로 대체한다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서는 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능, 예컨대 결합 친화도를 보다 정밀화하기 위해 이루어질 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린 서열의 그것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 그것이지만, FR 영역은 항체 성능, 예컨대 결합 친화도, 이성질체화, 면역원성 등을 개선하는 1개 이상의 개별 FR 잔기 치환을 포함할 수 있다. FR 내의 이들 아미노산 치환의 수는 전형적으로 H 쇠에서 6개 이하, 및 L 쇠에서는 3개 이하이다. 또한, 인간화 항체는 임의로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc) 중 적어도 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 적어도 일부를 포함할 것이다. 보다 상세한 사항에 대해서는, 예를 들어 문헌 [Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 문헌 [Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995); Hurlle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994); 및 미국 특허 번호 6,982,321 및 7,087,409를 참조한다.
- [0055] "인간 항체"는 인간에 의해 생산되고/되거나 본원에 개시된 임의의 인간 항체 제조 기술을 사용하여 제조된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의에서 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 명확하게 배제된다. 인간 항체는 파지-디스플레이 라이브러리를 비롯한 당업계에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산할 수 있다. Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991). 또한, 문헌 [Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)]에 기재된 방법도 인간 모노클로날 항체의 제조에 이용가능하다. 또한, 문헌 [van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001)]을 참조한다. 인간 항체는, 항원 접중에 반응하여 이러한 항체를 생산하도록 변형되었으나 내인성 유전자좌는 무력화시킨 트랜스제닉 동물, 예를 들어 면역화된 제노마우스에게 항원을 투여함으로써 제조할 수 있다 (예를 들어, 제노마우스(XENOMOUSE)™ 기술에 관한 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584 참조). 또한, 예를 들어 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체에 관한 문헌 [Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)]을 참조한다.

[0056] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는 서열 내에서 초가변적이고/거나 구조적으로 한정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR; VH 내에 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내에 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. 천연 항체에서, H3 및 L3은 6개의 HVR 중에서 가장 높은 다양성을 나타내고, 특히 H3은 항체에 정밀한 특이성을 부여하는데 특유의 역할을 수행한다고 여겨진다. 예를 들어, 문헌 [Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, in Methods in Molecular Biology 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)]을 참조한다. 실제로, 중쇄만으로 이루어진 자연 발생 낙타류 항체는 경쇄의 부재 하에 기능적이고 안정하다. 예를 들어, 문헌 [Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993); Sheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996)]을 참조한다.

[0057] 다수의 HVR 설명이 사용되고 있으며 본원에 포괄된다. 카바트 상보성 결정 영역 (CDR)은 서열 가변성을 기반으로 하며, 가장 통상적으로 사용된다 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). 대신에, 코티아는 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). AbM HVR은 카바트 HVR 및 코티아 구조적 루프 사이의 절충안을 나타내고, 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다. "접촉" HVR은 이용가능한 복합체 결정 구조의 분석을 기반으로 한다. 각각의 이들 HVR로부터의 잔기가 하기 기재된다.

루프	카바트	AbM	코티아	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (카바트 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (코티아 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0058]

[0059] HVR은 하기와 같이 "연장된 HVR"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 50-56 (L2) 및 89-97 또는 89-96 (L3), 및 VH에서 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102, 또는 95-102 (H3). 가변 도메인 잔기는 각각의 이들 정의에 대해 카바트 등의 상기 문헌에 따라 넘버링된다.

[0060] 표현 "카바트에서와 같은 가변-도메인 잔기-넘버링" 또는 "카바트에서와 같은 아미노산-위치 넘버링" 및 그의 변형은 카바트 등의 상기 문헌에서의 항체의 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 사용된 넘버링 시스템을 지칭한다. 이러한 넘버링 시스템을 사용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 이것으로의 삽입에 상응하는 보다 적은 또는 추가의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 다음에 단일 아미노산 삽입 (카바트에 따른 잔기 52a), 및 중쇄 FR 잔기 82 다음에 삽입된 잔기 (예를 들어, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 카바트 넘버링은 주어진 항체에 대해, 항체 서열을 "표준" 카바트 넘버링된 서열과 상동성 영역에서 정렬하여 결정할 수 있다.

[0061] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에 정의된 바와 같은 HVR 잔기 이외의 가변-도메인 잔기이다.

[0062] "인간 컨센서스 프레임워크" 또는 "수용자 인간 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택시에 가장 통상적으로 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)]에서와 같은 하위군이다. 그 예는, VL의 경우에 하위군이 카바트 등의 상기 문헌에서와 같은 하위군 카파 I, 카파 II, 카파 III 또는 카파 IV일 수 있는 것을 포함한다. 추가로, VH의 경우에 하위군은 카바트 등의 상기 문헌에서와 같은 하위군 I, 하위군 II 또는 하위군 III일 수 있다. 대안적으로, 인간 컨센서스 프레임워크는 공여자 프레임워크 서열을 다양한 인간 프레임워크 서열의 집합과 정렬하여 인간 프레임워크 잔기를 공여자 프레임워크에 대한 상동성에 기초하여 선택하는 경우에서와 같이 상기 특정 잔기로부터 유래될 수 있다. 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 그의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 이미 존재하는 아미노산 서열 변화를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이미 존재하는 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하 또는 2개 이하이다.

[0063] "VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크"는 카바트 등의 상기 문헌의 가변 중쇄 하위군 III 내의 아미노산 서열로

부터 수득한 컨센서스 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크 아미노산 서열은 하기 서열 각각의 적어도 일부 또는 모두를 포함한다.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (HC-FR1)(서열 30),
WVRQAPGKGLEWV (HC-FR2), (서열 31),
RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (HC-FR3, 서열 32),
WGQGTLLTVSA (HC-FR4), (서열 33)

[0064]

[0065]

"VL 카파 I 컨센서스 프레임워크"는 카바트 등의 상기 문헌의 가변 경쇄 카파 하위군 I 내의 아미노산 서열로부터 수득한 컨센서스 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, VH 하위군 I 컨센서스 프레임워크 아미노산 서열은 하기 서열 각각의 적어도 일부 또는 모두를 포함한다.

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTC (LC-FR1) (서열 34), WYQQKPGKAPKLLIY
(LC-FR2) (서열 35), GVPSTRFSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYC (LC-
FR3)(서열 36), FGQGTKVEIKR (LC-FR4)(서열 37)

[0066]

[0067]

예를 들어 Fc 영역의 명시된 위치에서의 "아미노산 변형"은 명시된 잔기의 치환 또는 결실, 또는 명시된 잔기에 인접한 적어도 1개의 아미노산 잔기의 삽입을 지칭한다. 명시된 잔기에 "인접한" 삽입은 그의 1 내지 2개의 잔기 내의 삽입을 의미한다. 삽입은 명시된 잔기에 대해 N-말단 또는 C-말단일 수 있다. 본원에서 바람직한 아미노산 변형은 치환이다.

[0068]

"친화도-성숙" 항체는 변경(들)을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는, 그의 하나 이상의 HVR에 하나 이상의 변경을 갖는 항체이다. 한 실시양태에서, 친화도-성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화도를 갖는다. 친화도-성숙 항체는 당업계에서 공지된 절차에 의해 생산된다. 예를 들어, 문헌 [Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)]은 VH- 및 VL-도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재한다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은, 예를 들어 문헌 [Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); 및 Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 기재되어 있다.

[0069]

본원에 사용된 용어 "에 특이적으로 결합한다" 또는 "에 특이적인"은 생물학적 분자를 포함하는 이중 분자 집단의 존재 하에 표적의 존재를 결정할 수 있는 것으로, 측정가능하고 재생가능한 상호작용, 예컨대 표적 및 항체 사이의 결합을 지칭한다. 예를 들어, 표적 (에피토프일 수 있음)에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 표적에 결합하는 것에 비해 이 표적에 보다 높은 친화도, 결합력, 보다 큰 용이성 및/또는 보다 긴 기간 동안 결합하는 항체이다. 한 실시양태에서, 비관련 표적에 항체가 결합하는 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의한 측정 시에, 항체의 표적에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, 표적에 특이적으로 결합하는 항체의 해리 상수 (Kd)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$ 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 이다. 특정 실시양태에서, 항체는 상이한 종으로부터의 단백질 사이에 보존된 단백질 상의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 특이적 결합은 배타적 결합을 포함할 수 있으나 이를 필요로 하지는 않는다.

[0070]

본원에 사용된 용어 "이뮤노어드헤신"은 이중 단백질 ("어드헤신")의 결합 특이성을 이뮤노글로불린 불변 도메인의 이펙터 기능과 조합한 항체-유사 분자를 지칭한다. 구조적으로, 이뮤노어드헤신은 항체의 항원 인식 및 결합 부위가 다른 (즉, "이중") 목적하는 결합 특이성을 갖는 아미노산 서열 및 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열의 융합체를 포함한다. 이뮤노어드헤신 분자의 어드헤신 부분은 전형적으로 적어도 수용체 또는 리간드의 결합 부위를 포함하는 인접 아미노산 서열이다. 이뮤노어드헤신 내의 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열은 임의의 이뮤노글로불린, 예컨대 IgG-1, IgG-2 (IgG2A 및 IgG2B 포함), IgG-3 또는 IgG-4 하위유형, IgA (IgA-1 및 IgA-2 포함), IgE, IgD 또는 IgM으로부터 수득될 수 있다. Ig 융합체는 바람직하게는 Ig 분자 내의 적어도 1개의 가변 영역 대신 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 항체 도메인의 치환을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 이뮤노글로불린 융합체는 힌지, CH2 및 CH3, 또는 IgG1분자의 힌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 이뮤노글로불린 융합체의 생산에 대해 또한 1995년 6월 27일에 등록된 미국 특허 번호 5,428,130을 참조한다. 예를 들어, 본원의 조합 방법에 유용한 제2 의약으로서 유용한 이뮤노어드헤신은 이뮤노글로불린 서열의 불변 도메인에 융합된, PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분 또는 PD-1의 세포외 또는 PD-L1 또는 PD-L2 결합 부분을 포함하는 폴리펩티드, 예컨대 각각 PD-L1 ECD - Fc, PD-L2 ECD - Fc 및 PD-1 ECD - Fc를 포함한다. 세포 표면 수용체의 Ig Fc 및 ECD의 이뮤노어드헤신 조합은 때때로 가용성 수용체로 지칭된다.

- [0071] "융합 단백질" 및 "융합 폴리펩티드"는 함께 공유 연결된 2개의 부분을 갖는 폴리펩티드를 지칭하며, 여기서 각각의 일부는 상이한 특성을 갖는 폴리펩티드이다. 특성은 생물학적 특성, 예컨대 시험관내 또는 생체내 활성일 수 있다. 또한, 특성은 간단한 화학적 또는 물리적 특성, 예컨대 표적 분자에 대한 결합, 반응의 촉매작용 등일 수 있다. 2개의 부분은 단일 펩티드 결합에 의해 직접 연결될 수 있거나 또는 펩티드 링커를 통해 서로 링 프레임으로 연결될 수 있다.
- [0072] "PD-1 올리고펩티드", "PD-L1 올리고펩티드" 또는 "PD-L2 올리고펩티드"는 본원에 기재된 바와 같은, 각각 수용체, 리간드 또는 신호전달 성분을 포함하는, 각각 PD-1, PD-L1 또는 PD-L2 음성 공자극 폴리펩티드에 바람직하게는 특이적으로 결합하는 올리고펩티드이다. 이러한 올리고펩티드는 공지된 올리고펩티드 합성 방법을 사용하여 화학적으로 합성될 수 있거나, 또는 재조합 기술을 사용하여 제조 및 정제될 수 있다. 이러한 올리고펩티드는 통상적으로 적어도 약 5개의 아미노산 길이, 대안적으로 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100개 아미노산 길이 또는 그 초과이다. 이러한 올리고펩티드는 널리 공지된 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 이와 관련하여, 폴리펩티드 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고펩티드에 대해 올리고펩티드 라이브러리를 스크리닝하는 기술이 당업계에 널리 공지되어 있음을 주목한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,556,762, 5,750,373, 4,708,871, 4,833,092, 5,223,409, 5,403,484, 5,571,689, 5,663,143; PCT 공개 번호 WO 84/03506 및 W084/03564; 문헌 [Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984); Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:178-182 (1985); Geysen et al., in Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986); Geysen et al., J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987); Schoofs et al., J. Immunol., 140:611-616 (1988), Cwirla, S. E. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378 (1990); Lowman, H.B. et al. Biochemistry, 30:10832 (1991); Clackson, T. et al. Nature, 352: 624 (1991); Marks, J. D. et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991); Kang, A.S. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363 (1991), 및 Smith, G. P., Current Opin. Biotechnol., 2:668 (1991)] 참조).
- [0073] "차단" 항체 또는 "길항제" 항체는 그가 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제하거나 감소시키는 것이다. 일부 실시양태에서, 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제한다. 예를 들어, VEGF-특이적 길항제 항체는 VEGF에 결합하여 혈관 내피 세포 증식을 유도하거나 혈관 투과성을 유도하는 VEGF의 능력을 억제한다. 본 발명의 항-PD-L1 항체는 T 세포에 의한 기능적 반응이 항원 자극에 대해 기능이상 상태에서부터 회복되도록 PD-1을 통한 신호전달을 차단한다.
- [0074] "효능제" 또는 활성화 항체는 그것이 결합하는 항원에 의한 신호전달을 증진시키거나 개시하는 것이다. 일부 실시양태에서, 효능제 항체는 천연 리간드의 부재 하에 신호전달을 유발하거나 활성화한다.
- [0075] 본원의 용어 "Fc 영역"은 천연-서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는, 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 이뮤노글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상적으로 위치 Cys226에서의 아미노산 잔기로부터 또는 Pro230으로부터 그의 카르복실-말단까지의 스트레치인 것으로 규정된다. Fc 영역의 C-말단 리신 (EU 넘버링 시스템에 따른 잔기 447)은, 예를 들어 항체의 생산 또는 정제 동안 또는 항체의 중쇄를 코딩하는 핵산의 재조합적 조작에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단, 및 K447 잔기가 존재하는 항체와 존재하지 않는 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다. 본 발명의 항체에 사용하기에 적합한 천연-서열 Fc 영역은 인간 IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 및 IgG4를 포함한다.
- [0076] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재한다. 바람직한 FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 또한, 바람직한 FcR은 IgG 항체 (감마 수용체)에 결합하는 것이고, Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII 하위부류의 수용체, 예컨대 이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 선택적 스플라이싱된 형태를 포함하며, Fc γ RII 수용체는 Fc γ RIIA ("활성화 수용체") 및 Fc γ RIIB ("억제 수용체")를 포함하고, 이들은 그의 세포질 도메인에서 주로 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기재 활성화 모티프 (ITAM)를 함유한다. 억제 수용체 Fc γ RIIB는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기재 억제 모티프 (ITIM)를 함유한다. (문헌 [M. Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)] 참조). FcR은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4: 25-34 (1994); 및 de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126: 330-41 (1995)]에서 검토된다. 추후로 확인될 것

들을 포함하여 다른 FcR이 본원의 용어 "FcR"에 포괄된다.

- [0077] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 또한 태아로의 모체 IgG의 전달을 담당하는 신생아 수용체, FcRn을 포함한다. Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994). FcRn에 대한 결합을 측정하는 방법은 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Ghetie and Ward, Immunol. Today 18: (12): 592-8 (1997); Ghetie et al., Nature Biotechnology 15 (7): 637-40 (1997); Hinton et al., J. Biol. Chem. 279 (8): 6213-6 (2004); WO 2004/92219 (힌튼(Hinton) 등) 참조]. 생체내 FcRn에 대한 결합 및 인간 FcRn 고친화도 결합 폴리펩티드의 혈청 반감기는, 예를 들어 인간 FcRn을 발현하는 트랜스제닉 마우스 또는 형질감염된 인간 세포주에서, 또는 변이체 Fc 영역을 갖는 폴리펩티드가 투여된 영양류에서 검정될 수 있다. WO 2004/42072 (프레스타(Presta))에는 FcR에 대한 결합이 개선 또는 감소된 항체 변이체가 기재되어 있다. 또한, 예를 들어 문헌 [Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)]을 참조한다.
- [0078] 본원에 사용된 어구 "실질적으로 감소된" 또는 "실질적으로 상이한"은 당업자가 2개의 수치 값 (일반적으로 하나는 분자와 연관되고, 다른 것은 참조/비교 분자와 연관됨)에 의해 측정된 생물학적 특성의 맥락 내에서 2개의 값 사이의 차이를 통계적 유의성을 갖는 것으로 간주하도록 하는, 상기 값 (예를 들어, Kd 값) 사이의 충분히 높은 정도의 차이를 나타낸다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 참조/비교 분자에 대한 값의 함수로서, 예를 들어 약 10% 초과, 약 20% 초과, 약 30% 초과, 약 40% 초과 및/또는 약 50% 초과이다.
- [0079] 본원에 사용된 용어 "실질적으로 유사한" 또는 "실질적으로 동일한"은 당업자가 2개의 수치 값 (예를 들어, 하나는 본 발명의 항체와 연관되고, 다른 것은 참조/비교 항체와 연관됨)에 의해 측정된 생물학적 특성의 맥락 내에서 2개의 값 사이의 차이를 생물학적 및/또는 통계적 유의성이 거의 또는 전혀 없는 것으로 간주하도록 하는, 상기 값 (예를 들어, Kd 값) 사이의 충분히 높은 정도의 유사성을 나타낸다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 참조/비교 값의 함수로서, 예를 들어 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만 및/또는 약 10% 미만이다.
- [0080] 본원에서 사용된 "담체"는 사용되는 투여량 및 농도에서 이에 노출되는 세포 또는 포유동물에 비독성인 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제를 포함한다. 종종, 생리학상 허용되는 담체는 수성 pH 완충 용액이다. 생리학상 허용되는 담체의 예는 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산; 항산화제, 예컨대 아스코르브산; 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드 및 다른 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당 알콜, 예컨대 만니톨 또는 소르비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)TM, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 플루로닉스(PLURONICS)TM를 포함한다.
- [0081] "포장 삽입물"은 적응증, 용법, 투여량, 투여, 금기사항, 포장 제품과 조합되는 다른 의약에 대한 정보, 및/또는 이러한 의약의 사용에 대한 경고 등을 함유하는, 의약의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되는 지침서를 지칭한다.
- [0082] 본원에 사용된 용어 "치료"는 임상 병리상태의 과정 동안 치료될 개체 또는 세포의 자연 과정을 변경하도록 설계된 임상적 개입을 지칭한다. 치료의 바람직한 효과는 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 호전 또는 완화, 및 경감 또는 개선된 예후를 포함한다. 예를 들어, 개체는 암성 세포의 증식의 감소 (또는 파괴), 질환으로부터 발생하는 증상의 감소, 질환을 앓고 있는 개체의 삶의 질의 증가, 질환을 치료하는데 필요한 다른 의약의 용량의 감소, 질환 진행의 지연 및/또는 개체의 생존 연장을 포함하나 이에 제한되지는 않는 암과 연관된 하나 이상의 증상이 완화되거나 제거되는 경우에 성공적으로 "치료된다".
- [0083] 본원에 사용된 "질환 진행의 지연"은 질환 (예컨대 암)의 발생이 연기, 저지, 지체, 저해, 안정화 및/또는 연장되는 것을 의미한다. 이러한 지연은 치료될 질환 및/또는 개체의 병력에 따라 다양한 시간 길이일 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의한 지연은 사실상 개체에서 질환이 발생하지 않는 예방을 포괄할 수 있다. 예를 들어, 말기 암, 예컨대 전이의 발생이 지연될 수 있다.
- [0084] "유효량"은 특정한 장애의 측정가능한 개선 또는 예방을 야기하는데 요구되는 적어도 최소한의 농도이다. 유효량은 본원에서 환자의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 목적하는 반응을 도출하는 항체의 능력과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 유효량은 또한 치료상 유의한 효과가 치료의 임의의 독성 또는 유해한 효과를 능가하는 것이다. 예방적 사용을 위해, 유의한 또는 목적하는 결과는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 거동적 증상, 질환의 발생 동안 나타나는 그의 합병증 및 중간 병리학적 표현형을 포함하여 질환의 위험의 제거

또는 감소, 중증도의 경감 또는 개시의 지연과 같은 결과를 포함한다. 치유 용도를 위해, 유익한 또는 목적하는 결과는 질환으로부터 발생하는 하나 이상의 증상의 감소, 질환을 앓고 있는 대상의 삶의 질의 증가, 질환을 치료하는데 필요한 다른 의약의 용량의 감소, 예컨대 표적화를 통한 또 다른 의약의 효과의 증진, 질환의 진행의 지연 및/또는 생존 연장과 같은 임상 결과를 포함한다. 암 또는 종양의 경우에, 유효량의 약물은 암 세포의 수를 감소시키고/거나; 종양 크기를 감소시키고/거나; 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 억제하고/거나 (즉, 어느 정도 늦추거나 바람직하게는 정지시키는 것); 종양 전이를 억제하고/거나 (즉, 어느 정도 늦추거나 바람직하게는 정지시키는 것); 종양 성장을 어느 정도 억제하고/거나 장애와 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 경감시킬 수 있다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적상, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효량은 직접 또는 간접적으로 예방적 또는 치유적 치료를 달성하는데 충분한 양이다. 임상 환경에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효량은 또 다른 약물, 화합물 또는 제약 조성물과 함께 달성될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 따라서, 하나 이상의 치료제를 투여하는 맥락에서 "유효량"이 고려될 수 있고, 하나 이상의 기타 작용제와 함께 목적하는 결과가 달성될 수 있거나 달성되는 경우에 단일 작용제가 유효량으로 제공된 것으로 간주될 수 있다.

[0085] 본원에 사용된 "와 함께"는 한 치료 양식 뿐만 아니라 또 다른 치료 양식의 투여를 지칭한다. 따라서, "와 함께"는 한 치료 양식을 개체에게 다른 치료 양식을 투여하기 전에, 그 동안 또는 그 후에 투여하는 것을 지칭한다.

[0086] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 비조절된 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를 지칭하거나 기재한다. 이의 정의는 양성 및 악성 암 뿐만 아니라 휴면 종양 또는 미세전이를 포함한다. 암의 예는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평세포암, 폐암 (소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평세포 암종 포함), 복막암, 간세포성암, 위암 (위장암 포함), 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암 또는 신암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종 및 각종 유형의 두경부암, 뿐만 아니라 B-세포 림프종 (저등급/여포성 비-호지킨 림프종 (NHL); 소림프구성 (SL) NHL; 중등급/여포성 NHL; 중등급 미만성 NHL; 고등급 면역모세포성 NHL; 고등급 림프모구성 NHL; 고등급 소형 비-분할 세포 NHL; 거대 종양 NHL; 외투 세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 및 발렌스트룀 마크로글로불린혈증 포함); 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 급성 림프모구성 백혈병 (ALL); 모발상 세포 백혈병; 만성 림프모구성 백혈병; 및 이식 후 림프증식성 장애 (PTLD), 뿐만 아니라 모반증과 연관된 비정상적인 혈관 증식, 부종 (예컨대 뇌 종양과 연관된 부종), 및 메이그스 증후군을 포함한다.

[0087] "전이"는 암이 그의 원발성 부위로부터 신체 내 다른 위치로 확산되는 것을 의미한다. 암 세포는 원발성 종양으로부터 분리되어, 림프 및 혈관 내로 침투하고, 혈류를 통해 순환하여 신체 내의 다른 정상 조직의 원위 중심에서 성장 (전이)할 수 있다. 전이는 국부 또는 원위일 수 있다. 전이는 원발성 종양으로부터의 종양 세포 분리가 우발적으로 발생하고 혈류를 통해 이동하여 원위 부위에서 멈추는 순차적 과정이다. 새로운 부위에서 상기 세포는 혈액 공급을 확립시키고 성장하여 생명을 위협하는 종괴를 형성할 수 있다. 종양 세포 내에서의 자극성 및 억제성 분자 경로 둘 다가 이러한 거동을 조절하고, 종양 세포와 원위 부위의 숙주 세포 사이의 상호작용이 또한 중요하다.

[0088] "대상체"는 인간, 또는 비-인간 포유동물, 예컨대 소, 말, 개, 양, 또는 고양이를 포함하나 이에 제한되지는 않는 포유동물을 의미한다. 바람직하게는, 대상체는 인간이다. 환자도 또한 본원에서의 대상체이다.

[0089] 본원에 사용된 "완전 반응" 또는 "CR"은 모든 표적 병변의 소멸을 지칭하고; "부분 반응" 또는 "PR"은 기준선 최장 직경의 합 (SLD)을 참조하여 표적 병변의 SLD의 적어도 30% 감소를 지칭하고; "안정 질환" 또는 "SD"는 치료가 시작된 이후의 최소 SLD를 참조하여 PR을 만족시키는 표적 병변의 충분한 수축도 아니고 PD를 만족시키는 충분한 증가도 아닌 상태를 지칭한다.

[0090] 본원에 사용된 "진행성 질환" 또는 "PD"는 치료가 시작된 이후에 기록된 최소 SLD를 참조하여 표적 병변의 SLD의 적어도 20% 증가 또는 하나 이상의 새로운 병변의 존재를 지칭한다.

[0091] 본원에 사용된 "무진행 생존" (PFS)은 치료 동안 및 후에 치료될 질환 (예를 들어, 암)이 악화되지 않는 기간을 지칭한다. 무진행 생존은 환자가 완전 반응 또는 부분 반응을 경험한 시간의 양, 뿐만 아니라 환자가 안정 질환을 경험한 시간의 양을 포함할 수 있다.

[0092] 본원에 사용된 "전체 반응률" (ORR)은 완전 반응 (CR) 비율 및 부분 반응 (PR) 비율의 합을 지칭한다.

[0093] 본원에 사용된 "전체 생존"은 특정한 지속 기간 후에 살아있을 가능성이 있는 군 내의 개체의 백분율을 지칭한다.

[0094] "화학요법제"는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학요법제의 예는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)®); 알킬 술포네이트, 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸라멜라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민; 아세토게닌 (특히 불라타신 및 불라타시논); 델타-9-테트라히드로칸나비놀 (드로나비놀, 마리놀(MARINOL)®); 베타-라파론; 라파롤; 콜키신; 베틀린산; 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 (하이캄틴(HYCAMTIN)®), CPT-11 (이리노테칸, 캄프토사르(CAMPTOSAR)®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 페메트렉세드; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포시드; 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 두오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; TLK-286; CDP323, 경구 알파-4 인테그린 억제제; 사르코티딘; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 클로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드, 히드로클로라이드, 멜팔란, 노베티킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라니무스틴; 항생제, 예컨대 에네디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 오메가II (예를 들어, 문헌 [Nicolaou et al., Angew. Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 디네미신, 예컨대 디네미신 A; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네디인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (아드리아마이신(ADRIAMYCIN)®, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피폴리노-독소루비신, 독소루비신 HCl 리포솜 주사 (독실(DOXIL)®) 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 향대사물, 예컨대 메토크세이트, 겐시타빈 (겐자르(GEMZAR)®), 테가푸르 (유포토랄(UFTORAL)®), 카페시타빈 (젤로다(XELODA)®), 에포틸론 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시타딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘 및 이마티닙 (2-페닐아미노피리미딘 유도체), 뿐만 아니라 다른 c-Kit 억제제; 항부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이딘; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK® 폴리사카라이드 복합체 (JHS 내추럴 프로덕츠(JHS Natural Products), 오리곤주 유진); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리메틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라큐린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신 (엘디신(ELDISINE)®, 필데신(FILDESIN)®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀 (탁솔(TAXOL)®), 파클리탁셀의 알부민-조작된 나노입자 제제 (아브락산(ABRAXANE)™) 및 도세탁셀 (탁소테레(TAXOTERE)®); 클로란부실; 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 메토크세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴 (벨반(VELBAN)®); 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴 (온코빈(ONCOVIN)®); 옥살리플라틴; 류코보린; 비노렐빈 (나벨빈(NAVELBINE)®); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 임의의 상기한 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기한 것 중 2종 이상의 조합물, 예컨대 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 조합 요법에 대한 약어 CHOP, 및 5-FU 및 류코보린과 조합된 옥살리플라틴 (엘록사틴(ELOXATIN)™)에 의한 치료 요법에 대한 약어 FOLFOX를 포함한다.

[0095] 또한, 상기 정의에는 암의 성장을 촉진할 수 있는 호르몬의 효과를 조절하거나 감소시키거나 차단하거나 억제하는 작용을 하고, 종종 전신 또는 온몸 치료의 형태인 항호르몬제도 포함된다. 이들은 그 자체가 호르몬일 수

있다. 예는 항에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 예를 들어 타목시펜 (놀바덱스 (NOLVADEX)® 타목시펜 포함), 탈로시펜 (에비스타(EVISTA)®), 드롤록시펜, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤 및 토레미펜 (파레스톤(FARESTON)®); 항프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향-조절제 (ERD); 에스트로겐 수용체 길항제, 예컨대 폴베스트란트 (파슬로덱스(FASLODEX)®); 난소를 저해하거나 정지시키는 기능을 하는 작용제, 예를 들어 황체형성 호르몬-방출 호르몬 (LHRH) 효능제, 예컨대 류프롤리드 아세테이트 (루프론(LUPRON)® 및 엘리가드(ELIGARD)®), 고세렐린 아세테이트, 부세렐린 아세테이트 및 트립테렐린; 항안드로겐, 예컨대 플루타미드, 니루타미드 및 비칼루타미드; 및 부신에서 에스트로겐 생산을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대 예를 들어 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트롤 아세테이트 (메가세(MEGASE)®), 엑세메스탄 (아로마신(AROMASIN)®), 포르메스타니, 파드로졸, 보로졸 (리비소르(RIVISOR)®), 레트로졸 (페마라(FEMARA)®), 및 아나스트로졸 (아리미덱스(ARIMIDEX)®)을 포함한다. 또한, 이러한 화학요법제의 정의는 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트 (예를 들어, 보네포스(BONEFOS)® 또는 오스탁(OSTAC)®), 에티드로네이트 (디드로칼(DIDROCAL)®), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트 (조메타(ZOMETA)®), 알렌드로네이트 (포사맥스(FOSAMAX)®), 파미드로네이트 (아레디아(AREDIA)®), 텔루드로네이트 (스켈리드(SKELID)®) 또는 리세드로네이트 (악토넬(ACTONEL)®); 뿐만 아니라 트록사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오티드, 특히 이상 세포 증식에 관련된 신호전달 경로에서의 유전자의 발현을 억제하는 것, 예컨대 예를 들어, PKC-알파, Raf, H-Ras 및 표피 성장 인자 수용체 (EGF-R); 백신, 예컨대 테라토프(THERATOPE)® 백신 및 유전자 요법 백신, 예를 들어 알로벡틴(ALLOVECTIN)® 백신, 류벡틴(LEUVECTIN)® 백신 및 박시드(VAXID)® 백신; 토포이소머라제 1 억제제 (예를 들어, 루르토테칸(LURTOTECAN)®); 항에스트로겐, 예컨대 폴베스트란트; 키트 억제제, 예컨대 이마티닙 또는 EXEL-0862 (티로신 키나제 억제제); EGFR 억제제, 예컨대 에를로티닙 또는 세툽시맙; 항-VEGF 억제제, 예컨대 베바시주맙; 이리노테칸; rnrH (예를 들어, 아바렐릭스(ABARELIX)®); 라파티닙 및 라파티닙 디토실레이트 (또한 GW572016으로 공지된 ErbB-2 및 EGFR 이중 티로신 키나제 소분자 억제제); 17AAG (열 쇼크 단백질 (Hsp) 90 독성물질인 겔다나마이신 유도제) 및 임의의 상기의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다.

[0096] 본원에 사용된 용어 "시토카인"은 일반적으로 또 다른 세포에 대해 세포간 매개자로서 작용하거나 또는 단백질을 생산하는 세포에 대해 자가분비 효과를 갖는 한 세포 집단에 의해 방출되는 단백질을 지칭한다. 이러한 시토카인의 예는 림포카인, 모노카인; 인터류킨 ("IL"), 예컨대 IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A-F, IL-18 내지 IL-29 (예컨대 IL-23), IL-31, 예컨대 프로류킨(PROLEUKIN)® rIL-2; 종양-괴사 인자, 예컨대 TNF- α 또는 TNF- β , TGF- β 1-3; 및 다른 폴리펩티드 인자, 예컨대 백혈병 억제 인자 ("LIF"), 섬모 신경영양 인자 ("CNTF"), CNTF-유사 시토카인 ("CLC"), 카디오트로핀 ("CT") 및 kit 리간드 ("KL")를 포함한다.

[0097] 본원에 사용된 용어 "케모카인"은 선택적으로 백혈구의 화학주성 및 활성화를 유도하는 능력을 갖는 가용성 인자 (예를 들어, 시토카인)를 지칭한다. 이들은 또한 혈관신생, 염증, 상처 치유 및 종양발생의 과정을 촉발한다. 케모카인의 예는 류린 각질세포 화학유인물질 (KC)의 인간 상동체인 IL-8을 포함한다.

[0098] 본원 및 첨부된 특허청구범위에서 사용된 단수형은 문맥상 달리 분명하게 언급되지 않은 한 복수 지시대상을 포함한다.

[0099] 본원에서 값 또는 파라미터에 대해 언급되는 "약"은 해당 값 또는 파라미터 자체에 대해 지시된 변화를 포함 (및 기재)한다. 예를 들어, "약 X"를 언급하는 기재는 "X"의 기재를 포함한다.

[0100] 본원에 사용된 어구 "제약상 허용되는 염"은 본 발명의 화합물의 제약상 허용되는 유기 또는 무기 염을 지칭한다. 예시적인 염은 술페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 니트레이트, 비술페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레에이트, 탄네이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레에이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄술포네이트 "메실레이트", 에탄술포네이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔술포네이트, 파모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프토에이트)) 염, 알칼리 금속 (예를 들어, 나트륨 및 칼륨) 염, 알칼리 토 금속 (예를 들어, 마그네슘) 염, 및 암모늄 염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 제약상 허용되는 염은 또 다른 분자, 예컨대 아세테이트 이온, 숙시네이트 이온 또는 기타 반대이온의 내포를 수반할 수 있다. 반대이온은 모 화합물의 전하를 안정시키는 임의의 유기 또는 무기 모이어티일 수 있다. 또한, 제약상 허용되는 염은 그의 구조 내에 1개 초과 하전된 원자를 가질 수 있다. 다중 하전된 원자가 제약상 허용되는 염의 일부인 경우에는 다중 반대이온을 가질 수 있다. 따라서, 제약상 허용되는 염은 1개 이상의 하전된 원자 및/또는 1개 이

상의 반대이온을 가질 수 있다.

- [0101] 본 발명의 화합물이 염기인 경우에, 목적하는 제약상 허용되는 염은 당업계에서 이용가능한 염의 적합한 방법, 예를 들어 유리 염기를 무기 산, 예컨대 염산, 브로민화수소산, 황산, 질산, 메탄술폰산, 인산 등으로 처리하거나 또는 유기 산, 예컨대 아세트산, 말레산, 숙신산, 만델산, 푸마르산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글리콜산, 살리실산, 피라노시딘산, 예컨대 글루쿠론산 또는 갈락투론산, 알파 히드록시산, 예컨대 시트르산 또는 타르타르산, 아미노산, 예컨대 아스파르트산 또는 글루탐산, 방향족 산, 예컨대 벤조산 또는 신남산, 술폰산, 예컨대 p-톨루엔술폰산 또는 에탄술폰산 등으로 처리하여 제조될 수 있다.
- [0102] 본 발명의 화합물이 산인 경우에, 목적하는 제약상 허용되는 염은 염의 적합한 방법에 의해, 예를 들어 유리 산을 무기 또는 유기 염기, 예컨대 아민 (1급, 2급 또는 3급), 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 등으로 처리하여 제조할 수 있다. 적합한 염의 예시적인 예는 아미노산, 예컨대 글리신 및 아르기닌, 암모니아, 1급, 2급 및 3급 아민, 및 시클릭 아민, 예컨대 피페리딘, 모르폴린 및 피페라진으로부터 유래된 유기 염, 및 나트륨, 칼슘, 칼륨, 마그네슘, 망가니즈, 철, 구리, 아연, 알루미늄 및 리튬으로부터 유래된 무기 염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0103] 어구 "제약상 허용되는"은, 물질 또는 조성물이 제제를 구성하는 다른 성분들 및/또는 이것으로 치료되는 포유동물과 화학적으로 및/또는 독성학적으로 상용성이어야 함을 나타낸다.
- [0104] 본원에 기재된 본 발명의 측면 및 변경은 측면 및 변경으로 "이루어지는" 및/또는 "본질적으로 이루어지는" 것을 포함하는 것으로 이해된다.
- [0105] III. 방법
- [0106] 본 발명의 방법은 암의 치료를 위해 중앙 면역원성을 증가시키는 것과 같이 증진된 면역원성이 요구되는 상태를 치료하는데 있어서 용도를 발견할 수 있다. 다양한 암이 치료될 수 있거나, 또는 그의 진행이 지연될 수 있다.
- [0107] 일부 실시양태에서, 개체는 흑색종을 갖는다. 흑색종은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 결장직장암을 갖는다. 결장직장암은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 비소세포 폐암을 갖는다. 비소세포 폐암은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 췌장암을 갖는다. 췌장암은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 혈액 악성종양을 갖는다. 혈액 악성종양은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 난소암을 갖는다. 난소암은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 유방암을 갖는다. 유방암은 초기 또는 말기일 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 신세포 암종을 갖는다. 신세포 암종은 초기 또는 말기일 수 있다.
- [0108] 일부 실시양태에서, 치료되는 대상체는 인간이다.
- [0109] 본 발명의 조합 요법은 PD-1 축 결합 길항제, 및 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU의 투여를 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 PD-1 축 결합 길항제, VEGF 길항제, 및 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU의 투여를 포함하는 조합 요법을 제공한다. PD-1 축 결합 길항제 및 VEGF 길항제는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방식으로 투여될 수 있다. 예를 들어, PD-1 축 결합 길항제 및 VEGF 길항제는 순차적으로 (상이한 시간에) 또는 공동으로 (동시에) 투여될 수 있다.
- [0110] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 추가의 요법을 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 추가의 요법은 방사선 요법, 수술 (예를 들어, 종괴절제술 및 유방절제술), 화학요법, 유전자 요법, DNA 요법, 바이러스 요법, RNA 요법, 면역요법, 골수 이식, 나노요법, 모노클로날 항체 요법, 또는 상기의 조합일 수 있다. 추가의 요법은 아주반트 또는 네오아주반트 요법의 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 추가의 요법은 소분자 효소 억제제 또는 항전이제의 투여이다. 일부 실시양태에서, 추가의 요법은 부작용 제한 작용제 (예를 들어, 치료의 부작용의 발생 및/또는 중증도를 경감시키고자 하는 작용제, 예컨대 항구토제 등)의 투여이다. 일부 실시양태에서, 추가의 요법은 방사선 요법이다. 일부 실시양태에서, 추가의 요법은 수술이다. 일부 실시양태에서, 추가의 요법은 방사선 요법 및 수술의 조합이다. 추가의 요법은 상기 기재된 화학요법제 중 하나 이상일 수 있다.
- [0111] 하기 기재된 임의의 PD-1 축 결합 길항제 및 VEGF 길항제가 본 발명의 방법에 사용될 수 있다.
- [0112] PD-1 축 결합 길항제
- [0113] 본원은 개체에게 VEGF 길항제의 투여의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 유효량의 PD-1 축 결합 길항제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키는

방법을 제공한다. 예를 들어, PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제 및 PD-L2 결합 길항제를 포함한다.

- [0114] 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 그의 리간드 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 분자이다. 구체적 측면에서, PD-1 리간드 결합 파트너는 PD-L1 및/또는 PD-L2이다. 또 다른 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 그의 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 분자이다. 구체적 측면에서, PD-L1 결합 파트너는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 PD-L2의 그의 결합 파트너에 대한 결합을 억제하는 분자이다. 구체적 측면에서, PD-L2 결합 파트너는 PD-1이다. 길항제는 항체, 그의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질 또는 올리고펩티드일 수 있다.
- [0115] 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 MDX-1106, 머크 3475 및 CT-011로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, PD-L1 결합 길항제는 YW243.55.S70 및 MDX-1105로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, PD-L2 결합 길항제는 AMP-224이다. BMS-936559로도 공지되어 있는 MDX-1105는 W02007/005874에 기재되어 있는 항-PD-L1 항체이다. 항체 YW243.55.S70 (서열 20)은 W0 2010/077634 A1에 기재되어 있는 항-PD-L1이다. MDX-1106-04, ONO-4538 또는 BMS-936558로도 공지되어 있는 MDX-1106은 W02006/121168에 기재되어 있는 항-PD-1 항체이다. MK-3475 또는 SCH-900475로도 공지되어 있는 머크 3745는 W02009/114335에 기재되어 있는 항-PD-1 항체이다. hBAT 또는 hBAT-1로도 공지되어 있는 CT-011은 W02009/101611에 기재되어 있는 항-PD-1 항체이다. B7-DCIg로도 공지되어 있는 AMP-224는 W02010/027827 및 W02011/066342에 기재되어 있는 PD-L2-Fc 융합 가용성 수용체이다.
- [0116] 본 발명의 방법에 유용한 항-PD-L1 항체, 및 그의 제조 방법의 예는 PCT 특허 출원 W0 2010/077634 A1에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참조로 포함된다.
- [0117] 일부 실시양태에서, PD-1 축 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 PD-L1과 PD-1 사이 및/또는 PD-L1과 B7-1 사이의 결합을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 Fab, Fab'-SH, Fv, scFv 및 (Fab')₂ 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체이다.
- [0118] 본 발명에 유용한 항-PD-L1 항체를 함유하는 조성물을 비롯한 이러한 항체, 예컨대 W0 2010/077634 A1에 기재되어 있는 것은, 암을 치료하기 위해 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린, 5-FU와 조합하여 사용될 수 있다.
- [0119] 한 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 폴리펩티드를 함유하며, 여기서:
- [0120] (a) HVR-H1 서열은 GFTFSX₁SWIH (서열 1)이고,
- [0121] (b) HVR-H2 서열은 AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (서열 2)이고,
- [0122] (c) HVR-H3 서열은 RHWPGGFDY (서열 3)이고,
- [0123] 추가로 여기서 X₁은 D 또는 G이고; X₂는 S 또는 L이고; X₃은 T 또는 S이다.
- [0124] 한 구체적 측면에서, X₁은 D이고; X₂는 S이고, X₃은 T이다. 또 다른 측면에서, 폴리펩티드는 식: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 중쇄 프레임워크 서열을 추가로 포함한다. 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 프레임워크 서열은 VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 프레임워크 서열 중 적어도 하나는 하기와 같다:
- [0125] HC-FR1은 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (서열 4)이고,
- [0126] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWV (서열 5)이고,
- [0127] HC-FR3은 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열 6)이고,
- [0128] HC-FR4는 WGQGTILVTVSA (서열 7)이다.
- [0129] 추가 측면에서, 중쇄 폴리펩티드는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하는 가변 영역 경쇄와 추가로 조합되며,

여기서:

[0130] (a) HVR-L1 서열은 RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (서열 8)이고,

[0131] (b) HVR-L2 서열은 SASX₉LX₁₀S (서열 9)이고,

[0132] (c) HVR-L3 서열은 QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T (서열 10)이고,

[0133] 추가로 여기서: X₄는 D 또는 V이고; X₅는 V 또는 I이고; X₆은 S 또는 N이고; X₇은 A 또는 F이고; X₈은 V 또는 L이고; X₉는 F 또는 T이고; X₁₀은 Y 또는 A이고; X₁₁은 Y, G, F, 또는 S이고; X₁₂는 L, Y, F 또는 W이고; X₁₃은 Y, N, A, T, G, F 또는 I이고; X₁₄는 H, V, P, T 또는 I이고; X₁₅는 A, W, R, P 또는 T이다.

[0134] 추가 측면에서, X₄는 D이고; X₅는 V이고; X₆은 S이고; X₇은 A이고; X₈은 V이고; X₉는 F이고; X₁₀은 Y이고; X₁₁은 Y이고; X₁₂는 L이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 H이고; X₁₅는 A이다. 추가 측면에서, 경쇄는 식: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 경쇄 프레임워크 서열을 추가로 포함한다. 추가 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 프레임워크 서열은 VL 카파 I 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 프레임워크 서열 중 적어도 하나는 하기와 같다:

[0135] LC-FR1은 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (서열 11)이고,

[0136] LC-FR2는 WYQQKPGKAPKLLIY (서열 12)이고,

[0137] LC-FR3은 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (서열 13)이고,

[0138] LC-FR4는 FGQGTKVEIKR (서열 14)이다.

[0139] 또 다른 실시양태에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편이 제공되며, 여기서:

[0140] (a) 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 포함하며, 여기서 추가로:

[0141] (i) HVR-H1 서열은 GFTFSX₁SWIH (서열 1)이고,

[0142] (ii) HVR-H2 서열은 AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (서열 2)이고,

[0143] (iii) HVR-H3 서열은 RHWPGGFDY (서열 3)이고,

[0144] (b) 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하며, 여기서 추가로:

[0145] (i) HVR-L1 서열은 RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (서열 8)이고,

[0146] (ii) HVR-L2 서열은 SASX₉LX₁₀S (서열 9)이고,

[0147] (iii) HVR-L3 서열은 QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T (서열 10)이다.

[0148] 추가로 여기서: X₁은 D 또는 G이고; X₂는 S 또는 L이고; X₃은 T 또는 S이고; X₄는 D 또는 V이고; X₅는 V 또는 I이고; X₆은 S 또는 N이고; X₇은 A 또는 F이고; X₈은 V 또는 L이고; X₉는 F 또는 T이고; X₁₀은 Y 또는 A이고; X₁₁은 Y, G, F, 또는 S이고; X₁₂는 L, Y, F 또는 W이고; X₁₃은 Y, N, A, T, G, F 또는 I이고; X₁₄는 H, V, P, T 또는 I이고; X₁₅는 A, W, R, P 또는 T이다.

[0149] 구체적 측면에서, X₁은 D이고; X₂는 S이고; X₃은 T이다. 또 다른 측면에서, X₄는 D이고; X₅는 V이고; X₆은 S이고; X₇은 A이고; X₈은 V이고; X₉는 F이고; X₁₀은 Y이고; X₁₁은 Y이고; X₁₂는 L이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 H이고; X₁₅는 A이다. 또 다른 측면에서, X₁는 D이고; X₂는 S이고; X₃은 T이고; X₄는 D이고; X₅는 V이고; X₆은 S이고; X₇은 A이고; X₈은 V이고; X₉는 F이고; X₁₀은 Y이고; X₁₁은 Y이고; X₁₂는 L이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 H이고; X₁₅는 A이다.

[0150] 추가 측면에서, 중쇄 가변 영역은 (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 추가 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카바트 하위군 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	(서열 4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(서열 5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(서열 6)
HC-FR4	WGQGTLLVTVSA	(서열 7).

[0151]

[0152] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카바트 카파 I, II, II 또는 IV 하위군 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(서열 11)
LC-FR2	WYQQKPGKAPKLLIY	(서열 12)
LC-FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	(서열 13)
LC-FR4	FGQGTKVEIKR	(서열 14).

[0153]

[0154] 추가의 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가의 구체적 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 추가의 구체적 측면에서, 항체는 감소되거나 또는 최소 이펙터 기능을 갖는다. 추가의 구체적 측면에서 최소 이펙터 기능은 "이펙터-무함유 Fc 돌연변이" 또는 비-글리코실화로부터 발생한다. 추가 실시양태에서, 이펙터-무함유 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0155] 또 다른 실시양태에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서:

[0156] (a) 중쇄는 각각 GFTFSDSWIH (서열 15), AWISPYGGSTYYADSVKG (서열 16) 및 RHWPGGFDY (서열 3)에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 추가로 포함하거나, 또는

[0157] (b) 경쇄는 각각 RASQDVSTAVA (서열 17), SASFLYS (서열 18) 및 QQYLYHPAT (서열 19)에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3 서열을 추가로 포함한다.

[0158] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다. 또 다른 측면에서, 중쇄 가변 영역은 (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카바트 하위군 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	(서열 4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(서열 5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(서열 6)
HC-FR4	WGQGTLLVTVSA	(서열 7).

[0159]

[0160] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카바트 카파 I, II, II 또는 IV 하위군 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC (서열 11)
 LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (서열 12)
 LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (서열 13)
 LC-FR4 FGQGTKVEIKR (서열 14).

[0161]

[0162]

추가적 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가적 구체적 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 추가적 구체적 측면에서, 항체는 감소되거나 또는 최소 이펙터 기능을 갖는다. 추가적 구체적 측면에서 최소 이펙터 기능은 "이펙터-무함유 Fc 돌연변이" 또는 비-글리코실화로부터 발생한다. 추가 실시양태에서, 이펙터-무함유 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0163]

추가 실시양태에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서:

[0164]

(a) 중쇄 서열은 중쇄 서열:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVIS
 PYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFD
 YWGQGTLLVTVSA (서열 20)

[0165]

에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖거나, 또는

[0167]

(b) 경쇄 서열은 경쇄 서열:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF
 LYSQVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR
 (서열 21)

[0168]

에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다.

[0170]

구체적 측면에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다. 또 다른 측면에서, 중쇄 가변 영역은 (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카바트 하위군 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (서열 4)
 HC-FR2 WVRQAPGKGLEWV (서열 5)
 HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열 6)
 HC-FR4 WGQGTLLVTVSA (서열 7).

[0171]

추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카바트 카파 I, II, II 또는 IV 하위군 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC (서열 11)
 LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (서열 12)
 LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (서열 13)
 LC-FR4 FGQGTKVEIKR (서열 14).

[0173]

추가적 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가적 구체적 측면에서, 인간 불변 영역

역은 IgG1이다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 추가의 구체적 측면에서, 항체는 감소되거나 또는 최소 이펙터 기능을 갖는다. 추가의 구체적 측면에서, 최소 이펙터 기능은 원핵 세포에서의 생산으로부터 발생한다. 추가의 구체적 측면에서 최소 이펙터 기능은 "이펙터-무함유 Fc 돌연변이" 또는 비-글리코실화로부터 발생한다. 추가 실시양태에서, 이펙터-무함유 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0175] 추가 실시양태에서, 본 발명은 임의의 상기 기재된 항-PD-L1 항체를 하나 이상의 제약상 허용되는 담체와 조합하여 포함하는 조성물을 제공한다.

[0176] 추가 실시양태에서, 항-PD-L1 항체의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 서열을 코딩하는 단리된 핵산이 제공되며, 여기서:

[0177] (a) 중쇄는 각각 GFTFSDSWIH (서열 15), AWISPYGGSTYYADSVKG (서열 16) 및 RHWPGGFDY (서열 3)에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 추가로 포함하고,

[0178] (b) 경쇄는 각각 RASQDVSTAVA (서열 17), SASFLYS (서열 18) 및 QQVLYHPAT (서열 19)에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3 서열을 추가로 포함한다.

[0179] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다. 측면에서, 중쇄 가변 영역은 (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카바트 하위군 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위군 III 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	(서열 4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(서열 5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(서열 6)
HC-FR4	WGQGTLLVTVSA	(서열 7).

[0180]

[0181] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카바트 카파 I, II, II 또는 IV 하위군 서열로부터 유래된다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 컨센서스 프레임워크이다. 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 하기와 같다:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(서열 11)
LC-FR2	WYQQKPGKAPKLLIY	(서열 12)
LC-FR3	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC	(서열 13)
LC-FR4	FGQGTKVEIKR	(서열 14).

[0182]

[0183] 추가의 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가의 구체적 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 측면에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 추가의 구체적 측면에서, 항체는 감소되거나 또는 최소 이펙터 기능을 갖는다. 추가의 구체적 측면에서, 최소 이펙터 기능은 원핵 세포에서의 생산으로부터 발생한다. 추가의 구체적 측면에서 최소 이펙터 기능은 "이펙터-무함유 Fc 돌연변이" 또는 비-글리코실화로부터 발생한다. 추가 측면에서, 이펙터-무함유 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0184] 추가 측면에서, 핵산은 상기 기재된 임의의 항-PD-L1 항체를 코딩하는 핵산의 발현에 적합한 벡터를 추가로 포함한다. 추가의 구체적 측면에서, 벡터는 핵산의 발현에 적합한 숙주 세포를 추가로 포함한다. 추가의 구체적 측면에서, 숙주 세포는 진핵 세포 또는 원핵 세포이다. 추가의 구체적 측면에서, 진핵 세포는 포유동물 세포, 예컨대 차이니스 햄스터 난소 (CHO)이다.

[0185] 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 당업계에서 공지된 방법을 사용하여, 예를 들어 발현에 적합한 형태의 상기 기재된 임의의 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 단편을 코딩하는 핵산을 함유하는 숙주 세포를 이러한 항체

또는 단편을 생산하는데 적합한 조건 하에서 배양하는 단계, 및 항체 또는 단편을 회수하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다.

- [0186] 추가 실시양태에서, 본 발명은 본원에 제공된 바와 같은 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 하나 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0187] VEGF 길항제
- [0188] 본 발명은 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 유효량의 PD-1 경로 길항제 및 VEGF 길항제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 암을 치료하거나 암의 진행을 늦추는 방법을 제공한다. 임의의 공지된 VEGF 길항제가 의도된다.
- [0189] (i) VEGF 항원
- [0190] 항체 생산에 사용될 VEGF 항원은, 예를 들어 VEGF₁₆₅ 분자 뿐만 아니라 목적하는 에피토프를 함유하는 VEGF의 다른 이소형 또는 그의 단편일 수 있다. 본 발명의 항-VEGF 항체 생성에 유용한 다른 형태의 VEGF는 당업자에게 명백할 것이다.
- [0191] 인간 VEGF는 소 VEGF cDNA를 혼성화 프로브로 사용하여 인간 세포로부터 제조된 cDNA 라이브러리를 최초 스크리닝하여 수득하였다. Leung et al. (1989) Science, 246:1306. 이로써 확인된 하나의 cDNA는 소 VEGF와 95% 초과 상동성을 갖는 165-아미노산 단백질을 코딩하며; 이러한 165-아미노산 단백질은 전형적으로 인간 VEGF (hVEGF) 또는 VEGF₁₆₅로 지칭된다. 인간 VEGF의 유사분열촉진 활성은 포유동물 숙주 세포에서의 인간 VEGF cDNA 발현으로 확인되었다. 인간 VEGF cDNA로 형질감염된 세포에 의해 조건화된 배지는 모세관 내피 세포의 증식을 촉진시켰지만, 대조군 세포는 그렇지 않았다. Leung et al. (1989) Science, 상기 문헌.
- [0192] 후속 치료 용도를 위해 혈관 내피 세포 성장 인자가 천연 공급원으로부터 단리 및 정제될 수 있었지만, 여포 세포 내의 비교적 낮은 농도의 단백질 및 VEGF를 회수하는데 드는 노력과 비용 둘 다의 면에서 높은 비용은 상업상 이용할 수 없는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 재조합 DNA 기술을 통해 VEGF를 클로닝하고 발현시키기 위한 추가의 노력이 있어 왔다. (예를 들어, 문헌 [Ferrara, Laboratory Investigation 72:615-618 (1995)], 및 여기에 인용된 참고문헌 참조).
- [0193] VEGF는 다양한 조직에서 대안적 RNA 스플라이싱으로 인해 다중 동종이량체 형태 (단량체당 121, 145, 165, 189 및 206개의 아미노산)로서 발현된다. VEGF₁₂₁은 헤파린에 결합하지 않는 가용성 미토겐이고; 보다 긴 형태의 VEGF가 점진적으로 더 높은 친화도로 헤파린에 결합한다. VEGF의 헤파린-결합 형태는 플라스민에 의해 카르복시 말단에서 절단되어 확산가능한 형태(들)의 VEGF를 방출시킬 수 있다. 플라스민 절단 후에 확인된 카르복시 말단 펩티드의 아미노산 서열분석은 Arg₁₁₀-Ala₁₁₁이다. 동종이량체로서 단리된 아미노 말단 "코어" 단백질인 VEGF (1-110)는 중화 모노클로날 항체 (예컨대 4.6.1 및 3.2E3.1.1로 지칭되는 항체) 및 가용성 형태의 VEGF 수용체에 무손상 VEGF₁₆₅ 동종이량체와 유사한 친화도로 결합한다.
- [0194] 태반 성장 인자 (PIGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D 및 VEGF-E를 포함하는, VEGF와 구조적으로 관련된 여러 분자가 또한 확인되었다. Ferrara and Davis-Smyth (1987) Endocr. Rev., 상기 문헌 ; Ogawa et al. J. Biological Chem. 273:31273-31281(1998); Meyer et al. EMBO J., 18:363-374(1999). 수용체 티로신 키나제, Flt-4 (VEGFR-3)는 VEGF-C 및 VEGF-D에 대한 수용체로 확인되었다. Joukov et al. EMBO. J. 15:1751(1996); Lee et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:1988-1992(1996); Achen et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:548-553. VEGF-C는 림프 혈관신생의 조절에 수반되는 것으로 밝혀졌다. Jeltsch et al. Science 276:1423-1425(1997).
- [0195] 2종의 VEGF 수용체, Flt-1 (VEGFR-1로도 불림) 및 KDR (VEGFR-2로도 불림)이 확인되었다. Shibuya et al. (1990) Oncogene 8:519-527; de Vries et al. (1992) Science 255:989-991; Terman et al. (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun. 187:1579-1586. 뉴로필린-1은 헤파린-결합 VEGF 이소형에 결합할 수 있는 선택적 VEGF 수용체인 것으로 밝혀졌다 (Soker et al. (1998) Cell 92:735-45). Flt-I 및 KDR은 둘 다 수용체 티로신 키나제 (RTK) 패밀리에 속한다. RTK는 다양한 생물학적 활성을 갖는 막횡단 수용체의 거대 패밀리를 포함한다. 현재, 적어도 19종의 별개의 RTK 서브패밀리가 확인되어 있다. 수용체 티로신 키나제 (RTK) 패밀리는 다양한 세포 유형의 성장 및 분화에 중요한 수용체를 포함한다 (Yarden and Ullrich (1988) Ann. Rev. Biochem. 57:433-478; Ullrich and Schlessinger (1990) Cell 61:243-254). RTK의 내인성 기능은 리간드 결합시에 활성화되며,

이로써 수용체 및 다중 세포 기질의 인산화 및 이후에 다양한 세포 반응이 일어난다 (Ullrich & Schlessinger (1990) Cell 61:203-212). 따라서, 수용체 티로신 키나제 매개된 신호 전달은 특정 성장 인자 (리간드)와의 세포의 상호작용에 의해 개시되고, 전형적으로는 이후에 수용체 이량체화, 내인성 단백질 티로신 키나제 활성화의 자극 및 수용체 트랜스-인산화가 일어난다. 이에 따라 세포내 신호 전달 분자를 위한 결합 부위가 생성되고, 적절한 세포 반응을 용이하게 하는 세포질 신호전달 분자의 스펙트럼을 갖는 복합체가 형성된다. (예를 들어, 세포 분열, 분화, 대사 효과, 세포의 미세환경의 변화) 문헌 [Schlessinger and Ullrich (1992) Neuron 9:1-20]을 참조한다. 구조적으로, Flt-1 및 KDR은 둘 다 세포의 도메인 내에 7개의 이뮤노글로불린-유사 도메인, 단일 막횡단 영역, 및 키나제-삽입 도메인이 개재된 컨센서스 티로신 키나제 서열을 갖는다. Matthews et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9026-9030; Terman et al. (1991) Oncogene 6:1677-1683.

[0196] (ii) 항-VEGF 항체

[0197] 본 발명의 방법에 유용한 항-VEGF 항체는 VEGF에 충분한 친화도 및 특이성으로 결합하고 VEGF의 생물학적 활성을 감소시키거나 또는 억제할 수 있는 임의의 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 항-VEGF 항체는 통상적으로 다른 VEGF 동족체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C에도 결합하지 않을 것이고, 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF 또는 bFGF에도 결합하지 않을 것이다.

[0198] 본 발명의 특정 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생산된 모노클로날 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프에 결합하는 모노클로날 항체; 문헌 [Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]에 따라 생성된 재조합 인간화 항-VEGF 모노클로날 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 "rhuMAb VEGF" 또는 "아바스틴(AVASTIN)®"으로도 공지되어 있는 "베바시주맙(BV)"이다. 이것은 인간 VEGF의 그의 수용체에 대한 결합을 차단하는 무린 항-hVEGF 모노클로날 항체 A.4.6.1로부터의 돌연변이된 인간 IgG1 프레임워크 영역 및 항원-결합 상보성-결정 영역을 포함한다. 대부분의 프레임워크 영역을 포함하는 베바시주맙의 아미노산 서열의 대략 93%는 인간 IgG1로부터 유래되고, 서열의 약 7%는 무린 항체 A4.6.1로부터 유래된다.

[0199] 베바시주맙 및 다른 인간화 항-VEGF 항체는 2005년 2월 26일에 등록된 미국 특허 번호 6,884,879에 추가로 기재되어 있다. 추가의 항체는 PCT 공개 번호 W02005/012359, PCT 공개 번호 W02005/044853 및 US 특허 출원 60/991,302에 기재되어 있는 바와 같은 G6 또는 B20 시리즈 항체 (예를 들어, G6-31, B20-4.1)를 포함하며, 이들 특허 출원의 내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다. 추가의 항체에 대해 미국 특허 번호 7,060,269, 6,582,959, 6,703,020; 6,054,297; W098/45332; W0 96/30046; W094/10202; EP 0666868B1; 미국 특허 출원 공개 번호 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409 및 20050112126; 및 문헌 [Popkov et al., Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004)]을 참조한다. 다른 항체는 잔기 F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103 및 C104를 포함하거나, 또는 대안적으로 잔기 F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 및 Q89를 포함하는 인간 VEGF 상의 기능적 에피토프에 결합하는 것을 포함한다.

[0200] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 하기 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역:

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW
INTYTGPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTLLV TSS (서열 22)

[0201]
[0202] 및 하기 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역:
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQKP GKAPKVLIFY
TSSLHSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR (서열 23)

[0203]
[0204] 을 포함한다.

[0205] 일부 실시양태에서 항-VEGF 항체는 하기 아미노산 서열: GYTFTNYGMN (서열 24)을 포함하는 CDRH1, 하기 아미노산 서열: WINTYTGPTYAADFKR (서열 25)을 포함하는 CDRH2, 하기 아미노산 서열: YPHYGSSHWYFDV (서열 26)를 포함하는 CDRH3, 하기 아미노산 서열: SASQDISNYLN (서열 27)을 포함하는 CDRL1, 하기 아미노산 서열: FTSSLHS (서열 28)를 포함하는 CDRL2 및 아미노산 서열: QQYSTVPWT (서열 29)를 포함하는 CDRL3을 포함한다.

[0206] 본 발명에 따른 "G6 시리즈 항체"는 그의 전체 개시내용이 명백하게 본원에 참조로 포함되는 PCT 공개 번호 W02005/012359의 도 7, 24-26 및 34-35 중 어느 하나에 따른 G6 항체 또는 G6-유래 항체의 서열로부터 유래된 항-VEGF 항체이다. 또한, PCT 공개 번호 W02005/044853을 참조하고, 그의 전체 개시내용은 명백하게 본원에 참

조로 포함된다. 한 실시양태에서, G6 시리즈 항체는 잔기 F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 및 Q89를 포함하는 인간 VEGF 상의 기능적 에피토프에 결합한다.

[0207] 본 발명에 따른 "B20 시리즈 항체"는 그의 전체 개시내용이 명백하게 본원에 참조로 포함되는 PCT 공개 번호 WO2005/012359의 도 27-29 중 어느 하나에 따른 B20 항체 또는 B20-유래 항체의 서열로부터 유래된 항-VEGF 항체이다. 또한, PCT 공개 번호 WO2005/044853 및 미국 특허 출원 60/991,302를 참조하고, 이들 특허 출원의 내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다. 한 실시양태에서, B20 시리즈 항체는 잔기 F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103 및 C104를 포함하는 인간 VEGF 상의 기능적 에피토프에 결합한다.

[0208] 본 발명에 따른 "기능적 에피토프"는 항체의 결합에 강력하게 기여하는 항원의 아미노산 잔기를 지칭한다. 강력하게 기여하는 항원의 잔기 중 어느 하나를 돌연변이시키면 (예를 들어, 알라닌에 의한 야생형 VEGF의 돌연변이 또는 상동체 돌연변이) 항체의 결합이 파괴되어 항체의 상대적 친화도 비 (IC_{50} 돌연변이체 VEGF/ IC_{50} 야생형 VEGF)는 5 초과일 것이다 (WO2005/012359의 실시예 2 참조). 한 실시양태에서, 상대적 친화도 비는 용액 결합 파지 디스플레이 ELISA에 의해 결정된다. 간략하게, 96-웰 맥시소프트 이뮤노플레이트 (뉴크(NUNC))를 4°C에서 PBS 중 2 μ g/ml 농도의 Fab 형태의 시험대상 항체로 밤새 코팅하고, 2시간 동안 실온에서 PBS, 0.5% BSA 및 0.05% 트윈20 (PBT)으로 차단한다. PBT 중 hVEGF 알라닌 점 돌연변이체 (잔기 8-109 형태) 또는 야생형 hVEGF (8-109)를 디스플레이하는 파지의 연속 희석액을 우선 실온에서 15분 동안 Fab-코팅된 플레이트에서 인큐베이션하고, 상기 플레이트를 PBS, 0.05% 트윈20 (PBST)으로 세척한다. 결합된 파지는 PBT 중에서 1:5000으로 희석된 항-M13 모노클로날 항체 양고추냉이 퍼옥시다제 (아머삼 파마시아(Amersham Pharmacia)) 접합체로 검출하고, 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB, 키르케가드 & 페리 랩스(Kirkegaard & Perry Labs), 메릴랜드주 게이터스버그) 기질로 대략 5분 동안 발색시키며, 1.0 M H₃PO₄로 켄칭하고, 450 nm에서 분광광도계로 판독한다. IC_{50} 값의 비 ($IC_{50,ala}/IC_{50,wt}$)는 결합 친화도 (상대적 결합 친화도)에 있어서 감소 배수를 나타낸다.

[0209] (iii) VEGF 수용체 분자

[0210] 가장 잘 특성화된 2종의 VEGF 수용체는 VEGFR1 (또한, Flt-1로도 공지됨) 및 VEGFR2 (또한, 플린 상동체의 경우에 KDR 및 FLK-1로도 공지됨)이다. 각각의 VEGF 패밀리에 대한 각각의 수용체의 특이성은 다양하지만, VEGF-A는 Flt-1 및 KDR 둘 다에 결합한다. 전장 Flt-1 수용체는 7개의 Ig 도메인을 갖는 세포외 도메인, 막형단 도메인, 및 티로신 키나제 활성을 지닌 세포내 도메인을 포함한다. 세포외 도메인은 VEGF의 결합에 수반되고, 세포내 도메인은 신호 전달에 수반된다.

[0211] VEGF에 특이적으로 결합하는 VEGF 수용체 분자 또는 그의 단편은 본 발명의 방법에 사용되어 VEGF 단백질에 결합하고 이를 봉쇄시킴으로써 이것의 신호전달을 막을 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF 수용체 분자 또는 그의 VEGF 결합 단편은 가용성 형태, 예컨대 sFlt-1이다. 가용성 형태의 수용체는 VEGF에 결합하여 VEGF 단백질이 표적 세포 표면 상에 존재하는 그의 천연 수용체에 결합하는 것을 막음으로써, VEGF 단백질의 생물학적 활성에 대한 억제 효과를 발휘한다. 또한, VEGF 수용체 융합 단백질이 포함되며, 그 예는 하기에 기재된다.

[0212] 키메라 VEGF 수용체 단백질은 적어도 2종의 상이한 단백질로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 수용체 분자로서, 이 중 적어도 1종은 VEGF에 결합하여 그의 생물학적 활성을 억제할 수 있는 VEGF 수용체 단백질 (예를 들어, flt-1 또는 KDR 수용체)이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 VEGF 수용체 단백질은 오직 2종의 상이한 VEGF 수용체 분자로부터 유래된 아미노산 서열로 이루어지지만; flt-1 및/또는 KDR 수용체의 세포외 리간드-결합 영역으로부터의 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 모든 Ig-유사 도메인을 포함하는 아미노산 서열이 다른 비관련 단백질로부터의 아미노산 서열, 예를 들어 이뮤노글로불린 서열에 연결될 수 있다. Ig-유사 도메인과 조합되는 다른 아미노산 서열은 당업자에게 매우 명백할 것이다. 키메라 VEGF 수용체 단백질의 예는, 예를 들어 가용성 Flt-1/Fc, KDR/Fc 또는 FLt-1/KDR/Fc (VEGF 트랩으로도 공지됨)를 포함한다. (예를 들어 PCT 출원 공개 번호 WO97/44453 참조)

[0213] 본 발명의 가용성 VEGF 수용체 단백질 또는 키메라 VEGF 수용체 단백질은 막형단 도메인을 통해 세포의 표면에 고정되지 않는 VEGF 수용체 단백질을 포함한다. 이와 같이 키메라 수용체 단백질을 비롯한 가용성 형태의 VEGF 수용체는 VEGF에 결합하여 이것을 불활성화시키면서도 막형단 도메인을 포함하지 않기 때문에 일반적으로는 해당 분자가 발현되는 세포의 세포막과 회합되지 않는다.

[0214] IV. 키트

[0215] 또 다른 측면에서, 개체에서 암의 치료 또는 그의 진행의 지연 또는 암을 갖는 개체의 면역 기능의 증진을 위한 PD-L1 축 결합 길항제 및/또는 VEGF 길항제를 포함하는 키트가 제공된다. 일부 실시양태에서, 키트는 PD-1 축

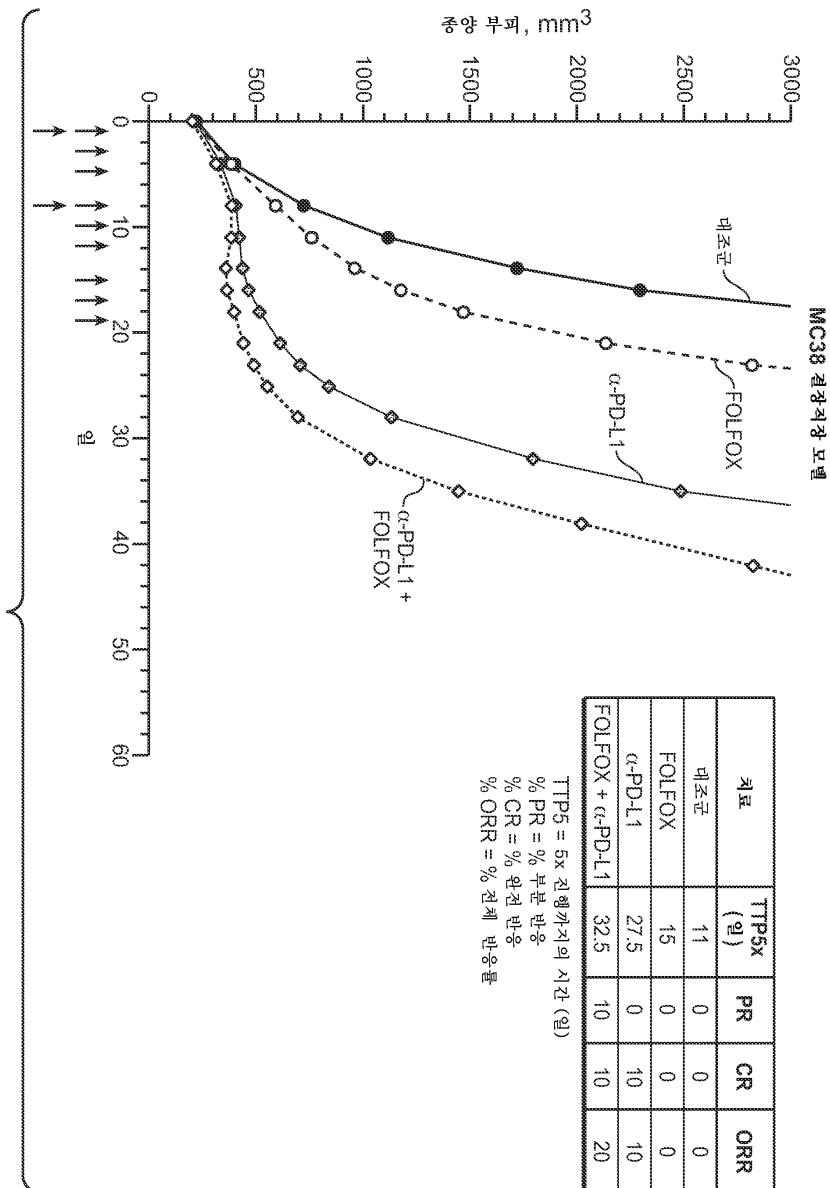
결합 길항제, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 갖는 개체의 면역 기능을 증진시키기 위해 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU와 조합하여 PD-1 축 결합 길항제를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린, 5-FU, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 갖는 개체의 면역 기능을 증진시키기 위해 PD-1 축 결합 길항제와 조합하여 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린, 5-FU를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 PD-1 축 결합 길항제, 및 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린, 5-FU, 및 개체에서 암을 치료하거나 그의 진행을 지연시키기 위해 또는 암을 갖는 개체의 면역 기능을 증진시키기 위해 PD-1 축 결합 길항제, 및 VEGF 길항제의 존재 또는 부재 하의 옥살리플라틴, 류코보린, 5-FU를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 포장 삽입물을 포함한다. 본원에 기재된 임의의 PD-1 축 결합 길항제 및/또는 VEGF 길항제가 키트에 포함될 수 있다.

- [0216] 실시예
- [0217] 본 발명은 하기 실시예를 참조하여 추가로 이해될 수 있으며, 이들은 예시로서 제공된 것이며 제한하고자 하는 것은 아니다.
- [0218] 실시예 1: 항-VEGF 항체의 존재 또는 부재 하의 FOLFOX는 항-PD-L1의 항종양 활성을 증진시킴
- [0219] 항-VEGF 항체의 존재 또는 부재 하의 FOLFOX (옥살리플라틴, 류코보린 및 5-플루오로우라실)가 결장직장암의 항-PD-L1 마우스 모델의 항종양 활성을 증진시키는지 여부를 결정하기 위해 조합 치료로 치료하였다. 간략하게, 암컷 C57BL/6 마우스의 한쪽 가슴 영역에 HBSS:매트리젤 100 마이크로리터 중의 100,000개의 MC38 무린 결장직장 세포를 피하로 접종하였다. 마우스의 평균 종양 부피가 220 mm³에 이르면, 이들을 실험 제0일에 하기에 개략된 치료군 중 하나로 무작위로 할당하였다. 실험 제1일에 치료를 개시하였다. 연구 기간 동안 주당 2-3회 마우스의 체중을 재고, 종양을 측정하였다.
- [0220] 실험군:
- [0221] 1) 대조군 (이소형 대조군 항체 (항-gp120 항체)), 10 mg/kg ip, 100 마이크로리터, 3주 동안 주 3회 투여함, n=10
- [0222] 2) 항-PD-L1 항체, 10 mg/kg ip, 100 마이크로리터, 3주 동안 주 3회 투여함, n=10
- [0223] 3) FOLFOX (하기 참조), 2주 동안 주 1회 투여함, n=10
- [0224] 4) FOLFOX (하기 참조), 2주 동안 주 1회 투여함 + 항-PD-L1 항체, 10 mg/kg ip, 100 마이크로리터, 3주 동안 주 3회 투여함, n=10
- [0225] 5) FOLFOX (하기 참조), 2주 동안 주 1회 투여함 + 항-VEGF 항체, 5 mg/kg ip, 100 마이크로리터, 3주 동안 주 2회 투여함, n=10
- [0226] 6) FOLFOX (하기 참조), 2주 동안 주 1회 투여함 + 항-VEGF 항체, 5 mg/kg ip, 100 uL, 3주 동안 주 2회 투여함 + 항-PD-L1 항체, 10 mg/kg ip, 100 마이크로리터, 3주 동안 주 3회 투여함, n=10
- [0227] ip = 복강내로
- [0228] sc = 피하로
- [0229] 이들 연구 동안, FOLFOX 투여는 다음과 같이 수행하였다: 실험 제1일 및 실험 제8일에, 마우스에게 물 50 마이크로리터 중의 옥살리플라틴, 5 mg/kg ip 투여하고, 그 직후에 물 250 마이크로리터 중의 류코보린, 100 mg/kg ip (시간 = 0시간째에 투여함) 및 5-FU, 25 mg/kg ip 투여하고, 그 직후에 5-FU, 25 mg/kg sc (시간 = 2시간째에 투여함) 투여하였다. 항-PD-L1 항체 및 항-gp120 항체를 실험 제1,3,5,8,10,12,15,17 및 19일 (시간 = 4시간째에 투여함)에 투여하였다. 항-VEGF 항체는 실험 제1,4,8,11,15,18일 (시간= 6시간째에 투여함)에 투여하였다.
- [0230] 마우스에 대해 종양 성장 및 체중 변화를 모니터링하였다. 종양 부피는 울트라칼(UltraCal)-IV 캘리퍼 (모델 54-10-111; 프레드 브이. 파울러 캄파니(Fred V. Fowler Company); 매사추세츠주 뉴턴)를 사용하여 측정하였다. 하기 식을 사용하여 종양 부피를 계산하였다:

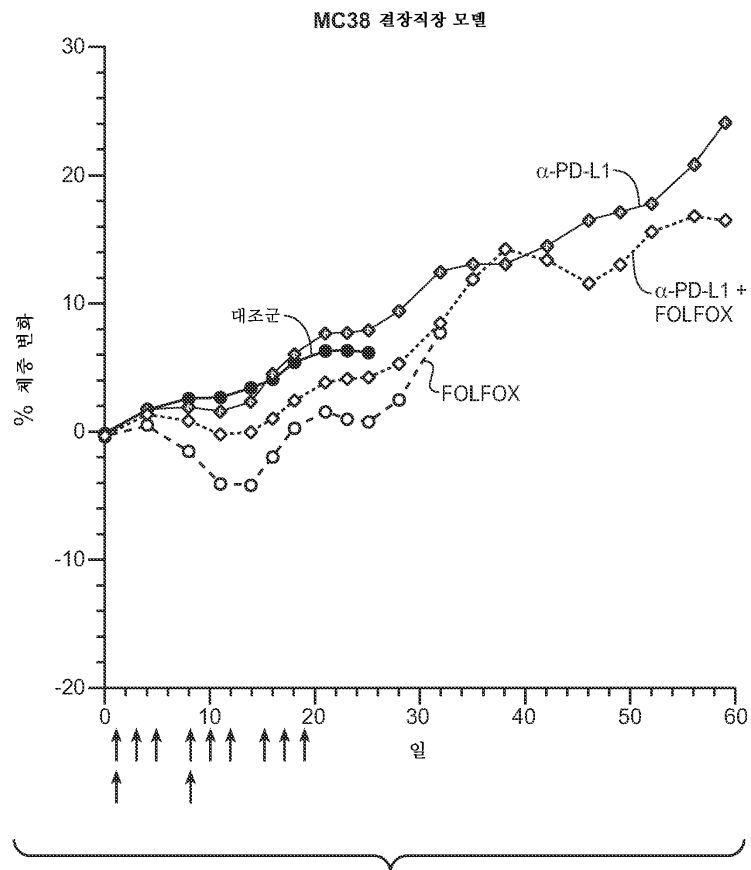
- [0231] 종양 부피 (mm^3) = (길이 X 폭²) X 0.5
- [0232] 길이 및 폭 측정값은 서로 수직관계였다. 동물 체중은 어드벤처라 프로 AV812(Adventura Pro AV812) 체중계 (오하우스 코퍼레이션(Ohaus Corporation); 뉴저지주 파인 브룩)를 사용하여 측정하였다. 퍼센트 체중 변화는 하기 식을 사용하여 계산하였다:
- [0233] 체중 변화 (%) = [(체중_{신규일} - 체중_{제0일})/체중_{제0일}] x 100
- [0234] R, 버전 2.9.2 (R 디벨롭먼트 코어 팀 2008(R Development Core Team 2008); R 파운데이션 포 스태티스틱얼 컴퓨팅(R Foundation for Statistical Computing); 오스트리아 비엔나)를 사용하여 데이터를 분석하고, nlme 패키지, 버전 3.1-96 (Pinheiro et al. 2009)을 사용하여 혼합 모델을 R 내에 피팅시켰다. Mac용 프리즘, 버전 5.0b (그래프패드 소프트웨어, 인크.(GraphPad Software, Inc.); 캘리포니아주 라 졸라)에서 플롯팅을 수행하였다.
- [0235] 혼합 모델링 접근법을 사용하여 시간의 경과에 따른 동일한 동물로부터의 종양 부피의 반복 측정값을 분석하였다 (Pinheiro and Bates 2000). 이러한 접근법은 반복 측정값, 및 무작위적 누락 (MAR)으로 통계학적으로 분류 가능하다는 이유로 연구 종결전 중요하지 않은 탈락값을 둘 다 다룬다. 시간 및 용량에 의한 고정된 효과 변화 ($\log_2(\text{부피})$)를 주요 효과의 합 및 자연 3차 회귀 스플라인 기저 (시간)와 자동-결정된 자연 스플라인 기저 (용량)의 상호작용으로 모델링하였다. 절편 및 성장 속도 (기울기)는 동물에 따라 무작위적으로 달라질 것으로 추정된다. 대조군-처리된 군의 백분율로서 종양 성장 억제 (%TGI)는, 하기 식을 사용하여, 대조군 처리된 마우스가 여전히 연구 중인 동안 대조군과 비교하여 일당 각각의 처리군에 대해 피팅된 곡선하 면적 (AUC)의 백분율로 계산하였다:
- [0236] $\%TGI = 100 \times (1 - AUC_{\text{용량}} / AUC_{\text{비허용}})$
- [0237] 이들 연구에서, 완전 반응 (CR)은 종양 부피가 연구 동안의 임의의 시점에 검출 한계 (LOD) 미만으로 떨어진 개별 동물로 정의하였다. 부분 반응 (PR)은 종양 부피가 연구 동안 임의의 시점에 그의 최초 종양 부피의 50%만큼 감소한 개별 동물로 정의하였다. 전체 반응률 (ORR)은 완전 및 부분 반응의 합으로 정의하였다. 5X 진행까지의 시간 (TTP5X)은 군의 피팅된 종양 부피 (상기 기재된 혼합 모델링 분석에 기초함)가 출발 부피의 5배를 초과하는 시간(일)으로 정의하였고, 가장 근접한 반일까지 반올림하고, 그 군에 대한 TTP5X로 보고하였다. 선형 혼합-효과 분석을 또한 사용하여 시간 경과에 따른 동일한 동물로부터의 체중 변화의 반복 측정값을 분석하였다.
- [0238] 항-PD-L1 항체를 사용한 PD-1 축의 차단은 종양 성장을 방지하는데 단일 작용제 요법으로서 효과적이었다. 항-PD-L1 항체와 옥살리플라틴, 류코보린 및 5-FU (FOLFOX)의 조합 치료는 종양 성장을 유의하게 억제하였고, 이는 이러한 화학요법 조합이 항-PD-L1 항체의 항종양 활성을 증진시킴을 나타낸다 (도 1). 이러한 조합 치료에의 항-VEGF의 추가는 이러한 항종양 활성, 및 뿐만 아니라 치료 중단 이후에도 항종양 반응의 지속성을 추가로 증진시켰다 (도 4).
- [0239] 실시예 2:
- [0240] 변형된 FOLFOX-6의 존재 또는 부재 하의 베바시주맙과의 MPDL3280A의 1b상 연구
- [0241] 연구의 일차 목표는 전이성 결장직장암 (mCRC)을 비롯한 고형 종양을 갖는 환자에서 베바시주맙 (아암 A) 및 베바시주맙+FOLFOX (구체적으로, 변형된 FOLFOX-6, 또는 mFOLFOX-6; 아암 B)와 함께 투여된 MPDL3280A의 안정성, 약리학 및 예비 효능을 평가하는 것이다. 아암 A는 최대 1년 동안 10 mg/kg (또는 단일-작용제 MTD 또는 MAD를 초과하지 않는 선택된 용량 수준)의 MPDL3280A 및 베바시주맙 (15 mg/kg)을 매-3-주 (q3w) 스케줄로 평가할 것이다. 전이성 질환에 대해 옥살리플라틴을 수여받지 않은 환자는 MPDL3280A를 베바시주맙 및 FOLFOX와 함께 매-2-주 (q2w) 스케줄로 수여받는 아암 B로 등록될 것이다. mFOLFOX-6 요법은 하기와 같이 이루어진다: 약 120분에 걸쳐 옥살리플라틴 (85 mg/m^2) 정맥내 (IV) 투여, 동시에 류코보린 (400 mg/m^2) IV 투여, 이어서 5-FU (400 mg/m^2) IV 볼루스로서 투여, 이어서 약 46시간에 걸쳐 연속 IV 주사에 의해 2400 mg/m^2 투여. 옥살리플라틴은 최대 8 사이클 동안 투여될 것이다. 치료는 최대 1년 동안 계속될 수 있다.

도면

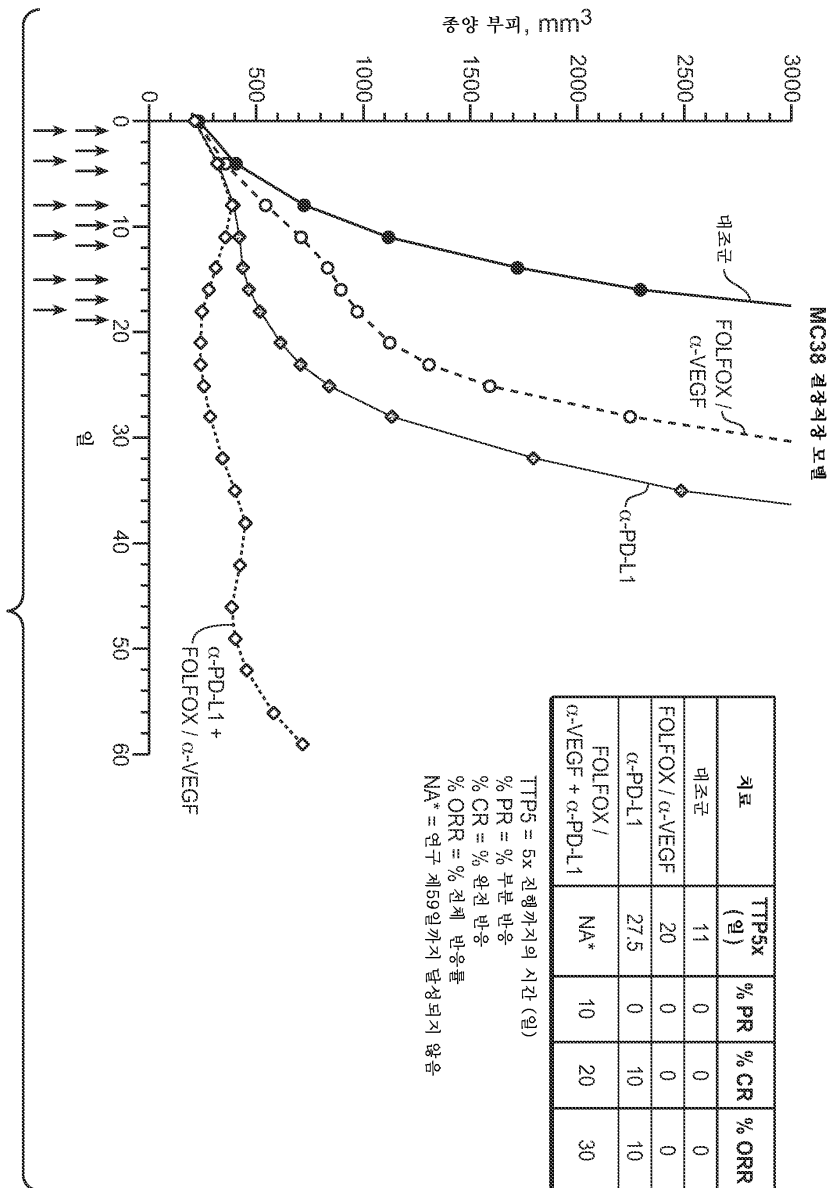
도면1



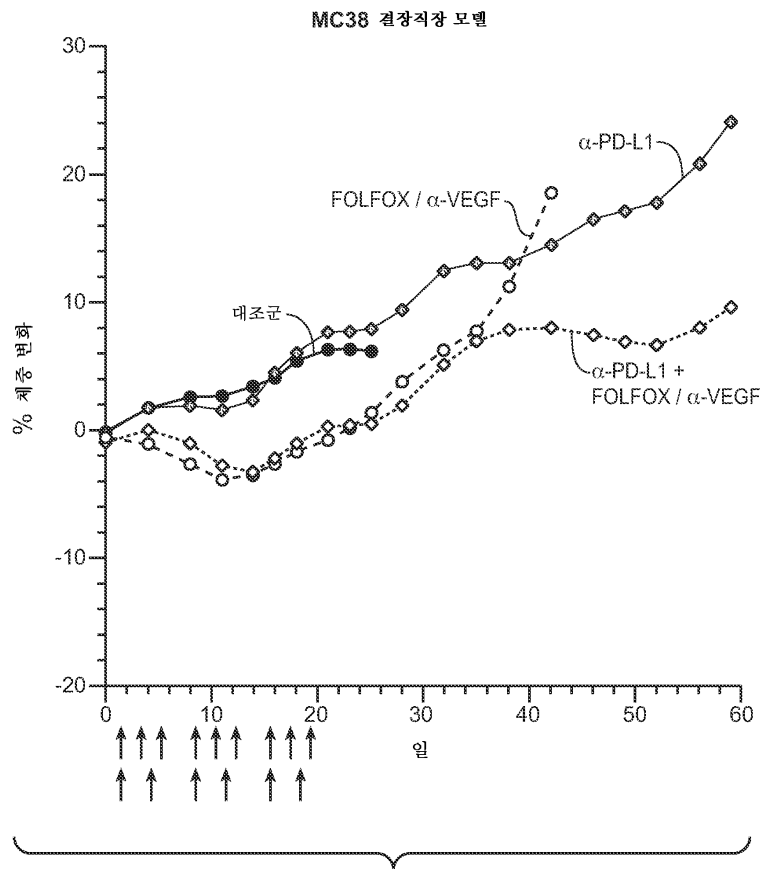
도면2



도면3



도면4



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> METHODS OF TREATING CANCER USING PD-1 AXIS BINDING ANTAGONISTS
AND VEGF ANTAGONISTS

<130> P4926R1-W0

<140><141><150> 61/653,861

<151> 2012-05-31

<160> 37

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Asp or Gly

<220>

<223> see specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser or Leu

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Thr or Ser

<220>

<223> see specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<400> 2

Ala Trp Ile Xaa Pro Tyr Gly Gly Ser Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 3

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

1 5 10

<210> 6

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Asp or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Val or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Ser or Asn

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ala or Phe

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Val or Leu

<220>

<223> see specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Phe or Thr

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Tyr or Ala

<220>

<223> see specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<400> 9

Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Tyr, Gly, Phe or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Leu, Tyr, Phe or Trp

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Tyr, Asn, Ala, Thr, Gly, Phe or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> His, Val, Pro, Thr or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ala, Trp, Arg, Pro or Thr

<220>

<223> see specification as filed for detailed description of
substitutions and preferred embodiments

<400> 10

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 11

<

211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

1 5 10 15

<210> 13

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 15

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 16

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 17

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 18

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 19

Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr

1 5

<210> 20

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 20

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 21

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 22

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 22

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 23

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 23

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

1 5 10 15

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

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

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 24

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5 10

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 25

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

1 5 10 15
 Arg

<210> 26

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 26

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 27

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 28

Phe Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 29

Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 30

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

1 5 10

<210> 32

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

1 5 10

<210> 34

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

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

1 5 10 15

<210> 36

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10