(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0035090
(43) 공개일자 2016년03월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7006340
(22) 출원일자(국제) 2014년09월11일
심사청구일자 2016년03월10일
(85) 번역문제출일자 2016년03월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2014/069451
(87) 국제공개번호 WO 2015/036511
국제공개일자 2015년03월19일
(30) 우선권주장
13184120.7 2013년09월12일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
허팅 프랑크
독일 82377 펜츠베르크 안 데어 프라이하이트 29 아
리스 카롤라
독일 82377 펜츠베르크 상크트-클라라-스트라쎄 9
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인

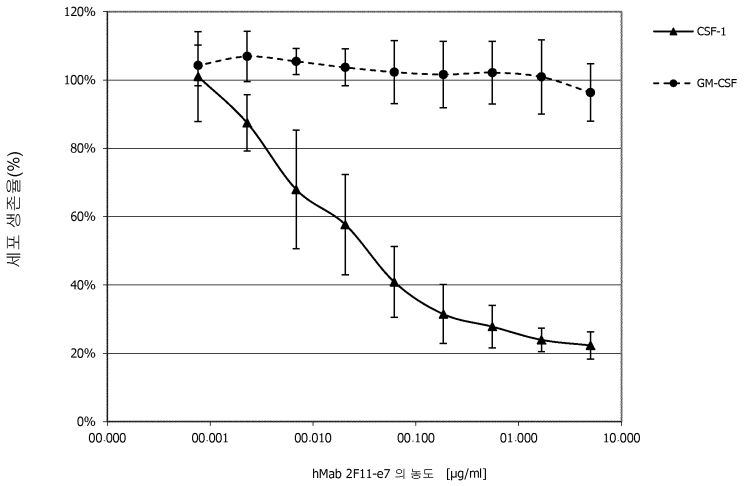
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **인간 CSF-1R에 대한 항체 및 인간 PD-L1에 대한 항체의 조합 요법**

(57) 요 약

본 발명은 인간 CSF-1R에 결합하는 특이적 항체와 인간 PD-L1에 결합하는 특이적 항체의 조합 요법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
C07K 16/2866 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/71 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
(72) 발명자
바르타 카타리나
스위스 4054 바젤 로트베르거스트라쎄 7
호페스 사비네
독일 82392 하바흐 슐로스베르크스트라쎄 6

명 세 서

청구범위

청구항 1

암의 치료에 사용하기 위한, 전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한, 골 손실의 치료에 사용하기 위한, 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용하기 위한, 또는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성을 자극하는데 사용하기 위한, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체로서,

상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체가

(a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

(b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

(c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

(d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

(e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL

을 포함하고;

상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체가

(a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

(b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

(c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

(d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

(e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

(f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

(g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

(h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

(i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

(j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

(k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

(l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

(m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

(n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

(o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

(p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL

을 포함하는, 항체.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

암의 치료에 사용하기 위한 항체.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

유방암, 폐암, 결장암, 난소암, 흑색종, 방광암, 신암, 신장암, 간암, 두경부암, 결장직장암, 췌장암, 위암종, 식도암, 중피종, 전립선암, 백혈병, 림프종 또는 골수종의 치료에 사용하기 위한 항체.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 항체.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

골 손실의 치료에 사용하기 위한 항체.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

염증성 질병의 치료에 사용하기 위한 항체.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용하기 위한 항체.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성을 자극하는데 사용하기 위한 항체.

청구항 9

(i) CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1 리간드-비의존 CSF-1R 발현 종양 세포에서 세포 증식의 억제;

(ii) CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1R 리간드-비의존 CSF-1R 발현 대식세포 침윤물로 종양의 세포 증식의 억제;

(iii) (CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1R 리간드-비의존) CSF-1R 발현 단핵구 및 대식세포에서 세포 생존의 억제; 및/또는

(iv) 대식세포 내로 (CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1R 리간드-비의존) CSF-1R 발현 단핵구에서 세포 분화의 억제

에 사용하기 위한, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체로서,

상기 조합 치료에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체가

(a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

(b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

(c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

(d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

(e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL

을 포함하고;

상기 조합 치료에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체가

(a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

(b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

(c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

(d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

(e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

(f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

(g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

(h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

(i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

(j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

(k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

(l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

(m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

(n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

(o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

(p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL

을 포함하는, 항체.

청구항 10

CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 대식세포 침윤물과 함께 종양을 갖는 환자의 치료에 사용하기 위한, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체로서,

상기 종양이 CSF-1R 리간드를 증가시키고, 항-CSF-1R 항체를 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여하되,

상기 조합 치료에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체가

(a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

(b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

(c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

(d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

(e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL

을 포함하고;

상기 조합 치료에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체가

(a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

(b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

(c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

(d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

(e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

(f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

(g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

(h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

(i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

(j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

(k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

(l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

(m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

(n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

(o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

(p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL

을 포함하는, 항체.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서,

인간 IgG1 하위유형의 항체 또는 인간 IgG4 하위유형의 항체인, 항체.

청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,

감소된 또는 최소 효과기 기능을 갖는 항체.

청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

최소 효과기 기능이 효과기가 없는 Fc 돌연변이로부터 생성되는 항체.

청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서,

효과기가 없는 Fc 돌연변이가 L234A/L235A, L234A/L235A/P329G, N297A, 또는 D265A/N297A인 항체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인간 CSF-1R에 결합하는 특이적 항체와 인간 PD-L1에 결합하는 특이적 항체의 조합 요법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] **CSF-1R 및 CSF-1R 항체**

[0003] 인간 CSF-1 수용체(CSF-1R; 콜로니 자극 인자 1 수용체; 유의어: M-CSF 수용체; 대식세포 콜로니 자극 인자 1 수용체, Fms 원-종양형성 유전자, c-fms, 서열번호 62)는 1986년 이래로 공지되어 있다(문헌[Coussens, L., et al., Nature 320(1986) 277-280]). CSF-1R은 성장 인자이며 c-fms 원-종양형성 유전자에 의해 암호화된다(예를 들어, 문헌[Roth, P., and Stanley, E.R., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 181(1992) 141-167]에서 검토됨).

[0004] CSF-1R은 CSF-1(콜로니 자극 인자 1, 또한 M-CSF, 대식세포 콜로니 자극 인자라고도 칭함)에 대한 수용체이며 상기 사이토카인의 생물학적 효과를 매개한다(문헌[Sherr, C.J., et al., Cell 41(1985) 665-676]). 콜로니

자극 인자 1 수용체(CSF-1R)(또한 c-fms라 칭함다)의 클로닝은 문헌[Roussel, M.F., et al., Nature 325(1987) 549-552]에서 최초로 기재되었다. 상기 발행물에서, CSF-1R은, Cb1에 결합하고 이에 의해 수용체 하향 조절을 조절하는 억제성 티로신 969 인산화의 상실을 비롯한 단백질의 C-말단 꼬리의 변화에 따른 형질전환 잠재력을 갖는 것으로 입증되었다(문헌[Lee, P.S., et al., Embo J. 18(1999) 3616-3628]). 최근에 인터류킨-34(IL-34)로 불리는 CSF-1R에 대한 제 2 리간드가 동정되었다(문헌[Lin, H., et al, Science 320(2008) 807-811]).

[0005] 현재 CSF-1R의 세포외 도메인에 결합하는 2개의 CSF-1R 리간드가 공지되어 있다. 첫 번째는 CSF-1(콜로니 자극 인자 1, 또한 M-CSF로도 불림, 대식세포; 서열번호 86)이고 이황화 연결된 동종이량체(homodimer)로서 세포외에서 발견되었다(문헌[Stanley, E.R. et al., Journal of Cellular Biochemistry 21(1983) 151-159]; 문헌[Stanley, E.R. et al., Stem Cell 12 Suppl. 1(1995) 15-24]). 두번째는 IL-34(인간 IL-34; 서열번호 87)이다(문헌[Hume, D.A. et al., Blood 119(2012) 1810-1820]). CSF-1R 신호전달의 주요 생물학적 효과는 대식세포 계열(용골세포 포함)에 대한 조혈 전구체 세포의 분화, 증식, 이동 및 생존이다. CSF-1R의 활성화는 이의 CSF-1R 리간드, CSF-1(M-CSF) 및 IL-34에 의해 매개된다. CSF-1(M-CSF)의 CSF-1R로의 결합은 동종이량체의 형성 및 티로신 인산화에 의한 키나아제의 활성화를 유도한다(문헌[Li, W. et al., EMBO Journal. 10(1991) 277-288]; 문헌[Stanley, E.R., et al., Mol. Reprod. Dev. 46(1997) 4-10]).

[0006] 생물학적으로 활성인 동종이량체 CSF-1은 CSF-1 수용체의 세포외 도메인(CSF-1R-ECD)의 하위도메인 D1 내지 D3 내에서 CSF-1R에 결합한다. CSF-1R-ECD는 5개의 면역글로불린-유사 하위도메인(D1 내지 D5로서 지정함)을 포함한다. 세포외 도메인(CSF-1R-ECD)의 하위도메인 D4 또는 D5는 CSF-1 결합에 수반되지 않았다(문헌[Wang, Z., et al Molecular and Cellular Biology 13(1993) 5348-5359]). 하위도메인 D4는 이량체화에 수반된다(문헌[Yeung, Y-G., et al Molecular & Cellular Proteomics 2(2003) 1143-1155]; 문헌[Pixley, F. J., et al., Trends Cell Biol 14(2004) 628-638]).

[0007] 추가 신호전달은 PI3K/AKT 및 Ras/MAPK 경로에 각각 연결된 PI3K 및 Grb2의 p85 서브유닛에 의해 매개된다. 이러한 2개의 중요한 신호전달 경로는 증식, 생존 및 세포자멸사를 조절할 수 있다. CSF-1R의 인산화된 세포내 도메인에 결합하는 다른 신호전달 분자는 STAT1, STAT3, PLCy 및 Cb1을 포함한다(문헌[Bourette, R.P. and Rohrschneider, L.R., Growth Factors 17(2000) 155-166]).

[0008] CSF-1R 신호전달은 면역 반응, 골 리모델링 및 생식계에서 생리학적 역할을 한다. CSF-1(문헌[Pollard, J.W., Mol. Reprod. Dev. 46(1997) 54-61]) 또는 CSF-1R(문헌[Dai, X.M., et al., Blood 99(2002) 111-120])에 대한 녹아웃 동물은 각각의 세포 유형에서 CSF-1R에 대한 역할과 일치하는 골화석화, 조혈, 조직 대식세포 및 생식 표현형을 갖는 것으로 나타났다.

[0009] 문헌[Sherr, C.J., et al., Blood 73(1989) 1786-1793]은 CSF-1 활성을 억제하는 CSF-1R에 대한 일부 항체에 관한 것이다. 문헌[Ashmun, R.A., et al., Blood 73(1989) 827-837]은 CSF-1R 항체에 관한 것이다. 문헌[Lenda, D.M., et al., Journal of Immunology 170(2003) 3254-3262]은 신장 염증 동안 관(tubular) 세포자멸사를 감소시키는 CSF-1-결함 마우스에서의 감소된 대식세포 점증, 증식 및 활성화에 관한 것이다. 문헌[Kitaura, H., et al., Journal of Dental Research 87(2008) 396-400]은 교정용 치아 이동을 억제하는 항-CSF-1 항체에 관한 것이다. WO 2001/030381은 오직 CSF-1 안티센스 뉴클레오티드를 개시하면서 안티센스 뉴클레오티드 및 항체를 비롯한 CSF-1 활성 억제제를 언급한다. WO 2004/045532는 오직 길항물질로서 항-CSF-1 항체를 개시하는, CSF-1 길항물질에 의한 전이암의 전이, 및 골 손실 예방 및 치료에 관한 것이다. WO 2005/046657은 항-CSF-1 항체에 의한 염증성 장 질병의 치료에 관한 것이다. US 2002/0141994는 콜로니 자극 인자의 억제제에 관한 것이다. WO 2006/096489는 항-CSF-1 항체에 의한 류마티스 관절염의 치료에 관한 것이다. WO 2009/026303 및 WO 2009/112245는 세포외 도메인(CSF-1R-ECD)의 첫 번째 3개 하위도메인(D1 내지 D3) 내에서 CSF-1R에 결합하는 특정한 항-CSF-1R 항체에 관한 것이다. WO 2011/123381(A1)은 CSF-1R에 대한 항체에 관한 것이다. WO 2011/070024는 이량체화 도메인(D4 내지 D5) 내에서 CSF-1R에 결합하는 특정한 항-CSF-1R 항체에 관한 것이다.

[0010] **PD-L1 및 PD-L1 항체**

[0011] T 세포에 대한 2개의 별도 신호의 공자극 또는 공급은 항원 제시 세포(APC)에 의해 T 림프구를 증식하지 않고 있는 림프구 활성화의 광범위하게 용인된 모델이다(문헌(Lafferty et al., Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 53: 27-42(1975)]).

[0012] 이 모델은 비-자가 및 면역 내성으로부터 스스로를 차별하기 위해 추가로 제공된다(문헌[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)]). 1차 신호, 또는 항원 특이적 신호는 주요 조직적합 유전자 복합체(MHC)의 맥락에서 제시된 외부 항원 펩티드의 인식에 따라 T 세포 수용체(TCR)를 통해 형질 도입된다. 2차 또는 공자극 신호는 항원 제시 세포(APC)에서 발현된 공자극 분자에 의해 T 세포에 전달되고, T 세포를 유도하여 클론 확장, 사이토카인 분비 및 효과기 기능을 유도한다(문헌[Lenschow et al., Ann. Rev. Immunol. 14:233(1996)]). 공자극의 부재하에, T 세포는 항원 자극에 대하여 난치성이 될 수 있고, 효과적인 면역 반응을 증가시키지 않고, 또한 외부 항원에 대한 소모 또는 내성을 초래할 수 있다.

[0013] 단순한 2가지 신호 모델은, TCR 신호의 강도가 실제로 T 세포 활성화 및 분화에서 정량적인 영향을 갖기 때문에 지나친 단순화가 될 수 있다(문헌[Viola et al., Science 273: 104-106(1996); Sloan-Lancaster, Nature 363: 156-159(1993)]. 더욱이, T 세포 활성화는 TCR 신호 강도가 높은 경우, 공자극 신호의 부재하에도 발생할 수 있다. 더욱 중요하게, T 세포는 양성 및 음성 2차 공자극 신호를 둘다 받는다. 상기 양성 및 음성 신호의 조절은 호스트의 보호 면역 반응을 최대화하면서, 면역 내성을 유지하고 자가면역을 막는데 중요하다.

[0014] 음성 2차 신호는 양성 신호가 T 세포 활성화를 촉진하는 동안 T 세포내성의 도입을 위해 필요한 것처럼 보인다. 단순한 2가지 신호 모델이 여전히 원시 림프구에 대한 유용한 설명을 제공하는 동안, 호스트의 면역 반응은 역동적 과정이고, 공자극 신호는 또한 항원-노출된 T 세포에 제공될 수 있다.

[0015] 공자극의 기작은, 공자극 신호의 조작이 세포계 면역 반응을 강화하거나 종결하기 위한 수단을 제공하는 것으로 보이기 때문에 치료적 관심 기작이다. 최근에, T 세포 기능 장애 또는 면역성 결여는 억제 수용체, 즉, 예정된 사멸 1 폴리펩티드(PD-1)의 유도되고 지연된 발현을 동반하여 발생하는 것을 발견하였다. 결과적으로, PD-1과의 상호작용을 통해 신호를 보내는 PD-1 및 다른 분자, 예컨대, 예정된 사멸 리간드 1(PD-L1) 및 예정된 사멸 리간드 2(PD-L2)를 치료적으로 표적하는 것은 집중 관심 분야이다. PD-L1 신호의 억제는 암(예를 들면, 종양 면역) 및 감염, 예컨대 급성 및 만성(예를 들면, 지속적) 감염을 둘다 치료하기 위해 T 세포 면역을 강화하기 위한 수단으로서 제안되었다. 그러나, 이 경로에서 표적에 관한 최적의 치료가 아직 상용화되지 않음으로써 중요한 충족되지 않은 의학적 요구가 존재한다. PD-L1에 대한 항체는 예를 들면, WO 2010/077634에 기재되어 있다.

발명의 내용

[0016] 본 발명은 암의 치료에 사용하기 위한, 전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한, 골 손실의 치료에 사용하기 위한, 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용하기 위한, 또는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성의 자극에 사용하기 위한, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 인간 CSF-1R에 결합하는 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0017] 본 발명은 암의 치료에 사용하기 위한, 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한, 골 손실의 치료에 사용하기 위한, 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용하기 위한, 또는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성의 자극에 사용하기 위한, 약제의 제조에 있어서 인간 CSF-1R에 결합하는 항체의 용도를 추가로 포함하고, 이때 상기 항체는 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여된다.

[0018] 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0019] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0020] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0021] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0022] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0023] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0024] 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0025] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0026] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0027] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0028] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0029] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0030] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0031] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0032] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0033] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0034] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0035] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0036] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0037] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0038] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0039] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0040] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0041] 일 실시양태에서, 항체는 암의 치료에 사용된다.

[0042] 일 실시양태에서, 항체는 전이의 예방 또는 치료에 사용된다.

[0043] 일 실시양태에서, 항체는 골 손실의 치료에 사용된다.

[0044] 일 실시양태에서, 항체는 염증성 질병의 치료에 사용된다.

[0045] 일 실시양태에서, 항체는 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용된다.

[0046] 일 실시양태에서, 항체는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성을 자극하는데 사용된다.

[0047] 본 발명은,

[0048] (i) CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1 리간드-비의존 CSF-1R 발현 종양 세포에서 세포 증식의 억제;

[0049] (ii) CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1R 리간드-비의존 CSF-1R 발현 대식세포 침윤물로 종양의 세포 증식의 억제;

[0050] (iii) (CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1R 리간드-비의존) CSF-1R 발현 단핵구 및 대식세포에서 세포 생존의 억제; 및/또는

[0051] (iv) 대식세포 내로 (CSF-1R 리간드-의존 및/또는 CSF-1R 리간드-비의존) CSF-1R 발현 단핵구의 세포 분화의 억제

[0052] 에 사용하기 위한, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여된, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 추가로 포함하고, 이때

[0053] 항체는 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되고;

[0054] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0055] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0056] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0057] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0058] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0059] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0060] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0061] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0062] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0063] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0064] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0065] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0066] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0067] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0068] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0069] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0070] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0071] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0072] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0073] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0074] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0075] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0076] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0077] 본 발명은 CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 매크로파지 침투와 함께 종양을 갖는 환자의 치료에 사용하기 위한, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 추가로 포함하고, 이때 종양은 CSF-1R 리간드를 증가시키고, 항-CSF-1R 항체는 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되되,

[0078] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0079] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0080] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0081] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0082] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0083] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0084] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0085] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0086] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0087] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0088] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0089] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0090] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0091] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0092] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0093] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0094] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0095] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0096] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0097] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0098] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0099] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0100] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0101] 일 실시양태에서, 항체는 인간 IgG1 하위유형의 항체 또는 인간 IgG4 하위유형의 항체이다.

[0102] 본 발명은 또한,

[0103] (a) (i) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적 CSF-1R 발현 종양 세포에서 세포 증식의 억제;

[0104] (ii) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적 CSF-1R 발현 매크로파지 침투를 갖는 종양의 세포 증식의 억제;

[0105] (iii) (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구 및 매크로파지에서 세포 생존의 억제; 및/또는

[0106] (iv) 대식세포 내로 (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구의 세포 분화의 억제

[0107] 를 위하되, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여하는 방법; 또는

[0108] (b) CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 매크로파지 침투와 함께 종양을 갖는 환자를 치료하되, 상기 종양이 CSF-1R 리간드를 증가시키고, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여하는 방법

[0109] 을 추가로 포함하고, 이때

[0110] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0111] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0112] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0113] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0114] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0115] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0116] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0117] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0118] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0119] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0120] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0121] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0122] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0123] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0124] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0125] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0126] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0127] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0128] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0129] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0130] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0131] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0132] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0133] 본원에 사용된 용어 "리간드 의존"은 세포외 ECD를 통한 리간드-비의존 신호전달을 지칭한다(및 세포내 키나아제 도메인에서 점 돌연변이 활성화에 의해 매개된 리간드-비의존 신호전달을 포함하지 않는다). 일 실시양태에서, 본원에서 CSF-1R 리간드는 인간 CSF-1(서열번호 86) 및 인간 IL-34(서열번호 87)로부터 선택된 CSF-1R 리간드를 지칭하고; 일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 CSF-1(서열번호 86)이고; 일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 IL-34(서열번호 87)이다.

[0134] 본 발명은, CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 대식세포 침윤물과 함께 종양을 갖는 환자의 조합 치료를 포함하고, 이때 종양은 (혈청, 소변 또는 종양 생검에서 검출가능한) CSF-1R 리간드를 증가시키고(일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 CSF-1(서열번호 86) 및 인간 IL-34(서열번호 87)로부터 선택되고; 일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 CSF-1(서열번호 86)이고; 일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 IL-34(서열번호 87)이다), 이때 본원에 기재된 바와 같이 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 본원에 기재된 바와 같이 항-PD-L1 항체와 조합하여 투여된다.

[0135] 용어 "CSF-1R 리간드의 증가"는 항-CSF-1R 항체로의 치료에 의해 유도된 인간 CSF-1R 리간드의 치료 또는 과발현 전에 정상 조직과 비교하고 치료 전 발현 수준과 비교하여 인간 CSF-1R 리간드(일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 CSF-1(서열번호 86) 및 인간 IL-34(서열번호 87)로부터 선택되고; 일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 CSF-1(서열번호 86)이고; 일 실시양태에서, CSF-1R 리간드는 인간 IL-34(서열번호 87)이다)의 과발현을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "증가하다" 또는 "초과"는 기준 샘플로부터의 CSF-1R 리간드 수준과 비교하여 본원에 기재된 방법에 의해 검출된 CSF-1R 리간드 수준에서 기준 수준을 초과하는 수준 또는 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% 또는 그 이상의 전체 증가를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 용어 "증가하다"는 CSF-1R 리간드 수준에서 증가를 지칭하고, 이때 상기 증가는 예컨대 기준 샘플로부터 미리 측정된 CSF-1R 리간드 수준과 비교하여 약 1.5, 1.75, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90 또는 100배 이상이다. 바람직한 일 실시양태에서, 용어 "증가된 수준"은 기준 수준에서의 값 또는 기준 수준을 초과하는 값에 관한 것이다.

[0136] 본원에 기재된 항체의 조합 요법은 CSF-1R 표적 요법을 필요로 하는 환자에게 이점을 나타낸다. 본 발명에 따른 특이적 항-CSF-1R 항체는 리간드-비의존 및 리간드-의존 증식에 대하여 효율적인 항-증식성 활성을 나타내고, 본원에 기재된 특이적 항-PD-L1 항체와 조합하여 암 및 전이의 치료 중에서 특히 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0137] 도 1a는 GM-CSF 또는 CSF-1(100 ng/mL 리간드)의 공배양물을 사용하여 대식세포 내로 분화된 인간 단핵구를 도시한다. 6일 분화 후 hMab 2F11-e7을 첨가하였다. 세포 생존력을 CTG 생존력 분석(세포역가글로(CellTiterGlo: 등록상표), 프로메가(Promega))에서 항체 처리 7일째 측정하였다. 세포 생존력(%)의 계산: 처리된 세포로부터의 RLU 신호/항체 없이 미처리된 대조군으로부터의 RLU 신호(n = 4).

도 1b는 7일 동안 GM-CSF(M1) 또는 M-CSF(M2)를 사용하여 대식세포 내로 분화된 인간 단핵구를 도시한다. 간접 형광 분석(항-CD163-PE, 항-CD80-PE로 염색하거나, 항-HLA-DR/DQ/DP-제논(Zenon)-알렉사(Alexa) 647로 표지됨)에 의해 분석된 표현형을 분석하였다. 각각의 히스토그램의 수는 평균 비 형광 강도(MRFI)에 상응하고; 선택된 항체(빈 히스토그램)로 염색된 세포의 평균 형광 강도(MFI)와 상응하는 이소타입 대조군(음성 대조군; 회색으로 채워진 히스토그램)의 평균 형광 강도(MFI) 사이의 비를 계산하였다(평균 ± SD; n ≥ 5).

도 2a 내지 2d는 항-CSF-1R 항체 hMab 2F11-e7의 상이한 투여량의 적용 후 시노몰구스 원숭이에서 CSF-1 수준을 도시한다.

도 3은 TAM의 존재하에, CD3 및 CD28의 활성화에 의해 유도된 T 세포 확대가 억제됨을 도시한다. TAM을 MC38

종양으로부터 단리하고 CD3/CD28 자극의 존재하에 CFSE-표지된 CD8+ T 세포로 나타낸 비로 공배양하였다. CFSE 적은 분할 세포의 비드 정량을 사용하여 3일 후 T 세포 증식을 분석하였다. 2가지 대표적인 실험 중 하나를 삼중 웰의 평균 ± SEM으로서 도시하였다.

도 4는 MC38 마우스 CRC 생체내 모델에서 <마우스 CSF-1R> 항체/<PD-L1> 항체 조합의 항-종양 효능을 도시한다(종양 부피 > 700 ㎣의 진행을 위한 카플란-마이어 플롯(Kaplan-Meier Plot)).

도 5는 피하 동계 CT26.WT 결장 암종 생체내 모델에서 <마우스 CSF-1R> 항체/<PD-L1> 항체 조합의 항-종양 효능을 도시한다(종양 부피 > 700 ㎣의 진행을 위한 카플란-마이어 플롯).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0138] 많은 종양은 대식세포를 포함하는 중요한 면역 세포 침윤을 특징으로 한다. 초기에, 면역 세포는 종양에 대한 방어 기작의 일부로 생각되었지만, 최근 데이타는 대식세포를 포함하는 여러 면역 세포 집단이 사실 종양 진행을 촉진할 수 있다는 점을 지지한다. 대식세포는 이의 가소성을 특징으로 한다. 사이토카인 미세환경에 따라, 대식세포는 이른바 M1 또는 M2-하위유형을 나타낼 수 있다. M2 대식세포는 종양 면역의 억제에 관여한다. 또한, 이들은 조직 회복 기능, 예컨대 종양에 의해 실행되어 성장을 지지하는 혈관형성 및 조직 리모델링에서 중요한 역할을 한다. 종양을 촉진하는 M2 대식세포와는 반대로, M1 대식세포는 염증성 사이토카인의 분비 및 항원 제시 및 식균작용에서 이의 관여를 통해 항종양 활성을 나타낸다(문헌[Mantovani, A. et al., Curr. Opin. Immunol. 2(2010) 231-237]).

[0139] 다양한 사이토카인, 예컨대 콜로니 자극 인자 1(CSF-1) 및 IL-10의 분비에 의해, 종양 세포는 M2-하위유형 내로 대식세포를 유도하고 성형할 수 있는 반면, 사이토카인, 예컨대 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), IFN-감마는 M1 하위유형 쪽으로 대식세포를 설정한다. 면역조직화학을 사용하여, M2 대식세포에 풍부한 것처럼 보이는 CD68 및 CD163을 공발현하는 대식세포 하위집단과 M1 대식세포를 포함하기 쉬운 CD68+/MHC II+, 또는 CD68+/CD80+ 면역표현형을 나타내는 하위설정 사이를 구별할 수 있다. CD68 및 CD163 양성 대식세포의 세포 형태, 크기 및 공간 분포는 예를 들어 종양 교차 기질에서 이들의 우선적인 위치 및 필수적인 종양 영역에 의해, M2 대식세포의 종양-촉진 역할에서 개시된 이론과 일치한다. 이에 반해, CD68+/MHC 유형 II+ 대식세포는 보편적으로 발견된다. 식균작용에서 이들의 이론적인 역할은 CD68+/MHC 유형 II+의 클러스터에 의해 반영되지만, CD163-면역표현형은 세포자멸성 세포 및 괴사성 종양 영역에 가깝다.

[0140] 상이한 대식세포 하위집단의 하위유형 및 표지자 발현은 이의 작용적인 상태와 연결된다. M2 대식세포는 하기에 의해 종양형성을 지지할 수 있다:

[0141] (a) 혈관형성 인자, 예컨대 VEGF 또는 bFGF의 분비를 통한 혈관형성의 강화;

[0142] (b) 매트릭스 멜라토프로테이나아제(MMP), 성장 인자 및 및 이동 인자의 분비를 통한 전이 형성의 지지, 종양 세포를 혈액 스트림으로 인도, 전이성 자리의 설정(문헌[Wyckoff, J. et al., Cancer Res. 67(2007) 2649-2656]);

[0143] (c) 면역억제 사이토카인, 예컨대 IL-4, IL-13, IL-1ra 및 IL-10의 분비에 의해 면역억제 환경을 만드는 역할을 하는 T 조절 세포 작용을 조절.

[0144] 역으로, CD4 양성 T 세포는 전임상 모델에서 대식세포를 촉진하는 종양의 활성을 강화시키는 것으로 나타났다(문헌[Mantovani, A. et al., Eur. J. Cancer 40(2004) 1660-1667]; 문헌[DeNardo, D. et al., Cancer Cell 16(2009) 91-102]).

[0145] 따라서, 여러 유형의 암(예컨대, 유방암, 난소암, 호지킨 림프종)에서 M2 하위유형 종양 관련된 대식세포(TAM)의 유병률은 불량한 예후와 관련되어 있다(문헌[Bgingle, L. et al., J. Pathol. 3(2002) 254-265]; 문헌[Orre, M., and Rogers, P.A., Gynecol. Oncol. 1(1999) 47-50]; 문헌[Steidl, C. et al., N. Engl. J. Med. 10(2010) 875-885]). 최근 데이타는 종양 및 종양 등급에서 CD163 양성 대식세포 침윤의 연관성을 나타낸다(문헌[Kawamura, K. et al., Pathol. Int. 59(2009) 300-305]). 환자 종양으로부터 단리된 TAM은 내성 표현형을 갖고 종양 세포에 대하여 세포독성이 없다(문헌[Mantovani, A. et al., Eur. J. Cancer 40(2004) 1660-1667]). 그러나, 세포독성 T 세포의 존재하에 TAM의 침윤은 비소세포 폐암에서 개선된 생존과 연관되고 이로 인해 이러한 종양 유형에서 더욱 현저한 M1 대식세포 침윤을 반영한다(문헌[Kawai, O. et al., Cancer 6(2008) 1387-1395]).

[0146] 최근에, 많은 수의 대식세포 및 CD4 양성 T 세포를 포함하지만, 적은 수의 세포독성 CD8 양성 T 세포를 포함하는 소위 면역 서명은 유방암 환자에서 감소된 전체 생존(OS)와 연관되고 비의존 예후 인자를 대표하는 것으로 보여졌다(문헌[DeNardo, D. et al., Cancer Discovery 1(2011) 54-67]).

[0147] M2 대식세포의 전-종양형성 작용의 구동시 CSF-1에 대한 역할과 일치하게, CSF-1 유전자의 일부 전좌로 인해 희귀 육종 또는 국부적으로 공격적인 연결 조직 종양, 예컨대 색소성 융모결절성 활막염(PVNS) 및 건활막 거대 세포 종양(TGCT)에서 높은 CSF-1 발현은, 대부분의 종양 매스를 형성하는 콜로니 자극 인자 1 수용체(CSF-1R)인 CSF-1을 발현하는 단핵구 및 대식세포의 축적을 야기한다(문헌[West, R.B. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 3(2006) 690-695]). 이러한 종양은 이후 유전자 발현 프로파일링에 의해 CSF-1 의존 대식세포 서명을 정의하기 위해 사용되었다. 유방암 및 평활근육종 환자 종양에서, 이 CSF-1 반응 유전자 서명은 불량한 예후를 예견한다(문헌[Espinosa, I. et al., Am. J. Pathol. 6(2009) 2347-2356]; 문헌[Beck, A. et al., Clin. Cancer Res. 3(2009) 778-787]).

[0148] CSF-1R은 수용체 티로신 키나아제의 유형 III 하위계열에 속하고 c-fms 원암 유전자에 의해 암호화된다. CSF-1 또는 IL-34의 결합은 수용체 이량체화를 유도한 후, 다운스트림 신호전달 캐스케이드(cascade)의 활성화 및 자가인산화를 유도한다. CSF-1R의 활성화는 단핵구 및 대식세포의 생존, 증식 및 분화를 조절한다(문헌[Xiong, Y. et al., J. Biol. Chem. 286(2011) 952-960]).

[0149] 단핵 계열 및 용골세포(이는 대식세포와 같이 동일한 조혈 전구체로부터 유도됨)의 세포 이외에, CSF-1R/c-fms는 또한 비록 대식세포에 비해 낮은 발현 수준일지라도 여러 인간 상피성 암, 예컨대 난소암 및 유방암, 및 평활근육종 및 TGCT/PVNS에 의해 발현됨이 발견되었다. CSF-1의 상승된 수준인 TGCT/PVNS와 같이, 난소암 환자의 혈청뿐만 아니라 복수에서 CSF-1에 대한 리간드는 불량한 예후와 관련되어 있다(문헌[Scholl, S. et al., Br. J. Cancer 62(1994) 342-346]; 문헌[Price, F. et al., Am. J. Obstet. Gynecol. 168(1993) 520-527]). 더욱이, 구성적으로 CSF-1R의 활성 돌연변이체 형태는 종양유전자의 특성 중 하나인 NIH3T3 세포를 변형시킬 수 있다(문헌[Chambers, S., Future Oncol 5(2009) 1429-1440]).

[0150] 전임상 모델은 종양학 표적으로서 CSF-1R의 생물학적 검증을 제공한다. CSF-1 뿐만 아니라 CSF-1R 활성의 차단은 TAM의 감소된 점증을 야기한다. 화학치료는 종양 세포에서 증가된 CSF-1 발현을 초래하여 강화된 TAM 점증을 야기한다. 파클리탁셀과 조합하여 CSF-1R의 차단은 CD8 양성 세포독성 T 세포의 활성화를 초래하여 자발적인 유전자이식 유방암 모델에서 감소된 종양 성장 및 전이 부담을 야기한다(문헌[DeNardo, D. et al., Cancer Discovery 1(2011) 54-67]).

[0151] 인간 CSF-1(CSF-1 수용체; 동의어 M-CSF 수용체; 대식세포 콜로니 자극 인자 1 수용체, Fms 원-종양형성 유전자, c-fms, 서열번호 22)은 1986년 이래로 공지되어 있다(문헌[Coussens, L., et al., Nature 320(1986) 277-280]). CSF-1R은 성장 인자이며 c-fms 원-종양형성 유전자에 의해 암호화된다(예를 들어, 문헌[Roth, P. and Stanley, E.R., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 181(1992) 141-167]에서 검토되었다).

[0152] CSF-1R은 CSF-1R 리간드 CSF-1(대식세포 콜로니 자극 인자, 또는 M-CSF라 지칭함)(서열번호 86) 및 IL-34(서열번호 87)에 대한 수용체이고, 이러한 사이토카인의 생물학적 효과를 매개한다(문헌[Sherr, C.J., et al., Cell 41(1985) 665-676]; 문헌[Lin, H., et al., Science 320(2008) 807-811]). 콜로니 자극 인자 1 수용체(또한 c-fms라 지칭함)의 클로닝은 문헌[Roussel, M.F., et al., Nature 325(1987) 549-552]에 최초로 기재되었다. 상기 문헌에서, CSF-1R은 Cb1에 결합하고 이에 의해 수용체 하향 조절을 조절하는 억제성 티로신 969 인산화의 상실을 비롯한 단백질의 C-말단 꼬리의 변화에 따른 형질전환 잠재력을 갖는 것으로 나타났다(문헌[Lee, P.S., et al., Embo J. 18(1999) 3616-3628]).

[0153] CSF-1R은 단일 쇄, 막관통 수용체 티로신 키나아제(RTK)이고 수용체의 세포외 도메인(ECD)에서 5개의 반복된 Ig-유사 하위도메인 D1 내지 D5인 RTK를 함유하는 면역글로불린(Ig) 모티프 계열의 일원이다(문헌[Wang, Z., et al Molecular and Cellular Biology 13(1993) 5348-5359]). 인간 CSF-1R 세포외 도메인(CSF-1R-ECd) (서열번호 64)은 5개 세포외 Ig-유사 하위도메인 D1 내지 D5를 모두 포함한다. 인간 CSF-1R 단편 delD4(서열번호 65)는 세포외 Ig-유사 하위도메인 D1 내지 D3 및 D5를 포함하지만, D4 하위도메인은 결실되어 있다. 인간 CSF-1R 단편 D1 내지 D3(서열번호 66)은 각각의 하위도메인 D1 내지 D3을 포함한다. 서열은 신호전달 펩티드 MGSGPGVLLL LLVATAWHGQ G(서열번호 67)없이 열거된다. 인간 CSF-1R 단편 D4 또는 D3(서열번호 85)은 각각의 하위도메인 D4 또는 D3을 포함한다.

[0154] 현재 CSF-1R의 세포외 도메인에 결합하는 2개의 CSF-1R 리간드가 공지되어 있다. 첫 번째 1개의 CSF-1R 리간드

는 CSF-1(콜로니 자극 인자 1, 또한 M-CSF로 명명됨, 대식세포; 인간 CSF-1, 서열번호 86)이고 이황화 연결된 동종이량체로서 세포외에서 발견된다(문헌[Stanley, E.R. et al., Journal of Cellular Biochemistry 21(1983) 151-159]; 문헌[Stanley, E.R. et al., Stem Cell 12 Suppl. 1(1995) 15-24]). 두번째 1개의 CSF-1R 리간드는 IL-34(인간 IL-34; 서열번호 87)이다(문헌[Hume, D. A., et al, Blood 119(2012) 1810-1820]). 따라서, 일 실시양태에서, 용어 "CSF-1R 리간드"는 인간 CSF-1(서열번호 86) 및/또는 인간 IL-34(서열번호 87)를 지칭한다.

[0155] 실험을 위해 종종 인간 CSF-1의 활성 149 아미노산(aa) 단편(서열번호 86의 아미노산 33 내지 181)이 사용된다. 인간 CSF-1의 활성 149 아미노산 단편(서열번호 86의 아미노산 33 내지 181)은 CSF-1의 3개의 주요 형태 모두를 함유하고 CSF-1R에 대한 결합을 매개하기에 충분하다(문헌[Hume, D. A., et al, Blood 119(2012) 1810-1820]).

[0156] CSF-1R 신호전달의 중요한 생물학적 효과는 대식세포 계열(용골세포 포함)로의 조혈 전구체 세포의 분화, 증식, 이동 및 생존이다. CSF-1R의 활성화는 이의 CSF-1R 리간드, CSF-1(M-CSF) 및 IL-34에 의해 매개된다. CSF-1R에 대한 CSF-1(M-CSF)의 결합은 티로신 인산화에 의해 동종이량체의 형성 및 키나아제의 활성화를 유도한다(문헌[Li, W. et al, EMBO Journal.10(1991) 277-288]; 문헌[Stanley, E.R., et al., Mol. Reprod. Dev. 46(1997) 4-10]).

[0157] 세포내 단백질 티로신 키나아제 도메인은 독특한 삽입 도메인에 의해 중단되며, 상기 삽입 도메인은 혈소판 유래된 성장 인자 수용체(PDGFR), 줄기 세포 성장 인자 수용체(c-키트) 및 지느러미-형 사이토카인 수용체(FLT3)를 포함하는 다른 관련된 RTK 부류 III 계열 구성원들 중에 또한 존재한다. 이러한 성장 인자 수용체 계열 가운데 구조적 상동성에도 불구하고, 이들은 독특한 조직-특이성 작용을 갖는다.

[0158] CSF-1R은 단핵구 계통의 세포 및 여성 생식관 및 태반 중에서 주로 발현된다. 또한, CSF-1R의 발현은 평활근 세포의 부분집합인 피부내 랑게르한스 세포(문헌[Inaba, T., et al., J. Biol. Chem. 267(1992) 5693-5699]), B 세포(문헌[Baker, A.H., et al., Oncogene 8(1993) 371-378]) 및 미세아교세포(문헌[Sawada, M., et al., Brain Res. 509(1990) 119-124])에서 보고되었다. 돌연변이체 인간 CSF-1R(서열번호 23)을 갖는 세포는 리간드 자극에 비의존적으로 증식하는 것으로 공지되어 있다.

[0159] 본원에 사용된 "인간 CSF-1R에 결합하는" 또는 "인간 CSF-1R에 특이적으로 결합하는", 또는 "인간 CSF-1R에 결합하는 것" 또는 "항-CSF-1R 항체"는 1.0 x 10^{-8} 몰/ℓ 이하의 KD 값의 결합 친화성, 일 실시양태에서 1.0 x 10^{-9} 몰/ℓ 이하의 KD 값의 결합 친화성을 갖는 인간 CSF-1R 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 결합 친화성은 표준 결합 분석, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 기법(비아코어(BIAcore: 등록상표), 지이 헬쓰케어(GE Healthcare), 스위덴 웁살라 소재)에 의해 측정된다. 따라서, 본원에 사용된 "인간 CSF-1R에 결합하는 항체"는 KD 1.0 x 10^{-8} 몰/ℓ 이하(일 실시양태에서 1.0 x 10^{-8} 몰/ℓ 내지 1.0 x 10^{-13} 몰/ℓ)의 결합 친화성, 일 실시양태에서 KD 1.0 x10^{-9} 몰/ℓ 이하(일 실시양태에서 1.0 x 10^{-9} 몰/ℓ 내지 1.0 x 10^{-13} 몰/ℓ)의 결합 친화성을 갖는 인간 CSF-1R 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다.

[0160] **PD-1/PD-L1/PD-L2 경로**

[0161] 중요한 음성 공자극 신호를 조절하는 T 세포 활성화는 예정된 사멸 1 수용체(PD-1)(CD279), 및 이의 리간드 결합 파트너 PD-L1(B7-H1, CD274; 서열번호 88) 및 PD-L2(B7-DC, CD273)에 의해 제공된다. PD-1의 음정 조절 역할은 자가면역 경향이 있는 PD-1 녹아웃(Pdcd1-/-)에 의해 입증되었다(문헌[Nishimura et al., Immunity 11: 141-51(1999); Nishimura et al., Science 291: 319-22(2001)]). PD-1은 CD28 및 CTLA-4와 관련되지만, 동종이량체화를 허용하는 막 근위 시스테인은 부족하다. PD-1의 세포질 도메인은 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM, V/IxYxxL/V)를 함유한다. PD-1은 오직 PD-L1 및 PD-L2에 결합한다(문헌[Freeman et al., J. Exp. Med. 192: 1-9(2000); Dong et al., Nature Med. 5: 1365-1369(1999); Latchman et al., Nature Immunol. 2: 261-268(2001); Tseng et al., J. Exp. Med. 193: 839-846(2001)]).

[0162] PD-1은 T 세포, B 세포, 자연 살해 T 세포, 활성화된 단핵구 및 수지상 세포(DC)에서 발현될 수 있다. PD-1은 활성화에 의해 발현되지만, 비자극된 인간 CD4+ 및 CD8+ T 세포, B 세포 및 골수성 세포에 의해 발현되지 않는다. 이는 CD28 및 CTLA-4의 더욱 제한된 발현에 대하여 나타낸다(문헌[Nishimura et al., Int. Immunol. 8: 773-80(1996); Boettler et al., J. Virol. 80: 3532-40(2006)]). (i) 엑손 2, (ii) 엑손 3, (iii) 엑손 2 및 3, 또는 (iv) 엑손 2 내지 4가 부족한 전사인자를 비롯한 활성화된 인간 T 세포로부터 클로닝된 PD-1의 4개 이상의 변이체가 존재한다(문헌[Nielsen et al., Cell. Immunol. 235: 109-16(2005)]). PD-1 Δex3을 제외하

고, 모든 변이체는 증식하지 않고 있는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서 전장 PD-1과 같은 유사한 수준에서 발현된다. 모든 변이체의 발현은 인간 T 세포와 항-CD3 및 항-CD28의 활성화시 유의미하게 유도된다. PD-1 Dex3 변이체는 막관통 도메인이 부족하고, 자가면역시 중요한 역할을 하는 용해성 CTLA-4와 유사하다(문헌[Ueda et al., Nature 423: 506-11(2003)]). 이 변이체는 류마티스 관절염을 갖은 환자의 활액 및 혈청에 풍부하다(문헌[Wan et al., J. Immunol. 177: 8844-50(2006)]).

[0163] 2개의 PD-1 리간드는 이의 발현 패턴에서 상이하다. PD-L1은 본질적으로 마우스 T 및 B 세포, CD, 대식세포, 간엽성 줄기 세포 및 골수 유도된 비만 세포에서 발현된다(문헌[Yamazaki et al., J. Immunol. 169: 5538-45(2002)]). PD-L1은 광범위한 비조혈 세포(예를 들면, 각막, 폐, 혈관 상피, 간 비실질성 세포, 간엽성 줄기 세포, 췌장 섬, 태반성 합포체영양세포, 각질 세포, 등)에서 발현되고(문헌[Keir et al., Annu. Rev. Immunol. 26: 677-704(2008)]), 활성화 후 다수의 세포 유형에서 상향조절된다. 유형 I 및 유형 II 인터페론(IFN)은 둘 다 PD-L1을 상향조절한다(문헌[Eppihimer et al., Microcirculation 9: 133-45(2002); Schreiner et al., J. Neuroimmunol. 155: 172-82(2004)]. 세포주에서 PD-L1 발현은, MyD88, TRAF6 및 MEK가 억제되는 경우 감소된다(문헌[Liu et al., Blood 110: 296-304(2007)]. JAK2는 또한 PD-L1 유도에 연루되어 있다(문헌[Lee et al., FEBS Lett. 580: 755-62(2006); Liu et al., Blood 110: 296-304(2007)]). 포스파티딜리노시톨 3-키나아제(PI3K) 및 Akt 신호를 변형시키는 세포의 포스파타아제인 포스파타아제 및 텐신 동족체(PTEN)의 손실 또는 억제는 암에서 전사후 PD-L1 발현을 증가시킨다(문헌[Parsa et al., Nat. Med. 13: 84-88(2007)]).

[0164] PD-L2 발현은 PD-L1보다 더 제한된다. PD-L2는 DC, 대식세포, 및 골수 유도된 비만 세포에서 유도적으로 발현된다. PD-L2는 또한 증식하지 않고 있는 복말 B1 세포의 약 ½ 내지 ⅔에서 발현되지만, 통상적인 B2 B 세포에서는 발현되지 않는다(문헌[Zhong et al., Eur. J. Immunol. 37: 2405-10(2007)]). PD-L2+ B1 세포는 포스파티딜콜린과 결합하고 세균 항원에 대한 선천적 면역 반응에 대하여 중요할 수 있다. IFN-γ에 의한 PD-L2의 유도는 부분적으로 NF-κB에 따른다(문헌[Liang et al., Eur. J. Immunol. 33: 2706-16(2003)]). PD-L2는 또한 GM-CF, IL-4 및 IFN-γ에 의해 단핵구 및 대식세포에서 유도될 수 있다(문헌[Yamazaki et al., J. Immunol. 169: 5538-45(2002); Loke et al., PNAS 100:5336-41(2003)]).

[0165] PD-1 신호는 전형적으로 세포 증식에서보다, IFN-γ, TNF-α 및 IL-2 생성시 유의미한 효과와 함께 사이토카인 생성시 더 큰 효과를 갖는다. PD-1 매개된 조절 신호는 또한 TCR 자극의 낮은 수준에서 전달된 더 큰 억제와 함께, TCR 신호의 강도에 의존한다. 이러한 감소는 CD28을 통한 공자극(문헌[Freeman et al., J. Exp. Med. 192: 1027-34(2000)]) 또는 IL-2의 존재(문헌[Carter et al., Eur. J. Immunol. 32: 634-43(2002)])에 의해 극복될 수 있다.

[0166] 신호가 PD-L1 및 PD-L2를 통해 양방향성일 수 있다는 증거가 증가하고 있다. 즉, TCR 또는 BCR 신호를 변형시키는 것 이외에, 신호는 또한 PD-L1 및 PD-L2를 발현하는 세포로 다시 전달될 수 있다. 수지상 세포를 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 갖는 환자로부터 단리된 천연 인간 항-PD-L2 항체로 처리하여 MHC II 또는 B7 공자극적인 분자를 상향조절함을 발견할 수 없지만, 상기 세포는 많은 양의 전염증성 사이토카인, 특히 TNF-α 및 IL-6을 생성하고, T 세포 증식을 자극하였다(문헌[Nguyen et al., J. Exp. Med. 196: 1393-98(2002)]). 마우스를 이 항체로 처리하는 것은 또한 (1) 이식된 b16 멜라노마 및 빠르게 유도된 종양 특이적 CTL에 대한 내성을 강화하고(문헌[Radhakrishnan et al., J. Immunol. 170: 1830-38(2003); Radhakrishnan et al., Cancer Res. 64: 4965-72(2004); Heckman et al., Eur. J. Immunol. 37: 1827-35(2007)]); (2) 알레르기성 천식 마우스 모델에서 기도 염증성 질병의 발달을 차단한다(문헌[Radhakrishnan et al., J. Immunol. 173: 1360-65(2004); Radhakrishnan et al., J. Allergy Clin. Immunol. 116: 668-74(2005)]).

[0167] 수지상 세포(DC)로의 역 신호의 추가 증거는 용해성 PD-1(Ig 불변 영역에 융합된 PD-1 EC 도메인: sPD-1)로 배양된 골수 유도된 DC의 연구로부터 기인한다(문헌[Kuipers et al., Eur. J. Immunol. 36: 2472-82(2006)]). 이 sPD-1은 항-PD-1의 투여를 통해 가역적인 방식으로 DC 활성화를 억제하고 IL-10 생성을 증가시킨다.

[0168] 추가적으로, 여러 연구는 PD-1과는 관계없이 PD-L1 또는 PD-L2에 대한 수용체를 보여준다. B7.1은 이미 PD-L1에 대한 결합 파트너로서 입증되었다(문헌[Butte et al., Immunity 27: 111-22(2007)]). 화학적 교차연결 연구는 PD-L1 및 B7.1이 이의 IgV-유사 도메인을 통해 상호작용할 수 있음을 제안하였다. B7.1:PD-L1 상호작용은 억제 신호를 T 세포로 유도할 수 있다. CD4+ T 세포에서 B7.1에 의한 PD-L1의 결찰(ligation) 또는 CD4+ T 세포에서 PD-L1에 의한 B7.1의 결찰은 억제 신호를 전달한다. CD28 및 CTLA-4가 부족한 T 세포는 항-CD3 + B7.1이 코팅된 비드에 의해 자극되는 경우 감소된 증식 및 사이토카인 생성을 보여준다. B7.1에 대한 모든 수용체(즉, CD28, CTLA-4 및 PD-L1)가 부족한 T 세포에서, T 세포 증식 및 사이토카인 생성은 항-CD3 + B7.1 코

팅된 비드에 의해 더이상 억제되지 않았다. 이는 B7.1이 CD28 및 CTLA-4의 부재하에 T 세포에서 PD-L1을 통해 특이적으로 작용함을 나타낸다. 유사하게, PD-1이 부족한 T 세포는 항-CD3 + PD-L1 코팅된 비드의 존재하에 자극되는 경우 감소된 증식 및 사이토카인 생성을 보였고, 이는 T 세포 중에서 B7.1에서 PD-L1 결찰의 억제 효과를 입증한다. T 세포가 PD-L1에 대한 모든 공지된 수용체가 부족한(즉, PD-1 및 B7.1이 없는) 경우, T 세포 증식은 항-CD3 + PD-L1 코팅된 비드에 의해 더이상 손상되지 않았다. 따라서, PD-L1은 B7.1 또는 PD-1을 통해 T 세포에서 억제 효과를 발휘할 수 있다.

[0169] B7.1과 PD-L1 사이의 직접 상호작용은 공자극의 현재 이해가 불완전함을 제안하고, T 세포에서 이러한 분자의 발현에 대한 중요성을 강조한다. PD-L1-/- T 세포의 연구는 T 세포에서 PD-L1이 T 세포 사이토카인 생성을 하향조절할 수 있음을 보여준다(문헌[Latchman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 10691-96(2004)]). PD-L1 및 B7.1이 둘다 T 세포, B 세포, DC 및 대식세포에서 발현되므로, 이러한 세포 유형에서 B7.1과 PD-L1 사이에 지향성 상호작용이 가능하다. 추가적으로, 비조혈 세포에서 PD-L1은 T 세포에서 B7.1뿐만 아니라 PD-1과 상호작용할 수 있고, PD-L1이 이의 조절에 관여되는지 여부의 문제를 제기한다. B7.1:PD-L1 상호작용의 억제 효과에 대한 한가지 가능한 설명은 T 세포 PD-L1이 CD28과의 상호작용으로부터 APC B7.1을 끌어들이거나 분리시킬 수 있다는 것이다.

[0170] 결과적으로, PD-L1을 통한 신호의 길항작용은, 예컨대 PD-1, B7.1 또는 둘다와의 상호작용으로부터 Pd-L1을 차단하고, 이로 인해 음성 공자극 신호를 T 세포에 전하는 것으로부터 PD-L1을 막고, 다른 항원 제시 세포는 감염(예를 들면, 급성 및 만성) 및 종양 면역에 대한 면역성을 강화할 것이다. 또한, 본 발명의 항-PD-L1 항체는 PD-1:PD-L1 신호의 다른 성분의 길항제, 예를 들면, 길항제 항-PD-1 및 항-PD-L2 항체와 조합될 수 있다.

[0171] 용어 "인간 PD-L1"은 인간 단백질 PD-L1(서열번호 88, 전형적으로 PD-1 신호)을 지칭한다. 본원에 사용된 "인간 PD-L1에 결합하는", "인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는", "인간 PD-L1에 결합하는 것" 또는 "항-PD-L1 항체"는 1.0×10^{-8} 몰/ℓ 이하의 KD 값의 결합 친화성, 일 실시양태에서 1.0×10^{-9} 몰/ℓ 이하의 KD 값의 결합 친화성을 갖는 인간 PD-L1 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 결합 친화성은 표준 결합 분석, 예컨대, 표면 플라즈몬 공명 기법(비아코어(등록상표), 지이 헬쓰케어, 스웨덴 웁살라 소재)으로 측정된다. 따라서, 본원에 사용된 "인간 PD-L1에 결합하는 항체"는 KD 1.0×10^{-8} 몰/ℓ 이하(일 실시양태에서, 1.0×10^{-8} 몰/ℓ 내지 1.0×10^{-13} 몰/ℓ), 일 실시양태에서 KD 1.0×10^{-9} 몰/ℓ 이하(일 실시양태에서, 1.0×10^{-9} 몰/ℓ 내지 1.0×10^{-13} 몰/ℓ)의 결합 친화성을 갖는 인간 PD-L1 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다.

[0172] 일 실시양태에서, 본원에 기재된 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 hMab 2F11-c11, hMab 2F11-d8, hMab 2F11-e7, hMab 2F11-f12, 및 hMab 2F11-g1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0173] 이러한 항체는 WO 2011/070024에 기재되어 있고 본원에 기재된 하기 표 1의 VH 및 VL 서열을 포함한다.

표 1

[0174]

항-CSF-1R 항체	중쇄 가변 도메인 VH의 아미노산 서열, 서열번호	경쇄 가변 도메인 VL의 아미노산 서열, 서열번호
hMab 2F11-c11	23	24
hMab 2F11-d8	31	32
hMab 2F11-e7	39	40
hMab 2F11-f12	47	48
hMab 2F11-g1	55	56

[0175] 일 실시양태에서 본원에 기재된 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0176] 243.55.S70, 243.55.H1, 243.55.H12, 243.55.H37, 243.55.H70, 243.55.H89, 243.55.S1, 243.55.5, 243.55.8, 243.55.30, 243.55.34, 243.55.S37, 243.55.49, 243.55.51, 243.55.62, 및 243.55.84.

[0177] 이러한 항체는 WO 2010/77634(서열은 WO 2010/77634의 도 11에 제시된다)에 기재되어 있고 본원에 기재된 바와 같이 하기 표 2의 VH 및 VL 서열을 포함한다.

표 2

[0178]

항-PD-L1 항체	중쇄 가변 도메인 VH의 아미노산 서열, 서열번호	경쇄 가변 도메인 VL의 아미노산 서열, 서열번호
243.55.S70	89	92
243.55.H1	90	93
243.55.H12	90	94
243.55.H37	90	95
243.55.H70	90	96
243.55.H89	90	97
243.55.S1	90	98
243.55.5	90	99
243.55.8	90	100
243.55.30	90	101
243.55.34	90	102
243.55.S37	90	103
243.55.49	90	104
243.55.51	90	105
243.55.62	90	106
243.55.84	91	107

[0179] 본 발명의 일 실시양태에서, 본원에 기재된 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인 포함하고:

[0180] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0181] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0182] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0183] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0184] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0185] 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0186] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0187] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0188] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0189] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0190] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0191] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0192] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0193] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0194] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0195] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0196] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0197] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0198] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0199] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0200] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0201] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0202] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0203] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0204] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0205] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0206] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0207] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0208] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0209] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0210] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0211] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0212] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0213] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0214] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0215] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0216] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0217] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0218] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0219] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0220] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0221] 일 실시양태에서, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0222] 본 발명의 일 바람직한 실시양태에서, 본원에 기재된 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 서

열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함하고, 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0223] 용어 "에피토프"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 인간 CSF-1R EH는 PD-L1의 단백질 결정 인자를 나타낸다. 에피토프는 통상적으로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자들의 화학적으로 활성인 표면 기로 이루어지며, 통상적으로 에피토프는 특정한 3차원 구조뿐만 아니라 특정한 전하 특징을 갖는다. 형태상 및 비형태상 에피토프는 상기 형태상 에피토프에 대한 결합이 변성 용매의 존재 하에서 상실되지만 상기 비형태상 에피토프는 그렇지 않다는 점에서 구별된다.

[0224] 본원에 사용된 "가변 도메인"(경쇄 가변 도메인(VL), 중쇄 가변 도메인(VH))은 항원에 대한 항체의 결합에 직접 관련되는 경쇄 및 중쇄 도메인 각각의 쌍을 나타낸다. 가변 경쇄 및 중쇄 도메인은 동일한 일반 구조를 가지며 각각의 도메인은, 서열들이 광범위하게 보존되고 3개의 "초가변 영역"(또는 상보성 결정 영역, CDR)에 의해 연결되는 4개의 골격(FR) 영역을 포함한다. 골격 영역은 β-시트 형태를 채용하며 CDR은 β-시트 구조를 연결하는 루프를 형성할 수 있다. 각 쇄 중에서 CDR은 골격 영역에 의해 그의 3차원 구조를 유지하며 다른 쇄로부터의 CDR과 함께 항원 결합 부위를 형성한다. 항체의 중쇄 및 경쇄 CDR3 영역은 본 발명에 따른 항체의 결합 특이성/친화성에 특히 중요한 역할을 하며, 따라서 본 발명의 추가 목적을 제공한다.

[0225] "항체의 항원 결합 부분"이란 용어는 본 발명에 사용되는 경우 항원 결합을 맡고 있는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 항체의 항원 결합 부분은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 잔기를 포함한다. "골격" 또는 "FR" 영역은 본 발명에서 정의한 바와 같은 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 영역들이다. 따라서, 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 도메인이 N-말단에서부터 C-말단까지 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 특히, 상기 중쇄의 CDR3은 항원 결합에 가장 기여하는 영역이며 항체의 특성을 정의한다. CDR 및 FR 영역은 문헌[Kabat, et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD(1991)]의 표준 정의 및/또는 "초가변 루프"로부터의 잔기들에 따라 결정된다.

[0226] 본원에 사용된 용어 "핵산" 또는 "핵산 분자"는 DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하도록 의도된다. 핵산 분자는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있으나, 바람직하게는 이중 가닥 DNA이다.

[0227] 본원에 사용된 용어 "아미노산"은 알라닌(3 글자 코드: ala, 한 글자 코드: A), 아르기닌(arg, R), 아스파라긴(asn, N), 아스파르트산(asp, D), 시스테인(cys, C), 글루타민(gln, Q), 글루탐산(glu, E), 글리신(gly, G), 히스티딘(his, H), 이소류신(ile, I), 류신(leu, L), 리신(lys, K), 메티오닌(met, M), 페닐알라닌(phe, F), 프롤린(pro, P), 세린(ser, S), 쓰레오닌(thr, T), 트립토판(trp, W), 티로신(tyr, Y) 및 발린(val, V)을 포함하는 천연 카복시 α-아미노산의 군을 나타낸다.

[0228] 항체의 "Fc 부분"은 항원에 대한 항체의 결합에 직접 관련되지 않지만, 다양한 효과기 기능을 나타낸다. "항체의 Fc 부분"은 당업자에게 널리 공지된 용어이며 항체의 파파인 절단을 기초로 하여 정의된다. 중쇄의 불변 영역의 아미노산 서열에 따라, 항체 또는 면역글로불린을 소정 부류들(IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM)로 분류하며, 이들 중 여러 개를 하위부류들(이소타입), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가 분류할 수도 있다. 중쇄 불변 영역에 따라, 면역글로불린의 상이한 부류를 각각 α, δ, ε, γ 및 μ라 지칭한다. 항체의 Fc 부분은 보체 활성화, C1q 결합 및 Fc 수용체 결합에 근거하여 ADCC(항체-의존성 세포-매개된 세포독성) 및 CDC(보체-의존성 세포독성)에 직접 관여한다. 보체 활성화(CDC)는 대부분의 IgG 항체 하위부류의 Fc 부분에 대한 보체 인자 C1q의 결합에 의해 개시된다. 보체 시스템에 대한 항체의 영향이 특정 조건들에 의존하는 반면, C1q에 대한 결합은 Fc 부분 중의 한정된 결합 부위들에 의해 유발된다. 이러한 결합 영역들은 당해 분야에 공지되어 있으며 문헌[Boackle, R.J., et al., Nature 282(1979) 742-743]; 문헌[Lukas, T.J., et al., J. Immunol. 127(1981) 2555-2560]; 문헌[Brunhouse, R., and Cenbra, J.J., Mol. Immunol. 16(1979) 907-917]; 문헌[Burton et al., Nature 288(1980) 338-344]; 문헌[Thommesen, J.E., et al., Mol. Immunol. 37(2000) 995-1004]; 문헌[Idusogie, E.E., et al., J. Immunol.164(2000) 4178-4184]; 문헌[Hezareh, M., et al., J. Virology 75(2001) 12161-12168]; 문헌[Morgan, A., et al., Immunology 86(1995) 319-324]; EP 0 307 434에 개시되어 있다. 상기 결합 부위는 예를 들어 L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 및 P329(넘버링은 카밧 이에이(Kabat, E.A.)(하기 참조)의 EU 인덱스에 따른다)이다. 하위부류 IgG1, IgG2 및 IgG3의 항체는 일반적으로 보체 활성화, 및 C1q 및 C3 결합을 나타내는 반면, IgG4는 보체 시스템을 활성화하지 않고 C1q 및 C3에 결합하지 않는다.

[0229] 일 실시양태에서 본 발명에 따른 항체는 인간 기원으로부터 유래된 Fc 부분 및 바람직하게는 인간 불변 영역의 다른 모든 부분을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "인간 기원으로부터 유래된 Fc 부분"은 하위부류 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4의 인간 항체의 Fc 부분, 바람직하게는 인간 IgG1 하위부류의 Fc 부분, 인간 IgG1 하위부류로부터의 돌연변이된 Fc 부분(일 실시양태에서 L234A + L235A에서 돌연변이됨), 인간 IgG4 하위부류로부터의 Fc 부분이거나 인간 IgG4 하위부류로부터의 돌연변이된 Fc 부분(일 실시양태에서 S228P에서 돌연변이됨)인 Fc 부분을 나타낸다. 일 바람직한 실시양태에서 인간 중쇄 불변 영역은 서열번호 58(인간 IgG1 하위부류)이고, 또 다른 바람직한 실시양태에서 인간 중쇄 불변 영역은 서열번호 59(L234A 및 L235A 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 하위부류)이고, 또 다른 바람직한 실시양태에서 인간 중쇄 불변 영역은 서열번호 60(인간 IgG4 하위부류)이고, 또 다른 바람직한 실시양태에서 인간 중쇄 불변 영역은 서열번호 61(S228P 돌연변이를 갖는 인간 IgG4 하위부류)이다. 일 실시양태에서, 상기 항체는 감소된 또는 최소 효과기 기능을 갖는다. 일 실시양태에서, 최소 효과기 기능은 효과기가 없는 Fc 돌연변이로부터 생성된다. 일 실시양태에서, 효과기가 없는 Fc 돌연변이는 L234A/L235A, L234A/L235A/P329G, N297A, 또는 D265A/N297A이다. 일 실시양태에서, 효과기가 없는 Fc 돌연변이는 L234A/L235A, L234A/L235A/P329G, N297A, 및 D265A/N297A를 포함하는(로 이루어지는) 군으로부터 서로 독립적인 각각의 항체에 대하여 선택된다.

[0230] 일 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 IgG 유형(즉, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 하위유형)의 항체이다.

[0231] 일 바람직한 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 IgG1 하위유형의 항체 또는 인간 IgG4 하위유형의 항체이다. 일 바람직한 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 IgG1 하위유형의 항체이다. 일 바람직한 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 IgG4 하위유형의 항체이다.

[0232] 일 실시양태에서, 본 발명에 기재된 항체는 불변 쇄가 인간 기원의 것이다. 상기 불변 쇄는 당해 분야에 널리 공지되어 있으며 예를 들어 카밧 이에이에 의해 개시되어 있다(예를 들어, 문헌[Johnson, G. and Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28(2000) 214-218] 참조). 예를 들어, 유용한 인간 중쇄 불변 영역은 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 유용한 인간 경쇄 불변 영역은 서열번호 57의 카파-경쇄 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다.

[0233] 본 발명은 본 발명에 따른 항체를 치료 효과량으로 환자에게 투여함으로써, 치료를 필요로 하는 환자의 치료 방법을 포함한다.

[0234] 본 발명은 기재된 치료를 위해 본 발명에 따른 항체의 용도를 포함한다.

[0235] 본 발명의 일 바람직한 실시양태는 "CSF-1R 매개된 질병"의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 CSF-1R 항체 또는 "CSF-1R 매개된 질병"의 치료용 약제의 제조에 사용하기 위한 본 발명의 CSF-1R 항체이며, 이는 하기와 같이 개시될 수 있다:

[0236] CSF-1R 신호전달이 종양 성장 및 전이에 관여하는 듯한 3개의 독특한 기전들이 존재한다. 첫 번째는 CSF-리간드 및 수용체의 발현이 여성 생식계(유방, 난소, 자궁내막, 경부)에서 기원하는 종양 세포에서 발견되었고(문헌[Scholl, S.M., et al., J. Natl. Cancer Inst. 86(1994) 120-126]; 문헌[Kacinski, B.M., Mol. Reprod. Dev. 46(1997) 71-74]; 문헌[Ngan, H.Y., et al., Eur. J. Cancer 35(1999) 1546-1550]; 문헌[Kirma, N., et al., Cancer Res 67(2007) 1918-1926]), 상기 발현이 유방암 이종이식편 성장뿐만 아니라 유방암 환자에서 불량한 예후와 관련되어 있다. 2개의 점 돌연변이는 한 연구에서 시험된 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 골수이형성 환자의 약 10 내지 20%에서 CSF-1R 중에 발견되었고, 상기 돌연변이 중 하나는 수용체 턴오버를 붕괴시키는 것으로 밝혀졌다(문헌[Ridge, S.A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 87(1990) 1377-1380]). 그러나, 돌연변이의 발생률은 나중의 연구들에서 입증될 수 없었다(문헌[Abu-Duhier, F.M., et al., Br. J. Haematol. 120(2003) 464-470]). 돌연변이는 또한 간세포암(문헌[Yang, D.H., et al., Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int. 3(2004) 86-89]) 및 특발성 골수 섬유증(문헌[Abu-Duhier, F.M., et al., Br. J. Haematol. 120(2003) 464-470])의 일부 사례에서 발견되었다. 최근에, 골수성단일아세포 백혈병을 앓는 환자로부터 유도된 CDM-1 세포주에서 CSF-1R 중에 Y571D 돌연변이를 확인하였다(문헌[Chase, A., et al., Leukemia 23(2009) 358-364]).

[0237] 색소성 융모결절성 활막염(PVNS) 및 건초 거대 세포 종양(TGCT)은 M-CSF 유전자가 콜라겐 유전자 COL6A3에 융합하여 M-CSF의 과발현을 생성시키는 전좌의 결과로서 발생할 수 있다(문헌[West, R.B., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(2006) 690-695]). 조망(landscape) 효과는 M-CSF를 발현하는 세포들에 의해 유인된 단핵구 세포들로 이루어진 생성된 종양 덩어리들에 기여하는 것으로 제안된다. TGCT는 상기 종양이 주로 발생하는

손가락으로부터 비교적 쉽게 제거될 수 있는 보다 작은 종양이다. PVNS는 큰 관절에서 재발할 수 있고 수술에 의해서 쉽게 제어되지 않으므로 보다 공격적이다.

[0238] 두 번째 기전은 파골세포 발생, 골 재흡수 및 골용해성 골 병변을 유도하는 골의 전이 부위에서 M-CSF/CSF-1R을 통한 신호전달의 차단에 기초한다. 유방암, 다발성 골수종 및 폐암은 상기 골로 전이되고 골격 합병증을 생성시키는 골용해성 골 질병을 유발하는 것으로 밝혀진 암의 예이다. 종양 세포 및 간질에 의해 방출되는 M-CSF는 핵 인자 카파-B 리간드-RANKL의 수용체 활성체와 협력하여 조혈 골수성 단핵구 선조의 성숙한 파골세포로의 분화를 유도한다. 이 과정 동안, M-CSF는 파골세포에 생존 신호를 제공함으로써 허용 인자로서 작용한다(문헌[Tanaka, S., et al., J. Clin. Invest. 91(1993) 257-263]). 파골세포 분화 및 성숙 동안 항-CSF-1R 항체에 의한 CSF-1R 활성의 억제는 골용해성 질병 및 전이성 질병에서의 결합된 골격 관련 사건을 유발하는 파골세포의 불균형한 활성을 예방하는 듯하다. 유방암, 폐암 및 다발성 골수종은 전형적으로 골용해성 병변을 생성시키는 반면, 전립선암에서 골로의 전이는 처음에, 증가된 골 형성 활성이 정상적인 골의 전형적인 라멜라 구조와 상이한 "직골(woven bone)"을 생성시키는 조골성 외관을 갖는다. 질병이 진행 동안 골 병변은 현저한 골용해성 성분뿐만 아니라 높은 혈청 수준의 골 재흡수를 나타내고 이는 재흡수 억제 치료가 유용할 수 있음을 암시한다. 비스포스포네이트는 골용해성 병변의 형성을 억제하는 것으로 나타났으며 호르몬-난치성 전이성 전립선암이 있는 남성에게서만 골격-관련된 사건의 수를 감소시켰으나, 이 시점에서 조골성 병변에 대한 효과는 논쟁의 대상이 되고 있으며 지금까지로는 비스포스포네이트가 골 전이 또는 호르몬 반응성 전립선암의 예방에 유리하지 않았다. 복합된 골용해성/조골성 전립선암에 있어서 재흡수 억제제의 효과는 여전히 임상에서 연구 중에 있다(문헌[Choueiri, M.B., et al., Cancer Metastasis Rev. 25(2006) 601-609]; 문헌[Vessella, R.L. and Corey, E., Clin. Cancer Res. 12(20 Pt 2) (2006) 6285s-6290s]).

[0239] 세 번째 기전은 종양 결합된 대식세포(TAM)가 불량한 예후와 관련있는 유방, 전립선, 난소 및 경부 암의 고형 종양에서 발견된다는 최근의 관찰을 기본으로 한다(문헌[Bingle, L., et al., J. Pathol. 196(2002) 254-265]; 문헌[Pollard, J.W., Nat. Rev. Cancer 4(2004) 71-78]). 대식세포는 M-CSF 및 다른 케모카인에 의해 종양으로 점증된다. 이어서, 대식세포는 혈관형성 인자, 프로테아제 및 다른 성장 인자 및 사이토카인의 분비를 통해 종양 진행에 기여할 수 있으며 CSF-1R 신호전달의 억제에 의해 차단될 수도 있다. 최근에 진(Zins) 등에 의해 종양 괴사 인자 알파(TNF-α), M-CSF 또는 이 둘의 조합의 siRNA의 발현이 마우스 이종이식편 모델에서 종양 성장을 각각의 siRNA의 종양 내 주사 후 34% 내지 50% 감소시킴이 입증되었다(문헌[Zins et al., Cancer Res. 67(2007) 1038-1045]). 인간 SW620 세포에 의해 분비된 TNF-α를 표적화하는 siRNA는 마우스 M-CSF 수준을 감소시키고 종양 중 대식세포의 감소를 이끌어냈다. 또한, M-CSF에 대한 항원 결합 단편에 의한 MCF7 종양 이종이식편의 치료는 40% 종양 성장 억제를 야기하였고, 화학치료제에 대한 내성을 역전시켰으며, 화학치료제와 조합하여 제공되는 경우 상기 마우스의 생존을 개선시켰다(문헌[Paulus, P., et al., Cancer Res. 66(2006) 4349-4356]).

[0240] TAM은 만성 염증과 암 사이에 최근에 만들어진 연계의 유일한 예이다. 다수의 만성 질병들이 암의 증가된 위험성과 관련 있고, 암이 만성 염증 부위에서 발생하며, 염증의 화학적 매개물질들이 많은 암에서 발견되고; 염증의 세포 또는 화학적 매개물질의 결실이 실험상 암의 발달을 억제하며 소염제의 장기적인 사용이 일부 암의 위험성을 감소시키는 것과 같은 염증과 암 사이의 연계에 대한 추가적인 증거가 존재한다. 암에 대한 연계는 다수의 염증 상태에 대해 존재한다, 즉 위암의 경우 헬리코박터 파이로리(*Helicobacter pylori*)로 유발된 위염, 방광암의 경우 주혈흡충증, 카포시 육종의 경우 HHVX, 난소암의 경우 자궁내막증 및 전립선암의 경우 전립선염(문헌[Balkwill, F., et al., Cancer Cell 7(2005) 211-217])이다. 대식세포는 만성 염증에서 핵심 세포이며 미세환경에 차별적으로 반응한다. 작용 상태의 연속성에 있어서 극단으로 간주되는 2가지 유형의 대식세포가 존재한다, 즉 M1 대식세포는 유형 1 반응에 관련된다. 이러한 반응은 미생물 생성물에 의한 활성화 및 반응성 산소 중간체를 생성시키는 병원성 미생물의 결과적인 살해를 포함한다. 극단의 다른 끝은 세포 증식을 촉진하고 염증 및 적응 면역을 조율하며 조직 리모델링, 혈관형성 및 보수를 촉진하는 유형 2 반응에 관련된 M2 대식세포이다(문헌[Mantovani, A., et al., Trends Immunol. 25(2004) 677-686]). 확립된 종양 형성을 야기하는 만성 염증은 대개 M2 대식세포와 관련이 있다. 염증 반응을 매개하는 중추적인 사이토카인은 TNF-α이며 그 이름에 충실하게 고 용량에서 종양 억제 면역 및 출혈성 괴사를 자극할 수 있으나 또한 최근에 종양 세포에 의해 발현되고 종양 촉진제로서 작용하는 것으로 밝혀졌다(문헌[Zins, K., et al., Cancer Res. 67(2007) 1038-1045]; 문헌[Balkwill, F., Cancer Metastasis Rev. 25(2006) 409-416]). 작용에 대한 잠재적인 공간적, 시간적 의존성 및 특정 종양 유형에 대한 관련성을 포함하여 상기 종양에 대한 대식세포의 구체적인 역할은 여전히 더 잘 이해되어야 할 필요가 있다.

[0241] 따라서, 본 발명의 일 실시양태는 본원에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체와 조합하여 암의 치료에 사용하기 위해 본원에 기재된 CSF-1R 항체이다. 본원에 사용된 용어 "암"은 예를 들어 폐암, 비 소세포 폐암(NSCL), 기관지폐포 세포 폐암, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안구 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문 부위 암, 위암, 위장암, 결장암, 유방암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 고환암, 전립선암, 방광암, 신장암 또는 수뇨관암, 신세포 암종, 신우 암종, 중피종, 간세포암, 담즙암, 중추 신경계(CNS)의 종양, 척추 종양, 뇌간 교세포종, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 시반종, 상의세포종, 수모세포종, 뇌수막종, 편평세포 암종, 뇌하수체 선종, 림프종, 림프구성 백혈병, 예컨대, 상기 암들 중 임의의 암의 난치성 버전들, 또는 상기 암들 중 하나 이상의 조합일 수 있다. 일 바람직한 실시양태에서, 상기 암은 유방암, 결장직장암, 흑색종, 두경부암, 폐암 또는 전립선암이다. 일 바람직한 실시양태에서, 상기 암은 유방암, 난소암, 자궁경부암, 폐암 또는 전립선암이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 상기 암은 유방암, 폐암, 결장암, 난소암, 흑색종암, 방광암, 신장암, 간암, 두경부암, 결장직장암, 췌장암, 위암종, 식도암, 중피종, 전립선암, 백혈병, 림프종, 골수종이다. 일 바람직한 실시양태에서, 상기 암은CSF-1 또는 CSF-1R 발현 또는 과발현을 추가하는 것이다. 본 발명의 일 추가 실시양태는 원발성 종양 및 신생 전이의 동시 치료에 사용하기 위한 본 발명의 CSF-1R 항체이다. 따라서, 본 발명의 또 다른 실시양태는 치주염, 조직구 증식증 X, 골다공증, 뼈의 파제트병(PDB), 암 치료로 인한 골 손실, 삽입물 주위 골용해, 글루코코르티코이드 유래된 골다공증, 류마티스 관절염, 건선 관절염, 골관절염, 염증성 관절염 및 염증의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 CSF-1R 항체이다.

[0242] 문헌[Rabello, D., et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 347(2006) 791-796]은 CSF-1 유전자 중의 SNP가 공격성 치주염, 즉 치조골의 재흡수로 인한 치아 손실을 유발하는 치주 조직의 염증 질병과 양성적인 관련을 나타냄을 입증하였다.

[0243] 조직구 증식증 X(또한 랑게르한스 세포 조직구 증식증, LCH라 지칭함)는 뼈 및 여분의 골 LCH 병변에서 파골세포로 분화하는 것으로 보이는 랑게르한스 수지상 세포의 증식성 질병이다. 랑게르한스 세포는 순환하는 단핵구로부터 유래한다. 혈청 및 병변에서 측정된 M-CSF의 증가된 수준은 질병 증증도와 상관있는 것으로 밝혀졌다(문헌[da Costa, C.E., et al., J. Exp. Med. 201(2005) 687-693]). 질병은 주로 소아과 환자 집단에서 발생하며 상기 질병이 전신적으로 되거나 재발하는 경우에 화학요법으로 치료되어야 한다.

[0244] 골다공증의 병리생리학은 골 형성 조골세포의 상실 및 증가된 파골세포 의존성 골 재흡수에 의해 매개된다. 지지 데이터는 항-M-CSF 항체 주사가 골 밀도를 보존하고 난소절제된 마우스에서 골 재흡수를 억제함을 보인 센치(Cenci) 등에 의해 개시되었다(문헌[Cenci, S., et al., J. Clin. Invest. 105(2000) 1279-1287]). 최근에 에스트로젠 결핍으로 인한 폐경 후 골 손실 간의 잠재적인 연계가 확인되었으며 TNF-α 생산 T 세포의 존재가 골 대사에 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다(문헌[Roggia, C., et al., Minerva Med. 95(2004) 125-132]). 가능한 기전은 생체 내에서 TNF-α에 의한 M-CSF의 유도일 수 있다. TNF-α 유래된 파골세포 형성에 있어서 M-CSF의 중요한 역할이, 마우스에서 TNF-α 유래된 골용해를 차단하고 이에 의해 염증성 관절염에 대한 CSF-1R 신호전달 잠재성 표적의 억제제를 만드는 M-CSF에 대한 항체의 효과에 의해 확인되었다(문헌[Kitaura, H., et al., J. Clin. Invest. 115(2005) 3418-3427]).

[0245] 뼈의 파제트병(PDB)은 증가된 골 턴오버의 집중 이상이 골 통증, 기형, 병적인 골절 및 난청과 같은 합병증에 이르게 하는, 골다공증 후 두 번째로 가장 통상적인 골 대사 질환이다. 정상적인 파골세포 작용을 조절하고 개인을 PDB 및 관련된 질환에 걸리기 쉽게 만드는 4개 유전자의 돌연변이가 확인되었다: 파골세포 작용의 중요한 조절 인자인 핵 인자(NF)κB(RANK)의 수용체 활성체를 암호화하는 TNFRSF11A의 삽입 돌연변이, 오스테오프로테제린(RANK 리간드에 대한 유인 수용체)을 암호화하는 TNFRSF11B의 불활성화 돌연변이, NFκB 경로에서 중요한 스캐폴드 단백질을 암호화하는 세퀘스토솜 1 유전자(SQSTM1)의 돌연변이 및 발로신-함유 단백질(VCP) 유전자의 돌연변이. 상기 유전자는 프로테오솜에 의한 분해를 위해 NFκB의 억제제를 표적하는 역할을 하는 VCP를 암호화한다(문헌[Daroszewska, A. and Ralston, S.H., Nat. Clin. Pract. Rheumatol. 2(2006) 270-277]). 표적된 CSF-1R 억제제는 상기 RANKL 신호전달의 탈조절을 간접적으로 차단할 기회를 제공하며 현재 사용되는 비스포스포네이트에 대한 추가적인 치료 선택권을 더한다.

[0246] 특히 유방암 및 전립선암 환자들에서 암 치료 유발된 골 손실은 표적된 CSF-1R 억제제가 골 손실을 예방할 수 있다는 추가의 표시이다(문헌[Lester, J.E., et al., Br. J. Cancer 94(2006) 30-35]). 초기 유방암에 대한 개선된 예후와 함께, 보조 요법들의 장기적인 결과는, 화학 치료, 방사선, 아로마타제 억제제 및 난소절제를 포함한 상기 요법 중 일부가 골 무기질 밀도를 감소시켜 골다공증 및 관련된 골절의 위험성을 증가시킴으로써 골 대사에 영향을 미치기 때문에 보다 중요해 지고 있다(문헌[Lester, J.E., et al., Br. J. Cancer 94(2006) 30-

35]). 유방암에서 보조적인 아로마타제 억제제 요법에 상당하는 것은 전립선암에서 안드로젠 절제 요법이며 이는 골 무기질 밀도의 손실에 이르게 하고 골다공증 관련된 골절의 위험성을 현저하게 증가시킨다(문헌[Stoch, S.A., et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 86(2001) 2787-2791]).

[0247] CSF-1R 신호전달의 표적된 억제는 다른 적응증뿐만 아니라, 표적된 세포 유형이 파골세포 및 대식세포를 포함하는 경우, 예를 들어 류마티스 관절염의 결과로서 관절 치환에 대한 특정한 합병증의 치료에도 유용한 듯하다. 인공관절 주위 골 손실로 인한 이식 실패 및 결과적인 인공관절의 느슨함이 관절 치환의 주 합병증이며 이는 개인 환자 및 의료보험제도에 큰 사회경제적 부담이 되는 반복된 수술을 요한다. 지금까지, 인공관절 주위 골 용해를 예방하거나 억제하는데 승인된 약물 요법은 없다(문헌[Drees, P., et al., Nat. Clin. Pract. Rheumatol. 3(2007) 165-171]).

[0248] 글루코코르티코이드-유발된 골다공증(GIOP)은, CSF-1R 억제제가 다양한 병태들, 특히 만성 폐색성 폐 질병, 천식 및 류마티스 관절염의 결과로서 제시되는 장기간 글루코코르티코스테로이드 사용 후의 골 손실을 예방할 수 있는 또 다른 적응증이다(문헌[Guzman-Clark, J.R., et al., Arthritis Rheum. 57(2007) 140-146]; 문헌[Feldstein, A.C., et al., Osteoporos. Int. 16(2005) 2168-2174]).

[0249] 류마티스 관절염, 건선 관절염 및 염증성 관절염은 본질적으로, 대식세포 성분으로 이루어지고 다양한 골 파괴 정도가 존재한다는 점에서 CSF-1R 신호전달 억제제에 대한 잠재적인 적응증이다(문헌[Ritchlin, C.T., et al., J. Clin. Invest. 111(2003) 821-831]). 골관절염 및 류마티스 관절염은 결합 조직 중 대식세포의 축적 및 관절낭액 내로의 대식세포의 침윤(적어도 부분적으로 M-CSF에 의해 매개된다)에 의해 유발되는 염증성 자가면역 질병이다. 문헌[Campbell, I., K., et al., J. Leukoc. Biol. 68(2000) 144-150]은 M-CSF가 시험관 내에서 인간-관절 조직 세포(연골세포, 활막 섬유아세포)에 의해 생성되며 류마티스 관절염이 있는 환자의 관절낭액에서 발견됨을 입증하였으며, 이는 상기 M-CSF가 상기 질병의 병인과 관련 있는 활액 조직 증식 및 대식세포 침윤에 기여함을 암시한다. CSF-1R 신호전달의 억제는 관절 중 대식세포의 수를 조절하고 관련된 골 파괴로부터의 통증을 경감시키는 듯하다. 부작용을 최소화하고 상기 적응증들에서 CSF-1R 신호전달의 영향을 더 이해하기 위하여, 하나의 방법은 무수히 많은 다른 키나아제들, 예를 들어 Raf 키나아제를 표적하지 않고 CSF-1R을 특이적으로 억제하는 것이다.

[0250] 최근의 문헌 보고서들은 만성적인 관상 동맥 질병에서 죽상 동맥경화증의 진행과 불량한 예후를 갖는 증가된 순환하는 M-CSF를 연관시키며(문헌[Saitoh, T., et al., J. Am. Coll. Cardiol. 35(2000) 655-665]; 문헌[Ikonomidis, I., et al., Eur. Heart. J. 26(2005) p. 1618-1624]); M-CSF는 CSF-1R을 발현하고 초기 플라크를 나타내는 포말 세포(섭취된 산화된 LDL을 갖는 대식세포)의 형성을 도움으로써 상기 죽상 동맥경화증 과정에 영향을 미친다(문헌[Murayama, T., et al., Circulation 99(1999) 1740-1746]).

[0251] M-CSF 및 CSF-1R의 발현 및 신호전달은 활성화된 미세아교세포에서 발견된다. 상기 중추 신경계의 내재하는 대식세포인 미세아교세포는 감염 및 외상성 상해를 포함한 다양한 손상에 의해 활성화될 수 있다. M-CSF는 뇌에서의 염증 반응의 핵심 조절 인자로 간주되며 M-CSF 수준은 HIV-1, 뇌염, 알츠하이머병(AD) 및 뇌 종양에서 증가한다. M-CSF/CSF-1R에 의한 자가분비 신호전달의 결과로서 미세아교세포종은, 예를 들어 실험적인 신경 손상 모델을 사용함으로써 입증된 바와 같이 염증성 사이토카인의 유도를 야기하고 질소 산화물을 방출시킨다(문헌[Hao, A.J., et al., Neuroscience 112(2002) 889-900]; 문헌[Murphy, G.M., Jr., et al., J. Biol. Chem. 273(1998) 20967-20971]). CSF-1R의 증가된 발현을 갖는 미세아교세포는 AD 및 AD의 아밀로이드 전구체 단백질 V717F 유전자이식 마우스 모델에서 플라크를 둘러싸는 것으로 밝혀졌다(문헌[Murphy, G.M., Jr., et al., Am. J. Pathol. 157(2000) 895-904]). 반면에, 뇌 중에 보다 적은 미세아교세포를 갖는 op/op 마우스는 정상 대조군에 비해 A-베타의 근원섬유 침착 및 신경세포 손실을 발생시켰으며, 이는 미세아교세포가 op/op 마우스에 없는 AD의 발병에 있어서의 신경보호 작용을 가짐을 암시한다(문헌[Kaku, M., et al., Brain Res. Brain Res. Protoc. 12(2003) 104-108]).

[0252] M-CSF 및 CSF-1R의 발현 및 신호전달은 염증성 장 질병(IBD)과 관련이 있다(WO 2005/046657). "염증성 장 질병"이란 용어는 위장관의 다양한 부위에서 만성 염증인 상기 장관의 심한 만성 질환을 지칭하며, 구체적으로 궤양성 대장염(UC) 및 크론병을 포함한다.

[0253] 따라서, 본 발명의 또 다른 실시양태는 상기한 아미노산 서열, 상기한 아미노산 서열의 항-PD-L1 항체와 조합하는 아미노산 서열, 및 치주염, 조직구증 X, 골다공증, 골의 파제트병(PDB), 암 치료로 인한 골 손실, 인공관절 주위 골용해, 글루코코르티코이드 유도된 골다공증, 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 골관절염, 염증성 관절염, 및 염증의 치료에 사용하기 위한 아미노산을 갖는 CSF-1R 항체이다.

[0254] 본 발명은 암의 치료를 위해 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체와 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 항-PD-L1 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0255] 본 발명은 골 손실의 치료를 위해 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체와 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 항-PD-L1 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0256] 본 발명은 전이의 예방 또는 치료를 위해 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체와 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 항-PD-L1 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0257] 본 발명은 염증성 질병의 예방 또는 치료를 위해 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체와 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 항-PD-L1 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0258] 본 발명은 종양 면역과 같은 면역 관련된 질병의 치료 또는 진행 지연에 사용하기 위한 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체와 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 항-PD-L1 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0259] 본 발명은 T 세포 활성과 같은 면역 반응 또는 작용을 촉진하는데 사용하기 위한 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체와 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 항-PD-L1 항체의 조합 요법을 포함한다.

[0260] 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체를 사용한 암의 조합 치료 또는 다르게는 본원에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체를 사용한 암의 조합 치료용 약제의 제조에 있어서 상기 언급한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 포함하는 항체의 용도를 포함한다.

[0261] 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-L1 항체를 사용한 골 손실의 조합 치료, 또는 다르게는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체를 사용한 골 손실의 조합 치료용 약제의 제조에 있어서 상기한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 포함하는 항체의 용도를 포함한다.

[0262] 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 조합하여 전이의 예방 또는 치료, 또는 다르게는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 조합하여 전이의 예방용 또는 치료용 약제의 제조에 있어서 상기한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 포함하는 항체의 용도를 포함한다.

[0263] 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-L1 항체를 사용하여 염증성 질병의 조합 치료, 또는 다르게는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체를 사용하여 염증성 질병의 조합 치료용 약제의 제조에 있어서 상기한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 포함하는 항체의 용도를 포함한다.

[0264] 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 조합하여 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역을 치료하거나 진행을 지연하는데 사용하기 위한, 또는 다르게는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 조합하여 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역을 치료하거나 진행을 지연하는데 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 상기한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 포함하는 항체의 용도를 포함한다.

[0265] 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 조합하여 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성을 자극하는데 사용하기 위한, 또는 다르게는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 조합하여 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성을 자극하는데 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 상기한 아미노산 서열 및 아미노산 서열 단편인 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 포함하는 항체의 용도를 포함한다.

[0266] 본 발명의 일 바람직한 실시양태에서, 상이한 질병의 상기한 조합 치료 및 의학 용도에 사용된 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함하고, 상기 조합 치료에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함한다.

[0267] 본 발명에 따른 항체는 바람직하게는 재조합 방식에 의해 생성된다. 이러한 방법은 당해 분야에 광범위하게 공지되어 있고 항체 폴리펩티드의 단리 및 통상적으로 약학적으로 허용되는 순도로 정제후 원핵생물 및 진핵생물 세포에서 단백질 발현을 포함한다. 단백질 발현을 위해, 경쇄 및 중쇄 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산은 표준 방법에 의해 발현 벡터내로 삽입된다. 발현은 적합한 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포, 예컨대 CHO 세포, NSO 세포, SP2/0 세포, HEK293 세포, COS 세포, 효모 또는 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*) 세포에서 수행되고, 항체는 (상청액으로부터 또는 세포 용리 후) 세포로부터 회수된다.

[0268] 항체의 재조합 생성은 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Makrides, S.C., Protein Expr. Purif. 17(1999) 183-202]; 문헌[Geisse, S., et al., Protein Expr. Purif. 8(1996) 271-282]; 문헌[Kaufman, R.J., Mol. Biotechnol. 16(2000) 151-161]; 문헌[Werner, R.G., Drug Res. 48(1998) 870-880]에 기재되어 있다.

[0269] 항체는 전체 세포로, 세포 용해물로, 또는 부분적으로 정제된 형태 또는 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 정제는 표준 기법, 예컨대 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩, 컬럼 크로마토그래피, 아가로즈 젤 전기영동, 및 당해 분야에 널리 공지된 다른 기법에 의해 다른 세포 성분 또는 다른 오염물, 예컨대 다른 세포 핵산 또는 단백질을 제거하기 위해 수행된다(문헌[Ausubel, F., et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York(1987)] 참조).

[0270] NSO 세포에서 발현은 예컨대 문헌[Barnes, L.M., et al., Cytotechnology 32(2000) 109-123]; 문헌[Barnes, L.M., et al., Biotech. Bioeng. 73(2001) 261-270]에 기재되어 있다. 일과성 발현은 예컨대 문헌[Durocher, Y., et al., Nucl. Acids. Res. 30(2002) E9]에 기재되어 있다. 가변 도메인의 클로닝은 문헌[Orlandi, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86(1989) 3833-3837]; 문헌[Carter, P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89(1992) 4285-4289]; 문헌[Norderhaug, L., et al., J. Immunol. Methods 204(1997) 77-87]에 기재되어 있다. 바람직한 일과성 발현 시스템(HEK 293)은 문헌[Schlaeger, E.-J. and Christensen, K., in Cytotechnology 30(1999) 71-83]; 문헌[Schlaeger, E.-J., in J. Immunol. Methods 194(1996) 191-199]에 기재되어 있다.

[0271] 본 발명에 따른 중쇄 및 경쇄 가변 도메인은 프로모터, 번역 개시, 불변 영역, 3' 비번역 영역, 폴리아데닐화, 및 전사 종결의 서열과 조합하여 발현 벡터 구성물을 형성한다. 중쇄 및 경쇄 발현 구성물은 단일 벡터 내로 혼합되거나, 공형질감염되거나, 순차적으로 형질감염되거나, 숙주 세포 내로 별도로 형질감염된 후 융합되어 2개의 쇄를 발현하는 단일 숙주 세포를 형성할 수 있다.

[0272] 원핵생물에 적합한 조절 서열은 예를 들어, 프로모터, 임의적인 작동자 서열 및 리보솜 결합 영역을 포함한다. 진핵생물 세포는 프로모터, 인핸서 및 폴리아데닐화 신호를 사용하는 것으로 공지되어 있다.

[0273] 핵산은 또 다른 핵산 서열과 작용 관계에 놓일 때 "작동적으로 연결된다". 예를 들어, 전-서열용 또는 분비 리더용 DNA가 폴리펩티드의 분비에 관여하는 전구 단백질로서 발현되는 경우, 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동적으로 연결되거나; 프로모터 또는 인핸서가 서열의 전사에 영향을 미치는 경우, 암호화 서열에 작동적으로 연결되거나; 리보솜 결합 영역이 번역을 촉진하기 위해서 위치되는 경우, 암호화 서열에 작동적으로 연결된다. 일반적으로 "작동적으로 연결된"은 연결되어 있는 DNA 서열이 연속적이고, 분비 리더의 경우에, 연속적이고 판독 프레임 중에 있음을 의미한다. 그러나, 인핸서는 연속적일 필요는 없다. 연결은 편리한 제한 영역에서의 결착에 의해 수행된다. 상기 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오티드 어댑터 또는 연결기가 통상적인 실시에 따라 사용된다.

[0274] 단클론 항체를 통상적인 면역글로불린 정제 과정, 예를 들어, 단백질 A-세파로스, 하이드록실아파타이트 크로마토그래피, 젤 전기영동, 투석, 또는 친화성 크로마토그래피에 의해 배양 배지로부터 적합하게 분리시킨다. 단클론 항체는 암호화 DNA 또는 RNA를 쉽게 단리하고 통상적인 과정을 사용하여 서열화한다. 하이브리도마 세포는 상기 DNA 및 RNA의 공급원으로서 작용할 수 있다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터에 삽입될 수 있고, 이어서, 달리 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 숙주 세포, 예를 들어 HEK 293 세포, CHO 세포, 또는 골수종 세포에 형질감염시켜 숙주 세포에서 재조합 단클론 항체의 합성을 획득한다.

[0275] 본원에 사용된 표현 "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 상호교환적으로 사용되며 상기한 모든 명칭들은 자손을 포함한다. 따라서, 단어 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"는 1차 대상 세포 및 전이 수에 관계없이 상기로부터 유래한 배양물을 포함한다. 모든 자손이, 계획적이거나 우연한 돌연변이로 인해, DNA 함량이 정확하게 동일할 수는 없는 것이 또한 이해된다. 원래 형질전환된 세포에 대해 선별된 바와 동일한 작용 또는 생물 활성을 갖는 변이 자손들이 포함된다.

[0276] 또 다른 양상에서, 본 발명은 약학적으로 허용되는 담체와 함께 제형화된, 본 발명의 단클론 항체들 중 하나 또는 이들의 조합, 또는 이들의 항원-결합 부분을 함유하는 조성물, 예를 들어 약학 조성물을 제공한다.

[0277] 본원에 사용된 "약학적으로 허용되는 담체"는 생리학적으로 호환가능한 임의의 용매 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균제 및 항진균제, 등장성 및 흡수/재흡수 지연제 등을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 주사 또는 주입에 적합하다.

[0278] 본 발명의 조성물을 당해 분야에 공지된 다양한 방법들에 의해 투여할 수 있다. 당업자에 의해 이해될 수 있는 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 변할 것이다.

[0279] 약학적으로 허용되는 담체는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 약학적인 활성인 물질을 위한 상기 매질 및 제제의 용도는 당해 분야에 공지되어 있다. 물 이외에, 담체는 예를 들어 등장성 완충 염수 용액일 수 있다.

[0280] 선택된 투여 경로와 상관없이, 적합한 수화된 형태로 사용될 수도 있는 본 발명의 화합물 및/또는 본 발명의 약학 조성물을, 당업자들에게 공지된 통상적인 방법에 의해 약학적으로 허용되는 투여형으로 제형화한다.

[0281] 본 발명의 약학 조성물 중의 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에 대한 독성 없이, 특정 환자의 목적하는 치료 반응, 조성, 및 투여 방식을 성취하기에 효과적인 활성 성분의 양(효과량)을 획득하기 위해 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 다양한 약동학적 인자들, 예를 들어 사용되는 본 발명의 특정 조성물, 또는 그의 에스터, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물의 배출 속도, 사용되는 특정 조성물과 조합되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반적인 건강 및 선행 의료 병력 및 의학 분야에 널리 공지된 유사한 인자들에 따를 수 있다.

[0282] 암을 "치료하는 방법"이라는 용어 또는 이의 등가물은, 적용되는 경우, 예를 들어 환자에서 암 세포의 수를 줄이거나 제거하기 위해 또는 암의 증상을 완화하기 위해 고안된 과정 또는 작용 과정을 지칭한다. 암 또는 또 다른 증식성 질환을 "치료하는 방법"은 암 세포 또는 다른 질환이 사실상 제거될 수 있거나, 세포 또는 질환의 수가 사실상 감소될 수 있거나, 암 또는 다른 질환의 증상이 사실상 완화될 수 있음을 반드시 의미하지 않는다. 종종 암을 치료하는 방법은, 심지어 낮은 성공 가능성을 갖지만 수행된 의료 기록을 제공하고 환자의 생존 기대를 추정하여 수행될 수 있음에도 불구하고 작용의 전반적인 유익한 과정을 유도하는 것으로 간주된다.

[0283] 용어 "조합하여 투여된" 또는 "공투여", "공투여하는", "조합 요법" 또는 "조합 치료"는 본원에 기재된 바와 같은 항-CSF-1R, 및 본원에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체의, 예컨대 별개의 제형/적용으로서(또는 하나의 단일 제형/적용으로서)의 투여를 지칭한다. 공투여는 동시에 또는 순서에 따라 순차적일 수 있고, 바람직하게는 2개(또는 모든) 활성제가 동시에 이의 생물학적 활성을 행사하는 기간이다. 상기 항체 및 상기 추가 제제는 지속 주입법을 통해 동시에 또는 순차적으로(예컨대, 정맥내(i.v.)) 투여된다. 2개 치료제가 연속하여 공투여되는 경우, 투여량은 2개의 별개 투여 중 동일한 날에 투여되거나, 약제 중 하나는 1일째에 투여되고 제 2 약제는 2 내지 7일째, 바람직하게는 2 내지 4일째 공투여된다. 따라서, 일 실시양태에서, 용어 "연속하여"는 제 1 성분의 투여 후 7일 이내, 바람직하게는 제 1 성분의 투여 후 4일 이내를 의미하고; 용어 "동시에"는 동일한 시간을 의미한다. 항-CSF-1R 항체 및/또는 항-PD-L1 항체의 유지량에 대하여 "공투여"라는 용어는 유지량이, 처리 주기가 2개 약물에 적합한 경우, 예컨대 매주 동시에 공투여될 수 있음을 의미한다. 또는 추가 제제는 예컨대 매 1일째 내지 3일째 투여되고 상기 항체는 매주 투여된다. 또는 유지량은 1일 이내, 또는 여러 날 이내 연속하여 투여된다.

[0284] 항체가 연구자, 수의사, 의사 또는 다른 임상의에 의해 발견되고 있는 조직, 시스템, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 제거할 수 있는 각각의 화합물 또는 조합의 양인 "치료 효과량"(또는 단순하게 "효과량")으로 환자에게 투여되는 것은 자명하다.

[0285] 공투여 양 및 공투여 시기는 유형(종, 성별, 연령, 체중 등), 치료되는 환자의 상태 및 치료되는 질병 또는 상태의 심각도에 따를 것이다. 상기 항-CSF-1R 항체 및 추가 제제는 동시에 또는 일련의 치료에 걸쳐서, 예컨대 같은 날 또는 다음 날에 환자에게 적합하게 공투여된다.

[0286] 질병 유형 및 심각도에 따라, 약 0.1 mg/kg 내지 50 mg/kg(예를 들면, 0.1 내지 20 mg/kg)의 상기 항-CSF-1R 항체 및/또는 항-PD-L1 항체는 환자에게 2개의 약물을 공투여하기 위한 초기 후보 투여량이다. 본 발명은 암, 특히 결장암, 폐암 또는 췌장암을 앓고 있는 환자의 치료를 위해 본 발명에 따른 항체의 용도를 포함한다.

[0287] 항-PD-L1 항체와 조합하는 항-CSF-1R 항체 이외에, 또한 화학치료제가 투여될 수 있다.

[0288] 일 실시양태에서, 본원에 기재된 항-CSF-1R 항체 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 투여될 수 있는 상기 추가 화학치료제는 비제한적으로, 하기 제제를 포함한다: 항-신생물제, 예컨대 알킬화제, 예컨대 질소 머스타드, 예컨대, 메클로에타민, 사이클로포스파미드, 이포스파미드, 멜팔란 및 클로람부실; 니트로소우레아, 예컨대, 카르무스틴(BCNU), 로무스틴(CCNU), 및 세무스틴(메틸-CCNU); 테모달(Temodal: 상표)(테모졸아미드), 에틸렌이민/메틸멜라민, 예컨대, 트라이에틸렌멜라민(TEM), 트라이에틸렌, 티오포스포아미드(티오테파), 헥사메틸멜라민(HMM,

알트레타민); 알킬 설포네이트, 예컨대, 부설판; 트라이아진, 예컨대, 다카바진(DTIC); 항대사물질, 예컨대 폴산 유사체, 예컨대, 메토트렉세이트 및 트라이메트렉세이트, 피리미딘 유사체, 예컨대, 5-플루오로우라실(5FU), 플루오로데옥시우리딘, 겜시타빈, 사이토신 아라비노시드(AraC, 사이타라빈), 5-아자사이티딘, 2,2'-다이플루오로데옥시사이티딘, 퓨린 유사체, 예컨대, 6-머카.로.토퓨린, 6-티오구아민, 아자티오프린, T-데옥시코포르마이신(펜토스타틴), 에리트로하이드록시논일아데닌(EHNA), 플루다라빈 포스페이트, 및 2-클로로데옥시아데노신(클라드리빈, 2-CdA); 천연 산물, 예컨대 세포 분열 저지성 약물, 예컨대, 파클리탁셀, 빈카 알카로이드, 예컨대 빈블라스틴(VLB), 빈크리스틴, 및 비노렐빈, 탁소테레, 에스트라무스틴, 및 에스트라무스틴 포스페이트; 피포도필로톡신, 예컨대, 에토포시드 및 테니포시드; 항생물질, 예컨대, 악티노마이신 D, 다우노마이신(루비도마이신), 독소루비신, 미토잔트론, 이다루비신, 블레오마이신, 플리카마이신(미트라마이신), 미토마이신 C, 및 악티노마이신; 효소, 예컨대, L-아스파라기나아제; 생체 반응 변형제, 예컨대, 인터페론-알파, IL-2, G-CSF 및 GM-CSF; 잡다한 제제, 예컨대 백금 배위 착체, 예컨대, 옥사플라틴, 시스플라틴 및 카보플라틴, 안트라센다이온, 예컨대, 미토잔트론, 치환된 우레아, 예컨대, 하이드록시우레아, 메틸하이드라진 유도체, 예컨대 N-메틸하이드라진(MIH) 및 프로카바진, 부신피질 억제제, 예컨대, 미토탄(o, p-DDD) 및 아미노글루테티미드; 호르몬 및 길항제, 예컨대 부신피질 스테로이드 길항제, 예컨대, 프레드니손 및 등가물, 덱사메타손 및 아미노글루테티미드; 겜자르(Gemzar: 상표)(겜시타빈), 프로게스틴, 예컨대, 하이드록시프로게스테론 카프로에이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트 및 메게스트롤 아세테이트; 에스트로겐, 예컨대, 다이에틸스틸벤스트롤 및 에틴일 에스트라다이올 등가물; 항에스트로겐, 예컨대, 타목시펜; 안드로겐, 예컨대, 테스토스테론 프로피오네이트 및 플루옥시메스테론/등가물; 항안드로겐, 예컨대, 플루타미드, 고나도트로핀-방출 호르몬 유사체 및 류프롤리드; 및 비스테로이드성 항안드로겐, 예컨대, 플루타미드. 비제한적으로 히스톤 데아세틸라아제 억제제, 디메틸화제(예를 들면, 비다자(Vidaza))를 포함하는 후생 기작을 표적하는 요법 및 전사 억제(ATRA) 방출 요법은 또한 항원 결합 단백질과 조합될 수 있다. 일 실시양태에서, 화학치료제는 탁산(예를 들면, 파클리탁셀(탁솔), 도세탁셀(탁소테레), 변형된 파클리탁셀(예를 들면, 아브락산(Abraxane) 및 오팍시오(Opaxio)), 독소루비신, 수니티닙(수텐트(Sutent)), 소라페닙(넥사바르(Nexavar)), 및 다른 다중키나아제 억제제, 옥사플라틴, 시스플라틴 및 카보플라틴, 에토포시드, 겜시타빈, 및 빈블라스틴으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 실시양태에서, 화학치료제는 탁산[예를 들면, 탁솔(파클리탁셀), 도세탁셀(탁소테레), 변형된 파클리탁셀(예를 들면, 아브락산 및 오팍시오)]으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 실시양태에서, 추가 화학치료제는 5-플루오로우라실(5-FU), 류코보린, 이리노테칸, 및 옥사플라틴으로부터 선택된다. 일 실시양태에서, 화학치료제는 5-플루오로우라실, 류코보린 및 이리노테칸(폴피리(FOLFIRI))이다. 일 실시양태에서, 화학치료제는 5-플루오로우라실, 및 옥사플라틴(폴폭스(FOLFOX))이다.

[0289] 추가 화학치료제를 사용하는 조합 요법의 특정한 예는 예를 들면, 유방암의 치료를 위해 탁산(예를 들면, 도세탁셀 또는 파클리탁셀) 또는 변형된 파클리탁셀(예를 들면, 아브락산 또는 오팍시오), 독소루비신, 카페시타빈 및/또는 베바시주맙(아바스틴)을 사용한 요법; 난소암의 치료를 위해 카보플라틴, 옥사플라틴, 시스플라틴, 파클리탁셀, 독소루비신(또는 변형된 독소루비신(캘릭스(Caelyx) 또는 독실(Doxil)), 또는 토포테칸(하이캄틴(Hycamtin))을 사용한 요법; 신장암의 치료를 위해 다중-키나아제 억제제, MKI(수텐트, 넥사바르(Nexavar), 또는 706) 및/또는 독소루비신을 사용한 요법; 편평상피 세포 암종의 치료를 위해 옥사플라틴, 시스플라틴 및/또는 방사선을 사용한 요법; 폐암의 치료를 위해 탁솔 및/또는 카보플라틴을 사용한 요법을 포함한다.

[0290] 따라서, 일 실시양태에서, 추가 화학치료제는 유방암의 치료를 위해 탁산(도세탁셀, 또는 파클리탁셀 또는 변형된 파클리탁셀(아브락산 또는 오팍시오)), 독소루비신, 카페시타빈 및/또는 베바시주맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0291] 일 실시양태에서, CSF-1R 항체/PD-L1 항체 조합 요법은 화학 치료제를 투여하지 않는다.

[0292] 본 발명은 또한 상기 질병을 앓고 있는 환자의 치료 방법을 포함한다.

[0293] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 항체의 효과량을 약학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는 약학 조성물의 제조 방법 및 상기 방법을 위한 본 발명에 따른 항체의 용도를 제공한다.

[0294] 본 발명은 또한 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위해, 바람직하게는 약학적으로 허용되는 담체와 함께 약학 제제의 제조를 위한 효과량으로 본 발명에 따른 항체의 용도를 제공한다.

[0295] 본 발명은 또한 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한, 바람직하게는 약학적으로 허용되는 담체와 함께 약제의 제조를 위한 효과량으로 본 발명에 따른 항체의 용도를 제공한다.

[0296] 본 발명의 이해를 돕기 위해 하기의 실시예, 서열 목록 및 도면을 제공하며, 본 발명의 진정한 범주는 첨부된 특허청구범위에 제시되어 있다. 본 발명의 진의로부터 벗어나지 않고 제시된 과정에서 변형을 수행할 수 있는 것으로 이해된다.

[0297] 서열의 설명

[0298] 서열번호 1 중쇄 CDR3, Mab 2F11

[0299] 서열번호 2 중쇄 CDR2, Mab 2F11

[0300] 서열번호 3 중쇄 CDR1, Mab 2F11

[0301] 서열번호 4 경쇄 CDR3, Mab 2F11

[0302] 서열번호 5 경쇄 CDR2, Mab 2F11

[0303] 서열번호 6 경쇄 CDR1, Mab 2F11

[0304] 서열번호 7 중쇄 가변 도메인, Mab 2F11

[0305] 서열번호 8 경쇄 가변 도메인, Mab 2F11

[0306] 서열번호 9 중쇄 CDR3, Mab 2E10

[0307] 서열번호 10 중쇄 CDR2, Mab 2E10

[0308] 서열번호 11 중쇄 CDR1, Mab 2E10

[0309] 서열번호 12 경쇄 CDR3, Mab 2E10

[0310] 서열번호 13 경쇄 CDR2, Mab 2E10

[0311] 서열번호 14 경쇄 CDR1, Mab 2E10

[0312] 서열번호 15 중쇄 가변 도메인, Mab 2E10

[0313] 서열번호 16 경쇄 가변 도메인, Mab 2E10

[0314] 서열번호 17 중쇄 CDR3, hMab 2F11-c11

[0315] 서열번호 18 중쇄 CDR2, hMab 2F11-c11

[0316] 서열번호 19 중쇄 CDR1, hMab 2F11-c11

[0317] 서열번호 20 경쇄 CDR3, hMab 2F11-c11

[0318] 서열번호 21 경쇄 CDR2, hMab 2F11-c11

[0319] 서열번호 22 경쇄 CDR1, hMab 2F11-c11

[0320] 서열번호 23 중쇄 가변 도메인, hMab 2F11-c11

[0321] 서열번호 24 경쇄 가변 도메인, hMab 2F11-c11

[0322] 서열번호 25 중쇄 CDR3, hMab 2F11-d8

[0323] 서열번호 26 중쇄 CDR2, hMab 2F11-d8

[0324] 서열번호 27 중쇄 CDR1, hMab 2F11-d8

[0325] 서열번호 28 경쇄 CDR3, hMab 2F11-d8

[0326] 서열번호 29 경쇄 CDR2, hMab 2F11-d8

[0327] 서열번호 30 경쇄 CDR1, hMab 2F11-d8

[0328] 서열번호 31 중쇄 가변 도메인, hMab 2F11-d8

[0329] 서열번호 32 경쇄 가변 도메인, hMab 2F11-d8

[0330] 서열번호 33 중쇄 CDR3, hMab 2F11-e7

[0331] 서열번호 34 중쇄 CDR2, hMab 2F11-e7

[0332] 서열번호 35 중쇄 CDR1, hMab 2F11-e7

[0333] 서열번호 36 경쇄 CDR3, hMab 2F11-e7

[0334] 서열번호 37 경쇄 CDR2, hMab 2F11-e7

[0335] 서열번호 38 경쇄 CDR1, hMab 2F11-e7

[0336] 서열번호 39 중쇄 가변 도메인, hMab 2F11-e7

[0337] 서열번호 40 경쇄 가변 도메인, hMab 2F11-e7

[0338] 서열번호 41 중쇄 CDR3, hMab 2F11-f12

[0339] 서열번호 42 중쇄 CDR2, hMab 2F11-f12

[0340] 서열번호 43 중쇄 CDR1, hMab 2F11-f12

[0341] 서열번호 44 경쇄 CDR3, hMab 2F11-f12

[0342] 서열번호 45 경쇄 CDR2, hMab 2F11-f12

[0343] 서열번호 46 경쇄 CDR1, hMab 2F11-f12

[0344] 서열번호 47 중쇄 가변 도메인, hMab 2F11-f12

[0345] 서열번호 48 경쇄 가변 도메인, hMab 2F11-f12

[0346] 서열번호 49 중쇄 CDR3, hMab 2F11-g1

[0347] 서열번호 50 중쇄 CDR2, hMab 2F11-g1

[0348] 서열번호 51 중쇄 CDR1, hMab 2F11-g1

[0349] 서열번호 52 경쇄 CDR3, hMab 2F11-g1

[0350] 서열번호 53 경쇄 CDR2, hMab 2F11-g1

[0351] 서열번호 54 경쇄 CDR1, hMab 2F11-g1

[0352] 서열번호 55 중쇄 가변 도메인, hMab 2F11-g1

[0353] 서열번호 56 경쇄 가변 도메인, hMab 2F11-g1

[0354] 서열번호 57 인간 카파 경쇄 불변 영역

[0355] 서열번호 58 IgG로부터 유도된 인간 중쇄 불변 영역

[0356] 서열번호 59 L234A 및 L235A 상에 돌연변이된 IgG1로부터 유도된 인간 중쇄 불변 영역

[0357] 서열번호 60 IgG4로부터 유도된 인간 중쇄 불변 영역

[0358] 서열번호 61 S228P 상에 돌연변이된 IgG4로부터 유도된 인간 중쇄

[0359] 불변 영역

[0360] 서열번호 62 인간 야생형 CSF-1R(wt CSF-1R)(신호 서열 포함)

[0361] 서열번호 63 인간 돌연변이체 CSF-1R L301S Y969F(신호 서열 포함)

[0362] 서열번호 64 인간 CSF-1R 세포외 도메인(도메인 D1 내지 D5)

[0363] 서열번호 65 인간 CSF-1R 단편 delD4

[0364] 서열번호 66 인간 CSF-1R 단편 도메인 D1 내지 D3

[0365] 서열번호 67 신호전달 펩티드

[0366] 서열번호 68 프라이머

[0367] 서열번호 69 중쇄 CDR3, Mab 1G10

[0368] 서열번호 70 중쇄 CDR2, Mab 1G10

[0369] 서열번호 71 중쇄 CDR1, Mab 1G10

[0370] 서열번호 72 경쇄 CDR3, Mab 1G10

[0371] 서열번호 73 경쇄 CDR2, Mab 1G10

[0372] 서열번호 74 경쇄 CDR1, Mab 1G10

[0373] 서열번호 75 중쇄 가변 도메인, Mab 1G10

[0374] 서열번호 76 경쇄 가변 도메인, Mab 1G10

[0375] 서열번호 77 중쇄 CDR3, Mab 2H7

[0376] 서열번호 78 중쇄 CDR2, Mab 2H7

[0377] 서열번호 79 중쇄 CDR1, Mab 2H7

[0378] 서열번호 80 경쇄 CDR3, Mab 2H7

[0379] 서열번호 81 경쇄 CDR2, Mab 2H7

[0380] 서열번호 82 경쇄 CDR1, Mab 2H7

[0381] 서열번호 83 중쇄 가변 도메인, Mab 2H7

[0382] 서열번호 84 경쇄 가변 도메인, Mab 2H7

[0383] 서열번호 85 인간 CSF-1R 단편 도메인 D4 또는 D5

[0384] 서열번호 86 인간 CSF-1(신호 서열 포함)

[0385] 서열번호 87 인간 IL-34(신호 서열 포함)

[0386] 서열번호 88 인간 PD-L1(신호 서열 포함)

[0387] 서열번호 89 중쇄 가변 도메인 VH 변이체 1, 항-PD-L1 243.55

[0388] 서열번호 90 중쇄 가변 도메인 VH 변이체 2, 항-PD-L1 243.55

[0389] 서열번호 91 중쇄 가변 도메인 VH 변이체 3, 항-PD-L1 243.55

[0390] 서열번호 92 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 1, 항-PD-L1 243.55

[0391] 서열번호 93 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 2, 항-PD-L1 243.55

[0392] 서열번호 94 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 3, 항-PD-L1 243.55

[0393] 서열번호 95 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 4, 항-PD-L1 243.55

[0394] 서열번호 96 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 5, 항-PD-L1 243.55

[0395] 서열번호 97 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 6, 항-PD-L1 243.55

[0396] 서열번호 98 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 7, 항-PD-L1 243.55

[0397] 서열번호 99 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 8, 항-PD-L1 243.55

[0398] 서열번호 100 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 9, 항-PD-L1 243.55

[0399] 서열번호 101 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 10, 항-PD-L1 243.55

[0400] 서열번호 102 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 11, 항-PD-L1 243.55

[0401] 서열번호 103 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 12, 항-PD-L1 243.55

[0402] 서열번호 104 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 13, 항-PD-L1 243.55

[0403] 서열번호 105 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 14, 항-PD-L1 243.55

[0404] 서열번호 106 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 15, 항-PD-L1 243.55

[0405] 서열번호 107 경쇄 가변 도메인 VL 변이체 16, 항-PD-L1 243.55

[0406] 하기에 본 발명의 실시양태를 기재하였다:

[0407] 실시양태 1. (a) 암의 치료에 사용하기 위한, 전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한, 골 손실의 치료에 사용하기 위한, 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용하기 위한, 또는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성의 자극에 사용하기 위한, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체; 또는

[0408] (b) 암의 치료에 사용하기 위한, 전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한, 골 손실의 치료에 사용하기 위한, 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연하는데 사용하기 위한, 또는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성의 자극에 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 인간 CSF-1R에 결합하되, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는 항체의 용도로서,

[0409] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0410] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0411] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0412] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0413] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0414] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0415] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0416] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0417] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0418] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0419] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0420] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0421] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0422] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0423] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0424] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0425] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0426] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0427] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0428] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0429] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0430] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0431] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0432] 실시양태 2. 암의 치료에 사용하기 위한, 전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한, 골 손실의 치료에 사용하기 위한, 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역의 진행을 치료하거나 지연

하는데 사용하기 위한, 또는 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성의 자극에 사용하기 위한 약제의 제조를 위한, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는 하기 항체 (A) 및 (B)의 조합의 용도:

[0433] (A) (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0434] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0435] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0436] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0437] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL

[0438] 을 포함하는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체; 및

[0439] (B) (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0440] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0441] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0442] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0443] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0444] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0445] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0446] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0447] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0448] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0449] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0450] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0451] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0452] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0453] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0454] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL

[0455] 를 포함하는 인간 PD-L1에 결합하는 항체.

[0456] 실시양태 3. 암의 치료에 사용하기 위한 실시양태 1 또는 2 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0457] 실시양태 4. 유방암, 폐암, 결장암, 난소암, 흑색종, 방광암, 신장(renal)암, 신장(kidney)암, 간암, 두경부암, 결장직장암, 췌장암, 위암, 식도암, 중피종, 전립선암, 백혈병, 림프종, 골수종의 치료에 사용하기 위한, 실시양태 3에 따른 항체 또는 용도.

[0458] 실시양태 5. 전이의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 실시양태 1 또는 2 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0459] 실시양태 6. 골 손실의 치료에 사용하기 위한 실시양태 1 또는 2 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0460] 실시양태 7. 염증성 질병의 치료에 사용하기 위한 실시양태 1 또는 2 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0461] 실시양태 8. 면역 관련된 질병, 예컨대, 종양 면역을 치료하거나 진행을 지연하는데 사용하기 위한 실시양태 1 또는 2 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0462] 실시양태 9. 면역 반응 또는 기능, 예컨대, T 세포 활성을 자극하는데 사용하기 위한 실시양태 1 또는 2 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0463] 실시양태 10. (A) (i) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1 리간드-독립적 CSF-1R 발현 종양 세포에서 세포 증

식의 억제;

[0464] (ii) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적 CSF-1R 발현 매크로파지 침투로 종양의 세포 증식의 억제;

[0465] (iii) (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구 및 매크로파지에서 세포 생존의 억제; 및/또는

[0466] (iv) (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구에서 대식세포로 세포 분화의 억제

[0467] 에 사용하기 위한 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여된, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체; 또는

[0468] (B) (i) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1 리간드-독립적 CSF-1R 발현 종양 세포에서 세포 증식의 억제;

[0469] (ii) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적 CSF-1R 발현 매크로파지 침투로 종양의 세포 증식의 억제;

[0470] (iii) (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구 및 매크로파지에서 세포 증식의 억제; 및/또는

[0471] (iv) (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구에서 대식세포로 세포 분화의 억제

[0472] 에 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 인간 CSF-1R에 결합하되, 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는 항체의 용도로서,

[0473] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0474] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0475] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0476] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0477] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0478] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0479] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0480] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0481] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0482] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0483] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0484] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0485] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0486] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0487] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0488] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0489] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0490] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0491] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0492] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0493] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0494] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0495] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0496] 11. (A) CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 매크로파지 침투와 함께 종양을 갖는 환자의 치료에 사용하되, 상기 종양이 CSF-1R 리간드를 증가시키고, 항-CSF-1R 항체가 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체; 또는

[0497] (B) CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 매크로파지 침투를 갖는 종양을 갖는 환자의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 인간 CSF-1R에 결합하는 항체이되, 상기 종양이 CSF-1R 리간드를 증가시키고, 항-CSF-1R 항체가 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여되는, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체의 용도로서,

[0498] 상기 조합에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0499] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0500] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0501] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0502] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0503] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0504] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0505] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0506] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0507] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0508] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0509] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0510] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0511] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0512] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0513] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0514] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0515] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0516] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0517] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0518] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0519] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0520] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0521] 실시양태 12. 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체가 (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함하고;

[0522] 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체가 (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL을 포함하는, 실시양태 1 내지 11 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0523] 실시양태 13. 인간 IgG1 하위유형의 항체 또는 인간 IgG4 하위유형의 항체인, 실시양태 1 내지 12 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0524] 실시양태 14. 감소된 또는 최소 효과기 기능을 갖는, 실시양태 1 내지 13 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0525] 실시양태 15. 최소 효과기 기능이 효과기가 없는 Fc 돌연변이로부터 생성되는, 실시양태 1 내지 14 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0526] 실시양태 16. 효과기가 없는 Fc 돌연변이가 L234A/L235A, L234A/L235A/P329G, N297A 또는 D265A/N297A인, 실시양태 1 내지 15 중 어느 하나에 따른 항체 또는 용도.

[0527] 실시양태 17. (A) (i) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적 CSF-1R 발현 종양 세포에서 세포 증식을 억제하고/하거나;

[0528] (ii) CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적 CSF-1R 발현 매크로파지 침투로 종양의 세포 증식을 억제하고/하거나;

[0529] (iii) (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구 및 매크로파지에서 세포 생존을 억제하고/하거나;

[0530] (iv) 대식세포 내로 (CSF-1R 리간드-의존적 및/또는 CSF-1R 리간드-독립적) CSF-1R 발현 단핵구에서 세포 분화를 억제하되,

[0531] 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여하는 방법; 또는

[0532] (b) CSF-1R 발현 종양을 갖거나 CSF-1R 발현 매크로파지 침투와 함께 종양을 갖는 환자를 치료하되, 상기 종양이 CSF-1R 리간드를 증가시키고, 인간 CSF-1R에 결합하는 항체를 인간 PD-L1에 결합하는 항체와 조합하여 투여하는 방법으로서,

[0533] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 CSF-1R에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함하고:

[0534] (a) 서열번호 23의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 24의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0535] (b) 서열번호 31의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 32의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0536] (c) 서열번호 39의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 40의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0537] (d) 서열번호 47의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 48의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0538] (e) 서열번호 55의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 56의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0539] 상기 조합 요법에 사용되는 인간 PD-L1에 결합하는 항체는 하기 도메인을 포함한다:

[0540] (a) 서열번호 89의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 92의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0541] (b) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 93의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0542] (c) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 94의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0543] (d) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 95의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0544] (e) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 96의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0545] (f) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 97의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0546] (g) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 98의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0547] (h) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 99의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0548] (i) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 100의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0549] (j) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 101의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0550] (k) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 102의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0551] (l) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 103의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0552] (m) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 104의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0553] (n) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 105의 경쇄 가변 도메인 VL;

[0554] (o) 서열번호 90의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 106의 경쇄 가변 도메인 VL; 또는

[0555] (p) 서열번호 91의 중쇄 가변 도메인 VH 및 서열번호 107의 경쇄 가변 도메인 VL.

[0556] **실시예**

[0557] **실시예 1: NIH3T3-CSF-1R 재조합 세포에서 CSF-1 유도된 CSF-1R 인산화의 억제**

[0558] 전장 CSF-1R에 대한 발현 벡터로 레트로바이러스에 의해 감염된 4.5 x 10^3 NIH3T3 세포를 합류에 도달할 때까지 DMEM(PAA, 카탈로그 번호 E15-011), 2 mM L-글루타민(시그마, 카탈로그 번호 G7513), 2 mM 나트륨 피루베이트, 1x 비필수 아미노산, 10% FKS(PAA, 카탈로그 번호 A15-649) 및 100 ㎍/mL 펜스트렙(시그마, 카탈로그 번호 P4333 [10 mg/mL]) 중에서 배양하였다. 이후, 세포를 5 ng/mL 나트륨 셀레나이트(시그마, 카탈로그 번호 S9133), 10 ㎍/mL 트랜스페린(시그마, 카탈로그 번호 T8158), 400 ㎍/mL BSA(로슈 디아그노스틱스 게엠베하, 카탈로그 번호 10735078), 4 mM L-글루타민(시그마, 카탈로그 번호 G7513), 2 mM 나트륨 피루베이트(깁코, 카탈로그 번호 11360), 1x 비필수 아미노산(깁코, 카탈로그 번호 11140-035), 0.05 mM 2-머캅토에탄올(머크(Merck), 카탈로그 번호 M7522) 및 100 ㎍/mL 펜스트렙(시그마, 카탈로그 번호 P4333)이 보충된 무혈청 DMEM 배지(PAA 카탈로그 번호 E15-011)로 세척하고, 동일한 배지(30 ㎕)에서 16시간 동안 배양하여 수용체 상향조절 하도록 하였다. 희석된 항-CSR-1R 항체(10 ㎕)를 세포에 1.5시간 동안 첨가하였다. 이어서, 세포를 100 ng/mL hu CSF-1(10 ㎕; 인간 CSF-1의 활성 149 아미노산 단편(서열번호 86의 아미노산 33 내지 181); 바이오몰 카탈로그 번호 60530)로 5분 동안 자극하였다. 배양 후에, 상청액을 제거하고, 세포를 빙냉 PBS(80 ㎕)로 2회 세척하고 새로 제조한 빙냉 용해 완충액(50 ㎕; 150 mM NaCl/20 mM 트리스(pH 7.5)/1 mM EDTA/1 mM EGTA/1% 트리톤 X-100/10 mL 완충액당 1 프로테아제 억제제 정제(로슈 디아그노스틱스 게엠베하 카탈로그 번호 1 836 170)/포스파타제 억제제 칵테일 1(10 ㎕/mL; 시그마 카탈로그 번호 P-2850, 100 x 스톡)/프로테아제 억제제 1(10 ㎕/mL; 시그마 카탈로그 번호 P-5726, 100 x 스톡)/1 M NaF(10㎕/mL))을 첨가하였다. 얼음에서 30분 후에 상기 플레이트를 플레이트 진탕기에서 3분 동안 격렬하게 진탕하고, 이어서 2200 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다(헤래우스 메가퓨즈(Heraeus Megafuge) 10).

[0559] 세포 용해물 중의 인산화된 전체 CSF-1 수용체의 존재를 ELISA에 의해 분석하였다. 상기 인산화된 수용체의 검출을 위해서 알앤디 시스템스(카탈로그 번호 DYC3268-2)로부터의 키트를 공급자의 설명에 따라 사용하였다. 전체 CSF-1R의 검출을 위해서 상기 용해물(10 ㎕)을 상기 키트 중에 함유된 포획 항체를 사용하여 상기 플레이트에 고정시켰다. 이후, 1:750 희석된 비오틴화된 항 CSF-1R 항체 BAF329(알앤디 시스템스) 및 1:1000 희석된 스트렙타비딘-HRP 접합체를 첨가하였다. 60분 후에, 플레이트를 새로 제조한 ABTS(등록상표) 용액으로 현상하고 흡광도를 검출하였다. 데이터를 항체가 없는 양성 대조군의 %로서 계산하고 인산화된 수용체/전체 수용체 비값으로 표현하였다. 음성 대조군을 M-CSF-1이 첨가되지 않은 것으로 정의하였다. 리간드-수용체 상호작용을 억제하는 항 CSF-1R SC 2-4A5(산타 크루즈 바이오테크놀로지, 미국 소재, 문헌[Sherr, C.J. et al., Cell 41(1985) 665-676] 참조)를 기준 대조군으로서 사용하였다.

표 3

[0560] CSF-1 수용체 인산화의 억제에 대하여 계산된 IC50 값

CSF-1R Mab	IC50 CSF-1R 인산화[ng/mL]
Mab 2F11	219.4
Mab 2E10	752.0
Mab 2H7	703.4
Mab 1G10	56.6
SC-2-4A5	1006.6

[0561] **실시예 2: 항-CSF-1R 단클론 항체로 처리하여 3D 배양 중 NIH3T3-CSF-1R 재조합 세포의 성장 억제(세포역가글로-분석)**

[0562] 전장 야생형 CSF-1R(서열번호 62) 또는 돌연변이체 CSF-1R L301S Y969F(서열번호 63)에 대한 발현 벡터로 레트로바이러스 형질감염된 NIH3T3 세포를, 플라스틱 표면에 부착하는 것을 예방하기 위해 폴리-HEMA(폴리(2-하이드록시에틸메타크릴레이트)(폴리사이언시즈(Polysciences), 미국 펜실베니아주 와링톤 소재)) 코팅된 접시에서 2 mM L-글루타민, 2 mM 나트륨 피루베이트 및 비필수 아미노산 및 10% 소 태아 혈청(시그마, 독일 타우프키르켄 소재)이 보충된 DMEM 고 글루코스 매질(PAA, 호주 파슁 소재)에서 배양하였다. 세포를 5 ng/mL 나트륨 셀레나이트, 10 mg/ml 트렌스페린, 400 ㎍/mL BSA 및 0.05 mM 2-머캅토에탄올로 혈청을 대체하는 매질에 시딩하였다.

100 ng/mL hu CSF-1(인간 CSF-1의 활성 149 아미노산 단편(서열번호 86의 아미노산 33 내지 181); 바이오몰, 독일 소재, 카탈로그 번호 60530)로 처리된 경우, wtCSF-1R 발현 세포는 부착 비의존성(anchorage independence)이라 칭하는 특성을 갖는 3차원적으로 성장하는 빽빽한 타원체 형태를 형성한다. 이러한 타원체는 동일 반응계내 고형 종양의 3차원 구조 및 조직과 많이 유사하다. 돌연변이체 CSF-1R 재조합-세포는 CSF-1 리간드의 비의존 타원체를 형성할 수 있다. 본 발명에 따른 항-CSF-1R 항체 hMab 2F11-e7 및 항-CSF-1R 항체 1.2.SM(WO 2009/026303에 기재된 리간드 대체 CSF-1R 항체), CXIIG6(WO 2009/112245에 기재된 리간드 대체 CSF-1R 항체), 염소 다클론 항-CSF-1R 항체 ab10676(에이비캠(abcam)), 및 SC 2-4A5(산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology), 또한 문헌[Sherr, C.J. et al., Blood 73(1989) 1786-1793] 참조) 및 Mab 알앤디-시스템즈(R&D-Systems) 3291을 조사하였다. 기준 대조군 Mab 알앤디-시스템즈 3291은 돌연변이체 CSF-1R 재조합 세포 증식의 억제를 보이지 않았다.

[0563] 타원체 배양물을, IC30(세포 생존력의 30% 억제 농도)을 결정하기 위해 상이한 농도의 항체의 존재하에 3일 동안 항온처리하였다. 최대 농도는 20 ㎍/mL이었다. 세포역가글로 분석을 사용하여 세포의 ATP 함량을 측정함으로써 세포 생존력을 검출하였다.

표 4

[0564]

CSF-1R Mab	wtCSF-1R IC30[㎍/mL]	돌연변이체 CSF-1R IC30[㎍/mL]
hMab 2F11-e7	4.91	0.54
1.2.SM	1.19	20 ㎍/mL 초과(20 ㎍/mL에서 -19% 억제 = 19% 자극)
CXIIG6	20 ㎍/mL 초과(20 ㎍/mL에서 21% 억제)	20 ㎍/mL(20 ㎍/mL에서 -36% 억제 = 36% 자극)
ab10676	14.15	20 ㎍/mL 초과(20 ㎍/mL에서 0% 억제)
SC 2-4A5	16.62	2.56

[0565] **실시예 3: 항-CSF-1R 단클론 항체로 처리하여 인간 대식세포 분화의 억제(세포역가글로-분석)**

[0566] 인간 단핵구를 로세트셉(RosetteSep: 상표) 인간 단핵구 농축 칵테일(스템셀 테크(StemCell Tech.), 카탈로그 번호 15028)을 사용하여 말초 혈액으로부터 단리하였다. 풍부한 단핵구 집단을, 37℃ 및 5% CO_2에서 습한 대기에서 10% FCS(깁코, 카탈로그 번호 011-090014M), 4 mM L-글루타민(깁코, 카탈로그 번호 25030) 및 1x 펜스트렙(로슈, 카탈로그 번호 1 074 440)이 보충된 RPMI 1640(100 ㎕, 깁코, 카탈로그 번호 31870) 중에서 96 웰 미세역가 플레이트(2.5 x 10^4 세포/웰) 내로 시딩하였다. 150 ng/mL huCSF-1이 배지에 첨가된 경우, 부착 대식세포 내로의 명백한 분화가 관찰될 수 있다. 이 분화는 항-CSF-1R 항체의 첨가에 의해 억제될 수 있다. 더욱이, 단핵구 생존은 영향을 받고 세포역가글로(CTG) 분석에 의해 분석될 수 있다. 항체 처리에 의해 단핵구의 생존의 억제 의존 농도로부터, IC50을 계산하였다(하기 표 참조).

표 5

[0567]

CSF-1R Mab	IC50[㎍/mL]
Mab 2F11	0.08
Mab 2E10	0.06
Mab 2H7	0.03
Mab 1G10	0.06
SC 2-4A5	0.36

[0568] 별개의 시험에서 일련의 인간화된 버전의 Mab 2F11, 예컨대 hMab 2F11-c11, hMab 2F11-d8, hMab 2F11-e7, hMab 2F11-f12는 0.07 ㎍/mL(hMab 2F11-c11), 0.07 ㎍/mL(hMab 2F11-d8), 0.04 ㎍/mL(hMab 2F11-e7) 및 0.09 ㎍/mL(hMab 2F11-f12)의 IC50 값을 나타낸다.

[0569] **실시예 4: 항-CSF-1R 단클론 항체로 처리하여인간 대식세포 분화의 억제(세포역가글로-분석)**

[0570] 인간 단핵구를 로세트셉(RosetteSep: 상표) 인간 단핵구 풍부 칵테일(스템셀 테크(StemCell Tech.), 카탈로그 번호 15028)을 사용하여 말초 혈액으로부터 단리하였다. 풍부한 단핵구 집단을, 37℃ 및 5% CO_2에서 습한 대기에서 10% FCS(깁코, 카탈로그 번호 011-090014M), 4 mM L-글루타민(깁코, 카탈로그 번호 25030) 및 1x 펜스트

렙(로슈, 카탈로그 번호 1 074 440)이 보충된 RPMI 1640(100 ㎕, 깁코, 카탈로그 번호 31870) 중에서 96 웰 미세역가 플레이트(2.5 x 10^4 세포/웰) 내로 시딩하였다. 150 ng/mL huCSF-1이 배지에 첨가된 경우, 부착 대식세포 내로의 명백한 분화가 관찰될 수 있다. 이 분화를 항-CSF-1R 항체를 첨가하여 억제할 수 있다. 더욱이, 단핵구 생존은 영향을 받고 세포역가글로(CTG) 분석에 의해 분석할 수 있다. 항체 처리에 의한 단핵구 생존의 농도 의존적 억제로부터, IC50을 계산하였다. Mab 2F11의 인간화된 버전, 예를 들면, hMab 2F11-c11, hMab 2F11-d8, hMab 2F11-e7, hMab 2F11-f12는 0.07 ㎍/ml(hMab 2F11-c11), 0.07 ㎍/ml(hMab 2F11-d8), 0.04 ㎍/ml(hMab 2F11-e7) 및 0.09 ㎍/ml(hMab 2F11-f12)의 IC50 값을 보였다.

[0571] **실시예 5: 항-CSF-1R 단클론 항체의 처리하여 인간 M1 및 M2 대식세포 분화의 억제(세포역가글로-분석)**

[0572] 인간 단핵구를 로세트셉(상표) 인간 단핵구 농축 칵테일(스템셀 테크, 카탈로그 번호 15028)을 사용하여 말초혈액으로부터 단리하였다. 풍부한 단핵구 집단을, 37℃ 및 5% CO_2에서 습한 대기에서 10% FCS(깁코, 카탈로그 번호 011-090014M), 4 mM L-글루타민(깁코, 카탈로그 번호 25030) 및 1x 펜스트렙(로슈, 카탈로그 번호 1 074 440)이 보충된 RPMI 1640(100 ㎕, 깁코, 카탈로그 번호 31870) 중에서 96 웰 미세역가 플레이트(2.5 x 10^4 세포/웰) 내에 시딩하였다. 100 ng/mL huCSF-1을 배지에 6일 동안 첨가한 경우, 부착물 내로 명백하게 분화하는 구형 형태학을 갖는 M2 대식세포가 관찰될 수 있다. 100 ng/mL huGM-CSF를 배지에 6일 동안 첨가한 경우, 부착물 내로 명백하게 분화하는 구형 형태학을 갖는 M1 대식세포가 관찰될 수 있다. 이 분화는 특정 표지자, 예컨대 유동 세포 분석법에 의해 추정된 바와 같이 M2 대식세포에 대한 CD163 및 M1 대식세포에 대한 CD80 또는 고 MHC 유형 II의 발현과 관련된다. 세포를 PBS로 세척하고, 부착된 경우, PBS 중 5 mM EDTA 용액을 사용하여 떼어냈다(37℃에서 20분). 이어서, 세포를 잘 재현탁하고, 염색 완충액(PBS 중 5% FCS)으로 세척하고 300x g에서 5분 동안 원심분리하였다. 펠렛을 염색 완충액(1 ml)에 재현탁하고 세포를 누바우어(Neubauer) 챔버에서 카운팅하였다. 약 1 x 10^5 세포를 각각의 FACS 튜브로 옮기고, 300x g에서 5 분 동안 원심분리하고 염색 완충액에 재현탁하였다. 인간 IgG/2.5 x 10^4 세포(제이아이알(JIR), 카탈로그 번호 009-000-003)(1 ㎍)를 염색 완충액에서 20분 동안 얼음에서 항온처리하여 Fcγ 수용체를 차단하였다. 이어서, CD80 및 CD163 검출을 위해 세포를 1.5 ㎕ 항체/2.5 x 10^4 세포와 혼합하고, MHC 유형 II 검출을 위해 5 ㎕ 항체/2.5 x 10^4 세포를 사용하였다: PE 표지된 마우스 항-인간 CD163(비디 바이오사이언스(BD Bioscience), 카탈로그 번호 556018), PE 표지된 마우스 항-인간 CD80(비디 바이오사이언스, 카탈로그 번호 557227) 및 알렉사 647 표지된 마우스 항-인간 MHC 유형 II(다코(Dako), 카탈로그 번호 M0775). 알렉사 647 표지를 제논 알렉사 647 마우스 IgG 라벨링 키트(인비트로겐(Invitrogen), 카탈로그 번호 Z25008)를 사용하여 항체와 접합하였다. 얼음에서 1 시간 항온처리 후 세포를 염색 완충액으로 2회 세척하고, 재현탁하고 FACS 칸토(Canto) II에서 측정하였다.

[0573] 배타적으로 CD80 및 낮은 MHC 유형 II 발현의 부재하에 CD163을 발현하는 M2 대식세포 분화가 인간화된 항-CSF-1R 항체 hMab 2F11-e7의 첨가에 의해 억제될 수 있다. 더욱이, M1 대식세포 생존이 아니라 M2 대식세포 생존이 수행되고 세포역가글로(CTG) 분석에 의해 분석될 수 있다. 7일 동안 항체 처리에 의한 대식세포 생존의 억제 의존 농도를 도 1a에 도시하였다. 유동 세포 분석법에 의해 추정된 M1 및 M2 대식세포 표지자의 발현을 도 1b에 도시하였다.

[0574] **실시예 6: 시노몰구스 원숭이에서 CSF-1R 억제 동안 CSF-1 수준의 증가**

[0575] 혈청 CSF-1 수준은 항-인간 CSF-1R 이량체화 억제제 hMab 2F11-e7의 활성을 중성화하는 CSF-1R의 약동학 표지자를 제공한다. 투여량 군(1 내지 10 mg/kg)당 1마리 수컷 및 1마리 암컷 시노몰구스 원숭이에게 항-CSF-1R 항체 hMab 2F11-e7을 정맥내 투여하였다. CSF-1 수준의 분석을 위한 혈액 샘플을 처리 1 주일 전(프리-복용), 2, 24, 48, 72, 96, 168 시간 복용 후 및 추가 2 주 동안 수집하였다. CSF-1 수준을 제조자의 지시에 따라 시판중인 ELISA 키트(콴티킨(Quantikine: 등록상표) 인간 M-CSF(알앤디 시스템즈, 영국 소재)를 사용하여 측정하였다. 원숭이 CSF-1 수준을 키트에 제공된 CSF-1 표준 곡선 샘플과 비교하여 측정하였다.

[0576] hMab 2F11-e7의 투여는 48 시간(1 mg/kg) 또는 15 일(10 mg/kg) 동안 지속하여 투여된 투여에 따라 약 1000 배까지 CSF-1의 극적인 증가를 유도하였다. 따라서, CSF-1R에 대한 이량체화 억제제는 리간드 대체 항체에 대하여 수용체에 결합을 위해 극적으로 상향조절된 리간드와 직접 경쟁하지 않는 장점을 제공한다(결과를 도 2에 제시하였다).

[0577] **실시예 7: M2 하위유형 종양 관련된 대식세포(TAM)와 T 세포 사이의 관계 - 항-CSF-R1 항체 및 T 세포 개입제를**

혼합하는 근거

[0578] TAM와 T 세포 사이의 작용 상관관계를 조사하기 위해, MC38 종양으로부터 TAM을 단리하고 이를 CD8+ T 세포와 공배양하였다.

[0579] TAM 억제 분석

[0580] TAM는 하기 2 단계 프로토콜을 사용하는 효소에 의해 소화된 후 MC38 종양의 단일 세포 현탁액으로부터 풍부해졌다: 단일 세포를 CD11b-FITC(클론 M1/70)로 염색하였고 항-FITC 비드(밀리테니이(Miltenyi))에 의해 MACS 컬럼 위에서 양성적으로 풍부해졌다. 컬럼으로부터 제거하자마자, 항-FITC 비드를 제조자에 의해 제공된 바와 같이 방출 완충 프로토콜을 사용하여 떼어내었다. 최종적으로, TAM 제제로부터 과립구 및 단핵구 세포를 제거하기 위해 항-Ly6G 및 항-Ly6C 양성 선택 비드를 첨가하여 TAM을 단리하였다. 최종 세포 순도를 분석하였고 통상적으로 90%를 초과하였다. 이후, TAM을 항-CD3으로 코팅된 U-바닥 플레이트 중에서 CFSE로 표지된 총 CD3+ T 세포에 대하여 제시된 비로 적정하고 용해성 항-CD28을 첨가하였다. 3일 동안 항온처리한 후 이전에 기재된 블랭크 스페로 비드를 사용하여 CFSE 적은 세포로부터 세포 증식을 측정하였다(문헌[Hoves, S. et al. Monocyte-derived human macriphases mediate agergy in allogeneic T cells and induce regulatory T cell. J. Immunol. 291-698(2006)]). TAM의 존재하에, CD3 및 CD28의 활성화에 의해 유도된 T 세포 확대는 억제되었다(도 3 참조).

[0581] **실시예 8: 피하 동계 MC38 결장직장암 모델에서 PD-L1 항체와 조합하여 항-CSF-1R 단클론 항체로 처리하du 종양 성장의 억제**

[0582] 뮤린 결장직장 선암종 세포주 MC38의 세포(미국 캘리포니아주 시티 오브 호프 소재의 베크만 리서치 인스티튜트(Beckman Research Institute)로부터 입수가능)를 10% FCS 및 2 mM L-글루타민이 보충된 듈베코 개질된 이글 배지(DMEM, 판 바이오테크(PAN Biotech)) 중에서 37℃에서 5% CO_2 수 포화 대기에서 배양하였다. 접종일에, MC38 종양 세포를 배양 플라스크로부터 PBS로 수확하고 배양 매질 내로 옮기고, 원심분리하고, 1회 세척하고 PBS에 재현탁하였다. 세포의 주입을 위해, 최종 역가를 1 x 10^7 세포/mL로 조정하였다. 이후 이 현탁액(100 ㎕, 1 x 10^6 세포)을 7 내지 9주령 암컷 C57BL/6N 마우스(독일 슐쯔펠드 소재의 찰스 리버(Charles River)로부터 입수가능)에 피하 접종하였다. 종양이 수립되고 100 ㎣의 평균 크기에 도달한 후, 매주 30 mg/kg i.p.의 용량으로 대조군 항체(MOPC-21; 바이오 엑스 셀(Bio X Cell), 웨스트 레바논), 항-뮤린 CSF-1R mAb <마우스 CSF-1R> 항체를 단독으로 또는 마우스 교차반응성 항-PD-L1 항체(10 mg/kg i.p., 6x q3d)와 조합하여 처리를 시작하였다. 종양 부피를 1주에 2회 측정하고 동물 중량을 동시에 모니터하였다.

[0583] 첫 번째 실험에서, <마우스 CSF-1R> 항체를 사용하는 단일요법은 대조군 항체 처리와 비교할 때 1차 종양 성장을 억제하지 않았다(TGI: 0%, TCR: 1.07, CI: 0.80 내지 1.43, 700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간: 21일). 항-PD-L1 단일요법은 MC38 1차 종양 성장에서 효과를 갖는다(TGI: 83%, TCR: 0.27, CI: 0.09 내지 0.49, 700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간: 32일). <마우스 CSF-1R> 항체를 항-PD-L1 요법에 첨가하는 것은 항-PD-L1 단독 처리에 비해 약간 개선된 항종양 효능을 야기한다(TGI: 83%, TCR: 0.28, CI: 0.09 내지 0.51, 700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간: 37일)(하기 표 참조).

표 6

[0584] MC38 마우스 CRC 생체내 모델에서 <마우스 항-CSF-1R> 항체/항-PD-L1> 항체 조합의 항-종양 효능

군	TGI(21일)	TCR(12 일)	95% CI 대 군 1	700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간 TV
대조군(마우스 IgG1)	--	--	--	21
<마우스 CSF-1R>	0%	1.07	(1.43-0.80)	21
<항-PD-L1>	83%	0.27	(0.49-0.09)	22
<마우스 CSF-1R>/<항-PD-L1>	83%	0.28	(0.51-0.09)	21

[0585] 700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간은 대조군(마우스 IgG1) 처리된 동물에 대하여 21일이었다. <마우스 CSF-1R> 항체를 사용한 단일요법은 대조군 항체 처리(700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간: 21일)와 비교할 때 1차 종양 성장을 억제하지 않았다. 항-PD-L1 단일요법은 MC38 1차 종양 성장에서 효과를 갖는다(700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간: 32일). <마우스 CSF-1R> 항체를 항-PD-L1 요법에 첨가하는 것은 PD-L1 단독 처리와 비교하

여 약간 개선된 항-종양 효능을 야기하였다(700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간: 37일)(하기 표 및 도 4 참조).

표 7

[0586] MC38 마우스 CRC 생체내 모델에서 <마우스 항-CSF-1R> 항체/<항-PD-L1> 항체 조합의 항-종양 효능(700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간)

군	700 ㎣ 초과 진행에 대한 중간 시간 TV
대조군(마우스 IgG1)	21
<마우스 CSF-1F>	21
<항-PD-L1>	32
<마우스 CSF-1R>/<항-PD-L1>	37

[0587] 유사한 실험이지만, 상이한 종양 크기에서 처리를 시작(예를 들면, 종양이 100 ㎣ 초과 및 미만의 부피에 도달할 때 처리 시작)하고(상이한 군을 평가함), 또한 표 2에 기재된 상이한 항-PD-L1 항체를 사용하여 추가 실험을 시작하고, 피하 동계 MC38 결장 암종 모델에서 항-PD-L1 항체와 조합하여 항-CSF-1R 단클론 항체로 처리하여 종양 성장의 억제를 평가하였다.

[0588] **실시예 9: 피하 동계 CT26.WT 결장 암종 모델에서 PD-L1 항체와 조합하여 항-CSF-1R 단클론 항체로 처리하여 종양 성장의 억제**

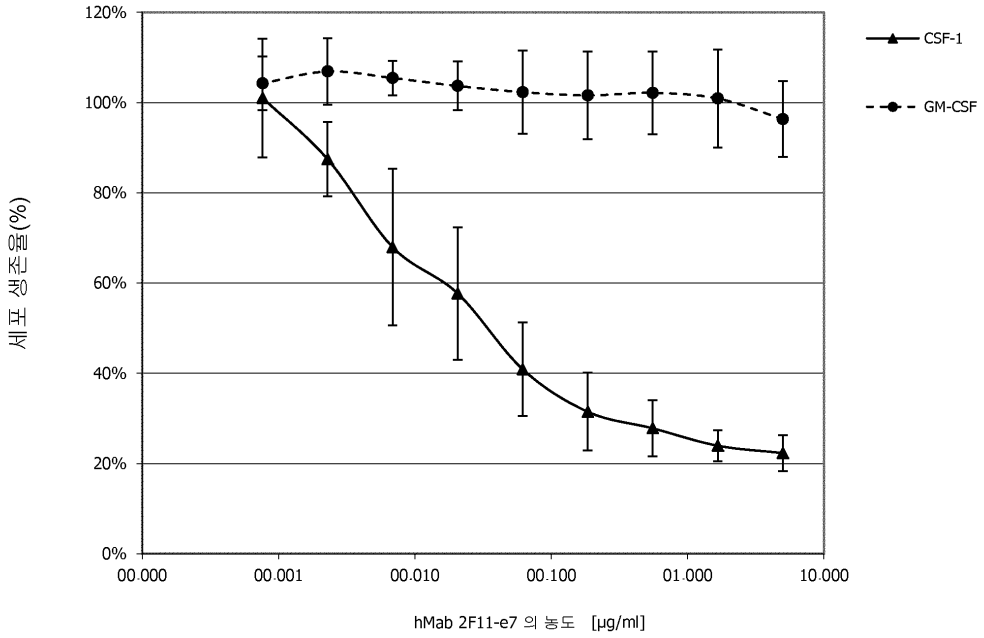
[0589] 뮤린 결장직장 선암종 세포주 CT26.WT 종양 세포(ATCC로부터 입수가능)를 10% FCS 및 2 mM L-글루타민이 보충된 둘베코 개질된 이글 매질(DMEM, 판 바이오테크) 중에서 37℃에서 5% CO_2의 수 포화 대기에서 배양하였다. 접종일에, CT26.WT 종양 세포를 배양 플라스크로부터 PBS로 수확하고 배양 매질 내로 옮기고, 원심분리하고, 1회 세척하고 PBS에 재현탁하였다. 세포의 주입을 위해, 최종 역가를 1 x 10^7 세포/mL로 조정하였다. 이후, 이 현탁액(100 ㎕, 1 x 10^6 세포)을 11 내지 13주령의 암컷 Balb/c 마우스에 피하 접종하였다. 종양이 수립되고 150 ㎣의 평균 크기에 도달한 후, 대조군 항체(MOPC-21; 바이오 엑스 셀, 웨스트 레바논), 항-뮤린 CSF-1R mAb <마우스 CSF-1R> 항체를 단독으로 또는 마우스 교차반응성 항-PD-L1 항체(10 mg/kg i.p., 6x q3d)와 조합하여 처리를 시작하였다. 종양 세포 접종 후 9일째에 단일요법 군의 처리를 시작하는 동안, 조합 군의 처리를 연속적으로 하였다(9일: 항-뮤린 CSF-1R mAb로 처리 시작; 11일: 항-PD-L1 항체로 처리 시작). 종양 부피를 1주에 2회 측정하고 동물 중량을 동시에 모니터링하였다. 결과를 도면에 나타내었다.

[0590] 700 ㎣ 이상의 진행에 대한 중간 시간은 IgG 대조군 처리 군에 대하여 17일이고, <마우스 항-CSF-1R> 항체 단일요법 군에 대하여 16일이고, <항-PD-L1> 항체 단일요법 군에 대하여 18일이고, <마우스 항-CSF-1R>/<항-PD-L1> 항체 조합 군에 대하여 18일이었다.

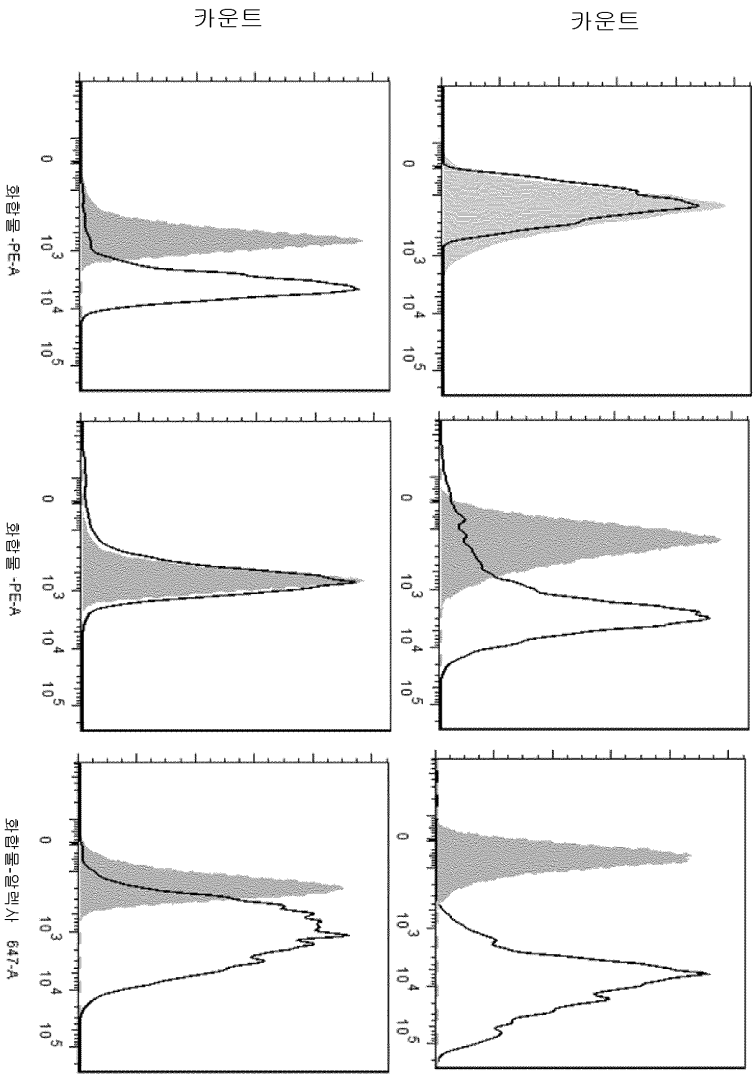
[0591] 종양 수축을 경험한 <마우스 항-CSF-1R>/<항-PD-L1> 항체 조합 군 중 1마리 동물의 진행 종양 부담으로 인해 대조군 또는 단일요법 군에서 요구된 모든 동물이 종료되는 동안 종양 접종 후 79일째에 연구 종결까지 종양이 없이 남아 있었다.

도면

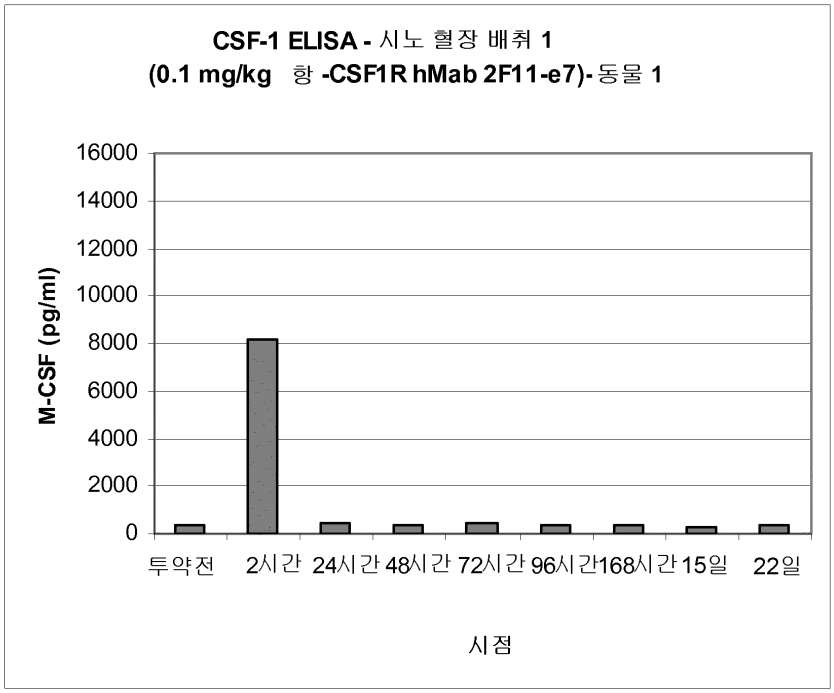
도면1a


120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
세포 생존율(%)
00.000
00.001
00.010
00.100
01.000
10.000
hMab 2F11-e7 의 농도 [μg/ml]
CSF-1
GM-CSF

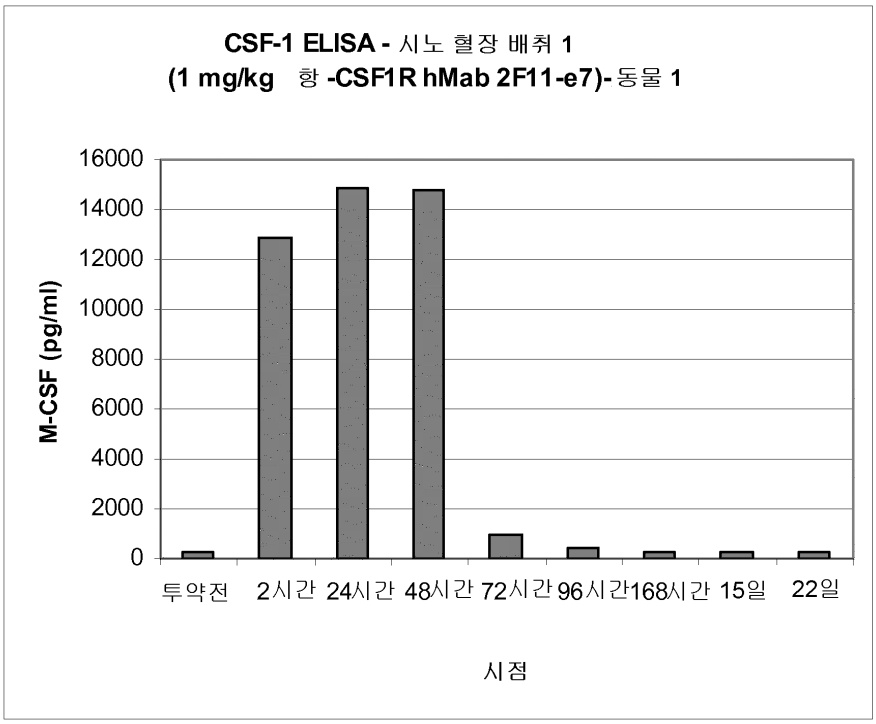
도면1b



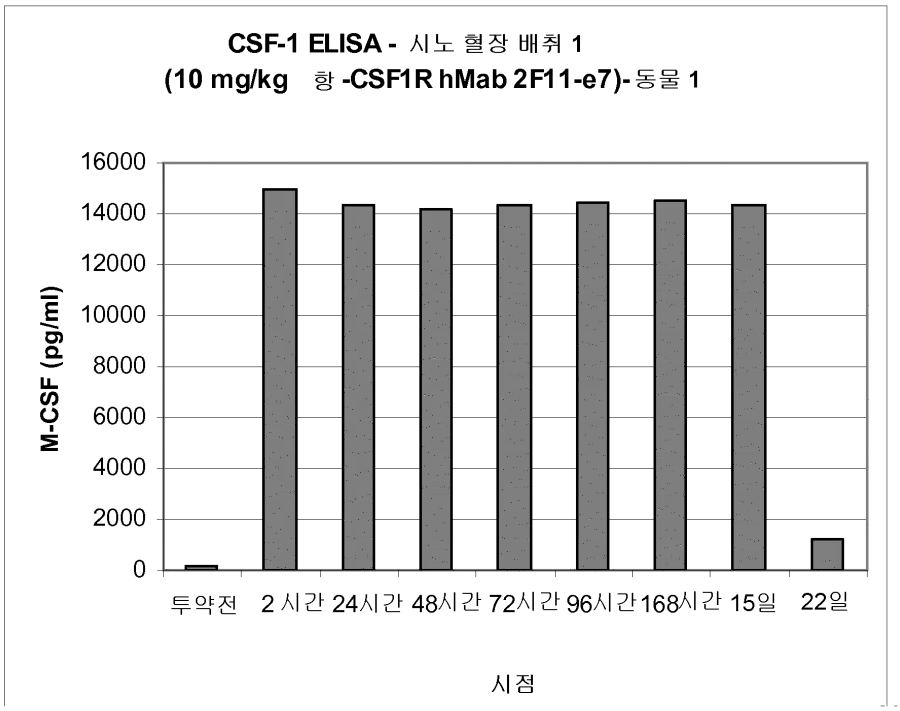
도면2a


CSF-1 ELISA - 시노 혈장 배취 1
(0.1 mg/kg 항 -CSF1R hMab 2F11-e7)- 동물 1
M-CSF (pg/ml)
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
투약전
2시간
24시간
48시간
72시간
96시간
168시간
15일
22일
시점

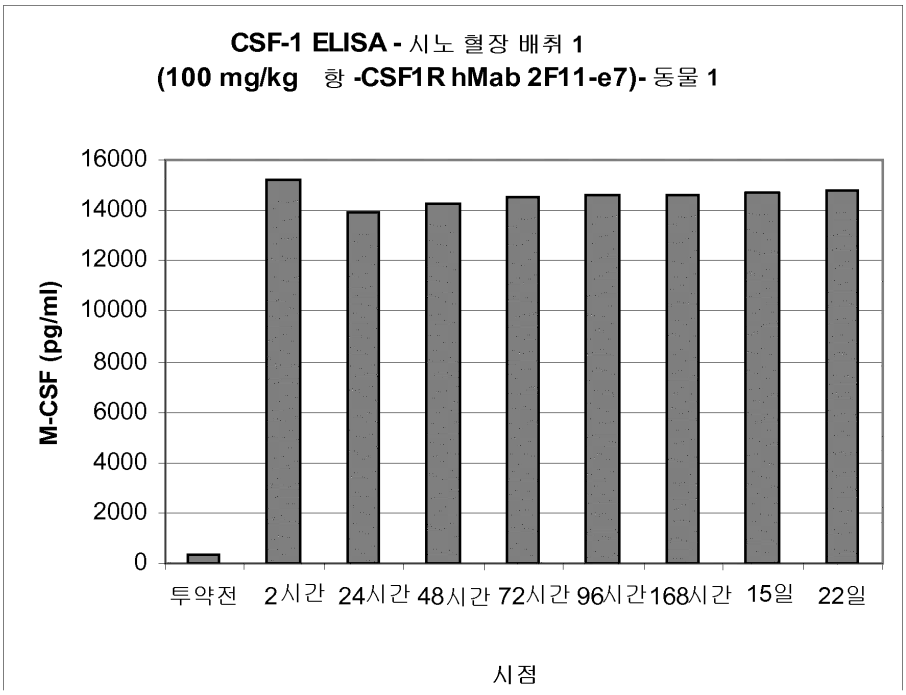
도면2b


CSF-1 ELISA - 시노 혈장 배취 1
(1 mg/kg 항 -CSF1R hMab 2F11-e7)- 동물 1
M-CSF (pg/ml)
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
투약전
2시간
24시간
48시간
72시간
96시간
168시간
15일
22일
시점

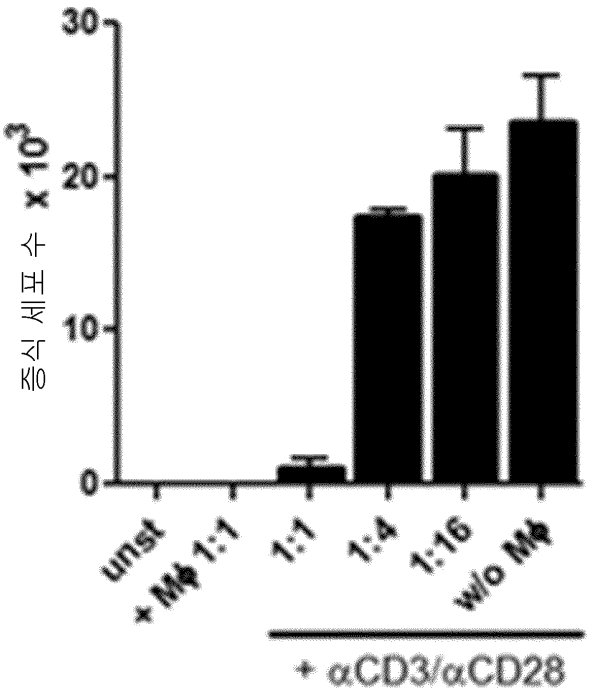
도면2c


CSF-1 ELISA - 시노 혈장 배취 1
(10 mg/kg 항 -CSF1R hMab 2F11-e7)- 동물 1
M-CSF (pg/ml)
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
투약전
2 시간
24시간
48시간
72시간
96시간
168시간
15일
22일
시점

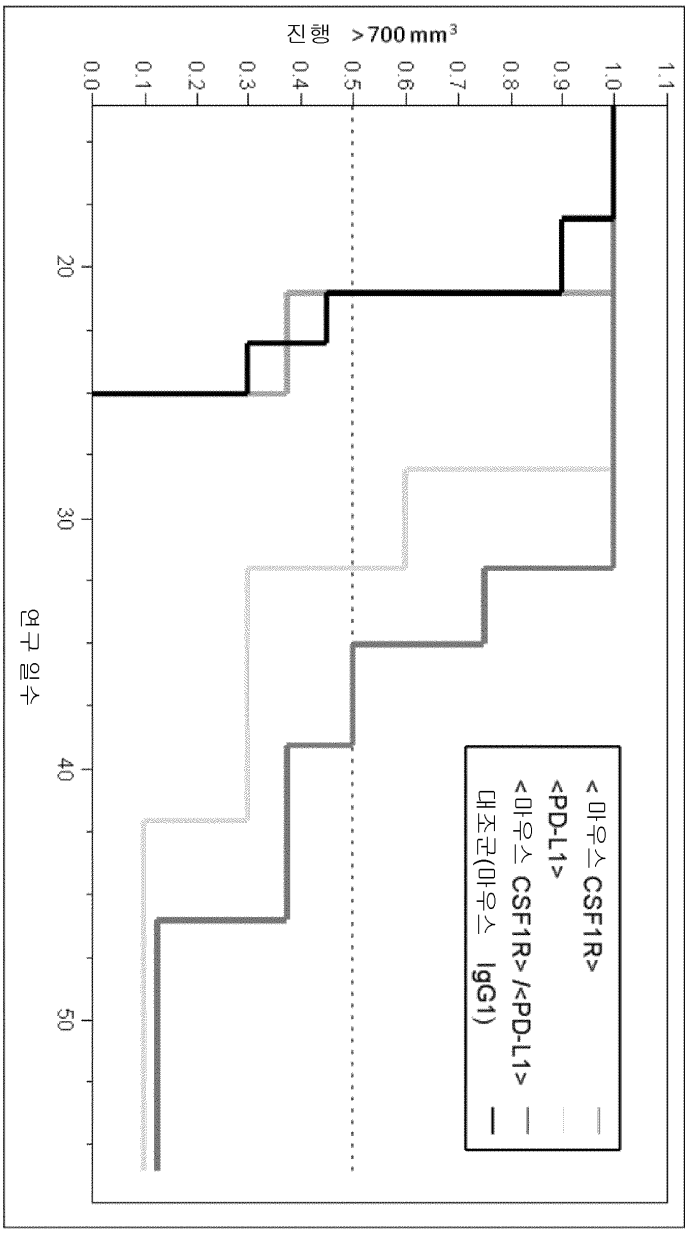
도면2d


CSF-1 ELISA - 시노 혈장 배취 1
(100 mg/kg 항 -CSF1R hMab 2F11-e7)- 동물 1
M-CSF (pg/ml)
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
투약전
2시간
24시간
48시간
72시간
96시간
168시간
15일
22일
시점

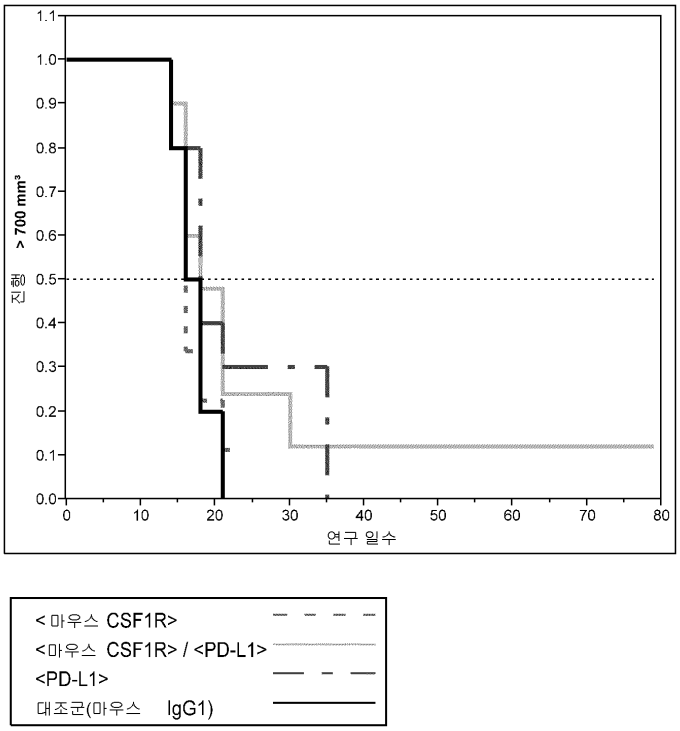
도면3



도면4


진행 >700 mm3
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1.0
1.1
20
30
40
50
연구 일수
<마우스 CSF1R>
<PD-L1>
<마우스 CSF1R> /<PD-L1>
대조군(마우스 IgG1)

도면5



서 열 목 록

<110> F. Hoffmann-La Roche AG

<120> Combination therapy of antibodies against human CSF-1R and antibodies against human PD-L1

<130> 31740 WO

<140> PCT/EP2014/069451

<141> 2014-09-11

<150> EP 13184120.7

<151> 2013-09-12

<160> 107

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Thr Tyr Asp Ile Ser

1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 5

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Lys Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 7

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
20 25 30

Asp Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Arg Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val
85 90 95

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 8

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Glu Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Asp Pro Arg Leu Tyr Phe Asp

1 5

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Gly Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 11

Ser Phe Asp Ile Ser

1 5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

Gly Gln Thr Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 13

<211> 7

<

212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Lys Ala Ser Glu Asp Val Val Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 15

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Leu Asp Ser Phe

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Gly Phe Met

50 55 60

Ser Arg Leu Arg Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val

85 90 95

Arg Asp Pro Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 16

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR3, hMab 2F11-c11

<400> 17

Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR2, hMab 2F11-c11

<400> 18

Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 19

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR1, hMab 2F11-c11

<400> 19

Thr Tyr Asp Ile Ser

1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR3, hMab 2F11-c11

<400> 20

Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR2, hMab 2F11-c11

<400> 21

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR1, hMab 2F11-c11

<400> 22

Arg Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 23

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain variable domain, hMab 2F11-c11

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Thr Lys Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain variable domain, hMab 2F11-c11

<400> 24

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 Glu Asp Val Asn Thr Tyr

20 25 30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr 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 Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR3, hMab 2F11-d8

<400> 25

Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR2, hMab 2F11-d8

<400> 26

Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly

1 5 10 15

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR1, hMab 2F11-d8

<400> 27

Thr Tyr Asp Ile Ser

1 5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR3, hMab 2F11-d8

<400> 28

Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR2, hMab 2F11-d8

<400>

29

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR1, hMab 2F11-d8

<400> 30

Lys Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 31

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain variable domain, hMab 2F11-d8

<400> 31

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
20 25 30

Asp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 32

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain variable domain, hMab 2F11-d8

<400> 32

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 Lys Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr 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 Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR3, hMab 2F11-e7

<400> 33

Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR2, hMab 2F11-e7

<400> 34

Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln Gly

1 5 10 15

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR1, hMab 2F11-e7

<400> 35

Ser Tyr Asp Ile Ser

1 5

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR3, hMab 2F11-e7

<400> 36

Gln Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213

> Artificial

<220><223> light chain CDR2, hMab 2F11-e7

<400> 37

Ala Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR1, hMab 2F11-e7

<400> 38

Arg Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain variable domain, hMab 2F11-e7

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

50 55 60

Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 40

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain variable domain, hMab 2F11-e7

<400> 40

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 Glu Asp Val Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Arg Tyr Thr 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 Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR3, hMab 2F11-f12

<400> 41

Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 42

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR2, hMab 2F11-f12

<400> 42

Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR1, hMab 2F11-f12

<400> 43

Thr Tyr Asp Ile Ser

1 5

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR3, hMab 2F11-f12

<400> 44

Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR2, hMab 2F11-f12

<400> 45

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR1, hMab 2F11-f12

<400> 46

Arg Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 47

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain variable domain, hMab 2F11-f12

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Thr Lys Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 48

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain variable domain, hMab 2F11-f12

<400> 48

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 Glu Asp Val Asn Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln 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 Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR3, hMab 2F11-g1

<400> 49

Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 50

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR2, hMab 2F11-g1

<400> 50

Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain CDR1, hMab 2F11-g1

<400> 51

Thr Tyr Asp Ile Ser

1 5

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR3, hMab 2F11-g1

<400> 52

Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR2, hMab 2F11-g1

<400> 53

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain CDR1, hMab 2F11-g1

<400> 54

Arg Ala Ser Glu Asp Val Asn Thr Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 55

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> heavy chain variable domain, hMab 2F11-g1

<400> 55

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Asp Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Gln Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 56

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> light chain variable domain, hMab 2F11-g1

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 57

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

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> 58

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 59

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> human heavy chain constant region derived from IgG1 mutated on L234A and L235A

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 60
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 60
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 61

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> human heavy chain constant region derived from IgG4 mutated onS228P

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 62
<211> 972
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 62
Met Gly Pro Gly Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Trp His
1 5 10 15

Gly Gln Gly Ile Pro Val Ile Glu Pro Ser Val Pro Glu Leu Val Val
20 25 30
Lys Pro Gly Ala Thr Val Thr Leu Arg Cys Val Gly Asn Gly Ser Val
35 40 45
Glu Trp Asp Gly Pro Pro Ser Pro His Trp Thr Leu Tyr Ser Asp Gly
50 55 60
Ser Ser Ser Ile Leu Ser Thr Asn Asn Ala Thr Phe Gln Asn Thr Gly
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Cys Thr Glu Pro Gly Asp Pro Leu Gly Gly Ser Ala Ala
85 90 95
Ile His Leu Tyr Val Lys Asp Pro Ala Arg Pro Trp Asn Val Leu Ala
100 105 110
Gln Glu Val Val Val Phe Glu Asp Gln Asp Ala Leu Leu Pro Cys Leu
115 120 125
Leu Thr Asp Pro Val Leu Glu Ala Gly Val Ser Leu Val Arg Val Arg
130 135 140

Gly Arg Pro Leu Met Arg His Thr Asn Tyr Ser Phe Ser Pro Trp His
145 150 155 160
Gly Phe Thr Ile His Arg Ala Lys Phe Ile Gln Ser Gln Asp Tyr Gln
165 170 175
Cys Ser Ala Leu Met Gly Gly Arg Lys Val Met Ser Ile Ser Ile Arg
180 185 190
Leu Lys Val Gln Lys Val Ile Pro Gly Pro Pro Ala Leu Thr Leu Val
195 200 205

Pro Ala Glu Leu Val Arg Ile Arg Gly Glu Ala Ala Gln Ile Val Cys
210 215 220
Ser Ala Ser Ser Val Asp Val Asn Phe Asp Val Phe Leu Gln His Asn
225 230 235 240
Asn Thr Lys Leu Ala Ile Pro Gln Gln Ser Asp Phe His Asn Asn Arg
245 250 255
Tyr Gln Lys Val Leu Thr Leu Asn Leu Asp Gln Val Asp Phe Gln His
260 265 270

Ala Gly Asn Tyr Ser Cys Val Ala Ser Asn Val Gln Gly Lys His Ser
275 280 285
Thr Ser Met Phe Phe Arg Val Val Glu Ser Ala Tyr Leu Asn Leu Ser
290 295 300
Ser Glu Gln Asn Leu Ile Gln Glu Val Thr Val Gly Glu Gly Leu Asn
305 310 315 320
Leu Lys Val Met Val Glu Ala Tyr Pro Gly Leu Gln Gly Phe Asn Trp
325 330 335

Thr Tyr Leu Gly Pro Phe Ser Asp His Gln Pro Glu Pro Lys Leu Ala
340 345 350
Asn Ala Thr Thr Lys Asp Thr Tyr Arg His Thr Phe Thr Leu Ser Leu
355 360 365
Pro Arg Leu Lys Pro Ser Glu Ala Gly Arg Tyr Ser Phe Leu Ala Arg
370 375 380
Asn Pro Gly Gly Trp Arg Ala Leu Thr Phe Glu Leu Thr Leu Arg Tyr

385 390 395 400

Pro Pro Glu Val Ser Val Ile Trp Thr Phe Ile Asn Gly Ser Gly Thr
405 410 415
Leu Leu Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Pro Gln Pro Asn Val Thr Trp Leu
420 425 430
Gln Cys Ser Gly His Thr Asp Arg Cys Asp Glu Ala Gln Val Leu Gln
435 440 445
Val Trp Asp Asp Pro Tyr Pro Glu Val Leu Ser Gln Glu Pro Phe His
450 455 460

Lys Val Thr Val Gln Ser Leu Leu Thr Val Glu Thr Leu Glu His Asn
465 470 475 480
Gln Thr Tyr Glu Cys Arg Ala His Asn Ser Val Gly Ser Gly Ser Trp
485 490 495
Ala Phe Ile Pro Ile Ser Ala Gly Ala His Thr His Pro Pro Asp Glu
500 505 510
Phe Leu Phe Thr Pro Val Val Val Ala Cys Met Ser Ile Met Ala Leu
515 520 525

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr Lys Tyr Lys Gln Lys Pro
530 535 540
Lys Tyr Gln Val Arg Trp Lys Ile Ile Glu Ser Tyr Glu Gly Asn Ser
545 550 555 560
Tyr Thr Phe Ile Asp Pro Thr Gln Leu Pro Tyr Asn Glu Lys Trp Glu
565 570 575
Phe Pro Arg Asn Asn Leu Gln Phe Gly Lys Thr Leu Gly Ala Gly Ala
580 585 590

Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala Phe Gly Leu Gly Lys Glu Asp
595 600 605
Ala Val Leu Lys Val Ala Val Lys Met Leu Lys Ser Thr Ala His Ala
610 615 620
Asp Glu Lys Glu Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Met Ser His Leu
625 630 635 640

Gly Gln His Glu Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr His Gly
645 650 655

Gly Pro Val Leu Val Ile Thr Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu
660 665 670

Asn Phe Leu Arg Arg Lys Ala Glu Ala Met Leu Gly Pro Ser Leu Ser
675 680 685

Pro Gly Gln Asp Pro Glu Gly Gly Val Asp Tyr Lys Asn Ile His Leu
690 695 700

Glu Lys Lys Tyr Val Arg Arg Asp Ser Gly Phe Ser Ser Gln Gly Val
705 710 715 720

Asp Thr Tyr Val Glu Met Arg Pro Val Ser Thr Ser Ser Asn Asp Ser
725 730 735

Phe Ser Glu Gln Asp Leu Asp Lys Glu Asp Gly Arg Pro Leu Glu Leu
740 745 750

Arg Asp Leu Leu His Phe Ser Ser Gln Val Ala Gln Gly Met Ala Phe
755 760 765

Leu Ala Ser Lys Asn Cys Ile His Arg Asp Val Ala Ala Arg Asn Val
770 775 780

Leu Leu Thr Asn Gly His Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Leu Ala
785 790 795 800

Arg Asp Ile Met Asn Asp Ser Asn Tyr Ile Val Lys Gly Asn Ala Arg
805 810 815

Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asp Cys Val Tyr
820 825 830

Thr Val Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu Ile
835 840 845

Phe Ser Leu Gly Leu Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Leu Val Asn Ser Lys
850 855 860

Phe Tyr Lys Leu Val Lys Asp Gly Tyr Gln Met Ala Gln Pro Ala Phe
865 870 875 880

Ala Pro Lys Asn Ile Tyr Ser Ile Met Gln Ala Cys Trp Ala Leu Glu

885 890 895

Pro Thr His Arg Pro Thr Phe Gln Gln Ile Cys Ser Phe Leu Gln Glu

900 905 910

Gln Ala Gln Glu Asp Arg Arg Glu Arg Asp Tyr Thr Asn Leu Pro Ser

915 920 925

Ser Ser Arg Ser Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ser Ser Glu Leu Glu Glu

930 935 940

Glu Ser Ser Ser Glu His Leu Thr Cys Cys Glu Gln Gly Asp Ile Ala

945 950 955 960

Gln Pro Leu Leu Gln Pro Asn Asn Tyr Gln Phe Cys

965 970

<210> 63

<211

> 972

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> mutant CSF-1R L301S Y969F

<400> 63

Met Gly Pro Gly Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Trp His

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Pro Gly Ala Thr Val Thr Leu Arg Cys Val Gly Asn Gly Ser Val

35 40 45

Glu Trp Asp Gly Pro Pro Ser Pro His Trp Thr Leu Tyr Ser Asp Gly

50 55 60

Ser Ser Ser Ile Leu Ser Thr Asn Asn Ala Thr Phe Gln Asn Thr Gly

65 70 75 80

Thr Tyr Arg Cys Thr Glu Pro Gly Asp Pro Leu Gly Gly Ser Ala Ala

85 90 95

Ile His Leu Tyr Val Lys Asp Pro Ala Arg Pro Trp Asn Val Leu Ala

100 105 110

Gln Glu Val Val Val Phe Glu Asp Gln Asp Ala Leu Leu Pro Cys Leu

115 120 125

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

130 135 140

Gly Arg Pro Leu Met Arg His Thr Asn Tyr Ser Phe Ser Pro Trp His

145 150 155 160

Gly Phe Thr Ile His Arg Ala Lys Phe Ile Gln Ser Gln Asp Tyr Gln

165 170 175

Cys Ser Ala Leu Met Gly Gly Arg Lys Val Met Ser Ile Ser Ile Arg

180 185 190

Leu Lys Val Gln Lys Val Ile Pro Gly Pro Pro Ala Leu Thr Leu Val

195 200 205

Pro Ala Glu Leu Val Arg Ile Arg Gly Glu Ala Ala Gln Ile Val Cys

210 215 220

Ser Ala Ser Ser Val Asp Val Asn Phe Asp Val Phe Leu Gln His Asn

225 230 235 240

Asn Thr Lys Leu Ala Ile Pro Gln Gln Ser Asp Phe His Asn Asn Arg

245 250 255

Tyr Gln Lys Val Leu Thr Leu Asn Leu Asp Gln Val Asp Phe Gln His

260 265 270

Ala Gly Asn Tyr Ser Cys Val Ala Ser Asn Val Gln Gly Lys His Ser

275 280 285

Thr Ser Met Phe Phe Arg Val Val Glu Ser Ala Tyr Ser Asn Leu Ser

290 295 300

Ser Glu Gln Asn Leu Ile Gln Glu Val Thr Val Gly Glu Gly Leu Asn

305 310 315 320

Leu Lys Val Met Val Glu Ala Tyr Pro Gly Leu Gln Gly Phe Asn Trp

325 330 335

Thr Tyr Leu Gly Pro Phe Ser Asp His Gln Pro Glu Pro Lys Leu Ala

340 345 350

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

355 360 365

Pro Arg Leu Lys Pro Ser Glu Ala Gly Arg Tyr Ser Phe Leu Ala Arg

370 375 380

Asn Pro Gly Gly Trp Arg Ala Leu Thr Phe Glu Leu Thr Leu Arg Tyr

385 390 395 400

Pro Pro Glu Val Ser Val Ile Trp Thr Phe Ile Asn Gly Ser Gly Thr

405 410 415

Leu Leu Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Pro Gln Pro Asn Val Thr Trp Leu

420 425 430

Gln Cys Ser Gly His Thr Asp Arg Cys Asp Glu Ala Gln Val Leu Gln

435 440 445

Val Trp Asp Asp Pro Tyr Pro Glu Val Leu Ser Gln Glu Pro Phe His

450 455 460

Lys Val Thr Val Gln Ser Leu Leu Thr Val Glu Thr Leu Glu His Asn

465 470 475 480

Gln Thr Tyr Glu Cys Arg Ala His Asn Ser Val Gly Ser Gly Ser Trp

485 490 495

Ala Phe Ile Pro Ile Ser Ala Gly Ala His Thr His Pro Pro Asp Glu

500 505 510

Phe Leu Phe Thr Pro Val Val Val Ala Cys Met Ser Ile Met Ala Leu

515 520 525

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr Lys Tyr Lys Gln Lys Pro

530 535 540

Lys Tyr Gln Val Arg Trp Lys Ile Ile Glu Ser Tyr Glu Gly Asn Ser

545 550 555 560

Tyr Thr Phe Ile Asp Pro Thr Gln Leu Pro Tyr Asn Glu Lys Trp Glu

565 570 575

Phe Pro Arg Asn Asn Leu Gln Phe Gly Lys Thr Leu Gly Ala Gly Ala

580 585 590

Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala Phe Gly Leu Gly Lys Glu Asp

595 600 605

Ala Val Leu Lys Val Ala Val Lys Met Leu Lys Ser Thr Ala His Ala
610 615 620
Asp Glu Lys Glu Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Met Ser His Leu

625 630 635 640
Gly Gln His Glu Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr His Gly
645 650 655
Gly Pro Val Leu Val Ile Thr Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu
660 665 670
Asn Phe Leu Arg Arg Lys Ala Glu Ala Met Leu Gly Pro Ser Leu Ser
675 680 685
Pro Gly Gln Asp Pro Glu Gly Gly Val Asp Tyr Lys Asn Ile His Leu

690 695 700
Glu Lys Lys Tyr Val Arg Arg Asp Ser Gly Phe Ser Ser Gln Gly Val
705 710 715 720
Asp Thr Tyr Val Glu Met Arg Pro Val Ser Thr Ser Ser Asn Asp Ser
725 730 735
Phe Ser Glu Gln Asp Leu Asp Lys Glu Asp Gly Arg Pro Leu Glu Leu
740 745 750
Arg Asp Leu Leu His Phe Ser Ser Gln Val Ala Gln Gly Met Ala Phe

755 760 765
Leu Ala Ser Lys Asn Cys Ile His Arg Asp Val Ala Ala Arg Asn Val
770 775 780
Leu Leu Thr Asn Gly His Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Leu Ala
785 790 795 800
Arg Asp Ile Met Asn Asp Ser Asn Tyr Ile Val Lys Gly Asn Ala Arg
805 810 815
Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asp Cys Val Tyr

820 825 830
Thr Val Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu Ile
835 840 845
Phe Ser Leu Gly Leu Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Leu Val Asn Ser Lys

850 855 860

Phe Tyr Lys Leu Val Lys Asp Gly Tyr Gln Met Ala Gln Pro Ala Phe

865 870 875 880

Ala Pro Lys Asn Ile Tyr Ser Ile Met Gln Ala Cys Trp Ala Leu Glu

885 890 895

Pro Thr His Arg Pro Thr Phe Gln Gln Ile Cys Ser Phe Leu Gln Glu

900 905 910

Gln Ala Gln Glu Asp Arg Arg Glu Arg Asp Tyr Thr Asn Leu Pro Ser

915 920 925

Ser Ser Arg Ser Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ser Ser Glu Leu Glu Glu

930 935 940

Glu Ser Ser Ser Glu His Leu Thr Cys Cys Glu Gln Gly Asp Ile Ala

945 950 955 960

Gln Pro Leu Leu Gln Pro Asn Asn Phe Gln Phe Cys

965 970

<210> 64

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> human CSF-1R Extracellular Domain

<400> 64

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

1 5 10 15

Ala Thr Val Thr Leu Arg Cys Val Gly Asn Gly Ser Val Glu Trp Asp

20 25 30

Gly Pro Pro Ser Pro His Trp Thr Leu Tyr Ser Asp Gly Ser Ser Ser

35 40 45

Ile Leu Ser Thr Asn Asn Ala Thr Phe Gln Asn Thr Gly Thr Tyr Arg

50 55 60

Cys Thr Glu Pro Gly Asp Pro Leu Gly Gly Ser Ala Ala Ile His Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Phe Glu Asp Gln Asp Ala Leu Leu Pro Cys Leu Leu Thr Asp
100 105 110
Pro Val Leu Glu Ala Gly Val Ser Leu Val Arg Val Arg Gly Arg Pro
115 120 125
Leu Met Arg His Thr Asn Tyr Ser Phe Ser Pro Trp His Gly Phe Thr
130 135 140
Ile His Arg Ala Lys Phe Ile Gln Ser Gln Asp Tyr Gln Cys Ser Ala
145 150 155 160

Leu Met Gly Gly Arg Lys Val Met Ser Ile Ser Ile Arg Leu Lys Val
165 170 175
Gln Lys Val Ile Pro Gly Pro Pro Ala Leu Thr Leu Val Pro Ala Glu
180 185 190
Leu Val Arg Ile Arg Gly Glu Ala Ala Gln Ile Val Cys Ser Ala Ser
195 200 205
Ser Val Asp Val Asn Phe Asp Val Phe Leu Gln His Asn Asn Thr Lys
210 215 220

Leu Ala Ile Pro Gln Gln Ser Asp Phe His Asn Asn Arg Tyr Gln Lys
225 230 235 240
Val Leu Thr Leu Asn Leu Asp Gln Val Asp Phe Gln His Ala Gly Asn
245 250 255
Tyr Ser Cys Val Ala Ser Asn Val Gln Gly Lys His Ser Thr Ser Met
260 265 270
Phe Phe Arg Val Val Glu Ser Ala Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Glu Gln
275 280 285

Asn Leu Ile Gln Glu Val Thr Val Gly Glu Gly Leu Asn Leu Lys Val
290 295 300
Met Val Glu Ala Tyr Pro Gly Leu Gln Gly Phe Asn Trp Thr Tyr Leu
305 310 315 320
Gly Pro Phe Ser Asp His Gln Pro Glu Pro Lys Leu Ala Asn Ala Thr
325 330 335

Thr Lys Asp Thr Tyr Arg His Thr Phe Thr Leu Ser Leu Pro Arg Leu
340 345 350

Lys Pro Ser Glu Ala Gly Arg Tyr Ser Phe Leu Ala Arg Asn Pro Gly
355 360 365

Gly Trp Arg Ala Leu Thr Phe Glu Leu Thr Leu Arg Tyr Pro Pro Glu
370 375 380

Val Ser Val Ile Trp Thr Phe Ile Asn Gly Ser Gly Thr Leu Leu Cys
385 390 395 400

Ala Ala Ser Gly Tyr Pro Gln Pro Asn Val Thr Trp Leu Gln Cys Ser
405 410 415

Gly His Thr Asp Arg Cys Asp Glu Ala Gln Val Leu Gln Val Trp Asp
420 425 430

Asp Pro Tyr Pro Glu Val Leu Ser Gln Glu Pro Phe His Lys Val Thr
435 440 445

Val Gln Ser Leu Leu Thr Val Glu Thr Leu Glu His Asn Gln Thr Tyr
450 455 460

Glu Cys Arg Ala His Asn Ser Val Gly Ser Gly Ser Trp Ala Phe Ile
465 470 475 480

Pro Ile Ser Ala Gly Ala His Thr His Pro Pro Asp Glu
485 490

<210> 65

<211> 388

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> human CSF-1R fragment delD4

<400> 65

Ile Pro Val Ile Glu Pro Ser Val Pro Glu Leu Val Val Lys Pro Gly
1 5 10 15

Ala Thr Val Thr Leu Arg Cys Val Gly Asn Gly Ser Val Glu Trp Asp
20 25 30

Gly Pro Pro Ser Pro His Trp Thr Leu Tyr Ser Asp Gly Ser Ser Ser

35 40 45

Ile Leu Ser Thr Asn Asn Ala Thr Phe Gln Asn Thr Gly Thr Tyr Arg

50 55 60

Cys Thr Glu Pro Gly Asp Pro Leu Gly Gly Ser Ala Ala Ile His Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Phe Glu Asp Gln Asp Ala Leu Leu Pro Cys Leu Leu Thr Asp

100 105 110

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

115 120 125

Leu Met Arg His Thr Asn Tyr Ser Phe Ser Pro Trp His Gly Phe Thr

130 135 140

Ile His Arg Ala Lys Phe Ile Gln Ser Gln Asp Tyr Gln Cys Ser Ala

145 150 155 160

Leu Met Gly Gly Arg Lys Val Met Ser Ile Ser Ile Arg Leu Lys Val

165 170 175

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

180 185 190

Leu Val Arg Ile Arg Gly Glu Ala Ala Gln Ile Val Cys Ser Ala Ser

195 200 205

Ser Val Asp Val Asn Phe Asp Val Phe Leu Gln His Asn Asn Thr Lys

210 215 220

Leu Ala Ile Pro Gln Gln Ser Asp Phe His Asn Asn Arg Tyr Gln Lys

225 230 235 240

Val Leu Thr Leu Asn Leu Asp Gln Val Asp Phe Gln His Ala Gly Asn

245 250 255

Tyr Ser Cys Val Ala Ser Asn Val Gln Gly Lys His Ser Thr Ser Met

260 265 270

Phe Phe Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Val Ile Trp Thr Phe Ile Asn

275 280 285

Gly Ser Gly Thr Leu Leu Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Pro Gln Pro Asn

290 295 300

Val Thr Trp Leu Gln Cys Ser Gly His Thr Asp Arg Cys Asp Glu Ala
305 310 315 320

Gln Val Leu Gln Val Trp Asp Asp Pro Tyr Pro Glu Val Leu Ser Gln
325 330 335

Glu Pro Phe His Lys Val Thr Val Gln Ser Leu Leu Thr Val Glu Thr
340 345 350

Leu Glu His Asn Gln Thr Tyr Glu Cys Arg Ala His Asn Ser Val Gly

355 360 365

Ser Gly Ser Trp Ala Phe Ile Pro Ile Ser Ala Gly Ala His Thr His
370 375 380

Pro Pro Asp Glu
385

<210> 66

<211> 292

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> human CSF-1R fragment D1-D3

<400> 66

Ile Pro Val Ile Glu Pro Ser Val Pro Glu Leu Val Val Lys Pro Gly
1 5 10 15

Ala Thr Val Thr Leu Arg Cys Val Gly Asn Gly Ser Val Glu Trp Asp

20 25 30

Gly Pro Pro Ser Pro His Trp Thr Leu Tyr Ser Asp Gly Ser Ser Ser

35 40 45

Ile Leu Ser Thr Asn Asn Ala Thr Phe Gln Asn Thr Gly Thr Tyr Arg
50 55 60

Cys Thr Glu Pro Gly Asp Pro Leu Gly Gly Ser Ala Ala Ile His Leu
65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Phe Glu Asp Gln Asp Ala Leu Leu Pro Cys Leu Leu Thr Asp

100 105 110

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

115 120 125

Leu Met Arg His Thr Asn Tyr Ser Phe Ser Pro Trp His Gly Phe Thr

130 135 140

Ile His Arg Ala Lys Phe Ile Gln Ser Gln Asp Tyr Gln Cys Ser Ala

145 150 155 160

Leu Met Gly Gly Arg Lys Val Met Ser Ile Ser Ile Arg Leu Lys Val

165 170 175

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

180 185 190

Leu Val Arg Ile Arg Gly Glu Ala Ala Gln Ile Val Cys Ser Ala Ser

195 200 205

Ser Val Asp Val Asn Phe Asp Val Phe Leu Gln His Asn Asn Thr Lys

210 215 220

Leu Ala Ile Pro Gln Gln Ser Asp Phe His Asn Asn Arg Tyr Gln Lys

225 230 235 240

Val Leu Thr Leu Asn Leu Asp Gln Val Asp Phe Gln His Ala Gly Asn

245 250 255

Tyr Ser Cys Val Ala Ser Asn Val Gln Gly Lys His Ser Thr Ser Met

260 265 270

Phe Phe Arg Val Val Glu Ser Ala Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Glu Gln

275 280 285

Asn Leu Ile Gln

290

<210> 67

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> signal peptide

<400> 67

Met Gly Ser Gly Pro Gly Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala

1 5 10 15

Trp His Gly Gln Gly

20

<210> 68

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Primer

<400> 68

cacctccatg ttcttccggt acccccaga ggtaag 36

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 69

Asp Leu Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 70

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 70

Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 71

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Asp Ile Ser

1 5 10

<210> 72

<211

> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 72

Gly Gln Ser Phe Thr Tyr Pro Thr

1 5

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 73

Gly Ser Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 74

Lys Ala Ser Glu Asp Val Gly Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 75

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 75

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Pro Phe Met

50 55 60

Ser Arg Leu Arg Ile Ser Lys Asp Asp Ser Arg Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Val Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val

85 90 95

Arg Asp Leu Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 76

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 76

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Val Gly Thr Tyr

20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 77

Asp Pro Arg Leu Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 78

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 78

Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Gly Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 79

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 79

Gly Ser Ser Leu Asp Ser Phe Asp Ile Ser

1 5 10

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 80

Gly Gln Thr Phe Ser Tyr Pro Thr

1 5

<210> 81

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 81

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 82

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 82

Lys Ala Ser Glu Asp Val Val Thr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 83

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 83

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Leu Asp Ser Phe

20 25 30

Asp Ile Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Gly Phe Met

50 55 60

Ser Arg Leu Arg Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Met Ser Ser Leu Gln Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val

85 90 95

Arg Asp Pro Arg Leu Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 84

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 84

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 85

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> human CSF-1R fragment domains D4-D5

<400> 85

Val Val Glu Ser Ala Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Glu Gln Asn Leu Ile

1 5 10 15

Gln Glu Val Thr Val Gly Glu Gly Leu Asn Leu Lys Val Met Val Glu

20 25 30

Ala Tyr Pro Gly Leu Gln Gly Phe Asn Trp Thr Tyr Leu Gly Pro Phe

35 40 45

Ser Asp His Gln Pro Glu Pro Lys Leu Ala Asn Ala Thr Thr Lys Asp

50 55 60

Thr Tyr Arg His Thr Phe Thr Leu Ser Leu Pro Arg Leu Lys Pro Ser

65 70 75 80

Glu Ala Gly Arg Tyr Ser Phe Leu Ala Arg Asn Pro Gly Gly Trp Arg

85 90 95

Ala Leu Thr Phe Glu Leu Thr Leu Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Val

100 105 110

Ile Trp Thr Phe Ile Asn Gly Ser Gly Thr Leu Leu Cys Ala Ala Ser

115 120 125

Gly Tyr Pro Gln Pro Asn Val Thr Trp Leu Gln Cys Ser Gly His Thr
130 135 140
Asp Arg Cys Asp Glu Ala Gln Val Leu Gln Val Trp Asp Asp Pro Tyr
145 150 155 160
Pro Glu Val Leu Ser Gln Glu Pro Phe His Lys Val Thr Val Gln Ser
165 170 175
Leu Leu Thr Val Glu Thr Leu Glu His Asn Gln Thr Tyr Glu Cys Arg
180 185 190

Ala His Asn Ser Val Gly Ser Gly Ser Trp Ala Phe Ile Pro Ile Ser
195 200 205
Ala Gly Ala His Thr His Pro Pro Asp Glu
210 215

<210> 86
<211> 554
<212> PRT
<213> homo sapiens
<400> 86
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1 5 10 15
Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
20 25 30

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

Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu

100 105 110

Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu

115 120 125

Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln

130 135 140

Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu

145 150 155 160

Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala

165 170 175

Glu Cys Ser Ser Gln Asp Val Val Thr Lys Pro Asp Cys Asn Cys Leu

180 185 190

Tyr Pro Lys Ala Ile Pro Ser Ser Asp Pro Ala Ser Val Ser Pro His

195 200 205

Gln Pro Leu Ala Pro Ser Met Ala Pro Val Ala Gly Leu Thr Trp Glu

210 215 220

Asp Ser Glu Gly Thr Glu Gly Ser Ser Leu Leu Pro Gly Glu Gln Pro

225 230 235 240

Leu His Thr Val Asp Pro Gly Ser Ala Lys Gln Arg Pro Pro Arg Ser

245 250 255

Thr Cys Gln Ser Phe Glu Pro Pro Glu Thr Pro Val Val Lys Asp Ser

260 265 270

Thr Ile Gly Gly Ser Pro Gln Pro Arg Pro Ser Val Gly Ala Phe Asn

275 280 285

Pro Gly Met Glu Asp Ile Leu Asp Ser Ala Met Gly Thr Asn Trp Val

290 295 300

Pro Glu Glu Ala Ser Gly Glu Ala Ser Glu Ile Pro Val Pro Gln Gly

305 310 315 320

Thr Glu Leu Ser Pro Ser Arg Pro Gly Gly Gly Ser Met Gln Thr Glu

325 330 335

Pro Ala Arg Pro Ser Asn Phe Leu Ser Ala Ser Ser Pro Leu Pro Ala

340 345 350

Ser Ala Lys Gly Gln Gln Pro Ala Asp Val Thr Gly Thr Ala Leu Pro
355 360 365

Arg Val Gly Pro Val Arg Pro Thr Gly Gln Asp Trp Asn His Thr Pro
370 375 380

Gln Lys Thr Asp His Pro Ser Ala Leu Leu Arg Asp Pro Pro Glu Pro
385 390 395 400

Gly Ser Pro Arg Ile Ser Ser Leu Arg Pro Gln Gly Leu Ser Asn Pro
405 410 415

Ser Thr Leu Ser Ala Gln Pro Gln Leu Ser Arg Ser His Ser Ser Gly
420 425 430

Ser Val Leu Pro Leu Gly Glu Leu Glu Gly Arg Arg Ser Thr Arg Asp
435 440 445

Arg Arg Ser Pro Ala Glu Pro Glu Gly Gly Pro Ala Ser Glu Gly Ala
450 455 460

Ala Arg Pro Leu Pro Arg Phe Asn Ser Val Pro Leu Thr Asp Thr Gly
465 470 475 480

His Glu Arg Gln Ser Glu Gly Ser Phe Ser Pro Gln Leu Gln Glu Ser
485 490 495

Val Phe His Leu Leu Val Pro Ser Val Ile Leu Val Leu Leu Ala Val
500 505 510

Gly Gly Leu Leu Phe Tyr Arg Trp Arg Arg Arg Ser His Gln Glu Pro
515 520 525

Gln Arg Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Pro Glu Gly Ser Pro Leu Thr
530 535 540

Gln Asp Asp Arg Gln Val Glu Leu Pro Val
545 550

<210> 87

<211> 242

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 87

Met Pro Arg Gly Phe Thr Trp Leu Arg Tyr Leu Gly Ile Phe Leu Gly

1 5 10 15

Val Ala Leu Gly Asn Glu Pro Leu Glu Met Trp Pro Leu Thr Gln Asn

20 25 30

Glu Glu Cys Thr Val Thr Gly Phe Leu Arg Asp Lys Leu Gln Tyr Arg

35 40 45

Ser Arg Leu Gln Tyr Met Lys His Tyr Phe Pro Ile Asn Tyr Lys Ile

50 55 60

Ser Val Pro Tyr Glu Gly Val Phe Arg Ile Ala Asn Val Thr Arg Leu

65 70 75 80

Gln Arg Ala Gln Val Ser Glu Arg Glu Leu Arg Tyr Leu Trp Val Leu

85 90 95

Val Ser Leu Ser Ala Thr Glu Ser Val Gln Asp Val Leu Leu Glu Gly

100 105 110

His Pro Ser Trp Lys Tyr Leu Gln Glu Val Glu Thr Leu Leu Leu Asn

115 120 125

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

130 135 140

Val Leu Ser Leu Leu Asn Ala Pro Gly Pro Asn Leu Lys Leu Val Arg

145 150 155 160

Pro Lys Ala Leu Leu Asp Asn Cys Phe Arg Val Met Glu Leu Leu Tyr

165 170 175

Cys Ser Cys Cys Lys Gln Ser Ser Val Leu Asn Trp Gln Asp Cys Glu

180 185 190

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

195 200 205

Ala Thr Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Pro Trp Ser Pro Ser Ser Pro Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Pro

<210> 88

<211> 290

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 88

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu

210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His

225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr

245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys

260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu

275 280 285

Glu Thr

290

<210> 89

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 89

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> 90

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 90

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> 91

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 91

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 Gly 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 Leu Pro Tyr Gly Gly Ser Ser 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> 92

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 92

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> 93

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 93

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 Tyr Asn Val Pro Trp
85 90 95

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

<210> 94

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 94

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 Tyr Ala Pro Pro Trp

85 90 95

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

100 105

<210> 95

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 95

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 Tyr Thr Val Pro Trp

85 90 95

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

100 105

<210> 96

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 96

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 Val Ile Asn Thr Phe
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala 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 Tyr Thr Val Pro Arg
85 90 95

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

<210> 97

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 97

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 Gly Tyr Gly Val Pro Arg

85 90 95

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

100 105

<210> 98

<

211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 98

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 Phe Thr Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 99

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 99

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 Phe Ile Thr Pro Thr

85 90 95

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

100 105

<210> 100

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 100

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 Tyr Tyr Thr Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 101

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 101

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 Phe Phe Tyr Thr Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 102

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 102

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 Ser Leu Phe Thr Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 103

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 103

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 Ser Leu Tyr Thr Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 104

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 104

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 Ser Trp Tyr His Pro Pro
85 90 95

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

<210> 105

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 105

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 Phe Tyr Ile Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 106

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 106

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 Trp Tyr Thr Pro Thr

85 90 95

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

100 105

<210> 107

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 107

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 Ser Tyr Phe Ile Pro Pro

85 90 95

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

100 105