



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년05월09일
(11) 등록번호 10-2804118
(24) 등록일자 2025년04월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6886 (2018.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12Q 1/6886 (2022.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7010689
(22) 출원일자(국제) 2017년10월06일
심사청구일자 2020년09월29일
- (85) 번역문제출일자 2019년04월15일
(65) 공개번호 10-2019-0072528
(43) 공개일자 2019년06월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/055669
(87) 국제공개번호 WO 2018/068028
국제공개일자 2018년04월12일
- (30) 우선권주장
62/405,209 2016년10월06일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
Kazuhiko Shien 등, Lung Cancer, 99,
페이지79-87, 2016(2016.06.21.).*
Takehito Shukuya 등, Journal of Thoracic
Oncology, 11(7), 페이지976-988,
2016(2016.03.02.).*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
파운데이션 메디신 인코포레이티드
미국 메사추세츠 02141 케임브리지 세컨드 스트리트 150
- (72) 발명자
파브리지오, 데이비드
미국 02141 메사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150
프램튼, 개렛, 엠.
미국 02141 메사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장덕순, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 30 항

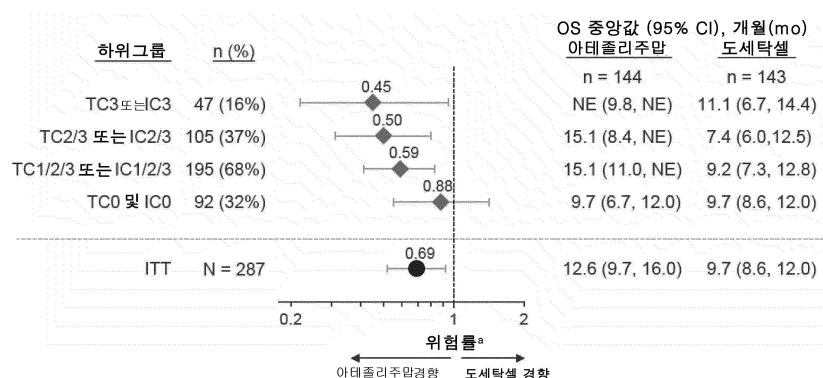
심사관 : 김현미

(54) 발명의 명칭 암에 대한 치료 및 진단 방법

(57) 요약

본 발명은 암, 예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종을 위한 치료 및 진단 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명은 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 (뒷면에 계속)

대표도



흑색종]을 치료하는 방법, 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종]을 앓고 있는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있는지의 여부를 결정하는 방법, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종]을 앓고 있는 환자의 반응성을 예측하는 방법, 및 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 스코어를 기준으로 하여, 암 (예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종)을 앓고 있는 환자에 대한 요법을 선택하는 방법을 제공하며, 상기 tTMB 스코어는 단독으로 또는 PD-L1 발현 수준 [예를 들어, 환자로부터 획득된 종양 샘플(종양 영역)의 종양 또는 종양 침윤성 면역 세포에서의 PD-L1 발현 수준]과 결합하여 환자로부터 획득된 종양 조직 샘플에서 유전자의 체세포 돌연변이 수준을 반영한다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2827 (2013.01)

G01N 33/57492 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C12Q 2600/106 (2013.01)

C12Q 2600/118 (2013.01)

C12Q 2600/156 (2013.01)

G01N 2333/70596 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

(72) 발명자

헤지, 프리티

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 디엔에이 웨이 1

코와네츠, 마신

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 디엔에이 웨이 1

스티븐스, 필립, 제이.

미국 02141 메사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

선, 제임스, 신

미국 02141 메사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

엘렌스키, 로만

미국 02462 메사추세츠주 뉴턴 라파예트 로드 34

조우, 웨이

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 디엔에이 웨이 1

세임스, 데이비드

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 디엔에이 웨이 1

명세서

청구범위

청구항 1

PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는, 암을 갖는 개체의 식별에 사용하기 위한 정보를 제공하는 방법이며,

여기서 방법은 개체 유래의 종양 샘플로부터 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 스코어를 측정하는 단계를 포함하고,

여기서 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는, 참조 tTMB 스코어 이상인 경우, 개체를 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 개체로 식별하고,

여기서 참조 tTMB 스코어는 메가염기당 16개 돌연변이 (mut/Mb)이고,

여기서 tTMB 스코어는 100 kb 내지 10 Mb의 서열분석된 염기의 정의된 수당 카운팅된 체세포 돌연변이의 수로서 나타내어지고, 여기서 카운팅된 체세포 돌연변이는 동의 변경(synonymous alteration)을 포함하고,

여기서 PD-L1 결합 길항제는

서열 번호 19의 HVR-H1 서열,

서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및

서열 번호 21의 HVR-H3 서열

을 포함하는 중쇄 및

서열 번호 22의 HVR-L1 서열,

서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및

서열 번호 24의 HVR-L3 서열

을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-PD-L1 항체이고;

여기서 암은 폐암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 균상 식육종, 메르켈 세포암, 자궁내막암, 피부암 또는 혈액 악성종양인

방법.

청구항 2

암을 갖는 개체를 위한 항암 요법의 선택에 사용하기 위한 정보를 제공하는 방법이며,

여기서 방법은 개체 유래의 종양 샘플로부터 tTMB 스코어를 측정하는 단계를 포함하고,

여기서 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는, 참조 tTMB 스코어 이상인 경우, 개체를 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 항암 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 개체로 식별하고,

여기서 참조 tTMB 스코어는 16 mut/Mb이고,

여기서 tTMB 스코어는 100 kb 내지 10 Mb의 서열분석된 염기의 정의된 수당 카운팅된 체세포 돌연변이의 수로서 나타내어지고, 여기서 카운팅된 체세포 돌연변이는 동의 변경(synonymous alteration)을 포함하고,

여기서 PD-L1 결합 길항제는

서열 번호 19의 HVR-H1 서열,

서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및

서열 번호 21의 HVR-H3 서열

을 포함하는 중쇄 및

서열 번호 22의 HVR-L1 서열,

서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및

서열 번호 24의 HVR-L3 서열

을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-PD-L1 항체이고;

여기서 암은 폐암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 균상 식육종, 메르켈 세포암, 자궁내막암, 피부암 또는 혈액 악성종양인

방법.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 종양 샘플이, 사전-결정된 유전자 세트에서 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이 대비 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측된 것인 방법이며,

여기서 사전-결정된 유전자 세트는 ABL1, ABL2, ACVR1B, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AMER1 (FAM123B), APC, AR, ARAF, ARFRP1, ARID1A, ARID1B, ARID2, ASXL1, ATM, ATR, ATRX, AURKA, AURKB, AXIN1, AXL, BAP1, BARD1, BCL2, BCL2L1, BCL2L2, BCL6, BCOR, BCORL1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BTG1, BTK, C11orf30 (EMSY), CARD11, CBF, CBL, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD79A, CD79B, CDC73, CDH1, CDK12, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CHD2, CHD4, CHEK1, CHEK2, CIC, CREBBP, CRKL, CRLF2, CSF1R, CTCF, CTNNA1, CTNNB1, CUL3, CYLD, DAXX, DDR2, DICER1, DNMT3A, DOT1L, EGFR, EP300, EPHA3, EPHA5, EPHA7, EPHB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERG, ERFF11, ESR1, EZH2, FAM46C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL, FAS, FAT1, FBX27, FGF10, FGF14, FGF19, FGF23, FGF3, FGF4, FGF6, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FLCN, FLT1, FLT3, FLT4, FOXL2, FOXP1, FRS2, FUBP1, GABRA6, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, GID4 (C17orf39), GLI1, GNA11, GNA13, GNAQ, GNAS, GPR124, GRIN2A, GRM3, GSK3B, H3F3A, HGF, HNF1A, HRAS, HSD3B1, HSP90AA1, IDH1, IDH2, IGF1R, IGF2, IKBKE, IKZF1, IL7R, INHBA, INPP4B, IRF2, IRF4, IRS2, JAK1, JAK2, JAK3, JUN, KAT6A (MYST3), KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KEAP1, KEL, KIT, KLHL6, KMT2A (MLL), KMT2C (MLL3), KMT2D (MLL2), KRAS, LMO1, LRP1B, LYN, LZTR1, MAGI2, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K4, MAP3K1, MCL1, MDM2, MDM4, MED12, MEF2B, PRSS8, NSD1, RARB1, RPTCH2, PIK3C1, PTEN, PTPN11, QKI, RAC1, RAD50, RAD51, RAF1, RANBP2, RARA, RB1, RBM10, RET, RICTOR, RNF43, ROS1, RPTOR, RUNX1, RUNX1T1, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SETD2, SF3B1, SLIT2, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMO, SNCAIP, SOCS1, SOX10, SOX2, SOX9, SPEN, SPOP, SPTA1, SRC, STAG2, STAT3, STAT4, STK11, SUFU, SYK, TAF1, TBX3, TERC, TERT (프로모터 단독), TET2, TGFB2, TNFAIP3, TNFRSF14, TOP1, TOP2A, TP53, TSC1, TSC2, TSHR, U2AF1, VEGFA, VHL, WISP3, WT1, XPO1, ZBTB2, ZNF217, 및 ZNF703로 이루어진 것인

방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 종양 샘플이, 사전-결정된 유전자 세트에서 유전자의 적어도 1/3, 1/2, 2/3, 3/4, 또는 모든 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이 대비 사전-결정된 유전자 세트에서 유전자의 적어도 1/3, 1/2, 2/3, 3/4, 또는 모든 유전자에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측된 것인 방법.

청구항 5

청구항 3에 있어서,

- (i) 체세포 돌연변이가 치환, 결실, 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되거나; 또는
- (ii) 사전-결정된 유전자 세트에서 적어도 하나의 유전자의 체세포 돌연변이가 단백질-변경 체세포 돌연변이인

방법.

청구항 6

청구항 5에 있어서,

- (i) 치환, 결실 또는 삽입이 암호화 영역에 존재하거나; 또는
- (ii) 결실 또는 삽입이 삽입-결실(indel)인

방법.

청구항 7

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

- (i) 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어가 16 mut/Mb 이상 또는 20 mut/Mb 이상이거나;
- (ii) 서열분석된 염기의 정의된 수는 1.1 Mb이거나;
- (iii) tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어가 증가 TMB 값이거나;
- (iv) 종양 샘플이 종양 샘플 내 종양 세포의 1% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 20% 이상 또는 50% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측되었거나;
- (v) 종양 샘플이 종양 샘플 내 종양 세포에서 검출불가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측되었거나;
- (vi) 종양 샘플이 종양 샘플 내 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측되었거나; 또는
- (vii) 종양 샘플이 종양-침윤 면역 세포에서 검출불가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측된 것인

방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

- (i) 증가 TMB 값은 전체-엑솜 서열분석 (WES)에 의해 예측되거나; 또는
- (ii) 종양 샘플이 종양 샘플의 1% 이상, 5% 이상, 또는 10% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측된 것인

방법.

청구항 9

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 항-PD-L1 항체가 아테졸리주맙인 방법.

청구항 10

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

- (i) PD-L1 측 결합 길항제가 제2 치료제와 조합 투여되도록 제제화되거나;
- (ii) 폐암이 비-소세포 폐암 (NSCLC)이거나; 또는
- (iii) 종양 샘플이 포르말린-고정 및 파라핀-포매된(FFPE) 종양 샘플, 보관(archival) 종양 샘플, 신선한 종양 샘플, 또는 동결된 종양 샘플인

방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서,

- (i) 제2 치료제가 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제 또는 이들의 조합물이거나; 또는

(ii) NSCLC는 국소적 진행성 NSCLC, 전이성 NSCLC, IIIB기 NSCLC, IV기 NSCLC, 또는 재발성 NSCLC인 방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 개체가 NSCLC에 대한 백금-함유 요법에 의한 사전-치료를 적어도 1 또는 적어도 2회 받은 적이 있거나 또는 개체가 NSCLC에 대한 백금-함유 요법에 의한 사전-치료를 받은 적이 없는 것인 방법.

청구항 13

청구항 8에 있어서,

(i) PD-L1의 발현 수준이 단백질 발현 수준이거나; 또는

(ii) PD-L1의 발현 수준이 mRNA 발현 수준인

방법.

청구항 14

청구항 13에 있어서,

(i) PD-L1의 단백질 발현 수준이 면역조직화학 (IHC), 면역형광, 유세포측정 및 웨스턴 블롯으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법을 사용하여 측정되거나; 또는

(ii) PD-L1의 mRNA 발현 수준은 정량적 중합효소 연쇄 반응 (qPCR), 역전사 qPCR (RT-qPCR), RNA 서열분석, 마이크로어레이 분석, 동일계내(in situ) 하이브리드화, 및 유전자 발현의 연속 분석 (SAGE)으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법을 사용하여 측정된 것인

방법.

청구항 15

제14항에 있어서, PD-L1의 단백질 발현 수준이 항-PD-L1 항체를 사용하여 검출되는 것인 방법.

청구항 16

PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는, 암을 갖는 개체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며,

여기서 방법은

(i) 개체 유래의 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어를 측정하는 단계이며,

여기서 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어가 참조 tTMB 스코어 이상이며,

여기서 참조 tTMB 스코어는 16 mut/Mb이고,

여기서 tTMB 스코어는 100 kb 내지 10 Mb의 서열분석된 염기의 정의된 수당 카운팅된 체세포 돌연변이의 수로서 나타내어지고,

여기서 카운팅된 체세포 돌연변이는 동의 변경을 포함하고,

여기서 암은 폐암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 근상 식육종, 메르켈 세포암, 자궁내막암, 피부암 또는 혈액 악성종양인

단계; 및

(ii) 개체에 유효량의 PD-L1 측 결합 길항제를 투여하는 단계이며,

여기서 PD-L1 결합 길항제는

서열 번호 19의 HVR-H1 서열,

서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및

서열 번호 21의 HVR-H3 서열

을 포함하는 중쇄 및

서열 번호 22의 HVR-L1 서열,

서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및

서열 번호 24의 HVR-L3 서열

을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-PD-L1 항체인 단계

를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 17

암을 앓는 개체를 치료하는 데 사용하기 위한, PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 약제학적 조성물이며,

여기서 개체 유래의 종양 샘플은 참조 tTMB 스코어 이상인 tTMB 스코어를 갖는 것으로 계측되었고,

여기서 참조 tTMB 스코어는 16 mut/Mb이고,

여기서 tTMB 스코어는 100 kb 내지 10 Mb의 서열분석된 염기의 정의된 수당 카운팅된 체세포 돌연변이의 수로서 나타내어지고,

여기서 카운팅된 체세포 돌연변이는 동의 변경을 포함하고,

여기서 암은 폐암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선 암, 육종, 전립선암, 고모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 균상 식육종, 메르켈 세포 암, 자궁내막암, 피부암 또는 혈액 악성종양이고,

여기서 PD-L1 결합 길항제는

서열 번호 19의 HVR-H1 서열,

서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및

서열 번호 21의 HVR-H3 서열

을 포함하는 중쇄 및

서열 번호 22의 HVR-L1 서열,

서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및

서열 번호 24의 HVR-L3 서열

을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-PD-L1 항체인

약제학적 조성물.

청구항 18

청구항 16 또는 17에 있어서, 종양 샘플이, 사전-결정된 유전자 세트에서 적어도 하나의 유전자에서에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이 대비 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측된 것인 약제학적 조성물이며,

여기서 사전-결정된 유전자 세트는 ABL1, ABL2, ACVR1B, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AMER1 (FAM123B), APC, AR, ARAF, ARFRP1, ARID1A, ARID1B, ARID2, ASXL1, ATM, ATR, ATRX, AURKA, AURKB, AXIN1, AXL, BAP1, BARD1, BCL2, BCL2L1, BCL2L2, BCL6, BCOR, BCORL1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BTG1, BTK, C11orf30 (EMS), CARD11, CBF, CBL, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD79A, CD79B, CDC73, CDH1, CDK12, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CHD2, CHD4, CHEK1, CHEK2, CIC, CREBBP, CRKL, CRLF2, CSF1R, CTCF, CTNNA1, CTNNB1, CUL3, CYLD, DAXX, DDR2, DICER1, DNMT3A, DOT1L, EGFR, EP300, EPHA3, EPHA5, EPHA7, EPHB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERG, ERFFI1, ESR1, EZH2, FAM46C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL, FAS, FAT1, FBX27, FGF10, FGF14, FGF19, FGF23, FGF3, FGF4, FGF6, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FLCN, FLT1, FLT3, FLT4, FOXL2, FOXP1, FRS2, FUBP1, GABRA6, GATA1,

GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, GID4 (C17orf39), GLI1, GNA11, GNA13, GNAQ, GNAS, GPR124, GRIN2A, GRM3, GSK3B, H3F3A, HGF, HNF1A, HRAS, HSD3B1, HSP90AA1, IDH1, IDH2, IGF1R, IGF2, IKBKE, IKZF1, IL7R, INHBA, INPP4B, IRF2, IRF4, IRS2, JAK1, JAK2, JAK3, JUN, KAT6A (MYST3), KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KEAP1, KEL, KIT, KLHL6, KMT2A (MLL), KMT2C (MLL3), KMT2D (MLL2), KRAS, LMO1, LRP1B, LYN, LZTR1, MAGI2, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K4, MAP3K1, MCL1, MDM2, MDM4, MED12, MEF2B, PRSS8, NSD1, RARB1, RPTCH2, PIK3C1, PTEN, PTPN11, QKI, RAC1, RAD50, RAD51, RAF1, RANBP2, RARA, RB1, RBM10, RET, RICTOR, RNF43, ROS1, RPTOR, RUNX1, RUNX1T1, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SETD2, SF3B1, SLIT2, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMO, SNCAIP, SOCS1, SOX10, SOX2, SOX9, SPEN, SPOP, SPTA1, SRC, STAG2, STAT3, STAT4, STK11, SUFU, SYK, TAF1, TBX3, TERC, TERT (프로모터 단독), TET2, TGFB2, TNFAIP3, TNFRSF14, TOP1, TOP2A, TP53, TSC1, TSC2, TSHR, U2AF1, VEGFA, VHL, WISP3, WT1, XPO1, ZBTB2, ZNF217, 및 ZNF703로 이루어진 것인

약제학적 조성물.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 종양 샘플이, 사전-결정된 유전자 세트에서 유전자의 적어도 1/3, 1/2, 2/3, 3/4, 또는 모든 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이 대비 사전-결정된 유전자 세트에서 유전자의 적어도 1/3, 1/2, 2/3, 3/4, 또는 모든 유전자에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측된 것인 약제학적 조성물.

청구항 20

청구항 18에 있어서,

- (i) 체세포 돌연변이가 치환, 결실, 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되거나; 또는
- (ii) 사전-결정된 유전자 세트에서 적어도 하나의 유전자의 체세포 돌연변이가 단백질-변경 체세포 돌연변이인

약제학적 조성물.

청구항 21

청구항 20에 있어서,

- (i) 치환, 결실 또는 삽입이 암호화 영역에 존재하거나; 또는
- (ii) 결실 또는 삽입이 삽입-결실인

약제학적 조성물.

청구항 22

청구항 16 또는 청구항 17에 있어서,

- (i) 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어가 16 mut/Mb 이상 또는 20 mut/Mb 이상이거나;
- (ii) 서열분석된 염기의 정의된 수는 1.1 Mb이거나;
- (iii) tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어가 증가 TMB 값이거나;
- (iv) 종양 샘플이, 종양 샘플 내 종양 세포의 1% 이상, 5% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 또는 50% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측되었거나;
- (v) 종양 샘플이 종양 샘플 내 종양 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측되었거나;
- (vi) 종양 샘플이 종양 샘플 내 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측되었거나; 또는
- (vii) 종양 샘플이 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 예측된 것인

약제학적 조성물.

청구항 23

청구항 22에 있어서,

- (i) 등가 TMB 값은 전체-엑솜 서열분석 (WES)에 의해 측정되거나; 또는
- (ii) 종양 샘플이 종양 샘플의 1% 이상, 5% 이상, 또는 10% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정된 것인

약제학적 조성물.

청구항 24

청구항 16 또는 청구항 17에 있어서, 항-PD-L1 항체가 아테졸리주맙인 약제학적 조성물.

청구항 25

청구항 16 또는 청구항 17에 있어서,

- (i) 약제학적 조성물이 제2 치료제와 조합 투여되도록 제제화되거나;
- (ii) 폐암이 비-소세포 폐암 (NSCLC)이거나; 또는
- (iii) 종양 샘플이 포르말린-고정 및 파라핀-포매된 (FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 신선한 종양 샘플, 또는 동결된 종양 샘플인

약제학적 조성물.

청구항 26

청구항 25에 있어서,

- (i) 제2 치료제가 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제 또는 이들의 조합물이거나; 또는
- (ii) NSCLC는 국소적 진행성 NSCLC, 전이성 NSCLC, IIIB기 NSCLC, IV기 NSCLC, 또는 재발성 NSCLC인

약제학적 조성물.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 개체가 NSCLC에 대한 백금-함유 요법에 의한 사전-치료를 적어도 1 또는 적어도 2회 받은 적이 있거나 또는 개체가 NSCLC에 대한 백금-함유 요법에 의한 사전-치료를 받은 적이 없는 것인 약제학적 조성물.

청구항 28

청구항 22에 있어서,

- (i) PD-L1의 발현 수준이 단백질 발현 수준이거나; 또는
- (ii) PD-L1의 발현 수준이 mRNA 발현 수준인

약제학적 조성물.

청구항 29

청구항 28에 있어서,

- (i) PD-L1의 단백질 발현 수준이 면역조직화학 (IHC), 면역형광, 유세포측정 및 웨스턴 블롯으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법을 사용하여 측정되거나; 또는
- (ii) PD-L1의 mRNA 발현 수준은 정량적 중합효소 연쇄 반응 (qPCR), 역전사 qPCR (RT-qPCR), RNA 서열분석, 마이크로어레이 분석, 동일계내 하이브리드화, 및 유전자 발현의 연속 분석 (SAGE)으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법을 사용하여 측정된 것인

약제학적 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, PD-L1의 단백질 발현 수준이 항-PD-L1 항체를 사용하여 검출되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 병리 상태, 예를 들어, 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암 (NSCLC)), 방광암 (예를 들어, 요로상피암 (UC)), 신장암 (예를 들어, 신장 세포암 (RCC)), 유방암 (예를 들어, 삼중-음성 유방암 (TNBC)), 또는 흑색종]을 위한 치료 및 진단 방법 및 조성물, 및 PD-L1 측 결합 길항제를 사용하는 방법이 본원에 제공된다. 특히, 본 발명은 환자 선택 및 진단을 위한 방법, 치료 방법, 제조 물품, 진단 키트, 및 검출의 방법을 제공한다.

배경 기술

[0002] 암은 인간 건강에 가장 치명적인 위협들 중 하나로 남아 있다. 암, 또는 악성 종양은 전이되고 통제불가하게 빠른 속도로 자라서, 시의적절한 검출 및 치료를 의미있게 어렵게 만들고 있다. 미국에서, 암은 매년 거의 130만 명의 새 환자에게 영향을 미치고 있고, 심장병 다음으로 두 번째로 주요한 사망 원인으로, 사망 4건 당 약 1건을 차지한다. 예를 들어, 폐암은 암의 가장 통상적인 유형이며, 그리고 이는 미국에서 여성에 대한 암-관련 사망률의 주된 원인이다. 전이성 비-소세포 폐암 (NSCLC)은, 특히, 매우 불량한 결과와 관련되며, 그리고 이는 약 1%의 5-개년 생존율을 갖는다.

[0003] 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1)은 만성 감염, 임신, 조직 동종이식, 자가면역 질환, 및 암 동안에 면역계 반응의 억제에서 관련되는 단백질이다. PD-L1은, T-세포, B-세포, 및 단핵 세포의 표면상에서 발현되는 억제성 수용체(프로그램된 사멸 1 (PD-1)로도 알려짐)에 대한 결합에 의해 면역 반응을 조절한다. PD-L1은 또 다른 수용체, B7-1과 또한 상호작용을 통해 T-세포 기능을 음성으로 조절한다. PD-L1/PD-1 및 PD-L1/B7-1 복합체의 형성은 T-세포 수용체 신호 전달을 음성으로 조절하여, T 세포 활성화의 후속 하향조절 및 항-종양 면역성 활성화의 억제를 초래한다.

[0004] 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암 (NSCLC)), 방광암 (예를 들어, 요로상피암 (UC)), 신장암 (예를 들어, 신장 세포암 (RCC)), 유방암 (예를 들어, 삼중-음성 유방암 (TNBC)), 또는 흑색종]의 치료는 상당한 진보에도 불구하고, 여전히 개선된 요법 및 진단 방법을 찾고 있다.

발명의 내용

- [0005] 본 발명은 암, 예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종을 위한 치료 및 진단 방법 및 조성물을 제공한다.
- [0006] 일 양태에서, 본 발명은 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 암 개체를 식별하는 방법을 특징으로 하며, 상기 방법은 상기 개체 유래의 종양 샘플로부터 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 스코어를 측정하는 단계를 포함하며, 여기서 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어가, 참조 tTMB 스코어 이상인 경우, 상기 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 개체로 식별한다.
- [0007] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 갖는 개체에 대하여 요법을 선택하기 위한 방법을 특징으로 하며, 상기 방법은 상기 개체 유래의 종양 샘플로부터 tTMB 스코어를 측정하는 단계를 포함하며, 여기서 참조 tTMB 스코어 이상의, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는, 상기 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 개체로 식별한다.
- [0008] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 이상이며, 그리고 상기 방법은 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0009] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 갖는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 하며, 상기 방법은 하기를 포함한다: (a) 개체 유래의 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어를 측정하는 단계로서, 상기 종양 샘플의 tTMB 스코어가 참조 tTMB 스코어 이상인, 단계, 및 (b) 상기 개체에 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계.
- [0010] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 갖는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 하며, 상기 방법은 상기 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 참조 tTMB 스코어 이상인 tTMB 스코어는 투여 이전에 개체 유래의 종양 샘플로부터 측정되었다.
- [0011] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 암을 갖는 개체의 참조 집단 내 tTMB 스코어이며, 개체 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료된 개체의 제1 서브세트 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료된 개체의 제2 서브세트로 이루어지며, 여기서 상기 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법은 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법에 의한 치료에 대한 반응성과 비교하여 PD-L1 축 결합 길항제 요법에 의한 반응성의 유의미한 차이를 기준으로 하여 개체의 제1 및 제2 서브세트 각각을 유의미하게 분리시킨다. 일부 구현예에서, 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법은 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제 또는 이들의 조합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존 (PFS)의 증가이다. 일부 구현예에서, 치료에 대한 반응성은 전체 생존 (OS)의 증가이다. 일부 구현예에서, 치료에 대한 반응성은 전체 반응 속도 (ORR)의 증가이다.
- [0012] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 개체 유래의 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/3의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/3에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 개체 유래의 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/2의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/2에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 개체 유래의 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 2/3의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 2/3에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 개체 유래의 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 3/4의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 3/4에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 개체 유래의 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다.
- [0013] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 체세포 돌연변이는 치환, 결실, 및/또는 삽입이다. 일부 구현예에서, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자의 체세포 돌연변이는 단백질-변경 체세포 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 치환, 결실, 및/또는 삽입은 암호화 영역 내에 존재한다. 일부 구현예에서, 결실 및/또는 삽입은 삽입-결실(indel)이다. 일부 구현예에서, 개체의 종양 샘플은 참조 수준 전체-게놈 돌연변이 부하보다 높은 전체-게놈 돌연변이 부하를 갖는다. 일부 구현예에서, 전체-게놈 돌연변이 부하 중앙값은 메가염기 당 적어도 약 10개 돌

연변이 (mut/Mb)이다.

- [0014] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 사전-배정된 tTMB 스코어이다. 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 메가염기 당 약 5개 내지 약 50개 돌연변이 (mut/Mb)이다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 약 8 내지 약 30 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 약 10 내지 약 20 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 약 10 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb이다.
- [0015] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 5 mut/Mb 이상이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 5 내지 약 100 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 10 mut/Mb 이상이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 10 내지 약 100 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb 이상이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb 이상이며, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb 이상이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb 이상이며, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb이다.
- [0016] 선행 양태 중 임의의 것의 기타 구현예에서, 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 미만이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 미만이며, 그리고 상기 방법은 추가로, 개체에게 PD-L1 축 결합 길항제에 부가하여, 또는 상기 길항제가 아닌 하나의 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 개체 유래의 종양 샘플은, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/3의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/3의 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/2의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/2에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 2/3의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 2/3에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 3/4의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 3/4에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여 표 1에 명시된 유전자의 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb 미만이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb 미만이며, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb 미만이다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb 미만이며, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb이다.
- [0017] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어는 한정된 수의 서열분석된 염기 당 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 일부 구현예에서, 한정된 수의 서열분석된 염기는 약 100 kb 내지 약 10 Mb이다. 일부 구현예에서, 한정된 수의 서열분석된 염기는 약 1.1 Mb이다.
- [0018] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어는 등가 TMB 값이다. 일부 구현예에서, 등가 TMB 값은 전체-엑솜 서열분석 (WES)에 의해 측정된다.
- [0019] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 종양 샘플 내 종양 세포 중 1% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포의 5% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포의 10% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포의 20% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포의 50% 이상에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정되었다.
- [0020] 선행 양태 중 임의의 것의 기타 구현예에서, 종양 샘플은 종양 샘플의 종양 세포에서 검출불가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 측정되었다.
- [0021] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플은, 종양 샘플 중 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발

현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 약 5% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 약 10% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다.

[0022] 선행 양태 중 임의의 것의 기타 구현예에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포에서 검출불가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다.

[0023] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제, 또는 PD-L2 결합 길항제이다. 일부 구현예에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 모두에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 아테졸리주맵 (MPDL3280A), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736 (두르발루맵), 또는 MSB0010718C (아벨루맵)이다. 일부 구현예에서, 항체는 하기를 포함한다: 서열 번호 19의 HVR-H1 서열, 서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 서열 번호 21의 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열 번호 22의 HVR-L1 서열, 서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 서열 번호 24의 HVR-L3 서열을 포함하는 경쇄. 일부 구현예에서, 항체는 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 모두에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 MDX-1106 (니볼루맵), MK-3475 (팜브롤리주맵), CT-011 (피딜리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 또는 BGB-108이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 일부 구현예에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다.

[0024] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 상기 방법은 개체에게 제2 치료제의 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제 또는 이들의 조합물이다.

[0025] 또 다른 양태에서, 본 발명은 (예컨대, 암을 앓는 개체를 치료하는데 사용하기 위한) PD-L1 축 결합 길항제를 특징으로 하며, 여기서 개체 유래의 종양 샘플은 참조 tTMB 스코어 이상인 tTMB 스코어를 갖는 것으로 계속되었으며, 그리고 선택적으로, 상기 종양 샘플은 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이, 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1, 및/또는 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다.

[0026] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 암을 앓는 개체를 치료하는데 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서의 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제의 용도를 특징으로 하며, 여기서 개체 유래의 종양 샘플은 참조 tTMB 스코어 이상인 tTMB 스코어를 갖는 것으로 계속되었으며, 그리고 선택적으로, 상기 종양 샘플은 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이, 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1, 및/또는 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다.

[0027] 또 다른 양태에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 방법에서 사용하기 위한, 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 조성물을 특징으로 하며, 여기서 개체 유래의 종양 샘플은 참조 tTMB 스코어 이상인 tTMB 스코어를 갖는 것으로 계속되었으며, 그리고 선택적으로, 상기 종양 샘플은 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이, 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1, 및/또는 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는 것으로 계속되었다.

- [0028] 선행 양태 중 어느 하나의 일부 구현예에서, 개체는 높은 수준의 미소부수체 불안정성 (MSI)을 갖고, 예를 들어, 개체의 종양 샘플은 MSI-높은 (MSI-H) 표현형을 갖는다.
- [0029] 선행 양태 중 어느 하나의 일부 구현예에서, 상기 암은 폐암, 신장암, 방광암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 균상식육종, 메르켈 세포암, 자궁내막암, 피부암, 또는 혈액성 악성종양이다. 일부 구현예에서, 상기 암은 폐암, 방광암, 흑색종, 신장암, 결장직장암, 또는 두경부암이다. 일부 구현예에서, 암은 폐암이다.
- [0030] 선행 양태 중 어느 하나의 일부 구현예에서, 폐암은 비-소세포 폐암 (NSCLC)이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 전이성 NSCLC이다. 다른 구현예에서, NSCLC는 국소 진행성 NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 단계 IIIB NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 단계 IV NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 재발성 NSCLC이다. 일부 구현예에서, 개체는 NSCLC에 대한 백금-함유 요법에 의한 적어도 1회의 사전-치료를 수용하였다. 일부 구현예에서, 개체는 NSCLC에 대한 백금-함유 요법으로의 적어도 2회의 사전-치료를 받았다. 일부 구현예에서, 개체는 NSCLC에 대한 백금-함유 요법에 의한 사전-치료를 받지 않았다. 일부 구현예에서, 방광암은 국소 진행성 또는 전이성 요로상피 암종이다. 일부 구현예에서, 방광암은 전이성 요로상피 암종이다. 일부 구현예에서, 개체는 (i) 방광암에 대한 사전-치료를 받지 않았거나, (ii) 개체는 방광암에 대한 적어도 1회의 사전-치료 (예를 들어, 1 또는 2회의 사전-치료)를 받았다.
- [0031] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플은 포르말린-고정 및 파라핀-포매 (FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 신선한 종양 샘플, 또는 동결된 종양 샘플이다.
- [0032] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, PD-L1의 발현 수준은 단백질 발현 수준이다. 일부 구현예에서, PD-L1의 단백질 발현 수준은 면역조직화학 (IHC), 면역형광, 유세포측정, 및 웨스턴 블롯으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법을 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, PD-L1의 단백질 발현 수준은 IHC를 사용하여 측정되었다. 일부 구현예에서, PD-L1의 단백질 발현 수준은 항-PD-L1 항체를 사용하여 검출된다.
- [0033] 선행 양태 중 임의의 것의 일부 구현예에서, PD-L1의 발현 수준은 mRNA 발현 수준이다. 일부 구현예에서, PD-L1의 mRNA 발현 수준은 정량적 중합효소 연쇄 반응 (qPCR), 역전사 qPCR (RT-qPCR), RNA 서열분석, 마이크로어레이 분석, 동일계내 하이브리드화, 및 유전자 발현의 연속 분석 (SAGE)으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법을 사용하여 측정된다.

도면의 간단한 설명

- [0034] **도 1**은, POPLAR (임상 시험 ID 번호: NCT01903993) 환자 집단에서의 도세탁셀 치료와 비교하여, 아테졸리주맙 치료의 전체 생존 (OS) 이점을 도시하는 그래프이다. OS 이점은 증가된 PD-L1 발현과 관련이 있다. 그러나, 종양 세포 (TC) 및 종양-침윤성 면역 세포 (IC) 상에서 PD-L1 발현이 낮거나 없는 환자는 또한 아테졸리주맙에 의한 치료로부터 임상적 이점을 유도할 수 있다. TC0 및 IC0는 각각 TC 및 IC IHC 스코어 0을 나타낸다. TC1/2/3 및 IC1/2/3은 각각 1, 2, 또는 3의 TC 및 IC IHC 스코어를 표지한다. TC2/3 및 IC2/3은 각각 2 또는 3의 TC 및 IC IHC 스코어를 표지한다. TC3 및 IC3은 각각 3의 TC 및 IC IHC 스코어를 표지한다. 표 6은 TC 및 IC IHC 평가 기준의 요약표를 제공한다. ITT, 치료 의도; NE, 추정할 수 없음; ^a, 하위 그룹에 대한 비성충화되고, 그리고 ITT에 대해 성충화된 위험 비율 (HR); mo, 개월.
- 도 2a**는, 체세포 돌연변이 (또한 돌연변이 부하 또는 종양 돌연변이 부하 (TMB)로 지칭됨)의 수준은, BIRCH (임상 시험 ID 번호: NCT02031458) 및 FIR (임상 시험 ID 번호: NCT01846416) 환자 집단에서 RECIST v1.1에 의하여 측정 시, 아테졸리주맙에 대한 개선된 임상적 반응과 관련된다는 것을 도시하는 그래프이다. CR, 완전 반응; PR, 부분 반응; SD, 무변성 질환; PD, 진행성 질환.
- 도 2b**는 TMB가 BIRCH 및 FIR 환자 집단에서 개선된 무진행 생존 (PFS)과 관련되어 있음을 보여주는 그래프 세트이다. TMB 사분위수 컷오프 (예를 들어, 25%, 50% 및 75% TMB 사분위수) 및 그들의 관련 위험 비율은 좌측 패널에 제시된다. 우측 패널은 75% 미만의 TMB 사분위수 컷오프 (<75%) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75%) 환자에 대한 PFS 확률을 보여주는 카플란-마이어 플롯이다. ^b, 객관적 반응률 (ORR)은 바이오마커-평가가능 집단 (BEP) (n = 371) 및 ITT (n = 613) 집단 둘 모두에 대하여 19%였다.
- 도 2c**는 TMB가 BIRCH 및 FIR 환자 집단에서 개선된 전체 생존 (OS)과 관련된다는 것을 도시하는 그래프 세트이

다. TMB 사분위수 컷오프 (예를 들어, 25%, 50% 및 75% TMB 사분위수) 및 그들의 관련 위험 비율은 좌측 패널에 제시된다. 우측 패널은 75% 미만의 TMB 사분위수 컷오프 (<75%) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75%) 환자에 대한 OS 확률을 보여주는 카플란-마이어 플롯이다.^b, ORR은 BEP (n = 371) 및 ITT (n = 613) 집단 둘 모두에 대하여 19%였다.

도 3a는 무작위 POPLAR 연구 (임상 시험 ID 번호: NCT01903993) (상부 패널)로부터의 2L+ NSCLC PD-L1-비선택 환자에서의, 도세탁셀 치료의 효능과 비교된 TMB와 아테졸리주맵 치료의 효능 사이의 연관성을 보여주는 그래프 세트이다. 좌측 하부 패널은 75% 미만의 TMB 사분위수 컷오프 (<75%, 낮은 도세탁셀) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75%, 높은 도세탁셀)에서의 PFS 확률을 보여주는 카플란-마이어 플롯이다. 우측 하부 패널은 75% 미만의 TMB 사분위수 컷오프 (<75%, 낮은 아테졸리주맵) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75%, 높은 아테졸리주맵)에서 환자에 대한 PFS 확률을 도시하는 카플란-마이어 도식이다.^a, 각각의 tTMB 사분위수 컷오프에서 도세탁셀과 비교한 아테졸리주맵에 대한 비조정화 및 비성층화 HR.

도 3b는 무작위화된 POPLAR 연구 (상부 패널)에서 2L+ NSCLC PD-L1-비선택 환자에서의, 도세탁셀 치료의 효능과 비교된 TMB와 아테졸리주맵 치료의 효능 사이의 연관성을 보여주는 그래프 세트이다. 좌측 하부 패널은 75% 미만의 TMB 사분위수 컷오프 (<75%, 낮은 도세탁셀) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75%, 높은 도세탁셀)에서 OS 확률을 보여주는 카플란-마이어 플롯이다. 우측 하부 패널은 75% 미만의 TMB 사분위수 컷오프 (<75%, 낮은 아테졸리주맵) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75%, 높은 아테졸리주맵)에서 환자에 대한 OS 확률을 도시하는 카플란-마이어 도식이다.^a, 각각의 TMB 사분위수 컷오프에서 도세탁셀과 비교한 아테졸리주맵에 대한 비조정화 및 비성층화 HR.

도 4는 조합된 BIRCH, FIR 및 POPLAR 환자 집단에서 TC 또는 IC 상의 TMB 및 PD-L1 발현 사이의 연관성을 나타내는 그래프이다.

도 5는 아테졸리주맵 치료에 대한 반응이 TC 또는 IC 상의 TMB 증가 및 PD-L1 발현 수준의 증가에 의해 증가된다는 것을 보여주는 그래프이다.

도 6은, 체세포 돌연변이 (또한, 돌연변이 부하 또는 중앙 돌연변이 부하 (TMB)로도 지칭됨)의 수준은, BIRCH (임상 시험 ID 번호: NCT02031458) 및 FIR (임상 시험 ID 번호: NCT01846416) 환자 집단에서 RECIST v1.1에 의하여 계측 시, 아테졸리주맵에 대한 개선된 임상적 반응과 관련된다는 것을 도시하는 그래프이다. BCOR, 최적 확인된 전체 반응.

도 7a 및 **7b**는 BIRCH 및 FIR 연구의 전체 환자 집단에서의 TMB 및 아테졸리주맵 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 7a는 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<16 mut/Mb, <75% 사분위수에 상응함) 및 16 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥16 mut/Mb, ≥75% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 7b는 20 mut/Mb 미만의 컷오프 (<20 mut/Mb, <85% 사분위수에 상응함) 및 20 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥20 mut/Mb, ≥85% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 7c 및 **7d**는 BIRCH 및 FIR 연구의 제1-계열 (1L) 환자에서의 TMB 및 아테졸리주맵 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 7c는 9 mut/Mb 미만의 컷오프 (<50% 사분위수에 상응함) 및 9 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥50% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 7d는 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<85% 사분위수에 상응함) 및 16 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥85% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 7e 및 **7f**는 BIRCH 및 FIR 연구의 제2-계열 또는 제3-계열 (2L+) 환자에서의 TMB 및 아테졸리주맵 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 7e는 75% 미만의 사분위수 컷오프 (<75% 사분위수) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75% 사분위수) 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 7f는 85% 미만의 사분위수 컷오프 (<85 사분위수) 및 85% 이상의 사분위수 컷오프 (≥85 사분위수) 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 8a 및 **8b**는 BIRCH 및 FIR 연구의 전체 환자 집단에서의 TMB 및 아테졸리주맵 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 8a는 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<16 mut/Mb, <75% 사분위수에 상응함) 및 16 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥16 mut/Mb, ≥75% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 8b는 20 mut/Mb 미만의 컷오프 (<20 mut/Mb, <85% 사분위수에 상응함) 및 20 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥20 mut/Mb, ≥85% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 8c 및 8d는 BIRCH 및 FIR 연구의 1L 환자에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 8c는 9 mut/Mb 미만의 컷오프 (<50% 사분위수에 상응함) 및 9 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥50% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 8d는 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<85% 사분위수에 상응함) 및 16 mut/Mb 이상의 컷오프 (≥85% 사분위수에 상응함) 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 8e 및 8f는 BIRCH 및 FIR 연구의 2L+ 환자에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 8e는 75% 미만의 사분위수 컷오프 (<75% 사분위수) 및 75% 이상의 사분위수 컷오프 (≥75% 사분위수) 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 8f는 85% 미만의 사분위수 컷오프 (<85% 사분위수) 및 85% 이상의 사분위수 컷오프 (≥85% 사분위수) 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 9a 및 9b는 OAK (도 9a) 및 POPLAR (도 9b) 연구에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 그래프는 바이오마커-평가가능한 <16 mut/Mb, ≥16 mut/Mb, 및 ≥20 mut/Mb 하위 그룹에서의 반응의 비율을 나타낸다.

도 10a 및 10b는 POPLAR 연구에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 10a는 아테졸리주맙 (MPDL3280A) 또는 도세탁셀로 치료된 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<16 mut/Mb) 및 16 mut/Mb 이상 (≥16 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 10b는 아테졸리주맙 또는 도세탁셀로 치료된 20 mut/Mb 미만의 컷오프 (<20 mut/Mb) 및 20 mut/Mb 이상 (≥20 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 11a 및 11b는 POPLAR 연구에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 11a는 아테졸리주맙 (MPDL3280A) 또는 도세탁셀로 치료된 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<16 mut/Mb) 및 16 mut/Mb 이상 (≥16 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 11b는 아테졸리주맙 또는 도세탁셀로 치료된 20 mut/Mb 미만의 컷오프 (<20 mut/Mb) 및 20 mut/Mb 이상 (≥20 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 12a 및 12b는 OAK 연구에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 12a는 아테졸리주맙 또는 도세탁셀로 치료된 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<16 mut/Mb) 및 16 mut/Mb 이상 (≥16 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 12b는 아테졸리주맙 또는 도세탁셀로 치료된 20 mut/Mb 미만의 컷오프 (<20 mut/Mb) 및 20 mut/Mb 이상 (≥20 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 PFS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 13a 및 13b는 OAK 연구에서의 TMB 및 아테졸리주맙 치료의 효능 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 13a는 아테졸리주맙 (MPDL3280A) 또는 도세탁셀로 치료된 16 mut/Mb 미만의 컷오프 (<16 mut/Mb) 및 16 mut/Mb 이상 (≥16 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다. 도 13b는 아테졸리주맙 또는 도세탁셀로 치료된 20 mut/Mb 미만의 컷오프 (<20 mut/Mb) 및 20 mut/Mb 이상 (≥20 mut/Mb)의 컷오프 환자에 대한 OS 확률을 나타내는 카플란-마이어 플롯이다.

도 14a-14c는 16 mut/Mb 이상(≥) 및 20 mut/Mb 이상(≥)의 컷오프에서의 OAK 연구에서의, 아테졸리주맙 치료로부터의 TMB 및 반응 기간 사이의 연관관계를 도시하는 그래프 세트이다. 도 14a는 포레스트 플롯을 도시하는 한편, 도 14b 및 14c는 각각 16 mut/Mb 이상(≥) 및 20 mut/Mb 이상(≥)의 컷오프에서의 반응 지속 시간 (DoR)을 나타내는 카플란-마이어 플롯을 도시한다.

도 15a-15c는 IMvigor210 연구에서 증가된 TMB가 1L 전이성 요로상피 암종 (mUC) 환자 (코호트 1)에서의 결과와 상관관계가 있음을 보여주는 그래프 세트이다. 도 15a는 1L 시스플라틴-부적격 mUC 환자에 대한 반응에 대하여 도식화된, 메가염기 당 돌연변이 부하를 도시한다. 도 15b 및 15c는 표지된 TMB 사분위수에서의 각각 PFS 및 OS를 도시한다.

도 15d 및 15e는, 높은 TMB가 16 mut/Mb 이상(≥) (도 15d)의, 그리고 20 mut/Mb 이상(≥) (도 15e)의 TMB 컷오프에서, IMvigor210 시험 중 1L 시스플라틴-부적격 mUC 환자의 증가된 OS와 관련이 있다는 것을 도시하는 그래프 세트이다.

도 16a-16c는 IMvigor210 연구에서 증가된 TMB가 2L+ mUC 환자 (코호트 2)에서의 결과와 상관관계가 있음을 보여주는 그래프 세트이다. 도 16a는 2L+ mUC 환자의 반응에 대해 도식화된 돌연변이 부하를 도시한다. 도 16b 및

16c는 표지된 TMB 사분위수에서의 각각 PFS 및 OS를 도시한다.

도 16d 및 16e는 높은 TMB (TMB-H)가 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$) 컷오프에서의 IMvigor210 시험에서 2L+ mUC 환자에서 증가된 OS와 관련되어 있음을 보여주는 그래프 세트이다.

도 17은 IMvigor210 연구에서 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 TMB 컷오프에서의 1L 또는 2L+ mUC 환자의 반응 비율을 보여주는 그래프이다.

도 18은 높은 TMB가 통상적 암 및 희귀 암 징후를 통해 식별되었고, 따라서 다수의 적응증이, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체 (예를 들어, 아테졸리주맵)에 의한 면역요법으로부터 이점을 유도할 것으로 기대된다는 것을 보여주는 그래프이다.

도 19는 IMvigor210 연구에서의 미소부수체(microsatellite) 불안정성-높음 (MSI-H)과 높은 TMB 및 아테졸리주맵 단일요법에 대한 반응의 중첩을 도시하는 벤 다이어그램이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 도입

본 발명은 암, 예를 들어, 폐암 [예컨대, 비-소세포 폐암 (NSCLC)]에 대한 치료 및 진단 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명은 적어도 부분적으로는 환자로부터 수득된 종양 조직 샘플에서의 체세포 돌연변이 수준의 계측, 및 조직 종양 돌연변이 부하(tTMB) 스코어의 유도가, 암을 앓고 있는 환자의 치료에서, 암을 앓고 있는 환자를 진단하고, 암 환자가 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 [예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵 (MPDL3280A)]를 포함하는 항암 요법에 의한 치료에 반응할 가능성이 있는지의 여부를 결정하고, 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵)를 포함하는 항암 요법의 치료 효능을 최적화하고, 그리고/또는 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵)를 포함하는 항암 요법을 위한 환자를 선택하기 위한, 바이오마커 (예를 들어, 예측적 바이오마커)로서 사용될 수 있다는 발견에 기반한다.

II. 정의

본원에 기재된 발명의 양태 및 구현예는 "포함하는(comprising)", "구성되는(consisting) 및 "~로 본질적으로 구성되는"의 양태 및 구현예를 포함하는 것으로 이해된다. 본원에 사용된 것으로서, 단수 용어("a," "an" 및 "the")는, 내용이 달리 명확하게 표지되지 않는 한 다수의 지시대상을 포함한다.

본 명세서에 사용된 용어 "약"은 당업자에게 용이하게 알려진 각각의 값에 대한 보통의 오차 범위를 지칭한다. 본원에서 "약(about)" 값 또는 파라미터에 대한 지칭은 상기 값 또는 파라미터 그 자체에 관한 구현예를 포함한다 (그리고 기술한다). 예를 들면, "약 X"를 언급하는 기재사항은 "X"의 기재사항을 포함한다. 일부 구현예에서, "약"은 인용된 값의 최대 $\pm 10\%$ 의 값, 예를 들어, $\pm 1\%$, $\pm 2\%$, $\pm 3\%$, $\pm 4\%$, $\pm 5\%$, $\pm 6\%$, $\pm 7\%$, $\pm 8\%$, $\pm 9\%$ 또는 $\pm 10\%$ 를 나타낸다.

본원에 사용된 각각 상호교환적으로 사용될 수 있는 용어 "돌연변이성 부하", "돌연변이 부하", "돌연변이성 부하", "종양 돌연변이성 부하 스코어", "TMB 스코어", "조직 종양 돌연변이성 부하 스코어" 및 "tTMB 스코어"는, 종양 조직 샘플 (예를 들어, 포르말린-고정되고 파라핀-포매된 (FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 신선한 종양 샘플 또는 동결된 종양 샘플)에서 검출된 사전-결정된 유전자 세트에서의 (예를 들어, 사전-결정된 유전자 세트의 암호화 영역에서의) 사전 선택된 단위 당 (예를 들어, 메가염기당) 변경 (예를 들어, 하나 이상의 변경, 예를 들어, 하나 이상의 체세포 변경) 수준(예를 들어, 수)을 지칭한다. tTMB 스코어는, 예를 들어, 전체 게놈 또는 엑솜 기준으로 또는 게놈 또는 엑솜의 서브세트를 기준으로 하여 측정될 수 있다. 특정 구현예에서, 게놈 또는 엑솜의 서브세트를 기준으로 하여 측정된 tTMB 스코어는 전체 게놈 또는 엑솜 돌연변이 부하를 측정하기 위하여 외삽될 수 있다. 일부 구현예에서, tTMB 스코어는 개체 [예컨대, 동물 (예컨대, 인간)] 내 누적된 체세포 돌연변이의 수준을 지칭한다. tTMB 스코어는 암(예를 들어, 폐암, 예를 들어, NSCLC) 환자에서 축적된 체세포 돌연변이를 지칭할 수 있다. 일부 구현예에서, tTMB 스코어는 개체의 전체 게놈에서 축적된 돌연변이를 지칭한다. 일부 구현예에서, tTMB 스코어는 개체로부터 수집된 특정 조직 샘플 (예를 들어, 종양 조직 샘플 생검, 예를 들어, 폐암 종양 샘플, 예를 들어, NSCLC 종양 샘플) 내에 축적된 돌연변이를 의미한다.

용어 "체세포 돌연변이" 또는 "체세포 변경"은 체세포 조직(예를 들어, 생식 세포 외부 세포)에서 발생하는 유전적 변경을 지칭한다. 유전적 변형의 예는, 비제한적으로, 점 돌연변이 (예를 들어, 단일 뉴클레오타이드의 또

다른 것 [예를 들어, 침묵 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 및 논센스 돌연변이]으로의 교환], 삽입 및 결실 [예를 들어, 1개 이상의 뉴클레오타이드의 첨가 및/또는 제거 (예를 들어, 삽입-결실(indel)], 증폭, 유전자 복제, 사본 수 변경 (CNA), 재배열, 및 스플라이스 변이체를 포함한다. 특정 돌연변이의 존재는 질환 상태 (예를 들어, 암, 예를 들어, 폐암, 예를 들어, NSCLC)와 관련될 수 있다.

[0042] 특정 구현예에서, 체세포 변경은 침묵 돌연변이 (예를 들어, 동의 변경 (synonymous alteration)이다. 다른 구현예에서, 체세포 변경은 비-동의 단일 뉴클레오타이드 변이체 (SNV)이다. 다른 구현예에서, 체세포 변경은 패신저 돌연변이 (예를 들어, 클론의 적합성에 대한 검출가능한 효과를 갖는 않는 변경)이다. 특정 구현예에서, 체세포 변경은 불확실성 변이체 (variant of unknown significance, VUS), 예를 들어, 병원성이 확인되거나 배제될 수 없는 변경이다. 특정 구현예에서, 체세포 변경은 암 표현형과 관련되는 것으로 확인되지 않았다.

[0043] 특정 구현예에서, 체세포 변경은 세포 분열, 성장, 또는 생존에 대한 효과와 관련되지 않거나, 또는 상기와 관련되는 것이 공지되지 않았다. 다른 구현예에서, 체세포 변경은 세포 분열, 성장, 또는 생존에 대한 효과와 관련된다.

[0044] 특정 구현예에서, 체세포 변경의 수는 하위-게놈 간격으로 기능적 변경을 배제한다.

[0045] 일부 구현예에서, 작용성 변경은, 참조 서열 (예컨대, 야생형 또는 비돌연변이화 서열)과 비교하여, 세포 분할, 성장, 또는 생존 (예컨대, 촉진 세포 분할, 성장, 또는 생존) 상에서의 영향을 갖는 변경이다. 특정 구현예에서, 기능적 변경은 기능적 변경의 데이터베이스, 예를 들어, COSMIC 데이터베이스에 포함시킴으로써 그 자체로 확인된다 (참조: Forbes 등 *Nucl. Acids Res.* 43 (D1): D805-D811, 2015 (본원에서 전체적으로 참고로 편입됨)). 다른 구현예에서, 기능적 변경은 공지된 기능적 상태를 갖는 (예를 들어, COSMIC 데이터베이스에서 공지된 체세포 변경으로서 발생하는) 변경이다. 특정 구현예에서, 기능적 변경은 가능한 기능적 상태 (예를 들어, 종양 억제인자 유전자에서 절단)를 갖는 변경이다. 특정 구현예에서, 기능적 변경은 발암 돌연변이 (예를 들어, 예를 들어, 세포 생존 또는 생식을 증가시킴으로써 그의 미세환경에서 클론에 선택적 이점을 제공하는 변경)이다. 다른 구현예에서, 기능적 변경은 클론 팽창을 일으킬 수 있는 변경이다. 특정 구현예에서, 기능적 변경은 다음 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개 모두를 일으킬 수 있는 변경이다: (a) 성장 신호의 자극; (b) 항성장 신호에 대한 감소된, 예를 들어, 무감각; (c) 감소된 세포자멸사; (d) 증가된 복제 가능성; (e) 지속된 혈관신생; 또는 (f) 조직 침습 또는 전이.

[0046] 특정 구현예에서, 작용성 변경은 패신저 돌연변이가 아니다 (예를 들어, 세포의 클론의 적합성에 대한 검출가능한 효과를 갖는 변경이 아니다). 특정 구현예에서, 작용성 변경은 미지의 유의성의 변이체 (VUS)가 아니다 (예컨대, 병원성이 확인되거나 배제될 수 없는 변경이 아니다).

[0047] 특정 구현예에서, 사전-결정된 유전자 세트 중 사전-선택된 종양 유전자 내 복수 (예컨대, 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 이상)의 작용성 변경이 배제된다. 특정 구현예에서, 사전-결정된 유전자 세트에서 사전-선택된 유전자 (예를 들어, 종양 유전자)의 모든 기능적 변경은 배제된다. 특정 구현예에서, 복수의 사전-결정된 유전자 세트에서 복수의 사전-선택된 유전자 (예를 들어, 종양 유전자)의 모든 작용성 변경이 배제된다. 특정 구현예에서, 사전-결정된 유전자 세트에서 전체 유전자 (예를 들어, 종양 유전자)의 모든 작용성 변경이 배제된다.

[0048] 특정 구현예에서, 체세포 변경의 수는 하위-게놈 간격으로 생식계열 돌연변이를 배제한다.

[0049] 특정 구현예에서, 생식계열 변경은 SNP, 염기 치환, 삽입, 결실, 삽입-결실(indel), 또는 침묵 돌연변이 (예컨대, 동의 돌연변이)이다.

[0050] 특정 구현예에서, 생식계열 변경은 매칭된 정상 서열과의 비교를 사용하지 않는 방법의 사용으로 배제된다. 다른 구현예에서, 생식계열 변경은 알고리즘의 사용을 포함하는 방법에 의해 배제된다. 특정 구현예에서, 생식계열 변경은 생식계열 변경의 데이터베이스, 예를 들어, dbSNP 데이터베이스에 포함시킴으로써 식별된다 (참조: Sherry 등 *Nucleic Acids Res.* 29(1): 308-311, 2001 (이의 전체 내용은 본원에 참조로 편입됨)). 기타 구현예에서, 생식계열 변경은 ExAC 데이터베이스의 2 이상의 계수에 포함시킴으로써 식별된다 (참고: Exome Aggregation Consortium 등 bioRxiv preprint, October 30, 2015 (이의 전체 내용은 본원에 참조로 편입됨)). 일부 구현예에서, 생식계열 변경은 1000 게놈 프로젝트 데이터베이스에 포함시킴으로써 그 자체로 확인된다 (참조: McVean 등 *Nature* 491, 56-65, 2012 (이의 전체 내용은 본원에 참조로 편입됨)). 일부 구현예에서, 생식계열 변경은 ESP 데이터베이스 (Exome Variant Server, NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP), Seattle, WA)에 포함시킴으로써 식별된다.

- [0051] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "면역 관문 억제제(immune checkpoint inhibitor)"는 적어도 하나의 면역 관문 단백질을 표적화하여 면역 반응의 조절을 변경하는, 예를 들어, 면역 반응을 하향 조절하거나 억제하는 치료제를 지칭한다. 면역 관문 단백질은 당업계에 공지되어 있고, 비제한적으로, 세포독성 T-림프구 항원 4 (CTLA-4), 프로그래밍된 세포사 1 (PD-1), 프로그래밍된 세포사 리간드 1 (PD-L1), 프로그래밍된 세포사 리간드 2 (PD-L2), T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제인자 (VISTA), B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, 2B4, ICOS, HVEM, CD160, gp49B, PIR-B, KIR 계열 수용체, TIM-1, TIM-3, TIM-4, LAG-3, BTLA, SIRP알파 (CD47), CD48, 2B4 (CD244), B7.1, B7.2, ILT-2, ILT-4, TIGIT, LAG-3, BTLA, IDO, OX40, 및 A2aR을 포함한다. 일부 예에서, 면역 관문 단백질은 활성화된 T 세포의 표면에서 발현될 수 있다. 본 발명의 방법에 유용한 면역 관문 억제제로서 작용할 수 있는 치료제는, 비제한적으로, 1개 이상의 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, VISTA, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, 2B4, ICOS, HVEM, CD160, gp49B, PIR-B, KIR 계열 수용체, TIM-1, TIM-3, TIM-4, LAG-3, BTLA, SIRP알파 (CD47), CD48, 2B4 (CD244), B7.1, B7.2, ILT-2, ILT-4, TIGIT, LAG-3, BTLA, IDO, OX40 및 A2aR을 표적화하는 치료제를 포함한다. 일부 예에서, 면역 관문 억제제는 하나 이상의 표적화된 면역 관문 단백질의 기능을 증진시키거나 억제한다. 일부 예에서, 면역 관문 억제제는 본원에 기재된 바와 같은 PD-L1 축 결합 길항제이다.
- [0052] 용어 "PD-L1 축 결합 길항제"는, 복구되거나 증진된 T-세포 작용을 갖는, PD-L1 신호전달 축 상의 신호전달로부터 유발된, T-세포 기능이상을 제거하기 위하여, 이의 결합 상대 중 하나 이상과의 PD-1 축 결합 상대의 상호작용을 억제하는 분자를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제 및 PD-1 결합 길항제뿐만 아니라 PD-L1과 PD-1 사이의 상호작용 (예를 들면, PD-L2-Fc 융합)을 억제하는 분자를 포함한다.
- [0053] 면역 기능이상의 맥락에서의 용어 "기능이상(dysfunction)"은 항원성 자극에 대한 감소된 면역 반응성의 상태를 지칭한다. 상기 용어는 항원 인식이 발생할 수 있으나, 차후의 면역 반응이 감염 또는 종양 성장을 조절하기에 비효과적인 고갈 및/또는 무감작(anergy) 둘 모두의 통상적 요소를 포함한다.
- [0054] 용어 "기능이상"은, 본원에 사용된 바와 같이, 또한 항원 인식에 대한 난치성 또는 비반응성, 특히 항원 인식을 다운-스트림 T 세포 효과기 작용, 예컨대 증식, 사이토카인 생산 (예컨대, IL-2) 및/또는 표적 세포 사멸로 번역하는 능력의 손상을 포함한다.
- [0055] 용어 "무감작(anergy)"은, T 세포 수용체를 통하여 전달된 불완전하거나 불충분한 신호로 인하여 유발된 항원 자극에 대한 비반응성 상태 (예컨대, Ras 활성화의 부재 하에서 세포내 Ca^{2+} 의 증가)를 지칭한다. T 세포 무감작은 또한, 공동-자극의 부재하에서 항원에 의한 자극에서의 결과일 수 있으며, 이는 세포 내에서 공자극의 맥락 내에서도 항원에 의한 차후 활성화에 난치성이 되는 것을 유발한다. 비반응성 상태는 종종 인터류킨-2의 존재에 의하여 무시될 수 있다. 무감작 T 세포는 클론성 증식을 경험하고/하거나 효과기 작용을 획득하지 않는다.
- [0056] 용어 "고갈(exhaustion)"은 다수의 만성 감염 및 암 동안 발생하는 지속된 TCR 신호로부터 야기된 T 세포 기능 이상의 상태로서의 T 세포 고갈을 지칭한다. 이는, 이것이 불완전하거나 결핍된 신호전달을 통하여 야기되나, 지속된 신호전달로부터 야기된다는 점에서 무감작과 구별된다. 이는 하기에 의하여 정의된다: 불량한 효과기 작용, 억제성 수용체의 지속된 발현, 및 작용성 효과기 또는 기억 T 세포의 것과 구별되는 전사 상태. 고갈은 염증 및 종양의 최적 조절을 방해한다. 고갈은 하기 둘 모두에 의하여 유발될 수 있다: 음성 조절 경로 (예컨대, 면역조절 사이토카인), 뿐만 아니라 세포 고유 음성 조절 (공자극) 경로 (PD-1, B7-H3, B7-H4 등).
- [0057] "T 세포 작용 증진"은, 지속되거나 증폭된 생물학적 작용을 갖기 위하여, 또는 고갈되거나 비활성인 T 세포를 갱신하거나 재활성화하기 위하여, T 세포를 유도, 유발, 또는 자극하는 것을 의미한다. T 세포 작용 증진의 예시는, 치료 전 수준과 비교하여, CD8+ T-세포 유래의 γ -인터페론의 증가된 분비, 증가된 증식, 증가된 항원 반응성 (예컨대, 바이러스, 병원체, 또는 종양 청소율)을 포함한다. 일 구현예에서, 증진의 수준은 적어도 50%, 대안적으로 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 120%, 150%, 또는 200%의 증진이다. 이러한 증진을 측정하는 방식은 본 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다.
- [0058] "종양 면역성"은 종양이 면역 인식 및 제거에 대해 회피되는 과정을 지칭한다. 따라서, 치료 개념으로서, 종양 면역성은, 상기 회피가 약화되고, 상기 종양을 면역계가 인식하여 공격하는 경우 상기 종양은 "치료된" 것이다. 종양 인식의 예시는 종양 결합, 종양 수축, 및 종양 청소를 포함한다.
- [0059] "면역원성(immunogenicity)"은 면역 반응을 일으키는 특정 물질의 능력을 지칭한다. 종양은 면역원성이며, 면역 반응에 의한 종양 세포의 청소를 보조하는 종양 면역원성을 증진시킨다. 종양 면역원성을 증진시키는 예는 PD-

L1 축 결합 길항제로의 치료를 포함한다.

[0060] 본원에 사용된 "PD-L1 결합 길항제"는, PD-L1의, 이의 결합 상대, 예컨대 PD-1 및/또는 B7-1 중 하나 이상과의 상호작용으로부터 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 억제하는 분자이다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 이의 결합 상대로의 PD-L1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및/또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 하기를 포함한다: PD-L1와 이의 결합 상대, 예컨대 PD-1 및/또는 B7-1 중 하나 이상과의 상호작용으로부터 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 억제하는, 항-PD-L1 항체 및 이의 항원-결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 올리고펩타이드, 소분자 길항제, 폴리뉴클레오타이드 길항제, 및 기타 분자. 일 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 기능이상 T-세포에 보다 낮은 기능이상성을 부여도록, PD-L1 또는 PD-1을 통하여 T 림프구 및 다른 세포 상에 발현된 세포 표면 단백질을 통하여, 또는 이에 의하여 매개된 음성 신호를 감소시킨다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기술된 YW243.55.S70이다. 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기술된 MDX-1105이다. 한편 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기술된 아테졸리주맙(MPDL3280A)이다. 한편 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기술된 MEDI4736 (드루발루맙)이다. 한편 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기술된 MSB0010718C (아벨루맙)이다.

[0061] 본원에 사용된 "PD-1 결합 길항제"는, PD-1와, 이의 결합 상대, 예컨대 PD-L1 및/또는 PD-L2 중 하나 이상과의 상호작용으로부터 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 저해하는 분자이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 이의 결합 상대에 대한 PD-1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및/또는 PD-L2에 대한 PD-1 결합을 억제한다. 예를 들어, PD-1 결합 길항제는 하기를 포함한다: PD-L1 및/또는 PD-L2와 PD-1의 상호작용으로 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 저해하는, 항PD-1 항체 및 이의 항원-결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 올리고펩타이드, 소분자 길항제, 폴리뉴클레오타이드 길항제, 및 기타 분자. 일 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 기능이상 T-세포에 보다 낮은 기능이상성을 부여하기 위하여, PD-1 또는 PD-L1을 통하여, 기타세포, 그리고 T 림프구 상에 발현된 세포 표면 단백질을 통하여, 또는 이에 의하여 매개된 음성 신호를 감소시킨다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체이다. 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기술된 MDX-1106 (니볼루맙)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기술된 MK-3475 (렙브롤리주맙)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기술된 CT-011 (피딜리주맙)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기술된 MEDI-0680 (AMP-514)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에서 기재된 PDR001이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에서 기재된 REGN2810이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에서 기재된 BGB-108이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 본원에 기술된 AMP-224이다.

[0062] 용어 "프로그래밍된 사멸 리간드 1 (programmed death ligand 1)" 및 "PD-L1"은, 본 명세서에서 천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 변이체, 및 (본 명세서에서 추가로 정의된) 천연 서열 폴리펩타이드와 폴리펩타이드 변이체의 단편에 대하여 지칭한다. 본원에 기술된 PD-L1 폴리펩타이드는 다양한 공급원으로부터, 예를 들면, 인간 조직 유형으로부터 또는 다른 공급원으로부터 단리되거나, 또는 재조합 또는 합성 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0063] "천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드"는, 상응하는 천연 유래의 PD-L1 폴리펩타이드와 상동한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0064] "PD-L1 폴리펩타이드 변이체", 또는 이들의 변형은 PD-L1 폴리펩타이드, 일반적으로 본 명세서에서 개시된 바와 같은 임의의 천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드 서열과 적어도 약 80% 아미노산 서열 동일성을 갖는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 활성 PD-L1 폴리펩타이드를 의미한다. PD-L1 폴리펩타이드 변이체는, 예를 들면, 하나 이상의 아미노산 잔기가 천연 아미노산 서열의 N 또는 C-말단에서 첨가되거나, 또는 결실된 PD-L1 폴리펩타이드를 포함한다. 통상적으로, PD-L1 폴리펩타이드 변이체는 본 명세서에서 개시된 바와 같은 천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드 서열에 적어도 약 80% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다. 보통, PD-L1 변이체 폴리펩타이드는, 길이가 적어도 약 10개 아미노산 길이, 대안적으로 길이가 적어도 약 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 또는 289개 아미노산 이상이다. 선택적으로, PD-L1 변이체 폴리펩타이드는 PD-L1 천연 폴리펩타이드 서열에 비교하여 1 이하의 보존적 아미노산 치환, 대안적으로 천연 PD-L1 폴리펩타이드 서열에 비교하여 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 이하의 보존적 아미노

산 치환을 가질 것이다.

[0065] "폴리뉴클레오타이드", 또는 "핵산"은, 본원에서 상호교환적으로 사용되는데, 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 그의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해, 또는 합성 반응에 의해 중합체에 편입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 따라서, 예를 들어, 본원에 정의된 폴리뉴클레오타이드에는, 비제한적으로, 단일- 및 이중-가닥 DNA, 단일- 및 이중-가닥 영역을 포함하는 DNA, 단일- 및 이중-가닥 RNA, 및 단일- 및 이중-가닥 영역을 포함하는 RNA, 단일-가닥, 또는 좀 더 전형적으로, 이중-가닥일 수 있는 DNA 및 RNA 또는 단일- 및 이중-가닥 영역을 포함하는 하이브리드 분자가 포함된다. 뿐만 아니라, 본원에 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 RNA 또는 DNA를 포함하거나 또는 RNA 및 DNA를 모두 포함하는 삼중-가닥 영역을 포함한다. 이와 같은 영역에서의 가닥은 동일한 분자에서 유래되거나 또는 상이한 분자에서 유래된 것일 수 있다. 상기 영역에는 상기 분자들 중 하나 이상의 모두가 포함될 수 있으나, 좀 더 전형적으로 상기 분자들의 일부의 한 영역만이 수반된다. 삼중-나선 영역의 분자들 중 하나는 올리고뉴클레오타이드이다. 용어 "폴리뉴클레오타이드"에는 구체적으로 cDNA가 포함된다.

[0066] 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 그의 유사체를 포함할 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 어셈블리 이전 또는 이후 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비-뉴클레오타이드 성분에 의해 방해될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 합성 이후, 예컨대 표지를 이용한 접합에 의해 추가로 변형될 수 있다. 변형의 다른 유형은, 예를 들어, 하기를 포함한다: "캡(caps)", 하나 이상의 자연 발생 뉴클레오타이드의 유사체로의 치환, 뉴클레오타이드간 변형 예컨대, 예를 들어, 비대전된 연결 (예를 들면, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카바메이트, 등) 및 하전된 연결 (예를 들면, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 등)을 가진 것, 펜던트 모이어티, 예컨대, 예를 들어, 단백질 (예를 들면, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, 폴리-L-라이신, 등)을 함유한 것, 삽입체 (예를 들면, 아크리딘, 소랄렌, 등)을 가진 것, 킬레이터 (예를 들면, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화적 금속, 등)을 가진 것, 알킬화제를 함유한 것, 폴리뉴클레오타이드(들)의 변형된 연결 (예를 들면, 알파 아노머성 핵산, 등), 뿐만 아니라 비변형된 형태를 가진 것. 추가로, 당류에 통상적으로 존재하는 임의의 하이드록실기는, 예를 들어, 포스포네이트 기, 포스포에이트에 의해 대체될 수 있거나, 표준 보호기에 의해 보호될 수 있거나, 또는 추가 뉴클레오타이드에 추가 연결을 제조하기 위해 활성화될 수 있거나, 또는 고품 또는 반-고형 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 1 내지 20개의 탄소 원자의 아민 또는 유기 캡핑 기 모이어티로 인산화 또는 치환될 수 있다. 다른 하이드록실은 또한 표준 보호기로 유도될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한, 예를 들면, 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보오스, 카보사이클릭 당 유사체, α -아노머성 당, 에피머 당류 예컨대 아라비노오스, 자일로스 또는 릭소스, 파이라노스 당, 푸라노스 당, 세도헥톨로스, 비환식 유사체 및 무염기성 뉴클레오사이드 유사체 예컨대 메틸 리보사이드를 포함하여, 당해 기술에 일반적으로 공지되는 리보오스 또는 데옥시리보오스 당류의 유사 형태를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포디에스테르 연결기는 대안적인 연결기에 의해 대체될 수 있다. 이러한 대안적인 결합기는, 비제한적으로 구현예들을 포함하며, 여기서 포스포에이트는 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR₂ ("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH₂ ("포름아세탈(formacetal)")로 대체될 수 있으며, 여기서 각 R 또는 R'은 독립적으로 H 또는 임의로 에테르 (-O-) 결합, 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐, 또는 아랄딜을 함유하는 치환된 또는 비치환된 알킬 (1-20 C)이다. 폴리뉴클레오타이드에서 모든 연결이 동일할 필요는 없다. 폴리뉴클레오타이드는 본원에서 기재된 바와 같이 변형의 하나 이상의 상이한 유형 및/또는 동일한 유형의 다중 변형을 함유할 수 있다. 이전의 설명은, RNA 및 DNA를 포함한, 본원에서 참조된 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용한다.

[0067] "올리고뉴클레오타이드"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 짧고 일반적으로 단일 가닥이고, 필수적인 것은 아니나 길이가 250개 뉴클레오타이드 미만인, 뉴클레오타이드를 지칭한다. 올리고뉴클레오타이드는 합성될 수 있다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 상기 기술은 올리고뉴클레오타이드에 동등하게, 그리고 완전하게 적용가능하다.

[0068] 용어 "프라이머"는 핵산에 하이브리드화할 수 있고, 일반적으로 유리 3'-OH 작용기를 제공함으로써, 상보적 핵산의 중합화를 허용할 수 있는 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0069] 용어 "소분자"는 2000 달톤 이하, 바람직하게는 약 500 달톤 이하의 분자량을 갖는 임의의 분자를 지칭한다.

[0070] 용어 "숙주 세포," "숙주 세포주," 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환적으로 사용되고 외인성 핵산이 도입되는 세포를 언급하고 상기 세포의 자손을 포함한다. 숙주 세포는 1차 형질전환된 세포 및 계대 횟수와 상관없이 이

로부터 유래된 후손을 포함하는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함한다. 자손은 핵산 함량에 있어서 친 계 세포와 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 함유할 수 있다. 원래 형질전환된 세포에 대해 선별되거나 선택된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이 자손이 본원에 포함된다.

[0071] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "벡터"는 이것이 연결된 또 다른 핵산을 증가시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 용어는 자가-복제 핵산 구조로서의 벡터 뿐만 아니라 이것이 도입되는 숙주 세포의 게놈에 삽입되는 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 이들이 작동적으로 연결되는 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 상기 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로서 지칭된다.

[0072] "단리된" 핵산은 자연 환경 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 원래 함유하는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체 외에 또는 이의 천연 염색체 위치와는 다른 염색체 위치에 존재한다.

[0073] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고 이들이 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 동안, 비제한적으로 단클론성 항체, 다클론성 항체, 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체)를 포함하여, 다양한 항체 구조, 및 항체 단편을 포함한다.

[0074] "단리된" 항체는 그것의 천연 환경의 성분으로부터 식별되고 분리되고 및/또는 회수된 항체이다. 그 천연 환경의 오염물질 성분은 항체에 대한 연구, 진단적 및/또는 치료적 사용을 방해할 물질이며, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질이 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 (1) 예를 들면, Lowry 방법에 의해 측정된 항체의 95 중량% 초과로, 일부 구현예에서 99 중량% 초과로; (2) 예를 들면, 회전 컵 시퀀서 (spinning cup sequencer)를 이용해서 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 획득하기 충분한 정도로, 또는 (3) 예를 들면, 쿠마씨 블루 또는 은 염색을 이용해서 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 균질할 때까지 정제된다. 단리된 항체는 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분도 존재하지 않기 때문에 재조합 세포 내에서 동일계내 항체를 포함한다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 적어도 1종의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0075] "천연 항체"는 보통 2개의 동일한 경(L) 쇄 및 2개의 동일한 중(H) 쇄로 구성된, 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. 각 경쇄는 하나의 디설파이드 공유 결합에 의해 중쇄에 연결되고, 반면 디설파이드 연결기의 수는 상이한 면역글로불린 아이소타입의 중쇄 중에서 가변한다. 각 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 사슬 내 디설파이드 가교를 갖는다. 각 중쇄는 하나의 말단에 가변 도메인 (VH)과 그 다음 수많은 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 하나의 말단에 가변 도메인(VL) 그리고 그 다른 말단에 불변 도메인을 가지며; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되며, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정한 아미노산 잔기가 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 간 계면을 형성하는 것으로 여겨진다.

[0076] 임의의 포유동물 중 유래의 항체 (면역글로불린)의 "경쇄"는, 이들의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로 하여, 카파 ("κ") 및 람다 ("λ")로 불리는 2개의 명확하게 구별되는 유형 중 하나에 할당될 수 있다.

[0077] 용어 "불변 도메인(constant domain)"은, 항원 결합 부위를 함유하는, 면역글로불린의 다른 부분, 즉 가변 도메인에 비하여 더욱 보존된 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 불변 도메인은 중쇄의 CH1, CH2 및 CH3 도메인 (집합적으로, CH) 및 경쇄의 CHL (또는 CL) 도메인을 함유한다.

[0078] 항체의 "가변 영역(variable region)" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노-말단 도메인을 지칭한다. 중쇄의 가변 도메인은 "VH"로 지칭될 수 있다. 경쇄의 가변 도메인은 "VL"로 지칭될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 항체의 가장 가변성 부분이고 항원-결합 부위를 함유한다.

[0079] 용어 "가변(variable)"은 가변 도메인의 특정 부분이 항체들 간에 서열에서 광범위하게 상이하고, 그리고 특정한 항원에 대한 각각의 특정한 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전체를 통해 고르게 분포되어 있지 않다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 모두에서 초가변 영역(HVR)으로 불리는 3개 절편에 집중된다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 대부분 베타-시트 배치를 채용하며, 베타-시트 구조를 연결하고 일부 경우에서 그 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3 개의 HVR에 의해 연결된 4 개의 FR 영역을 포함한다. 각 사슬에서 HVR은 FR 영역에 의해 가까운 부근에서 함께 유지되며, 다른 사슬로부터의 HVR과 함께 항체의 항원-결합 부위 형성에 기여한다 (참고: Kabat 등, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)). 불변 도메인은 항원에 대한 항체 결합에 직접적으로 관여되지는 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대 항체-의존적 세포성 독성에서의 항체 참여를 나타낸

다.

[0080] 본원에서 사용될 경우, 용어 "초가변성 영역(hypervariable region)", "HVR" 또는 "HV"는 서열이 초가변성이고 /이거나 구조적으로 정의된 루프를 형성하는 항체-가변 도메인 영역을 나타낸다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR: VH (H1, H2, H3)로 3개 및 VL (L1, L2, L3)로 3개를 포함한다. 천연 항체에서, H3 및 L3은 6 개 HVR의 가장 큰 다양성을 나타내며, H3은 특히 항체에 대해 미세한 특이성을 부여하는데 있어서 독특한 역할을 담당하는 것으로 여겨진다. 참고: 예를 들어, Xu 등, *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, in *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003). 사실상, 중쇄만으로 구성된 천연 발생 낙타과(camelid) 항체는 경쇄의 부재 하에서 작용적이고 안정하다. 참고: 예를 들어, Hamers-Casterman 등, *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff 등, *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

[0081] 수많은 HVR 묘사가 사용되며, 본원에서 포괄된다. 카бат 상보성-결정 영역(CDR)은 서열 가변성에 기반하며, 가장 일반적으로 사용된다(Kabat 등, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). 초티아는 대신에, 구조적 루프의 위치를 지칭한다(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). AbM HVR은 카бат HVR 및 초티아 구조적 루프 간 절충을 나타내며, Oxford Molecular의 AbM 항체-모델링 소프트웨어에 의해 이용된다. "접촉" HVR은 이용 가능한 복합체 결정 구조의 분석에 기반한다. 이들 HVR 각각으로부터의 잔기가 아래에 주지된다.

루프	카бат	AbM	초티아	접촉점
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35b	H26-H35b	H26-H32	H30-H35b (카бат 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (초티아 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0082]

[0083] HVR은 하기와 같이 "연장된 HVR"을 포함할 수 있다: 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 50-56 (L2) 및 89-97 또는 89-96 (L3) (VL 중) 및 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102, 또는 95-102 (H3) (VH 중). 초가변 도메인 잔기들은 이들 정의의 각각에 대해 문헌(Kabat 등, *상기*)에 따라 넘버링한다.

[0084]

"프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 정의된 바와 같이 HVR 잔기 이외의 가변-도메인 잔기이다.

[0085]

용어 "카бат에서의 가변-도메인 잔기-넘버링" 또는 "카бат에서의 아미노산-위치 넘버링" 및 이들의 변이체는 [상기 Kabat 등]에서 항체 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대하여 사용된 넘버링 시스템을 지칭한다. 상기 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 이것으로의 삽입에 대응하는 더 적거나 더 많은 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들면, 중쇄 가변 도메인에는 H2의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입(카바트에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기(예를 들면, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b, 및 82c 등)가 포함될 수 있다. 잔기의 카бат 넘버링은 항체 서열의 상동성 영역에서 "표준" 카бат 넘버링된 서열과의 정렬에 의해 주어진 항체에 대해 결정될 수 있다.

[0086]

카бат 넘버링 시스템은 가변 도메인 내 잔기 (대략 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)에 대해 언급할 때 일반적으로 사용된다 (예를 들면, Kabat 등, *Sequences of Immunological Interest*. 5판, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지수"는 일반적으로, 면역글로불린 중쇄 불변 영역 내의 잔기를 지칭할 경우 사용된다 (예컨대, *상기* Kabat 등에 보고된 EU 지수). "카бат에서의 EU 인덱스"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다.

[0087]

본원에서 사용된 용어들 "전장 항체", "온전한 항체" 및 "전체 항체"는 상호교환적으로 아래에서 정의된 바와 같이 항체 단편이 아닌 그 실질적으로 무손상 형태의 항체를 나타낸다. 상기 용어는 특히 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 나타낸다.

[0088]

"항체 단편"은 바람직하게는 이들의 항원-결합 영역을 포함하는 온전한 항체의 일부를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항체 단편은 항원-결합 단편이다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0089]

항체의 파파인 소화는 각각 단일 항원-결합 부위를 갖는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원-결합 단편

및 그 명칭이 쉽게 결정화하는 그 능력을 반영하는 잔여 "Fc" 단편을 생성한다. 펩신 처리는 $F(ab')_2$ 단편을 산출하는데, 이것은 2개의 항원 결합 부위를 갖고 항원을 여전히 가교결합할 수 있다.

[0090] "Fv"는 완전한 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 일 구현예에서, 2개의 사슬 Fv 중은 단단하게 비공유 결합된 하나의 중쇄 가변 도메인 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이합체로 구성된다. 단일-쇄 Fv(scFv) 종에서, 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인은 경쇄 및 중쇄가 2-쇄 Fv 종에서와 비슷한 "이량체" 구조로 결합할 수 있도록 가요성 펩타이드 링커에 의해 공유 결합될 수 있다. 이는 상기 입체배치에서 각각의 가변 도메인의 3개의 HVR은 VH-VL 이량체의 표면 상에서 항원-결합 부위를 정의하도록 상호작용한다. 총괄적으로, 6개의 HVR은 항체에 대한 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 전체 결합 부위과 비교하여 더 낮은 친화도에서지만, 단일 가변 도메인(또는 항원에 대해 특이적인 3개의 HVR만을 포함하는 Fv의 절반)도 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.

[0091] Fab 단편은 중쇄- 및 경쇄 가변 도메인을 함유하며, 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서 몇 개의 잔기를 첨가함으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 자유 티올기를 갖는 Fab'에 대한 본원에서의 명칭이다. $F(ab')_2$ 항체 단편은 본래 이들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생산되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링 역시 공지되어 있다.

[0092] "단일-쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하며, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩타이드 쇠에 존재한다. 일반적으로, scFv 폴리펩타이드는 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함하며, 그것은 scFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다. scFv의 재고를 위해, 예를 들어, 하기를 참고한다: Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269-315.

[0093] 용어 "디아바디(diabody)"는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편을 나타내며, 이 단편은 동일한 폴리펩타이드 쇠(VH-VL)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 동일한 쇠 상에서 2개의 도메인 간 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 이용함으로써, 도메인은 또 하나의 쇠의 상보적 도메인과 쌍을 이루고 2 개의 항원-결합 부위를 생성하도록 유도된다. 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있다. 디아바디는 하기에 더욱 충분히 기술된다: 예를 들면, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson 등, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). 트리아바디 및 테트라바디가 또한 하기에 기술된다: Hudson 등, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).

[0094] 항체의 "부류(class)"는 이의 중쇄가 소유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5개 주요 부류의 항체가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM (이들 중 몇몇은 하위부류(이소형), 예를 들면 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2로 추가 구분될 수 있음). 항체의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 로 지칭된다.

[0095] 용어 "단클론성 항체(monoclonal antibody)"는 본원에서 사용된 바와 같이 실질적으로 균질한 항체 집단에서 수득된 항체를 지칭하며, 예컨대 상기 집단을 포함하는 개별 항체는 가능한 돌연변이, 예를 들면 소량으로 존재할 수 있는 천연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 따라서, 수식어 "단클론"은 구별된 항체의 혼합물이 아닌 항체의 특징을 표지한다. 특정 구현예에서, 그와 같은 단클론성 항체에는 전형적으로 표적에 결합하는 폴리펩타이드 서열을 포함하는 항체가 포함되며, 여기서 상기 표적 결합 폴리펩타이드 서열은 복수의 폴리펩타이드 서열로부터의 단일 표적 결합 폴리펩타이드 서열의 선택이 포함되는 방법에 의해 수득되었다. 예를 들면, 선택 방법은 복수의 클론, 예컨대 하이브리도마 클론, 파아지 클론, 또는 재조합 DNA 클론의 폴로부터의 독특한 클론의 선택일 수 있다. 선택된 표적 결합 서열이, 예를 들면 표적에 대한 친화도를 증진하기 위해, 표적 결합 서열을 인간화하기 위해, 세포 배양에서 그 생성을 증진하기 위해, 생체내 그 면역원성을 감소시키기 위해, 다중특이적 항체를 생성하기 위해, 추가 변경될 수 있으며, 변경된 표적 결합 서열을 포함하는 항체가 또한 본 발명의 단클론성 항체라는 것이 이해되어야 한다. 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체가 포함되는 다클론성 항체 제조물과는 대조적으로, 단클론성-항체 제조물의 각각의 단클론성 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 유도된다. 이들의 특이성에 부가하여, 단클론성-항체 제조물은 이들이 전형적으로 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않는다는 점에서 유리하다.

[0096] 수식어 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 수득되는 항체의 특징을 시사하며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 단클

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

[0097] 본원의 단클론성 항체는 구체적으로 중쇄 및/또는 경쇄 부분이 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이고 나머지 쇄(들)은 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체, 및 이들이 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 상기 항체의 단편들을 포함한다 (참고: 예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567; 및 Morrison 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984)]. 키메라성 항체에는 PRIMATIZED® 항체가 포함되며, 여기서 항체의 상기 항원-결합 영역은, 예를 들면 관심 항원으로 마카크 원숭이를 면역화하여 생성된 항체로부터 유도된다.

[0098] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되거나 인간 항체 레퍼토리 또는 기타의 인간 항체-암호화 서열을 사용하는 비-인간 공급원으로부터 유도되는 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 특이적으로 비인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 배제한다.

[0099] "인간화" 항체는 비인간 HVR로부터 아미노산 잔기 및 인간 프레임워크 영역 (FR)로부터 아미노산 잔기를 포함하는 키메라성 항체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기서 HVR (예를 들면, CDR)의 실질적으로 모두는 비인간 항체의 것에 일치하고, 그리고 FR의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 항체의 것에 일치한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유도된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들면, 비인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화처리되는 항체를 지칭한다.

[0100] 용어들 "항-PD-L1 항체" 및 "PD-L1에 결합하는 항체"는, 항체가 PD-L1를 표적화하는데 있어서, 진단 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도를 가지고 PD-L1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 일 구현예에서, 비관련, 비-PD-L1 단백질에 대한 항-PD-L1 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정법(RIA)으로 측정 시, 약 10% 미만의 PD-L1에 대한 항체의 결합이다. 특정 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 상이한 중 유래의 PD-L1 중 보존되어 있는 PD-L1의 에피토프에 결합한다.

[0101] 용어 "항-PD-1 항체" 및 "PD-1에 결합하는 항체"는, 항체가 PD-1을 표적화하는데 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 하기에 충분한 친화도로 PD-1에 결합할 수 있는 항체를 나타낸다. 일 구현예에서, 비관련, 비-PD-1 단백질에 대한 항-PD-1 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정법(RIA)으로 측정 시, 약 10% 미만의 PD-1에 대한 항체의 결합이다. 특정 구현예에서, 항-PD-1 항체는 상이한 중 유래의 PD-1 중 보존되어 있는 PD-1의 에피토프에 결합한다.

[0102] "차단(blocking)" 항체 또는 "길항제" 항체는 이 항체가 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제하거나 감소시키는 것이다. 바람직한 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제한다.

[0103] "친화성"은 분자 (예컨대, 항체)의 단일 결합 부위와 그 결합 파트너 (예컨대, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 달리 표시되지 않은 한, 본 명세서에 기재된 "결합 친화도"는 결합쌍(예를 들면, 항체 및 항원)의 구성원 간의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화도를 의미한다. 그 파트너 Y에 대한 분자 X의

친화성은 일반적으로 해리 상수 (K_d)로 나타낼 수 있다. 친화성은 본원에서 기재된 것을 포함하여 당해 분야에서 공지된 공통의 방법으로 측정될 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 특성의 구체적이고 예시적인 구현예들이 아래에 기재되어 있다.

- [0104] 본원에 사용된 용어 "결합하다," "특이적으로 결합하다," 또는 "특이적이다"는, 표적 및 항체 간의 결합과 같이 측정가능하고 재현가능한 상호작용을 지칭하며, 이는 생물학적 분자를 포함하는 분자의 이질적인 집단의 존재하에 표적의 존재를 계측한다. 예를 들면, 표적 (에피토포일 수 있음)에 결합하거나, 또는 특이적으로 결합하는 항체는 다른 표적에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합능으로, 더욱 용이하게, 그리고/또는 더 긴 지속시간으로 상기 표적에 결합하는 항체이다. 일 구현예에서, 비관련 단백질에 대한 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정법(RIA)으로 측정 시, 약 10% 미만의 항체의 결합이다. 특정 구현예에서, 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항체는 상이한 종으로부터의 단백질 중에서 보존된 단백질의 에피토포에 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현예에서, 특이적 결합은 필연적으로 (비록 포함할 수 있어도) 배타적인 결합을 요구하지 않는다.
- [0105] "친화도 성숙" 항체는 항원에 대한 항체의 친화도에 있어서의 개선을 야기하는 변경을 갖지 않는 친계 항체와 비교하여, 하나 이상의 추가변 영역(HVR)에 하나 이상의 변경을 갖는 항체를 나타내며, 상기 변경은 항원에 대한 항체의 친화도에 있어서의 개선을 야기한다.
- [0106] 표준 항체와 "상당한 에피토포에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 표준 항체의 이의 항원으로서의 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 역으로, 표준 항체는 경쟁 검정에서 50% 이상으로 항체의 이의 항원으로서의 결합을 차단한다.
- [0107] "면역접합체(immunoconjugate)"는 세포독성제를 포함하지만 이에 제한되지 않는 하나 이상의 이중성 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0108] 본원에서 사용된 용어 "이뮤노어드헤신(immunoadhesin)"는, 이중성 단백질 ("접합체")의 결합 특이성을 면역글로불린 불변 도메인의 효과기 작용과 조합하는 항체-유사 분자를 가리킨다. 구조적으로, 면역접합체는 목적 결합 특이성을 갖는 아미노산 서열의 융합을 포함하고, 이는 항체의 항원 인식 및 결합 부위 (즉, "이형"임) 및 면역글로불린 불변 도메인 서열 이외의 것이다. 면역접합체 분자의 접합체 부분은 전형적으로 적어도 수용체 또는 리간드의 결합 부위를 포함하는 인접 아미노산 서열이다. 면역접합체 내의 면역글로불린 불변 도메인 서열은 임의의 면역글로불린, 예컨대 IgG1, IgG2 (IgG2A 및 IgG2B 포함), IgG3, 또는 IgG4 하위유형, IgA (IgA1 및 IgA2 포함), IgE, IgD, 또는 IgM으로부터 취득될 수 있다. Ig 융합은 바람직하게는 하기를 포함한다: 본원에 기술된 폴리펩타이드 또는 항체의 도메인의, Ig 분자 내의 적어도 1종의 가변 영역을 대신한 치환. 특히 바람직한 구현예에서, 면역글로불린 융합은 IgG1 분자의 힌지, CH2 및 CH3, 또는 힌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 면역글로불린 융합의 생산에 관하여는, 또한 미국 특허 번호 5,428,130을 참고한다. 예를 들어, 본원의 요법에 대해 유용한 약제로서의 유용한 면역접합체는, 면역글로불린 서열의 불변 도메인, 예컨대 PD-L1 ECD-Fc, PD-L2 ECD-Fc, 및 PD-1 ECD-Fc, 각각에 융합된, PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 도메인 (ECD) 또는 PD-1-결합 부분, 또는 PD-1의 세포외 또는 PD-L1- 또는 PD-L2-결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. Ig Fc 및 세포 표면 수용체의 ECD의 면역접합체 조합물은 종종 가용성 수용체로 불린다.
- [0109] "융합 단백질" 및 "융합 폴리펩타이드"는 함께 공유 결합된 2개 부분을 갖는 폴리펩타이드를 지칭하며, 상기 부분의 각각은 상이한 특성을 갖는 폴리펩타이드이다. 상기 특성은 생물학적 특성, 예컨대 시험관내 또는 생체내에서의 활성일 수 있다. 상기 특성은 또한 단순한 화학적 또는 물리적 특성, 예컨대 표적 분자로서의 결합, 반응의 촉매작용 등일 수 있다. 상기 2개의 부분은 단일 펩타이드 결합에 의해 또는 펩타이드 링커를 통해 직접 연결될 수 있지만, 서로 관독 프레임 내에 있다.
- [0110] 본원에 식별된 폴리펩타이드 서열과 관련하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 서열을 정렬하고 필요한 경우 최대 퍼센트 서열 동일성을 성취하기 위해 갭을 도입한 후 비교되는 폴리펩타이드 내 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서의 아미노산 잔기의 %로서 정의되고 서열 동일성의 일부로서 임의의 보존성 치환을 고려하지 않는다. 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 계측하기 위한 목적으로의 정렬은, 예를 들면, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 당업계의 재량 내에 있는 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 당업자는 정렬을 측정하기 위하여, 비교되는 서열의 전장에 걸쳐서 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원에서의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생

성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제조사 (Genentech, Inc.)에 의해 개발되었고, 소스 코드는 사용자 기록문서와 함께 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 하에서 등록된, 20559 (미국 저작권 청, 워싱턴 D.C.)로 제출되었다. ALIGN-2 프로그램은 캘리포니아 주 사우스샌프란시스코 소재의 Genentech, Inc.을 통해 공공연하게 이용가능하다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 운영 체제, 바람직하게는 디지털 UNIX V4.0D 상에서 사용하기 위해 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되며 변하지 않는다.

[0111] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교에 사용되는 상황에서, 사전-결정된 아미노산 서열 A 내지, 및, 또는 사전-결정된 아미노산 서열 B(이것은 사전-결정된 아미노산 서열 B에 대해 특정의 아미노산 서열 동일성 %를 갖거나 포함하는 사전-결정된 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있음)의 아미노산 서열 동일성 %는 하기와 같이 산출된다:

[0112] 분수 X/Y의 100배

[0113] 상기 식 중, X는 A 및 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 동일한 매치로서 스코어링되는 아미노산 잔기의 수이고 Y는 B에서 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, A 대 B의 % 아미노산 서열 동일성은 B 대 A의 % 아미노산 서열 동일성은 동일하지 않음을 인식할 것이다. 달리 구체적으로 기재하지 않은 경우, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 바로 직전의 문단에 기재된 바와 같이 수득한다.

[0114] 용어 "검출"은 직접 및 간접 검출을 포함하는, 검출의 임의의 수단을 포함한다.

[0115] 본원에 사용된 용어 "바이오마커"는 샘플, 예를 들어, 상기 유전자에 의해 암호화된 특정 유전자 또는 단백질, 또는 상기 특정 유전자의 하나 이상의 체세포 돌연변이에서 검출될 수 있는, 예를 들어, 예측적, 진단적 및/또는 예후적 지시체를 지칭한다. 바이오마커는, 분자적, 병리학적, 조직학적 및/또는 임상적 특징 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 요법에 대한 반응성)에 의하여 특성화된, 질환 또는 장애 (예컨대, 암)의 특정 하위 유형의 표지자로서 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 유전자의 집합체 또는 유전자의 집합체에서 돌연변이/변경 (예를 들어, 체세포 돌연변이)의 집단적 수이다. 바이오마커는 비제한적으로 하기를 포함한다: 폴리뉴클레오타이드 (예컨대, DNA 및/또는 RNA), 폴리뉴클레오타이드 변경 (예컨대, 폴리뉴클레오타이드 사본 수 변경, 예컨대, DNA 사본 수 변경), 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 및 폴리뉴클레오타이드 변형 (예컨대, 번역 후 변형), 탄수화물, 및/또는 당지질-계 분자 마커.

[0116] 개체에 증가된 임상적 이점과 관련된 체세포 돌연변이의 "양" 또는 "수준"은 생물학적 샘플에서 검출가능한 수준이다. 이들은 당해 기술의 숙련가에게 알려지고 본원에 의해 개시된 방법들에 의해 측정될 수 있다. 평가된 체세포 돌연변이의 발현 수치 또는 양은 상기 치료에 대한 반응을 예측하는 데 사용될 수 있다.

[0117] 용어 "수준"은 생물학적 샘플에서 체세포 돌연변이의 양을 지칭한다.

[0118] 체세포 돌연변이의 "증가된 수준," "증가된 수준," 또는 "상승된 수준"은, 대조군, 예컨대 질환 또는 장애 (예컨대, 암)을 앓는 개체 또는 개체들 또는 내부 대조군 (예컨대, 참조 유전자)과 비교하여, 개체에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 지칭한다. 일부 구현예에서, 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 개체의 전체 게놈 전반에 걸쳐 존재한다. 다른 구현예에서, 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 개체로부터 수집된 샘플 (예를 들어, 조직 샘플) 내에 존재한다. 일부 구현예에서, 개체는 암 (예를 들어, 암, 예를 들어, 폐암, 예를 들어, 비-소세포 폐암 (NSCLC))을 갖는다.

[0119] 체세포 돌연변이의 "감소된 수준," "감소된 수준," 또는 "저하된 수준"은, 대조군, 예컨대 질환 또는 장애 (예컨대, 암)을 앓는 개체 또는 개체들 또는 내부 대조군 (예컨대, 참조 수준)과 비교하여, 개체에서의 감소된 수준의 체세포 돌연변이를 지칭한다. 일부 구현예에서, 체세포 돌연변이의 감소된 수준은 개체의 전체 게놈 전반에 걸쳐 존재한다. 기타 구현예에서, 체세포 돌연변이의 감소된 수준은 개체로부터 수집된 샘플 (예를 들어, 조직 샘플) 내에 존재한다. 일부 구현예에서, 개체는 암 (예를 들어, 암, 예를 들어, 폐암, 예를 들어, 비-소세포 폐암 (NSCLC))을 갖는다.

[0120] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "참조 tTMB 스코어"는, 예를 들어, 진단적, 예측적, 예후적 및/또는 치료적 결정을 하기 위해 또 다른 tTMB 스코어가 비교되는 tTMB 스코어를 지칭한다. 예를 들어, 참조 tTMB 스코어는 기준 샘플, 기준 집단 및/또는 사전-결정된 값의 tTMB 스코어일 수 있다. 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는, 컷오프 값 이상에서의, 그리고/또는 컷오프 값 미만에서의, 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 요법으로의 치료에 대한 개체의 반응성 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법으로의 치료에 대한 개체의 반응성 사이의 유의미한 차이에 기반하여, 참조 집단 내 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료되었던 개체 (예컨대, 환자)의 제1 서브세트 및 상동한 참조 집단 내 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1

측 결합 길항제를 포함하지 않는 비-PD-L1 측 결합 길항제 요법으로 치료되었던 개체 (예컨대, 환자)의 제2 서브셋을 유의미하게 구분하는 컷오프 값이다. 일부 경우에서, 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 측 결합 길항제 요법으로의 치료에 대한 개체의 반응성은, 컷오프 값 이상에서의 비-PD-L1 측 결합 길항제 요법으로의 치료에 대한 개체의 반응성과 비교하여, 유의미하게 개선된다. 일부 경우에서, 비-PD-L1 측 결합 길항제 요법으로의 치료에 대한 개체의 반응성은, 컷오프 값 미만에서의 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 측 결합 길항제 요법으로의 치료에 대한 개체의 반응성과 비교하여, 유의미하게 개선된다.

[0121]

참조 tTMB 스코어의 수치는 암의 유형 (예를 들어, 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암 (NSCLC) 또는 소세포 폐암), 신장암 (예를 들어, 신장 요로상피 암종 또는 신장 세포 암종 (RCC)), 방광암 (예를 들어, 방광 요로상피 (이행 세포) 암종 (예를 들어, 제1 라인 (1L) 또는 제2 라인 이상 (2L+) 국소 진행성 또는 전이성 요로상피 암종을 포함하는 국소 진행성 또는 전이성 요로상피 암종)), 유방암 (예를 들어, 인간 표피 성장 인자 수용체-2 (HER2)+ 유방암 또는 호르몬 수용체-양성 (HR+) 유방암), 결장직장암 (예를 들어, 결장 선암종), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종 (예를 들어, 피부 흑색종), 피부암 (예를 들어, 피부의 편평 세포 암종) 두경부암 (예를 들어, 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC)), 갑상선암, 육종 (예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 평활근육종, 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병 (예를 들어, 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 급성 골수구성 백혈병 (AML), 만성 골수구성 백혈병 (CML), 만성 호산구성 백혈병, 또는 만성 림프구성 백혈병 (CLL)), 림프종 (예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종 (NHL)), 골수종 (예를 들어, 다발성 골수종 (MM)), 균상식육종, 메르켈 세포 암, 혈액성 악성종양, 혈액 조직 암, B 세포 암, 기관지 암, 위암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 고환암, 담관암, 소장 또는 맹장암, 타액샘 암, 부신암, 선암종, 염증성 근섬유모세포 종양, 위장 간질성 종양 (GIST), 결장암, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 장애 (MPD), 진성 적혈구증가증, 척색종, 활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관암종, 융모막암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광 암종, 상피성 암종, 신경아교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 회소돌기아교세포종, 수막종, 신경교세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 혈소판증가증, 원인불명 골수 화생, 호산구과다 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 과다호산구증가증, 신경내분비 암, 또는 유암종), tTMB 스코어를 측정하는 데 사용된 방법론 및/또는 tTMB 스코어를 생성하는 데 사용된 통계적 방법에 의존하여 다양할 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

[0122]

용어 "등가 TMB 값"은, 서열분석된 염기의 수 (예컨대, 예를 들어, FOUNDATIONONE® 패널에 의하여 평가 시, 약 1.1 Mb (예컨대, 약 1.125 Mb))로 체세포 변이체 (예컨대, 체세포 돌연변이)의 계수를 나눔으로써 산출될 수 있는, tTMB 스코어에 상응하는 수치적 값을 지칭한다. 일반적으로, tTMB 스코어는 서열분석된 게놈 영역의 크기와 선형적으로 관련된다는 것이 이해될 것이다. 이러한 등가 tTMB 값은 tTMB 스코어와 비교하여 동등한 정도의 종양 돌연변이 부하를 나타내고, 예를 들어, 면역 관문 억제제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙)에 대한 암 환자의 반응을 예측하기 위해 본원에 기재된 방법에 상호교환적으로 사용될 수 있다. 예로서, 일부 구현예에서, 등가 tTMB 값은 체세포 변이체 (예를 들어, 체세포 돌연변이)의 계수를 서열분석된 염기의 수로 나누어 산출될 수 있는 표준화된 tTMB 값이다. 예를 들어, 등가 tTMB 값은, 서열분석된 염기의 한정된 수 (예컨대, FOUNDATIONONE® 패널에 의하여 평가 시, 예컨대, 약 1.1 Mb (예컨대, 약 1.125 Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시될 수 있다. 예를 들어, 약 25의 tTMB 스코어 (약 1.1 Mb에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 계측 시)는 약 23 돌연변이/Mb의 등가 tTMB 값에 상응한다. 본원에 기술된 tTMB 스코어 (예컨대, 서열분석된 염기의 한정된 수 (예컨대, FOUNDATIONONE® 패널에 의하여 평가 시, 예컨대, 약 1.1 Mb (예컨대, 약 1.125 Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된, TMB 스코어)는 상이한 방법 (예컨대, 전체-엑솜 서열분석 또는 전체-게놈 서열분석)을 사용하여 수득된 등가 tTMB 값을 포괄한다. 예시로서, 전체-엑솜 패널에 대하여, 표적 영역은 대략 50 Mb일 수 있으며, 그리고 검출된 약 500개 체세포 돌연변이를 갖는 샘플은 약 10 돌연변이/Mb의 tTMB 스코어에 대한 등가 tTMB 값이다. 일부 구현예에서, 게놈 또는 엑솜의 서브셋 (예컨대, 사전-결정된 유전자 세트) 내의, 서열분석된 염기의 한정된 수 (예컨대, FOUNDATIONONE® 패널에 의하여 평가 시, 예컨대, 약 1.1 Mb (예컨대, 약 1.125 Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 계측된 tTMB 스코어는, 전체-엑솜 서열분석에 의하여 계측된 tTMB 스코어로부터 약 30% 미만 (예컨대, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 또는 그 이하 미만) 만큼 편차가 있다. 참고: 예컨대, Chalmers 등 *Genome Medicine* 9:34, 2017.

- [0123] 일반적으로 용어 "발현의 수준" 또는 "발현 수준"은 상호교환하여 사용가능하고, 일반적으로 생물학적 샘플 중의 바이오마커의 양을 가리킨다. "발현"은 일반적으로 정보(예컨대, 유전자-암호화 및/또는 후성적 정보)가 상기 세포에 존재하고 작동하는 구조체로 전환되는 과정을 가리킨다. 따라서, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "발현"은 폴리뉴클레오타이드로 전사, 폴리펩타이드, 또는 더욱이 폴리뉴클레오타이드 및/또는 폴리펩타이드 변형으로 번역 (예를 들면, 폴리펩타이드의 후번역 변형)을 지칭한다. 전사된 폴리뉴클레오타이드, 번역된 폴리펩타이드, 또는 폴리뉴클레오타이드 및/또는 폴리펩타이드 변형 (예컨대, 폴리펩타이드의 번역 후 변형)의 단편 또한 이들이 대안적 스플라이싱(alternative splicing)에 의해 생성된 전사물 또는 분해된 전사물에서 유래되는지, 또는 예컨대, 단백질 가수분해에 의한 상기 폴리펩타이드의 번역후 과정에서 유래되는, 발현된 것으로 간주되어야 한다. "발현된 유전자"는 mRNA로 폴리뉴클레오타이드로 전사되고 그리고 그 다음 폴리펩타이드로 번역된 것 및 또한 RNA로 전사되었지만 폴리펩타이드로 번역되지 않은 것 (예를 들면, 이동 및 리보솜 RNA들)을 포함한다.
- [0124] "증가된 발현," "증가된 발현 수준," "증가된 수준," "상승 발현," "상승 발현 수준," 또는 "상승 수준"은, 질환 또는 장애 (예컨대, 암) 또는 내부 대조군 (예컨대, 하우스키핑 바이오마커)을 앓는 개체 또는 개체군과 같은 대조군과 비교하여, 개체에서의 바이오마커의 증가된 발현 또는 증가된 수준을 지칭한다.
- [0125] "감소된 발현," "감소된 발현 수준," "감소된 수준," "저하된 발현," "저하된 발현 수준," 또는 "저하된 수준"은, 질환 또는 장애 (예컨대, 암) 또는 내부 대조군 (예컨대, 하우스키핑 바이오마커)을 앓는 개체 또는 개체군과 같은 대조군과 비교하여, 개체에서의 바이오마커의 감소된 발현 또는 감소된 수준을 지칭한다.
- [0126] 본원에 사용되는 "증폭"은 일반적으로 원하는 서열의 복수의 사본을 생성하는 과정을 가리킨다. "복수의 사본"은 적어도 2개의 사본을 의미한다. "사본"은 반드시 상기 주형 서열에 대한 완전한 서열 상보성 또는 동일성을 의미하지 않는다. 예를 들어, 사본에는 뉴클레오타이드 유사체 예컨대 테옥시이노신, 의도적 서열 변경 (예컨대 혼성가능하나 상기 주형에 상보적이지 않은 서열을 포함하는 프라이머를 통해 유도되는 서열 변경), 및/또는 증폭 중에 발생하는 서열 오류가 포함된다.
- [0127] 용어 "다중-PCR"은 단일 반응에서 2 이상의 DNA 서열을 증폭할 목적으로 설정된 2 이상의 프라이머를 사용하여 단일 공급원(예컨대, 개체)에서 수득된 핵산에서 수행된 단일 PCR를 가리킨다.
- [0128] 본원에 사용되는 "증합효소 연쇄반응" 즉 "PCR" 기법은 일반적으로 핵산, RNA 및/또는 DNA의 특정 조각의 소량이 예를 들어, 미국 특허 번호 4,683,195에 기술된 바와 같이 증폭되는 절차를 지칭한다. 일반적으로, 관심대상의 영역의 말단 또는 그것을 초과하는 것에서 유래된 서열 정보가 확보가능하여, 올리고뉴클레오타이드 프라이머가 설계될 수 있어야 하며; 이와 같은 프라이머는 증폭될 주형의 반대 가닥에 대하여 서열에서 동일하거나 또는 유사하다. 상기 2개 프라이머의 5' 말단 뉴클레오타이드는 증폭된 재료의 말단과 동일할 수 있다. PCR이 특정 RNA 서열, 총 게놈 DNA 유래 특정 DNA 서열, 및 총 세포 RNA에서 전사된 cDNA, 박테리오파지 또는 플라스미드 서열 등을 증폭하기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로 하기를 참고한다: Mullis 등, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51:263 (1987) 및 Erlich, ed., *PCR Technology*, (Stockton Press, NY, 1989). 본원에 사용되는 PCR는 핵산 검사 샘플을 증폭하기 위한 핵산 증합효소 반응 방법의 하나의 예(그러나 유일하지 않음)로 간주되고(여기에는 알려진 핵산(DNA 또는 RNA)을 프라이머로 사용하는 것이 포함됨), 핵산 증합효소를 활용하여 핵산의 특정 조각을 증폭 또는 생성하거나 또는 특정 핵산에 상보적인 핵산의 특정 조각을 증폭 또는 생성한다.
- [0129] "정량적 실시간 증합효소 연쇄 반응(quantitative real-time polymerase chain reaction)" 또는 "qRT-PCR"은 PCR 생성물의 양이 PCR 반응에서 각 단계에서 측정되는 PCR의 형태를 지칭한다. 이 기술은 하기 문헌을 포함하는 다양한 공보에 기재되었다: 예를 들어, Cronin 등, *Am. J. Pathol.* 164(1):35-42 (2004) 및 Ma 등, *Cancer Cell* 5:607-616 (2004).
- [0130] 용어 "마이크로어레이(microarray)"는 기질 상에서의 혼성화 가능한 배열 요소들, 바람직하게는 폴리뉴클레오타이드 프로브의 순서상 배열을 가리킨다.
- [0131] 용어 "진단"은, 본원에서 분자적 또는 병리학적 상태, 질환 또는 병태 (예컨대, 암)의 식별 또는 분류를 지칭하는데 사용된다. 예를 들어, "진단"은 암의 특정 유형의 식별을 지칭할 수 있다. "진단"은, 또한, 예를 들어 조직병리학적 기준에 의한, 또는 분자적 특징 (예컨대, 일 바이오마커 또는 이의 조합물의 발현에 의해 특성화된 하위유형 (예컨대, 상기 유전자에 의하여 암호화된 특정 유전자 또는 단백질))에 의한 암의 특정 하위유형의 분류를 지칭할 수 있다.
- [0132] 용어 "진단 보조(aiding diagnosis)"는 질환 또는 장애 (예를 들면, 암)의 증상 또는 병태의 특정한 유형의 존

재, 또는 성질에 관하여 임상 계측에 보조하는 방법을 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, 질환 또는 병태 (예를 들면, 암)의 진단 보조 방법은 개체로부터 생물학적 샘플에서 특정 체세포 돌연변이를 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0133] 본원에 사용된 어 "샘플"은, 예를 들어, 물리적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적 특성을 기준으로 특성화되고/되거나 식별되어야만 하는 세포 및/또는 다른 분자 실체를 함유하는 목적하는 환자 및/또는 개체로부터 획득되거나 유래된 조성물을 지칭한다. 예를 들어, 어구 "질환 샘플" 및 이의 변화는 특성화되는 세포성 및/또는 분자 독립체를 함유하기 위해 공지된 또는 예상될 해당 피험체로부터 획득된 임의의 샘플을 지칭한다. 샘플은 하기를, 비제한적으로, 포함한다: 조직 샘플, 원발성 또는 배양된 세포 또는 세포주, 세포 상청액, 세포 용해물, 혈소판, 혈청, 혈장, 활액, 림프액, 활막 유체, 여포성 유체, 정액, 양수, 밀크, 전혈, 혈액-유도된 세포, 소변, 뇌척수액, 타액, 가래, 눈물, 땀, 점액, 종양 용해물, 및 조직 배양 배지, 조직 추출물 예컨대 균질화된 조직, 종양 조직, 세포성 추출물, 및 이들의 조합물.

[0134] "조직 샘플" 또는 "세포 샘플"은 피험체 또는 개체의 조직으로부터 획득된 유사한 세포의 수집을 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선, 냉동 및/또는 보존 장기, 조직 샘플, 생검 또는 흡입액에서 유래된 것과 같은 고체 조직; 혈액 또는 모든 혈액 구성성분 예컨대 혈장; 체액, 예컨대 뇌척수액, 양수, 복막액 또는 세포 기질액; 개체의 임신 또는 발달 중 어느 시점에서 유래된 세포일 수 있다. 조직 샘플은 또한 원발성 또는 배양된 세포 또는 세포주일 수 있다. 임의로, 조직 또는 세포 샘플은 질환 조직/장기로부터 획득된다. 예를 들면, "종양 샘플"은 종양 또는 다른 암성 조직으로부터 획득된 조직 샘플이다. 조직 샘플은 세포 유형 (예를 들면, 종양 세포 및 비-종양 세포, 암성 세포 및 비-암성 세포)의 혼합된 집단을 함유할 수 있다. 상기 조직 샘플은 자연적으로 상기 조직과 혼합되지 않는 화합물, 예컨대 보존제, 항응고제, 완충용액, 고정액, 영양분, 항생제 등을 함유할 수 있다. 일부 예에서, 조직 샘플 또는 종양 조직 샘플은 혈액 샘플 또는 샘플 또는 혈액 구성성분, 예를 들어, 혈장이 아니다.

[0135] "종양 세포"는, 본원에 사용된 바와 같이, 이의 종양 또는 샘플 내에 존재하는 임의의 종양 세포를 지칭한다. 종양 세포는, 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된 방법을 사용하여, 종양 샘플, 예를 들어, 기질 세포 및 종양-침윤 면역 세포에 존재할 수 있는 기타 세포와 구별될 수 있다.

[0136] "참조 샘플, "참조 세포, "참조 조직, "대조군 샘플, "대조군 세포" 또는 "대조군 조직"은, 본원에 사용된 바와 같이, 비교 목적으로 사용되는 샘플, 세포, 조직, 표준, 또는 수준을 지칭한다. 일 구현예에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 동일한 피험체 또는 개체의 신체(예를 들어, 조직 또는 세포)의 건강하고/하거나 비-질환 부분으로부터 획득될 수 있다. 예를 들어, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 이환 세포에 근접한 건강하고/하거나 비-이환 세포 또는 조직 (예컨대, 종양에 근접한 세포 또는 조직)일 수 있다. 또 다른 양태에서, 참조 샘플은 동일한 피험체 또는 개체의 신체의 비처리된 조직 및/또는 세포로부터 획득된다. 추가의 또 다른 구현예에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 상기 피험체 또는 개체가 아닌 개체의 신체(예를 들어, 조직 또는 세포)의 건강하고/하거나 비-질환 부분으로부터 획득될 수 있다. 추가의 또 다른 구현예에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 상기 피험체 또는 개체가 아닌 개체의 신체의 비처리된 조직 및/또는 세포로부터 획득될 수 있다.

[0137] 본원에서의 목적을 위해, 조직 샘플의 "단편(section)"은 조직 샘플의 단일부 또는 조각, 예를 들어, 조직 샘플 (예컨대, 종양 샘플)로부터 절단된 조직 또는 세포의 얇은 슬라이스를 의미한다. 조직 샘플의 다중 절편이 수행 및 분석될 수 있다는 것이 이해될 것이며, 단, 조직 샘플의 상동한 절편은 형태학적 수준 및 분자 수준 둘 모두에서 분석될 수 있거나, 또는 폴리펩타이드 (예컨대, 면역조직화학에 의하여) 및/또는 폴리뉴클레오타이드 (예컨대, 동일계내 혼성에 의하여)에 대해 분석될 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0138] "상관관계가 있다" 또는 "상관관계가 있는"은 모든 방식으로 제1 분석 또는 프로토콜의 성능 및/또는 결과를 제2 분석 또는 프로토콜의 성능 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 두 번째 프로토콜을 수행할 때 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용하거나 및/또는 두 번째 분석 또는 프로토콜이 수행되어야 하는지 여부를 측정하기 위해 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 폴리펩타이드 분석 또는 프로토콜의 구현예와 관련하여, 특정 치료 요법이 수행되어야 하는지 여부를 결정하기 위해 폴리펩타이드 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 분석 또는 프로토콜의 구현예와 관련하여, 특정 치료 요법이 수행되어야 하는지 여부를 측정하기 위해 폴리뉴클레오타이드 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다.

- [0139] "개체 반응" 또는 "반응"은 상기 개체에 대한 이점을 표지하는 임의의 종료점을 사용하여 평가될 수 있으며, 이는 비제한적으로 하기를 포함한다: (1) 지연 또는 완전한 정지를 포함하는, 장애 진행 (예컨대, 암 진행)의, 일정 정도까지의, 억제; (2) 종양 크기의 감소; (3) 인접 말초 기관 및/또는 조직으로 암 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 지연, 또는 완전한 정지); (4) 전이의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (5) 질환 또는 장애 (예컨대, 암)와 연관된 하나 이상의 증상의, 일정 정도까지의, 완화; (6) 전체 생존 및 무진행 생존의 길이 증가 또는 연장; 및/또는 (7) 치료 후 사전-결정된 시간에서 감소된 사망률.
- [0140] 약제로의 치료에 환자의 "효과적인 반응" 또는 환자의 "반응성" 및 유사한 문구는 질환 또는 장애 예컨대 암 발병 위험이 있거나 또는 암을 앓는 환자에게 주어진 임상적 또는 치료적 이점을 지칭한다. 일 구현예에서, 상기 이점에는 하기 중 하나 이상이 포함된다: 연장된 생존 (전체 생존 및 무진행 생존 포함); 객관적 반응의 유발 (완전한 반응 또는 부분적 반응 포함); 또는 암의 적응증 또는 증상의 개선. 일 구현예에서, 종양 세포에서의 체세포 돌연변이 수준 [예컨대, 종양 돌연변이 부하 (TMB)]는, 본원에 개시된 방법을 사용하여 측정 시, 상동한 수준의 체세포 돌연변이를 갖지 않는 환자와 비교하여, 약제 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제, 예컨대, 항-PD-L1 항체를 포함하는 치료)로의 치료에 반응성을 가질 가능성이 증가된 것으로 예측되는 환자를 식별하는데 사용된다. 일 구현예에서, 예를 들어, 본원에 개시된 방법을 사용하여 계측 시, 종양 세포의 증가된 수준의 체세포 돌연변이 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 체세포 돌연변이의 수준이 증가되지 않은 환자와 비교하여 약제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체)에 의한 치료에 반응성을 가질 가능성이 증가한 것으로 예측되는 환자를 식별하는 데 사용된다. 또 다른 구현예에서, 바이오마커 (예컨대, 예를 들어, IHC를 사용하여 계측 시, PD-L1 발현)는, 바이오마커를 발현하지 않은 환자와 비교하여, 약제로의 치료 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제, 예컨대, 항-PD-L1 항체를 포함하는 치료)에 반응성일, 증가된 가능성을 가질 것으로 예측되는 환자를 식별하는데 사용된다. 일 구현예에서, 바이오마커 (예컨대, 예를 들어, IHC를 사용하여 계측 시, PD-L1 발현)는, 바이오마커를 상동한 수준으로 발현하지 않은 환자와 비교하여, 약제로의 치료 (예컨대, 항-PD-L1 항체)에 반응성일, 증가된 가능성을 가질 것으로 예측되는 환자를 식별하는데 사용된다. 일 구현예에서, 바이오마커의 존재는, 바이오마커의 존재를 갖지 않는 환자와 비교하여, 약제로의 치료에 반응성일 보다 큰 가능성을 갖는 환자를 식별하는데 사용된다. 또 다른 구현예에서, 바이오마커의 존재는, 바이오마커의 존재를 갖지 않는 환자와 비교하여, 환자가 약제로의 치료로부터 이점을 얻을 증가된 가능성을 가질 것임을 측정하는데 사용된다.
- [0141] "객관적 반응(objective response)"은 측정가능한 반응, 예를 들면 완전한 반응(CR) 또는 부분적 반응(PR)을 가리킨다. 일부 구현예에서, "객관적 반응 속도" (ORR)는 완전 반응 (CR) 속도 및 부분 반응 (PR) 속도의 총합을 지칭한다.
- [0142] "완전한 반응" 또는 "CR"이란 치료 반응에서 암의 모든 조직의 사라짐 (예컨대, 모든 표적 병변의 사라짐)이 의도된다. 이것은 암이 치유되었다는 것을 항상 의미하는 것은 아니다.
- [0143] "지속적인 반응"은 치료의 중단 후 종양 성장을 감소시키는 것에 대한 지속적인 효과를 지칭한다. 예를 들어, 종양 크기는 약제 투여 단계의 시작시 크기와 비교하여 동일하거나 더 작은 상태일 수 있다. 일부 구현예에서, 지속된 반응은, 적어도 치료 기간의 적어도 1.5×, 2.0×, 2.5×, 또는 3.0× 길이의 치료 기간 또는 그 이상의 기간과 상동한 기간을 갖는다.
- [0144] 본원에 사용된 "암 재발의 감소 또는 억제"는, 종양 또는 암 재발 또는 종양 또는 암 진행을 감소시키거나 억제하는 것을 의미한다. 본원에 개시된 바와 같이, 암 재발 및/또는 암 진행은 비제한적으로 암 전이를 포함한다.
- [0145] 본원에 사용된 "부분적 반응" 또는 "PR"는, 치료에 대한 반응에서 하나 이상의 종양 또는 병변의 크기, 또는 체내에서 암의 길이의 감소를 가리킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, PR 은, 기준선 SLD를 참조로, 표적 병변의 가장 긴 직경 (SLD)의 총합의 적어도 30%의 감소를 지칭한다.
- [0146] 본원에 사용된 "무변성 질환(stable disease)" 또는 "SD"는, 치료 개시 이래 최소 SLD를 참조로 고려하여 PD에 대한 자격이 되도록 충분히 증가하지 않거나 또는 PR 에 대한 자격이 되도록 표적 병변의 충분한 위축이 발생하지 않은 상태를 지칭한다.
- [0147] 본원에 사용된 "진행성 질환" 또는 "PD"는, 표적 병변의 SLD의 적어도 20% 증가를 지칭한다 (치료 개시 또는 하나 이상의 신규 병변의 존재 이후 보고된 최소 SLD를 참고로 하여).
- [0148] 용어 "생존"은 살아남은 상기 환자를 가리키며, 전체 생존 뿐만 아니라 무진행 생존을 포함한다.
- [0149] 본원에 사용된 "무진행 생존"(progression-free survival, PFS)은, 질환이 더 나빠지지 않는, 치료된 질환

(예컨대 암)의 치료 동안 및 치료 후의 시간 길이를 지칭한다. 무진행 생존은, 환자가 완전 반응 또는 부분 반응을 경험한 시간의 양, 뿐만 아니라 환자가 무변성 질환을 경험한 시간의 양을 포함할 수 있다.

- [0150] 본원에 사용된 바와 같이, "전체 생존" (overall survival, OS)은 특정 기간 후 생존할 가능성이 큰 군 중 개체의 백분율을 지칭한다.
- [0151] "생존율 연장"이란 미치료 환자와 비교하여 (즉, 상기 약제로 치료받지 않은 환자와 비교하여), 또는 지정된 수치로 또는 체세포 돌연변이를 갖지 않는 환자와 비교하여, 및/또는 항-종양 제제로 치료 받은 환자와 비교하여, 치료 받은 환자에서의 전체 또는 무진행 생존율의 증가를 의미한다.
- [0152] 본원에 사용되는 용어 "실질적으로 동일한"은 두 개의 수치 값 사이에 충분히 높은 정도의 유사성이 있어서, 당해 기술의 숙련가가 두 값 사이의 차이가 상기 값들에 의해 측정되는 생물학적 특징(예컨대, K_d 값 또는 돌연변이 수준)의 문맥 내에서 생물학적 및/또는 통계학적 유의성이 거의 또는 전혀 없는 것으로 간주하는 것을 의미한다. 상기 두 값의 차이는, 예를 들어, 참조/비교 값의 함수로서 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 및/또는 약 10% 미만이다.
- [0153] 본원에 사용된 어구 "실질적으로 상이한"은 두 개의 수치 값 사이에 충분히 높은 정도의 상이성이 있어서, 당해 기술의 숙련가가 두 값 사이의 차이를 상기 값들에 의해 측정되는 생물학적 특징(예컨대, K_d 값 또는 발현 수준)들이 문맥 내에서 통계학적 유의성이 있다고 간주하는 것을 의미한다. 상기 두 값의 차이는, 예를 들어, 참조/비교 분자에 대한 값의 함수로서 약 10% 초과, 약 20% 초과, 약 30% 초과, 약 40% 초과, 및/또는 약 50% 초과이다.
- [0154] 단어 "표지"는, 본원에 사용될 경우, 시약, 예컨대 폴리뉴클레오타이드 프로브 또는 항체에 직접 또는 간접적으로 접합되거나 또는 융합되고, 이것이 접합되거나 또는 융합되는 상기 시약의 검출을 용이하게 하는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 상기 표지는 그 자체로 검출가능하거나 (예컨대, 방사선 동위원소 표지 또는 형광 표지), 또는 효소 표지의 경우, 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매할 수 있다. 상기 용어는 하기를 포괄하는 것으로 의도된다: 검출가능한 물질을 프로브 또는 항체에 커플링 (즉, 물리적으로 연결)함에 의한 프로브 또는 항체의 직접 표지, 뿐만 아니라 직접적으로 표지된 또 다른 시약과의 반응성에 의한 프로브 또는 항체의 간접 표지. 간접 표지의 예시는 형광-표지를 사용한 1차 항체의 검출, 및 비오틴에 의한 DNA 프로브의 말단-표지를 포함하며, 이로써 이는 형광-표지 스트렙타비딘에 의하여 검출될 수 있다.
- [0155] "치료적 유효량"은 포유동물에서 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 치료제의 양을 나타낸다. 암의 경우, 치료제의 치료적 유효량은 암 세포의 수를 감소시키고; 원발성 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관 내로의 암 세포 침윤을 억제하고(즉, 얼마간 지연하고 바람직하게는 중지시키고); 종양 전이를 억제하고(즉, 얼마간 지연하고 바람직하게는 중지시키고); 종양 성장을 얼마간 억제하고; 상기 장애와 관련된 하나 이상의 증상을 얼마간 경감시킬 수 있다. 상기 약물이 성장을 방지하거나 및/또는 기존 암 세포를 사멸시킬 정도이면, 상기 약물은 세포증식 억제제 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 요법을 위해, 생체내 효능은, 예를 들면 생존 기간, 질환 진행까지의 시간 (TTP), 반응 속도 (예컨대, CR 및 PR), 반응 기간, 및/또는 삶의 질 평가에 의해 측정될 수 있다.
- [0156] "장애(disorder)"는 포유동물이 문제 장애를 갖기 용이하게 만드는 병리적 상태를 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환을 비제한적으로 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 임의의 병태이다.
- [0157] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 조절되지 않은 세포 성장에 의해 특징되는 포유동물의 생리 조건을 지칭하거나 설명한다. 본 정의에는 양성 및 악성 암이 포함된다. "초기 단계 암" 또는 "초기 단계 종양"은 침습성 또는 전이성이 아닌 또는 0, 1, 또는 2 기 암으로서 분류되지 않는 암을 의미한다. 암의 예는, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 암종, 림프종, 모세포종 (수모세포종 및 망막모세포종 포함), 육종 (지방육종 및 활막 세포 육종 포함), 신경내분비 종양 (카르시노이드 종양, 가스트린종, 및 소도 세포 암 포함), 중피종, 신경집종 (청신경종 포함), 수막종, 선암종, 흑색종, 및 백혈병 또는 림프양 악성종양. 암의 예시는 또한 하기를 비제한적으로 포함한다: 폐암 [예컨대, 비-소세포 폐암 (NSCLC)], 신장암 (예컨대, 신장 요로상피 암종 또는 RCC), 방광암 [예컨대, 방광 요로상피 (이행 세포) 암종 (예컨대, 국소적 진행성 또는 전이성 요로상피 암, 포함 1L 또는 2L+ 국소적 진행성 또는 전이성 요로상피 암종)], 유방암, 결장직장암 (예컨대, 결장 선암종), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종 (예컨대, 피부 흑색종), 두경부암 [예컨대, 두경부 편평상피 세포 암종 (HNSCC)], 갑상선암, 육종 (예컨대, 연질-조직 육종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 골형성성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피세포육종, 림프관육종, 림프관내피세포육종, 평활근육종, 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종,

자궁경부 암, 흉선 암종, 백혈병 [예컨대, 급성 림프성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 호산구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병 (CLL)], 림프종 [예컨대, 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종 (NHL)], 골수종 [예컨대, 다발성 골수종 (MM)], 균상식육종, 메르켈 세포 암, 혈액 악성종양, 혈액학적 조직의 암, B 세포 암, 기관지 암, 위암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 고환암, 담관암, 소장 또는 맹장암, 타액샘 암, 부신암, 선암종, 염증성 근섬유모세포 종양, 위장 간질성 종양 (GIST), 결장암, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 장애 (MPD), 진성 적혈구증가증, 척색종, 활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 맘샘 암종, 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관암종, 용모막암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광 암종, 상피성 암종, 신경아교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 희소돌기아교세포종, 수막종, 신경교세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 혈소판증가증, 원인불명 골수 화생, 호산구과다 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 과다호산구증가증, 신경내분비 암, 또는 유암종). 이러한 암의 더욱 특별한 예는 NSCLC를 포함하는 폐암, 편평 세포 암 (예를 들어, 상피성 편평 세포 암), 소세포 폐암 (SCLC)을 포함하는 폐암, 및 폐의 선암종 및 폐의 편평 상피 암종을 포함한다. 특정 예시에서, 폐암은 NSCLC, 예를 들어 국소적 진행성 또는 전이성 NSCLC (예컨대, 단계 IIIB NSCLC, 단계 IV NSCLC, 또는 재발성 NSCLC)이다. 일부 구현예에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 절제불가능/수술불가능한 폐암 (예를 들어, 절제불가능 NSCLC)이다. 다른 예는 복막 암, 간세포 암, 방광암 (예를 들어, 요로상피 방광암 (예를 들어, 이행 세포 또는 요로상피 암종, 비-근육 침습성 방광암, 근육-침습성 방광암, 및 전이성 방광암) 및 비-요로상피 방광암), 위장 암을 포함하는 위 또는 위암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 간종양, 유방암 (전이성 유방암 포함), 결장암, 직장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액샘 암종, 신장 또는 신장암, 전립선암, 외음부 암, 갑상선암, 간 암종, 항문 암종, 음경 암종, 메르켈 세포 암, 균상식육종, 고환암, 식도암, 담관 종양 뿐만 아니라 두경부암 및 혈액 악성종양을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 암은 (국소로 재발성 질환이 치유적 목적으로 절제가 불가능한 경우인) 국소로 재발성 또는 전이성 질환을 갖는 유방의 임의의 조직학적으로 확인된 삼중-음성 (ER-, PR-, HER2-) 선암종을 포함하는 삼중-음성 전이성 유방암이다.

- [0158] 본원에 사용된 용어 "종양"은, 악성이든 양성이든, 모든 신생물성 세포 성장 및 증식, 그리고 모든 전-암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성", 및 "종양"은 본원에서 지칭될 경우 상호 배타적인 것이 아니다.
- [0159] 용어 "약제학적 제형"은 상기 내 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 하기 위한 형태인, 그리고 제형이 투여되는 피험체에 허용불가능하게 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제형을 지칭한다.
- [0160] "약제학적으로 허용가능한 담체"는 활성 성분을 제외한, 개체에 비독성인, 약제학적 제형 중 성분을 가리킨다. 약제학적으로 허용가능한 담체에는 비제한적으로, 완충제, 부형제, 안정제 또는 보존제가 포함된다.
- [0161] 본원에서 사용되는 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 이의 문법적 변형)는 치료되는 개체의 자연적인 과정을 변경하려는 임상적 중재술을 나타내며, 예방을 위해 또는 임상 병리학의 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발병 또는 재발 방지, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이 방지, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 차도 또는 개선된 예후를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 항체 (예컨대 항-PD-L1 항체 및/또는 항-PD-1 항체)는 질환의 발병을 지연시키거나 질환의 진행을 서행시키기 위해 사용된다.
- [0162] 용어 "항암 요법"은 암 치료에 유용한 요법을 지칭한다. 항암 치료제의 예시에는 비제한적으로 세포독성제, 화학치료 제제, 성장 억제제, 방사선 요법에서 사용되는 제제, 항-신생혈관계, 세포자멸제, 항-튜블린 제제, 및 암을 치료하기 위한 다른 제제, 예를 들어, 항-CD20 항체, 혈소판 유도된 성장 인자 억제제(예를 들면, GLEEVECTM (이마티닙 메실레이트)), COX-2 억제제(예를 들면, 셀레코시브), 인터페론, 사이토카인, 하나 이상의 하기 표적 중 하나 이상에 결합하는 길항제 (예컨대, 중화 항체): PDGFR- β , BlyS, APRIL, BCMA 수용체(들), TRAIL/Apo2에 결합하는 길항제(예를 들면, 중화 항체), 다른 생물활성 및 유기 화학 제제 등이 포함된다. 이들의 조합물은 본 발명에서 또한 포함된다.
- [0163] 용어 "세포독성제"는 본원에서 사용된 바와 같이 세포의 기능을 저해 또는 예방 및/또는 세포의 파괴를 유발시키는 물질을 지칭한다. 상기 용어는 방사성 동위원소 (예를 들면, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학치료제 또는 예를 들면, 메토포렉세이트, 아드리아마이신, 빈카 알카로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 펠팔란, 미토마이신 C, 클로르암부실, 다우노루비

신 또는 다른 개재 약물); 효소 및 그 단편 예컨대 핵산분해 효소; 항생제; 및 독소 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성 독소, 단편 및/또는 그 변이체 포함; 및 아래 개시된 다양한 항종양 또는 항암제를 포함하는 것으로 의도된다. 다른 세포독성제는 하기에 기술된다. 종양과피 제제는 종양 세포의 파괴를 유발시킨다.

[0164]

"화학치료제"는 암의 치료에 유용한 화합물이다. 화학치료제의 예시는 하기를 포함한다: 알킬화제 예컨대 티오테파 및 CYTOXAN® 사이클로포스파마이드; 알킬 설포네이트 예컨대 부셀판, 임프로셀판 및 피포셀판; 아지리딘 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸라멜라민 (알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민을 포함); 아세토게닌 (특히 불라타신 및 불라타신은); 델타-9-테트라하이드로칸나비놀 (드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파콘; 라파콜; 콜히친; 베틀린 산; 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 (HYCAMTIN®), CPT-11 (이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신을 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 바이젤레신 합성 유사체를 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토파이신 (특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 둘라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1을 포함); 엘류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코디티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드 예컨대 클로르암부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노뎀비친, 펜에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님무스틴; 항생제, 예컨대 엔디인 항생제 (예컨대, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 γ II 및 칼리키아마이신 ω II (참고, 예컨대, Nicolaou 등, *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)); 다이네마이신 (다이네마이신 A를 포함); 에스페라마이신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 엔디인 항생제 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, ADRIAMYCIN® 독소루비신 (모폴리노-독소루비신, 시아노모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신을 포함), 에피루비신, 에소루비신, 아이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질, 예컨대 메토평렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 염산 유사체, 예컨대 데노프테린, 메토평렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피리딘, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로젠 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항-부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 염산 보충물 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글리코사이드; 아미노레벨린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니탄; 엘립티늄 아세테이트; 에토피론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미토산트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK® 다당류 복합체 (JHS 천연 생성물, Eugene, OR); 라족산; 라이족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리메틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신 (ELDISINE®, FILDESIN®); 다카바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라바이노사이드 ("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들어 탁산 (TAXOL® 파클리탁셀 (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™ 크레모포어-없음, 파클리탁셀의 알부민-가공된 나노입자 제형 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), 및 TAXOTERE® 도세탁셀 (-Poulenc Rorer, Antony, France)을 포함); 클로란부실; 겐시타빈 (GEMZAR®); 6-티오구아닌; 메르캅토피리딘; 메토평렉세이트; 백금 또는 백금-기반 화학요법 제제 및 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴 (ELOXATIN™), 사트라플라틴, 피코플라틴, 네다플라틴, 트리플라틴, 및 리포플라틴; 빈블라스틴 (VELBAN®); 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파마이드; 미토산트론; 빈크리스틴 (ONCOVIN®); 옥살리플라틴; 류코보빈; 비노렐빈 (NAVELBINE®); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸하이로르니틴 (DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 카페시타빈 (XELODA®); 약제학적으로 허용가능한 염, 상기 중 임의의 것의 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기 중 2 이상의 조합물, 예컨대 CHOP (사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니솔론의 약자), 및 FOLFOX, (5-FU 및 류코보빈과 조합된 옥살리플라틴 (ELOXATIN™)으로의 치료 요법의 약자). 추가 화

화학치료제는 항체 약물 접합체로서 유용한 세포독성제, 예컨대 메이탄시노이드 (DM1, 예를 들어) 및 아우리스타틴 MMAE 및 MMAF를, 예를 들어 포함한다.

[0165] "화학치료제"는 또한, 암의 성장을 촉진할 수 있는 호르몬 효과를 조절, 감소, 차단 또는 억제하는데 작용하고, 종종 전신성, 또는 전신 치료의 형태인 "항-호르몬 제제" 또는 "내분비 치료제"를 포함한다. 이들은 자체가 호르몬일 수 있다. 예시는 하기를 포함하는 항-에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절물질 (SERM)을 포함한다: 예를 들면, 타목시펜 (NOLVADEX® 타목시펜 포함), EVISTA® 랄록시펜, 드롤록시펜, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케녹시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 FARESTON®, 토레미펜; 항-프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향-조절물질 (ERD); 난소를 억제 또는 폐쇄하는 작용을 하는 제제, 루틴화 호르몬-방출 호르몬 (LHRH) 작용제 예컨대 LUPRON® 및 ELIGARD® 류프롤라이드 아세테이트, 고세렐린 아세테이트, 부세렐린 아세테이트 및 트립테레린; 기타 항-안드로겐 예컨대 플루타미드, 닐루타마이드 및 바이칼루타마이드; 및 부신 내 에스트로겐 생산을 조절하는 아로마타제 효소를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대, 예를 들면, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, MEGASE® 메게스트롤 아세테이트, AROMASIN® 엑세메스탄, 포르메스타니, 파드로졸, RIVISOR® 보로졸, FEMARA® 레트로졸, 및 ARIMIDEX® 아나스트로졸. 또한, 화학치료제의 상기 정의는 하기를 포함한다: 비스포스포네이트 예컨대 클로드로네이트 (예를 들면, BONEFOS® 또는 OSTAC®), DIDROCAL® 에티드로네이트, NE-58095, 졸레드론산/ZOMETA® 졸레드로네이트, FOSAMAX® 알렌드로네이트, AREDIA® 팔미드로네이트, SKELID® 틸루드로네이트, 또는 ACTONEL® 리센드로네이트; 뿐만 아니라 트록사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히 비정상 세포 증식과 관련된 신호전달 경로 내의 유전자의 발현을 억제하는 것들, 예컨대, 예를 들면, PKC-알파, Raf 및 H-Ras, 및 표피 성장 인자 수용체 (EGFR); 백신, 예컨대 THERATOPE® 백신 및 유전자 요법 백신, 예를 들면, ALLOVECTIN® 백신, LEUVECTIN® 백신, 및 VAXID® 백신; LURTOTECAN®; 토포이소머라제 1 억제제; ABARELIX® rmRH; 라파티닙 및 라파티닙 디토실레이트 (ErbB-2 및 EGFR 이중 티로신 키나제 소분자 억제제 (GW572016로도 공지됨)); 및 상기 중 임의의 것의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체.

[0166] 화학치료제는 또한 하기를 포함한다: 알렘투주맵(캄파스(Campath)), 베바시주맵(AVASTIN®, Genentech); 세톡시맵(ERBITUX®, Imclone); 파니투무맵(VECTIBIX®, Amgen), 리톡시맵(RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), 퍼투주맵(OMNITARG®, 2C4, Genentech), 트라스투주맵(HERCEPTIN®, Genentech), 토시투모맵(Bexxar, Corixa) 및 항체 약물 접합체, 켄투주맵 오조가미신(MYLOTARG®, Wyeth). 본 발명의 화합물과 조합된 제제로서 치료적 잠재력을 갖는 추가의 인간화된 단클론성 항체는 하기를 포함한다: 아폴리주맵, 아셀리주맵, 아틀리주맵, 바피뉴주맵, 비바투주맵 메르탄신, 칸투주맵 메르탄신, 세텔리주맵, 세르톨리주맵 페골, 시드푸시투주맵, 시드투주맵, 다클리주맵, 에쿨리주맵, 에팔리주맵, 에프라투주맵, 에블리주맵, 펠비주맵, 폰톨리주맵, 켄투주맵 오조가미신, 이노투주맵 오조가미신, 이필리무맵, 라베투주맵, 린투주맵, 마투주맵, 메폴리주맵, 모타비주맵, 모토비주맵, 나탈리주맵, 니모투주맵, 놀로비주맵, 누마비주맵, 오크렐리주맵, 오말리주맵, 팔리비주맵, 파스콜리주맵, 펙푸시투주맵, 펙투주맵, 펙셀리주맵, 랄리비주맵, 라니비주맵, 레슬리비주맵, 레슬리주맵, 레시비주맵, 로벨리주맵, 루폴리주맵, 시브로투주맵, 시폴리주맵, 손투주맵, 타카투주맵 테트라세탄, 타도시주맵, 탈리주맵, 테피바주맵, 토실리주맵, 토랄리주맵, 트라스투주맵, 투코투주맵 셀모류킨, 투쿠시투주맵, 우마비주맵, 유르복사주맵, 우스테키누맵, 비실리주맵, 항-인터류킨-12 (ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories (인터류킨-12 p40 단백질을 인식하기 위하여 유전적으로 변형된 재조합 배타적 인간-서열, 전장 IgG1 λ 항체)).

[0167] 화학치료제는 또한 하기를 포함한다: "EGFR 억제제" (EGFR에 결합하거나, 달리는 이에 직접 상호작용하고, 이의 신호전달 활성을 예방 또는 감소시키는 화합물로 지칭되고, 대안적으로 "EGFR 길항제"로 지칭됨). 상기 제제의 예시는 EGFR에 결합하는 항체 및 소분자를 포함한다. EGFR에 결합하는 항체의 예시는 하기를 포함한다: MAb 579 (ATCC CRL HB 8506), MAb 455 (ATCC CRL HB8507), MAb 225 (ATCC CRL 8508), MAb 528 (ATCC CRL 8509) (참고: 미국 특허 번호 4,943, 533, Mendelsohn 등) 및 이의 변이체, 예컨대 키메라화된 225 (C225 또는 세톡시맵; ERBITUX®) 및 재형상화된 인간 225 (H225) (참고: WO 96/40210, Imclone Systems Inc.); IMC-11F8, 완전 인간, EGFR-표적 항체 (Imclone); 유형 II 돌연변이체 EGFR에 결합하는 항체 (미국 특허 번호 5,212,290); 미국 특허 번호 5,891,996에 기재된, EGFR에 결합하는 인간화되고 키메라성인 항체; 및 EGFR에 결합하는 인간 항체, 예컨대 파니투무맵의 ABX-EGF (참고: WO98/50433, Abgenix/Amgen); EMD 55900 (Stragliotto 등 *Eur. J. Cancer* 32A:636-640 (1996)); EMD7200 (마투주맵) EGFR 결합 (EMD/Merck)을 위하여 EGF 및 TGF-알파 둘 모두와 경쟁하는 EGFR에 대하여 지향된, 인간화된 EGFR 항체; 및 인간 EGFR 항체, HuMax-EGFR (GenMab); 완전 인간 항체 (E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3, 및 E7.6. 3로 공지되며, 그리고 US 6,235,883에 기술됨); MDX-447 (Medarex Inc); 및 mAb 806 또는 인간화된 mAb 806 (Johns 등, *J. Biol. Chem.* 279(29):30375-30384

(2004)]. 항-EGFR 항체는 세포독성 제제와 접합되고, 이로써 면역접합체를 생성할 수 있다 (참고: 예를 들어 EP 659 439A2, Merck Patent GmbH). EGFR 길항제는 미국 특허 번호 5,616,582, 5,457,105, 5,475,001, 5,654,307, 5,679,683, 6,084,095, 6,265,410, 6,455,534, 6,521,620, 6,596,726, 6,713,484, 5,770,599, 6,140,332, 5,866,572, 6,399,602, 6,344,459, 6,602,863, 6,391,874, 6,344,455, 5,760,041, 6,002,008, 및 5,747,498, 뿐만 아니라 WO 98/14451, WO 98/50038, WO 99/09016, 및 WO 99/24037의 PCT 공보에 기술된 화합물과 같은 소분자를 포함한다. 특정한 소분자 EGFR 길항제는 하기를 포함한다: OSI-774 (CP-358774, 에를로티닙, TARCEVA® Genentech/OSI 의약품); PD 183805 (CI 1033, 2-프로펜아미드, N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-7-[3-(4-모폴리닐)프로폭시]-6-퀴나졸리닐]-, 디하이드로클로라이드, Pfizer Inc.); ZD1839, 게피티닙 (IRESSA®) 4-(3'-클로로-4'-플루오로아닐리노)-7-메톡시-6-(3-모폴리노프로폭시)퀴나졸린, AstraZeneca); ZM 105180 ((6-아미노-4-(3-메틸페닐-아미노)-퀴나졸린, Zeneca); BIBX-1382 (N8-(3-클로로-4-플루오로-페닐)-N2-(1-메틸-피페리딘-4-일)-피리미도[5,4-d]피리미딘-2,8-디아민, Boehringer Ingelheim); PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-페닐에틸)아미노]-1H-피롤로[2,3-d]피리미딘-6-일]-페놀); (R)-6-(4-하이드록시페닐)-4-[(1-페닐에틸)아미노]-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘); CL-387785 (N-[4-[(3-브로모페닐)아미노]-6-퀴나졸리닐]-2-부틴아미드 (butynamide); EKB-569 (N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-3-시아노-7-에톡시-6-퀴놀리닐]-4-(디메틸아미노)-2-부틴아미드 (Wyeth); AG1478 (Pfizer); AG1571 (SU 5271; Pfizer); 및 이중 EGFR/HER2 티로신 키나제 억제제, 예컨대 라파티닙 (TYKERB®, GSK572016 또는 N-[3-클로로-4-[(3-플루오로페닐)메톡시]페닐]-6[[[2-메틸설포닐)에틸]아미노]메틸]-2-푸라닐]-4-퀴나졸린아민).

[0168] 화학치료제는 또한 하기를 포함할 수 있다: 티로신 키나제 억제제 (선행 단락에 주지된 EGFR-표적화된 약물 포함); 소분자 HER2 티로신 키나제 억제제, 예컨대 TAK165 (Takeda 사); CP-724,714, ErbB2 수용체 티로신 키나제의 경구 선택적 억제제 (Pfizer 및 OSI); 이중-HER 저해제, 예컨대 EKB-569 (Wyeth 사) (EGFR에 우선적으로 결합하지만 HER2 및 EGFR-과발현 세포 둘 모두를 억제함); 라파티닙 (GSK572016; Glaxo-SmithKline 사), 경구 HER2 및 EGFR 티로신 키나제 억제제; PKI-166 (Novartis 사); 팬(pan)-HER 억제제, 예컨대 카네르티닙 (CI-1033; Pharmacia 사); Raf-1 억제제, 예컨대 안티센스 제제 ISIS-5132 (Raf-1 신호전달을 억제하는 ISIS 의약품으로부터 이용가능함); 비-HER 표적화된 TK 억제제, 예컨대 이마티닙 메실레이트 (GLEEVEC®, Glaxo SmithKline 사); 다중-표적화된 티로신 키나제 저해제, 예컨대 수니티닙 (SUTENT®, Pfizer 사); VEGF 수용체 티로신 키나제 저해제, 예컨대 바탈라닙 (PTK787/ZK222584, Novartis/Schering AG 사); MAPK 세포외 조절된 키나제 I 저해제 CI-1040 (Pharmacia 사); 퀴나졸린, 예컨대 PD 153035, 4-(3-클로로아닐리노) 퀴나졸린; 피리도피리미딘; 피리미도피리미딘; 피롤로피리미딘, 예컨대 CGP 59326, CGP 60261 및 CGP 62706; 피라졸로피리미딘, 4-(페닐아미노)-7H-피롤로[2,3-d] 피리미딘; 쿠르쿠민 (디페놀로일 메탄, 4,5-비스 (4-플루오로아닐리노)프탈이미드); 타이르포스틴 (니트로티오펜 모이머티 함유); PD-0183805 (Warner-Lambert); 안티센스 분자 (예를 들면, HER-암호화 핵산에 결합하는 것들); 퀴녹살린 (미국 특허 번호 5,804,396); 트리포스틴 (미국 특허 번호 5,804,396); ZD6474 (Astra Zeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); 팬(pan)-HER 억제제 예컨대 CI-1033 (Pfizer); 아피니탁 (ISIS 3521; Isis/Lilly); 이마티닙 메실레이트 (GLEEVEC®); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); CI-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); 세막시닙 (Pfizer); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone), 라파마이신 (시롤리무스, RAPAMUNE®); 또는 미국 특허 번호 5,804,396; WO 1999/09016 (American Cyanamid); WO 1998/43960 (American Cyanamid); WO 1997/38983 (Warner Lambert); WO 1999/06378 (Warner Lambert); WO 1999/06396 (Warner Lambert); WO 1996/30347 (Pfizer, Inc); WO 1996/33978 (Zeneca); WO 1996/3397 (Zeneca) 및 WO 1996/33980 (Zeneca)의 특허 공보 중 임의의 것에 기재된 것들.

[0169] 화학치료제로는 텍사메타손, 인터페론, 콜히친, 메토프린, 사이클로스포린, 암포테리신, 메트로니다졸, 알레투주맙, 알리트레티노인, 알로푸리놀, 아미포스틴, 삼산화비소, 아스파라기나제, BCG 생균, 베바쿠지맙, 베사로틴, 클라드리빈, 클로파라빈, 다베포에틴 알파, 데니류킨, 텍스라족산, 에포에틴 알파, 엘로티닙, 필그라스티م, 히스트렐린 아세테이트, 이브리투모맙, 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 레날리도미드, 레바미졸, 메스나, 메톡살렌, 난드롤론, 벨라라빈, 노페투모맙, 오프렐베킨, 팔리페르민, 파미드로네이트, 페가데마제, 페가스파가제, 페그필그라스티م, 페메트렉세드 디소듐, 플리카마이신, 포르피머 소듐, 퀴나크린, 라스부리카제, 사르그라마스틴, 테모졸로미드, VM-26, 6-TG, 토레미펜, 트레티노인, ATRA, 발루비신, 졸레드로네이트 및 졸레드론산 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

[0170] 화학치료제는 또한 하기를 포함한다: 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 코르티손 아세테이트, 텍소코르톨 피발레이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 트리암시놀론 알코올, 모메타손, 암시노나이드, 부테소나이드, 데소나이드, 플루오시노나이드, 플루오시놀론 아세토나이드, 베타메타손, 베타메타손 나트륨 포스페이트,

텍사메타손, 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 플루오코르톨론, 하이드로코르티손-17-부티레이트, 하이드로코르티손-17-발레레이트, 아클로메타손 디프로피오네이트, 베타메타손 발레레이트, 베타메타손 디프로피오네이트, 프레드니카르베이트, 클로베타솔-17-부티레이트, 클로베타솔-17-프로피오네이트, 플루오코르톨론 카프로에이트, 플루오코르톨론 피발레이트 및 플루프레드니텐 아세테이트; 면역 선택적 항-염증성 펩타이드 (ImSAIDs), 예컨대 페닐알라닌-글루타민-글리신 (FEG) 및 이의 D-이성질체 형태 (feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC); 항-류마티스성 약물 예컨대 아자티오프린, 사이클로스포린 (사이클로스포린 A), D-페니실아민, 금 염, 하이드록시클로로퀸, 레플루노마이드미노사이클린, 설파살라진, 종양 괴사 인자 알파 (TNF α) 차단제, 예컨대 에타네르셉트 (ENBREL®), 인플릭시맵 (REMICADE®), 아달리무맵 (HUMIRA®), 세르톨리주맵 페골 (CIMZIA®), 골리무맵 (SIMPONI®), 인터류킨 1 (IL-1) 차단제, 예컨대 아나킨라 (KINERET®), T 세포 상호작용 차단제 예컨대 아바타셉트 (ORENCIA®), 인터류킨 6 (IL-6) 차단제 예컨대 토실리주맵 (ACTEMERA®); 인터류킨 13 (IL-13) 차단제, 예컨대 레브리키주맵; 인터페론 알파 (IFN) 차단제 예컨대 론탈리주맵; 베타 7 인테그린 차단제 예컨대 rhuMab 베타7; IgE 경로 차단제 예컨대 항-M1 프라임(prime); 분비된 동형삼량체 LTa3 및 막 결합된 헤테로트리머 LTa1/ β 2 차단제 예컨대 항-림프독소 알파 (LTa); 여러 종류의 조사 제제, 예컨대 티오플라틴, PS-341, 페닐부티레이트, ET-18-OCH₃, 및 파르네실 전달효소 억제제 (L-739749, L-744832); 폴리페놀, 예컨대 쿠에르세틴, 레스베라트롤, 피세아탄놀, 에피갈로카테킨(epigallocatechine) 갈레이트, 테아플라빈, 플라바놀, 프로시아니딘, 베톨린산 및 이의 유도체; 자가포식 억제제, 예컨대 클로로퀸; 텔타-9-테트라하이드로칸나비놀 (드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파론; 라파론; 콜히친; 베톨린산; 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신; 포도필로톡신; 테가푸르 (UFTORAL®); 백사로텐 (TARGRETIN®); 비스포스포네이트 예컨대 클로드로네이트 (예를 들면, BONEFOS® 또는 OSTAC®), 에티드로네이트 (DIDROCAL®), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트 (ZOMETA®), 알렌드로네이트 (FOSAMAX®), 팔미드로네이트 (AREDIA®), 틸루드로네이트 (SKELID®), 또는 리센드로네이트 (ACTONEL®); 및 표피 성장 인자 수용체 (EGF-R); 백신, 예컨대 THERATOPE® 백신; 페리포신, COX-2 억제제 (예를 들면 셀레코픽 또는 에토리코픽), 프로테아좀 억제제 (예를 들면 PS341); CCI-779; 티피파르닙 (R11577); 오라페닙, ABT510; Bcl-2 억제제, 예컨대 오블리메르센 나트륨 (GENASENSE®); 픽산트론; 파르네실전달효소 억제제, 예컨대 로나파르닙 (SCH 6636, SARASARTM); 및 상기 중 임의의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기 중 2종 이상의 조합물.

[0171] 본원에 사용된 용어 "전구약물"은, 친계 약물과 비교하여 종양 세포에 덜 세포독성이고, 더욱 활성인 친계 형태로 전환 또는 효소적으로 활성화될 수 있는 약제학적 활성 물질의 전구체 또는 유도체를 지칭한다. 하기를 참고한다: 예를 들어, Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" *Biochemical Society Transactions*, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) 및 Stella 등, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," *Directed Drug Delivery*, Borchardt 등, (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985). 본 발명의 전구약물은 비제한적으로 하기를 포함한다: 포스페이트-함유 전구약물, 티오포스페이트-함유 전구약물, 설페이트-함유 전구약물, 펩타이드-함유 전구약물, D-아미노산-변형된 전구약물, 글리코실화된 전구약물, β -락탐-함유 전구약물, 선택적으로 치환된 페녹시아세트아미드-함유 전구약물 또는 선택적으로 치환된 페닐아세트아미드-함유 전구약물, 5-플루오로시토신 및 다른 5-플루오로우리딘 전구약물 (보다 더 활성인 세포독성 없는(cytotoxic free) 약물로 전환될 수 있음). 본 발명에서의 사용을 위하여 전구약물 형태로 유도될 수 있는 세포독성 약물의 예시는 비제한적으로 상기 기재된 화학치료를 포함한다.

[0172] 본원에서 사용될 경우, "성장 억제제"는 시험관내 또는 생체내에서 세포(예를 들면, 성장이 PD-L1 발현에 의존적인 세포)의 성장 및/또는 증식을 억제하는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 따라서, 성장 억제제는 S 상에서 세포의 백분율을 유의미하게 감소시키는 것일 수 있다. 성장 억제성 제제의 예는 (S 상 이외의 위치에서) 세포 주기 진행을 차단하는 제제, 예컨대 G1 상 및 M-상 정지를 유도하는 제제를 포함한다. 고전적 M-상 차단제는 하기를 포함한다: 빈카 (빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁산, 및 토포이소머라제 II 저해제 예컨대 안트라사이클린 항생제 독소루비신 ((8S-시스)-10-[(3-아미노-2,3,6-트리데옥시- α -L-릭소-헥사피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라하이드로-6,8,11-트리하이드록시-8-(하이드록시아세틸)-1-메톡시-5,12-나프타센디온), 에피루비신, 다우노루비신, 에토포시드, 및 블레오마이신. G1을 정지시키고, 또한 S-상 정지로 확대되는 제제는 예를 들면, DNA 알킬화제, 예컨대 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로르에타민, 시스플라틴, 메토틱세이트, 5-플루오로우라실, 및 아라-C이다. 추가 정보는 하기에서 발견될 수 있다: *The Molecular Basis of Cancer*, Mendelsohn and Israel, eds., Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami 등 (WB Saunders: Philadelphia, 1995) (특히 p. 13). 탁산(파클리탁셀 및 도세탁셀)은 둘 다 주목(yew tree)에서 유도된 항암 약물이다. 유럽 주목에서 유도된 도세탁셀(TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer)은 파클리탁셀의 반합성 유사체(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb)이다. 파클리탁셀 및 도세탁셀은 튜블린 이량체로

부터 미세소관의 어셈블리를 촉진하고, 탈중합 방지에 의해 미세소관을 안정화하여 세포에서 유사분열의 억제를 야기한다.

[0173] "방사선 요법"은 세포를 정상적으로 작용하도록 하거나 세포를 파괴하는 것을 함께 제한하기 위하여 세포에 충분한 손상을 유도하기 위하여 표지된 감마선 또는 베타선의 사용을 의미한다. 치료의 투여량 또는 기간을 결정하기 위하여 본 분야에서 많은 방법이 있을 것이라는 것이 고려된다. 전형적인 치료를 1회성 투여로 실시하였으며, 전형적인 투여량은 1일당 10 내지 200 단위 (Grays)의 범위이다.

[0174] 본원에 사용된 용어 "개체", "환자" 및 "피험체"는 상호교환가능하게 사용되며, 예를 들면, 치료가 요구되는 임의의 단일 동물, 더 바람직하게는 포유동물(비-인간 동물, 예를 들면, 개, 고양이, 말, 토끼, 동물원 동물, 소, 돼지, 양, 및 비-인간 영장류 포함)을 지칭한다. 특정 구현예에서, 본원에서 개체 또는 환자는 인간이다.

[0175] 본원에서 사용된 "투여"는, 피험체 (예를 들면, 환자)에 화합물 (예를 들면, 길항제) 또는 약제학적 조성물 (예를 들면, 길항제를 포함한 약제학적 조성물)의 복용량 제공 방법을 의미한다. 투여는, 비경구, 폐내, 및 비강내를 포함한, 임의의 적합한 수단에 의해, 및, 원한다면 국부 치료, 병소내 투여로 될 수 있다. 비경구 주입은, 예를 들어, 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 투여는 모든 적합한 경로, 예컨대 부분적으로 상기 투여가 간단한 것이나 또는 만성적인 것이나에 따라, 주사, 예컨대 정맥내 또는 피하 주사에 의해 수행될 수 있다. 비제한적으로 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 비롯한 다양한 복용 스케줄이 본원에 고안되었다.

[0176] 용어 "동시에"는, 2 이상의 치료제의 투여를 가리키기 위해 사용되는데, 적어도 투여의 일부가 시간적으로 겹치는 것을 가리킨다. 따라서, 동시 투여에는 하나 이상의 다른 제제(들)의 투여를 중단한 후 하나 이상의 제제(들)의 투여가 이어질 때의 투여 요법이 포함된다.

[0177] "감소 또는 억제"는, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 그 이상의 전체적 감소를 유발하는 능력을 의미한다. 감소 또는 억제는 예를 들어 원발성 종양의 크기, 전이의 크기 또는 존재, 또는 치료될 장애의 증상을 감소 또는 억제시키는 것을 지칭한다.

[0178] 용어 "패키지 삽입물"은, 치료학적 제품의 시판용 패키지에 통상적으로 포함되는 설명서를 지칭하기 위해 사용되고 이는 상기 치료학적 제품의 사용에 관한 지적사항, 용도, 투여량, 투여, 조합 치료요법, 사용금지 사항 및/또는 경고에 관한 정보를 함유한다.

[0179] "멸균된" 제형은 무균성이거나 또는 모든 살아있는 미생물 및 그의 포자가 없다.

[0180] "제조 물품"은 적어도 하나의 시약, 예를 들면 본 발명의 바이오마커 (예컨대, PD-L1)를 특이적으로 검출하기 위한 프로브 또는 질환 또는 장애 (예를 들면, 암)의 치료를 위한 약제를 포함하는 임의의 제조물 또는 키트 (예를 들면, 패키지 또는 용기)이다. 특정 구현예에서, 상기 제조물 또는 키트는 바람직하게는 본 발명의 방법들을 수행하기 위한 단위로서 선전, 유통 또는 판매된다.

[0181] 본원에 사용된, 어구 "을 기준으로 하여"는, 상기 정보가 하나 이상의 바이오마커가 치료 결정, 패키지 삽입물 상에 제공된 정보, 또는 마케팅/홍보 안내사항 등을 알리는데 사용된다는 것을 의미한다.

[0182] III. 방법

[0183] A. 암-관련된 유전자의 체세포 돌연변이의 수준을 반영한 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 스코어를 기준으로 하는 진단 방법

[0184] 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대하여 반응할 가능성이 있는지 여부를 결정하기 위한 방법이 본원에 제공된다. 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자의 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 반응성을 예측하기 위한 방법이 또한 본원에 제공된다. 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종]을 앓고 있는 환자를 위한 요법을 선택하는 방법이 본원에 추가로 제공된다. 선행 방법 중 어느 것도 환자의 종양 조직 샘플로부터 계측된, 결정되거나 사전-결정된 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 스코어를 기준으로 할 수 있다. 따라서, 선행 방법 중 어느 것도 종양 샘플에서 본원에 기재된 임의의 유전자 (예를 들어, 표 1 및/또는 표 2)에서 체세포 돌연변이의 수준에 기초할 수 있다. 선행 방법 중 어느 것도 또한, 종양 샘플에서, 예를 들면, 종양-침윤 면역 세포 및/또는 종양 세포에서 바이오마커의 발현 수준, 예를 들면,

PD-L1 발현에 기반될 수 있다. 상기 방법 중 임의의 것은 환자에게 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제 (예를 들어, 하기 섹션 D에서 기술된 바와 같음)를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 방법 중 임의의 것은 유효량의 제2 치료제를 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0185] 본 발명은 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 갖는 개체를 식별하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 개체 유래의 종양 샘플로부터 tTMB 스코어를 측정하는 단계를 포함하며, 여기서 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는, 참조 tTMB 스코어 이상인 경우, 상기 개체를, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 개체로 식별한다.

[0186] 본 발명은 또한 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 갖는 개체를 위한 요법을 선택하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 개체 유래의 종양 샘플로부터 tTMB 스코어를 측정하는 단계를 포함하며, 여기서 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는, 참조 tTMB 스코어 이상인 경우, 상기 개체를, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는 개체로 식별한다.

[0187] 선행 방법 중 임의의 것에서, 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 이상일 수 있으며, 그리고 상기 방법은 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 상기 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0188] 선행 양태 중 임의의 것의 기타 구현예에서, 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 미만일 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 미만이며, 그리고 상기 방법은 추가로, 개체에게 PD-L1 축 결합 길항제에 부가하여, 또는 상기 이외의 하나의 치료제를 투여하는 단계를 포함한다.

[0189] 임의의 선행 방법에서, 일부 예에서, 참조 tTMB 스코어는 암을 갖는 개체의 기준 집단에서의 tTMB 스코어이고, 여기서 개체의 PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료된 개체의 제1 서브세트와 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료된 개체의 제2 서브세트로 이루어진다. 일부 예에서, 참조 tTMB 스코어는 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법에 의한 치료에 대한 반응성과 비교하여 PD-L1 축 결합 길항제 요법에 의한 반응성의 유의미한 차이를 기준으로 하여 개체의 제1 및 제2 서브세트 각각을 유의미하게 분리시킨다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존 (PFS)의 증가이다. 일부 예에서, 치료에 대한 반응성은 전체 생존 (OS)의 증가이다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성은 전체 반응 속도 (ORR)의 증가이다.

[0190] 선행 방법 중 임의의 것에서, 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 사전-배정된 tTMB 스코어이다. 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는, Mb 당 약 5 내지 약 100개 돌연변이 (mut/Mb), 예를 들어, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59, 약 60, 약 61, 약 62, 약 63, 약 64, 약 65, 약 66, 약 67, 약 68, 약 69, 약 70, 약 71, 약 72, 약 73, 약 74, 약 75, 약 76, 약 77, 약 78, 약 79, 약 80, 약 81, 약 82, 약 83, 약 84, 약 85, 약 86, 약 87, 약 88, 약 89, 약 90, 약 91, 약 92, 약 93, 약 94, 약 95, 약 96, 약 97, 약 98, 약 99, 또는 약 100 mut/Mb이다. 예를 들어, 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 약 8 내지 약 30 mut/Mb (예컨대, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 또는 약 30 mut/Mb)이다. 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 약 10 내지 약 20 mut/Mb (예컨대, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 또는 약 20 mut/Mb)이다. 특정 예에서, 참조 tTMB 스코어는 10 mut/Mb, 16 mut/Mb 또는 20 mut/Mb일 수 있다.

[0191] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 5 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 5 내지 약 100 mut/Mb (예컨대, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59, 약 60, 약 61, 약 62, 약 63, 약 64, 약 65, 약 66, 약 67, 약 68, 약 69, 약 70, 약 71, 약 72, 약 73, 약 74, 약 75, 약 76, 약 77, 약 78, 약 79, 약 80, 약 81, 약 82, 약 83, 약 84, 약 85, 약 86, 약 87, 약 88, 약 89, 약 90, 약 91, 약 92, 약 93, 약

94, 약 95, 약 96, 약 97, 약 98, 약 99, 또는 약 100 mut/Mb)이다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 또는 약 50 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 10 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 10 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 10 내지 100 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 10 내지 20 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 16 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 16 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖고, 그리고 참조 tTMB 스코어는 16 mut/Mb이다. 기타 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 20 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 20 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖고, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb이다.

[0192] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 경우에서, tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어는 한정된 수의 서열분석된 염기당 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 예를 들어, 일부 경우에서, 한정된 수의 서열분석된 염기는 약 100 kb 내지 약 10 Mb이다. 일부 경우에서, 서열분석된 염기의 한정된 수는, 예컨대, FOUNDATIONONE® 패널에 의하여 평가 시, 약 1.1 Mb (예컨대, 약 1.125 Mb)이다. 일부 예에서, tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어는 등가 TMB 값이다. 일부 경우에서, 등가 TMB 값은 전체-엑솜 서열분석 (WES)에 의해 계측된다.

[0193] 임의의 선행 방법에서, 계측된 tTMB 스코어는 표 1 및/또는 표 2에 열거된 유전자에서 검출된 체세포 돌연변이 및/또는 재배열의 수준을 반영할 수 있다. 일부 경우에서, tTMB 스코어는, 적어도 약 5 mut/Mb 이상 (예컨대, 약 5 mut/Mb 이상, 약 6 mut/Mb 이상, 약 7 mut/Mb 이상, 약 8 mut/Mb 이상, 약 9 mut/Mb 이상, 약 10 mut/Mb 이상, 약 11 mut/Mb 이상, 약 12 mut/Mb 이상, 약 13 mut/Mb 이상, 약 14 mut/Mb 이상, 약 15 mut/Mb 이상, 약 16 mut/Mb 이상, 약 17 mut/Mb 이상, 약 18 mut/Mb 이상, 약 19 mut/Mb 이상, 약 20 mut/Mb 이상, 약 25 mut/Mb 이상, 약 30 mut/Mb 이상, 약 35 mut/Mb 이상, 약 40 mut/Mb 이상, 및 약 50 mut/Mb 이상)이 치료 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료)에 대한 반응성에 대하여 예측성인 것으로 계측되었다 (또는 계측된다). 일부 경우에서, 치료 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료)에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 7 돌연변이/Mb 내지 약 20 돌연변이/Mb일 수 있다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 10 돌연변이/Mb 내지 약 15 돌연변이/Mb일 수 있다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 11 돌연변이/Mb 내지 약 13 돌연변이/Mb일 수 있다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 12.5 돌연변이/Mb일 수 있다. 기타 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 10 mut/Mb 이상, 예컨대, 약 10 mut/Mb 이상, 약 11 mut/Mb 이상, 약 12 mut/Mb 이상, 약 13 mut/Mb 이상, 약 14 mut/Mb 이상, 약 15 mut/Mb 이상, 약 16 mut/Mb 이상, 약 17 mut/Mb 이상, 약 18 mut/Mb 이상, 약 19 mut/Mb 이상, 약 20 mut/Mb 이상일 수 있다.

[0194] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 약 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 기타 경우에서, 표 1에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다.

[0195] 표 1. 암-관련 유전자

ABL1	BRAF	CHEK1	FANCC	GATA3	JAK2	MITF	PDCC1LG2	RBM10	STAT4
ABL2	BRCA1	CHEK2	FANCD2	GATA4	JAK3	MLH1	PDGFRA	RET	STK11
ACVR1B	BRCA2	CIC	FANCE	GATA6	JUN	MPL	PDGFRB	RICTOR	SUFU
AKT1	BRD4	CREBBP	FANCF	GID4 (C17orf39)	KAT6A (MYST3)	MRE11A	PDK1	RNF43	SYK
AKT2	BRIP1	CRKL	FANCG	GLI1	KDM5A	MSH2	PIK3C2B	ROS1	TAF1
AKT3	BTG1	CRLF2	FANCL	GNA11	KDM5C	MSH6	PIK3CA	RPTOR	TBX3
ALK	BTK	CSF1R	FAS	GNA13	KDM6A	MTOR	PIK3CB	RUNX1	TERC
AMER1 (FAM123B)	C11orf30 (EMSY)	CTCF	FAT1	GNAQ	KDR	MUTYH	PIK3CG	RUNX1T1	TERT (프로 모터 단독)
APC	CARD11	CTNNA1	FBXW7	GNAS	KEAP1	MYC	PIK3R1	SDHA	TET2
AR	CBFB	CTNNB1	FGF10	GPR124	KEL	MYCL (MYCL1)	PIK3R2	SDHB	TGFBR2
ARAF	CBL	CUL3	FGF14	GRIN2A	KIT	MYCN	PLCG2	SDHC	TNFAIP3
ARFRP1	CCND1	CYLD	FGF19	GRM3	KLHL6	MYD88	PMS2	SDHD	TNFRSF14
ARID1A	CCND2	DAXX	FGF23	GSK3B	KMT2A (MLL)	NF1	POLD1	SETD2	TOP1
ARID1B	CCND3	DDR2	FGF3	H3F3A	KMT2C (MLL3)	NF2	POLE	SF3B1	TOP2A
ARID2	CCNE1	DICER1	FGF4	HGF	KMT2D (MLL2)	NFE2L2	PPP2R1A	SLIT2	TP53
ASXL1	CD274	DNMT3A	FGF6	HNF1A	KRAS	NFKBIA	PRDM1	SMAD2	TSC1
ATM	CD79A	DOT1L	FGFR1	HRAS	LMO1	NKX2-1	PREX2	SMAD3	TSC2
ATR	CD79B	EGFR	FGFR2	HSD3B1	LRP1B	NOTCH1	PRKARIA	SMAD4	TSHR
ATRX	CDC73	EP300	FGFR3	HSP90AA1	LYN	NOTCH2	PRKCI	SMARCA4	U2AF1
AURKA	CDH1	EPHA3	FGFR4	IDH1	LZTR1	NOTCH3	PRKDC	SMARCB1	VEGFA
AURKB	CDK12	EPHA5	FH	IDH2	MAGI2	NPM1	PRSS8	SMO	VHL
AXIN1	CDK4	EPHA7	FLCN	IGF1R	MAP2K1	NRAS	PTCH1	SNCAIP	WISP3
AXL	CDK6	EPHB1	FLT1	IGF2	MAP2K2	NSD1	PTEN	SOC3	WT1
BAP1	CDK8	ERBB2	FLT3	IKBKE	MAP2K4	NTRK1	PTPN11	SOX10	XPO1

[0196]

BARD1	CDKN1A	ERBB3	FLT4	IKZF1	MAP3K1	NTRK2	QKI	SOX2	ZBTB2
BCL2	CDKN1B	ERBB4	FOXL2	IL7R	MCL1	NTRK3	RAC1	SOX9	ZNF217
BCL2L1	CDKN2A	ERG	FOXP1	INHBA	MDM2	NUP93	RAD50	SPEN	ZNF703
BCL2L2	CDKN2B	ERRF1	FRS2	INPP4B	MDM4	PAK3	RAD51	SPOP	
BCL6	CDKN2C	ESR1	FUBP1	IRF2	MED12	PALB2	RAF1	SPTA1	
BCOR	CEBPA	EZH2	GABRA6	IRF4	MEF2B	PARK2	RANBP2	SRC	
BCORL1	CHD2	FAM46C	GATA1	IRS2	MEN1	PAX5	RARA	STAG2	
BLM	CHD4	FANCA	GATA2	JAK1	MET	PBRM1	RB1	STAT3	

[0197]

[0198]

체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준(양)은 비제한적으로, 개체 내 DNA, mRNA, cDNA, 단백질, 단백질 단편 및/또는 유전자 사본 수 수준의 측정치를 포함하는 당업계에서 공지된 임의의 적합한 기준을 기초로 하여 정성적으로 및/또는 정량적으로 측정될 수 있다. 일부 예에서, 개체의 포괄적인 게놈 프로파일이 측정된다. 일부 경우에서, 개체로부터 수집된 샘플 (예컨대, 조직 샘플, 포르말린-고정된, 파라핀-포매된 (FFPE) 조직 샘플, 코어 또는 미세 니들 생검)의 포괄적 게놈 프로파일이 측정된다. 일부 예에서, 게놈 프로파일의 결정은 명확한 암 유발자(예를 들어, 고정 종양)인 것으로 공지된 게놈 변형 (예를 들어, 체세포 돌연변이 (예를 들어, 염기 치환, 삽입 및

결실 (indel), 사본 수 변경 (CNA) 및 재배열]]을 식별하기 위해 당업계에서 공지되거나 본원에 기재된 차세대 서열분석 방법을 적용함을 포함한다.

[0199] 일부 경우에서, 시험은 적어도 약 0.05 Mb 내지 약 10 Mb (예컨대, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 Mb) 범위의 약 300개 유전자 (예컨대, 적어도 약 300개 내지 약 400개 유전자, 예컨대, 약 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 또는 400개 유전자의 다양한 세트)의 암호화 영역을 적어도 약 $500\times$ (예컨대, $500\times$, $550\times$, $600\times$, $650\times$, $700\times$, $750\times$, $800\times$, $850\times$, $900\times$, $950\times$, 또는 $1,000\times$)의 엑손 범위의 전형적인 깊이 중앙값까지 동시에 서열분석한다. 기타 경우에서, 시험은 약 400개 유전자, 약 425개 유전자, 약 450개 유전자, 약 475개 유전자, 약 500개 유전자, 약 525개 유전자, 약 550개 유전자, 약 575개 유전자, 약 600개 유전자, 약 625개 유전자, 약 650개 유전자, 약 675개 유전자, 약 700개 유전자, 약 725개 유전자, 약 750개 유전자, 약 775개 유전자, 약 800개 유전자, 약 825개 유전자, 약 850개 유전자, 약 875개 유전자, 약 900개 유전자, 약 925개 유전자, 약 950개 유전자, 약 975개 유전자, 약 1000개 유전자, 또는 1000개 초과 유전자의 암호화 영역을 동시에 서열분석한다. 일부 예에서, 유전자 세트는 표 1에 명시된 1개 이상의 유전자 (예를 들어, 암-관련 유전자)를 포함한다. 일부 예에서, 유전자 세트는 FOUNDATIONONE® 패널의 유전자 세트이다 (참고: 예컨대, Frampton 등 *Nat. Biotechnol.* 31: 1023-31, 2013 (이의 전체 내용은 본원에 참조로 편입됨)). 일부 예에서, 유전자 세트는 FOUNDATIONONE® CDx 패널의 유전자 세트이다. 일부 구현예에서, 시험은, 약 10 Mb 초과, 예컨대, 약 10 Mb 초과, 약 15 Mb 초과, 약 20 Mb 초과, 약 25 Mb 초과, 약 30 Mb 초과, 약 35 Mb 초과, 약 40 Mb 초과, 약 45 Mb 초과, 약 50 Mb 초과, 약 55 Mb 초과, 약 60 Mb 초과, 약 65 Mb 초과, 약 70 Mb 초과, 약 75 Mb 초과, 약 80 Mb 초과, 약 85 Mb 초과, 약 90 Mb 초과, 약 95 Mb 초과, 약 100 Mb 초과, 약 200 Mb 초과, 약 300 Mb 초과, 약 400 Mb 초과, 약 500 Mb 초과, 약 600 Mb 초과, 약 700 Mb 초과, 약 800 Mb 초과, 약 900 Mb 초과, 약 1 Gb 초과, 약 2 Gb 초과, 약 3 Gb 초과, 또는 약 3.3 Gb 초과의 개체의 게놈을 서열분석한다. 일부 경우에서, 시험은, 암에서 종종 재배열되거나 변경된 28개 유전자 유래의 인트론 및(plus) 315개 암-관련 유전자의 암호화 영역을 $500\times$ 초과 범위의 전형적인 깊이 중앙값까지 서열분석한다. 일부 예에서, 각각의 망라된 서열분석 판독치는 중앙 불균질성, 낮은 중앙 순도 및 작은 조직 샘플로 인해 낮은 빈도에서 발생하는 게놈 변경의 매우 민감하고 특이적인 검출을 가능하게 하는 독특한 DNA 단편을 나타낸다. 다른 예에서, 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준은 전체 엑솜 서열분석에 의해 계속된다. 일부 경우에서, 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준은 전체 엑솜 서열분석에 의해 계속된다.

[0200] 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 미만인 일부 경우에서, 개체 유래의 종양 샘플은 또한 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 가질 수 있다. 일부 경우에서, 예를 들어, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/3의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/3에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/2의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 1/2에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 2/3의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 2/3에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 종양 샘플은, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 3/4의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1에 명시된 유전자 중 적어도 3/4에서 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 예에서, 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여 표 1에 명시된 유전자의 체세포 돌연변이의 감소된 수준을 갖는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb 미만이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb 미만이며, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 16 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb 미만이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb 미만이며, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb이다. 종양 샘플로부터 측정된 tTMB 스코어가 참조 tTMB 스코어 미만이고, 그리고 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여 감소된 수준의 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이를 갖는 경우의 임의의 것에서, 상기 방법은 개체에게 PD-L1 축 결합 길항제 이외에, 또는 상기에 부가하여 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0201] 본 발명은 추가로, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있는지 여부를 결정하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자로부터 수득된 종양 샘플에서의 체세포

돌연변이 수준을 계측하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 종양 샘플의 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표시한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 1/3에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 2/3에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 3/4에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 기타 경우에서, 표 1에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다.

[0202] 본 발명은 추가로, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자의 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 반응성을 예측하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자로부터 획득된 종양 샘플에서의 체세포 돌연변이 수준을 계측하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 종양 샘플의 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표시한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 1/3에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 2/3에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 3/4에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 기타 경우에서, 표 1에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다.

[0203] 본 발명은 또한 추가로, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자를 위한 요법을 선택하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자로부터 획득된 종양 샘플에서의 체세포 돌연변이 수준을 계측하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 종양 샘플의 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표시한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 1/3에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 2/3에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표시한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 1에 명시된 유전자의 적어도 약 3/4에서

의 증가된 수준의 체세포 돌연변이증가된 수준의 체세포 돌연변이는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 표 1에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다.

[0204] 선행 방법 중 임의의 것에서, 표 1에서 명시된 유전자에서의 체세포 돌연변이는, 표 1에 명시된 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 또는 약 95% 이상) 만큼 증가된 것으로 예측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 1% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 5% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 기타 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 10% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 15% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 추가의 기타 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 20% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 추가 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 25% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 30% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 35% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 40% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 50% 이상 증가되는 것으로 예측되었다. 기타 경우에서, 표 1에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다.

[0205] 선행 방법 중 임의의 것에서, 상기 방법은 상기 환자로부터 수득된 종양 샘플 내 종양 세포에서의 PD-L1의 발현 수준을 예측하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 약 1% 이상 (예컨대, 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)으로의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 1% 이상에서의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 5% 이상에서의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 10% 이상에서의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 20% 이상에서의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 30% 이상에서의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 상기 환자가 PD-L1

축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 또 다른 기타 경우에서, 종양 샘플 내 종양 세포의 50% 이상에서의 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

[0206] 임의의 선행 방법의 일부 구현예에서, 종양 샘플 내 종양 세포 중 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 99%, 약 1% 내지 약 90%, 약 1% 내지 약 85%, 약 1% 내지 약 80%, 약 1% 내지 약 75%, 약 1% 내지 약 70%, 약 1% 내지 약 65%, 약 1% 내지 약 60%, 약 1% 내지 약 55%, 약 1% 내지 약 50%, 약 1% 내지 약 45%, 약 1% 내지 약 40%, 약 1% 내지 약 35%, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 40%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 10%, 약 50% 내지 약 99%, 약 50% 내지 약 95%, 약 50% 내지 약 90%, 약 50% 내지 약 85%, 약 50% 내지 약 80%, 약 50% 내지 약 75%, 약 50% 내지 약 70%, 약 50% 내지 약 65%, 약 50% 내지 약 60%, 또는 약 50% 내지 약 55%)에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은 환자가 PD-L1 결합 길항제로 치료에 대하여 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

[0207] 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포에서의 검출불가능한 PD-L1의 발현 수준을 갖는 것으로 계속되었다.

[0208] 선행 방법 중 임의의 것에서, 상기 방법은 상기 환자로부터 수득된 종양 샘플 (종양 영역) 내 종양-침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 발현 수준을 계속하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 1% 이상(예를 들어, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상 또는 50% 이상)의 종양 샘플 (종양 영역)을 포함하는 종양 침윤성 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는다. 예를 들어, 일부 예에서, 예를 들어, 항-PD-L1 항체를 사용하여 면역조직화학에 결정된 바와 같이 종양 샘플의 섹션에서 1% 이상의 종양 영역을 망라하는 종양 침윤성 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 5% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 20% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 30% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 추가의 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 50% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

[0209] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 약 1% 내지 약 50% (예컨대, 약 1% 내지 약 50%, 약 1% 내지 약 45%, 약 1% 내지 약 40%, 약 1% 내지 약 35%, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 40%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 50%, 약 10% 내지 약 40%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 20%, 또는 약 10% 내지 약 15%)를 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 결합 길항제로의 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다.

[0210] 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 종양 샘플 (종양 영역)의 종양-침윤 면역 세포에서의 검출불가능한 PD-L1의 발현 수준을 갖는 것으로 계속되었다.

[0211] 임의의 선행 방법에서, 환자는 고수준의 미소부수체 불안정성을 가질 수 있다. 예를 들어, 환자는 PCR-기반 접근법, 예를 들어, MSI 분석 시스템 (Promega, Madison, WI)을 사용하여 평가할 때, MSI를 검출하기 위한 5개의 의사단형성 모노뉴클레오타이드(pseudomonomorphic mononucleotide) 반복체 (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, 및 MONO-27) 및 정상 샘플과 종양 샘플 사이의 이드니티(idnity)를 확인하기 위한 2개의 펜타뉴클레오타이드 유전자좌 (PentaC 및 PendaD)로 구성된 MSI-높은 (MSI-H) 표현형을 가질 수 있다. 각각의 미소부수체 유전자좌를 위한 염기의 크기는, 예를 들어, 겔 전기영동에 의해 계속될 수 있고, 종양은 2개 이상의 모노뉴클레오타이드 유전자좌가 생식계열 DNA에 비해 길이가 변하는 경우, 지정된 MSI-H일 수 있다. 참고: 예컨대, Le 등 *NEJM* 372:2509-2520, 2015. 다른 구현예에서, 환자는 저수준의 미소부수체 불안정성(예를 들어, MSI-낮음 (MSI-L))을 가질 수 있다.

- [0212] 선행 방법 중 임의의 것에서, 상기 방법은 종양 샘플 중 체세포 돌연변이 수준을 기준으로 하여, PD-L1 축 결합 길항제의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. PD-L1 축 결합 길항제는 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된, 예를 들어 하기 섹션 D에서의, 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.
- [0213] 예를 들어, 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제, 또는 PD-L2 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 모두에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 MPDL3280A (아테졸리주맵), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736 (두르발루맵), 또는 MSB0010718C (아벨루맵)이다. 일부 경우에서, 항체는, 서열 번호 19의 HVR-H1 서열, 서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및 서열 번호 21의 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열 번호 22의 HVR-L1 서열, 서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및 서열 번호 24의 HVR-L3 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 경우에서, 항체는, 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0214] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 예를 들어, 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 모두에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 MDX-1106 (니볼루맵), MK-3475 (켄브롤리주맵), CT-011 (피딜리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 또는 BGB-108이다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 예를 들어, 일부 경우에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 단일 요법으로서 투여된다.
- [0215] 일부 경우에서, 상기 방법은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제 또는 이들의 조합물이다.
- [0216] 선행 방법 중 임의의 것에서, 개체는 하기로부터 선택된 암을 가질 수 있다: 예를 들어, 폐암 [예컨대, 비-소세포 폐암 (NSCLC) 또는 소 세포 폐암], 신장암 (예컨대, 신장 요로상피 암종 또는 RCC), 방광암 [예컨대, 방광 요로상피 (이행 세포) 암종 (예컨대, 국소적 진행성 또는 전이성 요로상피 암종 (1L 또는 2L+ 국소적 진행성 또는 전이성 암종 포함)], 유방암 (예컨대, TNBC, HER2+ 유방암, 또는 HR+ 유방암), 자궁내막암, 피부암 (예컨대, 피부의 편평상피 세포 암종), 결장직장암 (예컨대, 결장 선암종), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종 (예컨대, 피부 흑색종), 두경부암 [예컨대, 두경부 편평상피 세포 암종 (HNSCC)], 갑상선암, 육종 (예컨대, 연질-조직 육종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 골형성성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피세포육종, 림프관육종, 림프관내피세포육종, 평활근육종, 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선암종, 백혈병 [예컨대, 급성 림프성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 호산구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병 (CLL)], 림프종 [예컨대, 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종 (NHL)], 골수종 (예컨대, 다발성 골수종 (MM)], 균상식육종, 메르켈 세포 암, 혈액 악성종양, 혈액학적 조직의 암, B 세포 암, 기관지 암, 위암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 고환암, 담관암, 소장 또는 맹장암, 타액샘 암, 부신암, 선암종, 염증성 근섬유모세포종양, 위장 간질성 종양 (GIST), 결장암, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 장애 (MPD), 진성 적혈구증가증, 적색종, 활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관암종, 용모막암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광 암종, 상피성 암종, 신경아교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 희소돌기아교세포종, 수막종, 신경교세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포암, 본태성 혈소판증가증, 원인불명 골수 화생, 호산구 과다 증후군, 전신 비만세포종, 가족성 과다호산구증가증, 신경내분비암, 또는 유암종).
- [0217] 임의의 선행 방법의 일부 예에서, 개체는 백금-함유 요법 (예를 들어, 백금계 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)으로 암을 치료 후 진행되었다. 다른 예에서, 개체는 백금 함유 요법 (예를 들어, 백금계 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료에 부적합할 수 있고/있거나 암에 대한 사전-치료를 받지 않았다. 일부 예에서, 개체는 면역 관

문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제에 의한 사전-치료를 받지 않았다.

- [0218] 예를 들어, 임의의 선행 예에서, 폐암은 비제한적으로 국소 진행성 또는 전이성 (예를 들어, 단계 IIIB, 단계 IV 또는 재발성) NSCLC를 포함하는 NSCLC일 수 있다. 일부 경우에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 절제불가능/수술불가능한 폐암 (예를 들어, NSCLC)이다. 다른 예에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 사전 백금 함유 요법에 의한 치료 동안 또는 치료 후에 진행되었을 수 있다.
- [0219] 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준(양)은 비제한적으로, DNA, mRNA, cDNA, 단백질, 단백질 단편 및/또는 유전자 사본 수를 포함하는, 당업계에 공지된 임의의 적합한 기준을 기초로 하여 정성적 및/또는 정량적으로 측정될 수 있다.
- [0220] 임의의 선행 예에서, 체세포 돌연변이는 치환, 결실 및/또는 삽입일 수 있다.
- [0221] 임의의 선행 방법에서, 환자로부터 수득된 샘플은 조직, 전혈, 혈장, 혈청, 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 샘플은 보존된 조직 샘플이다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 기질 세포, 또는 이들의 임의의 조합물을 포함한다. 선행 경우 중 임의의 것에서, 종양 샘플은 포르말린-고정 및 파라핀-포매(FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 신선한 종양 샘플, 또는 동결된 종양 샘플일 수 있다.
- [0222] 특정 경우에서, 제1 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준 (양)은 제2 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재/부재 및/또는 수준 (양)과 비교하여 증가되거나, 또는 상승된다. 특정 경우에서, 제1 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재/부재 및/또는 수준 (양)은, 제2 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준 (양)과 비교하여 감소되거나, 또는 저하된다. 특정 경우에서, 제2 샘플은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직이다. 체세포 돌연변이의 존재/부재 및/또는 수준 (양)을 측정하기 위한 추가 개시내용이 본원에 기술된다.
- [0223] 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 시험 샘플이 수득될 때보다 하나 이상의 상이한 시점에서 수득된 동일한 피험체 또는 개체로부터 단일 샘플 또는 다중 샘플의 조합물이다. 예를 들어, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 시험 샘플이 수득될 때보다 동일한 환자 또는 개체로부터 초기 시점에서 수득된다. 이러한 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 만일 참조 샘플이 암의 초기 진단 동안 수득되고 그리고 시험 샘플은 암이 전이성이 된 때 나중에 수득되면 유용할 수 있다.
- [0224] 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 환자가 아닌 하나 이상의 건강한 개인으로부터 다중 샘플의 조합물이다. 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 상기 피험체 또는 개체가 아닌 질환 또는 장애 (예를 들면, 암)를 갖는 하나 이상의 개인으로부터 다중 샘플의 조합물이다. 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 환자가 아닌 하나 이상의 개인으로부터 정상 조직 또는 풀링된 혈장 또는 혈청 샘플로부터 풀링된 RNA 샘플이다. 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 환자가 아닌 질환 또는 장애 (예를 들면, 암)를 갖는 하나 이상의 개인으로부터 종양 조직 또는 풀링된 혈장 또는 혈청 샘플로부터 풀링된 RNA 샘플이다.
- [0225] 본원에 기술된 임의의 방법의 일부 경우에서, 상승된 또는 증가된 수준은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직과 비교하여 본 명세서에서 기재된 것과 같은 공지된 방법의 표준 기술에 의해 검출된, 체세포 돌연변이의 수준에서 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 전체 증가를 지칭한다. 특정 경우에서, 상승된 수준은 샘플에서 체세포 돌연변이의 수준/양에서의 증가를 지칭하고 여기서 상기 증가는 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직에서 각각의 체세포 돌연변이의 적어도 약 $1.5\times$, $1.75\times$, $2\times$, $3\times$, $4\times$, $5\times$, $6\times$, $7\times$, $8\times$, $9\times$, $10\times$, $25\times$, $50\times$, $75\times$, 또는 $100\times$ 수준/양이다. 일부 경우에서, 상승된 수준은, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직과 비교하여, 약 1.5 배, 약 1.75 배, 약 2 배, 약 2.25 배, 약 2.5 배, 약 2.75 배, 약 3.0 배, 또는 약 3.25 배 초과 전체 증가를 지칭한다. 일부 예에서, 체세포 돌연변이의 상승되거나 증가된 수준은 하나 이상의 부류의 체세포 돌연변이 (예를 들어, 점 돌연변이, 삽입 및 결실 (예를 들어, 삽입-결실(indel)), 증폭, 유전자 복제, 사본 수 변경 (CNA) 및 재배열) 수준의 전반적인 증가 및/또는 참조 수준과 비교하여 특정 체세포 돌연변이의 수준의 전반적인 증가를 지칭한다.
- [0226] 본원에 기술된 임의의 방법의 일부 경우에서, 감소된 수준은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플,

대조군 세포, 또는 대조군 조직과 비교하여 본 명세서에서 기재된 것과 같은 공지된 방법의 표준 기술에 의해 검출된, 체세포 돌연변이의 수준에서 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 전체 감소를 지칭한다. 특정 경우에서, 감소된 수준은 샘플에서 체세포 돌연변이의 수준/양에서의 감소를 지칭하고 여기서 상기 감소는 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직에서 각각의 체세포 돌연변이의 적어도 약 $0.9\times$, $0.8\times$, $0.7\times$, $0.6\times$, $0.5\times$, $0.4\times$, $0.3\times$, $0.2\times$, $0.1\times$, $0.05\times$, 또는 $0.01\times$ 수준/양이다. 일부 예에서, 체세포 돌연변이의 저하되거나 감소된 수준은 하나 이상의 부류의 체세포 돌연변이 (예를 들어, 점 돌연변이, 삽입 및 결실 (예를 들어, 삽입-결실(indel)), 중복, 유전자 복제, 사본 수 변경 (CNA) 및 재배열) 수준의 전반적인 감소 및/또는 참조 수준과 비교하여 특정 체세포 돌연변이의 수준의 전반적인 감소를 지칭한다.

[0227] **B. 암에서 재배열된 유전자의 수준을 기준으로 하는 진단 방법**

[0228] 섹션 A에 제시된 선행 방법 중 임의의 것과 병용하여, 또는 개별적으로 사용될 수 있는, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 표 2에 열거된 유전자 중 임의의 것의 재배열 수준을 기준으로 하여 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있는지 여부를 결정하기 위한 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 표 2에 열거된 유전자의 하나 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 재배열은 암(예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종)을 앓고 있는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있는지를 결정할 수 있다. 기타 경우에서, 예를 들어, 표 1에 열거된 1개 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 증가와 병용한, 표 2에 열거된 유전자의 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 재배열 수준의 증가는, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있는지 여부를 결정할 수 있다.

[0229] 섹션 A에 제시된 선행 방법 중 임의의 것과 병용하여, 또는 개별적으로 사용될 수 있는, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자의 표 2에 열거된 유전자 중 임의의 것의 재배열 수준을 기준으로 하여 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 반응성을 예측하기 위한 방법이 또한 본원에 제공된다. 예를 들어, 표 2에 열거된 유전자의 하나 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 재배열은 암[예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종]을 앓고 있는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있는지를 예측할 수 있다. 기타 경우에서, 예를 들어, 표 1에 열거된 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 증가와 병용한, 표 2에 열거된 유전자의 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 재배열 수준의 증가는, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있는지 여부를 예측할 수 있다. 임의의 방법은 추가로 환자에 PD-L1 축 결합 길항제 (예를 들면, 아래, 섹션 D에서 기재된 바와 같이) 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법 중 임의의 것은 유효량의 제2 치료제를 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0230] 본 발명은 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자에게 치료적 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 재배열의 참조 수준과 비교하여, 표 2에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 유전자에서의 증가된 수준의 재배열을 갖는 것으로 계측되었다. 기타 경우에서, 표 2에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 재배열 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 재

배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 표 2에 열거된 임의의 유전자에서의 재배열의 상승된 수준과 병용하여, 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자는, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다.

표 2. 암에서 재배열된 유전자

ALK	BRAF	BRD4	ETV4	FGFR1	KIT	MYC	NTRK2	RARA	TMPRSS2
BCL2	BRCA1	EGFR	ETV5	FGFR2	MSH2	NOTCH2	PDGFRA	RET	
BCR	BRCA2	ETV1	ETV6	FGFR3	MYB	NTRK1	RAF1	ROS1	

체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준(양)은 비제한적으로, 개체내 DNA, mRNA, cDNA, 단백질, 단백질 단편 및/또는 유전자 사본 수 수준의 측정치를 포함하는 당업계에 공지된 임의의 적합한 기준을 기초로 하여 정성적으로 및/또는 정량적으로 예측될 수 있다. 일부 예에서, 개체의 포괄적인 게놈 프로파일이 결정된다. 일부 경우에서, 개체로부터 수집된 샘플 (예컨대, 조직 샘플, 포르말린-고정된, 파라핀-포매된 (FFPE) 조직 샘플, 코어 또는 미세 니들 생검)의 포괄적 게놈 프로파일이 예측된다. 일부 예에서, 게놈 프로파일의 결정은 명확한 암 유발자(예를 들어, 고형 종양)인 것으로 공지된 게놈 변형 (예를 들어, 체세포 돌연변이 (예를 들어, 염기 치환, 삽입 및 결실 (indel), 사본 수 변경 (CNA) 및 재배열)]을 식별하기 위해 당업계에 공지되거나 본원에 기재된 차세대 서열분석 방법을 적용함을 포함한다. 일부 예에서, 시험은 315개 암 관련 유전자의 암호화 영역 + 종종 암에서 재배열된 28개 유전자의 인트론을 500x를 초과하는 적용범위의 전형적인 깊이 중앙값까지 동시에 서열분석한다. 일부 예에서, 각각의 망라된 서열분석 판독치는 종양 불균질성, 낮은 종양 순도 및 작은 조직 샘플로 인해 낮은 빈도에서 발생하는 게놈 변경의 매우 민감하고 특이적인 검출을 가능하게 하는 독특한 DNA 단편을 나타낸다.

본 발명은, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있는지 여부를 결정하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자로부터 수득된 종양 샘플에서의 재배열 수준을 예측하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 종양 샘플의 표 2에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 유전자에서의 재배열의 증가된 수준은 상기 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 적어도 약 1/3에서의 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 적어도 약 2/3에서의 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 적어도 약 3/4에서의 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 표 2에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 재배열을 갖는 것으로 예측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 예측되었다. 일부 경우에서, 표 2에 열거된 임의의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 상승된 수준과 병용하여, 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자는, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 예측되었다.

[0235] 본 발명은 추가로, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자의 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 반응성을 예측하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자로부터 획득된 종양 샘플에서의 재배열 수준을 계측하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 종양 샘플의 표 2에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20개 이상)의 유전자에서의 재배열의 증가된 수준은 상기 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 1/3에서의 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 2/3에서 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 3/4에서 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 표 2에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 재배열을 갖는 것으로 계측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 표 2에 열거된 임의의 유전자에서의 재배열의 상승된 수준과 병용하여, 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자는, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다.

[0236] 본 발명은 또한 추가로, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자에 대한 요법을 선택하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 환자로부터 획득된 종양 샘플에서의 체세포 돌연변이 수준을 계측하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 종양 샘플의 표 2에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20 이상)의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이는 상기 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 1/3에서의 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 2/3에서 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 다른 예에서, 종양 샘플에서 표 2에 제시된 유전자의 3/4에서 재배열의 증가된 수준은 환자가 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 표 2에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 재배열을 갖는 것으로 계측되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 획득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계측되었다. 일부 경우에서, 표 2에 열거된 임의의 유전자에서의 재배열의 상승된 수준과 병용하여, 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자는, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계측되었다.

[0237] 선행 방법 중 임의의 것에서, 표 2에서 명시된 유전자에서의 재배열은, 표 2에 명시된 유전자에서의 재배열의 참조 수준과 비교하여, 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약

55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 또는 약 95% 이상) 만큼 증가된 것으로 계속되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 1% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 5% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 기타 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 10% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 15% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 또 다른 기타 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 20% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 추가 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 25% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 30% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 35% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 40% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 재배열의 수준은 약 50% 이상 증가되는 것으로 계속되었다. 기타 경우에서, 표 2에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 재배열을 갖는 것으로 계속되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 2에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 재배열의 증가된 수준을 갖는 것으로 계속되었다. 일부 경우에서, 표 2에 열거된 임의의 유전자에서의 재배열의 상승된 수준과 병용하여, 표 1에 명시된 적어도 하나 이상 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300개 이상)의 유전자는, 표 1에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 계속되었다.

[0238] 임의의 선행 방법의 일부 구현예에서, 종양 샘플 내 종양 세포 중 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 99%, 약 1% 내지 약 90%, 약 1% 내지 약 85%, 약 1% 내지 약 80%, 약 1% 내지 약 75%, 약 1% 내지 약 70%, 약 1% 내지 약 65%, 약 1% 내지 약 60%, 약 1% 내지 약 55%, 약 1% 내지 약 50%, 약 1% 내지 약 45%, 약 1% 내지 약 40%, 약 1% 내지 약 35%, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 40%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 10%, 약 50% 내지 약 99%, 약 50% 내지 95%, 약 50% 내지 약 90%, 약 50% 내지 약 85%, 약 50% 내지 약 80%, 약 50% 내지 약 75%, 약 50% 내지 약 70%, 약 50% 내지 약 65%, 약 50% 내지 약 60%, 또는 약 50% 내지 약 55%)에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은 환자가 PD-L1 결합 길항제로 치료에 대하여 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

[0239] 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포에서의 검출가능한 PD-L1의 발현 수준을 갖는 것으로 계속되었다.

[0240] 선행 방법 중 임의의 것에서, 상기 방법은 상기 환자로부터 수득된 종양 샘플 (종양 영역) 내 종양-침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 발현 수준을 계속하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 1% 이상 (예를 들어, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상 또는 50% 이상)의 종양 샘플 (종양 영역)을 포함하는 종양 침윤성 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는다. 예를 들어, 일부 예에서, 예를 들어, 항-PD-L1 항체를 사용하여 면역조직화학에 결정된 바와 같이 종양 샘플의 섹션에서 1% 이상의 종양 영역을 망라하는 종양 침윤성 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 5% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 20% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 30% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 추가의 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 50% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는

치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

- [0241] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 약 1% 내지 약 50% (예컨대, 약 1% 내지 약 50%, 약 1% 내지 약 45%, 약 1% 내지 약 40%, 약 1% 내지 약 35%, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 40%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 50%, 약 10% 내지 약 40%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 20%, 또는 약 10% 내지 약 15%)를 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 결합 길항제로의 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다.
- [0242] 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 종양 샘플 (종양 영역)의 종양-침윤 면역 세포에서의 검출 가능한 PD-L1의 발현 수준을 갖는 것으로 예측되었다.
- [0243] 임의의 선행 방법에서, 환자는 고수준의 미소부수체 불안정성을 가질 수 있다. 예를 들어, 환자는 PCR-기반 접근법, 예를 들어, MSI 분석 시스템 (Promega, Madison, WI)을 사용하여 평가 시, 예를 들어, MSI를 검출하기 위한 5개의 의사단형성 모노뉴클레오타이드 반복체 (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, 및 MONO-27) 및 정상 샘플과 종양 샘플 사이의 이드니티(idnity)를 확인하기 위한 2개의 펜타뉴클레오타이드 유전자좌 (PentaC 및 PendaD)로 구성된 MSI-높은 (MSI-H) 표현형을 가질 수 있다. 각각의 미소부수체 유전자좌를 위한 염기의 크기는, 예를 들어, 겔 전기영동에 의해 예측될 수 있고, 종양은 2개 이상의 모노뉴클레오타이드 유전자좌가 생식계열 DNA와 비교하여 길이가 변하는 경우 지정된 MSI-H일 수 있다. 참고: 예컨대, Le 등 *NEJM* 372:2509-2520, 2015. 다른 구현예에서, 환자는 저수준의 미소부수체 불안정성(예를 들어, MSI-낮은 (MSI-L))을 가질 수 있다.
- [0244] 선행 방법 중 임의의 것에서, 상기 방법은 종양 샘플 중 체세포 돌연변이 수준을 기준으로 하여, PD-L1 축 결합 길항제의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. PD-L1 축 결합 길항제는 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된, 예를 들어 하기 섹션 D에서의, 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.
- [0245] 예를 들어, 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제, 및 PD-L2 결합 길항제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 모두에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: MPDL3280A (아테졸리주맵), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736 (드루발루맵), 및 MSB0010718C (아벨루맵). 일부 경우에서, 항체는, 서열 번호 19의 HVR-H1 서열, 서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및 서열 번호 21의 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열 번호 22의 HVR-L1 서열, 서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및 서열 번호 24의 HVR-L3 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 경우에서, 항체는 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0246] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 예를 들어, 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 모두에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: MDX 1106 (니볼루맵), MK-3475 (켄트루리주맵), CT-011 (피딜리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 및 BGB-108. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 예를 들어, 일부 경우에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 단일 요법으로서 투여된다.
- [0247] 일부 경우에서, 상기 방법은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제, 및 이들의 조합물.
- [0248] 선행 방법 중 임의의 것에서, 개체는 하기로부터 선택된 암을 가질 수 있다: 예를 들어, 폐암 [예컨대, 비-소세포 폐암 (NSCLC) 또는 소 세포 폐암], 신장암 (예컨대, 신장 요로상피 암종 또는 RCC), 방광암 [예컨대, 방광

요로상피 (이행 세포) 암종 (예컨대, 국소적 진행성 또는 전이성 요로상피 암종 (1L 또는 2L+ 국소적 진행성 또는 전이성 암종 포함)), 유방암 (예컨대, TNBC, HER2+ 유방암, 또는 HR+ 유방암), 자궁내막암, 피부암 (예컨대, 피부의 편평상피 세포 암종), 결장직장암 (예컨대, 결장 선암종), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종 (예컨대, 피부 흑색종), 두경부암 [예컨대, 두정부 편평상피 세포 암종 (HNSCC)], 갑상선암, 육종 (예컨대, 연질-조직 육종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 골형성성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피세포육종, 림프관육종, 림프관내피세포육종, 평활근육종, 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부 암, 흉선 암종, 백혈병 [예컨대, 급성 림프성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 호산구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병 (CLL)], 림프종 (예컨대, 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종 (NHL)], 골수종 [예컨대, 다발성 골수종 (MM)], 균상식육종, 메르켈 세포 암, 혈액 악성종양, 혈액학적 조직의 암, B 세포 암, 기관지 암, 위암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 고환암, 담관암, 소장 또는 맹장암, 타액샘암, 부신암, 선암종, 염증성 근섬유모세포 종양, 위장 간질성 종양 (GIST), 결장암, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 장애 (MPD), 진성 적혈구증가증, 척색종, 활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관암종, 융모막암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광 암종, 상피성 암종, 신경아교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 희소돌기아교세포종, 수막종, 신경교세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 혈소판증가증, 원인불명 골수 화생, 호산구과다 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 과다호산구증가증, 신경내분비 암, 또는 유암종).

[0249] 임의의 선행 방법의 일부 예에서, 개체는 백금-함유 요법 (예를 들어, 백금계 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)으로 암을 치료 후 진행되었다. 다른 예에서, 개체는 백금 함유 요법 (예를 들어, 백금계 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료에 부적합할 수 있고/있거나 암에 대한 사전-치료를 받지 않았다. 일부 예에서, 개체는 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제에 의한 사전-치료를 받지 않았다.

[0250] 예를 들어, 임의의 선행 예에서, 폐암은 비제한적으로 국소 진행성 또는 전이성 (예를 들어, 단계 IIIB, 단계 IV 또는 재발성) NSCLC를 포함하는 NSCLC일 수 있다. 일부 경우에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 절제불가능/수술불가능한 폐암 (예를 들어, NSCLC)일 수 있다. 다른 예에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 사전 백금 함유 요법에 의한 치료 동안 또는 치료 후에 진행되었을 수 있다.

[0251] 임의의 선행 예에서, 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준(양)은 비제한적으로 DNA, mRNA, cDNA, 단백질, 단백질 단편 및/또는 유전자 사본 수를 포함하는 당업계에 공지된 임의의 적합한 기준을 기초로 하여 정성적으로 및/또는 정량적으로 측정될 수 있다.

[0252] 임의의 선행 예에서, 체세포 돌연변이는 치환, 결실 및/또는 삽입일 수 있다. 예를 들어, 일부 예에서, 체세포 돌연변이는 사본 수 변경 및/또는 재배열일 수 있다.

[0253] 임의의 이전의 방법에서, 환자로부터 수득된 샘플은 조직, 전혈, 혈장, 혈청, 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 샘플은 보존된 조직 샘플이다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 기질 세포, 또는 이들의 임의의 조합물을 포함한다. 선행 경우 중 임의의 것에서, 종양 샘플은 포르말린-고정 및 파라핀-포매(FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 신선한 종양 샘플, 또는 동결된 종양 샘플일 수 있다.

[0254] 특정 경우에서, 제1 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준 (양)은 제2 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재/부재 및/또는 수준 (양)과 비교하여 증가되거나, 또는 상승된다. 특정 경우에서, 제1 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재/부재 및/또는 수준 (양)은, 제2 샘플에서의 존재 및/또는 수준 (양)과 비교하여 감소되거나, 또는 저하된다. 특정 경우에서, 제2 샘플은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직이다. 체세포 돌연변이의 존재/부재 및/또는 수준 (양)을 측정하기 위한 추가 개시내용이 본원에 기술된다.

[0255] 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 시험 샘플이 수득될 때보다 하나 이상의 상이한 시점에서 수득된 동일한 피험체 또는 개체로부터 단일 샘플 또는 다중 샘플의 조합물이다. 예를 들어, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 시험 샘플이 수득될 때보다 동일한 환자 또는 개체로부터 초기 시점에서 수득된다. 이러한 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 단일 참조 샘플이 암의 초기 진단 동안 수득되고 그리고 시험 샘플은 암이 전이성이 된 때 나중에 수득되면 유용할 수 있다.

- [0256] 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 환자가 아닌 하나 이상의 건강한 개인으로부터 다중 샘플의 조합물이다. 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 상기 피험체 또는 개체가 아닌 질환 또는 장애 (예를 들면, 암)를 갖는 하나 이상의 개인으로부터 다중 샘플의 조합물이다. 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 환자가 아닌 하나 이상의 개인으로부터 정상 조직 또는 폴딩된 혈장 또는 혈청 샘플로부터 폴딩된 RNA 샘플이다. 특정 경우에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은 환자가 아닌 질환 또는 장애 (예를 들면, 암)를 갖는 하나 이상의 개인으로부터 종양 조직 또는 폴딩된 혈장 또는 혈청 샘플로부터 폴딩된 RNA 샘플이다.
- [0257] 본원에 기술된 임의의 방법의 일부 경우에서, 상승된 또는 증가된 수준은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직과 비교하여 본 명세서에서 기재된 것과 같은 공지된 방법의 표준 기술에 의해 검출된, 체세포 돌연변이의 수준에서 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 전체 증가를 지칭한다. 특정 경우에서, 상승된 수준은 샘플에서 체세포 돌연변이의 수준/양에서의 증가를 지칭하고 여기서 상기 증가는 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직에서 각각의 체세포 돌연변이의 적어도 약 $1.5\times$, $1.75\times$, $2\times$, $3\times$, $4\times$, $5\times$, $6\times$, $7\times$, $8\times$, $9\times$, $10\times$, $25\times$, $50\times$, $75\times$, 또는 $100\times$ 수준/양이다. 일부 경우에서, 상승된 수준은, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직과 비교하여, 약 1.5 배, 약 1.75 배, 약 2 배, 약 2.25 배, 약 2.5 배, 약 2.75 배, 약 3.0 배, 또는 약 3.25 배 초과 전체 증가를 지칭한다. 일부 예에서, 체세포 돌연변이의 상승되거나 증가된 수준은 하나 이상의 부류의 체세포 돌연변이 (예를 들어, 점 돌연변이, 삽입 및 결실 (예를 들어, 삽입-결실(indel)), 증폭, 유전자 복제, 사본 수 변경 (CNA) 및 재배열) 수준의 전반적인 증가 및/또는 참조 수준과 비교하여 특정 체세포 돌연변이의 수준의 전반적인 증가를 지칭한다.
- [0258] 본원에 기술된 임의의 방법의 일부 경우에서, 감소된 수준은 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직과 비교하여 본 명세서에서 기재된 것과 같은 공지된 방법의 표준 기술에 의해 검출된, 체세포 돌연변이의 수준에서 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 전체 감소를 지칭한다. 특정 경우에서, 감소된 수준은 샘플에서 체세포 돌연변이의 수준/양에서의 감소를 지칭하고 여기서 상기 감소는 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직에서 각각의 체세포 돌연변이의 적어도 약 $0.9\times$, $0.8\times$, $0.7\times$, $0.6\times$, $0.5\times$, $0.4\times$, $0.3\times$, $0.2\times$, $0.1\times$, $0.05\times$, 또는 $0.01\times$ 수준/양이다. 일부 예에서, 체세포 돌연변이의 저하되거나 감소된 수준은 하나 이상의 부류의 체세포 돌연변이 (예를 들어, 점 돌연변이, 삽입 및 결실 (예를 들어, 삽입-결실(indel)), 증폭, 유전자 복제, 사본 수 변경 (CNA) 및 재배열) 수준의 전반적인 감소 및/또는 참조 수준과 비교하여 특정 체세포 돌연변이의 수준의 전반적인 감소를 지칭한다.
- [0259] **C. 치료적 방법**
- [0260] 본 발명은 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 경우에서, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]에 대한 백금-함유 요법 (예컨대, 백금-기반 화학치료를 포함하는 요법, 예컨대, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)으로의 치료 후 환자에 진행되었다. 기타 경우에서, 환자는 백금 함유 요법 (예를 들어, 백금계 화학치료를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료에 부적합할 수 있고/있거나 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]에 대한 사전-치료를 받지 않았다. 일부 경우에서, 본 발명의 방법은 환자에 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 항암 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 기술되거나 (참고: 예를 들어, 하기 섹션 D) 본 분야에 공지된 임의의 PD-L1 축 결합 길항제가 본 방법에 사용될 수 있다. 일부 경우에서, 상기 방법은 환자 유래의 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어를 측정하는 단계 (상기 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 수준이거나 상기 초과임), 및 참조 tTMB 스코어와 비교하여 상승된 tTMB 스코어를 기준으로 하여 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 항암 요법을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 방법은, 예를 들어, 본원에 기재된 임의의 방법(예를 들어, 섹션 A 및 섹션 B 또는 이하 실시예에 기재된 것들) 또는 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 샘플에서 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 발현을 조사하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0261] 본 발명은 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 환자 유래의 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어를 측정하는 단계 (상기 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 수준이거나 상기 초과

임), 및 환자에게 유효량의 PD-L1 측 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함한다.

- [0262] 본 발명은 또한 암을 갖는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 환자에게 유효량의 PD-L1 측 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 참조 tTMB 스코어 이상인 tTMB 스코어는 투여 이전에 환자 유래의 종양 샘플로부터 측정되었다.
- [0263] 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 또한, 표 1 및/또는 표 2에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 표 1 및/또는 표 2에 명시된 적어도 하나의 유전자에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다.
- [0264] 선행 방법 중 임의의 것에서, 표 1 및/또는 표 2에서 명시된 유전자에서의 체세포 돌연변이는, 표 1 및/또는 표 2에 명시된 유전자에서의 참조 수준의 체세포 돌연변이와 비교하여, 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 또는 약 95% 이상) 만큼 증가된 것으로 측정되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준 (예컨대, 상이한 부류 (예컨대, 삽입, 결실, 및/또는 재배열) 유래의 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준, 체세포 돌연변이의 특정 부류의 수준, 및/또는 특정 체세포 돌연변이의 수준)은 약 1% 이상 만큼 증가된 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 5% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 기타 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 10% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 15% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 추가의 기타 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 20% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 추가 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 25% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 30% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 35% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 40% 이상 증가되는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 하나 이상의 체세포 돌연변이의 수준은 약 50% 이상 증가되는 것으로 측정되었다.
- [0265] 선행 방법 중 임의의 것에서, 표 1 및/또는 표 2에 명시된 유전자의 약 1% 이상 (예컨대, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)이 증가된 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1 및/또는 표 2에 명시된 유전자의 적어도 1/2 또는 약 50%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이/증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1 및/또는 표 2에 명시된 유전자의 적어도 2/3 또는 약 67%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다. 일부 경우에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 표 1 및/또는 표 2에 명시된 유전자의 적어도 3/4 또는 약 75%에서의 증가된 수준의 체세포 돌연변이를 갖는 것으로 측정되었다.
- [0266] 일부 경우에서, 시험은 적어도 약 0.05 Mb 내지 약 10 Mb (예컨대, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 Mb) 범위의 약 300개 유전자 (예컨대, 적어도 약 300개 내지 약 400개 유전자, 예컨대, 약 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 또는 400개 유전자의 다양한 세트)의 암호화 영역을 적어도 약 500× (예컨대, 500×, 550×, 600×, 650×, 700×, 750×, 800×, 850×, 900×, 950×, 또는 1,000x)의 엑손 범위의 전형적인 깊이 중앙값까지 동시에 서열분석한다. 기타 경우에서, 시험은 약 400개 유전자, 약 425개 유전자, 약 450개 유전자, 약 475개 유전자, 약 500개 유전자, 약 525개 유전자, 약 550개 유전자, 약 575개 유전자, 약 600개 유전자, 약 625개 유전자, 약 650개 유전자, 약 675개 유전자, 약 700개 유전자, 약 725개 유전자, 약 750개 유전자, 약 775개 유전자, 약 800개 유전자, 약 825개 유전자, 약 850개 유전자, 약 875개 유전자, 약 900개 유전자, 약 925개 유전자, 약 950개 유전자, 약 975개 유전자, 약 1000개 유전자, 또는 1000개 초과 유전자의 암호화 영역을 동시에 서열분석한다. 일부 예에서, 유전자 세트는 표 1에 명시된 1개 이상의 유전자 (예를 들어, 암-관련 유전자)를 포함한다. 일부 예에서, 유전자 세트는 FOUNDATIONONE® 패널의 유전자 세트이다 (참고: 예컨대, Frampton 등 *Nat. Biotechnol.* 31: 1023-31, 2013 (이의 전체 내용은 본원에 참조로 편입됨)). 일부 예에서, 유전자 세트는 FOUNDATIONONE® CDx 패널의 유전자 세트이다. 일부 구현예에서, 시험은, 약 10 Mb 초과, 예컨대, 약 10 Mb

초과, 약 15 Mb 초과, 약 20 Mb 초과, 약 25 Mb 초과, 약 30 Mb 초과, 약 35 Mb 초과, 약 40 Mb 초과, 약 45 Mb 초과, 약 50 Mb 초과, 약 55 Mb 초과, 약 60 Mb 초과, 약 65 Mb 초과, 약 70 Mb 초과, 약 75 Mb 초과, 약 80 Mb 초과, 약 85 Mb 초과, 약 90 Mb 초과, 약 95 Mb 초과, 약 100 Mb 초과, 약 200 Mb 초과, 약 300 Mb 초과, 약 400 Mb 초과, 약 500 Mb 초과, 약 600 Mb 초과, 약 700 Mb 초과, 약 800 Mb 초과, 약 900 Mb 초과, 약 1 Gb 초과, 약 2 Gb 초과, 약 3 Gb 초과, 또는 약 3.3 Gb 초과의 개체의 게놈을 서열분석한다. 일부 경우에서, 시험은, 암에서 종종 재배열되거나 변경된 28개 유전자 유래의 인트론 및(plus) 315개 암-관련 유전자의 암호화 영역을 500x 초과 범위의 전형적인 깊이 중앙값까지 서열분석한다. 일부 예에서, 각각의 망라된 서열분석 판독치는 종양 불균질성, 낮은 종양 순도 및 작은 조직 샘플로 인해 낮은 빈도에서 발생하는 게놈 변경의 매우 민감하고 특이적인 검출을 가능하게 하는 독특한 DNA 단편을 나타낸다. 다른 예에서, 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준은 전체 엑솜 서열분석에 의해 예측된다. 일부 경우에서, 체세포 돌연변이의 존재 및/또는 수준은 전체 엑솜 서열분석에 의해 예측된다.

[0267] 선행 방법 중 임의의 것에서, 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 암을 갖는 개체의 참조 집단 내 tTMB 스코어이며, 개체 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료된 개체의 제1 서브세트 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법으로 치료된 개체의 제2 서브세트로 이루어지며, 여기서 상기 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법은 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 일부 예에서, 참조 tTMB 스코어는 비-PD-L1 축 결합 길항제 요법에 의한 치료에 대한 반응성과 비교하여 PD-L1 축 결합 길항제 요법에 의한 반응성의 유의미한 차이를 기준으로 하여 개체의 제1 및 제2 서브세트 각각을 유의미하게 분리시킨다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존 (PFS), 전체 생존, 및/또는 전체 반응률 (ORR)에서의 증가이다.

[0268] 선행 방법 중 임의의 것에서, 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 사전-배정된 tTMB 스코어이다. 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는, Mb 당 약 5 내지 약 100개 돌연변이 (mut/Mb), 예를 들어, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59, 약 60, 약 61, 약 62, 약 63, 약 64, 약 65, 약 66, 약 67, 약 68, 약 69, 약 70, 약 71, 약 72, 약 73, 약 74, 약 75, 약 76, 약 77, 약 78, 약 79, 약 80, 약 81, 약 82, 약 83, 약 84, 약 85, 약 86, 약 87, 약 88, 약 89, 약 90, 약 91, 약 92, 약 93, 약 94, 약 95, 약 96, 약 97, 약 98, 약 99, 또는 약 100 mut/Mb이다. 예를 들어, 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 약 8 내지 약 30 mut/Mb (예컨대, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 또는 약 30 mut/Mb)이다. 일부 경우에서, 참조 tTMB 스코어는 약 10 내지 약 20 mut/Mb (예컨대, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 또는 약 20 mut/Mb)이다. 특정 예에서, 참조 tTMB 스코어는 10 mut/Mb, 16 mut/Mb 또는 20 mut/Mb일 수 있다.

[0269] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 5 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 5 내지 약 100 mut/Mb (예컨대, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59, 약 60, 약 61, 약 62, 약 63, 약 64, 약 65, 약 66, 약 67, 약 68, 약 69, 약 70, 약 71, 약 72, 약 73, 약 74, 약 75, 약 76, 약 77, 약 78, 약 79, 약 80, 약 81, 약 82, 약 83, 약 84, 약 85, 약 86, 약 87, 약 88, 약 89, 약 90, 약 91, 약 92, 약 93, 약 94, 약 95, 약 96, 약 97, 약 98, 약 99, 또는 약 100 mut/Mb)이다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 또는 약 50 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 예를 들어, 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 10 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 일부 구현예에서, 참조 tTMB 스코어는 10 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 10 내지 100 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어는 약 10 내지 20 mut/Mb이다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 16 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다. 일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 16 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖고, 그리고 참조 tTMB 스코어는 16 mut/Mb이다. 기타 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 20 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖는다.

일부 경우에서, 환자 유래의 종양 샘플은 약 20 mut/Mb 이상의 tTMB 스코어를 갖고, 그리고 참조 tTMB 스코어는 약 20 mut/Mb이다.

[0270] 기타 경우에서, 본 발명은 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 환자 유래의 종양 샘플로부터의 tTMB 스코어를 측정하는 단계 (상기 종양 샘플 유래의 tTMB 스코어는 참조 tTMB 스코어 미만임)를 포함하며, 그리고 상기 방법은 상기 개체에게 PD-L1 축 결합 길항제 이외에, 또는 상기에 추가하여 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 선행 방법 중 임의의 것의 일부 경우에서, tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어는 서열 분석된 염기의 한정된 수 당 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 예를 들어, 일부 경우에서, 한정된 수의 서열 분석된 염기는 약 100 kb 내지 약 10 Mb이다. 일부 경우에서, 서열 분석된 염기의 한정된 수는, 예컨대, FOUNDATIONONE® 패널에 의하여 평가 시, 약 1.1 Mb (예컨대, 약 1.125 Mb)이다. 일부 예에서, tTMB 스코어 또는 참조 tTMB 스코어는 등가 TMB 값이다. 일부 경우에서, 등가 TMB 값은 전체-엑솜 서열분석 (WES)에 의해 측정된다. 선행 방법 중 임의의 것에서, 결정된 tTMB 스코어는 표 1 및/또는 표 2에 열거된 유전자에서 검출된 체세포 돌연변이 및/또는 재배열의 수준을 반영할 수 있다. 일부 경우에서, tTMB 스코어는, 적어도 약 5 mut/Mb 이상 (예컨대, 약 5 mut/Mb 이상, 약 6 mut/Mb 이상, 약 7 mut/Mb 이상, 약 8 mut/Mb 이상, 약 9 mut/Mb 이상, 약 10 mut/Mb 이상, 약 11 mut/Mb 이상, 약 12 mut/Mb 이상, 약 13 mut/Mb 이상, 약 14 mut/Mb 이상, 약 15 mut/Mb 이상, 약 16 mut/Mb 이상, 약 17 mut/Mb 이상, 약 18 mut/Mb 이상, 약 19 mut/Mb 이상, 약 20 mut/Mb 이상, 약 25 mut/Mb 이상, 약 30 mut/Mb 이상, 약 35 mut/Mb 이상, 약 40 mut/Mb 이상, 및 약 50 mut/Mb 이상)이 치료 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료)에 대한 반응성에 대하여 예측성인 것으로 측정되었다 (또는 측정된다). 일부 경우에서, 치료 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료)에 대한 반응성에 대하여 예측성인 돌연변이 부하는 약 7 돌연변이/Mb 내지 약 20 돌연변이/Mb일 수 있다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 돌연변이 부하는 약 10 돌연변이/Mb 내지 약 15 돌연변이/Mb일 수 있다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 11 돌연변이/Mb 내지 약 13 돌연변이/Mb일 수 있다. 일부 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 12.5 돌연변이/Mb일 수 있다. 기타 경우에서, 치료에 대한 반응성에 대하여 예측성인 tTMB 스코어는 약 10 mut/Mb 이상, 예컨대, 약 10 mut/Mb 이상, 약 11 mut/Mb 이상, 약 12 mut/Mb 이상, 약 13 mut/Mb 이상, 약 14 mut/Mb 이상, 약 15 mut/Mb 이상, 약 16 mut/Mb 이상, 약 17 mut/Mb 이상, 약 18 mut/Mb 이상, 약 19 mut/Mb 이상, 약 20 mut/Mb 이상일 수 있다.

[0271] 임의의 선행 방법의 일부 구현예에서, 종양 샘플 내 종양 세포 중 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 99%, 약 1% 내지 약 90%, 약 1% 내지 약 85%, 약 1% 내지 약 80%, 약 1% 내지 약 75%, 약 1% 내지 약 70%, 약 1% 내지 약 65%, 약 1% 내지 약 60%, 약 1% 내지 약 55%, 약 1% 내지 약 50%, 약 1% 내지 약 45%, 약 1% 내지 약 40%, 약 1% 내지 약 35%, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 40%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 10%, 약 50% 내지 약 99%, 약 50% 내지 95%, 약 50% 내지 약 90%, 약 50% 내지 약 85%, 약 50% 내지 약 80%, 약 50% 내지 약 75%, 약 50% 내지 약 70%, 약 50% 내지 약 65%, 약 50% 내지 약 60%, 또는 약 50% 내지 약 55%)에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은 환자가 PD-L1 결합 길항제로 치료에 대하여 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

[0272] 일부 구현예에서, 환자로부터 취득된 종양 샘플은 종양 샘플 내 종양 세포에서의 검출불가능한 PD-L1의 발현 수준을 갖는 것으로 측정되었다.

[0273] 선행 방법 중 임의의 것에서, 상기 방법은 상기 환자로부터 취득된 종양 샘플 (종양 영역) 내 종양-침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 발현 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 환자로부터 취득된 종양 샘플은 1% 이상 (예를 들어, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상 또는 50% 이상)의 종양 샘플 (종양 영역)을 포함하는 종양 침윤성 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1을 갖는다. 예를 들어, 일부 예에서, 예를 들어, 항-PD-L1 항체를 사용하여 면역조직화학에 결정된 바와 같이 종양 샘플의 섹션에서 1% 이상의 종양 영역을 망라하는 종양 침윤성 면역 세포에서 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 5% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 20% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응

할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 30% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다. 추가의 기타 경우에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 50% 이상을 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대해 반응할 가능성이 있다는 것을 표지한다.

[0274] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 구현예에서, 종양 샘플의 절편 내 종양 영역의 약 1% 내지 약 50% (예컨대, 약 1% 내지 약 50%, 약 1% 내지 약 45%, 약 1% 내지 약 40%, 약 1% 내지 약 35%, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 약 5% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 40%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 50%, 약 10% 내지 약 40%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 20%, 또는 약 10% 내지 약 15%)를 망라하는 종양-침윤 면역 세포 내 검출가능한 발현 수준의 PD-L1은, 환자가 PD-L1 결합 길항제로의 치료에 반응할 가능성이 있음을 표지한다.

[0275] 일부 구현예에서, 환자로부터 수득된 종양 샘플은 종양 샘플 (종양 영역)의 종양-침윤 면역 세포에서의 검출가능한 PD-L1의 발현 수준을 갖는 것으로 계측되었다.

[0276] 임의의 선행 방법에서, 환자는 고수준의 미소부수체 불안정성을 가질 수 있다. 예를 들어, 환자는, PCR-기반 접근법, 예를 들어, MSI 분석 시스템 (Promega, Madison, WI)을 사용하여 평가할 때, MSI를 검출하기 위한 5개의 의사단형성 모노뉴클레오타이드 반복체 (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, 및 MONO-27) 및 정상 샘플과 종양 샘플 사이의 이드니티(idnity)를 확인하기 위한 2개의 펜타뉴클레오타이드 유전자좌 (PentaC 및 PendaD)로 구성된 MSI-높은 (MSI-H) 표현형을 가질 수 있다. 각각의 미소부수체 유전자좌를 위한 염기의 크기는, 예를 들어, 겔 전기영동에 의해 결정될 수 있고, 종양은 2개 이상의 모노뉴클레오타이드 유전자좌가 생식세포 DNA와 비교하여 길이가 변하는 경우 지정된 MSI-H일 수 있다. 참고: 예컨대, Le 등 *NEJM* 372:2509-2520, 2015. 다른 구현예에서, 환자는 저수준의 미소부수체 불안정성(예를 들어, MSI-낮음 (MSI-L))을 가질 수 있다.

[0277] 선행 방법 중 임의의 것에서, PD-L1 축 결합 길항제는, 본 분야에 공지되거나 본원에 기술된, 예를 들어, 하기 섹션 D 내에서의, 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.

[0278] 예를 들어, 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제, 또는 PD-L2 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 모두에 대한 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 MPDL3280A (아테졸리주맵), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736 (두르발루맵), 또는 MSB0010718C (아벨루맵)이다. 일부 경우에서, 항체는 서열 번호 19의 HVR-H1 서열, 서열 번호 20의 HVR-H2 서열, 및 서열 번호 21의 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열 번호 22의 HVR-L1 서열, 서열 번호 23의 HVR-L2 서열, 및 서열 번호 24의 HVR-L3 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 경우에서, 항체는 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0279] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 예를 들어, 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 이의 리간드 결합 상대들 중 하나 이상에 대한 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 모두에 대한 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 MDX-1106 (니볼루맵), MK-3475 (팜브롤리주맵), CT-011 (피딜리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 또는 BGB-108이다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 예를 들어, 일부 경우에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다.

[0280] 선행 방법 중 임의의 것에서, 개체는 하기로부터 선택된 암을 가질 수 있다: 예를 들어, 폐암 [예컨대, 비-소세포 폐암 (NSCLC) 또는 소 세포 폐암], 신장암 (예컨대, 신장 요로상피 암종 또는 RCC), 방광암 [예컨대, 방광 요로상피 (이행 세포) 암종 (예컨대, 국소적 진행성 또는 전이성 요로상피 암종 (1L 또는 2L+ 국소적 진행성 또는 전이성 암종 포함)], 유방암 (예컨대, TNBC, HER2+ 유방암, 또는 HR+ 유방암), 자궁내막암, 피부암 (예컨대, 피부의 편평상피 세포 암종), 결장직장암 (예컨대, 결장 선암종), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종 (예컨대, 피부 흑색종), 두경부암 (예컨대, 두경부 편평상피 세포 암종 (HNSCC)], 갑상선암, 육종 (예컨

대, 연질-조직 육종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 골형성성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피세포육종, 림프관육종, 림프관내피세포육종, 평활근육종, 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부 암, 흉선 암종, 백혈병 [예컨대, 급성 림프성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 호산구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병 (CLL)], 림프종 [예컨대, 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종 (NHL)], 골수종 (예컨대, 다발성 골수종 (MM)], 균상식육종, 메르켈 세포 암, 혈액 악성종양, 혈액학적 조직의 암, B 세포 암, 기관지 암, 위암, 뇌 또는 중추신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두암, 간암, 고환암, 담관암, 소장 또는 맹장암, 타액샘 암, 부신암, 선암종, 염증성 근섬유모세포 종양, 위장 간질성 종양 (GIST), 결장암, 골수이형성 증후군 (MDS), 골수증식성 장애 (MPD), 진성 적혈구증가증, 척색종, 활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관암종, 용모막암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광 암종, 상피성 암종, 신경아교종, 별아교세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 희소돌기아교세포종, 수막종, 신경교세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 혈소판증가증, 원인불명 골수 화생, 호산구과다 증후군, 전신 비만세포종, 가족성 과다호산구증가증, 신경내분비 암, 또는 유암종).

[0281] 임의의 선행 방법의 일부 예에서, 개체는 백금-함유 요법 (예를 들어, 백금계 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)으로 암을 치료 후 진행되었다. 다른 예에서, 개체는 백금 함유 요법(예를 들어, 백금계 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴-계 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료에 부적합할 수 있고/있거나 암에 대한 사전-치료를 받지 않았다. 일부 예에서, 개체는 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제에 의한 사전-치료를 받지 않았다.

[0282] 예를 들어, 임의의 선행 예에서, 폐암은 비제한적으로 국소 진행성 또는 전이성 (예를 들어, 단계 IIIB, 단계 IV 또는 재발성) NSCLC를 포함하는 NSCLC일 수 있다. 일부 경우에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 절제불가능/수술불가능한 폐암 (예를 들어, NSCLC)일 수 있다. 다른 예에서, 폐암 (예를 들어, NSCLC)은 사전 백금 함유 요법에 의한 치료 동안 또는 치료 후에 진행되었을 수 있다.

[0283] 추가 양태에서, 본 발명은 약제의 제작 또는 제조에서 PD-L1 축 결합 길항제의 사용을 위해 제공된다. 일 경우에서, 약제는 암의 치료용이다. 추가 경우에서, 약제는 암 (예컨대, 폐암, 예컨대, NSCLC)을 앓는 환자에게 유효량의 약제를 투여하는 단계를 포함하는, 암을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 것이다. 하나의 상기 경우에서, 상기 방법은 예를 들어, 하기 기재된 바와 같이 적어도 하나의 치료제의 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0284] 본 명세서에서 기재된 방법 (예를 들면, PD-L1 축 결합 길항제)에서 이용된 조성물은 하기를 포함하는 임의의 적합한 방법에 의하여 투여될 수 있다: 예를 들면, 정맥내로, 근육내로, 피하로, 진피내로, 경피적으로, 동맥내로, 복강내로, 병소내로, 두개내로, 관절내로, 전립선내로, 늑막내로, 기관내로, 척추강내로, 비강내로, 질내로, 직장내로, 국소로, 종양내로, 복막으로, 결막하로, 방광내로, 점막으로, 심막내로, 태줄내로, 안구내로, 안와내로, 경구로, 국소로, 경피로, 초자체내로 (예를 들면, 초자체내 주사에 의하여), 점안액에 의하여, 흡입으로, 주사로, 이식에 의하여, 주입에 의하여, 연속 주입에 의하여, 표적 세포를 직접적으로 국지화 관류 욕 (localized perfusion bathing)함으로써, 카테터에 의하여, 세척에 의하여, 크림 제형으로, 또는 지질 조성물로. 본 명세서에서 기재된 방법에서 이용된 조성물은 또한 전신으로 또는 국소로 투여될 수 있다. 투여 방법은 다양한 인자 (예를 들면, 투여될 화합물 또는 조성물 및 치료될 병태, 질환, 또는 장애의 중증도)에 따라 가변될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 정맥내로, 근육내로, 피하로, 국소로, 경구로, 경피로, 복강내로, 안와내로, 이식에 의하여, 흡입으로, 척추강내로, 심실내로, 또는 비강내로 투여된다. 투여는 모든 적합한 경로, 예컨대 부분적으로 상기 투여가 간단한 것이냐 또는 만성적인 것이냐에 따라, 주사, 예컨대 정맥내 또는 피하 주사에 의해 수행될 수 있다. 비제한적으로 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 비롯한 다양한 복용 스케줄이 본원에 고안되었다.

[0285] 본원에 기술된 PD-L1 축 결합 길항제 (예컨대, 항체, 결합 폴리펩타이드, 및/또는 소분자) (임의의 추가 치료제)는 양호한 의학적 실시와 일치하는 방식으로 제형화, 복용, 및 투여될 수 있다. 본 맥락에서 고려되는 인자는 치료되는 특정 장애, 치료되는 특정 동물, 개별적인 환자의 임상 조건, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의료진에게 공지된 다른 인자를 포함한다. 꼭 그런 것은 아니지만, PD-L1 축 결합 길항제는 문제의 장애를 예방 또는 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 제제와 임의로 제형화 및/또는 투여된다. 유효량의 상기 기타 제제는 제제에 존재하는 PD-L1 축 결합 길항제의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 위에서 논의된 다른 요인에 의존한다. 이들은 일반적으로 본원에 기재된 바와 동일한 용량으로 및 투여 경로로,

또는 본원에 기재된 용량의 약 1 내지 99%, 또는 적절하다고 경험적/임상적으로 측정된 임의 용량으로 및 임의 경로에 의해 사용된다.

[0286] 암 [예컨대, 폐암, 예컨대, NSCLC]의 예방 또는 치료를 위해 (단독으로 또는 하나 이상의 다른 추가 치료제와 병용하여 사용될 때), PD-L1 축 결합 길항제의 적절한 투여량은 치료받는 질환의 유형, PD-L1 축 결합 길항제의 유형, 중증도 및 질환의 추이, 항체 또는 면역접합체가 예방적 또는 치료적 목적으로 투여되는지 여부, 이전의 요법, PD-L1 축 결합 길항제에 대한 환자의 임상 이력 및 반응, 및 주치의의 재량에 의존할 것이다. PD-L1 축 결합 길항제는 환자에게 1회에 또는 일련의 치료에 걸쳐 적합하게 투여된다. 한 가지 전형적인 일일 투여량은 전술한 인자에 따라, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 또는 그 이상의 범위에서 가변할 수 있다. 수 일 또는 그 이상에 걸친 반복된 투여의 경우, 병태에 따라, 치료는 일반적으로 질환 증상의 목적하는 역제가 일어날 때까지 지속될 것이다. 상기 투여는 간헐적으로, 예를 들면, (예를 들면, 환자가 약 2 내지 약 20회, 또는 예를 들면, 약 6회 용량의 PD-L1 축 결합 길항제를 제공받도록) 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다. 초기에 고 부하 용량, 그 다음 1회 이상의 소 용량이 투여될 수 있다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 전통적인 기술과 검정에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0287] 예를 들어, 일반적인 경우에서, 인간에게 투여된 PD-L1 축 결합 길항제 항체의 치료적 유효량은, 1회 이상의 투여에 의해 환자 체중당 약 0.01 내지 약 50 mg/kg의 범위일 것이다. 일부 경우에서, 사용된 항체는, 예를 들어, 약 0.01 mg/kg 내지 약 45 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 35 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 25 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 또는 약 0.01 mg/kg 내지 약 1 mg/kg로 매일, 매주, 매 2주마다, 매 3주마다, 또는 매월 투여된다. 일부 경우에서, 항체는 15 mg/kg로 투여된다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 일 경우에서, 본원에 기술된 PD-L1 축 결합 길항제 항체는 약 100 mg, 약 200 mg, 약 300 mg, 약 400 mg, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 또는 약 1800 mg의 용량으로 21-일 주기 중 제1일 (매 3주, q3w)에 인간에게 투여된다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체 아테졸리주맵 (MPDL3280A)는 1200mg으로 정맥내로 매 3주 (q3w) 투여된다. 투여는 단회 용량 또는 다중 용량(예를 들면, 2 또는 3회 용량)으로, 예컨대 주입(infusion)으로 투여될 수 있다. 병용 치료 중 투여된 항체의 투여는, 단일 치료와 비교하여, 감소될 수 있다. 이 치료법의 과정은 통상적인 기술에 의해 용이하게 관찰된다.

[0288] 일부 경우에서, 상기 방법은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 세포독성제, 화학치료제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제, 및 이들의 조합물. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 화학요법 또는 화학치료제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 방사선 치료제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 표적화 요법 또는 표적화 치료제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 면역요법 또는 면역치료제, 예를 들어 단클론성 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 활성화 공동-자극성 분자에 대하여 지향된 효능제이다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 억제성 공동-자극성 분자에 대해 지향된 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 단일 요법으로서 투여된다.

[0289] 상기 주지된 이러한 병용 요법은 병용 투여(2 이상의 치료제가 동일한 또는 별도의 제형에 포함되어 있는 경우), 및 별도의 투여를 포함하며, 이 경우, PD-L1 축 결합 길항제의 투여는 추가의 치료제 또는 치료제들의 투여 전, 투여와 동시에 및/또는 투여 후에 일어날 수 있다. 일 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제의 투여 및 추가 치료제의 투여는 약 1달 내, 또는 약 1주, 2주 또는 3주 내, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6일 내에 발생한다.

[0290] 이론에 구속됨이 없이, 활성화 공동-자극성 분자를 촉진시킴에 의하여, 또는 음성 공동-자극성 분자를 억제함에 의하여 T 세포 자극을 증진시키는 것은, 종양 세포사를 촉진하여 이로써 암을 치료하거나 이의 진행을 지연시킬 수 있다는 것이 고려된다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 활성화 공동-자극 분자에 대하여 지향된 효능제와 조합하여 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 활성화 공동자극 분자는 CD40, CD226, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM, 또는 CD127을 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 활성화 공동자극 분자에 대해 지향된 효능제는 CD40, CD226, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM, 또는 CD127에 결합하는 효능제 항체이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 억제성 공동-자극 분자에 대하여 지향된 길항제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 억제성 공동-자극 분자는 CTLA-4 (CD152로도 공지됨), TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO, TIGIT, MICA/B, 또는 아르기나제를 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 억제성 공동-자극 분자에 대하여 지향된 길항제는 CTLA-4, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO, TIGIT, MICA/B, 또는 아르기나제에 결합하는

길항제 항체이다.

- [0291] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 (또한 CD152로도 알려진) CTLA-4에 대하여 지향된 길항제, 예를 들면, 차단 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 이필리무맙 (또한 MDX-010, MDX-101, 또는 YERVOY®로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 트레멜리무맙 (또한 티실리무맙 또는 CP-675,206으로도 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 (또한 CD276로도 알려진) B7-H3에 대해 지향된 길항제, 예를 들면, 차단 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 MGA271와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 TGF 베타에 대해 표지된 길항제, 예컨대, 메텔리무맙 (또한 CAT-192로 알려짐), 프레솔리무맙 (또한 GC1008로도 알려짐), 또는 LY2157299과 함께 투여될 수 있다.
- [0292] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포 (예컨대, 세포독성 T 세포 또는 CTL)의 입양성 전이를 포함하는 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 양성-음성 TGF 베타 수용체, 예컨대, 양성-음성 TGF 베타 유형 II 수용체를 포함하는 T 세포의 입양성 전이를 포함하는 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 HERCREEM 프로토콜 (참고: 예컨대, ClinicalTrials.gov 식별자 NCT00889954)을 포함하는 치료와 함께 투여될 수 있다.
- [0293] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 (또한 TNFRSF9, 4-1BB, 또는 ILA로도 알려진) CD137로 지향된 효능제, 예를 들면, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 우렐리맙 (또한 BMS-663513로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CD40으로 지향된 효능제, 예를 들면, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CP-870893와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 (또한 CD134로도 알려진) OX40으로 지향된 효능제, 예를 들면, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 항-OX40 항체 (예를 들면, AgonOX)와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CD27로 지향된 효능제, 예를 들면, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CDX-1127과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 인돌아민-2,3-산소화효소 (IDO)에 대해 지향된 길항제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, IDO 길항제는 1-메틸-D-트립토판 (또한 1-D-MT로 알려짐)이다.
- [0294] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 항체-약물 접합체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 항체-약물 접합체는 메르탄신 또는 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE)을 포함한다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 항-NaPi2b 항체-MMAE 접합체 (또한 DNIB0600A 또는 RG7599로 알려짐)와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 트라스투주맙 엠탄신 (또한 T-DM1로 알려짐, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 또는 KADCYLA®, Genentech)와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 DMUC5754A와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 엔도텔린 B 수용체 (EDNBR), 예컨대 MMAE와 접합된 EDNBR에 대해 지향된 항체를 표적화하는 항체-약물 접합체와 함께 투여될 수 있다.
- [0295] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 항-혈관형성 제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 VEGF, 예컨대, VEGF-A에 대해 지향된 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 베바시주맙 (또한 AVASTIN®로 알려짐, Genentech)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 안지오펀이오티 2 (또한 Ang2로 알려짐)에 대한 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 MEDI3617과 함께 투여될 수 있다.
- [0296] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 항신생물성 제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CSF-1R (또한 M-CSFR 또는 CD115로 알려짐)을 표적화하는 제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 항-CSF-1R (또한 IMC-CS4로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 인터페론, 예를 들어 인터페론 알파 또는 인터페론 감마와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 로페론-A (또한 재조합 인터페론 알파-2a로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 GM-CSF (또한 재조합 인간 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자, rhu GM-CSF, 사르그모스틴, 또는 LEUKINE®로 알려짐)와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-2 (또한 알데스류킨 또는 PROLEUKIN®로 알려짐)와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-12와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 표적화 CD20과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, CD20을 표적화하는 항체는 오비누투주맙 (또한 GA101 또는 GAZYVA®로 알려짐) 또는 리툽시맙이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 GITR을 표적화하는 항체와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, GITR을 표적화하는 항체는 TRX518이다.

[0297] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 암 백신과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 암 백신은, 일부 경우에서 개인화된 펩타이드 백신인, 펩타이드 암 백신을 포함할 수 있다. 일부 경우에서 펩타이드 암 백신은, 다가의 긴 펩타이드, 다중-펩타이드, 펩타이드 각테일, 혼성 펩타이드, 또는 펩타이드-펄스(peptide-pulsed) 수지상 세포 백신 (참고: 예컨대, Yamada 등, *Cancer Sci.* 104:14-21, 2013)이다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 아췌반트와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 TLR 효능제, 예컨대, Poly-ICLC (또한 HILTONOL®로 알려짐), LPS, MPL, 또는 CpG ODN을 포함한 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 종양 괴사 인자 (TNF) 알파와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-1과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 HMGB1과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-10 길항제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-4 길항제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-13 길항제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 HVEM 길항제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 ICOS 효능제와 결합하여, 예컨대, ICOS-L, 또는 ICOS에 대해 지향된 길항제성 항체의 투여에 의하여, 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CX3CL1 표적화 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CXCL9 표적화 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CXCL10 표적화 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 CCL5 표적화 치료와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 LFA-1 또는 ICAM1 효능제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 셀렉틴 효능제와 함께 투여될 수 있다.

[0298] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 표적화 요법과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 B-Raf의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 베루라페닙 (ZELBORAF®로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 다브라페닙 (또한 TAFINLAR®로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 에를로티닙 (또한 TARCEVA®로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 MEK 억제제, 예컨대 MEK1 (또한 MAP2K1로 알려짐) 또는 MEK2 (또한 MAP2K2로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 코비메티닙 (또한 GDC-0973 또는 XL-518로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 트라메티닙 (또한 MEKINIST®로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 K-Ras의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 c-Met의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 오나투주맙 (또한 MetMab로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 A1k의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 AF802 (또한 CH5424802 또는 알렉티닙으로도 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 포스포타티딜이노시톨 3-키나제 (PI3K)의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 BKM120과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 이텔라리십 (또한 GS-1101 또는 CAL-101로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 페리포신 (또한 KRX-0401로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 Akt의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 MK2206과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 GSK690693과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 GDC-0941과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 mTOR의 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 시롤리무스 (또한 라파마이신으로도 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 템시롤리무스 (또한 CCI-779 또는 TORISEL®로 알려짐)와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 에베롤리무스 (또한 RAD001로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 리다포롤리무스 (또한 AP-23573, MK-8669, 또는 데포롤리무스로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 OSI-027과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 AZD8055와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 INK128과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 이중 PI3K/mTOR 억제제와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 XL765와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 GDC-0980과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 BEZ235 (또한 NVP-BEZ235로 알려짐)과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 BGT226과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 GSK2126458과 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PF-04691502와 함께 투여될 수 있다. 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PF-05212384 (또한 PKI-587로 알려짐)와 함께 투여될 수 있다.

[0299] D. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 PD-L1 축 결합 길항제

- [0300] 환자에서 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 치료하거나 이의 진행을 지연시키는 방법이 본원에 제공되며, 이는 상기 환자에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함한다. 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자가 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대하여 반응할 가능성이 있는지 여부를 결정하기 위한 방법이 본원에 제공된다. 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 앓는 환자의 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 반응성을 예측하기 위한 방법이 본원에 제공된다. 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종]을 앓고 있는 환자를 위한 요법을 선택하는 방법이 본원에 제공된다. 선행 방법 중 어느 것도 본원에서 제공된 체세포 돌연변이의 수준, 예를 들어, 종양 샘플에서 표 2의 표 1에 열거된 유전자의 돌연변이를 기준으로 할 수 있다. 선행 방법 중 어느 것도 또한, 종양 샘플에서, 예를 들면, 종양-침윤 면역 세포 및/또는 종양 세포에서 바이오마커의 발현 수준, 예를 들면, PD-L1 발현을 기준으로 할 수 있다.
- [0301] 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제, 및 PD-L2 결합 길항제를 포함한다. PD-1 (프로그램된 사멸 1)은, 또한 본 분야에서 "프로그램된 세포 사멸 1," "PDCD1," "CD279," 및 "SLEB2"로 지칭된다. 예시적 인간 PD-1는 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁번호 Q15116에 도시된다. PD-L1 (프로그램된 사멸 리간드 1)은 또한 본 분야에서 "프로그램된 세포 사멸 1 리간드 1," "PDCD1LG1," "CD274," "B7-H," 및 "PDL1"로 지칭된다. 예시적 인간 PD-L1는 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁번호 Q9NZQ7.1에 도시된다. PD-L2 (프로그램된 사멸 리간드 2)는, 또한 본 분야에서 "프로그램된 세포 사멸 1 리간드 2" "PDCD1LG2" "CD273" "B7-DC" "Btdc" 및 "PDL2"로 지칭된다. 예시적 인간 PD-L2는 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁번호 Q9BQ51에 도시된다. 일부 경우에서, PD-1, PD-L1, 및 PD-L2 는 인간 PD-1, PD-L1 및 PD-L2 이다.
- [0302] 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대에 대한 PD-1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-1 리간드 결합 상대는 PD-L1 및/또는 PD-L2이다. 또 다른 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 이의 결합 리간드에 대한 PD-L1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-L1 결합 상대는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 경우에서, PD-L2 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대에 대한 PD-L2 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-L2 결합 리간드 상대는 PD-1이다. 길항제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩타이드일 수 있다.
- [0303] 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 예를 들어, 하기에 기술된, 항-PD-1 항체 (예컨대, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 경우에서, 항-PD-1 항체는 MDX-1106 (니볼루맵), MK-3475 (팸브롤리주맵), CT-011 (피딜리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 및 BGB-108. MDX-1106 (또한 MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558, 또는 니볼루맵으로도 알려짐)으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이는 WO2006/121168 에 기술된 항-PD-1 항체이다. MK-3475 (또한 팸브롤리주맵 또는 램브롤리주맵으로도 알려짐)은 WO 2009/114335 에 기술된 항-PD-1 항체이다. CT-011 (또한, hBAT, hBAT-1 또는 피딜리주맵으로도 알려짐)은 WO 2009/101611 에 기술된 항-PD-1 항체이다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는, 면역접합체 [예컨대, 불변 영역 (예컨대, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 또는 PD-1 결합부를 포함하는 면역접합체]이다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. AMP-224 (또한 B7-DCIg 로 알려짐)는 WO 2010/027827 및 WO 2011/066342 에 기술된 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다.
- [0304] 일부 경우에서, 항-PD-1 항체는 MDX-1106이다. "MDX-1106"에 대한 대안적 명칭은 MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558, 및 니볼루맵을 포함한다. 일부 경우에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵 (CAS 등록 번호: 946414-94-4)이다. 또 다른 추가 경우에서, 서열 번호 1로부터의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열 번호 2로부터의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 항-PD-1 항체가 제공된다. 또한 추가의 경우에서, 중쇄 및/또는 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-1 항체가 본원에서 제공되고, 여기서:
- [0305] (a) 중쇄 서열은, 하기 중쇄 서열에 대한 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖고: 그리고

QVQLVESGGGVQPGRSRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGR
FTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA
LGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGKTYTCNVDPKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVHLQDQLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKAGQPREPQVYTLTP
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG

[0306]

[0307] NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (서열 번호 1), 및

[0308] (b) 경쇄 서열은, 하기 경쇄 서열에 대한 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD
FTLTISLEPEDFAVYYCQQSSNWPRFTGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN

[0309]

[0310] RGEC (서열 번호 2).

[0311] 일부 경우에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L2 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L2 결합 길항제는 항-PD-L2 항체 (예컨대, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 경우에서, PD-L2 결합 길항제는 면역접합체이다.

[0312] 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 예를 들어 하기에 기술된 바와 같은 항-PD-L1 항체이다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 PD-L1 및 PD-1 사이의 및/또는 PD-L1 및 B7-1 사이의 결합을 억제할 수 있다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 단클론성 항체이다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, 및 (Fab')₂ 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 단편이다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 인간화 항체이다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체이다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 하기에 기술된 군으로부터 선택된다: YW243.55.S70, MPDL3280A (아테졸리주맵), MDX-1105, 및 MEDI4736 (두르발루맵), 및 MSB0010718C (아벨루맵). 항체 YW243.55.S70는 WO 2010/077634에 기술된 항-PD-L1 이다. MDX-1105 (또한 BMS-936559로 알려짐)은 WO2007/005874 에 기술된 항-PD-L1 항체이다. MEDI4736 (두르발루맵)은 WO2011/066389 및 US2013/034559에 기술된 항-PD-L1 단클론성 항체이다. 본 발명의 방법에 유용한 항-PD-L1 항체 및 이를 제조하기 위한 방법의 예시는 하기에 기술된다: PCT 특허 출원 WO 2010/077634, WO 2007/005874, WO 2011/066389, 미국 특허 번호 8,217,149, 및 US 2013/034559 (이의 내용이 본원에 참조로서 편입됨).

[0313] WO 2010/077634 A1 및 US 8,217,149에 기재된 항-PD-L1 항체가 본 명세서에서 기재된 방법에서 사용될 수 있다. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 서열 번호 3의 중쇄 가변 영역 서열 및/또는 서열 번호 4의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 또한 추가의 경우에서, 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 본원에서 제공되고, 여기서:

[0314] (a) 중쇄 서열은, 하기 중쇄 서열에 대한 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖고: 그리고

[0315] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYADSVKGRF

[0316] TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSS (서열 번호 3), 및

[0317] (b) 경쇄 서열은, 하기 경쇄 서열에 대한 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다:

[0318] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLLYSGVPSRFSGSGSGTD

[0319] FTLTISLQPEDFATYYCQYLYHPATFGQGTKEIKR (서열 번호 4).

[0320] 일 경우에서, 상기 항-PD-L1 항체는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서:

[0321] (a) HVR-H1 서열은 하기이다: GFTFSX₁SWIH (서열 번호 5);

- [0322] (b) HVR-H2 서열은 하기이다: AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (서열 번호 6);
- [0323] (c) HVR-H3 서열은 하기이다: RHWPGGFDY (서열 번호 7);
- [0324] 추가로, 상기 식 중에서, X₁은 D 또는 G이며; X₂는 S 또는 L이며; X₃은 T 또는 S이다. X₁는 D이며; X₂는 S이며, 그리고 X₃는 T이다. 또 다른 양태에서, 상기 폴리펩타이드는 하기 구조식에 따른 HVR들 사이에 병치된 가변 영역 중쇄 프레임워크 서열을 더 포함한다: (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4). 추가의 또 다른 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유도된다. 추가 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 상기 프레임워크 서열 중 적어도 하나는 하기와 같다:
- [0325] FR-H1: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (서열 번호 8)
- [0326] FR-H2: WVRQAPGKGLEWV (서열 번호 9)
- [0327] FR-H3: RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열 번호 10)
- [0328] FR-H4: WGQGTLLVTVSS (서열 번호 11).
- [0329] 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 폴리펩타이드는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3를 포함하는 가변 영역 경쇄와 추가로 조합되고, 여기서:
- [0330] (a) HVR-L1 서열은 하기이다: RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (서열 번호 12);
- [0331] (b) HVR-L2 서열은 하기이다: SASX₉LX₁₀S, (서열 번호 13);
- [0332] (c) HVR-L3 서열은 하기이다: QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T(서열 번호 14);
- [0333] 상기 식 중: X₄는 D 또는 V이며; X₅는 V 또는 I이며; X₆는 S 또는 N이며; X₇는 A 또는 F이며; X₈는 V 또는 L이며; X₉는 F 또는 T이며; X₁₀는 Y 또는 A이며; X₁₁는 Y, G, F, 또는 S이며; X₁₂는 L, Y, F 또는 W이며; X₁₃는 Y, N, A, T, G, F 또는 I이며; X₁₄는 H, V, P, T 또는 I이며; X₁₅는 A, W, R, P 또는 T이다. 또 다른 추가의 양태에서, X₄는 D이며; X₅는 V이며; X₆는 S이며; X₇는 A이며; X₈는 V이며; X₉는 F이며; X₁₀는 Y이며; X₁₁는 Y이며; X₁₂는 L이며; X₁₃는 Y이며; X₁₄는 H이며; X₁₅는 A이다.
- [0334] 또 다른 추가 양태에서, 경쇄는 하기 구조식에 따라 HVR들 사이에 병치된 가변 영역 중쇄 프레임워크 서열을 포함한다: (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4). 또 다른 추가의 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 상기 프레임워크 서열 중 적어도 하나는 하기와 같다:
- [0335] FR-L1: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC(서열 번호 15)
- [0336] FR-L2: WYQQKPGKAPKLLIY(서열 번호 16)
- [0337] FR-L3: GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC(서열 번호 17)
- [0338] FR-L4: FGQGTKVEIKR(서열 번호 18).
- [0339] 또 다른 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편이 제공되고, 여기서:
- [0340] (a) 상기 중쇄는 그리고 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3를 포함하고, 여기서 추가로:
- [0341] (i) HVR-H1 서열은 하기이다: GFTFSX₁SWIH; (서열 번호 5)
- [0342] (ii) HVR-H2 서열은 하기이다: AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (서열 번호 6)
- [0343] (iii) HVR-H3 서열은 하기이다: RHWPGGFDY (서열 번호 7)
- [0344] (b) 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3를 포함하고, 여기서 추가로:

[0345] (i) HVR-L1 서열은 하기이다: RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (서열 번호 12)

[0346] (ii) HVR-L2 서열은 하기이다: SASX₉LX₁₀S (서열 번호 13)

[0347] (iii) HVR-L3 서열은 하기이다: QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T; (서열 번호 14)

[0348] 상기 식 중: X₁은 D 또는 G이며; X₂는 S 또는 L이며; X₃는 T 또는 S이며; X₄는 D 또는 V이며; X₅는 V 또는 I이며; X₆는 S 또는 N이며; X₇는 A 또는 F이며; X₈는 V 또는 L이며; X₉는 F 또는 T이며; X₁₀는 Y 또는 A이며; X₁₁는 Y, G, F, 또는 S이며; X₁₂는 L, Y, F 또는 W이며; X₁₃는 Y, N, A, T, G, F 또는 I이며; X₁₄는 H, V, P, T 또는 I이며; X₁₅는 A, W, R, P 또는 T이다. 특정 양태에서, X₁는 D이며; X₂는 S이고, 그리고 X₃는 T이다. 또 다른 양태에서, X₄는 D이며; X₅는 V이며; X₆는 S이며; X₇는 A이며; X₈는 V이며; X₉는 F이며; X₁₀는 Y이며; X₁₁는 Y이며; X₁₂는 L이며; X₁₃는 Y이며; X₁₄는 H이며; X₁₅는 A이다. 추가의 또 다른 양태에서, X₁는 D이며; X₂는 S이고, 그리고 X₃는 T이며, X₄는 D이며; X₅는 V이며; X₆는 S이며; X₇는 A이며; X₈는 V이며; X₉는 F이며; X₁₀는 Y이며; X₁₁는 Y이며; X₁₂는 L이며; X₁₃는 Y이며; X₁₄는 H이고, 그리고 X₁₅는 A이다.

[0349] 추가 양태에서, 중쇄 가변 영역은 하기와 같이 HVR들 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하며: (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4), 그리고 경쇄 가변 영역은 하기와 같이 HVR들 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다: (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4). 또 다른 추가의 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카뱃 하위그룹 I, II, 또는 III 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 서열 번호 8, 9, 10 및 11로 제시된다. 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카뱃 카파 I, II, II, 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 서열 번호 15, 16, 17 및 18로 제시된다.

[0350] 추가의 특정 양태에서, 항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 또 다른 추가 양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 또 다른 추가 양태에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, 및 IgG3로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 추가 양태에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 항체는 감소되거나 최소의 효과기 작용을 갖는다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 최소의 효과기 작용은 "효과기-미만(effector-less) Fc 변형" 또는 탈글리코실화로부터 유발된다. 또 다른 추가 경우에서, 효과기-없는 Fc 돌연변이는 불변 영역에서 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0351] 추가의 또 다른 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서:

[0352] (a) 중쇄는 추가로 GFTFSDSWIH (서열 번호 19), AWISPYGGSTYYADSVKG (서열 번호 20) 및 RHWPGGFDY (서열 번호 21), 각각과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 포함하거나, 또는

[0353] (b) 경쇄는 추가로 RASQDVSTAVA (서열 번호 22), SASFLYS (서열 번호 23) 및 QQYLYHPAT (서열 번호 24), 각각과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3 서열을 포함한다.

[0354] 특정 양태에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.

[0355] 또 다른 양태에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)와 같이 HVR들 사이에 병치된 1종 이상의 프레임워크 서열을 포함하며, 그리고 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)와 같이 HVR들 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 추가의 또 다른 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카뱃 하위그룹 I, II, 또는 III 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 서열 번호 8, 9, 10 및 11로 제시된다. 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카뱃 카파 I, II, II, 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프

레이믹 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 서열 번호 15, 16, 17 및 18로 제시된다.

[0356] 추가 양태에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)와 같이 HVR들 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하며, 그리고 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)와 같이 HVR들 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 또 다른 추가의 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카뱃 하위그룹 I, II, 또는 III 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가 양태에서, 하나 이상의 중쇄 프레임워크 서열은 하기이다:

[0357] FR-H1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열 번호 27)

[0358] FR-H2 WVRQAPGKGLEWVA (서열 번호 28)

[0359] FR-H3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열 번호 10)

[0360] FR-H4 WGQGTLLTVSS (서열 번호 11).

[0361] 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카뱃 카파 I, II, II, 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가 양태에서, 하나 이상의 경쇄 프레임워크 서열은 하기이다:

[0362] FR-L1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (서열 번호 15)

[0363] FR-L2 WYQQKPGKAPKLLIY (서열 번호 16)

[0364] FR-L3 GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC (서열 번호 17)

[0365] FR-L4 FGQGTKVEIK (서열 번호 26).

[0366] 추가의 특정 양태에서, 항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 또 다른 추가 양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 또 다른 추가 양태에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, 및 IgG3로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 추가 양태에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 항체는 감소되거나 최소의 효과기 작용을 갖는다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 최소의 효과기 작용은 "효과기-미만 (effector-less) Fc 변형" 또는 탈글리코실화로부터 유발된다. 또 다른 추가 경우에서, 효과기-없는 Fc 돌연변이는 불변 영역에서 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0367] 추가의 또 다른 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서:

[0368] (c) 중쇄는 추가로 GFTFSDSWIH (서열 번호 19), AWISPYGGSTYYADSVKG (서열 번호 20) 및 RHWPGGFDY (서열 번호 21), 각각과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 포함하며, 그리고/또는

[0369] (d) 경쇄는 추가로 RASQDVSTAVA (서열 번호 22), SASFLYS (서열 번호 23) 및 QQYLYHPAT (서열 번호 24), 각각과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3 서열을 포함한다.

[0370] 특정 양태에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.

[0371] 또 다른 양태에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)와 같이 HVR들 사이에 병치된 1종 이상의 프레임워크 서열을 포함하며, 그리고 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)와 같이 HVR들 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 추가의 또 다른 양태에서, 상기 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카뱃 하위그룹 I, II, 또는 III 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 서열 번호 8, 9, 10, 및 WGQGTLLTVSSASTK (서열 번호 29)로 제시된다.

[0372] 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카뱃 카파 I, II, III, 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유도된다. 또 다른 추가 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 또 다른 추가의 양태에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 하나 이상은 서열 번호 15, 16, 17 및 18로 제시된다. 추가의 특정 양태에서,

항체는 인간 또는 무린 불변 영역을 추가로 포함한다. 또 다른 추가 양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 또 다른 추가 양태에서, 무린 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B, 및 IgG3로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 다른 추가 양태에서, 무린 불변 영역은 IgG2A이다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 항체는 감소되거나 최소의 효과기 작용을 갖는다. 또 다른 추가의 특정 양태에서, 최소의 효과기 작용은 "효과기-미만(effector-less) Fc 변형" 또는 탈글리코실화로부터 유발된다. 또 다른 추가 경우에서, 효과기-없는 Fc 돌연변이는 불변 영역에서 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0373] 또한 추가의 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 본원에서 제공되고, 여기서:

[0374] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄에 적어도 85% 서열 동일성을 가지며: 또는

[0375] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYADSVKGRF

[0376] TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSSASTK (서열 번호 25), 또는

[0377] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0378] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD

[0379] FTLTISSLQPEDFATYYCQYLYHPATFGQGTKVEIKR (서열 번호 4).

[0380] 일부 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서 상기 경쇄 가변 영역 서열은 서열 번호 4의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 일부 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서 상기 중쇄 가변 영역 서열은 서열 번호 25의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 일부 경우에서, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서 상기 경쇄 가변 영역 서열은 서열 번호 4의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 가지며, 그리고 상기 중쇄 가변 영역 서열은 서열 번호 25의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 일부 경우에서, 중쇄 및/또는 경쇄의 N-말단에서 1, 2, 3, 4 또는 5 아미노산 잔기가 결실, 치환 또는 변형될 수 있다.

[0381] 또한 추가의 경우에서, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 본원에서 제공되고, 여기서:

[0382] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄에 적어도 85% 서열 동일성을 가지며: 및/또는

[0383] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYADSVKGRF
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSK

[0384] RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 번호 30), 및/또는

[0385] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄에 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0386] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN

[0387] RGEC (서열 번호 31).

- [0388] 일부 경우에서, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서 상기 경쇄 서열은 서열 번호 31의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다. 일부 경우에서, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되며, 여기서 상기 중쇄 서열은 서열 번호 30의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다. 그리고 상기 중쇄 서열은 서열 번호 30의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다.
- [0389] 일부 경우에서, 단리된 항-PD-L1 항체는 탈글리코실화된다. 항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결이다. "N-연결됨"은 탄수화물 잔기가 아스파라긴 잔기의 측쇄에 결합하는 것을 말한다. 트리펩타이드 서열 아스파라긴-X-세린, 및 아스파라긴-X-트레오닌 (여기에서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다)은 아스파라긴 측쇄에 탄수화물 모이어티의 효소 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩타이드에서 이들 트리펩타이드 서열 중 하나의 존재는 잠재적 글리코실화 부위를 생성한다. O-연결된 글리코실화는 하이드록시아미노산, 가장 일반적으로는 세린 또는 트레오닌으로의 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토오스 또는 자일로스의 부착을 의미하지만, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신이 또한 사용될 수 있다. 항체에 글리코실화 부위 형태의 제거는, 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성되고, 이로써 (N-연결 글리코실화 부위에 대한) 상기-기재된 트리펩타이드 서열 중 하나가 제거된다. 글리코실화 부위 내에 아스파라긴, 세린 또는 트레오닌 잔기 또 다른 아미노산 잔기 (예를 들면, 글리신, 알라닌 또는 보존적 치환)의 치환에 의한 변경이 있을 수 있다.
- [0390] 본원에서의 경우 중 임의의 것에서, 상기 단리된 항-PD-L1 항체는 인간 PD-L1, UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q9NZQ7.1에 나타난 바와 같은 인간 PD-L1 또는 이의 변이체에 결합할 수 있다.
- [0391] 또한, 추가의 경우에서, 본원에 기술된 항체 중 임의의 것을 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 경우에서, 핵산은 추가로 이전에 기술된 항-PD-L1 항체 중 임의의 것을 암호화하는 핵산의 발현에 적절한 벡터를 포함한다. 또 다른 추가 특정 양태에서, 벡터는 핵산의 발현에 적절한 숙주 세포 내에 존재한다. 또 다른 추가 특정 양태에서, 숙주 세포는 진핵생물 세포 또는 원핵생물 세포이다. 또 다른 추가 특정 양태에서, 진핵생물 세포는 포유동물 세포, 예컨대 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포이다.
- [0392] 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 예를 들면, 하기 단계를 포함하는 공정에 의하여 본 분야에 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있다: 상기 항체 또는 단편을 생산하기에 적절한 조건 하에서 발현에 적절한 형태의, 이전에 기술된 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편 중 임의의 것을 암호화하는 핵산을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 항체 또는 단편을 회수하는 단계.
- [0393] 상기 경우 중 임의의 것에서 사용하기 위한, 본원에 기술된 PD-L1 측 결합 길항제 항체 (예컨대, 항-PD-L1 항체, 항-PD-1 항체, 및 항-PD-L2 항체), 또는 기타 항체는 하기 섹션 1-7에 기술된 특정 중 임의의 것을 단독으로, 또는 조합하여 가질 수 있다는 것이 명백하게 고려된다.
- [0394] 1. 항체 친화도
- [0395] 특정 경우에서, 본원에 제공된 항체 (예컨대, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예컨대 10^{-8} M 이하, 예를 들면 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들면 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다.
- [0396] 일 경우에서, K_d 는 방사표지된 항원 결합 검정(RIA)에 의해 측정된다. 일 경우에서, RIA는 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원으로 수행된다. 예를 들어, 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화성은 일련의 적정된 비표지된 항원의 존재하에 최소 농도의 (^{125}I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시키고 이어서 결합된 항원을 항-Fab 항체 코팅된 플레이트로 포획함에 의해 측정된다 (예를 들어, 참고: Chen 등, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). 검정 용 조건을 수립하기 위해, MICROTITER® 다중-웰 플레이트 (Thermo Scientific)는 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6)

에서 포획 항-Fab 항체 (Cappel Labs)의 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 밤새 코팅되고, 그리고 그 뒤에 2 내지 5 시간동안 실온 (대략 23°C)에서 PBS내 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비-흡착제 플레이트 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [^{125}I]-항원은 해당 Fab의 연속 희석으로 혼합된다 (예를 들면, Presta 등, *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)에서 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치함). 그 다음 해당 Fab는 밤새 항온처리되지만; 그러나, 항온처리는 평형이 달성됨을 확인하기 위해 더 오랜 기간 (예를 들면, 약 65 시간)동안 계속할 수 있다. 그 후에, 혼합물은 실온에서 (예를 들면, 1 시간 동안) 항온처리를 위해 포획 플레이트로 이동된다. 이어서, 상기 용액을 제거하고 플레이트는 PBS 중에서 0.1% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20®)으로 8회 세척하였다. 플레이트가 건조되어 있을 경우, 150 μl /웰의 발광제(scintillant; MICROSCINT-20™; Packard)를 첨가하고, 플레이트를 10 분간 탐카운트 감마(TOPCOUNT™ gamma) 카운터 (Packard) 상에서 계수하였다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도가 경쟁 결합 검정에서 사용하기 위해 선택된다.

[0397] 또 다른 경우에 따르면, K_d 는 BIACORE® 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 예를 들면, BIACORE®-2000 또는 BIACORE®-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 사용한 검정은 25°C에서 고정화된 항원 CM5 칩으로 ~10 반응 단위 (RU)로 수행한다. 일 경우에서, 카복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, BIACORE, Inc.)은 공급자의 설명서에 따라 *N*-에틸-*N'*-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 하이드로클로라이드 (EDC) 및 *N*-하이드록시석신이미드 (NHS)로 활성화된다. 항원은 pH 4.8, 10 mM 아세트산나트륨으로 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (~0.2 μM)까지 희석되고, 그 다음 5 μl /분의 유속으로 주입되어 커플링된 단백질의 대략 10 반응 단위 (RU)를 달성한다. 항원 주사 후, 1M 에탄올아민을 주사하여 미반응된 그룹을 차단시킨다. 역학적 측정을 위해, 2배 연속 희석된 Fab (0.78 nM 내지 500 nM)를 대략 25 μl /분의 유속으로 25°C에서 PBS 중에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20™) 계면활성제 (PBST)와 함께 사용한다. 결합 속도 (k_{on}) 및 해리 속도 (k_{off})를 결합 및 해리 센서그램의 동시 피팅(simultaneously fitting)에 의하여 단순한 일 대 일 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (BIACORE® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 산출하였다. 평형 해리 상수(K_d)는 k_{off}/k_{on} 비율로서 산출된다. 예를 들어, 하기를 참고한다: Chen 등, *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999). 만일 가역속도(on-rate)가 상기 표면 플라즈몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 를 초과하면, 분광기, 예컨대 정지-유동 구비된 분광광도계 (Aviv Instruments) 또는 교반된 큐벳을 갖춘 8000-시리즈 SLM-AMINCO™ 분광광도계 (ThermoSpectronic)에서 측정 시 항원의 증가 농도의 존재하에 25°C에서 pH 7.2, PBS내 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 형광 방출 세기 (여기 = 295nm; 방출 = 340nm, 16nm 대역통과)에서의 증가 또는 감소를 측정하는 형광성 켄칭 기술을 이용함으로써 가역 속도는 측정될 수 있다.

[0398] 2. 항체 단편

[0399] 특정 경우에서, 본 명세서에서 제공된 항체 (예를 들면, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 및 scFv 단편, 및 하기의 다른 단편을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해, 하기를 참고한다: Hudson 등 *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). scFv 단편의 검토를 위하여, 예를 들면, 다음을 참고하며: Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315, 1994; 또한 다음을 참고한다: WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458. 에피토프 잔기를 결합하는 회수 수용체를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 논의를 위해, 미국 특허 번호 5,869,046를 참고한다.

[0400] 디아바디는 2가 또는 이특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들면, 하기를 참조한다: EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson 등 *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger 등 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). 트리아바디 및 테트라바디는 또한 하기에 기술된다: Hudson 등 *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).

[0401] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 경우에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 참고: 예를 들면, 미국 특허 번호 6,248,516 B1)이다.

[0402] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같이 온전한 항체의 단백질 가수분해 소화 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포(예컨대, *이. 콜라이* 또는 *파지*)에 의한 생산을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 기술들로 제조될 수 있다.

[0403] 3. 키메라 및 인간화된 항체

[0404] 특정 경우에서, 본 명세서에서 제공된 항체 (예를 들면, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 키메라 항체이다. 특정 키메라성 항체는, 예를 들면 미국 특허 번호 4,816,567 및 Morrison 등 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)]에 기재되어 있다. 일 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역(예컨대, 마우스, 랫트, 햄스터, 토끼, 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이에서 유도된 가변 영역)과 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 친계 항체의 부류로부터 변화된 "부류 스위칭된(class-switched)" 항체이다. 키메라 항체는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0405] 특정 경우에서, 키메라 항체는 인간화된 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 인간화되어 인간에 대한 면역원성이 감소되어 있고 친계 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 보유한다. 일반적으로, 인간화 항체는, HVR, 예를 들면, CDR, (또는 그 일부)가 비인간 항체로부터 유도되고, FR (또는 그 일부)가 인간 항체 서열로부터 유도되는 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화된 항체는 임의로 또한 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함한다. 일부 경우에서, 인간화된 항체에서 일부 FR 잔기들은 예를 들어, 항체 특이성 또는 친화도를 복구하거나 개선시키기 위해 비-인간 항체 (예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체) 기원의 상응하는 잔기들로 치환된다.

[0406] 인간화 항체 및 이의 제조 방법은, 예를 들면, 하기에 고찰되고: Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008), 그리고 추가로 하기에 기재된다: 예를 들면, Riechmann 등, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; Kashmiri 등, *Methods* 36:25-34 (2005) (특이성 결정 영역 (SDR) 그래프팅 기재); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) ("재표면화" 기재); Dall'Acqua 등, *Methods* 36:43-60 (2005) ("FR 서플링" 기재); 및 Osbourn 등, *Methods* 36:61-68 (2005) 및 Klimka 등, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FR 서플링에 대한 "유도된 선택" 접근법을 기재함).

[0407] 인간화를 위해 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 하기를 비제한적으로 포함한다: "최적-피팅" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역 (참고: 예를 들어, Sims 등 *J. Immunol.* 151:2296 (1993)]; 특정 하위그룹의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (참고: 예를 들어, Carter 등 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta 등 *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)]; 인간 성숙(체세포적으로 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식계열 프레임워크 영역 (예를 들면, 참고: Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)]; 및 스크리닝 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역 (참고: 예를 들어, Baca 등, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok 등, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)].

[0408] 4. 인간 항체

[0409] 특정 경우에서, 본 명세서에서 제공된 항체 (예를 들면, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 인간 항체이다. 인간 항체는 당업계에 공지된 다양한 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 하기 문헌에 기재되어 있다: van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

[0410] 인간 항체는 항원 유발(antigenic challenge)에 응답하여 무손상 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 갖는 온전한 항체를 제조하도록 변형된 형질전환 동물에 면역원을 투여함으로써 제조될 수 있다. 상기 동물은 전형적으로 인간 면역글로불린 유전자좌 모두 또는 일부를 함유하는데, 이는 내인성 면역글로불린 유전자좌를 대체하거나, 염색체외에 존재하거나, 동물의 염색체에 무작위로 통합된다. 상기 형질전환 마우스에서, 내인성 면역글로불린 유전자좌는 일반적으로 불활성화되어 있다. 형질전환 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해, 하기를 참조한다: Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005). 또한, 예를 들어, 미국 특허 제6,075,181호 및 제 6,150,584호(XENOMOUSE™ 기술을 설명함); 미국 특허 제 5,770,429호(HUMAB® 기술을 설명함); 미국 특허 제 7,041,870호(K-M MOUSE® 기술을 설명함), 및 미국 특허 출원 공보 번호 US 2007/0061900(VELOCIMOUSE® 기술을 설명함)를 참고한다. 이와 같은 동물에 의해 생성된 온전한 항체의 인간 가변 영역은, 예컨대 상이한 인간 불변영역과 조합함으로써, 추가로 변형될 수 있다. 인간 항체는 또한 하이브리도마 기반 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0411] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 단클론성 항체의 제조를 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주가 기재되었다. (참고: 예를 들어, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur 등, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel

Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner 등, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)]. 인간 B 세포 하이브리도마 기술을 통해 제조된 인간 항체가 또한 다음 문헌에 기재되어 있다: Li 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). 추가의 방법은, 예를 들면, 미국 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터 단클론성 인간 IgM 항체의 생산 기재) 및 Ni, (*Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268, 2006) (인간-인간 하이브리도마 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 (Trioma technology)은 다음 문헌에 기재되어 있다: Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) and Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005).

[0412] 인간 항체는 또한 인간 유래된 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리시킴에 의해 생성될 수 있다. 상기 가변 도메인 서열은 이어서 목적하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하기 위한 기술은 하기에 기재되어 있다.

[0413] 5. 라이브러리-유래 항체

[0414] 본 발명의 항체(예컨대, 항-PD-L1 항체 및 항-PD-1 항체)는 목적하는 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝함으로써 단리될 수 있다. 예를 들면, 파아지 디스플레이 라이브러리를 생산하고 목적하는 결합 특징을 갖는 항체에 대해 이러한 라이브러리를 스크리닝하기 위한 각종 방법들이 당업계에 공지되어 있다. 그러한 방법은 하기에 검토되며: Hoogenboom 등 in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O' Brien 등, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001), 그리고 추가로 하기에 검토된다: 예를 들어, the McCafferty 등, *Nature* 348:552-554; Clackson 등, *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks 등, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu 등, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee 등, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee 등, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004).

[0415] 일부 파아지 디스플레이(phage display) 방법에서, VH 및 VL 유전자 레퍼토리는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 별도로 클로닝되고 파아지 라이브러리에서 무작위로 재조합되며, 이후 하기에 기술된 바와 같이 항원-결합 파아지에 대해 스크리닝될 수 있다: Winter 등, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994). 파아지는 전형적으로 단일쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로서 항체 단편을 디스플레이한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 작제할 필요 없이 면역원에 대한 고친화성 항체를 제공한다. 대안적으로, 단순 레퍼토리는 (예를 들면, 인간으로부터) 클로닝되어 하기에 기재된 바와 같이 임의의 면역화 없이 광범위한 비자가 및 또한 자가 항원에 항체의 단일 공급원을 제공할 수 있다: Griffiths 등, *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993). 최종적으로, 순수 라이브러리는 또한 줄기 세포로부터 재배열되지 않은 V-유전자 절편을 클로닝하고 고도의 가변성 CDR3 영역을 암호화하고 시험관내 재배열을 성취하기 위해 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함에 의해 합성적으로 제조될 수 있고, 이는 다음 문헌에 기재된 바와 같다: Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992). 인간 항체 파아지 라이브러리를 기재하는 특허 공보는 예를 들어, 하기의 문헌을 포함한다: 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360.

[0416] 인간 항체 라이브러리에서 단리된 항체 또는 항체 절편은 본원의 인간 항체 또는 인간 항체 절편으로 간주된다.

[0417] 임의의 하나의 상기 양태에서, 본원에 제공된 항체 (예컨대, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 다중특이적 항체, 예를 들어, 이중특이적 항체일 수 있다. 다중특이적 항체는 최소한 두 개의 상이한 자리에 대해 결합 특이성을 갖는 단클론성 항체이다. 특정 경우에서, 본 명세서에서 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들면 이중특이적 항체이다. 특정 경우에서, 결합 특이성들 중 하나는 PD-L1에 대한 것이고 다른 하나는 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 경우에서, 이중특이적 항체는 PD-L1 의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 PD-L1 를 발현하는 세포에 세포독성제를 국소화하는데 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로 제조될 수 있다.

[0418] 다중특이적 항체를 제조하기 위한 기술은 비제한적으로 하기를 포함한다: 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 공동-발현 (참고: Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)], WO 93/08829, 및 Traunecker 등, *EMBO J.* 10: 3655 (1991)], 및 "크롭-인-홀" 가공 (참고: 예를 들면, 미국 특허 번호 5,731,168). 다중 특이적 항체는 또한 하기와 같이 제조될 수 있다: 항체 Fc-이종이량체 분자를 제조하기 위한 정전기 스티어링 효과를 가공함에 의해 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교 결합시킴에 의

해 (참고: 예를 들면, 미국 특허 번호 4,676,980, 및 Brennan 등, *Science* 229: 81, 1985); 이중특이적 항체를 제조하기 위해 류신 지퍼를 사용함에 의해(참고: 예를 들어, Kostelny 등, *J. Immunol.* 148(5): 1547-1553 (1992)]; 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위해 "디아바디" 기술을 사용함에 의해 (참고: 예를 들어, Hollinger 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)]; 및 단일쇄 Fv(sFv) 이량체를 사용함에 의해 (참고: 예를 들어, Gruber 등, *J. Immunol.* 152:5368 (1994)]; 및 다음 문헌에 기재된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조함에 의해 (예를 들어, Tutt 등 *J. Immunol.* 147: 60 (1991)).

[0419] "옥토퍼스 항체(octopus antibody)"를 포함하는, 3개 이상의 기능성 항원 결합 부위를 갖는 가공된 항체는 또한 본원에 포함된다(문헌참조: 예를 들어 US 2006/0025576A1).

[0420] 본원에서 항체 또는 단편은 또한 PD-L1 및 또 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이원 작용 FAb" 또는 "DAF"를 포함한다.

[0421] 7. 항체 변이체

[0422] 특정 경우에서, 본 발명의 항체 (예를 들면, 항-PD-L1 항체 및 항-PD-1 항체)의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열로 적당한 변형을 도입하거나 펩타이드 합성에 의해 제조될 수 있다. 상기 변형은 예를 들어, 항체의 아미노산 서열내 잔기들로부터의 결실 및/또는 이들로의 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 결실, 삽입 및 치환의 어떠한 조합이 이루어져서 최종 작제물에 도달할 수 있는데, 단, 상기 최종 작제물은 바람직한 특징, 예컨대, 항원-결합을 갖는다.

[0423] I. 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0424] 특정 경우에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환적 돌연변이생성을 위한 목적 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 "바람직한 치환"의 제목하에 표 3에서 보여준다. 보다 실질적 변화는 "예시적 치환"의 표제하에 표 3에 제공되고, 추가로 아미노산 측쇄 부류를 참조로 하기에 기재된 바와 같다. 아미노산 치환이 관심 항체 내로 도입될 수 있고, 원하는 활성, 예를 들어, 유지된/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 개선된 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC) 또는 보체 의존적 독성 (CDC)에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0425] 표 3. 예시적이고 바람직한 아미노산 치환

본래 잔기	예시적 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0426]

[0427] 아미노산은 통상의 측쇄 성질에 따라 분류될 수 있다:

[0428] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0429] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0430] (3) 산성: Asp, Glu;

[0431] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0432] (5) 사슬 배향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;

[0433] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0434] 비보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0435] 치환형 변이체의 한 유형은 친계 항체(parent antibody) (예를 들면 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 초가변 영역 잔기의 치환을 포함한다. 일반적으로 추가의 연구를 위해 선택된 수득한 변이체(들)은 친계 항체와 비교하여 특정 생물학적 성질 (예를 들어, 증가된 친화도, 및/또는 감소된 면역원성)에서 변형(예를 들어, 개선)을 갖고/갖거나 상기 친계 항체의 특정 생물학적 성질을 실질적으로 보유한다. 예시적인 치환 변이체는, 예컨대, 본원에 기재된 것과 같은 파아지 디스플레이-기반의 친화도 성숙 기술을 사용하여, 간편하게 생성될 수 있는 친화도 성숙된 항체이다. 간단히, 하나 이상의 HVR 잔기는 돌연변이화되고 파아지에서 변이체 항체 표시되고 특정한 생물학적 활성 (예를 들면, 결합 친화도)에 대하여 스크리닝된다.

[0436] 변경(예컨대, 치환)은 HVR에서, 예컨대, 항체 친화도를 개선시키기 위해 이루어질 수 있다. 상기 변경은 HVR " 핫스팟(hot spot)," 즉, 체세포 성숙 공정 동안 높은 빈도로 돌연변이하는 코돈에 의해 암호화된 잔기 (참고: 예를 들면, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), 및/또는 항원과 접촉하는 잔기에서 이루어질 수 있으며, 이때 생성된 변이체 VH 또는 VL가 결합 친화도에 대하여 시험된다. 2차 라이브러리로부터 작제하고

재선택함에 의한 친화성 성숙화가 예를 들어, 다음 문헌에 기재되어 있다: Hoogenboom 등 in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O' Brien 등, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). 친화성 성숙화의 일부 경우에서, 다양성이 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류 발생 경향 PCR, 쇠 서플링 또는 올리고뉴클레오타이드 표지된 돌연변이유발)에 의한 성숙화를 위해 선택되는 가변 유전자에 도입된다. 이후 2차 라이브러리가 형성된다. 이후 라이브러리를 스크리닝하여 목적하는 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 식별한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지시된 접근법을 포함하며, 여기서 몇몇 HVR 잔기(예컨대, 한번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관련된 HVR 잔기는 특히, 예컨대, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발(alanine scanning mutagenesis) 또는 모델링을 사용하여 식별할 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 흔히 표적화된다.

[0437] 특정 경우에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 이러한 변경이 항체가 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한 하나 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변형 (예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에 수행될 수 있다. 상기 변경은, 예를 들면, HVR에서 항원 접촉 잔기의 외부일 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 경우에서, 각각의 HVR는 변경되지 않거나, 또는 하나 이상, 두 개 또는 세 개의 아미노산 치환을 함유하지 않는다.

[0438] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기들 또는 영역들의 식별을 위해 유용한 방법은 문헌 [Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불리운다. 상기 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기들 그룹 (예를 들어, Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu와 같은 하전된 잔기들)은 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 식별되고 대체되어 항체와 항원의 상호작용이 영향받는지 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 감도를 입증하는 아미노산 위치에서 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 항체와 항원 간의 접촉 지점을 식별하기 위한 항원-항체 복합체의 결정 구조. 상기 접촉 잔기 및 인접 잔기가 치환을 위한 후보물질로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 이들이 목적하는 특성을 함유하는지 계속하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0439] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기 내지 100개 이상 잔기를 함유하는 폴리펩타이드 길이 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열간 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 또 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩타이드 또는 (예컨대, ADEPT에 대한) 효소에 대한 항체의 N- 또는 C-말단에 융합을 포함한다.

[0440] II. 글리코실화 변이체

[0441] 특정 경우에서, 본 발명의 항체는 항체가 글리코실화된 정도를 증가시키거나 감소시키기 위해 변경될 수 있다. 본 발명의 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 하나 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 간편하게 달성될 수 있다.

[0442] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 대한 N-연결부에 의해 일반적으로 부착되는 분지형, 2분지형 올리고당을 포함한다. 예를 들면, 참고: Wright 등 *TIBTECH* 15:26-32 (1997). 올리고당은 다양한 탄수화물, 예를 들면, 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토오스, 및 시알산, 뿐만 아니라 2분지형 올리고당 구조의 "줄기(stem)"에서 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 특정한 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 생성하기 위해 본 발명의 항체에서 올리고당의 변형이 이루어질 수 있다.

[0443] 일 경우에서, Fc 영역에 (직접적으로 또는 간접적으로) 부착된 푸코오스가 부족한 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들면, 이러한 항체 중의 푸코오스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코오스의 양은, 예를 들어, WO 2008/077546에 기술된 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분광계에 의하여 측정 시, Asn 297에 부착된 모든 당구조(glycostructure) (예를 들어, 복합체, 혼성체 및 고 만노스 구조)의 총합과 비교하여, Asn297에서의 당 쇠 내의 푸코오스의 평균 양을 산출함으로써 측정될 수 있다. Asn297은 Fc 영역에서의 대략 위치 297 (Fc 영역 잔기의 Eu 넘버링)에 배치된 아스파라긴 잔기를 지칭하지만; 그러나, Asn297은, 항체내 작은 서열 변이로 인해, 위치 297의 약 ± 3 아미노산 업스트림 또는 다운스트림, 즉, 위치 294 와 300 사이에 또한 배치될 수 있다. 상기 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 작용을 가질 수 있다. 예를 들어, 하기를 참조한다: 미국 특허 공보 번호 US 2003/0157108, 및 US 2004/0093621. "탈푸코실화된" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공보의 예는 다음을 포함한다: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki 등 *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki 등 *Biotech.*

Bioeng. 87: 614 (2004). 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 하기를 포함한다: 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (Ripka 등 *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1; 및 WO 2004/056312 A1, Adams 등, 특허 실시예 11), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실전달효소 유전자, *FUT8*, 녹아웃 CHO 세포 (참고: 예를 들면, Yamane-Ohnuki 등 *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. 등, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); 및 WO2003/085107).

[0444] 항체 변이체는, 예를 들어 항체의 Fc 영역에 부착된 2분지 올리고당이 GlcNAc에 의해 이등분된, 이등분된 올리고당으로 추가적으로 제공된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 작용을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예는, 예를 들면, WO 2003/011878; 미국 특허 번호 6,602,684; 및 US 2005/0123546 에 기술된다. Fc 영역에 부착된 올리고당에 적어도 하나의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 상기 항체 변이체는 CDC 기능을 개선시킬 수 있다. 상기 항체 변이체는, 예를 들면, WO 1997/30087; WO 1998/58964; 및 WO 1999/22764에 기술된다.

[0445] *III. Fc 영역 변이체*

[0446] 특정 경우에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본 발명의 항체의 Fc 영역에 도입되어, Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. Fc 영역 변이체는 1종 이상의 아미노산 위치에 아미노산 변형 (예를 들면 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들면, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0447] 특정 경우에서, 본 발명은 모든 효과기 작용은 아니지만 일부 효과기 작용을 지니는 항체 변이체를 고려하며, 이 작용은 상기 항체 변이체를 *생체내* 항체 반감기가 중요하지만 특정 효과기 작용(예컨대 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 해로운 용도에 바람직한 후보로 만든다. *시험관내* 및/또는 *생체내* 세포독성 검정은 CDC 및/또는 ADCC 활성의 경감/고갈을 식별하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들면, Fc 수용체(FcR) 결합 검정은 항체가 Fc γ R 결합은 결핍되지만(따라서 ADCC 활성이 결핍될 것 같음), FcRn 결합 능력을 보유하도록 보장하기 위해 수행될 수 있다. ADCC, NK 세포 매개용 1차 세포는 Fc γ RIII 만을 발현하고, 반면에 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포상의 FcR 발현은 다음 문헌의 464 페이지 상의 표 3에 요약되어 있다: Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991). 해당 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 *시험관내* 검정의 비제한적인 예는 하기에 기재된다: 미국 특허 번호 5,500,362 (참고: 예를 들면 Hellstrom, I. 등 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)] 및 Hellstrom, I 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 미국 특허 번호 5,821,337 (참고: Bruggemann, M. 등, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)]. 대안적으로, 하기와 같은 비-방사능활성 검정 방법이 사용될 수 있다: 예를 들어, 유동 세포측정을 위한 ACTI™ 비-방사능활성 세포독성 검정 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; 및 CYTOTOX 96® 비 방사성 세포독성 검정 (Promega, Madison, WI)]. 이러한 검정을 위한 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 살해 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 예를 들면, 문헌 [Clynes 등 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)]에 기술된 바와 같은 동물 모델에서와 같이 *생체내* 평가된다. C1q 결합 검정은 또한 항체가 C1q를 결합할 수 없음에 따라서 CDC 활성이 부재임을 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들면, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참고한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 검정이 수행될 수 있다 (참고: 예를 들어, Gazzano-Santoro 등, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg 등, *Blood*. 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg 등, *Blood*. 103:2738-2743 (2004)]. FcRn 결합 및 *생체내* 제거/반감기 측정은 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다 (참고: 예를 들어, Petkova, 등 *Int' l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)].

[0448] 감소된 효과기 기능을 가진 항체는 하나 이상의 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329의 치환을 갖는 것들을 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056 및 8,219,149). 상기 Fc 돌연변이체는, 알라닌에 대하여 잔기 265 및 297의 치환을 갖는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하여, 2 이상의 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581 및 8,219,149).

[0449] FcR로의 개선되거나 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 하기 참고: 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 Shields 등, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)).

[0450] 특정 경우에서, 항체 변이체는 ADCC를 개선시키는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들어, Fc 영역의 위치 298, 333, 및/또는 334에서의 치환(잔기들의 EU 넘버링)을 갖는 Fc 영역을 포함한다.

[0451] 일부 경우에서, 변경은 예를 들어 문헌 [미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642, 및 Idusogie 등 *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)]에 기술된 바와 같이, 변경된 (즉, 개선되거나 감소된) C1q 결합 및/또는 보체의존적 세

포도성 (CDC)을 유발하는 Fc 영역 내에서 제조된다.

[0452] 증가된 반감기 및 태아로의 모체 IgG의 이동에 원인으로 작용하는, 신생아 Fc 수용체 (FcRn)로의 개선된 결합을 갖는 항체 (Guyer 등, *J. Immunol.* 117:587 (1976) 및 Kim 등, *J. Immunol.* 24:249 (1994)]가 US2005/0014934A1 (Hinton 등)에 기재된다. 상기 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선하는 상기 내 하나 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 상기 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 하나 이상에서 치환, 예를 들면, Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826).

[0453] Fc 영역 변이체의 다른 예에 관하여 또한 하기를 참고한다: Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351.

[0454] IV. 시스템인 조작된 항체 변이체

[0455] 특정 경우에서, 시스템인이 조작된 항체, 예컨대, "thioMAbs"(항체의 하나 이상의 잔기가 시스템인 잔기로 치환된 것임)를 형성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정 경우에서, 치환된 잔기는 항체의 접근 가능한 부위에서 발생한다. 상기 잔기를 시스템인으로 치환시킴으로써, 이에 의해 반응성 티올기는 항체의 접근가능한 부위에 배치되고, 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 중간체에 대해 항체를 접합시키는데 사용되어, 본원에서 추가로 기재된 면역접합체를 제조할 수 있다. 특정 경우에서, 경쇄의 V205 (카밧 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링)의 잔기들 중 임의의 하나 이상은 시스템인으로 치환될 수 있다. 시스템인 가공된 항체는, 예를 들면, 미국 특허 제7,521,541호에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.

[0456] V. 항체 유도체

[0457] 특정 경우에서, 본원에 제공된 항체는 당업계에 공지되어 있고 쉽게 이용 가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화를 위해 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 수용성 중합체의 비제한적 예에는, 비제한적으로, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 코중합체, 카복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 코중합체, 폴리아미노산(호모중합체 또는 랜덤 코중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 호모중합체, 프롤리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 코중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올(예컨대, 글리세롤), 폴리비닐 알코올 및 이들의 혼합물이 포함된다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데하이드는 수중 안정성 때문에 제조시 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 그리고 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 상기 항체에 부착된 중합체 개수는 다양할 수 있는데, 둘 이상의 중합체가 부착되는 경우, 이들은 동일하거나 또는 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선시키고자 하는 항체의 특별한 특성이나 기능, 항체 유도체가 정의된 조건하에서 치료법에서 사용될 것인지 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 고려사항들을 기준으로 하여 결정될 수 있다.

[0458] 또 다른 경우에서, 방사선에 노출에 의해 임의로 가열될 수 있는 비단백질성 모이어티 및 항체의 접합체가 제공된다. 일 경우에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (참고: Kam 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 파장일 수 있으며, 보통의 세포에는 유해하지 않지만 비단백질성 모이어티를 항체-비단백질성 모이어티에 근접한 세포가 사멸하는 온도로 가열시키는 파장을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0459] VI. 면역접합체

[0460] 본 발명은 또한 하나 이상의 세포독성제, 예컨대 화학치료제 또는 약물, 성장 억제성 제제, 독소 (예를 들면, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물, 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소, 또는 그 단편), 또는 방사성 동위원소에 접합되는 본원의 항체 (예컨대, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0461] 일 경우에서, 면역접합체는 항체가 비제한적으로 하기를 포함하는 하나 이상 상의 약물에 접합되는 항체-약물 접합체 (ADC)이다: 메이탄시노이드(미국 특허 제5,208,020호, 제5,416,064호 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1); 아우리스타틴, 예컨대 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF(MMAE 및 MMAF)(미국 특허 제5,635,483호 및 제5,780,588호, 및 제7,498,298호 참조); 돌라스타틴; 칼리케아미신 또는 이것의 유도체(미국 특허 제5,712,374호, 제5,714,586호, 제5,739,116호, 제5,767,285호, 제5,770,701호, 제5,770,710호, 제5,773,001호, 및 제5,877,296호; Hinman 등, *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); 및 Lode 등, *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998) 참조); 안트라사이클린, 예컨대 다우노마이신 또는 독소루비신 (참고: Kratz 등, *Current Med. Chem.*

13:477-523 (2006); Jeffrey 등, *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov 등, *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik 등, *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King 등, *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002); 및 미국 특허 번호 6,630,579); 메토트렉세이트; 빈데신; 탁산 예컨대 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀, 및 오르타탁셀; 트리코테센; 및 CC1065.

[0462] 또 다른 경우에서, 면역접합체는 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, (슈도모나스 에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래) 외독소 A 쇄, 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모텍신 A 쇄, 알파-사르신, 유동(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 미국 자리공(*Phytolacca americana*) 단백질(PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*Momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(*Saponaire officinalis*) 억제제, 젤로닌, 미토젤린, 레스트락토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테센을 포함하지만 이에 제한되지 않는 효소 활성 독소 또는 이의 단편에 접합된 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다.

[0463] 또 다른 경우에서, 면역접합체는 본원에 기술된 바와 같이, 방사성 원자에 접합되어 방사선 접합체를 형성하는 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위원소가 방사선 접합체의 생산을 위해 사용가능하다. 예시는 At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 방사성접합체가 검출을 위해 사용되는 경우, 이것은 신티그래프 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들면 tc99m 또는 I123, 또는 핵자기 공명(NMR) 영상화(자기 공명 영상화, mri로도 공지됨)를 위한 스핀 표지, 예를 들면, 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 불소-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망간 또는 철을 포함할 수 있다. 항체 및 세포독성제의 접합체는 다양한 이작용성 단백질 커플링제, 예를 들면, N-석신이미딜-3-(2-피리디리티오) 프로피오네이트(SPDP), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이작용성 유도체(예를 들면, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르(예를 들면, 디석신이미딜 수베레이트), 알데히드(예를 들면, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물(예를 들면, 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체(예를 들면, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트(예를 들면, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 불소 화합물(예를 들면, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌 [Vitetta 등, *Science* 238:1098 (1987)]에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트-3-메틸티에틸렌 트리아민펜타아세트산(MX-DTPA)이 항체에의 방사성 뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이트제이다. W094/11026을 참고한다. 상기 링커는 상기 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "분할될 수 있는 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정 링커, 펩티다아제-민감성 링커, 광불안정성 링커, 디메틸 링커 또는 이황화물-함유 링커 (Chari 등, *Cancer Res.* 52: 127-131 (1992); 미국 특허 제5,208,020호)가 사용될 수 있다.

[0464] 본원의 면역접합체 또는 ADC는 본원에서 명백히 고안되는데, 비제한적으로 이와 같은 접합체는 가교결합 시약, 비제한적으로, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC 및 술포-SMPB 및 SVSB (숙신이미딜-(4-비닐술포)벤조에이트)(예컨대, Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A에서 상업적으로 확보 가능함)으로 제조된다.

[0465] V. 약제학적 제형

[0466] 본 발명에 따라 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제의 치료적 제형 [예컨대, 항-PD-L1 항체 (예컨대, MPDL3280A)]은 동결건조된 제형 또는 수용액 형태로 원하는 정도의 순도를 갖는 길항제를 선택적인 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제와 혼합하여 보관을 위해 제조된다. 제형에 관한 일반적인 정보에 대해서는, 예를 들어, 하기를 참고한다: Gilman 등 (eds.) *The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8판, Pergamon Press, 1990; A. Gennaro (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18판, Mack Publishing Co., Pennsylvania, 1990; Avis 등 (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications* Dekker, New York, 1993; Lieberman 등 (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* Dekker, New York, 1990; Lieberman 등 (eds.), *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems* Dekker, New York, 1990; 및 Walters (ed.) *Dermatological and Transdermal Formulations* (Drugs and the Pharmaceutical Sciences), Vol 119, Marcel Dekker, 2002.

[0467] 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 투여량 및 농도에서 수형체에 비독성이며, 버퍼, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실

디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 주기로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당류, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 짝이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물(예를 들면, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN™, PLURONICS™, 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이 포함된다.

[0468] 본원에서 제형은 또한 1 초과와 활성 화합물, 바람직하게는 서로 부정적으로 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 그와 같은 약제의 유형 및 유효량은, 예를 들면 제형에 존재하는 길항제의 양 및 유형, 그리고 피험체의 임상 파라미터에 의존한다.

[0469] 활성 성분은 또한, 예를 들어, 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어, 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐, 각각에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 미소구체, 마이크로에멀전, 나노-입자 및 나노캡슐)에 또는 매크로에멀전에 포집될 수 있다. 상기 기술은 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16판, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0470] 서방형 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적당한 예에는 길항제를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스가 포함되며, 이 매트릭스는 형상화된 물품, 예를 들면, 필름, 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 하기를 포함한다: 폴리에스테르, 하이드로겔 (예를 들면, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알코올)], 폴리락타이드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산과 γ 에틸-L-글루타미드의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들어, LUPRON DEPOT™ (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사가능한 미소구), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산.

[0471] 생체내 투여를 위해 사용될 제형은 멸균되어야 한다. 이는 멸균된 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0472] 상기 제조 물품 중 임의의 것은 PD-L1 축 결합 길항제 대신에 또는 이에 추가로 본원에 기술된 면역접합체를 포함할 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0473] VI. 진단성 키트 및 제조 물품

[0474] 개체 유래의 샘플 (예컨대, 포르말린-고정된 및 파라핀-포매된 (FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 새로운 종양 샘플, 또는 동결 종양 샘플)로부터, 본원에 기술된 바와 같이, 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 스코어를 계속함으로써, 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 수 있는, 암 예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종을 갖는 개체를 식별하기 위한 하나 이상의 시약을 포함하는 진단 키트가 본원에 제공된다.

[0475] 선택적으로, 본 키트는 개체의 샘플로부터 수득된 tTMB 스코어가 참조 tTMB 스코어 이상인 경우, 암 [예를 들어, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암 (예를 들어, UC), 신장암 (예를 들어, RCC), 유방암 (예를 들어, TNBC), 또는 흑색종]을 치료하기 위한 약제 (예를 들어, 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, MPDL3280A)를 선택하기 위해 키트를 사용하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 설명서는, 개체의 샘플로부터 수득된 tTMB 스코어가 참조 tTMB 스코어 미만인 경우, 면역 관문 억제제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 이외에, 또는 상기에 부가하여 항암 요법을 선택하기 위해 키트를 사용하기 위한 것이다.

[0476] 일부 경우에서, 키트는, 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 갖는 개체 또는 환자 유래의 샘플에서 체세포 돌연변이의 존재를 계속하기 위한 하나 이상의 시약을 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 샘플 내 체세포 돌연변이의 존재는 개체가 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제로 처리될 때 효능의 보다 높은 가능성을 나타낸다. 일부 경우에서, 샘플 내 체세포 돌연변이의 부재는 질환을 갖는 개체가 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제로 처리될 때 효능의 보다 낮은 가능성을 나타낸다. 진단 키트는 또한 질환 또는 장애 (예를 들면, 비-소세포 폐암을 포함한, 암)를 가진 개체 또는 환자로부터 샘플에서 바이오마커의 존재 (예를 들면, 종양 세포 내에서, 그리고/또는 중

양-침윤 면역 세포 내에서, 예를 들면, PD-L1 발현 수준) 측정하기 위한 하나 이상의 시약을 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 샘플 내 바이오마커의 존재는 개체가 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제로 처리될 때 효능의 보다 높은 가능성을 나타낸다. 일부 경우에서, 샘플 내 바이오마커의 부재는 질환을 갖는 개체가 면역 관문 억제제, 예컨대 PD-L1 축 결합 길항제로 처리될 때 효능의 보다 낮은 가능성을 나타낸다. 선택적으로, 키트는, 개체가 샘플 내 체세포 돌연변이를 가질 경우, 질환 또는 장애를 치료하기 위하여 약제 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제, 예컨대, 항-PD-L1 항체, 예컨대, 아테졸리주맙 (MPDL3280A)]를 선택하기 위한 키트를 사용하는 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 기타 경우에서, 설명서는, 개체가 샘플 내에 바이오마커를 발현하지 않으면 면역 관문 억제제 (예컨대, PD-L1 축 결합 길항제) 이외의 약제를 선택하기 위해 키트를 사용하기 위한 것이다.

[0477] 약제학적으로 허용가능한 담체, 및 PD-L1 축 결합 길항제 (예컨대, 항-PD-L1 항체)가, 체세포 돌연변이의 측정한 tTMB 스코어/존재를 기준으로 하여 암 [예컨대, 폐암 (예컨대, NSCLC), 방광암 (예컨대, UC), 신장암 (예컨대, RCC), 유방암 (예컨대, TNBC), 또는 흑색종]을 갖는 환자를 치료하기 위한 것이라는 것을 표지하는, 패키지 삽입물에서, PD-L1 축 결합 길항제 (예컨대, 항-PD-L1 항체)와 함께 포장된 상태로 포함하는, 제조물품이 또한 본원에 제공된다. 치료 방법은 본 명세서에서 개시된 임의의 치료 방법을 포함한다. 본 발명은 또한 패키지 내에서 PD-L1 축 결합 길항제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체)를 포함하는 약제학적 조성물과, 약제학적 조성물이 결정된 tTMB 스코어/체세포 돌연변이 (예를 들어, 표 1 및/또는 표 2에 열거된 유전자에서, 예를 들어, 중앙 세포에서 체세포 돌연변이)의 존재를 기준으로 하여 암 환자를 치료하기 위한 것임을 나타내는 패키지 삽입물을 조합하는 단계를 포함하는 제조 물품의 제조 방법에 관한 것이다.

[0478] 제조물품은 예를 들어 용기 및 용기상에 또는 이와 관련하여 표지 또는 패키지 삽입물을 포함할 수 있다. 적절한 용기는, 예를 들어, 병, 바이알, 시린지, 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로부터 형성될 수 있다. 상기 용기는 활성 제제로서 암 약제를 포함하는 조성물을 함유하고, 멸균 접근 포트를 가질 수도 있다(예를 들어, 상기 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사바늘로 뚫을 수 있는 마개가 있는 바이알일 수 있다).

[0479] 제조물품은 약제학적으로 허용가능한 희석 완충용액, 예컨대 정균처리한 주사용수(BWFI), 인산-완충용액 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 2차 용기를 추가로 포함할 수 있다. 상기 제조물품은 상업적으로 그리고 사용자 입장에서 목적 기타 재료들, 예를 들면 기타 완충제, 희석제, 여과제, 니들 및 주사기를 추가로 포함할 수 있다.

[0480] 본 발명의 제조 물품은 또한, 예를 들어, 조성물이 본원에서 개체의 tTMB 스코어 (예를 들어, 체세포 돌연변이 (들)의 존재)를 기준으로 하고/하거나 상이한 바이오마커의 발현(예를 들어, 예를 들어, 중앙 세포 및/또는 중앙 침윤성 면역 세포에서의 PD-L1 발현 수준)를 기준으로 하여 암을 치료하는 데 사용된다는 것을 나타내는 패키지 삽입물의 형태의 정보를 포함한다. 삽입물 또는 표지는 어떤 형태든 취할 수 있는데, 예컨대 종이 또는 전자매체, 예컨대 자석으로 기록된 매체(예컨대, 플로피 디스크) CD-ROM, 유니버설 시리얼 버스 (USB), 플래시 드라이브, 등이 포함된다. 표지 또는 삽입물은 키트 또는 제조물품에 또한 상기 약제학적 조성물 및 투여 형태와 관련된 기타 정보를 포함할 수 있다.

[0481] **실시예**

[0482] **실시예 1: 방법**

[0483] 중앙 조직 샘플에서 검출된 체세포 돌연변이의 수준(예를 들어, 조직 중앙 돌연변이 부하(tTMB)로서 지칭되기도 하는 돌연변이 부하), 및 PD-L1 발현과 비-소세포 폐암 (NSCLC) 중앙에서 PD-L1 축 결합 길항제에 의한 치료에 대한 그들의 독립적인 기여도 간의 상관관계가 평가되었다. PD-L1 축-결합 길항제 (항-PD-L1 항체)인 아테졸리주맙 (MPDL3280A)에 의한 치료에 대한 반응은, 아테졸리주맙이 단일요법으로서 투여된 II 상 및 III 상 임상 시험에 등록된 환자에서 관찰되었다. 이들 임상 시험은 표 4 및 표 5에 요약된다.

[0484] **연구 설계**

[0485] 아테졸리주맙이 단일요법으로서 투여된 3개의 II 상 임상 시험(BIRCH, FIR 및 POPLAR; 표 4 및 5) 중 하나에 등록된 465명의 2L+ NSCLC 환자의 사전-치료 중앙 시료를, 조직 중앙 돌연변이 부하 (tTMB)에 대해 평가했다. 1L NSCLC 환자의 중앙 시료도 또한 BIRCH 및 FIR 연구에서 평가했다.

[0486] BIRCH (임상 시험 ID 번호: NCT02031458) 환자 집단 (tTMB에 대하여 평가됨)는, 아테졸리주맙 치료를 받지 않았던 2명의 환자를 포함한 340명의 환자로 이루어졌다. BIRCH 집단의 효능 분석은 이들 2명의 치료되지 않은 환자를 배제했다. 환자는, 국소 진행성 또는 전이성 (예를 들어, 단계 IIIB, 단계 IV 또는 재발성) NSCLC; 중앙 침

윤성 면역 세포(IC) 및/또는 종양 세포(TC)에서 PD-L1 발현을 기준으로 하는 면역조직화학(IHC) 검정에 의해 계측된 PD-L1-양성 종양 상태; RECIST v1.1에 의해 정의된 측정가능한 질환; 및 동부 종양학 협력 그룹(Eastern Cooperative Oncology Group; ECOG) 활동도 0 또는 1인 경우, BIRCH 연구에 등록할 자격이 있었다. 환자가 임상적 이점을 경험한 이상, 즉, 질환 진행에 기인하는 허용될 수 없는 독성 또는 증상의 악화가 없는 이상, 환자는 3주마다 아테졸리주맙을 1200mg의 용량으로 정맥내 투여받았다.

[0487] FIR (임상 시험 ID 번호: NCT01846416) 환자 집단(tTMB에 대해 평가됨)은, 33명의 환자로 구성되었다. 환자는, 단계 IIIB(예를 들어, 결정적 화학방사선요법에 의한 치료에 적합하지 않음), 단계 IV, 또는 재발성 NSCLC; IHC 검정에 의해 계측된 PD-L1-양성 상태; 0 또는 1의 ECOG 활동도; 기대 수명 ≥ 12 주; RECIST v1.1에 의해 정의된 측정가능한 질환; 및 적절한 혈액학적 및 말기 장기 기능을 갖는 경우, FIR 연구에 등록할 자격이 있었다. 환자는 질환 진행까지 각 21일 주기의 1일째에 1200mg 아테졸리주맙의 정맥내 용량을 투여했다.

[0488] POPLAR (임상 시험 ID 번호: NCT01903993) 환자 (tTMB에 대하여 평가됨)는, 어떠한 연구 치료도 받지 않았던 3명의 환자를 포함한 92명의 환자로 이루어졌다. 환자들은, 국소적 진행성 또는 전이성 (예컨대, 단계 IIIB, 단계 IV, 또는 재발성) NSCLC; 국소적 진행성, 절제불가능/실시불가능성, 또는 전이성의 NSCLC에 대한 사전 백금-함유 요법으로의 치료 동안, 또는 치료 후의 질환 진행, 또는 백금-기반 아쥬반트/네오아쥬반트 요법으로의 6개월 치료 이내의 질환 재발; RECIST v1.1에 의하여 정의된 측정가능 질환; 0 또는 1의 ECOG 수행 상태를 가질 경우, POPLAR 연구에서의 등록에 대하여 적합하였다. 참가자들은 무작위로 3주마다 1200mg 용량의 아테졸리주맙을 정맥내로 투여받거나, 또는 3주마다 1 제곱미터당 도세탁셀 75mg (mg/m^2)을 정맥내로 투여받았다. 아테졸리주맙에 의한 치료는 참가자가 임상적 이점을 경험한 이상, 즉 질환 진행에 기인하는 허용될 수 없는 독성 또는 증상의 악화가 없는 이상 계속될 수 있었다. III 상 OAK 시험 (임상 시험 ID 번호: NCT02008227)에서의 환자 유래의 사전-치료 종양 샘플도, 또한 tTMB에 대하여 평가되었다. 환자들은, 국소적 진행성 또는 전이성 (예컨대, 단계 IIIB, 단계 IV, 또는 재발성) NSCLC; 국소적 진행성, 절제불가능/실시불가능성 또는 전이성 NSCLC에 대한 사전 백금-함유 요법으로의 치료 동안 또는 치료 후의 질환 진행, 또는 백금-기반 아쥬반트/네오아쥬반트 요법으로의 6개월 치료 이내의 질환 재발; RECIST v1.1에 의하여 정의된 측정가능 질환; 0 또는 1의 ECOG 수행 상태를 가질 경우, OAK 연구에서의 등록에 대하여 적합하였다. 참가자들은 무작위로 3주마다 1200mg 용량의 아테졸리주맙을 정맥내로 투여받거나, 또는 3주마다 1제곱미터당 도세탁셀 75mg (mg/m^2)을 정맥내로 투여받았다. 아테졸리주맙에 의한 치료는 참가자가 임상적 이점을 경험한 이상, 즉 질환 진행에 기인하는 허용될 수 없는 독성 또는 증상의 악화가 없는 이상 계속될 수 있었다.

[0489] 이들 4개 임상 시험들은 하기 표 4에 요약되어 있다. 3개의 II 상 시험의 효능 결과는 하기 표 5에 요약되어 있다. 단일-아암, PD-L1-선택 시험인 BIRCH 및 FIR로부터의 데이터를 조합하고 분석하여, PD-L1-선택 환자들 사이에서 tTMB와 임상 결과 사이의 연관성을 조사했다. 무작위화된 PD-L1-비선택 시험인 POPLAR로부터의 데이터를 별도로 분석하고, 아테졸리주맙- 및 도세탁셀-치료 아암 사이의 치료 효과들을 비교했다.

[0490] 표 4. NSCLC에서의 아테졸리주맙 시험

임상 시험	연구 설계	환자 집단
BIRCH (NCT02031458)	II 상, 단일-아암	· PD-L1-선택됨 (바이오마커-평가가능 집단 (BEP)), n = 340 · 코호트 2 (C2): 1회 사전 백금 화학요법을 수용한 2L 환자 · 코호트 3 (C3): 2회 이상(≥)의 사전 화학요법 (1회 백금 요법을 포함함)을 수용한 3L+ 환자
FIR (NCT01846416)	II 상, 단일-아암	· PD-L1-선택됨 (BEP, n = 33) · 코호트 2 (C2): 뇌 전이가 없는 2L 환자
POPLAR (NCT01903993)	II 상, 무작위 아테졸리주맙 대 도세탁셀	· 모든 방문객 (BEP, n = 92) · 1 또는 2회 사전 백금 요법을 수용한 2L 또는 3L 환자
OAK (NCT02008227)	III 상, 무작위 아테졸리주맙 대 도세탁셀	· 국소 진행성 또는 전이성 NSCLC; 국소 진행성, 절제불가능/수술불가능 또는 전이성 NSCLC에 대한, 사전의 백금-함유 요법에 의한 치료 동안의, 또는 치료 후의 질환 진행, 또는 백금계 아쥬반트/네오아쥬반트 요법에 의한 치료 6개월 이내의 질환 재발

[0491]

[0492] 표 5. 이 연구에 사용된 NSCLC에서의 II 상 아테졸리주맙 시험의 효능 결과

임상 시험	효능 결과		
	ORR	PFS HR (95% CI) ^a	OS HR (95% CI) ^a
BIRCH (C2+C3) + FIR (C2)			
BEP (n = 371)	19%	NE	NE
ITT (n = 613)	19%	NE	NE
POPLAR (아테졸리주맙 아암 대 도세탁셀 아암)			
BEP (n = 54 대 38)	13% 대 15%	0.98 (0.63, 1.53)	0.65 (0.38, 1.12)
ITT (n = 144 대 143)	15% 대 15%	0.92 (0.71, 1.20)	0.69 (0.49, 0.98)
BEP, 바이오마커-평가가능 집단; ITT, 치료 의도; HR, 위험 비율; NE, 평가할 수 없음; OS, 전체 생존; PFS, 무진행 생존; ORR, 전체 반응 속도. ^a 비조정 및 비성충 HR.			

[0493]

[0494] 조직 종양 돌연변이 부하 (tTMB) 분석

[0495] 체세포 돌연변이를 식별하기 위해, 종양 샘플 (예를 들어, 보관 종양 샘플)을 문헌(참조: Frampton 등 *Nat. Biotechnol.* 31:1023-31, 2013)에 기재된 바와 같이 처리했다. 샘플을 서열분석하고 분석하기 위해, 서열분석 라이브러리를 작성하였다. 표준 돌연변이 처리 이외에, 각각 표 1 또는 표 2에서 검출된 체세포 돌연변이 및/또는 재배열의 수를 기준으로 하여, 전체로서의 엑솜 또는 게놈을 추정하는 돌연변이 부하 추정 알고리즘이 적용되었다. 돌연변이 부하 추정을 위해, 표 1 및 표 2에 열거된 유전자에서 검출된 모든 암호화 짧은 변이체 변경, 염기 치환, 및 삽입-결실(indel)을 계수했다. 또한, 표 1 및 표 2에 열거된 유전자에서 공지된 종양발생 유발 돌연변이를 제외하고, 동의 변경을 포함하는 모든 암호화 변경 (염기 치환 및 삽입-결실(indel))을 계수했다. 그러나, 하기와 같은 수많은 부류의 검출된 변경이 계수되지 않았다: 비-암호화 변경; 공지되고 (COSMIC 데이터베이스 (Forbes 등 (2014) *Nucl. Acids Res.* 43:D805-11)에서 공지된 체세포 변경으로 나타난 것들) 그리고 (종양 억제인자 유전자에서 절단) 가능성이 높은 기능적 상태를 변경; dbSNP 데이터베이스 (Sherry 등 (2001) *Nucleic Acids Res.* 29(1):308-11)에서 공지된 생식계열 변경; ExAC 데이터베이스 (Exome Aggregation Consortium (ExAC), Cambridge, MA)에서 2개 이상의 계수로 발생하는 생식계열 변경; 평가되는 시료에서 생식계

열인 것으로 예측되는 변경; 및 60,000개 초과(>)의 임상 시료의 코호트에서 생식계열인 것으로 예측되는 변경. 마지막으로, 메가염기당 돌연변이 부하를 산출하기 위해, 계수된 돌연변이의 총 수를 시험의 암호화 영역 표적 영역으로 나누었고, 이는 현재 버전의 시험에 대해 1.110 메가 염기(Mb)였다. 모든 시료에 대한 평균 적용범위 중앙값은 490이었다.

[0496] BEP는 기준선 종양 샘플로부터의 적어도 하나의 tTMB 측정치를 갖는 환자로서 정의되었다. 종양은 그들의 돌연변이 부하(예를 들어, 돌연변이 부하)에 기초하는 사분위수 하위 그룹으로 분류되었다. 25% 사분위수는 분석된 집단에서 모든 tTMB 값의 25% 이상($\geq$)의 tTMB 값으로 정의되었고, 50% 사분위수 (즉, 중앙값)는 분석된 집단에서 모든 tTMB 값의 50% 이상($\geq$)의 tTMB 값으로 정의되었으며, 75% 사분위수는 분석된 집단에서 모든 tTMB 값의 75% 이상($\geq$)의 tTMB 값으로 정의되었다. 종양은 또한 tTMB 컷오프, 예를 들어, 16 이상($\geq$)의 돌연변이/메가염기 (mut/Mb) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)을 기준으로 하는 하위 그룹으로 분류되었다.

[0497] PD-L1 발현 분석

[0498] PD-L1 발현은 VENTANA PD-L1 SP142 면역조직화학 (IHC) 검정으로 TC 및 IC 상에서 평가하고, 표 6에서와 같이 기록했다. 예를 들어, IHC 분석 프로토콜은 포르말린-고정되고 파라핀-포매된 조직 섹션은 항원 회수, 차단 및 1차 항 PD-L1 항체와 함께 항온처리 전에 탈파라핀화되는 것이 요구되었다. 2차 항체와 함께 항온처리 및 효소 발색에 따라, 절편은 대조염색되고 그리고 커버슬립핑(cover slipping) 전에 알코올 및 자일렌 중에서 연속적으로 탈수되었다. POPLAR 집단의 장기간 추적 조사는 TC 및 IC 상의 PD-L1 발현이 낮거나 없는 환자가 또한 아테졸리주맙으로부터 임상적 이점을 유도할 수 있음을 시사한다(도 1).

[0499] 표 6. SP142 검정을 사용한 TC 및 IC 상에서의 PD-L1 스코어링 기준

PD-L1 TC 스코어링		PD-L1 IC 스코어링	
^a TC 스코어	PD-L1-발현 TC %	^b IC 스코어	PD-L1-발현 IC %
TC3	50% 이상(≥)의 종양 세포 내 임의의 강도의 식별할 수 있는 PD-L1 염색의 존재	IC3	종양 세포, 관련된 종양내 기질, 및 인접하는 주위-종양의 결합 조직형성 기질에 의해 점거된 종양 면적의 10% 이상(≥)을 차지하는, 종양-침윤 면역 세포에서 임의의 세기의 인식할 수 있는 PD-L1 염색의 존재
TC2	5% 이상(≥) 내지 50% 미만(<)의 종양 세포 내 임의의 강도의 식별할 수 있는 PD-L1 염색의 존재	IC2	종양 세포, 관련된 종양내 기질, 및 인접하는 주위-종양의 결합 조직형성 기질에 의해 점거된 종양 면적의 5% 이상(≥) 내지 10% 미만(<)을 차지하는, 종양-침윤 면역 세포에서 임의의 세기의 인식할 수 있는 PD-L1 염색의 존재
TC1	1% 이상(≥) 내지 5% 미만(<)의 종양 세포 내 임의의 강도의 식별할 수 있는 PD-L1 염색의 존재	IC1	종양 세포, 관련된 종양내 기질, 및 인접하는 주위-종양의 결합 조직형성 기질에 의해 점거된 종양 면적의 1% 이상(≥) 내지 5% 미만(<)을 차지하는, 종양-침윤 면역 세포에서 임의의 세기의 인식할 수 있는 PD-L1 염색의 존재
TC0	임의의 인식할 수 있는 PD-L1 염색의 부재 또는 1% 미만(<)의 종양 세포 내 임의의 강도의 식별할 수 있는 PD-L1 염색의 존재	IC0	임의의 인식할 수 있는 PD-L1 염색의 부재 또는 종양 세포, 관련된 종양내 기질, 및 인접하는 주위-종양의 결합 조직형성 기질에 의해 점거된 종양 면적의 1% 미만(<)을 차지하는, 종양-침윤 면역 세포에서 임의의 세기의 인식할 수 있는 PD-L1 염색의 존재
^a TC는 종양 세포의 백분율로서 스코어링했고; ^b IC는 종양 면적의 백분율로서 스코어링하였음.			

[0500]

[0501] 실시예 2: 국소 진행성 및 전이성 암종을 갖는 환자에서의 아테졸리주맙 치료 및 돌연변이 부하의 연관성 연구

[0502] 아테졸리주맙 효능의 분석

[0503] BIRCH, FIR, 및 POPLAR 임상 시험의 OS, PFS 및 ORR 종점을, 정의된 tTMB 컷오프 (예를 들어, 25%, 50% 및 75% tTMB 사분위수 또는 tTMB 컷오프, 예를 들어, ≥9, ≥16 또는 ≥20 mut/Mb)에 대해 평가했다. BIRCH 및 FIR 연구의 경우, 효능 결과는 각각의 tTMB 컷오프 초과 하위 그룹 (TMB-높음) 및 각각의 tTMB 컷오프 미만의 하위 그룹 (TMB-낮음)에 대해 비교되었다. POPLAR의 경우, 아테졸리주맙 및 도세탁셀 아암에 대한 효능 결과를 TMB-높은 하위 그룹과 TMB-낮은 하위 그룹에 대해 비교하였다. BEP에 대한 tTMB 중앙값은 9.9/Mb (범위, 0-444; 25 번째-75번째 사분위수, 5.41-16.22)였다. tTMB 중앙값은 NSCLC를 갖는 PD-L1-비선택 환자 (POPLAR) 및 PD-L1-선택 환자 (BIRCH 및 FIR)에서 동일했다. 아테졸리주맙 시험에 의한, 그리고 사분위수 컷오프에 걸친 tTMB 분포도가 표 7에서 제시된다.

[0504] 표 7. 사분위수 컷오프에 걸친 tTMB (돌연변이/Mb)

집단	tTMB 사분위수			범위
	25%	50%	75%	
BIRCH (C2+C3) 및 FIR (C2)	5.41	9.91	17.12	0.0-444.15
POPLAR	6.08	9.91	15.77	0.9-46.85

[0505]

[0506] 조직 TMB는 BIRCH 및 FIR 연구 중, NSCLC를 갖는 PD-L1-선택된 2L+ 환자에서의 아테졸리주맙의 개선된 효능과 관련된 것으로 발견되었다 (도 2a-2b 및 표 8). tTMB이 높을수록 증가된 반응 빈도와 상관관계가 있었다 (도 2a). 각각의 사분위수 컷오프에서, TMB-낮은 하위 그룹에 비해 TMB-높은 하위 그룹에서 더 높은 ORR (RECIST v1.1당 확인됨)가 관찰되었다(표 8). tTMB가 증가함에 따라, PFS 및 OS 이점의 증가 구배가 관찰되었다 (도 2b-2c, 각각).

[0507] BIRCH 및 FIR 환자 집단에서의 효능 종료점과 tTMB의 상관관계의 요약이 표 8에 제시된다.

[0508] 표 8. BIRCH 및 FIR에서의 효능 종점과 tTMB 연관성의 요약

tTMB 컷오프	효능 종료점 (TMB-높음 대 TMB-낮음) ^a			
	ORR ^b	반응에 대한 확률	OS HR (95% CI) ^c	PFS HR (95% CI) ^c
25%	22% 대 11%	2.14	0.92 (0.64, 1.30)	0.79 (0.60, 1.00)
50% (중앙값)	25% 대 14%	2.11	0.87 (0.65, 1.16)	0.64 (0.50, 0.80)
75%	29% 대 16%	2.20	0.70 (0.49, 1.00)	0.5 (0.38, 0.67)
아테졸리주맙 반응 그룹 (CR/PR 대 SD 대 PD)의 tTMB를 비교한 <i>P</i> 값은, 크루스칼-왈리스 테스트에 의해 계속되었음. CR, 완전 반응; PD, 진행성 질환; PR, 부분 반응; SD, 무변성 질환. ^a TMB-높음은 각각의 사분위수 컷오프 이상에서 tTMB로서 정의되고; TMB-낮음은 각각의 사분위수 컷오프 미만에서 tTMB로서 정의됨. ^b ORR은 BEP (n = 371) 및 ITT (n = 613) 집단 둘 모두에 대하여 19%였다. ^c 비조정 및 비성충 HR.				

[0509]

[0510] 추가의 데이터는 tTMB가 FIR 및 BIRCH 연구에서 평가된 모든 계열에 대한 아테졸리주맙의 개선된 효능과 관련이 있음을 보여주었다. 조직 TMB는 BIRCH 및 FIR은 모든-참가자 (즉, 1L 및 2L+ 모두) 집단에서 반응과 관련되었다 (도 6). 예를 들어, 모든 방문객 집단 중 16 mut/Mb 이상(≥) 및 20 mut/Mb 이상(≥)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에게서 개선된 PFS 이점이 관찰되었다 (도 7a 및 7b). 9 mut/Mb 이상(≥) 및 16 mut/M 이상(≥)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹 내 1L 환자에게서 개선된 PFS 이점이 존재하였다 (도 7c 및 7d). 또한 75% 이상(≥)의 사분위수 및 85% 이상(≥)의 사분위수의 컷오프에서 TMB-낮은 하위 그룹에 비해, TMB-높은 하위 그룹의 2L+ 환자에서 개선된 PFS 이점은 관찰되었다 (도 7e 및 7f). 추가적으로, 모든 방문객 집단 중, 16 mut/Mb 이상(≥) 및 20 mut/Mb 이상(≥)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에게서 개선된 OS 이점이 관찰되었다 (도 8a 및 8b). 9 mut/Mb 이상(≥) 및 16 mut/M 이상(≥)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹 내 1L 환자에게서 개선된 OS 이점이 존재하였다 (도 8c 및 8d). 또한 75% 이상(≥)의 사분위수 및 85% 이상(≥)의 사분위수의 컷오프에서 TMB-낮은 하위 그룹에 비해, TMB-높은 하위 그룹의 2L+ 환자에서 개선된 OS 이점이 관찰되었다 (도 8e 및 8f).

[0511] 분석은 무작위화된 POPLAR 연구에서 NSCLC를 갖는 PD-L1-비선택 2L+ 환자에서, 도세탁셀에 비해 개선된 아테졸리주맙의 효능과 tTMB의 연관성에 대한 경향을 나타낸다 (도 3a-3b). 특히, tTMB가 증가함에 따라, PFS에 대한 이점의 구배가 관찰되었다 (도 3a). POPLAR 환자 집단에서의 효능 종료점과 tTMB의 상관관계의 요약이, 표 9에 제시된다. ORR이 높을수록 (RECIST v1.1당 확인됨) 아테졸리주맙으로 치료된 환자에서 증가된 tTMB와 관련된 반

면, 도세탁셀 치료 환자는 tTMB가 증가함에 따라 ORR이 개선되지 않았다. 예를 들어, 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에서 보다 높은 ORR이 관찰되었다 (도 9b). 추가의 분석은 tTMB이 POPLAR에서 증가된 PFS와 관련되었음을 나타냈다. 예를 들어, 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에서 개선된 PFS 이점이 관찰되었다 (도 10a 및 10b). TMB가 높을수록 또한 POPLAR에서 증가된 OS와 관련되었다. 예를 들어, 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에서 개선된 OS 이점이 관찰된다 (도 11a 및 11b).

표 9. POPLAR에서 효능 종점과 tTMB 연관성의 요약

tTMB 사분위수	PFS HR (95% CI) ^a	OS HR (95% CI) ^a	ORR (아테졸리주맙 대 도세탁셀)
$\geq 25\%$	0.88 (0.52, 1.48)	0.55 (0.29, 1.03)	14% 대 10%
$\geq 50\%$ (중양값)	0.49 (0.25, 0.93)	0.48 (0.23, 1.04)	20% 대 4%
$\geq 75\%$	0.49 (0.19, 1.30)	0.50 (0.15, 1.67)	20% 대 8%
BEP (n = 54 대 38) ^{b,c}	0.98 (0.63, 1.53)	0.65 (0.38, 1.12)	13% 대 15%
ITT (n = 144 대 143) ^b	0.92 (0.71, 1.20)	0.69 (0.49, 0.98)	15% 대 15%
카플란-마이어 추정치는 75% 이상($\geq$)의 tTMB 컷오프에서 계측되었음. BEP, 바이오마커 평가가능한 집단. ^a 각각의 tTMB 사분위수 컷오프에서의 아테졸리주맙 대 도세탁셀에 대한 비조정화 및 비성층화 HR. ^b 아테졸리주맙 대 도세탁셀 치료 아암에서의 환자의 수. ^c 임의의 연구 치료를 받지 않은 3명의 환자를 포함함.			

조직 TMB는 또한 OAK 연구에서 아테졸리주맙으로부터의 개선된 효능과 관련되었다. 예를 들어, 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹의 환자에서 더 높은 ORR이 관찰되었다 (도 9a). 조직 TMB는 POPLAR에서 증가된 PFS와 관련되었다. 예를 들어, 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹과 비교하여, TMB-높은 하위그룹의 환자에서 개선된 PFS 이점이 관찰되었다 (도 12a 및 12b). OAK에서의 높은 TMB NSCLC에서 OS가 증가하는 경향이 있었다. 예를 들어, 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹의 환자에서 개선된 OS 이점이 관찰된다 (도 13a 및 13b). 도 14a 내지 도 14c는 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위 그룹 대비, TMB-높은 하위 그룹 환자에서의 반응의 지속 기간을 도시한다 (도 14a-14c).

표 10은 9 mut/Mb 이상($\geq$) 및 16 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위 그룹에 비해, TMB-높은 하위 그룹의 환자가, 1L BIRCH/FIR 및 2L+ OAK 환자 집단에서 개선된 중앙 PFS의 관점에서 볼 때 아테졸리주맙으로부터 개선된 임상적 이점을 가졌음을 나타낸다. 표 11은 9 mut/Mb 이상($\geq$) 및 16 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위 그룹에 비해 TMB-높은 하위 그룹의 환자가 1L BIRCH/FIR 및 2L+ OAK 환자 집단에서 개선된 중앙 OS의 관점에서 볼 때 아테졸리주맙으로부터 개선된 임상적 이점을 가졌음을 나타낸다.

표 10: 1L BIRCH/FIR 및 2L+ OAK에서의 PFS 중앙값 (개월)의 요약

집단	1L BIRCH/FIR	2L+ OAK	
	아테졸리주맙	아테졸리주맙	도세탁셀
tTMB 스코어 <9 mut/Mb	4 (n=45)	1.8 (n=91)	4.1 (n=87)
tTMB 스코어 ≥9 mut/Mb	8.3 (n=57)	2.5 (n=83)	3.6 (n=99)
tTMB 스코어 <16 mut/Mb	6 (n=85)	1.7 (n=135)	4.0 (n=136)
tTMB 스코어 ≥16 mut/Mb	11.1 (n=17)	5.5 (n=39)	3.5 (n=50)
BEP (TMB에 대하여 평가 가능함)	7.0 (n=102)	2.0 (n=174)	3.81 (n=186)
ITT	6.9 (n=173)	2.0 (n=425)	4.0 (n=425)

표 11: 1L BIRCH/FIR 및 2L+ OAK에서의 OS 중앙값 (개월)의 요약

집단	1L BIRCH/FIR	2L+ OAK	
	아테졸리주맙	아테졸리주맙	도세탁셀
tTMB 스코어 <9 mut/Mb	NA (n=45)	14.2 (n=91)	10.8 (n=87)
tTMB 스코어 ≥9 mut/Mb	20.1 (n=57)	13.3 (n=83)	9.7 (n=99)
tTMB 스코어 <16 mut/Mb	20.1 (n=85)	12.7 (n=135)	10.1 (n=136)
tTMB 스코어 ≥16 mut/Mb	NA (n=17)	18.7 (n=39)	9.7 (n=50)
BEP (TMB에 대하여 평가 가능함)	20.1 (n=102)	13.3 (n=174)	9.8 (n=186)
ITT	20.1 (n=173)	13.8 (n=425)	9.6 (n=425)

기존의 면역력을 갖는 종양(예를 들어, TC 및/또는 IC 상의 PD-L1 발현이 높은 종양)이 PD-L1/PD-1 억제제에 대한 반응이 풍부한 경우, tTMB와 TC 또는 IC 상의 PD-L1 발현과의 연관성도 또한 검사했다. tTMB와 TC 또는 IC 상의 PD-L1 발현 간의 연관성은, 도 4에 제시되어 있다. BIRCH, FIR 및 POPLAR 시험 데이터들을 조합하여, tTMB 및 PD-L1 발현 사이의 상관관계, 및 그들의 아테졸리주맙 반응에 대한 독립적인 기여도 분석을 하였다. 아테졸리주맙에 대한 반응은, TC 또는 IC 상에서 tTMB 및/또는 PD-L1 발현 수준이 증가함에 따라 증가했다 (도 5). 본원에 제시된 결과는 무작위화된 설정에서의 것들을 포함하여 NSCLC를 갖는 2L+ 환자에서 tTMB와 아테졸리주맙 단일요법의 효능의 연관성을 처음으로 입증한다. 이 연관성은 PD-L1-선택 및 PD-L1-비선택 환자 모두에서 관찰되었다. 조직 TMB는 도세탁셀의 효능과 관련되지 않았다. 추가로, 증가하는 아테졸리주맙에 대한 반응은 TC 또는 IC 상의 tTMB 및/또는 PD-L1 발현 수준이 증가함에 따라 관찰되었다.

또한, 상기 데이터는, tTMB이 단독으로 또는 PD-L1 발현(예를 들어, TC 또는 IC PD-L1 발현)과 조합하여 사용되어, PD-L1 축 결합 길항제에 의한 치료로부터 목적하는 반응 및 PFS 이점을 유도하는 NSCLC 환자에 대해 강화될 수 있는 예측 바이오마커의 후보로서 작용함을 더욱 뒷받침한다.

실시예 3: 높은 tTMB는 암 징후에 대하여, 아테졸리주맙에 대한 반응과 관련된다

높은 tTMB는 통상적인 및 희귀한 암 징후를 통해 확인되었다(도 18). 따라서, 높은 tTMB는 PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체, 아테졸리주맙에 반응할 가능성이 있는 환자를 식별하는데 사용될 수 있는 암-불가(agnostic) 바이오마커로서 작용할 수 있다.

이 견해를 평가하기 위해, tTMB와 아테졸리주맙에 대한 반응 사이의 연관성을 몇 개의 별도 암 유형에서 평가했다. 실시예 2에 기재된 바와 같이, 높은 tTMB는 16 mut/Mb 이상(≥) 및 20 mut/Mb 이상(≥)의 tTMB 컷오프인

경우를 포함하여, 1L 및 2L+ NSCLC에서 아테졸리주맵에 대한 반응과 관련되었다. 추가적으로, 증가된 tTMB는, IMvigor210 연구 (임상 시험 ID 번호: NCT02951767)의 코호트 1에서의 1L 시스플라틴-부적격 전이성 요로상피암중 (mUC) 환자에서의 증가된 ORR (도 15a), 보다 긴 PFS (도 15b), 및 보다 긴 OS (도 15c)와 관련된다. IMvigor210 연구 중 1L 시스플라틴-부적격 mUC 환자에서의 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에게서 개선된 OS 이점이 관찰된다 (도 15d 및 15e). 또한, 증가된 tTMB는, IMvigor210 연구 (임상 시험 ID 번호: NCT02108652)의 코호트 2에서의 2L+ mUC 환자에서의 증가된 ORR (도 16a), 보다 긴 PFS (도 16b), 및 보다 긴 OS (도 16c)와 관련된다. IMvigor 210 연구 중 2L+ mUC 환자에서의 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 TMB-낮은 하위그룹에 비해, TMB-높은 하위그룹에서의 환자에게서 개선된 OS 이점이 관찰된다 (도 16d 및 6e). 조직 TMB는 IMvigor210 연구에서 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 1L 및 2L mUC 환자의 개선된 ORR과 관련되었다 (도 17). IMvigor210 1L 시스플라틴-부적격 및 2L+ mUC 환자에서, 56/294 (19%)은 16 mut/Mb 이상($\geq$)의 tTMB를 가졌고; 6명의 환자는 TMB-높음, 그리고 미소부수체 불안정성-높음 (MSI-높음) 둘 모두를 나타내었고, 이들 환자는 83% ORR을 가졌다 (도 19). 따라서, 아테졸리주맵으로부터의 개선된 치료 효과는 1L 및 2L+ 설정 둘 다에서 몇 가지 별도의 암 징후를 통해 16 mut/Mb 이상($\geq$) 및 20 mut/Mb 이상($\geq$)의 컷오프에서 관찰되었다.

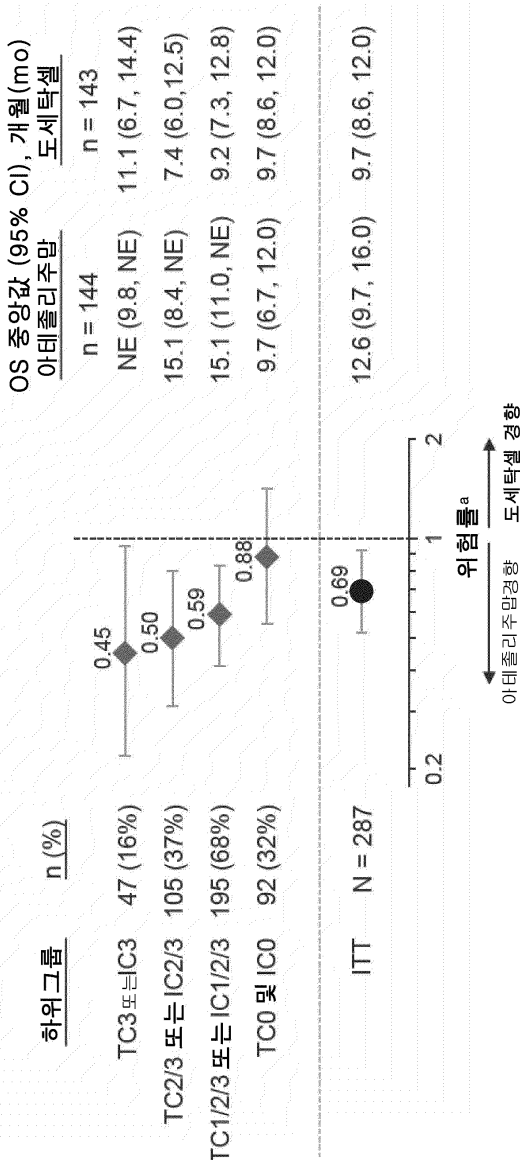
[0525] 또한, 상기 데이터는 PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체, 아테졸리주맵으로부터의 개선된 치료 효과에 대한 암-불가(agnostic) 바이오마커로서 tTMB의 사용을 지지한다.

[0526] 기타 구현예

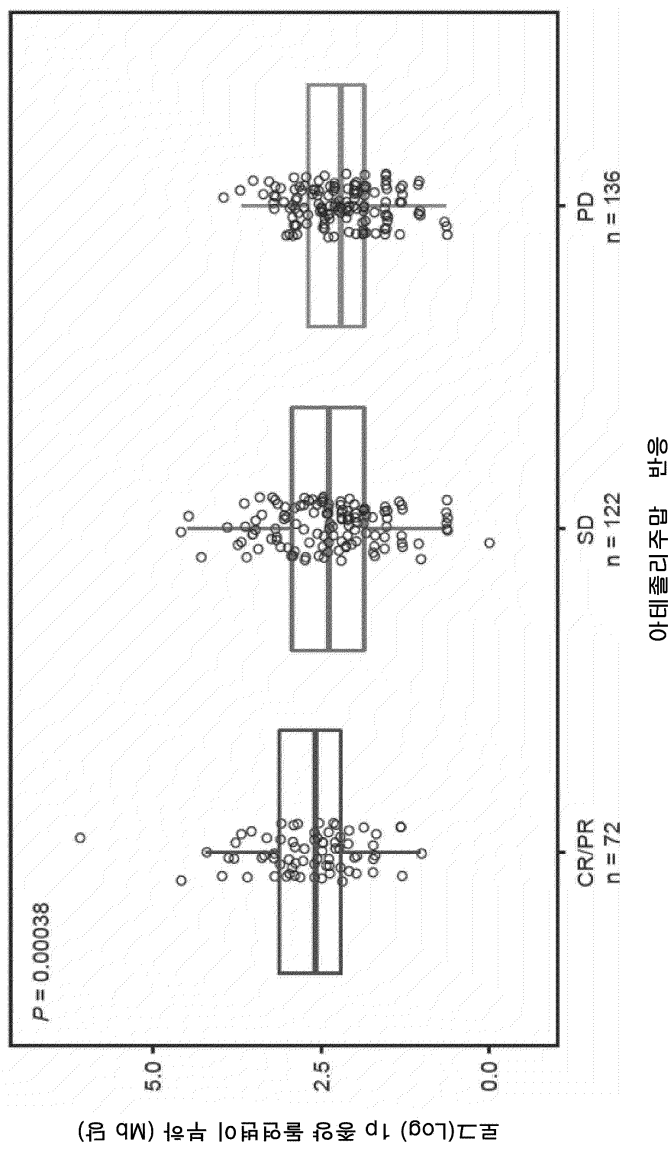
[0527] 비록 전술한 발명이 이해의 명확함을 위해 설명 및 실시예로서 일부 상세히 기재되었지만, 설명 및 실시예는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원에서 인용된 모든 특허 및 과학적 문헌의 개시내용은 명확히 그 전체가 참고로 편입된다.

도면

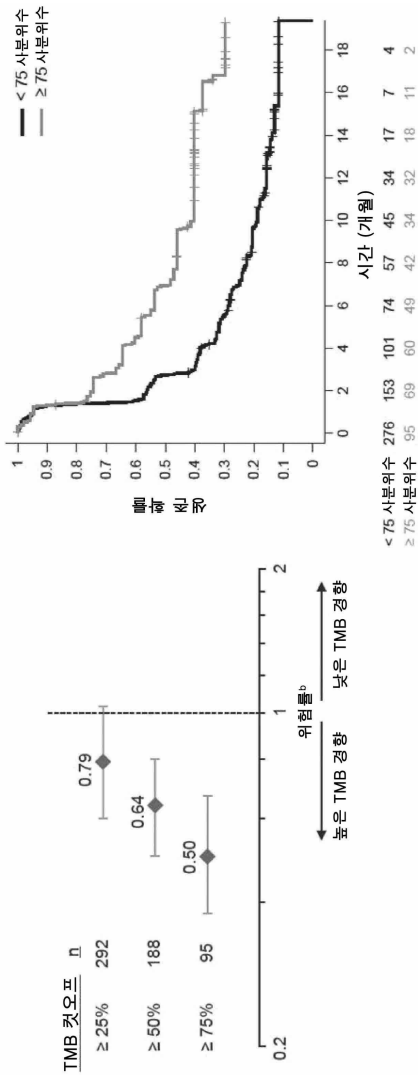
도면1



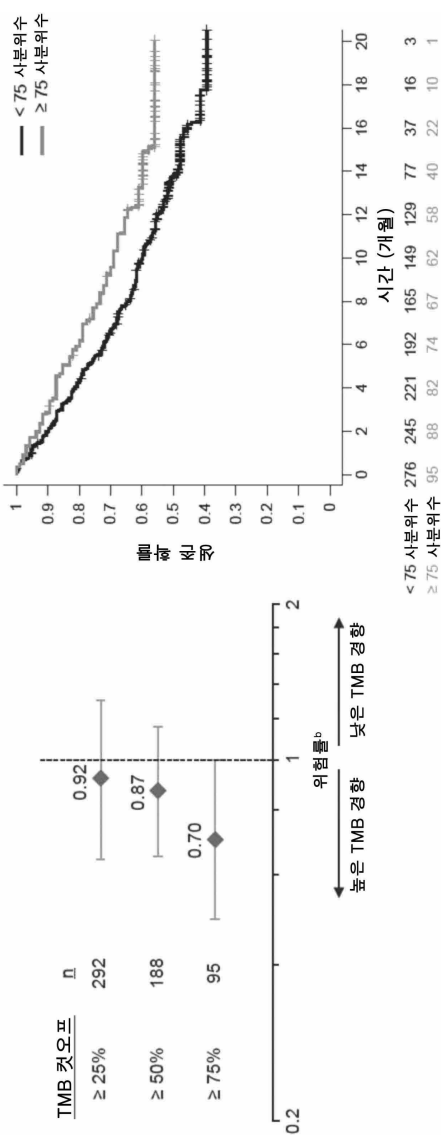
도면2a



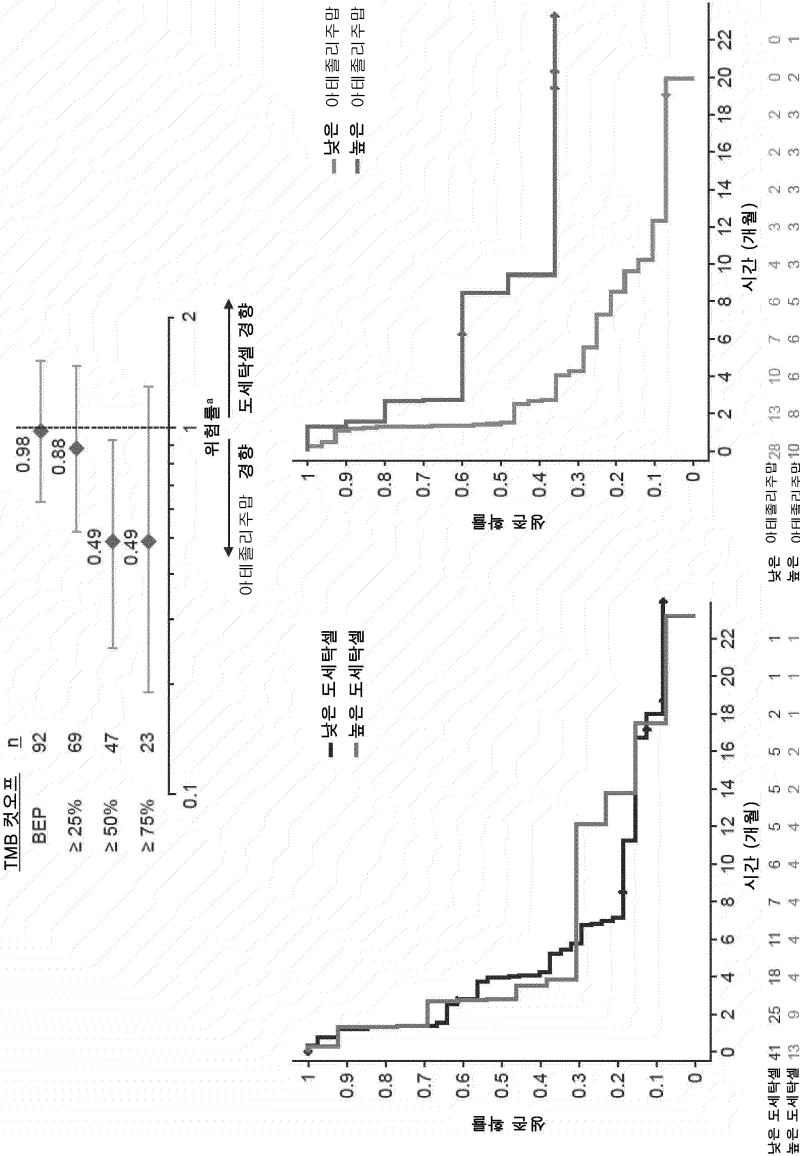
도면2b



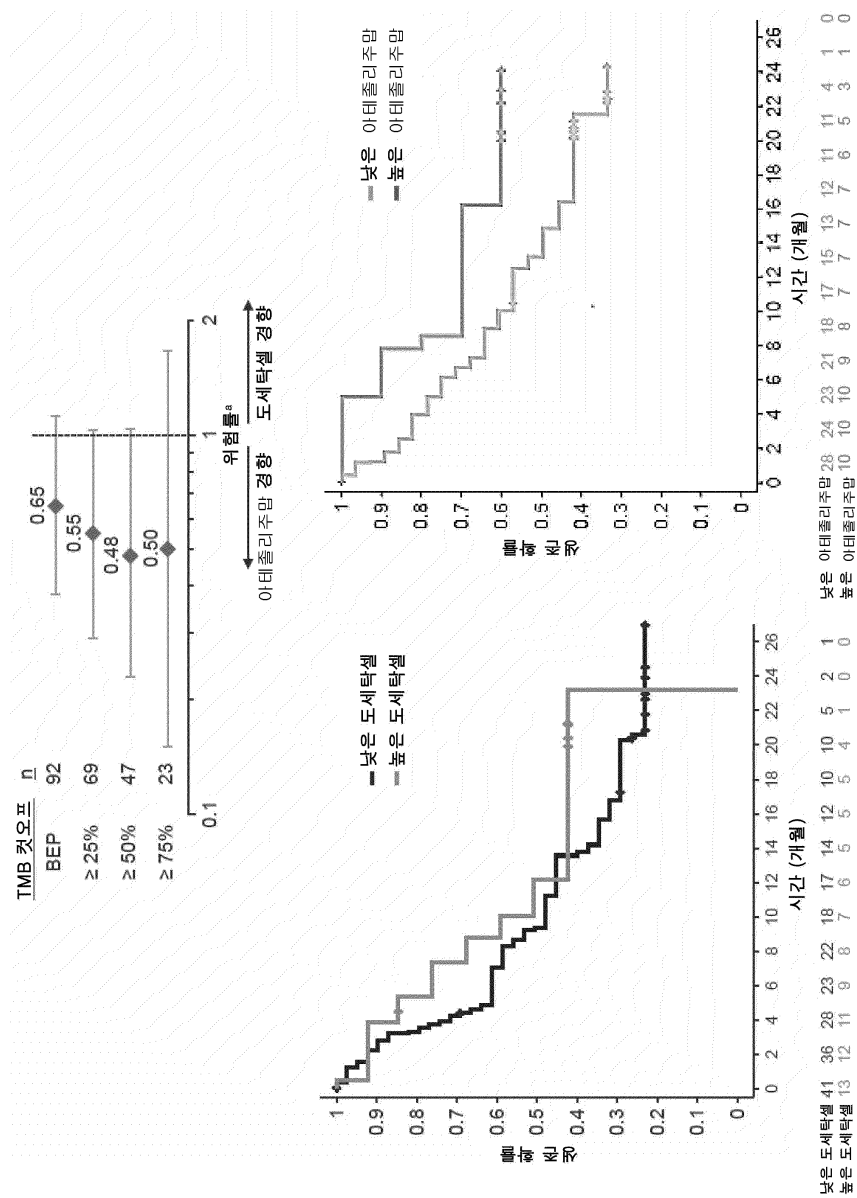
도면2c



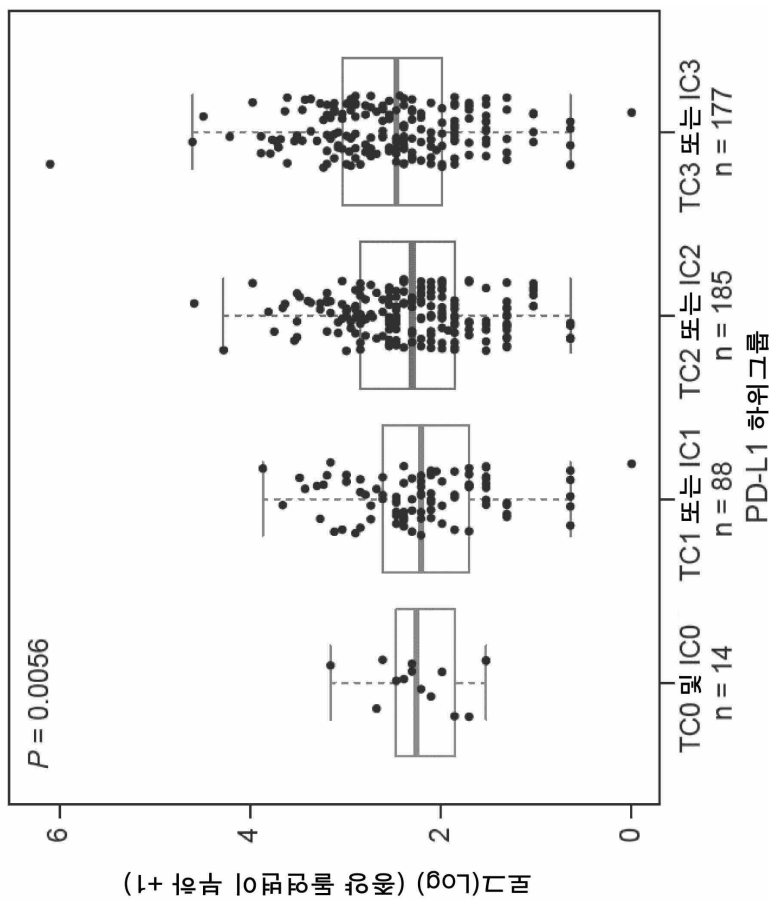
도면3a



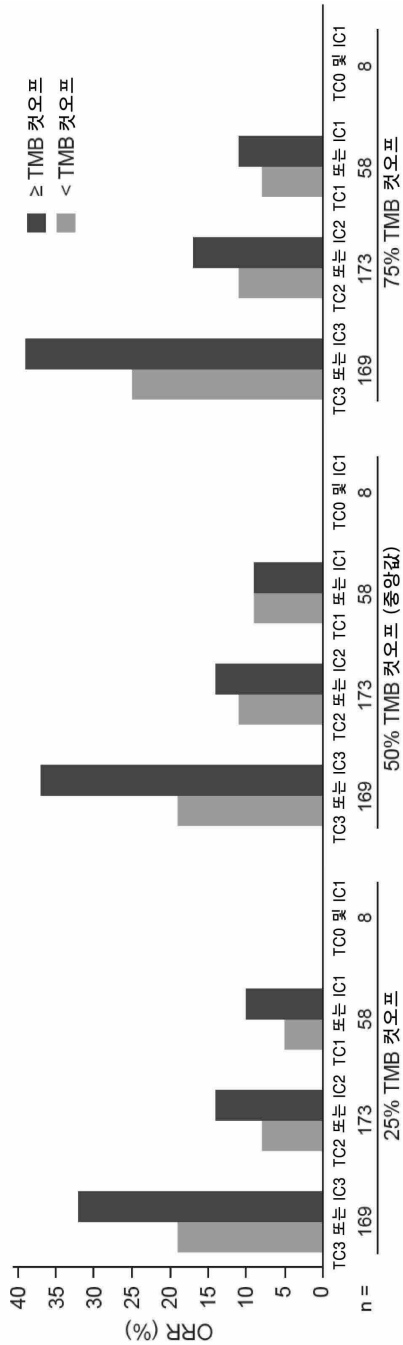
도면 3b



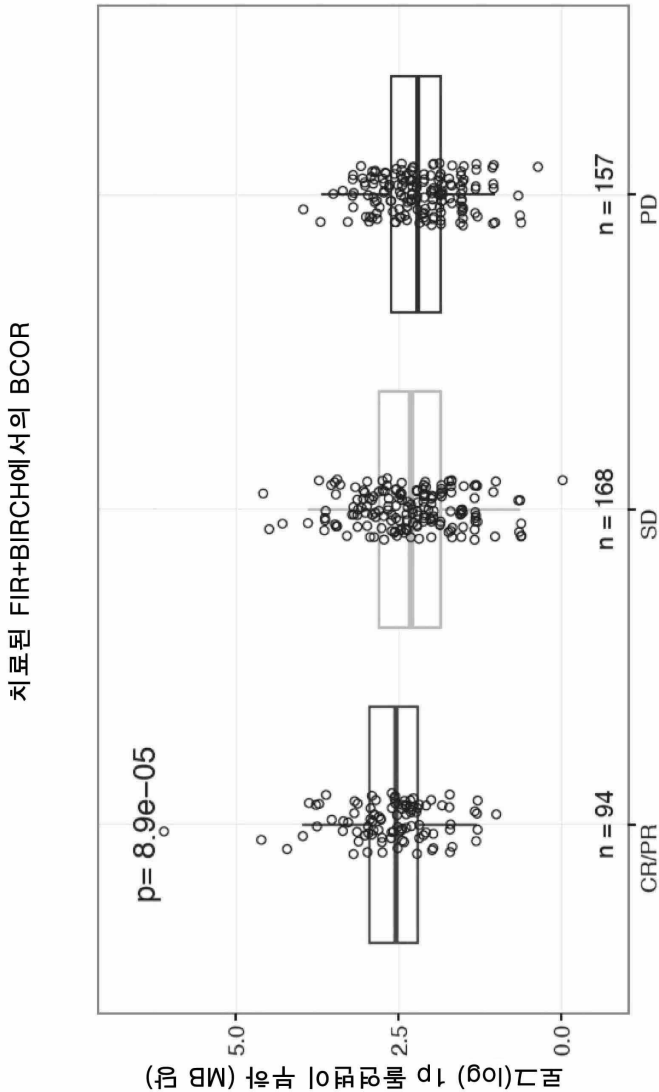
도면4



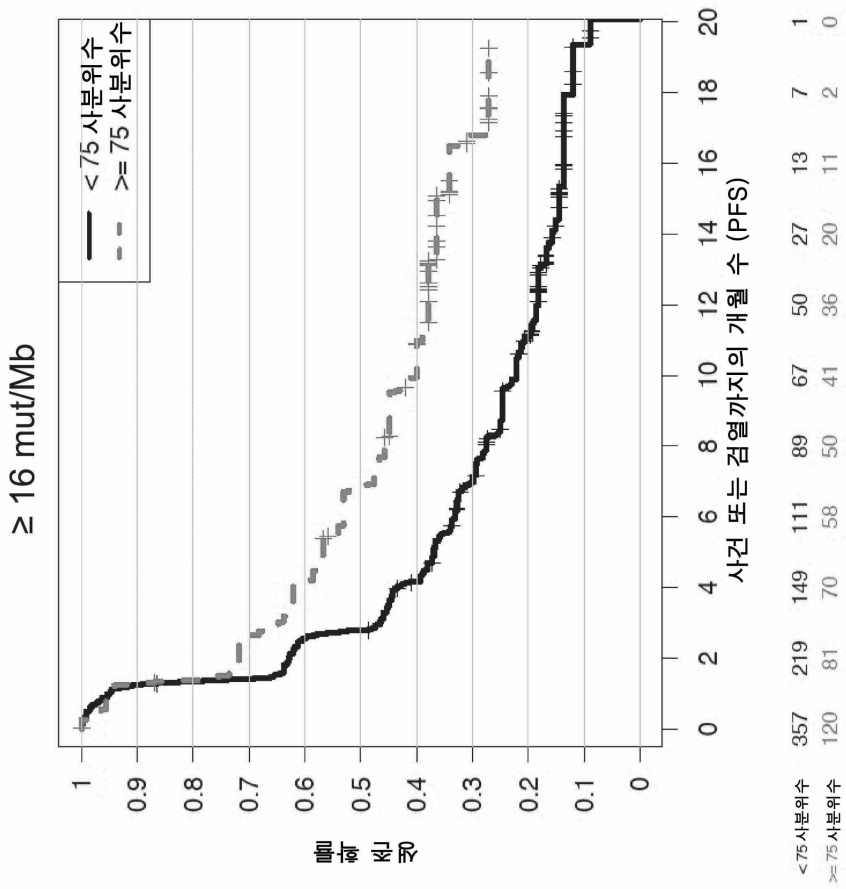
도면5



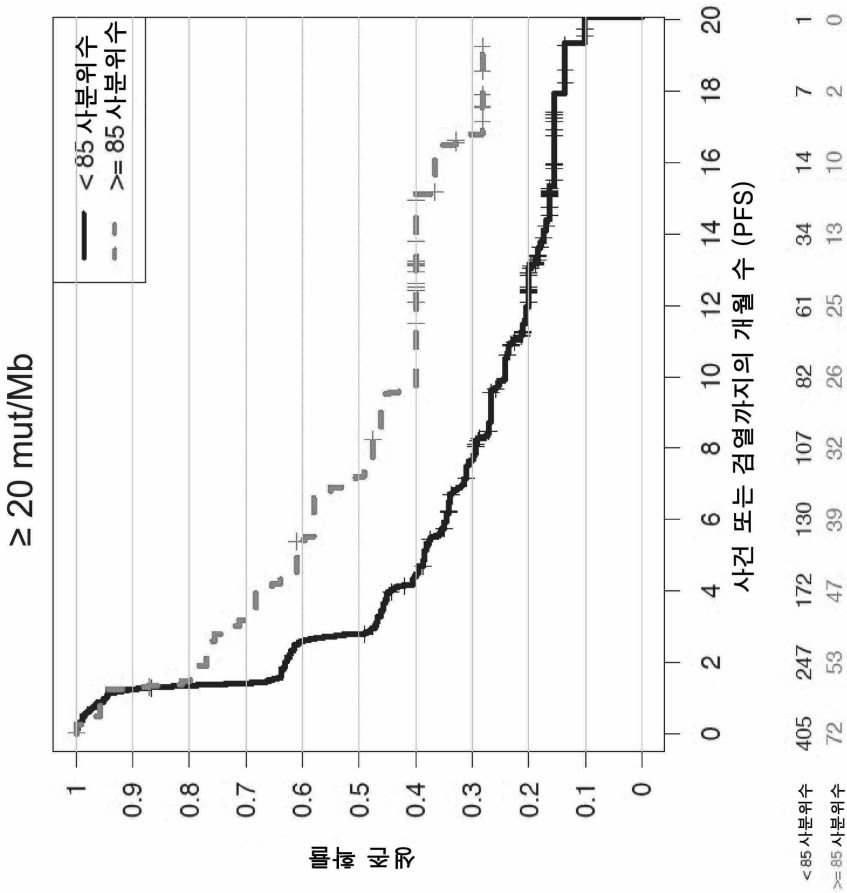
도면6



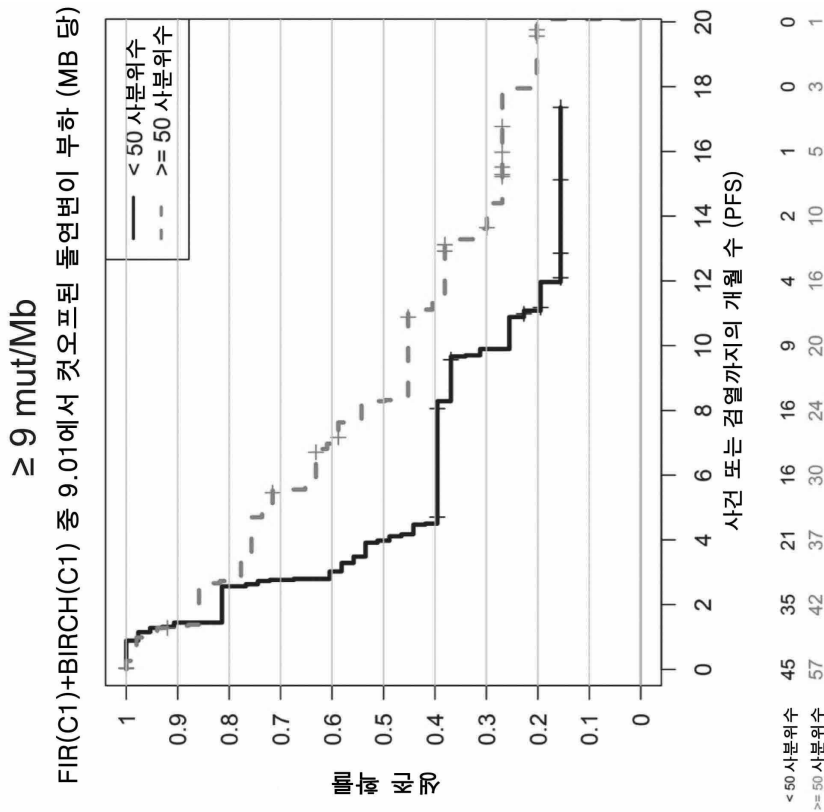
도면7a



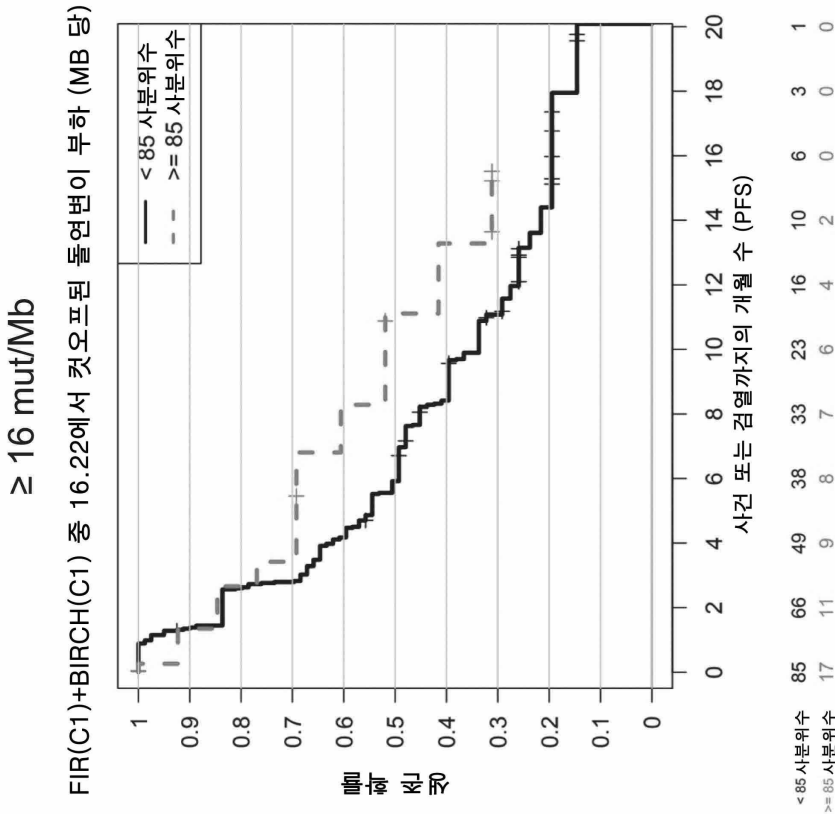
도면7b



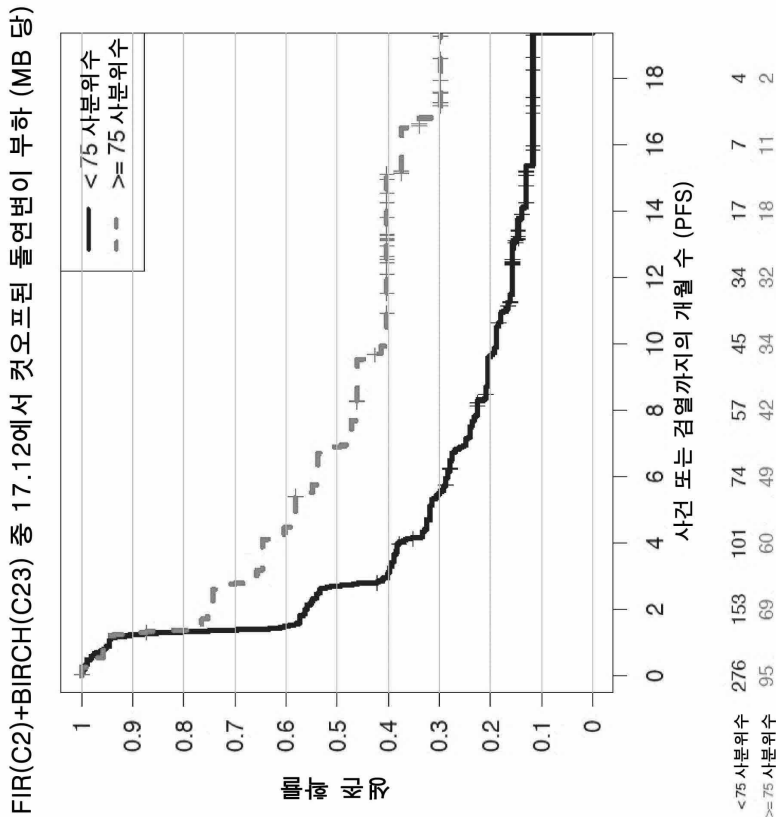
도면7c



도면7d

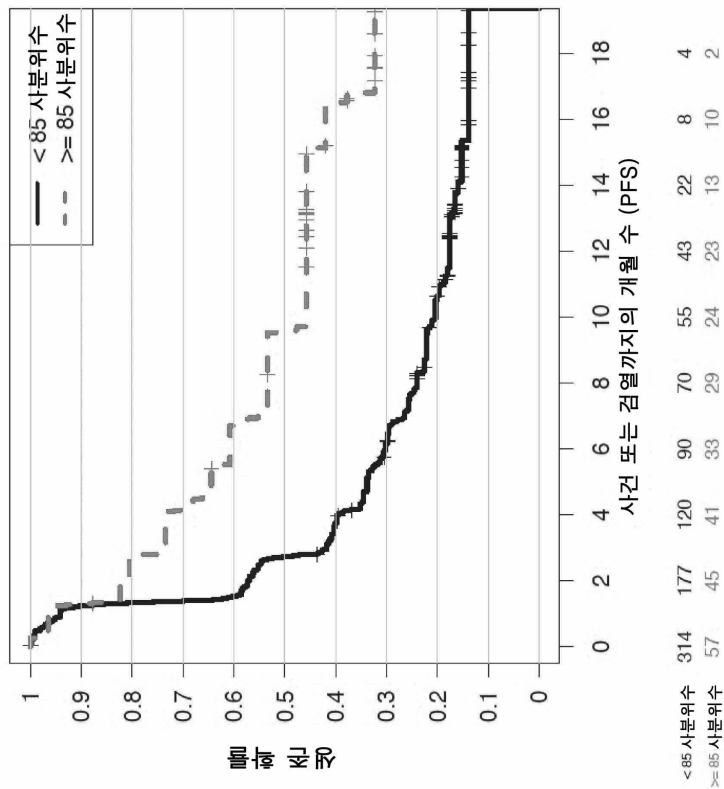


도면7e



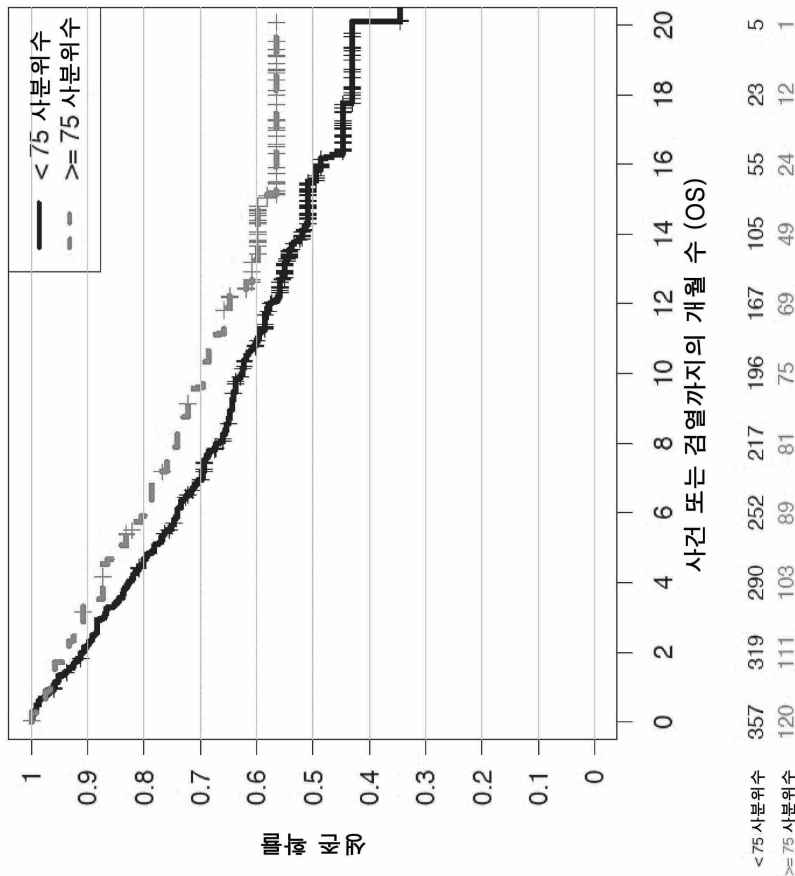
도면7f

FIR(C2)+BIRCH(C23) 중 21.62에서 컷오프된 돌연변이 부하 (MB 당)

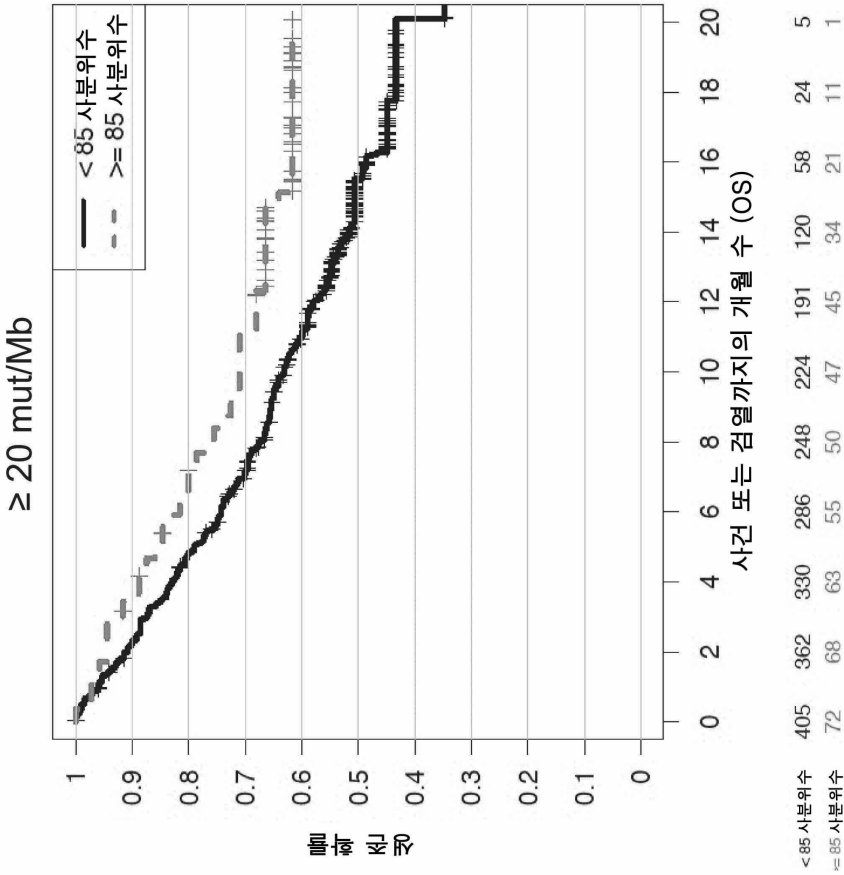


도면8a

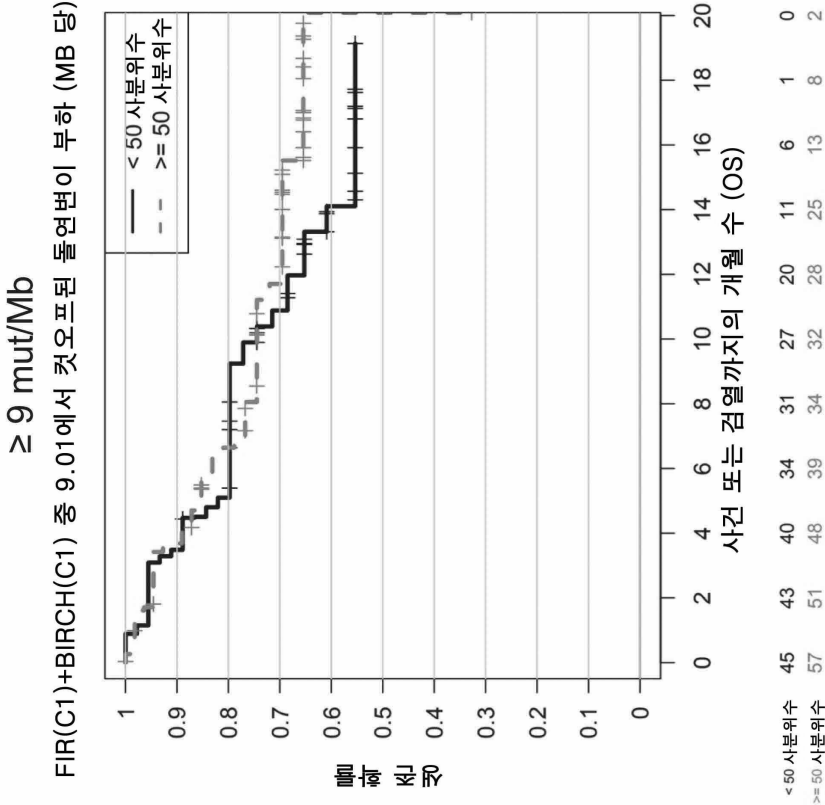
≥ 16 mut/Mb



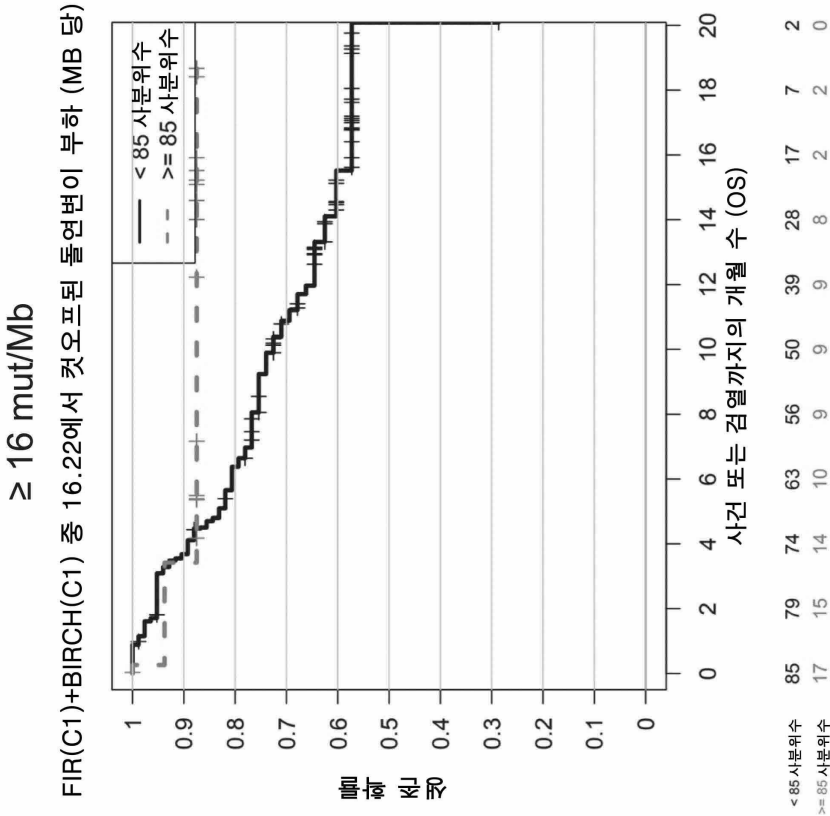
도면8b



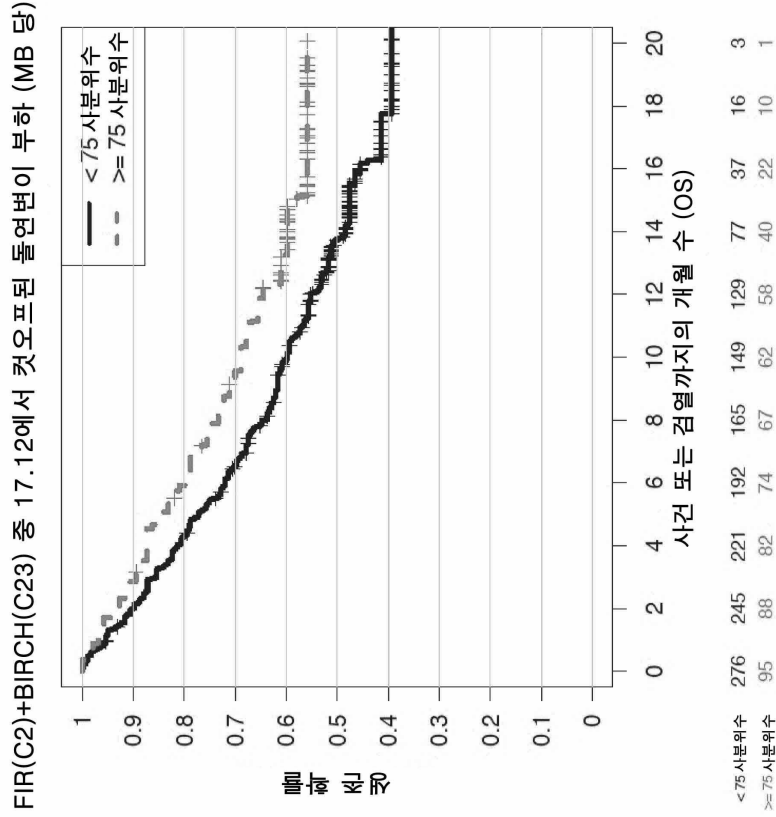
도면8c



도면8d

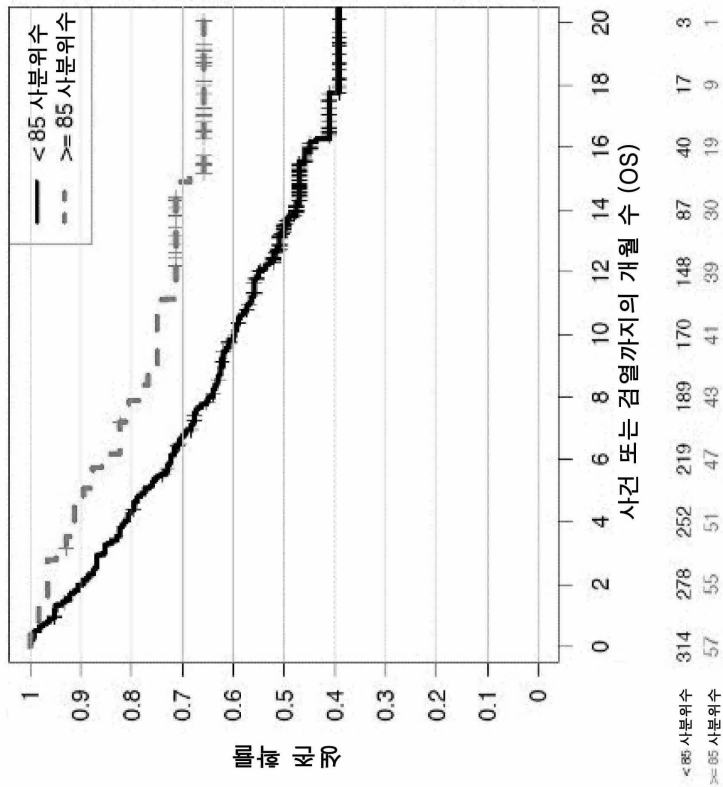


도면8e

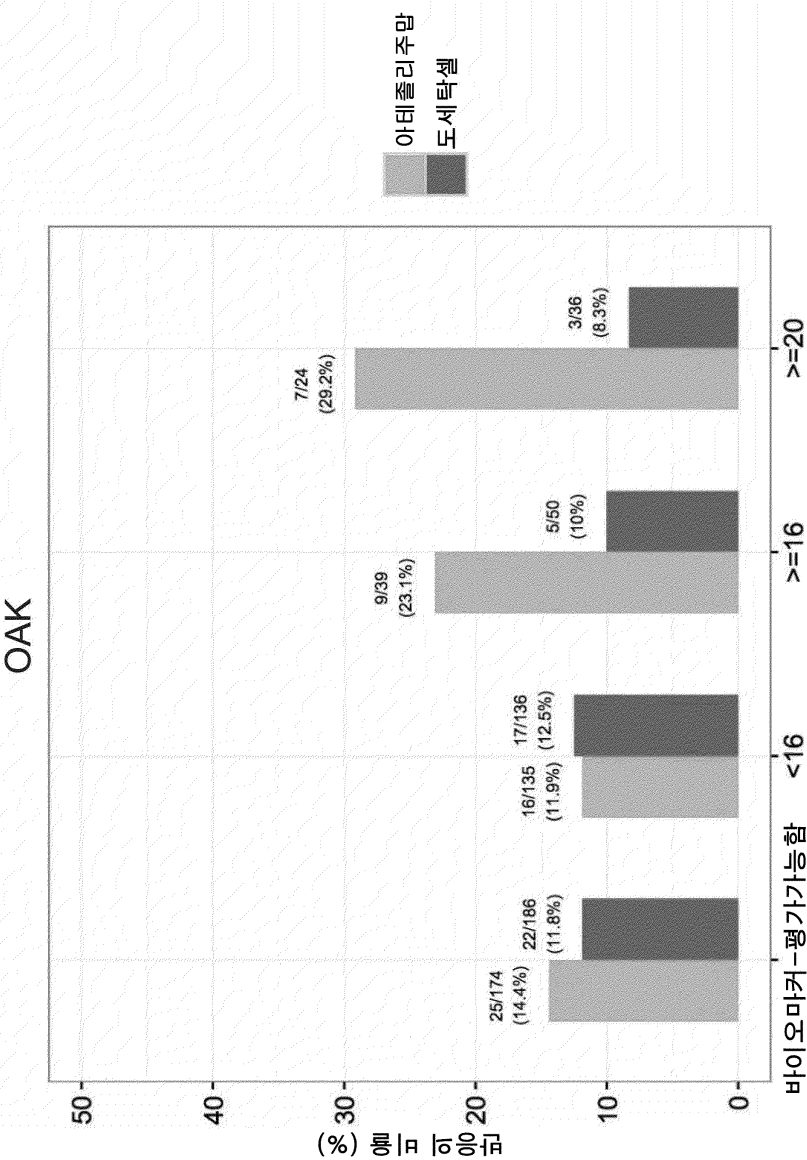


도면8f

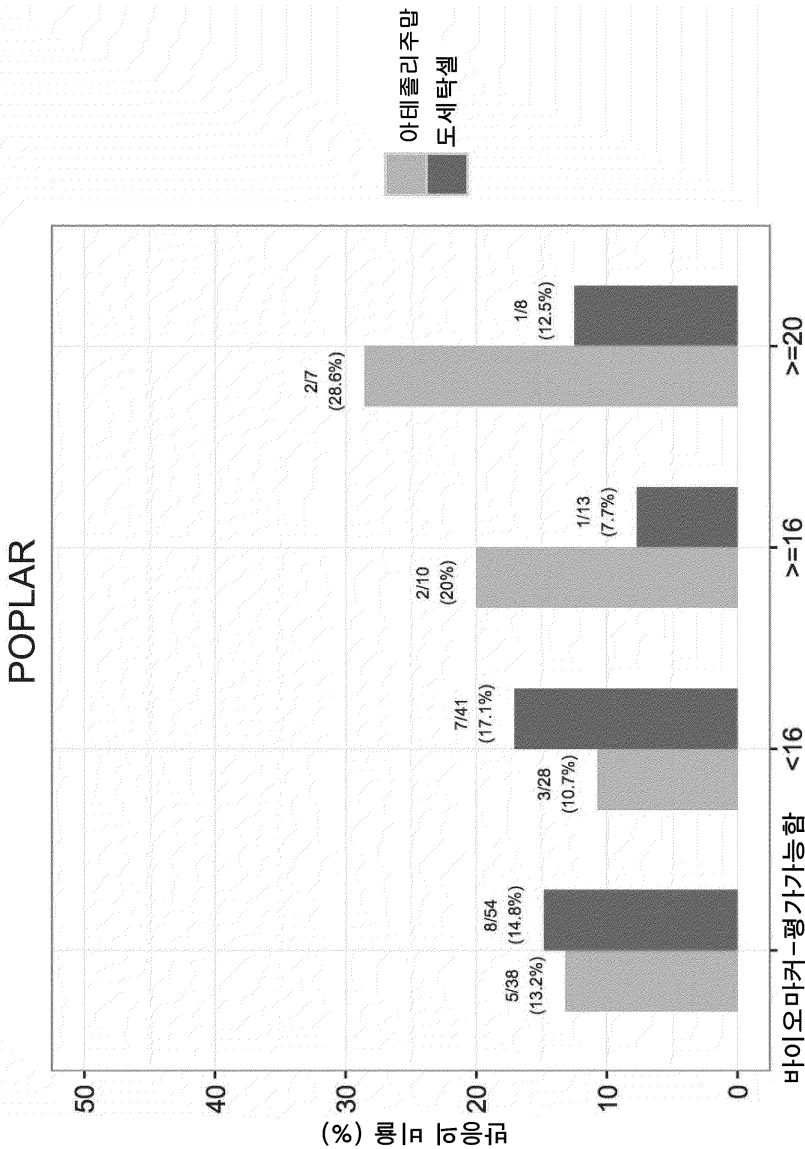
FIR(C2)+BIRCH(C23) 중 21.62에서 컷오프된 돌연변이 부하 (MB 당)



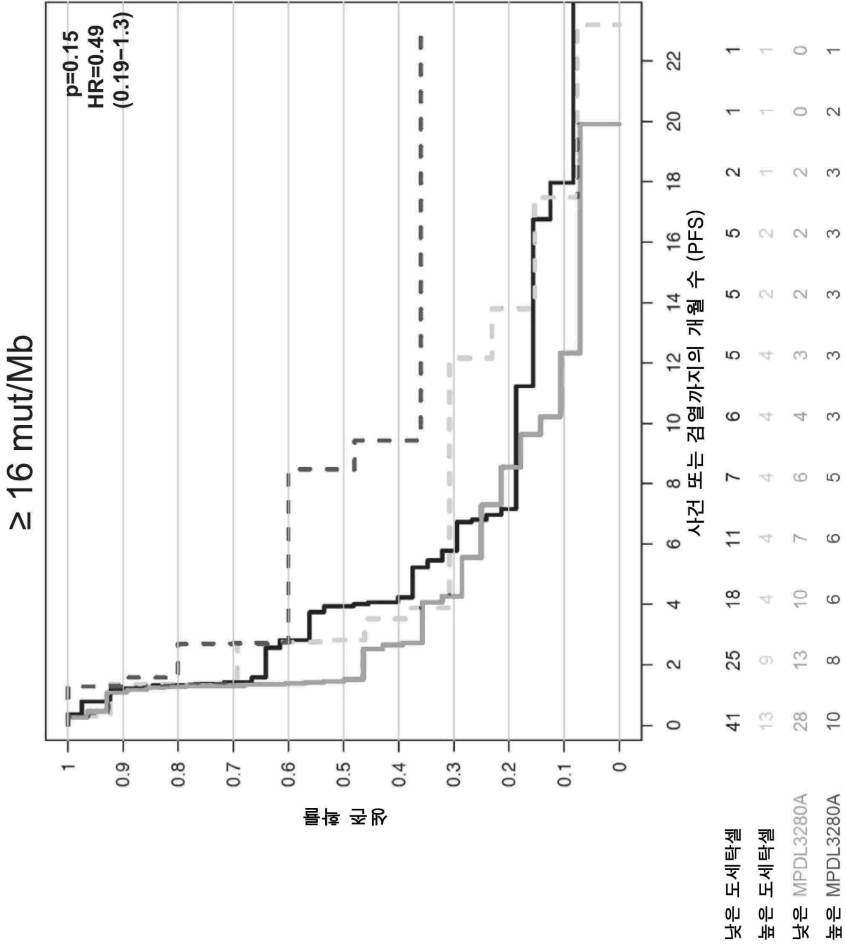
도면9a



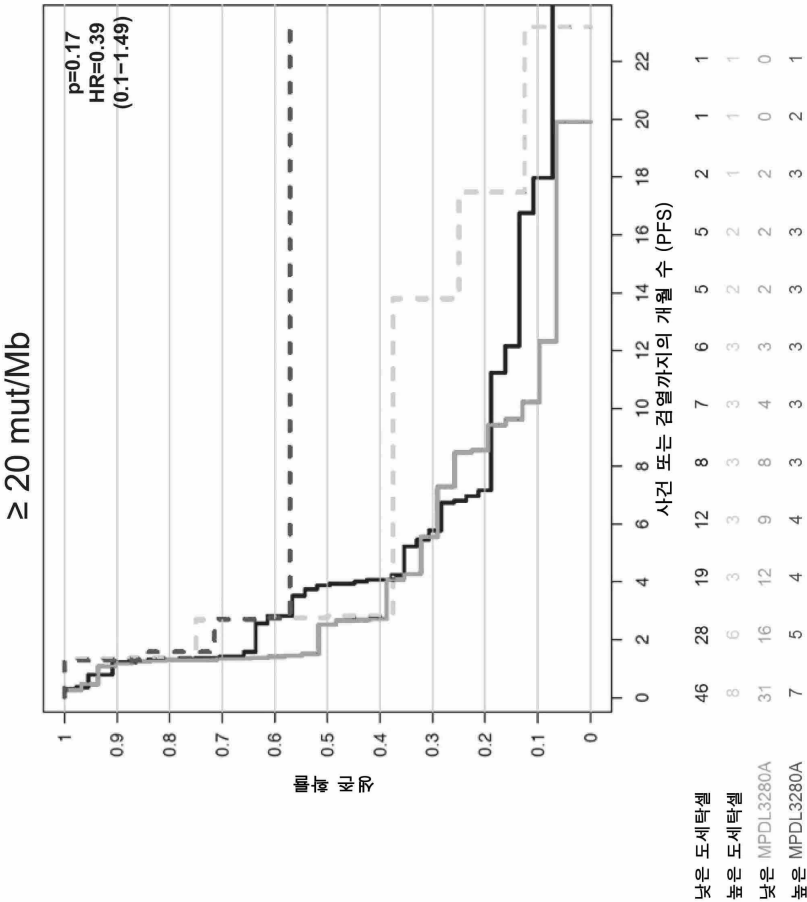
도면9b



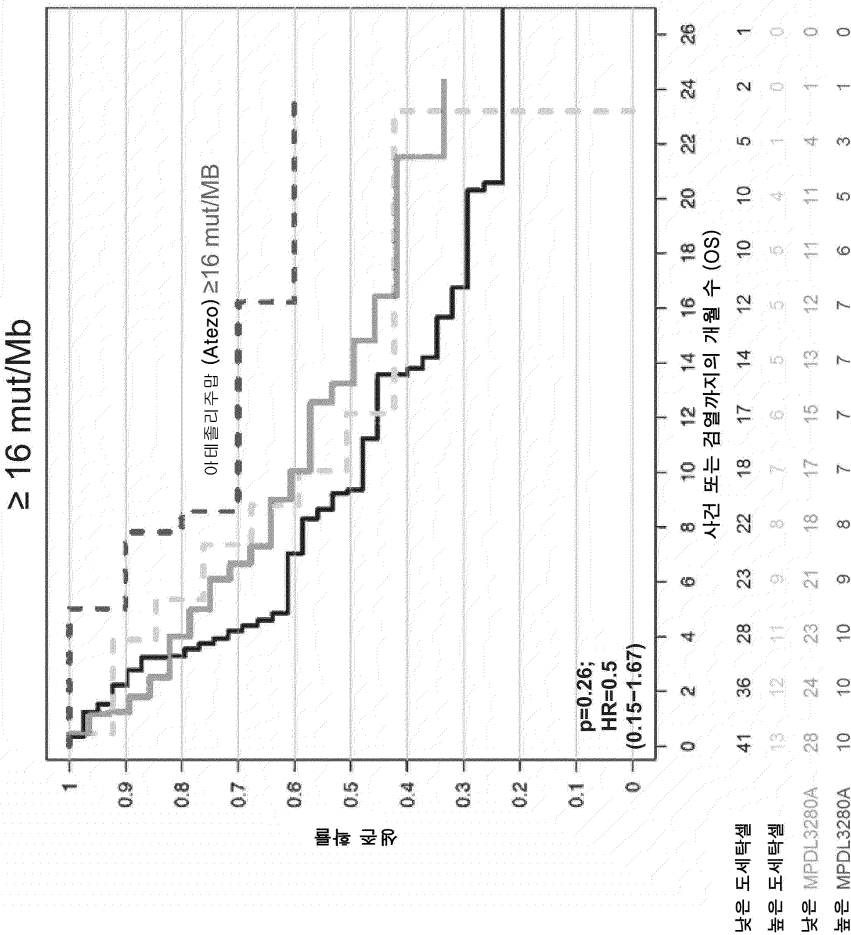
도면10a



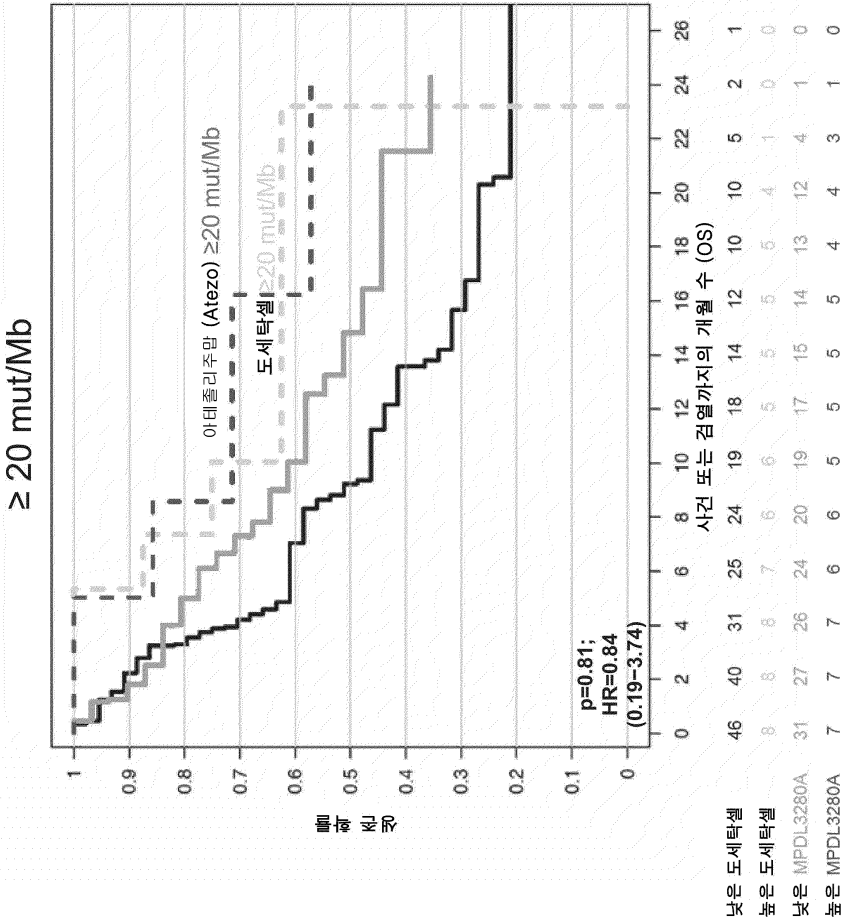
도면10b



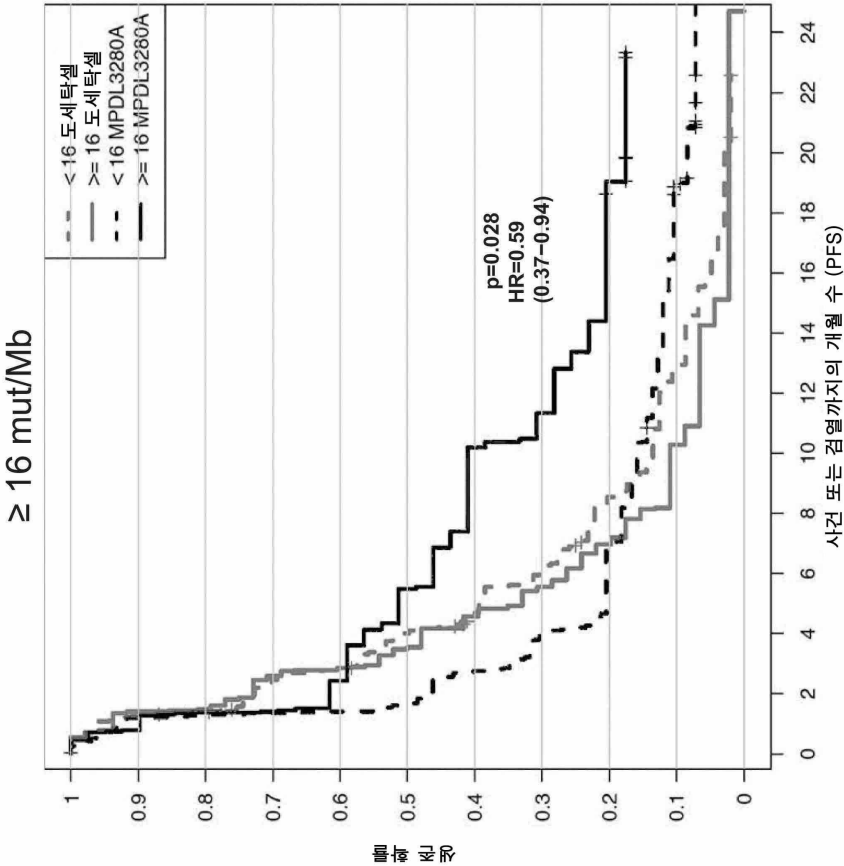
도면11a



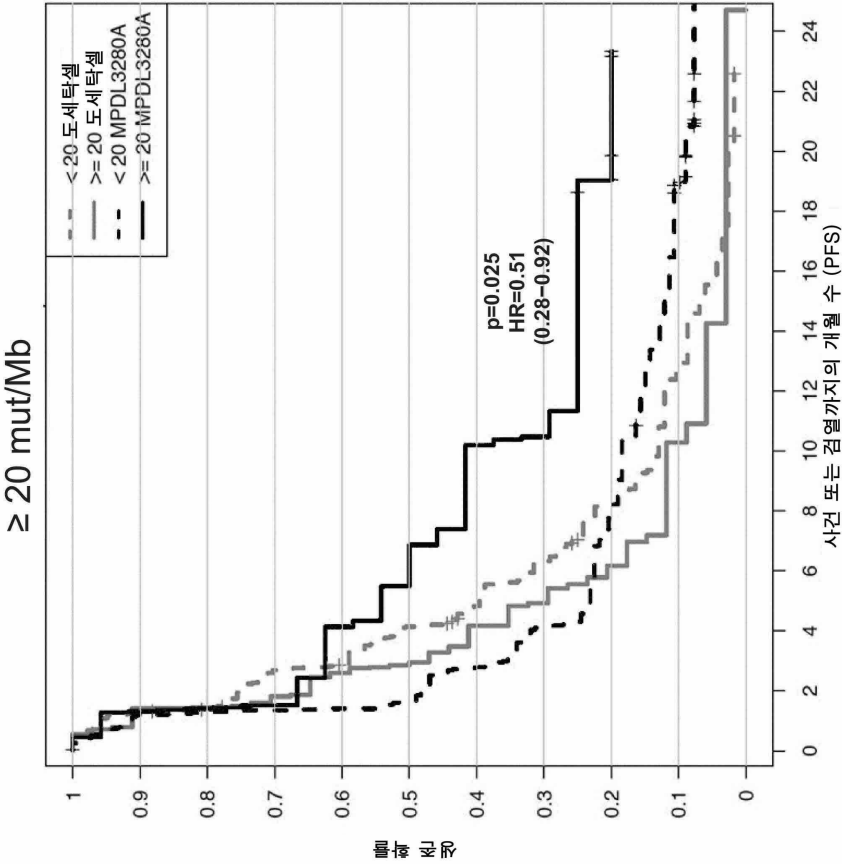
도면11b



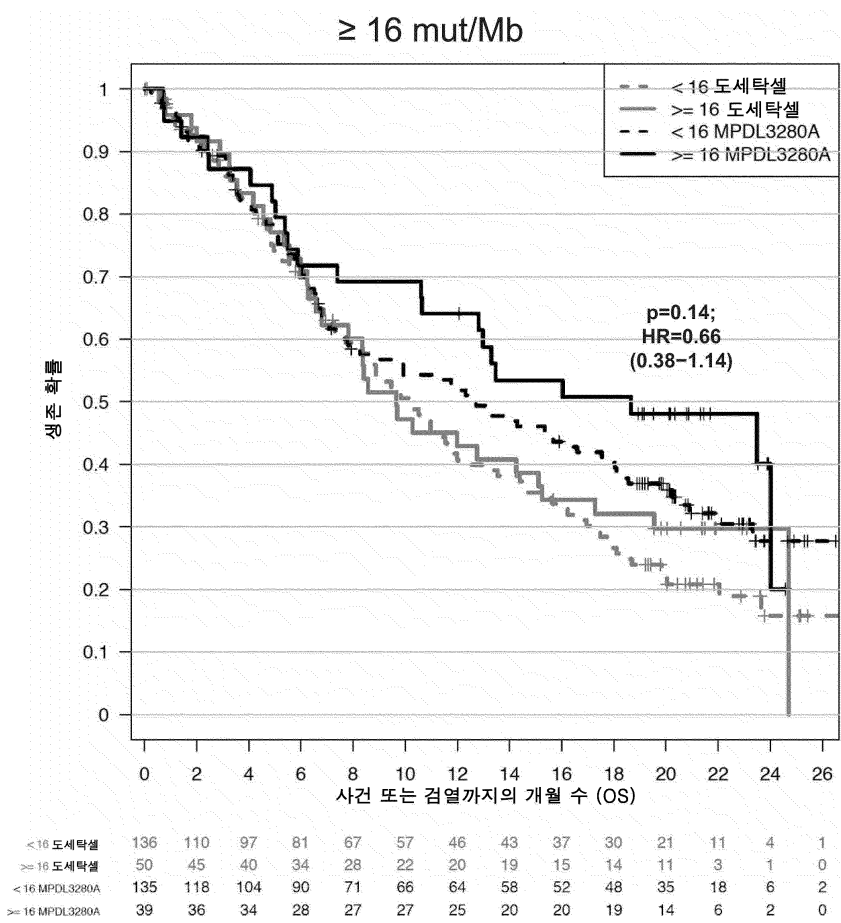
도면12a



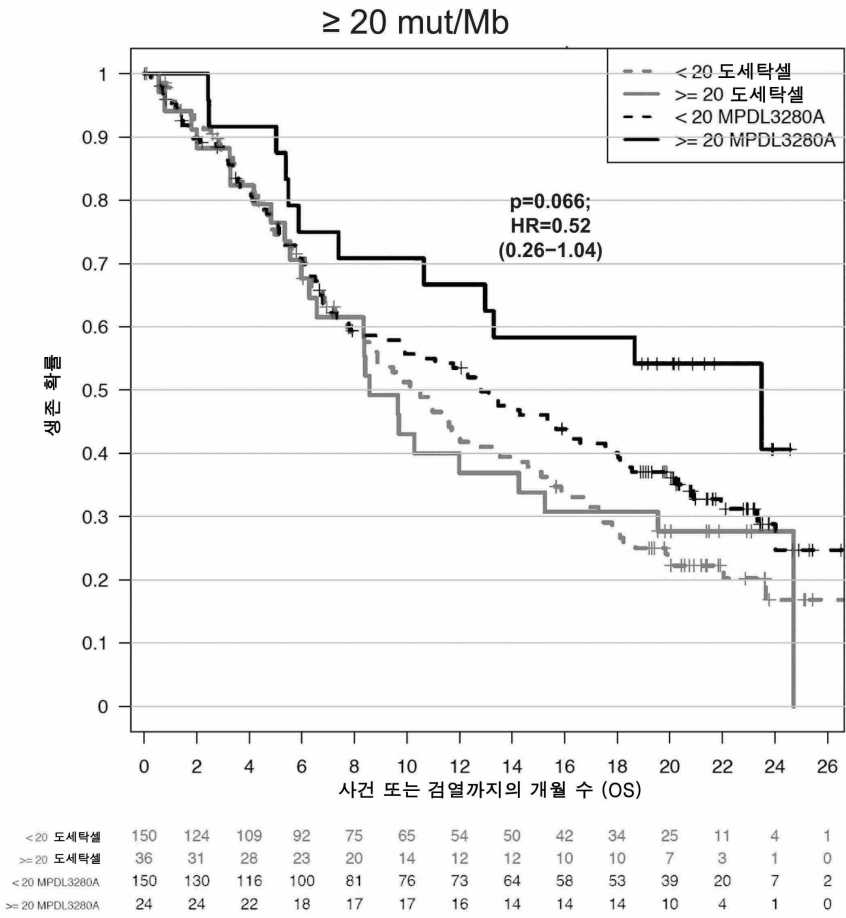
도면12b



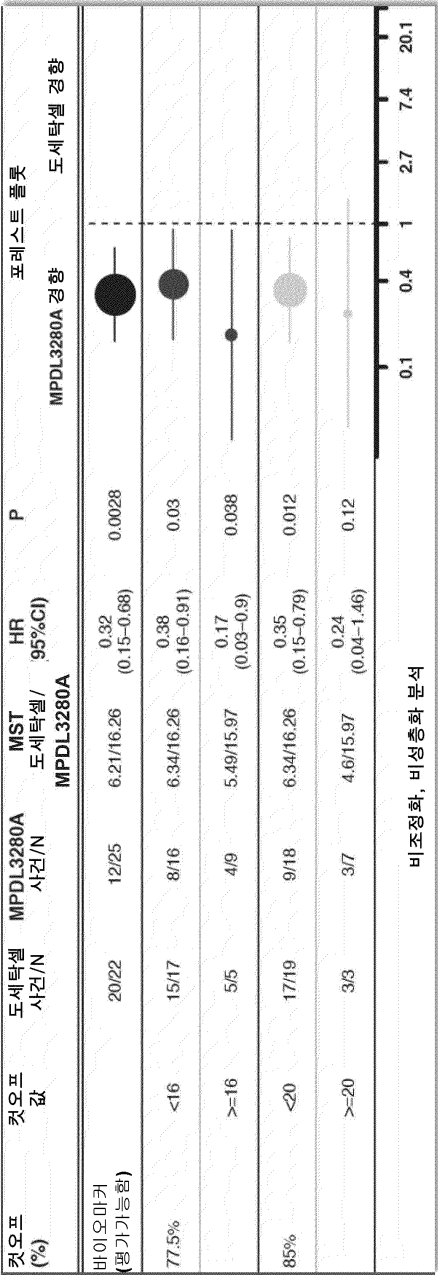
도면13a



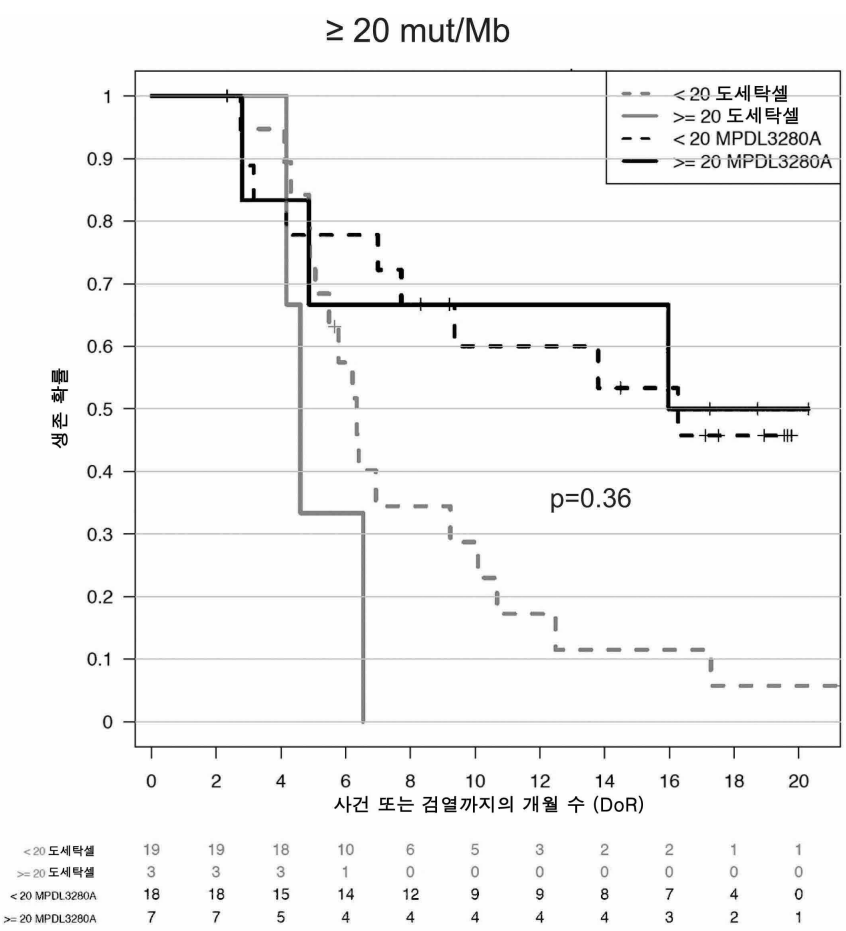
도면13b



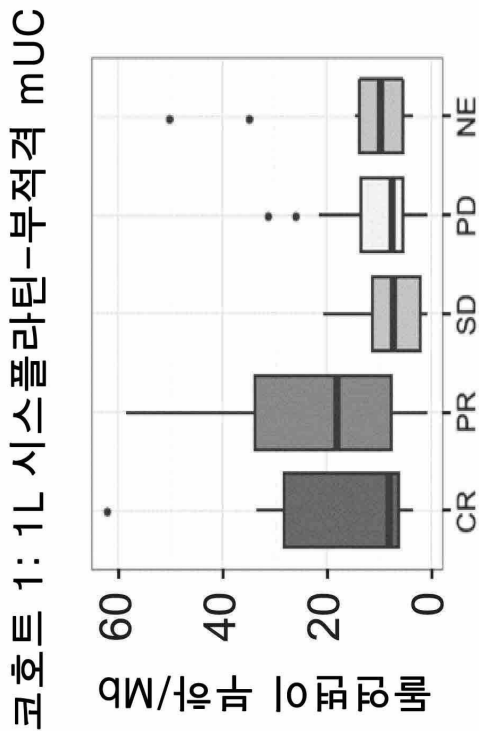
도면14a



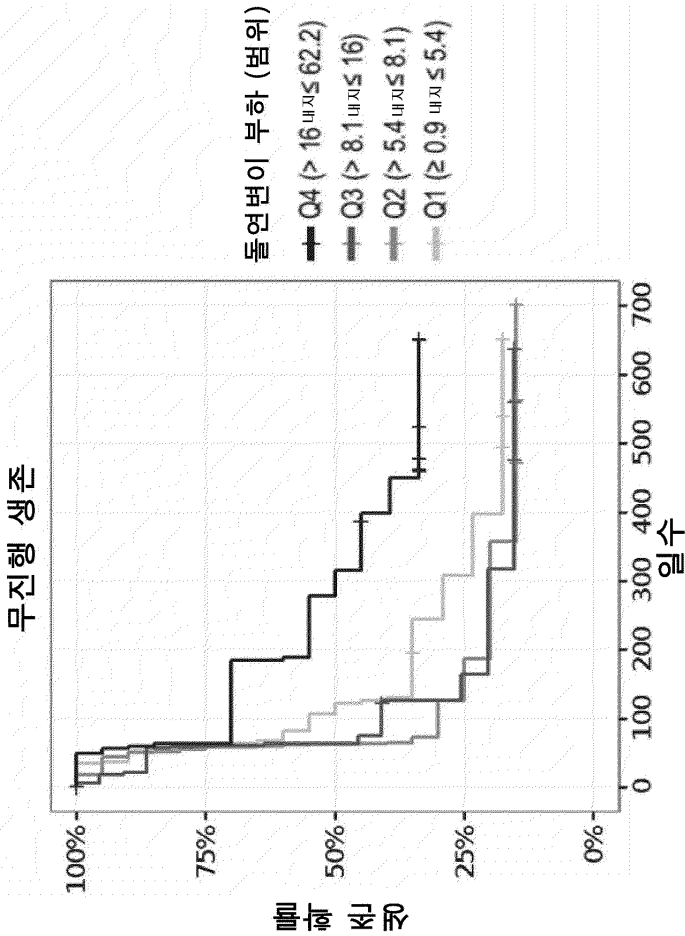
도면14c



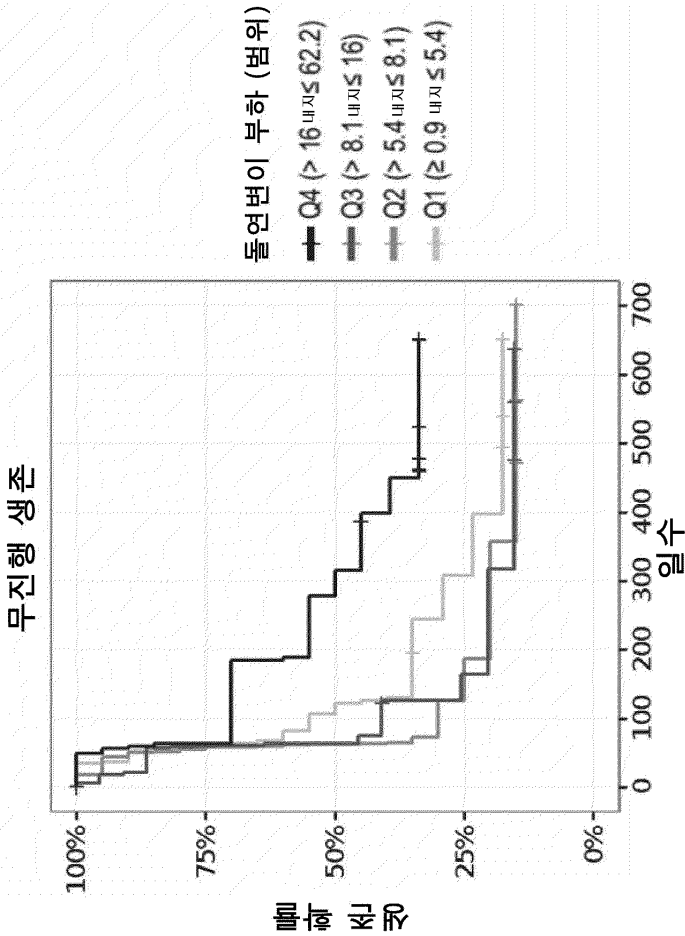
도면15a



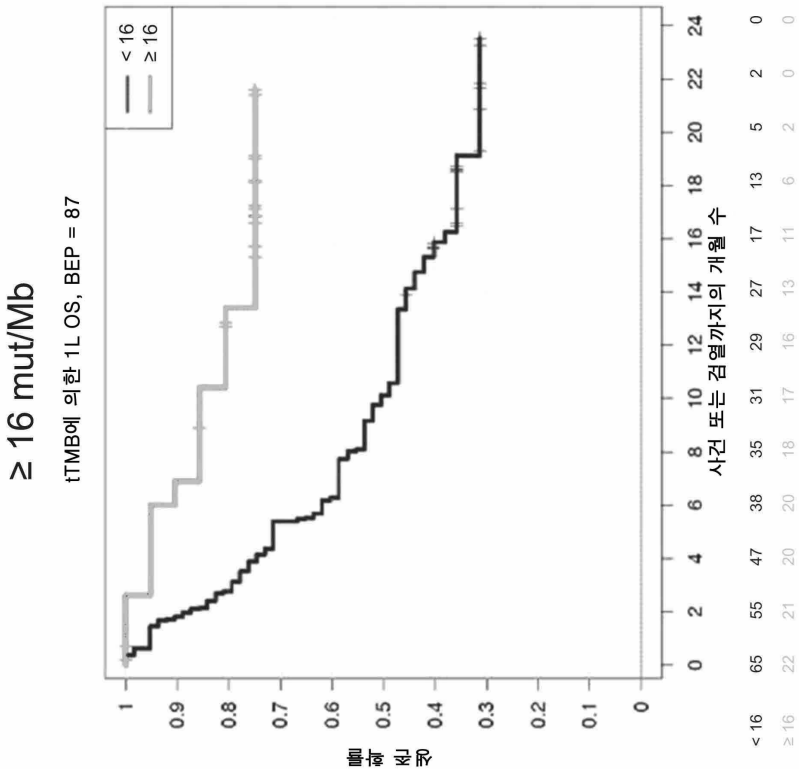
도면15b



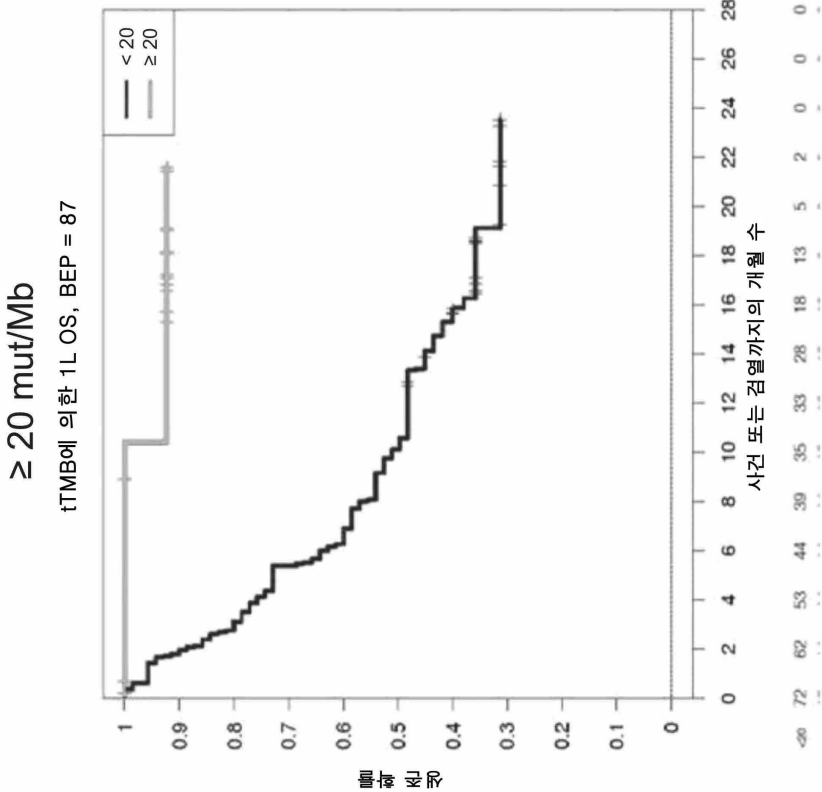
도면15c



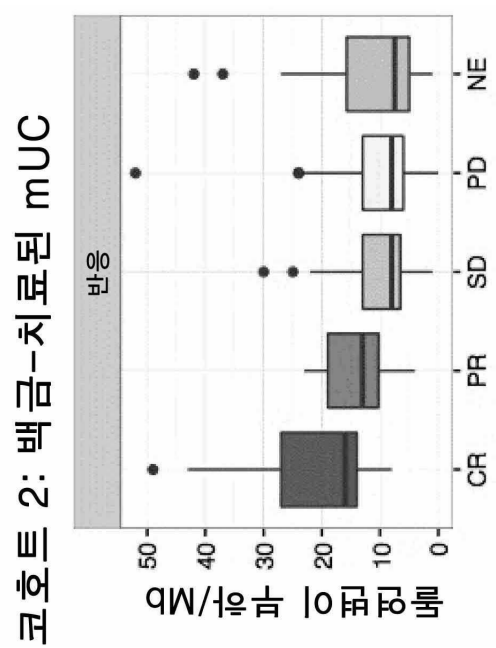
도면15d



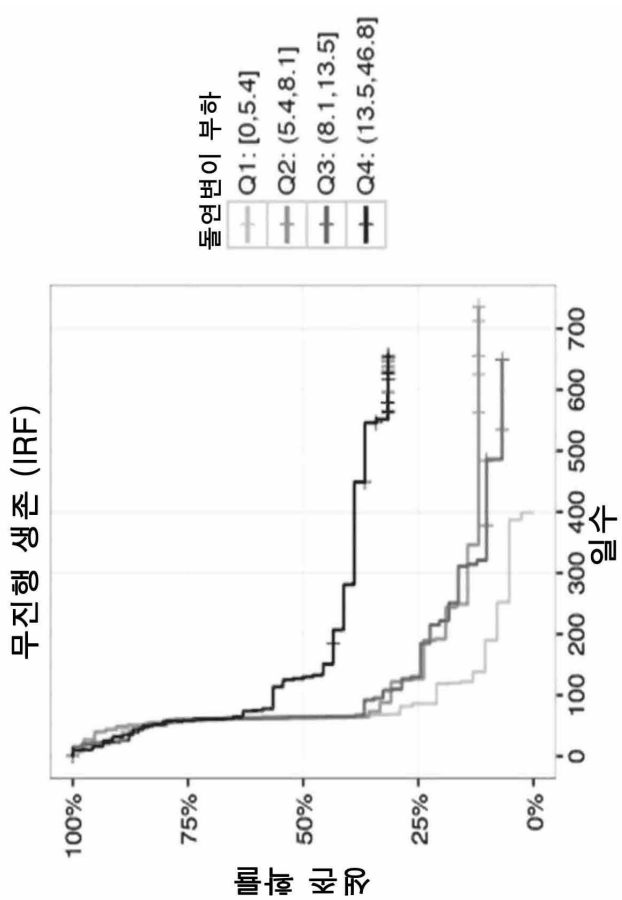
도면15e



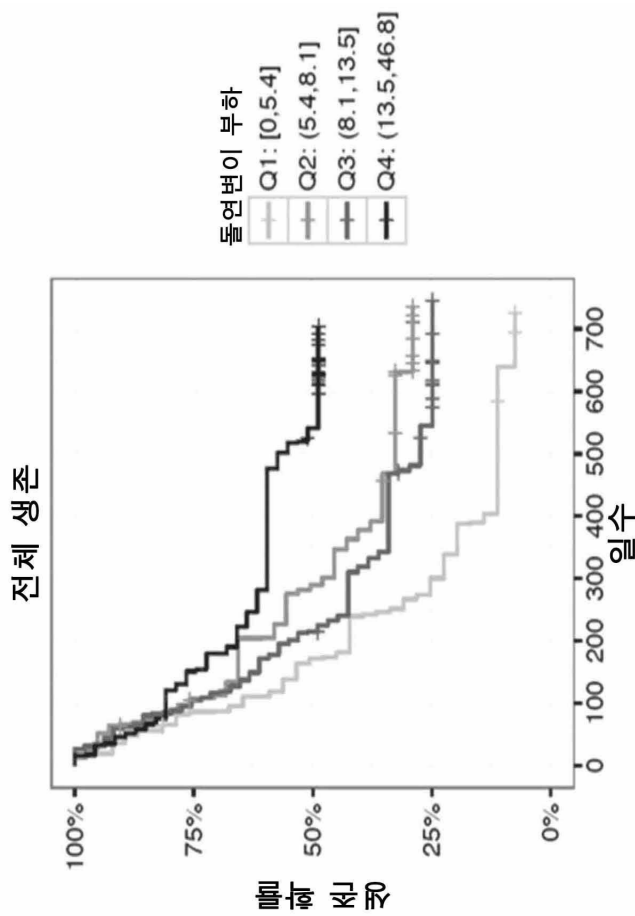
도면16a



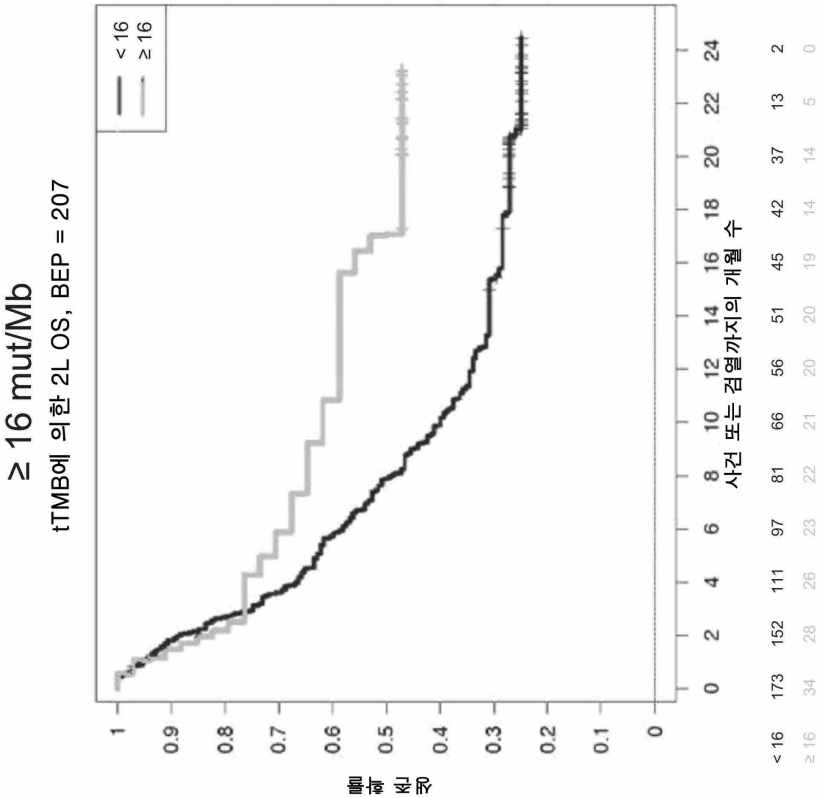
도면16b



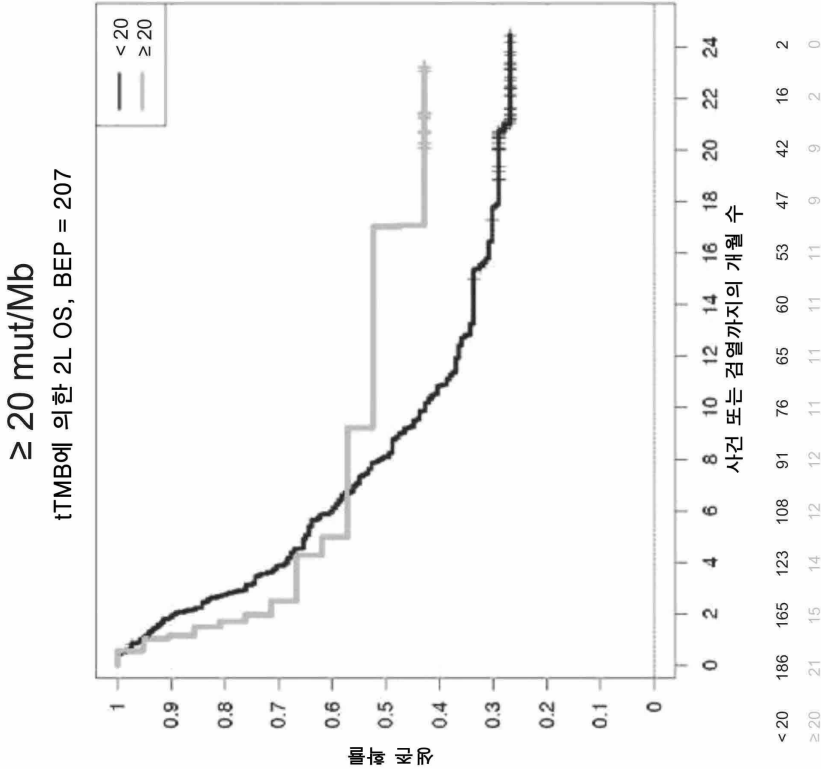
도면16c



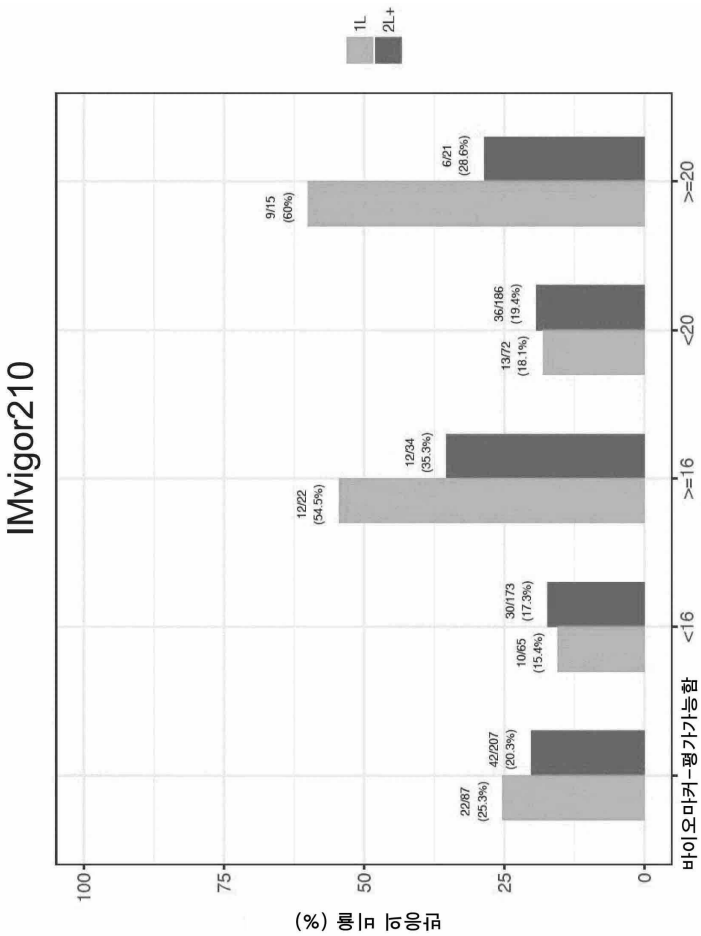
도면16d



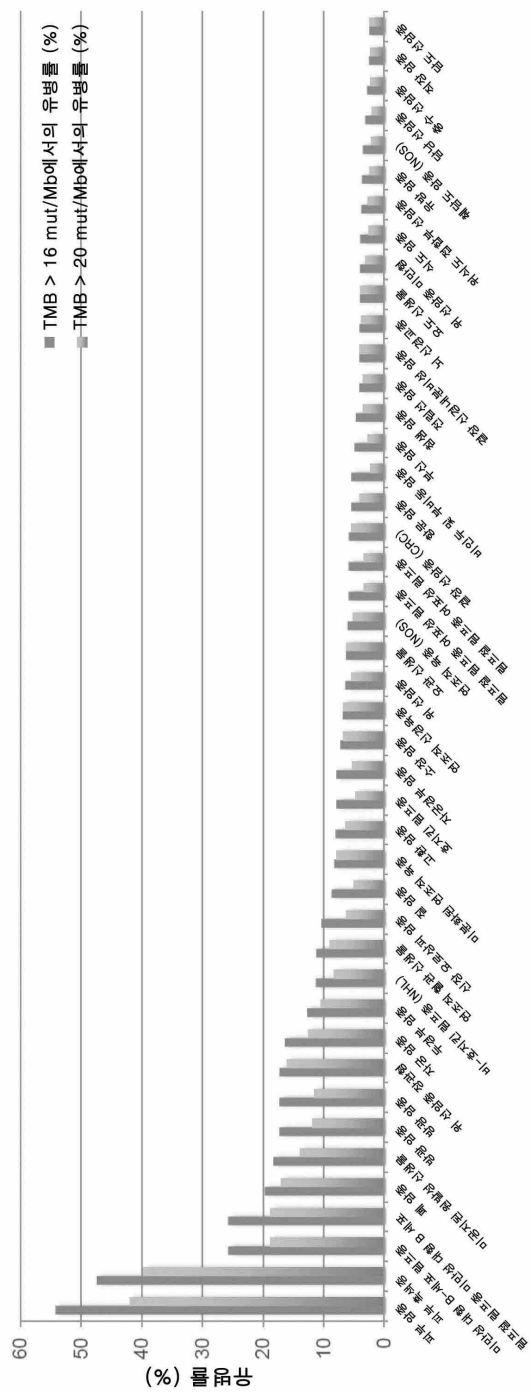
도면16e



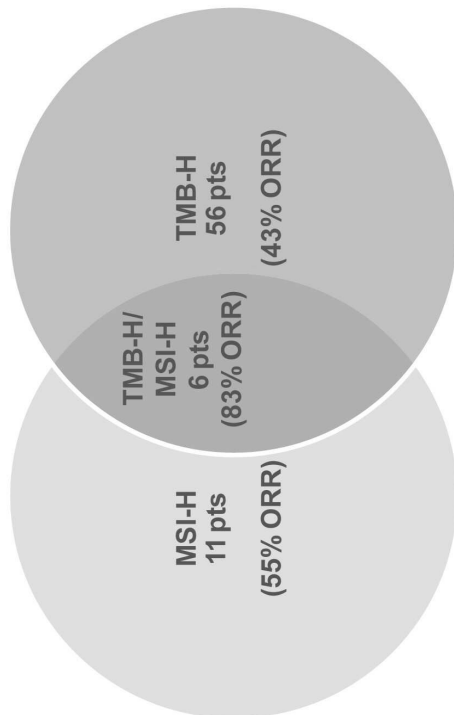
도면17



도면 18



도면 19



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Genentech, Inc.

Foundation Medicine, Inc.

<120> THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC METHODS FOR CANCER

<130> 50474-151W02

<150> 62/405,209

<151> 2016-10-06

<160> 31

<170> PatentIn version 3.5

 $\langle 210 \rangle$ 1

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

 $\langle 400 \rangle$ 1

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

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys

180 185 190

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

195 200 205

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala

210 215 220

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val

260 265 270
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

275 280 285
Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 2

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 3

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 3

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 Ser

115

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 4

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> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Asp or Gly

<400> 5

Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 6

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Ser or Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Thr or Ser

<400> 6

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 7

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 8

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 8

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 9

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

1 5 10

<210> 10

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 11

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Asp or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Val or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Ser or Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Ala or Phe

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Val or Leu

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ala

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Phe or Thr

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Tyr or Ala

<400> 13

Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Tyr, Gly, Phe, or Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Leu, Tyr, Phe, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222>

(6)..(6)

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

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

<400> 14

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 15

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 15

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 16

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

1 5 10 15

<210> 17

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20

25

30

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 18

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 19

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 20

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 20

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 21

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 23

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 24

Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr

1 5

<210> 25

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400>

25

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 Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120

<210> 26

<211> 10

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 26

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 27

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 27

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
 20 25 30

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 28

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

1 5 10

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 29

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

1 5 10 15

<210> 30

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 30

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser 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 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 31

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 31

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 Thr Val Ala Ala
 100 105 110

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

115

120

125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130

135

140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145

150

155

160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210