

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2021-0093950
(43) 공개일자 2021년07월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/20 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/2046 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7018253

(22) 출원일자(국제) 2019년11월15일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2021년06월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2019/061813

(87) 국제공개번호 WO 2020/102728

국제공개일자 2020년05월22일

(30) 우선권주장

62/768,355 2018년11월16일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인

네오이뮤텍, 인코퍼레이티드

미국, 메릴랜드 20850, 록빌, 스위트 250, 리서치
블러바드 2400

주식회사 제넥신

경기도 성남시 분당구 대왕판교로 700, B동 4층
(삼평동, 코리아 바이오 파크)

(72) 발명자

이승우

경상북도 포항시 남구 청암로 77 포항공과대학교
생명공학연구센터 204호

김지해

경상북도 포항시 남구 청암로 77 포항공과대학교
생명공학연구센터 204호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인한얼

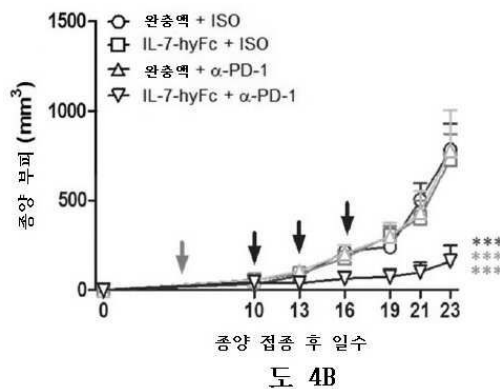
전체 청구항 수 : 총 79 항

(54) 발명의 명칭 IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합으로 종양을 치료하는 방법

(57) 요약

본 개시내용은 면역 관문 저해제, 예컨대, PD-1 길항제(예를 들어, 항-PD-1 항체) 또는 CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체)와 조합하여 IL-7 단백질을 암(또는 종양)을 치료하는 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/6813 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/54 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

조선헌별

경상북도 포항시 남구 청암로 77 포항공과대학교
 생명공학연구센터 204호

박한옥

경상북도 포항시 남구 청암로 77 포항공과대학교
 생명공학연구센터 204호

최 동훈

미국, 메릴랜드 20850, 록빌, 스위트 250, 2400 리
 서치 블러바드

이 병하

미국, 메릴랜드 20850, 록빌, 스위트 250, 2400 리
 서치 블러바드

성영철

경상북도 포항시 남구 대이로 100 101동 601호 (대
 잠동, 이동현대홈타운아파트)

양세환

경기도 성남시 분당구 서관교로 108번길 8

(30) 우선권주장

62/826,734 2019년03월29일 미국(US)
 62/896,484 2019년09월05일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

종양의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 종양을 치료하는 방법으로서, 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 예정사-1(PD-1) 경로 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 종양 부피는 상기 PD-1 경로 저해제 단독 또는 상기 IL-7 단백질 단독의 투여 후의 기준 종양 부피와 비교하여 상기 투여 후 상기 대상체에서 감소되는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 종양 부피는 상기 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 감소되는, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 종양에서 종양 침윤 림프구(TIL)의 수는 상기 PD-1 경로 저해제 단독 또는 상기 IL-7 단백질 단독의 투여 후의 종양에서의 TIL의 수와 비교하여 투여 후 증가되는, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 TIL은 $CD4^+$ TIL인, 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 TIL은 $CD8^+$ TIL인, 방법.

청구항 6

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TIL의 수는 상기 투여 후 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가되는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체는 상기 투여 전에 림프구감소증을 나타내는, 방법.

청구항 8

종양의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양을 치료하는 방법으로서, 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 예정사-1(PD-1) 경로 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 대상체는 림프구감소증을 나타내는, 방법.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 림프구감소증을 나타내는 인간 대상체는 T 림프구감소증, B 림프구감소증 및/또는 NK 림프구감소증을 가지는, 방법.

청구항 10

제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 상기 종양에 의해 유발되거나 상기 종양과 연관되는, 방법.

청구항 11

제7항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 상기 종양에 대한 이전 요법에 의해 유발되거나 이와 연관되는, 방법.

청구항 12

제7항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 감염, 심장 우심실의 만성 부전, 호지킨병 및 림프계의 암, 백혈병, 흉관 누수 또는 과열, 항암제(예를 들어, 화학요법), 항바이러스제, 및 글루코코르티코이드를 포함한 처방약의 부작용, 단백질이 낮은 식단으로 인한 영양실조, 방사선요법, 요독증, 자가면역 장애, 면역 결핍 증후군, 높은 스트레스 수준, 외상, 흥선절제, 또는 이들의 조합에 의해 유발되는, 방법.

청구항 13

제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 특발성인, 방법.

청구항 14

제7항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 특발성 CD4 양성 T-림프구감소증(ICL), 급성 방사선 증후군(ARS), 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 15

제7항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 림프구감소증을 나타내지 않는 상응하는 대상체의 순환 혈액 총 림프구 수와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 더 적은 순환 혈액 총 림프구 수를 특징으로 하는, 방법.

청구항 16

제7항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 림프구감소증은 약 1,500개 림프구/ μl 미만, 약 1,000개 림프구/ μl 미만, 약 800개 림프구/ μl 미만, 약 500개 림프구/ μl 미만, 또는 약 200개 림프구/ μl 미만의 순환 혈액 총 림프구 수를 특징으로 하는, 방법.

청구항 17

제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양에서 종양 침윤 림프구(TIL)의 수는 상기 PD-1 경로 저해제 단독 또는 상기 IL-7 단백질 단독의 투여 후의 종양에서의 TIL의 수와 비교하여 투여 후 증가되는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 TIL의 수는 상기 투여 후 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가되는, 방법.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 TIL은 CD4^+ TIL인, 방법.

청구항 20

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 TIL은 CD8^+ TIL인, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 야생형 IL-7이 아닌 것인, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 1 내지 10개의 아미노산 잔기로 이루어진 올리

고펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 올리고펩타이드는 메티오닌, 글리신, 메티오닌-메티오닌, 글리신-글리신, 메티오닌-글리신, 글리신-메티오닌, 메티오닌-메티오닌-메티오닌, 메티오닌-메티오닌-글리신, 메티오닌-글리신-메티오닌, 글리신-메티오닌-메티오닌, 메티오닌-글리신-글리신, 글리신-메티오닌-글리신, 글리신-글리신-메티오닌, 및 글리신-글리신-글리신으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 올리고펩타이드는 메티오닌-글리신-메티오닌인, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 반감기 연장 모이어티를 포함하는, 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 반감기 연장 모이어티는 Fc, 알부민, 알부민-결합 폴리펩타이드, Pro/Ala/Ser(PAS), 인간 용모성 생식선 자극호르몬의 β 서브유닛의 C-말단 펩타이드(CTP), 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 아미노산의 구조화되지 않은 긴 친수성 서열(XTEN), 하이드록시에틸 전분(HES), 알부민-결합 소분자, 또는 이들의 조합물을 포함하는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 반감기 연장 모이어티는 Fc인, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 Fc는, 힌지 영역, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 하이브리드 Fc이되,
상기 힌지 영역은 인간 IgD 힌지 영역을 포함하고,
상기 CH2 도메인은 인간 IgD CH2 도메인의 일부 및 인간 IgG4 CH2 도메인의 일부를 포함하고, 그리고
상기 CH3 도메인은 인간 IgG4 CH3 도메인의 일부를 포함하는, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 서열번호 1 내지 6 및 15 내지 25와 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%의 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 포함하는, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체는 니볼루맵, 펌브로리주맵, MEDI0608, AMP-224, PDR001, BGB-A317, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736, MSB0010718C, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질 및 상기 PD-1 경로 저해제는 동시에 투여되는, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질 및 상기 PD-1 경로 저해제는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 상기 PD-1 경로 저해제를 투여하기 전에 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양은 유방암, 두경부암, 자궁암, 뇌암, 피부암, 신장암 (renal cancer), 폐암, 결장직장암, 전립선암, 간암, 방광암, 신장암, 췌장암, 갑상선암, 식도암, 안암, 위암, 위장암, 난소암, 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종, 또는 이들의 조합을 포함하는 암으로부터 유래된 것인, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 유방암은 삼중음성 유방암(TNBC)인, 방법.

청구항 38

제36항에 있어서, 상기 뇌암은 교모세포종인, 방법.

청구항 39

제36항에 있어서, 상기 피부암은 기저세포 암종(BCC), 피부 편평세포 암종(cSCC), 흑색종, 메르켈 세포 암종(MCC), 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 40

제36항에 있어서, 상기 두경부암은 두경부 편평세포 암종인, 방법.

청구항 41

제36항에 있어서, 상기 폐암은 소세포 폐암(SCLC)인, 방법.

청구항 42

제36항에 있어서, 상기 식도암은 위식도 접합부위 암인, 방법.

청구항 43

제36항에 있어서, 상기 신장암은 신세포 암종인, 방법.

청구항 44

제36항에 있어서, 상기 간암은 간세포 암종인, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 비경구, 근육내, 피하, 안구, 정맥내, 복강내, 피내, 안와내, 대뇌내, 두개내, 척수내, 심실내, 척추강내, 수조내(intracistemally), 피막내, 또는 종양내로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 비경구, 근육내, 피하, 정맥내, 또는 복

강내로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 47

종양의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 종양을 치료하는 방법으로서, 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 CTLA-4 경로 저해제와 조합하여 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 종양 부피는 상기 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 감소되는, 방법.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, 상기 인간 대상체는 투여 전에 림프구감소증을 나타내는, 방법.

청구항 50

제47항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CTLA-4 경로 저해제는 항-CTLA-4 항체를 포함하는, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙, 트레멜리무맙(티실리무맙; CP-675,206), AGEN-1884, 또는 이들의 조합물을 포함하는, 방법.

청구항 52

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질 및 상기 CTLA-4 경로 저해제는 동시에 투여되는, 방법.

청구항 53

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질 및 상기 CTLA-4 경로 저해제는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 상기 CTLA-4 경로 저해제를 투여하기 전에 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 55

제47항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양은 유방암, 두경부암, 자궁암, 뇌암, 피부암, 신장암, 폐암, 결장직장암, 전립선암, 간암, 방광암, 신장암, 췌장암, 갑상선암, 식도암, 안암, 위암, 위장암, 난소암, 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종, 또는 이들의 조합을 포함하는 암으로부터 유래되는, 방법.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 약 600 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 900 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,100 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,300 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,400 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,500 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,600 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,700 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,800 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,900 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$ 초과 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 약 610 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 650 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 850 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 900 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 950 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,050 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약

1,100 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,300 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,500 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 610 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 650 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 850 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 900 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 950 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 900 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 950 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 800 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 900 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 850 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 950 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 약 650 $\mu\text{g/kg}$, 약 680 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$, 약 720 $\mu\text{g/kg}$, 약 740 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$, 약 760 $\mu\text{g/kg}$, 약 780 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$, 약 820 $\mu\text{g/kg}$, 약 840 $\mu\text{g/kg}$, 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 약 860 $\mu\text{g/kg}$, 약 880 $\mu\text{g/kg}$, 약 900 $\mu\text{g/kg}$, 약 920 $\mu\text{g/kg}$, 약 940 $\mu\text{g/kg}$, 약 950 $\mu\text{g/kg}$, 약 960 $\mu\text{g/kg}$, 약 980 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,020 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,040 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,060 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,080 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,100 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,120 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,140 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,160 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,180 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,220 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,240 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,260 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,280 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,300 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,320 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,340 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,360 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,380 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,400 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,420 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,440 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,460 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,480 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,500 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,520 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,540 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,560 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,580 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,600 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,620 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,640 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,660 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,680 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,700 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,720 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,740 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,760 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,780 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,800 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,820 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,840 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,860 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,880 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,900 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,920 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,940 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,960 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,980 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 8주에 1회, 9주에 1회, 10주에 1회, 11주에 1회, 또는 12주에 1회의 투약 빈도로 투여되는, 방법.

청구항 61

제1항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 비경구로 투여되는, 방법.

청구항 62

제1항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질, PD-1 경로 저해제 및/또는 CTLA-4 경로 저해제는 증량제, 안정화제, 계면활성제, 완충제, 또는 이들의 조합물을 포함하는 조성물로 제형화되는, 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 니볼루맵이고, 상기 조성물은 (a) 만니톨(예를 들어, 약 30mg), (b) 펜테틴산(예를 들어, 약 0.008mg), (c) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg) 및 (d) 염화나트륨(예를 들어, 약 2.92mg), 및 (e) 소듐 시트레이트 탈수화물(예를 들어, 약 5.88mg)을 포함하는, 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 240mg 또는 4주마다 약 480mg의 고정 용량으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 66

제64항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 3 mg/kg의 체중-기반 용량으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 67

제63항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 펌브로리주맙이고, 상기 조성물은 (a) L-히스티딘(예를 들어, 약 1.55mg), (b) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg), 및 (c) 수크로스(예를 들어, 약 70mg)를 포함하는, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 3주마다 약 200mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 69

제67항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 3주마다 약 2 mg/kg의 중량-기반 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 70

제63항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 아테졸리주맙이고 상기 조성물은 (a) 빙초산(예를 들어, 약 16.5 mg), (b) L-히스티딘(예를 들어, 약 62mg), (c) 수크로스(예를 들어, 약 821.6mg), 및 (d) 폴리솔베이트 20(예를 들어, 약 8mg)을 포함하는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 3주마다 약 1200mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 72

제63항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 더발루맙이고 상기 조성물은 (a) L-히스티딘(예를 들어, 약 2mg), (b) L-히스티딘 하이드로클로라이드 일수화물(예를 들어, 약 2.7mg), (c) α, α -트레할로스 이수화물(예를 들어, 약 104mg), 및 (d) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg)을 포함하는, 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 10mg의 중량-기반 용량으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 74

제63항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 아벨루맙이고, 상기 조성물은 (a) D-만니톨(예를 들어, 약 51mg), (b) 빙초산(예를 들어, 약 0.6mg), (c) 폴리솔베이트 20(예를 들어, 약 0.5mg), 및 (d) 수산화나트륨(예를 들어, 약 0.3mg)을 포함하는, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 800mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 76

제63항에 있어서, 상기 CTLA-4 경로 저해제는 이필리무맙이고, 상기 조성물은 (a) 다이에틸렌 트라이아민 펜타 아세트산(DTPA)(예를 들어, 약 0.04mg), (b) 만니톨(예를 들어, 약 10mg), (c) 폴리솔베이트 80(식물성 기원)(예를 들어, 약 0.1mg), (d) 염화나트륨(예를 들어, 약 5.85mg), 및 (e) 트리스 하이드로클로라이드(예를 들어, 약 3.15mg)를 포함하는, 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 CTLA-4 경로 저해제는 3주마다 약 3 mg/kg의 중량-기반 용량으로 상기 대상체에게 투여

되는, 방법.

청구항 78

제76항에 있어서, 상기 CTLA-4 경로 저해제는 4회 용량에 대해 3주마다 약 10 mg/kg, 그 다음 12주마다 10 mg/kg의 중량-기반 용량으로 상기 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 79

제63항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-7 단백질은 (a) 소듐 시트레이트(예를 들어, 약 20mM), (b) 수크로스(예를 들어, 약 5%), (c) 솔비톨(예를 들어, 약 1.5%), 및 (d) Tween 80(예를 들어, 약 0.05%)을 포함하는 조성물로 제형화되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 PCT 출원은 2018년 11월 16일자로 출원된 미국 가출원 제62/768,355호; 2019년 3월 29일자로 출원된 미국 가출원 제62/826,734호; 및 2019년 9월 5일자로 출원된 미국 가출원 제62/896,484의 우선권 이익을 주장하며, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0003] EFS-웹(WEB)을 통해 전자적으로 제출된 서열목록에 대한 참조

[0004] 출원과 함께 제출된 ASCII 텍스트 파일(명칭: 4241_002PC03_SequenceListing_ST25.txt; 크기: 78,087 바이트; 생성일: 2019년 11월 14일)로 전자적으로 제출된 서열 목록의 내용은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

배경 기술

[0005] 인간 암은 수 많은 유전적 및 후성적 변형을 보유하며, 이는 면역계에 의해 잠재적으로 인식가능한 신생항원을 생성한다. 문헌[Sjoblom *et al.*, *Science* 314:268-74 (2006)]. T 및 B 림프구로 구성된 적응 면역계는 강력한 항암 잠재력을 가지며, 다양한 종양 항원에 반응하는 광범위한 능력 및 정교한 특이성을 가진다. 또한, 면역계는 상당한 가소성과 기억 성분을 보여준다. 적응 면역계의 이러한 모든 속성의 성공적인 활용은 면역요법을 모든 암 치료 양식 중에서 특별하게 만들 것이다.

[0006] 암 면역요법은 최근 몇 년 동안 잘 확립되었으며, 현재 다수의 암 환자가 이용 가능한 보다 성공적인 치료 옵션 중 하나이다. 문헌[Scott, A.M., *et al.*, *Cancer Immun* 12:14 (2012)]. 암 세포 증식 및 생존에 관여하는 항원을 표적화하는 것 이외에, 항체는 또한 암 면역 감시에 중요한 면역학적 경로를 활성화시키거나 길항할 수 있다. 그리고, 집중적인 노력으로 몇 가지 면역 관문 경로 저해제가 성공적으로 개발되었으며, 이들 중 일부, 예를 들어 항-CTLA-4 항체: 이필리무맙(YERVOY[®]); 항-PD-1 항체: 니볼루맙(OPDIVO[®]); 펌프로리주맙(KEYTRUDA[®]); 및 항-PD-L1 항체: 아테졸리주맙(TECENTRIQ[®]), 더발루맙(IMFINZI[®]), 아벨루맙(BAVENCIO[®])은 미국 식품의 약국의 승인을 받았다.

[0007] 이와 같은 발전에도 불구하고, 특정 양성 종양(예를 들어, 전이성 또는 불응성 고형 종양)이 있는 환자는 계속해서 매우 나쁜 예후를 가진다. 이와 같은 환자 중 단지 일부만이 실제로 장기적인 암 관해를 경험하며, 많은 환자가 반응하지 않거나 초기에는 반응하지만 결국 항체에 대한 내성을 발달시킨다. 문헌[Sharma, P., *et al.*, *Cell* 168(4): 707-723 (2017)]. 더욱이, 다수의 이용 가능한 표준 치료 암 치료법(예를 들어, 화학요법 및 방사선요법)은 림프구감소증을 유발하는 것으로 알려져 있으므로, 많은 암 환자에는 림프구감소증이 있다. 문헌[Grossman, S.A., *et al.*, *J Natl Compr Canc Netw* 13(10):1225-31 (2015)]. 관문 저해제, 예컨대, 항-PD-1 항체는 이와 같은 암 환자에서 제한된 효능을 가지는 것으로 나타났다. 문헌[Yarchoan, M., *et al.*, *J Clin Oncol* 35:e14512 (2017)]. 따라서, 림프구감소증 환자를 포함하여 암 환자에서 허용 가능한 안전성 프로파일과 높은 효능을 가지는 새로운 치료 옵션에 대한 요구가 여전히 남아있다.

발명의 내용

- [0008] 유효량의 인터류킨-7(interleukin-7: IL-7) 단백질을 유효량의 예정사-1(Programmed Death-1: PD-1) 경로 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 종양을 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공되며, 여기서 종양 부피는 PD-1 경로 저해제 단독 또는 IL-7 단백질 단독의 투여 후의 기준 종양 부피와 비교하여 투여 후 대상체에서 감소된다. 일부 양태에서, 종양 부피는 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 감소된다.
- [0009] 일부 양태에서, 본 개시내용의 방법은 PD-1 경로 저해제 단독 또는 IL-7 단백질 단독의 투여 후 종양에서 종양 침윤 림프구(TIL)의 수와 비교하여 투여 후 종양에서의 TIL의 수를 증가시킨다. 특정 양태에서, TIL은 $CD4^+$ TIL이다. 다른 양태에서, TIL은 $CD8^+$ TIL이다. 일부 양태에서, TIL의 수는 투여 후 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.
- [0010] 일부 양태에서, 인간 대상체는 투여 전에(즉, 본 명세서에 기재된 바와 같이) 림프구감소증을 나타낸다.
- [0011] 또한, 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 예정사-1(PD-1) 경로 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양을 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공되며, 여기서 대상체는 림프구감소증을 나타낸다.
- [0012] 일부 양태에서, 림프구감소증을 나타내는 인간 대상체는 T 림프구감소증, B 림프구감소증, 및/또는 NK 림프구감소증을 가진다. 일부 양태에서, 림프구감소증은 종양에 의해 유발되거나 종양과 연관된다. 특정 양태에서, 림프구감소증은 종양에 대한 이전 요법에 의해 유발되거나 이와 연관된다. 추가 양태에서, 림프구감소증은 감염, 심장 우심실의 만성 부전, 호지킨병 및 림프계의 암, 백혈병, 흉관 누수 또는 파열, 항암제(예를 들어, 화학요법), 항바이러스제, 및 글루코코르티코이드를 포함한 처방약의 부작용, 단백질이 낮은 식단으로 인한 영양실조, 방사선요법, 요독증, 자가면역 장애, 면역 결핍 증후군, 높은 스트레스 수준, 외상, 흥선절제, 또는 이들의 조합에 의해 유발된다. 특정 양태에서, 림프구감소증은 특발성이다. 특정 양태에서, 림프구감소증은 특발성 $CD4$ 양성 T-림프구감소증(ICL), 급성 방사선 증후군(ARS), 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0013] 일부 양태에서, 림프구감소증은 림프구감소증을 나타내지 않는 상응하는 대상체의 순환 혈액 총 림프구 수와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 더 적은 순환 혈액 총 림프구 수를 특징으로 한다. 특정 양태에서, 림프구감소증은 약 1,500개 림프구/ μ l 미만, 약 1,000개 림프구/ μ l 미만, 약 800개 림프구/ μ l 미만, 약 500개 림프구/ μ l 미만, 또는 약 200개 림프구/ μ l 미만의 순환 혈액 총 림프구 수를 특징으로 한다.
- [0014] 일부 양태에서, 림프구감소증을 나타내는 대상체의 종양에서 종양 침윤 림프구(TIL)의 수는 상기 PD-1 경로 저해제 단독 또는 IL-7 단백질 단독의 투여 후의 종양에서의 TIL의 수와 비교하여 투여 후 증가된다. 특정 양태에서, TIL의 수는 투여 후 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다. 일부 양태에서, TIL은 $CD4^+$ T 세포이다. 일부 양태에서, TIL은 $CD8^+$ T 세포이다.
- [0015] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 야생형 IL-7이 아니다.
- [0016] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1 내지 10개의 아미노산 잔기로 이루어진 올리고펩타이드를 포함한다. 특정 양태에서, 올리고펩타이드는 메티오닌, 글리신, 메티오닌-메티오닌, 글리신-글리신, 메티오닌-글리신, 글리신-메티오닌, 메티오닌-메티오닌-메티오닌, 메티오닌-메티오닌-글리신, 메티오닌-글리신-메티오닌, 글리신-메티오닌-메티오닌, 메티오닌-글리신-글리신, 글리신-메티오닌-글리신, 글리신-글리신-메티오닌, 및 글리신-글리신-글리신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 올리고펩타이드는 메티오닌-글리신-메티오닌이다.
- [0017] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 반감기 연장 모이어티를 포함한다. 특정 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 Fc, 알부민, 알부민-결합 폴리펩타이드, Pro/Ala/Ser(PAS), 인간 융모성 생식선 자극호르몬의 β 서브유닛의 C-말단 펩타이드(CTP), 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 아미노산의 구조화되지 않은 긴 친수성 서열(XTEN), 하이드록시에틸

전분(HES), 알부민-결합 소분자, 또는 이들의 조합물을 포함한다.

- [0018] 일부 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 Fc이다. 특정 양태에서, Fc는, 힌지 영역, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 하이브리드 Fc이며, 여기서 힌지 영역은 인간 IgD 힌지 영역을 포함하고, CD2 도메인은 인간 IgD CH2 도메인의 일부 및 인간 IgG4 CH2 도메인의 일부를 포함하며, CH3 도메인은 인간 IgG4 CH3 도메인의 일부를 포함한다.
- [0019] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 서열번호 1 내지 6 및 15 내지 25와 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%의 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0020] 일부 양태에서, 본 방법과 함께 사용될 수 있는 PD-1 경로 저해제는 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 포함한다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵, 펌브로리주맵, MEDI0608, AMP-224, PDR001, BGB-A317, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736, MSB0010718C, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0021] 일부 양태에서, IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제는 동시에 투여된다. 다른 양태에서, IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제는 순차적으로 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 PD-1 경로 저해제를 투여하기 전에 대상체에게 투여된다.
- [0022] 일부 양태에서, 종양은 유방암, 두경부암, 자궁암, 뇌암, 피부암, 신장암(renal cancer), 폐암, 결장직장암, 전립선암, 간암, 방광암, 신장암, 췌장암, 갑상선암, 식도암, 안암, 위암, 위장암, 난소암, 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종, 또는 이들의 조합을 포함하는 암으로부터 유래된다. 특정 양태에서, 유방암은 삼중음성 유방암(TNBC)이다. 특정 양태에서, 뇌암은 교모세포종이다. 일부 양태에서, 피부암은 기저세포 암종(BCC), 피부 편평 세포 암종(cSCC), 흑색종, 메르켈 세포 암종(MCC), 또는 이들의 조합이다. 추가 양태에서, 두경부암은 두경부 편평세포 암종이다. 일부 양태에서, 폐암은 소세포 폐암(SCLC)이다. 특정 양태에서, 식도암은 위식도 접합부위암이다. 일부 양태에서, 신장암은 신세포 암종이다. 일부 양태에서, 간암은 간세포 암종이다.
- [0023] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 비경구, 근육내, 피하, 안구, 정맥내, 복강내, 피내, 안와내, 대뇌내, 두개내, 척수내, 심실내, 척추강내, 수조내, 피막내, 또는 종양내로 대상체에게 투여된다.
- [0024] 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 비경구, 근육내, 피하, 정맥내, 또는 복강내로 대상체에게 투여된다.
- [0025] 또한, 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 CTLA-4 경로 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 종양을 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다. 특정 양태에서, 종양 부피는 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 감소된다. 일부 양태에서, 인간 대상체는 투여 전에 림프구감소증을 나타낸다.
- [0026] 일부 양태에서, CTLA-4 경로 저해제는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 특정 양태에서, 항-CTLA-4 항체는 이필리무맵, 트레멜리무맵(티실리무맵; CP-675,206), AGEN-1884, 또는 이들의 조합물을 포함한다.
- [0027] 일부 양태에서, IL-7 단백질 및 CTLA-4 경로 저해제는 동시에 투여된다. 다른 양태에서, IL-7 단백질 및 CTLA-4 경로 저해제는 순차적으로 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 CTLA-4 경로 저해제를 투여하기 전에 대상체에게 투여된다.
- [0028] 일부 양태에서, 종양은 유방암, 두경부암, 자궁암, 뇌암, 피부암, 신장암, 폐암, 결장직장암, 전립선암, 간암, 방광암, 신장암, 췌장암, 갑상선암, 식도암, 안암, 위암, 위장암, 난소암, 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종, 또는 이들의 조합으로부터 유래된다.
- [0029] 일부 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 단백질은 약 600 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 900 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,100 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,300 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,400 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,500 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,600 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,700 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,800 $\mu\text{g/kg}$ 초과, 약 1,900 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$ 초과 용량으로 투여된다.
- [0030] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 610 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 650 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 850 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 900 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 950 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,000

$\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,050 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,100 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,300 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,500 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 610 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 650 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 850 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 900 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 950 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다.

[0031] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 900 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 950 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 800 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 900 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 850 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 950 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다.

[0032] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 650 $\mu\text{g/kg}$, 약 680 $\mu\text{g/kg}$, 약 700 $\mu\text{g/kg}$, 약 720 $\mu\text{g/kg}$, 약 740 $\mu\text{g/kg}$, 약 750 $\mu\text{g/kg}$, 약 760 $\mu\text{g/kg}$, 약 780 $\mu\text{g/kg}$, 약 800 $\mu\text{g/kg}$, 약 820 $\mu\text{g/kg}$, 약 840 $\mu\text{g/kg}$, 약 850 $\mu\text{g/kg}$, 약 860 $\mu\text{g/kg}$, 약 880 $\mu\text{g/kg}$, 약 900 $\mu\text{g/kg}$, 약 920 $\mu\text{g/kg}$, 약 940 $\mu\text{g/kg}$, 약 950 $\mu\text{g/kg}$, 약 960 $\mu\text{g/kg}$, 약 980 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,000 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,020 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,040 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,060 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,080 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,100 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,200 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,220 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,240 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,260 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,280 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,300 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,320 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,340 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,360 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,380 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,400 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,420 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,440 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,460 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,480 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,500 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,520 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,540 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,560 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,580 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,600 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,620 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,640 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,660 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,680 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,700 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,720 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,740 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,760 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,780 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,800 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,820 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,840 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,860 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,880 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,900 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,920 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,940 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,960 $\mu\text{g/kg}$, 약 1,980 $\mu\text{g/kg}$, 또는 약 2,000 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다.

[0033] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 8주에 1회, 9주에 1회, 10주에 1회, 11주에 1회, 또는 12주에 1회의 투약 빈도로 투여된다.

[0034] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 비경구로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 정맥내로 투여된다.

[0035] 일부 양태에서, IL-7 단백질, PD-1 경로 저해제, 및/또는 CTLA-4 경로 저해제는 증량제, 안정화제, 계면활성제, 완충제, 또는 이들의 조합물을 포함하는 조성물로 제형화된다.

[0036] 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 니볼루맙이고, 조성물은 (a) 만니톨(예를 들어, 약 30mg), (b) 펜테틴산(예를 들어, 약 0.008mg), (c) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg) 및 (d) 염화나트륨(예를 들어, 약 2.92mg), 및 (e) 소듐 시트레이트 탈수화물(예를 들어, 약 5.88mg)을 포함한다. 특정 양태에서, PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 240mg 또는 4주마다 약 480mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 3 mg/kg의 체중-기반 용량으로 대상체에게 투여된다.

[0037] 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 팜브로리주맙이고, 조성물은 (a) L-히스티딘(예를 들어, 약 1.55mg), (b) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg), 및 (c) 수크로스(예를 들어, 약 70mg)를 포함한다. 특정 양태에서, PD-1 경로 저해제는 3주마다 약 200mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여된다. 추가 양태에서, PD-1 경로 저해제는 3주마다 약 2 mg/kg의 중량-기반 용량으로 대상체에게 투여된다.

[0038] 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 아테졸리주맙이고, 조성물은 (a) 빙초산(예를 들어, 약 16.5mg), (b) L-히스티딘(예를 들어, 약 62mg), (c) 수크로스(예를 들어, 약 821.6mg), 및 (d) 폴리솔베이트 20(예를 들어, 약 8 mg)을 포함한다. 특정 양태에서, PD-1 경로 저해제는 3주마다 약 1200mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여된다.

[0039] 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 더발루맙이고, 조성물은 (a) L-히스티딘(예를 들어, 약 2mg), (b) L-히스티딘 하이드로클로라이드 일수화물(예를 들어, 약 2.7mg), (c) α , α -트레할로스 이수화물(예를 들어, 약 104mg), 및 (d) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg)을 포함한다. 특정 양태에서, PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 10 mg의 중량-기반 용량으로 대상체에게 투여된다.

[0040] 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 아벨루맙이고, 조성물은 (a) D-만니톨(예를 들어, 약 51mg), (b) 빙초산(예를 들어, 약 0.6mg), (c) 폴리솔베이트 20(예를 들어, 약 0.5mg), 및 (d) 수산화나트륨(예를 들어, 약 0.3mg)을 포함한다. 일부 양태에서, PD-1 경로 저해제는 2주마다 약 800mg의 고정 용량으로 대상체에게 투여된다.

[0041] 일부 양태에서, CTLA-4 경로 저해제는 이필리루맙이고, 조성물은 (a) 다이에틸렌 트라이아민 펜타아세트산 (DTPA)(예를 들어, 약 0.04mg), (b) 만니톨(예를 들어, 약 10mg), (c) 폴리솔베이트 80(식물성 기원)(예를

들어, 약 0.1mg), (d) 염화나트륨(예를 들어, 약 5.85mg), 및 (e) 트리스 하이드로클로라이드(예를 들어, 약 3.15mg)를 포함한다. 특정 양태에서, CTLA-4 경로 저해제는 3주마다 약 3 mg/kg의 중량-기반 용량으로 대상체에 투여된다. 추가 양태에서, CTLA-4 경로 저해제는 4회 용량에 대해 3주마다 약 10 mg/kg, 그 다음 12주마다 10 mg/kg의 중량-기반 용량으로 대상체에 투여된다.

[0042]

일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 (a) 소듐 시트레이트(예를 들어, 약 20mM), (b) 수크로스(예를 들어, 약 5%), (c) 솔비톨(예를 들어, 약 1.5%) 및 (d) Tween 80(예를 들어, 약 0.05%)을 포함하는 조성물로 제형화된다.

도면의 간단한 설명

[0043]

도 1A, 도 1B 및 도 1C는 마우스 선암종 모델에서 종양 부피에 대한 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 투여의 효과를 나타내는 도면. 도 1A는 종양 접종 및 처리 투여 일정의 다이어그램을 제공한다. 도 1B 및 도 1C는 각각 2가지 별개의 연구로부터 상이한 처리 그룹에서 종양 부피(mm³)의 비교를 제공한다. 처리 그룹은, (1) IL-7-제형화 완충액 + 아이소타입 대조군 항체(원형); (2) IL-7 제형화 완충액 + 항-PD-1 항체(삼각형); (3) IL-7 단백질 + 아이소타입 대조군 항체(역삼각형); 및 (4) IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체(다이아몬드형)를 포함하였다. 데이터는 평균±S.E.M으로 표시되어 있다. 본페로니(Bonferroni) 사후 검정과 함께 이원 아노바(ANOVA)를 사용하여 모든 비교를 수행하였다. "*" 및 "***"는 대조군 동물과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타낸다(각각 p<0.05 및 p<0.0001).

도 2A, 도 2B 및 도 2C는 상이한 처리 그룹으로부터의 동물에서 종양-침윤 림프구(TIL)의 수에 대한 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 투여의 효과를 나타내는 도면. 도 2A는 종양 접종 및 처리 투여 일정의 다이어그램을 제공한다. 도 2B는 상이한 처리 그룹으로부터의 CD4⁺ TIL 수의 비교를 제공한다. 도 2C는 상이한 처리 그룹으로부터의 CD8⁺ TIL 수의 비교를 제공한다. 처리 그룹은, (1) IL-7-제형화 완충액 + 아이소타입 대조군 항체; (2) IL-7 제형화 완충액 + 항-PD-1 항체; (3) IL-7 단백질 + 아이소타입 대조군 항체; 및 (4) IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체를 포함하였다. 도 2B 및 2c 둘 다에서, CD4⁺ TIL 및 CD8⁺ TIL의 수는 종양 내 총 CD45⁺ 세포의 백분율로 표시되어 있다. 데이터는 개별 동물에 대하여 평균±S.E.M으로 표시되어 있다. 터키 다중 비교 검정(Tukey's multiple comparison test)과 함께 일원 아노바를 사용하여 모든 비교를 수행하였다. "*", "***" 및 "****"는 대조군 동물과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타낸다(각각 p<0.05, p<0.01 및 p<0.0001).

도 3A, 도 3B 및 도 3C는 상이한 처리 그룹으로부터의 동물에서 종양 부피 및 생존에 대한 사이클로포스파마이드(CPA), IL-7 단백질, 및 PD-1 경로 저해제의 삼중 조합의 영향을 나타내는 도면. 도 3A는 종양 접종 및 처리 투여 일정의 다이어그램을 제공한다. 도 3B는 CPA 처리 후 다양한 시점에서 상이한 처리 그룹에서 종양 부피(mm³)의 비교를 제공한다. 도 3C는 생존 데이터를 제공한다. 처리 그룹은, (1) PBS + IL-7-제형화 완충액 + 아이소타입 대조군 항체; (2) CPA + IL-7 제형화 완충액 + 아이소타입 대조군 항체; (3) CPA + IL-7 단백질 + 아이소타입 대조군 항체; (4) CPA + IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체; 및 (5) CPA + IL-7 단백질 + 항-PD-L1 항체를 포함하였다. 도 3B에서, 데이터는 평균±S.E.M으로 표시되어 있다. 본페로니 사후 검정과 함께 이원 아노바를 사용하여 상이한 처리 그룹의 비교를 수행하였다. "*" 및 "***"는 대조군 동물과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타낸다(각각 p<0.05 및 p<0.001).

도 4A 및 도 4B는 흉선절제 동물에서 종양 부피에 대한 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 투여의 효과를 나타내는 도면. 도 4A는 연구 설계의 다이어그램을 제공한다. 도 4B는 상이한 처리 그룹에서 종양 부피(mm³)의 비교를 제공한다. 처리 그룹은, (1) IL-7-제형화 완충액 + 아이소타입 대조군 항체(원형); (2) IL-7 단백질 + 아이소타입 대조군 항체(정사각형); (3) IL-7-제형화 완충액 + 항-PD-1 항체(삼각형); 및 (4) IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체(역삼각형)를 포함하였다. 화살표는 IL-7 단백질(회색 화살표) 및 항-PD-1 항체(검정색 화살표)가 투여된 시기를 나타낸다. 데이터는 평균±S.E.M으로 표시되어 있다. 본페로니 사후 검정과 함께 이원 아노바를 사용하여 상이한 처리 그룹의 비교를 수행하였다. "***"는 대조군 동물과 비교하여 통계적으로 유의한 차이(p<0.001)를 나타낸다.

도 5A, 도 5B 및 도 5C는 흉선절제 동물에서 종양-침윤 림프구(TIL)의 수에 대한 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 투여의 효과를 나타내는 도면. 도 5A는 연구 설계의 다이어그램을 제공한다. 도 5B 및 도 5C는 각각 CD4⁺ TIL 및 CD8⁺ TIL의 수의 비교를 제공한다. 처리 그룹은, (1) IL-7-제형화 완충액 + 아이소타입 대조군 항체("대조군"); (2) IL-7-제형화 완충액 + 항-PD-1 항체("α-PD1"); (3) IL-7 단백질 + 아이소타입 대조군 항

체("IL-7"); 및 (4) IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체("콤보")를 포함하였다. 도 5B 및 도 5C 둘 다에서, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ TIL의 수는 종양 내 총 $CD45^+$ 세포의 백분율로 표시되어 있다. 데이터는 개별 동물에 대하여 평균 $\pm$ S.E.M으로 표시되어 있다. 터키 다중 비교 검정과 함께 일원 아노바를 사용하여 모든 비교를 수행하였다. "*", "**" 및 "***"는 대조군 동물과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타낸다(각각 $p<0.05$, $p<0.01$ 및 $p<0.0001$).

도 6A 및 도 6B는 정상 C57BL/6 마우스에서 사이토카인-유도 T 세포 증식 및 활성화에 대한 IL-7 단백질의 효과를 나타내는 도면. 도 6A는 IL-7 단백질로 처리한 후 혈액에서 $CD8^+$ T 세포 하위집합의 동역학을 나타낸다. 나타낸 $CD8^+$ T 세포 하위집합은, (i) 총 $CD8^+$ T 세포(좌측 그래프), (ii) $CD8^+$ $CD44^-$ 세포(중간 그래프), 및 (iii) $CD8^+$ $CD44^+$ 세포(우측 그래프)를 포함한다. 상단 행은 $CD8^+$ T 세포 하위집합의 수를 총 백혈구의 백분율로 나타낸다. 하단 행은 Ki67+인(즉, 활발하게 증식하는) $CD8^+$ T 세포 하위집합의 백분율을 나타낸다. 대조군 동물은 완충액만 투여받았다(개방형 원형). 데이터는 평균 $\pm$ S.D로 표시되어 있다. 도 6B는 IL-7 단백질 투여 후 제5일에 $CD8^+$ 비장 T 세포 상의 상이한 활성화 마커의 발현 프로파일(파랑색 선)을 나타낸다. 검정색 선은 아이소타입 대조군에 해당한다. 나타낸 활성화 마커는 (좌측에서 우측으로) T-bet, Eomes, PD-1, 그랜자임 B(GzmB), CXCR3, IFN- γ , TNF- α 및 IL-2를 포함한다.

도 7A, 도 7B 및 도 7C는 마우스에서 미경험(상단 행) 및 중심 기억 $CD8^+$ T 세포(하단 행)의 활성화 및 증식에 대한 IL-7 단백질 투여의 효과를 나타내는 도면. 도 7A는 IL-7 투여 5일 후 미경험 및 중심 기억 비장 T 세포의 $CD44$ 및 $CD62L$ 발현 프로파일을 나타낸다. 도 7B 및 도 7C는 증식 데이터를 제공한다(각각 CTV 염색 및 Ki67 발현을 기반으로 함). 도 7B 및 도 7C에서, 파랑색은 IL-7 단백질을 투여받은 동물로부터의 T 세포를 나타내는 반면, 주황색은 대조군 동물(즉, 완충액만을 투여받음)로부터의 T 세포를 나타낸다.

도 8A, 도 8B 및 도 8C는 동계(syngeneic) 종양 모델에서 IL-7 단백질 투여의 용량-의존적 항-종양 효과를 나타내는 도면. 도 8A는 상이한 농도, 즉, (i) 0 mg/kg(즉, 완충액 단독)(검정색); (ii) 1.25 mg/kg(주황색); (iii) 2.5 mg/kg(녹색); (iv) 5 mg/kg(파랑색); (v) 10 mg/kg(빨강색)의 IL-7 단백질을 투여받은 동물에서 종양 부피(mm³)의 비교를 제공한다. 도 8B는 IL-7 단백질 투여 후 제7일에 PBMC로부터의 $CD45^+$ 세포 중 면역 세포 구획의 백분율을 제공한다. 나타낸 상이한 면역 세포 구획은, (i) $CD8^+$ T 세포(파랑색), (ii) $CD4^+$ T 세포(주황색), (iii) Foxp3+ $CD4^+$ 조절 T 세포(자주색), (iv) B220+ B 세포(회색), 및 (v) 앞의 4가지 카테고리 중 임의의 것에 속하지 않는 기타 면역 세포(흰색)를 포함한다. 각각의 컬럼은 상이한 농도의 IL-7 단백질을 나타낸다. 도 8C는 처리 후 제7일에 PBMC에서 상이한 면역 세포 집단의 절대 수를 나타낸다. 나타낸 면역 세포 집단은, (i) $CD8^+$ T 세포(첫 번째 그래프), (ii) $CD4^+$ T 세포(두 번째 그래프), (iii) Foxp3+ 조절 T 세포(세 번째 그래프), 및 (iv) B220+ B 세포(네 번째 그래프)를 포함한다. x-축은 상이한 처리 그룹에 투여된 IL-7 단백질의 농도를 제공한다. 본페로니 사후 검정과 함께 이원 아노바에 의해(도 8A), 또는 던넛(Dunnett) 사후 검정과 함께 일원 아노바에 의해(도 8C) 완충액 그룹에 대하여 * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. 데이터는 평균 $\pm$ S.D로 표시되어 있다.

도 9A, 도 9B, 도 9C, 도 9D, 도 9E, 도 9F, 도 9G 및 도 9H는 IL-7 단백질이 $CD8^+$ T-세포에 염증이 있는 종양 미세환경을 유도함으로써 항종양 활성을 부여할 수 있음을 나타내는 도면. 도 9A는 IL-7 단백질 투여(자주색) 또는 완충액 단독(주황색) 투여 후 제5일에 마우스의 종양에서 관찰된 상이한 종양-침윤 백혈구(TIL)의 백분율(상단 그래프) 및 수(하단 그래프)를 제공한다. 나타낸 상이한 TIL은 (i) 단핵구 골수-유래 억제 세포(M-MDSC), (ii) 다형핵 골수-유래 억제 세포(PMN-MDSC), (iii) 종양-연관 대식세포(TAM), (iv) 종양-연관 수지상 세포(TADC), (v) $CD8^+$ T 세포, (vi) $CD4^+$ T 헬퍼 세포($CD4$ Th 세포), (v) $CD4^+$ 조절 T 세포(Treg 세포), (vi) NK 세포 및 (vii) B 세포를 포함한다. 도 9B는 처리 후 제5일에 완충액 단독(주황색) 또는 IL-7 단백질(자주색)로 처리된 동물에서 Foxp3+ 조절 T 세포(좌측 그래프) 또는 MDSC(우측 그래프)에 대한 $CD8^+$ TIL의 비율의 비교를 제공한다. 도 9C는 처리 후 제5일에 완충액 단독(주황색) 또는 IL-7 단백질(자주색)로 처리된 동물에서 $CD8^+$ TIL 사이에서 Ki67+(좌측 그래프) 또는 그랜자임 B+(우측 그래프) 세포의 백분율의 비교를 제공한다. 도 9D는 처리 후 제5일에 완충액 단독(주황색) 또는 IL-7 단백질(자주색)로 처리된 동물에서 IFN- γ 및/또는 TNF- α 생성 $CD8^+$ TIL의 백분율을 제공한다. 도 9E는 완충액 단독 또는 IL-7 단백질로 처리된 동물에서 $CD8^+$ TIL 중 PD-1+ 세포의 백분율을 나타낸다. 도 9F는 $CD8^+$ PD-1+ TIL 중에서 LAG-3+TIM-3+ 세포의 백분율을 나타낸다. 도 9G는 완충액 단독 또는 IL-7 단백질로 처리된 동물에서 PD-1+LAG-3+TIM-3+ $CD8^+$ TIL 상에서의 상이한 면역 관문 수용체의 발현 수준의 기하 평균 형광 강도(gMFI)를 나타낸다. 도 9H는 완충액(흰색) 또는 IL-7 단백질(녹색)로 처리된 동물로부터 RT-qPCR에 의해 측정될 때 종양 용해물에서 측정된 상이한 케모카인(CCL2, CCL5, CXCL1, CXCL9, CXCL10, 및 CXCL11)의 상대적 발현을 제공한다. 도 9A 내지 도 9H 각각에서, 독립표본 t-검정(unpaired

t-test)에 의해 완충액 그룹에 대하여 $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$. 데이터는 평균 $\pm$ S.D로 표시되어 있다.

도 10은 사이클로포스파마이드(CPA) 및/또는 면역 관문 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 항-종양 효과를 나타내는 도면. 좌측 그래프는 처리 후 상이한 시점에서 종양 부피(mm³)를 제공한다. 우측 그래프는 생존 데이터를 제공한다. 상단 행은 (i) 완충액 단독, (ii) CPA 및 항-PD-1 항체의 조합, 또는 (iii) CPA, 항-PD-1 항체, 및 IL-7 단백질의 조합으로 처리된 동물에 대한 결과를 제공한다. 중간 행은 (i) 완충액 단독, (ii) CPA 및 항-PD-L1 항체의 조합, 또는 (iii) CPA, 항-PD-L1 항체, 및 IL-7 단백질의 조합으로 처리된 동물에 대한 결과를 제공한다. 하단 행은 (i) 완충액 단독, (ii) CPA 및 항-CTLA-4 항체의 조합, 또는 (iii) CPA, 항-CTLA-4 항체, 및 IL-7 단백질의 조합으로 처리된 동물에 대한 결과를 제공한다. 로그-순위(맨텔-콕스(Mantel-Cox)) 검증에 의해 범례에서 해당하는 색상 그룹에 대하여 $**p<0.01$, $***p<0.001$. 데이터는 평균 $\pm$ S.D로 표시되어 있다.

도 11A는 흉선절제 동물 및 모의 대조군의 비장, 말초혈액 및 림프절에서 CD8+ T 세포 수의 비교를 제공하는 도면. 도 11B는 투여 후 다양한 주에 PBS 또는 IL-7 단백질로 처리된 종양 마우스의 비장에서 상이한 CD8+ T 세포 집단의 수를 나타내는 도면. 나타낸 CD8+ T 세포 집단은 (i) 총 CD8+ T 세포(첫 번째 그래프); (ii) 미경험(CD44^{low} CD62L⁺) CD8+ T 세포(두 번째 그래프), (iii) 이펙터 기억(CD44^{high} CD62L⁺) CD8+ T 세포(세 번째 그래프), 및 (iv) 중심 기억(CD44^{high} CD62L⁺) CD8+ T 세포(네 번째 그래프)를 포함한다. 독립표본 t-검정에 의해 표시된 그룹 간에 $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$.

도 12는 진행성 고형암 환자에서 IL-7 단백질의 안전성 및 효능을 평가하는 실시예 11에 기재된 1b상 임상 시험에 대한 연구 설계의 개략도.

도 13은 실시예 11에 기재된 1b상 임상 시험으로부터 진행성 고형암 환자에서 관찰된 부작용을 요약한 표. "TEAE"는 임의의 치료 응급 부작용을 지칭한다. "ADR"은 약물 유해 반응을 지칭한다.

도 14A, 도 14B 및 도 14C는 실시예 11에 기재된 1b상 임상 시험으로부터의 약동학적 분석 결과. 도 14A는 상이한 용량의 IL-7 단백질로 처리된 진행성 고형암 환자의 혈청 중 IL-7 농도의 비교를 제공한다. 실시예 11에 기재된 바와 같이, 용량을 다음을 포함하였다: (i) 60 $\mu\text{g/kg}$ ("1"), (ii) 120 $\mu\text{g/kg}$ ("2"), (iii) 240 $\mu\text{g/kg}$ ("3"), (iv) 480 $\mu\text{g/kg}$ ("4"), (v) 720 $\mu\text{g/kg}$ ("5"), (vi) 960 $\mu\text{g/kg}$ ("6"), 및 (vii) 1,200 $\mu\text{g/kg}$ ("7"). 도 14B 및 도 14C는 투약 그룹으로부터의 진행성 고형암 환자에서 C_{max} 및 AUC의 비교를 제공한다. 데이터는 각각의 용량 수준에 대하여 평균 $\pm$ SEM으로 표시되어 있다.

도 15A, 도 15B, 도 15C, 도 15D, 도 15E 및 도 15F는 실시예 11에 기재된 1b상 임상 시험으로부터의 약력학 분석 결과. 도 15A 내지 도 15D는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 제1 투약 3주 후에 진행성 고형암 환자에서 각각 절대 림프구 수(ALC), CD3⁺, CD4⁺, 및 CD8+ T 세포 수의 비교를 제공한다. 도 15E 및 도 15F는 각각 비-림프구감소증 및 림프구감소증 환자에서 ALC의 비교를 제공한다. 각각의 도면에서, 환자는 저용량 그룹(60 및 120 $\mu\text{g/kg}$)("원형"), 중간용량 그룹(240 및 480 $\mu\text{g/kg}$)("정사각형"), 및 고용량 그룹(720 및 1,200 $\mu\text{g/kg}$)("삼각형")으로 분류되었다. 윌콕슨 부호 순위 검증(Wilcoxon matched-pairs signed rank test)에 의해 기준선(0주) 그룹에 대하여 "*"는 $p<0.05$ 을 지칭하고, "***"는 $p<0.01$ 을 말하며, "****"는 $p<0.001$ 을 지칭한다.

도 16A, 도 16B, 도 16C, 도 16D, 도 16E, 도 16F, 도 16G 및 도 16H는 실시예 11에 기재된 1b상 임상 시험으로부터 환자에서 상이한 CD4⁺ 및 CD8+ T 세포 하위집합에 대한 IL-7 단백질 투여의 효과의 비교를 제공하는 도면. 도 16A 및 도 16C는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 투여 1주 후(즉, 시점 "1")에 환자에서 각각 Ki67+ CD4⁺ 및 Ki67+ CD8+ T 세포의 비교를 제공한다. 도 16B 및 도 16D는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 투여 1주 후(즉, 시점 "1")에 환자에서 각각 CD127+ CD4⁺ 및 CD127+ CD8+ T 세포의 비교를 제공한다. 도 16E는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 투여 1주 후(즉, 시점 "1")에 환자에서 CD4⁺ T 세포/Treg 비율(좌측 그래프) 및 CD8+ T 세포/Treg 비율(우측 그래프)의 비교를 제공한다. 도 16F는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 투여 3주 후(즉, 시점 "3")에 환자에서 CD4⁺ T 세포(상단 행) 및 CD8+ T 세포(하단 행) 둘 다에 대한 미경험(좌측 열), 이펙터 기억(EM)(중간 열), 및 중심 기억(CM)(우측 열) 하위집합의 비교를 제공한다. 도 16G 및 도 16H는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 투여 1주 후(즉, 시점 "1")에 환자에서 각각 CCR5+ CD4⁺ 및 CCR5+ CD8+ T 세포의 비교를 제공한다. 각각의 도면에서, 환자는 저용량 그룹(60 및 120 $\mu\text{g/kg}$)("원형; 좌측 2개 열), 중간용량 그룹(240 및 480 $\mu\text{g/kg}$)("정사각형; 중간 2개 열), 및 고용량 그룹(720 및 1,200 $\mu\text{g/kg}$)("삼각형; 우측 2개 열)으로 분류되었다. 윌콕슨 부호 순위 검증에 의해 기준선(0주) 그룹에 대하여 "*"는 $p<0.05$ 을 지칭하고, "***"는 $p<0.01$ 을 말하며, "****"는 $p<0.001$ 을 지칭한다.

도 17A 및 도 17B는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 투여 3주 후(즉, 시점 "3")에, 실시예 11에 기재된

1b상 임상 시험으로부터 환자에서 각각 NK 및 B 세포에 대한 IL-7 단백질 투여의 효과의 비교를 제공하는 도면. 2개의 도면 모두에서, 환자는 저용량 그룹(60 및 120 $\mu\text{g/kg}$)(원형; 좌측 2개 열), 중간용량 그룹(240 및 480 $\mu\text{g/kg}$)(정사각형; 중간 2개 열), 및 고용량 그룹(720 및 1,200 $\mu\text{g/kg}$)(삼각형; 우측 2개 열)으로 분류되었다. 월콕슨 부호 순위 검증에 의해 기준선(0주) 그룹에 대하여 "*"는 $p < 0.05$ 을 지칭한다.

도 18은 실시예 12에 기재된 1b상 임상 시험으로부터 교모세포종 환자에서 관찰된 부작용을 요약한 표. "TEAE"는 임의의 치료 응급 부작용을 지칭한다. "ADR"은 약물 유해 반응을 지칭한다.

도 19A, 도 19B, 도 19C, 도 19D, 도 19E 및 도 19F는 실시예 12에 기재된 1b상 임상 시험으로부터의 약력학 분석 결과. 도 19A 내지 도 19D는 IL-7 단백질 투여 전(즉, 시점 "0") 및 제1 투약 3주 후에 교모세포종 암 환자에서 각각 절대 림프구 수(ALC), CD3+, CD4+, 및 CD8+ T 세포 수의 비교를 제공한다. 도 19E 및 도 19F는 각각 비-림프구감소증 및 림프구감소증 환자에서 ALC의 비교를 제공한다. 각각의 도면에서, 환자는 저용량 그룹(60 $\mu\text{g/kg}$)(원형), 중간용량 그룹(360 및 600 $\mu\text{g/kg}$)(정사각형), 및 고용량 그룹(840 및 1,440 $\mu\text{g/kg}$)(삼각형)으로 분류되었다. 월콕슨 부호 순위 검증에 의해 기준선(0주) 그룹에 대하여 "*"는 $p < 0.05$ 을 지칭하고, "**"는 $p < 0.01$ 을 지칭한다.

도 20A, 도 20B 및 도 20C는 테모졸로마이드(TMZ)를 투여받은 교모세포종 환자에서 각각 AUC, Ki67+ CD8+ T 세포 빈도, 및 Ki67+ CD4+ T 세포 빈도에 대한 IL-7 단백질 투여의 효과를 나타내는 도면. 각각의 도면에, TMZ 또는 IL-7 단백질을 투여한 날이 표시되어 있다.

도 21A, 도 21B 및 도 21C는 아바스틴/이리노테칸(A/I)을 투여받은 교모세포종 환자에서 각각 AUC, Ki67+ CD8+ T 세포 빈도 및 Ki67+ CD4+ T 세포 빈도에 대한 IL-7 단백질 투여의 효과를 나타내는 도면. 각각의 도면에, A/I 또는 IL-7 단백질을 투여한 날이 표시되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

본 개시내용이 보다 용이하게 이해될 수 있도록, 먼저 특정 용어를 정의한다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 본 명세서에서 달리 명시적으로 제공되는 경우를 제외하고, 다음 각각의 용어는 하기 제시된 의미를 가질 것이다. 추가적인 정의는 출원 전반에 걸쳐 제시되어 있다.

본 개시내용 전반에 걸쳐, 용어 "하나"의 실체는 하나 이상의 해당 실체를 말하며; 예를 들어, "항체"는 하나 이상의 항체를 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 용어 "하나", "하나 이상", 및 "적어도 하나"는 본 명세서에서 호환 가능하게 사용될 수 있다.

또한, 본 명세서에서 사용되는 "및/또는"은 다른 것을 포함하거나 포함하지 않는 2가지 명시된 특성 또는 성분 각각의 특정 개시로 간주되어야 한다. 따라서, 본 명세서에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용될 때 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A"(단독), 및 "B"(단독)을 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용될 때 용어 "및/또는"은 A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독)의 양태 각각을 포함하는 것으로 의도된다.

본 명세서에서 용어 "포함하는"으로 양태가 기재된 곳은 어디든, "~로 이루어진" 및/또는 "~로 본질적으로 이루어진"의 관점에서 기재된 다른 유사한 양태가 또한 제공되는 것으로 이해된다.

달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용과 관련된 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 예를 들어, 문헌[Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press]은 본 개시내용에서 사용된 많은 용어의 일반 사전을 숙련자에게 제공한다.

단위, 접두사, 및 기호는 국제단위계(Système International de Unites; SI) 허용 형식으로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 한정하는 숫자를 포함한다. 달리 표시되지 않는 한, 아미노산 서열은 아미노에서 카복시 방향으로 좌측에서 우측으로 기재된다. 본 명세서에서 제공되는 표제는, 명세서를 전체로서 참조하여 포함될 수 있는 개시내용의 다양한 양태를 제한하는 것이 아니다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 명세서 전문을 참조하여 보다 완전하게 정의된다.

- [0051] 용어 "약"은 본 명세서에서 대략, 거의, 주위, 또는 그 영역을 의미하는 것으로 사용된다. 용어 "약"이 숫자 범위와 함께 사용되는 경우, 이는 제시된 수치의 위 및 아래로 경계를 확장함으로써 해당 범위를 수식한다. 일반적으로, 용어 "약"은, 예를 들어 10% 위 또는 아래(더 크거나 더 작은)의 변화량만큼 언급된 값의 위 및 아래로 수치를 수식할 수 있다.
- [0052] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "투여하는"은 당업자에게 알려진 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여, 치료제 또는 치료제를 포함하는 조성물을 대상체에게 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본 명세서에 기재된 치료제에 대한 다양한 투여 경로는 예를 들어 주사 또는 주입에 의한, 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 척추 또는 다른 비경구 투여 경로를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 어구 "비경구 투여"는, 보통 주사에 의한, 장관(enteral) 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하고, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 기관내, 폐, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 심실내, 유리체내, 경막외, 및 흉골내 주사 및 주입뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 대안적으로, 본 명세서에 기재된 치료제는 비경구 경로, 예컨대, 국소, 표피, 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내, 경구, 질, 직장, 설하, 또는 국소로 투여될 수 있다. 투여는 또한, 예를 들어 1회, 복수회, 및/또는 1회 이상의 장기간에 걸쳐 수행될 수 있다.
- [0053] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항원"은 임의의 천연 또는 합성 면역원성 물질, 예컨대, 단백질, 펩타이드, 또는 합텐을 지칭한다.
- [0054] 용어 "항체" 및 "항체들"은 당업계의 용어이며 본 명세서에서 호환 가능하게 사용될 수 있고 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 가지는 분자를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 상기 용어는 전체 항체 및 이의 임의의 항원 결합 단편(즉, "항원-결합 부분") 또는 단일 사슬을 포함한다. 일 양태에서 "항체"는 이항화 결합에 의해 상호 연결된 적어도 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)를 포함하는 당단백질, 또는 이의 항원-결합 부분을 지칭한다. 또 다른 양태에서, "항체"는 단일 가변 도메인, 예를 들어 VHH 도메인을 포함하는 단일 사슬 항체를 지칭한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본 명세서에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 특정한 자연-발생 항체에서, 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, 즉, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 특정한 자연-발생 항체에서, 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본 명세서에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, 즉, CL로 구성된다.
- [0055] VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 초가변 영역으로 추가로 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은, 아미노-말단에서 카복시-말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열된, 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 포함한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다.
- [0056] 항체는 전형적으로 10^{-5} 내지 10^{-11} M 이하의 해리 상수(K_D)에 의해 반영되는, 동족 항원에 높은 친화성으로 특이적으로 결합한다. 약 10^{-4} M 초과인 임의의 K_D 는 일반적으로 비특이적 결합을 나타내는 것으로 간주된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 항원에 "특이적으로 결합하는" 항체는 항원 그리고 실질적으로 동일한 항원에, K_D 가 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 5×10^{-9} M 이하, 또는 10^{-8} M 내지 10^{-10} M 이하임을 의미하는 높은 친화성으로 결합하지만, 관련이 없는 항원에 대해서는 높은 친화성으로 결합하지 않는 항체를 지칭한다. 항원이 주어진 항원과 높은 정도의 서열 동일성을 나타내는 경우, 예를 들어 항원이 주어진 항원의 서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 나타내는 경우, 항원은 주어진 항원과 "실질적으로 동일"하다. 예로서, 특정 양태에서 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체는 또한 특정 영장류 중 유래의 PD-1 항원과 교차 반응성을 가질 수 있지만(예를 들어, 필리핀 원숭이(cynomolgus) 항-PD-1 항체), 다른 종 유래의 PD-1 분자 또는 PD-1 이외의 분자와는 교차반응할 수 없다.
- [0057] 면역글로불린은 IgA, 분비형 IgA, IgG 및 IgM을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 일반적으로 알려진 아이소타입 중 임의의 것으로부터 유래될 수 있다. IgG 하위부류는 또한 당업자에게 잘 알려져 있으며, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. "아이소타입"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 인코딩되는 항체 부류 또는 하위부류(예를 들어, IgM 또는 IgG1)를 지칭한다. 특정 양태에서, 아이소타입의 하나 이상의 아미노산은 이펙터 기능을 변경시키기 위해 돌연변이될 수 있다. 용어 "항체"는, 예로서 자연 발생 및

비-자연 발생 Ab; 단클론성 및 폴리클로날 Ab; 키메라 및 인간화 Ab; 인간 또는 비인간 Ab; 전체 합성 Ab; 및 단일 사슬 항체를 포함한다. 비인간 항체는 사람에서 이의 면역원성을 감소시키기 위해 재조합 방법에 의해 인간화될 수 있다. 명시적으로 언급되지 않고 문맥이 달리 지시하지 않는 한, 용어 "항체"는 또한 전술한 면역글로불린 중 임의의 것의 항원-결합 단편 또는 항원-결합 부분을 포함하고, 1가 및 2가 단편 또는 일부, 및 단일 사슬 항체를 포함한다.

- [0058] "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 가지는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다(예를 들어, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 PD-1 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대, 상이한 종 유래의 PD-1 분자와 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체에는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.
- [0059] 용어 "단클론성 항체"("mAb")는 단일 분자 조성의 항체 분자, 즉, 1차 서열이 본질적으로 동일하고, 특정 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타내는 항체 분자의 비-자연적으로 발생하는 체제를 지칭한다. mAb는 단리된 항체의 예이다. mAb는 하이브리도마, 재조합, 유전자이식 또는 당업자에게 알려진 다른 기법에 의해 생성될 수 있다.
- [0060] "인간" 항체(HuMAb)는 프레임워크 및 CDR 영역이 둘 다 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 가지는 항체를 지칭한다. 또한, 항체가 불변 영역을 포함하는 경우, 불변 영역은 또한 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열로부터 유래된다. 본 발명의 인간 항체는 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열에 의해 인코딩되지 않은 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대, 마우스의 생식세포계열로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열에 이식된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다. 용어 "인간" 항체 및 "전체 인간" 항체는 동의어로 사용된다.
- [0061] "인간화 항체"는 비-인간 항체의 CDR 도메인 외부의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산이 인간 면역글로불린으로부터 유래된 상응하는 아미노산으로 대체된 항체를 지칭한다. 인간화된 형태의 항체의 일 양태에서, CDR 도메인 외부의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산이 인간 면역글로불린 유래의 아미노산으로 대체된 반면, 하나 이상의 CDR 영역 내의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 변경되지 않는다. 아미노산의 작은 추가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형은 특정 항원에 결합하는 항체의 능력을 무효화시키지 않는 한 허용 가능하다. "인간화" 항체는 원래 항체와 유사한 항원 특이성을 유지한다.
- [0062] "키메라 항체"는 가변 영역이 하나의 종으로부터 유래되고 불변 영역이 또 다른 종으로부터 유래된 항체, 예컨대, 가변 영역이 마우스 항체로부터 유래되고 불변 영역이 인간 항체로부터 유래된 항체를 지칭한다.
- [0063] "항-항원" 항체는 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 항-PD-1 항체는 PD-1에 특이적으로 결합하고 항-CTLA-4 항체는 CTLA-4에 특이적으로 결합한다.
- [0064] 항체의 "항원-결합 부분"(또는 "항원-결합 단편"이라고도 함)은 전체 항체에 의해 결합된 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다.
- [0065] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특이적 결합", "선택적 결합", "선택적으로 결합한다", 및 "특이적으로 결합한다"는 미리 결정된 항원 상의 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 항체는 (i) 예를 들어, 피분식물로서 미리 결정된 항원 및 리간드로서 항체를 사용하여 BIACORE(상표) 2000 기기에서 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기술에 의해, 또는 항원 양성 세포에 대한 항체의 결합의 스캐차드(Scatchard) 분석에 의해 결정될 때, 대략 10^{-7} M 미만, 예컨대, 대략 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 훨씬 더 낮은 평형 해리 상수(K_D)로 결합하고, (ii) 미리 결정된 항원 또는 밀접하게 관련된 항원 이외의 비-특이적 항원(예를 들어, BSA, 카제인)에의 결합에 대한 친화성보다 적어도 2배 더 큰 친화성으로 미리 결정된 항원에 결합한다.
- [0066] 대상체에 적용될 때 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "자연적으로 발생하는"은 대상체가 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 자연의 공급원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 사람에 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체(바이러스를 포함함)에 존재하는 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 자연적으로 발생한 것이다.
- [0067] "폴리펩타이드"는 사슬의 길이에 대한 상한 없이 적어도 2개의 연속적으로 연결된 아미노산 잔기를 포함하는 사슬을 지칭한다. 단백질 내 하나 이상의 아미노산 잔기는, 글리코실화, 인산화 또는 이황화 결합 형성과 같은 변

형을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다. "단백질"은 하나 이상의 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 용어 "단백질" 및 "폴리펩타이드"는 호환 가능하게 사용될 수 있다.

- [0068] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "핵산 분자"는 DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하는 것으로 의도된다. 핵산 분자는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있으며, cDNA일 수 있다.
- [0069] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기를 유사한 측쇄를 가지는 아미노산 잔기로 치환하는 것을 지칭한다. 유사한 측쇄를 가지는 아미노산 잔기의 패밀리는 당업계에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함한다. 특정 양태에서, 항체에서 예상되는 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오타이드 및 아미노산 보존적 치환을 확인하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다(예를 들어, 문헌[Brummell *et al.*, *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi *et al.* *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 및 Burks *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997)] 참조).
- [0070] 핵산의 경우, 용어 "실질적 상동성"은 적어도 약 80%의 뉴클레오타이드, 적어도 약 90% 내지 95%, 또는 적어도 약 98% 내지 99.5%의 뉴클레오타이드에서 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실이 있는 2개의 핵산, 또는 이의 지정된 서열이 최적으로 정렬되고 비교될 때, 동일함을 나타낸다. 대안적으로, 분절이 선택적인 혼성화 조건 하에서 가닥의 보체와 혼성화할 때 실질적인 상동성이 존재한다.
- [0071] 폴리펩타이드의 경우, 용어 "실질적 상동성"은 적어도 약 80%의 아미노산, 적어도 약 90% 내지 95%, 또는 적어도 약 98% 내지 99.5%의 아미노산에서 적절한 아미노산 삽입 또는 결실이 있는 2개의 폴리펩타이드, 또는 이의 지정된 서열이 최적으로 정렬되고 비교될 때, 동일함을 나타낸다.
- [0072] 2개 서열 사이의 동일성 백분율은 2개 서열의 최적 정렬을 위해 도입되어야 하는 갭의 수, 및 각각의 갭의 길이를 고려하여 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다(즉, 동일성 % = 동일한 위치의 #/총 위치의 # × 100). 서열의 비교 및 2개 서열 사이의 동일성 백분율의 결정은, 예를 들어 하기의 비제한적 실시예에 기재된 바와 같은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.
- [0073] 2개 뉴클레오타이드 서열 사이의 동일성 백분율은 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램(worldwideweb.gcg.com에서 이용 가능함)을 사용하여, NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 갭 가중치 40, 50, 60, 70 또는 80 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용함으로써 결정될 수 있다. 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 또한 얼라인(ALIGN) 프로그램(버전 2.0)에 통합된 문헌[E. Meyers and W. Miller, *CABIOS*, 4: 11-17 (1989)]의 알고리즘을 사용하여, PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 패널티 12 및 갭 패널티 4를 사용함으로써 결정될 수 있다. 추가적으로, 2개 아미노산 서열 사이의 동일성 백분율은 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램(worldwideweb.gcg.com에서 이용 가능함)에 통합된 문헌[Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970)] 알고리즘을 사용하여, Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용함으로써 결정될 수 있다.
- [0074] 본 명세서에 기재된 핵산 및 단백질 서열은, 예를 들어 관련 서열을 확인하기 위해 공공 데이터베이스에 대한 검색을 수행하기 위한 "질의 서열(query sequence)"로서 추가로 사용될 수 있다. 이와 같은 검색은 문헌[Altschul, *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10]의 NBLAST(NBLAST) 및 XBLAST(XBLAST)(버전 2.0) 프로그램을 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 뉴클레오타이드 검색은 본 명세서에 기재된 핵산 분자에 대해 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 얻기 위해 NBLAST 프로그램, 스코어 = 100, 문자길이 = 12를 이용하여 수행될 수 있다. BLAST 단백질 검색은 본 명세서에 기재된 단백질 분자에 대해 상동성인 아미노산 서열을 얻기 위해 XBLAST 프로그램, 스코어 = 50, 문자길이 = 3을 이용하여 수행될 수 있다. 비교 목적을 위해 갭이 도입된 정렬을 얻기 위해, 문헌[Altschul *et al.*, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 Gapped BLAST를 이용할 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 이용할 때, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 매개변수가 사용될 수 있다. 웹 사이트[www.ncbi.nlm.nih.gov]를 참조한다.
- [0075] 핵산은 전체 세포에, 세포 용해물에, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩, 컬럼 크로마토그래피, 아가로스 겔 전기영동 및 다른 당업계에 잘 알려진 기법을 포함한 표준 기법에 의해, 다른 세포 성분 또는 다른 오염물질, 예를 들어 다른 세포 핵산(예를 들어,

염색체의 다른 부분) 또는 단백질로부터 정제될 때 "단리"되거나 "실질적으로 순수하게 된다". 문헌 [F. Ausubel, *et al.*, ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)]을 참조한다.

- [0076] 핵산, 예를 들어 cDNA는 유전자 서열을 제공하기 위해 표준 기법에 따라 돌연변이될 수 있다. 코딩 서열의 경우, 이러한 돌연변이는 원하는 대로 아미노산 서열에 영향을 미칠 수 있다. 구체적으로, 본 명세서에 기재된 천연 V, D, J, 불변, 스위치 및 다른 이와 같은 서열과 실질적으로 상동성이거나 이로부터 유래된 DNA 서열이 고려된다(여기서 "유래된"은 서열이 또 다른 서열과 동일하거나 이로부터 변형됨을 나타냄).
- [0077] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "벡터"는 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 말하는 것으로 의도된다. 벡터의 한 가지 유형은 "플라스미드"이며, 이는 추가적인 DNA 분절이 결합될 수 있는 원형의 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 벡터의 또 다른 유형은 바이러스 벡터이며, 여기서 추가적인 DNA 분절은 바이러스 게놈 내에 결합될 수 있다. 특정 벡터는 도입될 숙주 세포에서 자율 복제를 할 수 있다(예를 들어, 박테리아 복제 기점 및 에피솜 포유동물 벡터를 가지는 박테리아 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로 도입시 숙주 세포의 게놈 내에 통합될 수 있으며, 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제된다. 더욱이, 특정 벡터는 작동적으로 연결된 유전자의 발현을 유도할 수 있다. 이와 같은 벡터는 본 명세서에서 "재조합 발현 벡터"(또는 간단히 "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기법에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다. 플라스미드가 가장 일반적으로 사용되는 벡터 형태이므로, 본 명세서에서 "플라스미드" 및 "벡터"는 호환 가능하게 사용될 수 있다. 그러나, 또한 동등한 기능을 제공하는 다른 형태의 발현 벡터, 예컨대, 바이러스 벡터(예를 들어, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)도 포함된다.
- [0078] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "재조합 숙주 세포"(또는 간단히 "숙주 세포")는 세포에 자연적으로 존재하지 않는 핵산을 포함하는 세포를 말하는 것으로 의도되며, 재조합 발현 벡터가 도입된 세포일 수 있다. 이와 같은 용어는 특정 대상 세포뿐만 아니라 이와 같은 세포의 자손을 말하는 것으로 의도됨이 이해되어야 한다. 특정 변형은 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 다음 세대에서 일어날 수 있기 때문에, 이와 같은 자손은 실제로 모세포와 동일할 수 없지만 여전히 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "숙주 세포"의 범주 내에 포함된다.
- [0079] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "연결된"은 2개 이상의 분자의 회합을 지칭한다. 연결은 공유 또는 비-공유일 수 있다. 연결은 또한 유전적일 수 있다(즉, 재조합적으로 융합됨). 이와 같은 연결은 매우 다양한 당 업계에 인식된 기법, 예컨대, 화학적 접합 및 재조합 단백질 생성을 사용하여 달성될 수 있다.
- [0080] "암"은 체내에서 비정상적인 세포의 제어되지 않는 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 그룹을 지칭한다. 조절되지 않는 세포 분열 및 성장은 주변 조직을 침범하고 또한 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 먼 부위로 전이할 수 있는 악성 종양의 형성을 초래한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "암"은 원발성, 전이성 및 재발성 암을 지칭한다.
- [0081] "세포독성 T-림프구 항원-4"(CTLA-4)는 CD28 패밀리에 속하는 면역억제 수용체를 지칭한다. CTLA-4는 생체내 T 세포에서만 독점적으로 발현되고 2가지 리간드, 즉, CD80 및 CD86(또한 각각 B7-1 및 B7-2라고도 함)에 결합한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "CTLA-4"는 인간 CTLA-4(hCTLA-4), hCTLA-4의 변이체, 동형단백질, 및 중 상동체, 및 hCTLA-4와 적어도 하나의 공통 에피토프를 가지는 유사체를 포함한다. 완전한 hCTLA-4 서열은 젠뱅크(GenBank) 수탁 번호 AAB59385로 확인할 수 있다.
- [0082] 용어 "융합 단백질"은 원래 별개의 단백질에 대해 코딩된 2개 이상의 유전자의 결합을 통해 생성된 단백질을 지칭한다. 이 융합 유전자의 번역은 원래 단백질 각각으로부터 유래된 기능적 특성을 가지는 단일 폴리펩타이드 또는 다중 폴리펩타이드를 생성한다. 일부 양태에서, 2개 이상의 유전자는 이의 뉴클레오타이드 서열에 치환, 결실, 및/또는 추가를 포함할 수 있다.
- [0083] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 면역글로불린의 Fc 영역에 결합하는 수용체이다. IgG 항체에 결합하는 FcR은 대립유전자 변이체 및 대안적으로 이들 수용체의 스플라이싱된 형태를 포함하는, Fc γ R 패밀리의 수용체를 포함한다. Fc γ R 패밀리는 3가지의 활성화 수용체(마우스에서 Fc γ RI, Fc γ RIII, 및 Fc γ RIV; 인간에서 Fc γ RIA, Fc γ RIIA, 및 Fc γ RIIIA) 및 하나의 억제 수용체(Fc γ RIIB)로 이루어진다. 인간 Fc γ R의 다양한 특성은 당업계에 알려져 있다. 대부분의 선천적 이펙터 세포 유형은 하나 이상의 활성화 Fc γ R 및 억제 Fc γ RIIB를 공동발현하는 반면, 자연 킬러(NK) 세포는 하나의 활성화 Fc 수용체(마우스에서 Fc γ RIII 및 인간에서 Fc γ RIIIA)를 선택적으

로 발현하지만 마우스 및 인간에서 억제 Fc γ RIIB를 발현하지 않는다. 인간 IgG1은 대부분의 인간 Fc 수용체에 결합하고 결합하는 활성화 Fc 수용체의 유형과 관련하여 무린 IgG2a와 동등한 것으로 간주된다.

[0084] "Fc 영역"(단편 결정화가능 영역) 또는 "Fc 도메인" 또는 "Fc"는 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 이펙터 세포)에 위치하는 Fc 수용체 또는 고전적인 보체 시스템의 제1 성분(C1q)에 대한 결합을 포함하여, 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개하는 항체의 중쇄의 C-말단을 지칭한다. 따라서, Fc 영역은 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인(예를 들어, CH1 또는 CL)을 제외한 항체의 불변 영역을 포함한다. IgG, IgA 및 IgD 항체 아이소타입에서, Fc 영역은 항체의 2개의 중쇄의 제2(CH2) 및 제3(CH3) 불변 영역으로부터 유래된 2개의 동일한 단백질 단편을 포함하고; IgM 및 IgE Fc 영역은 각각의 폴리펩타이드 사슬에 3개의 중쇄 불변 도메인(CH 도메인 2 내지 4)을 포함한다. IgG의 경우, Fc 영역은 면역글로불린 도메인 CH2 및 CH3과 CH1 및 CH2 도메인 사이의 힌지를 포함한다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계에 대한 정의는 본 명세서에 정의된 바와 같이 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 IgG1의 경우 D221, IgG2의 경우 V222, IgG3의 경우 L221 및 IgG4의 경우 P224의 아미노산 잔기로부터 중쇄의 카복시-말단으로의 구간으로 정의되며, 여기서 번호매김은 카바트(Kabat)에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 인간 IgG Fc 영역의 CH2 도메인은 아미노산 237번에서 아미노산 340번으로 확장되고, CH3 도메인은 Fc 영역에서 CH2 도메인의 C-말단측에 위치하며, 즉, CH3 도메인은 IgG의 아미노산 341번에서 아미노산 447번 또는 446번(C-말단 리신 잔기가 부재하는 경우) 또는 445번(C-말단 글리신 및 리신 잔기가 부재하는 경우)으로 확장된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, Fc 영역은 임의의 알로타입 변이체를 포함하는 천연 서열 Fc, 또는 변이체 Fc(예를 들어, 비-자연 발생 Fc)일 수 있다. Fc는 또한 "Fc 융합 단백질"(예를 들어, 항체 또는 면역부착물(immunoadhesion))로도 지칭되는, "Fc 영역을 포함하는 결합 단백질"과 같은 Fc-포함 단백질 폴리펩타이드의 문맥에서 또는 이의 분리된 이러한 영역을 말할 수 있다.

[0085] "천연 서열 Fc 영역" 또는 "천연 서열 Fc"는 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역뿐만 아니라 이들의 자연 발생 변이체를 포함한다. 천연 서열 Fc는 Fc의 다양한 알로타입을 포함한다(예를 들어, 문헌[Jefferis *et al.* (2009) *mAbs* 1: 1] 참조).

[0086] 추가적으로, 본 발명의 Fc(천연 또는 변이체)는 천연 형태와 비교하여 천연 당 사슬, 증가된 당 사슬, 또는 감소된 당 사슬을 가지는 형태일 수 있거나 탈글리코실화된 형태일 수 있다. 면역글로불린 Fc 당 사슬은 통상적인 방법, 예컨대, 화학적 방법, 효소적 방법, 및 미생물을 사용하는 유전자 조작 방법에 의해 변형될 수 있다. Fc 단편으로부터 당 사슬의 제거는 제1 보체 성분 C1의 C1q 부분에 대한 결합 친화성의 급격한 감소, 및 ADCC 또는 CDC의 감소 또는 손실을 초래하고, 이에 의해 생체내에서 어떠한 불필요한 면역 반응을 유도하지 않게 된다. 이와 관련하여, 탈글리코실화(deglycosylated) 또는 어글리코실화된(aglycosylated) 형태의 면역글로불린 Fc영역은 약물 담체로서 본 발명의 목적에 더 적합할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "탈글리코실화"는 당이 Fc 단편으로부터 효소에 의해 제거되는 Fc 영역을 지칭한다. 추가적으로, 용어 "어글리코실화"는 Fc 단편이 원핵생물, 바람직하게는 이. 콜라이(*E. coli*)에 의해 비글리코실화된(unglycosylated) 형태로 생성됨을 의미한다.

[0087] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 반응"은 외래 작용제에 대한 척추동물 내의 생물학적 반응을 말하며, 상기 반응은 이러한 작용제 및 이에 의해 유발되는 질환으로부터 유기체를 보호한다. 면역 반응은 척추동물의 신체로부터 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상적인 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우, 정상적인 인간 세포 또는 조직의 선택적인 표적화, 이에 대한 결합, 이에 대한 손상, 이의 파괴, 및/또는 제거를 초래하는 면역계의 세포(예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러(NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만세포, 수지상 세포 또는 호중구) 및 이들 임의의 세포 또는 간에 의해 생성되는 가용성 거대분자(항체, 사이토카인 및 보체를 포함함)의 작용에 의해 매개된다. 면역 반응은, 예를 들어 T 세포, 예를 들어 이펙터 T 세포 또는 Th 세포, 예컨대, CD4⁺ 또는 CD8⁺ T 세포의 활성화 또는 저해, 또는 Treg 세포의 저해를 포함한다.

[0088] "면역조정제" 또는 "면역조절제"는, 예를 들어 면역 반응을 조정, 조절, 또는 변형하는 데 관여될 수 있는 신호 전달 경로의 성분인 작용제를 지칭한다. 면역 반응을 "조정", "조절", 또는 "변형"하는 것은 면역계의 세포에서 또는 이와 같은 세포(예를 들어, 이펙터 T 세포)의 활성화에서 임의의 변경을 지칭한다. 이와 같은 조정은 다양한 세포 유형의 수의 증가 또는 감소, 이들 세포의 활성의 증가 또는 감소, 또는 면역계 내에서 일어날 수 있는 임의의 다른 변화에 의해 나타날 수 있는 면역계의 자극 또는 억제제를 포함한다. 억제 및 자극성 면역조정제가 둘 다 확인되었으며, 이들 중 일부는 종양 미세환경에서 향상된 기능을 가질 수 있다. 바람직한 양태에서, 면역조

정제는 T 세포의 표면에 위치한다. "면역조정 표적" 또는 "면역조절 표적"은 결합을 위해 표적화되고, 이의 활성이 물질, 작용제, 모이어티, 화합물 또는 분자의 결합에 의해 변경되는 면역조정제이다. 면역조정 표적은, 예를 들어 세포의 표면 상의 수용체("면역조정 수용체") 및 수용체 리간드("면역조정 리간드")를 포함한다.

[0089] 용어 "면역요법"은 면역 반응을 유도, 향상, 억제 또는 다르게는 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의해 질환을 앓고 있거나 질환에 걸리거나 재발할 위험에 있는 대상체의 치료를 지칭한다. 대상체의 "치료" 또는 "요법"은 증상, 합병증 또는 병태, 또는 질환과 연관된 생화학적 징후의 개시, 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 반전, 완화, 개선, 억제, 늦춤 또는 예방할 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 대상체에 대한 활성제의 투여를 지칭한다.

[0090] "면역자극성 요법" 또는 "면역자극 요법"은, 예를 들어 암을 치료하기 위해, 대상체에서 면역 반응의 증가(유도 또는 향상)를 초래하는 요법을 지칭한다.

[0091] "내인성 면역 반응의 강화"는 대상체에서 기존 면역 반응의 유효성 또는 효능을 증가시키는 것을 의미한다. 유효성 및 효능의 이러한 증가는, 예를 들어 내인성 숙주 면역 반응을 억제하는 메커니즘을 극복하거나 내인성 숙주 면역 반응을 향상시키는 메커니즘을 자극함으로써 달성될 수 있다.

[0092] 용어 "이펙터 T 세포"(Teff)는 세포용해 활성을 가지는 T 세포(예를 들어, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포)뿐만 아니라, 사이토카인을 분비하고 다른 면역 세포를 활성화시키고 지시하는 T 헬퍼(Th) 세포를 말하지만, 조절 T 세포(Treg 세포)는 포함하지 않는다. IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제(예를 들어, 항-PD-1 항체)의 조합은 대상체의 종양 또는 혈액에서 Teff 세포, 예를 들어 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포를 활성화시키고/시키거나 Teff 세포의 빈도를 증가시킨다.

[0093] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조절 T 세포"(Treg)는 이펙터 T 세포의 유도 및 증식을 감소시키거나 억제하여 면역 반응을 조정하는 능력을 가지는 T 세포의 집단을 지칭한다. 일부 양태에서, Treg는 항-염증 사이토카인, 예컨대, IL-10, TGF- β , 및 IL-35를 분비함으로써 면역 반응을 억제할 수 있으며, 상기 항-염증 사이토카인은 미경험 T 세포의 이펙터 T 세포로의 활성화 및 분화를 방해할 수 있다. 일부 양태에서, Treg는 또한 세포용해 분자, 예컨대, 그랜자임 B를 생성할 수 있으며, 상기 세포용해 분자는 이펙터 T 세포의 아포토시스를 유도할 수 있다. 일부 양태에서, 조절 T 세포는 자연 조절 T 세포(nTreg)(즉, 흉선 내에서 발생함)이다. 일부 양태에서, 조절 T 세포는 유도된 조절 T 세포(iTreg)(즉, 특정 자극에 노출시 말초 조직에서 Treg로 분화하는 미경험 T 세포)이다. Treg를 확인하는 방법은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, Treg는 유세포분석을 사용하여 측정될 수 있는 특정 표현형 마커(예를 들어, CD25, Foxp3 또는 CD39)를 발현한다. 예를 들어, 국제 출원 공개 WO 2017/062035 A1; 문헌[Gu J., *et al.*, *Cell Mol Immunol* 14(6): 521-528 (2017)]을 참조한다. 일부 양태에서, Treg는 $CD45RA^- CD39^+$ T 세포이다.

[0094] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "종양 침윤 림프구" 또는 "TIL"은 말초로부터(예를 들어, 혈액으로부터) 종양으로 이동한 림프구(예를 들어, 이펙터 T 세포)를 지칭한다. 일부 양태에서, 종양 침윤 림프구는 $CD4^+$ TIL이다. 다른 양태에서, 종양 침윤 림프구는 $CD8^+$ TIL이다.

[0095] 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 능력의 증가는 T 세포 공동자극 수용체의 효연제 활성의 향상 및/또는 억제 수용체의 길항제 활성의 향상에 기인할 수 있다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 능력의 증가는 면역 반응을 측정하는 분석, 예를 들어 사이토카인 또는 케모카인 방출, 세포용해 활성(표적 세포 상에서 직접적으로 또는 CD107a 또는 그랜자임의 검출을 통해 간접적으로 결정됨) 및 증식의 변화를 측정하는 분석에서 EC50 또는 활성의 최대 수준의 배(fold) 증가에 의해 반영될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계 활성을 자극하는 능력은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 이상만큼 향상될 수 있다.

[0096] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "인터류킨-7" 또는 "IL-7"은, 예를 들어 IL-7 수용체 결합 친화성의 표준 생물검정 또는 분석에서, 야생형 성숙 포유동물 IL-7과 실질적인 아미노산 서열 동일성 및 실질적으로 동등한 생물학적 활성을 가지는 IL-7 폴리펩타이드 및 이의 유도체 및 유사체를 지칭한다. 예를 들어, IL-7은, i) IL-7 폴리펩타이드의 천연 또는 자연-발생 대립유전자 변이체, ii) IL-7 폴리펩타이드의 생물학적 활성 단편, iii) IL-7 폴리펩타이드의 생물학적 활성 폴리펩타이드 유사체, 또는 iv) IL-7 폴리펩타이드의 생물학적 활성 변이체의 아미노산 서열을 가지는 재조합 또는 비-재조합 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 지칭한다. 본 발명의 IL-7 폴리펩타이드는 임의의 종, 예를 들어 인간, 소 또는 양으로부터 얻을 수 있다. IL-7 핵산 및 아미노산 서열은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 인간 IL-7 아미노산 서열은 젠뱅크 수탁 번호가 P13232(서열번호

1)이고; 마우스 IL-7 아미노산 서열은 제뱅크 수탁 번호가 P10168(서열번호 3)이며; 래트 IL-7 아미노산 서열은 제뱅크 수탁 번호가 P56478(서열번호 2)이고; 원숭이 IL-7 아미노산 서열은 제뱅크 수탁 번호가 NP_001279008(서열번호 4)이며; 소 IL-7 아미노산 서열은 제뱅크 수탁 번호가 P26895(서열번호 5)이고; 양 IL-7 아미노산 서열은 제뱅크 수탁 번호가 Q28540(서열번호 6)이다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 폴리펩타이드는 IL-7 단백질의 변이체이다.

[0097] IL-7 단백질의 "변이체"는 하나 이상의 아미노산에 의해 변경되는 아미노산 서열로 정의된다. 변이체는, 치환된 아미노산이 유사한 구조적 또는 화학적 특성을 가지는 "보존적" 변화, 예를 들어 류신의 아이소류신으로의 대체를 가질 수 있다. 보다 드물게는, 변이체는 "비보존적" 변화, 예를 들어 글리신의 트립토판으로의 대체를 가질 수 있다. 유사한 사소한 변이는 또한 아미노산 결실 또는 삽입, 또는 둘 다를 포함할 수 있다. 생물학적 활성을 제거하지 않으면서 치환, 삽입 또는 결실될 수 있는 아미노산 및 아미노산의 수를 결정하는 데 있어서 지침은 당업계에 잘 알려져 있는 컴퓨터 프로그램, 예를 들어 분자 모델링 또는 정렬 생성을 위한 소프트웨어를 사용하여 찾을 수 있다. 본 발명에 포함된 변이체 IL-7 단백질은 IL-7 활성을 유지하는 IL-7 단백질을 포함한다. 단백질이 실질적으로 동등한 생물학적 IL-7 활성을 유지하는 한, 추가, 치환 또는 결실을 또한 포함하는 IL-7 폴리펩타이드가 또한 본 발명에 포함된다. 예를 들어, IL-7 단백질의 전장 형태와 비슷한 생물학적 활성을 유지하는 IL-7의 절단체는 본 발명에 포함된다. IL-7 단백질의 활성은 하기 실시예 6에 기재된 바와 같은 시험관내 세포 증식 분석을 사용하여 측정될 수 있다. 본 발명의 IL-7 변이체의 활성은 야생형 IL-7과 비교하여 적어도 10%, 20%, 40%, 60%, 그러나 보다 바람직하게는 80%, 90%, 95%, 훨씬 더 바람직하게는 99%의 생물학적 활성을 유지한다.

[0098] 변이체 IL-7 단백질은 또한 야생형 IL-7과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성을 가지는 폴리펩타이드를 포함한다. 2개 아미노산 서열 또는 2개 핵산의 동일성 백분율을 결정하기 위해, 서열은 최적 비교 목적을 위해 정렬된다(예를 들어, 제2 아미노산 또는 핵산 서열과의 최적 정렬을 위해 갭이 제1 아미노산의 서열 또는 핵산 서열에 도입될 수 있음). 2개 서열 사이의 동일성 백분율은 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다(즉, 동일성 % = 동일한 위치의 #/총 위치의 # × 100). 2개 서열 사이의 상동성 백분율의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 2개 서열의 비교를 위해 이용되는 수학적 알고리즘의 바람직한 비제한적 예는 문헌[Karlin and Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-77]에서와 같이 변형된, 문헌[Karlin and Altschul (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-68]의 알고리즘이다. 이와 같은 알고리즘은 문헌[Altschul, et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램에 통합되어 있다. BLAST 뉴클레오타이드 검색은 NBLAST 프로그램, 스코어 = 100, 문자길이 = 12를 이용하여 수행될 수 있다. BLAST 단백질 검색은 XBLAST 프로그램, 스코어 = 50, 문자길이 = 3을 이용하여 수행될 수 있다. 비교 목적을 위해 갭이 도입된 정렬을 얻기 위해, 문헌[Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Research* 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 Gapped BLAST를 이용할 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 이용할 때, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 매개 변수가 사용될 수 있다.

[0099] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "예정사-1(PD-1)"은 CD28 패밀리에 속하는 면역억제 수용체를 지칭한다. PD-1은 생체내에서 이전에 활성화된 T 세포 상에서 주로 발현되고, 2가지 리간드, 즉, PD-L1 및 PD-L2에 결합한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "PD-1"은 인간 PD-1(hPD-1), hPD-1의 변이체, 동형단백질, 및 중 상동체, 및 hPD-1과 적어도 하나의 공통 에피토프를 가지는 유사체를 포함한다. 완전한 hPD-1 서열은 제뱅크 수탁 번호 U64863로 확인할 수 있다.

[0100] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "예정사 리간드-1(PD-L1)"은 PD-1에 결합시 T 세포 활성화 및 사이토카인 분비를 하향조절하는 PD-1에 대한 2가지 세포 표면 당단백질 리간드 중 하나(다른 하나는 PD-L2임)를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1(hPD-L1), hPD-L1의 변이체, 동형단백질, 및 중 상동체, 및 hPD-L1과 적어도 하나의 공통 에피토프를 가지는 유사체를 포함한다. 완전한 hPD-L1 서열은 제뱅크 수탁 번호 Q9NZQ7로 확인할 수 있다.

[0101] "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 용어 "비인간 동물"은 척추동물, 예컨대, 비인간 영장류, 양, 개 및 설치류, 예컨대, 마우스, 래트 및 기니피그를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 양태에서, 대상체는 인간이다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본 명세서에서 호환 가능하게 사용된다.

[0102] 용어 "치료적 유효량" 또는 "치료적 유효 투약량"은 원하는 생물학적, 치료적, 및/또는 예방적 결과를 제공하는 작용제의 양을 지칭한다. 해당 결과는 질환의 징후, 증상, 또는 원인 중 하나 이상의 감소, 개선, 일시적 억제,

경감, 지연, 및/또는 완화, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 원하는 변경일 수 있다. 고형 종양과 관련하여, 유효량은 종양을 수축시키고/시키거나 종양 성장 속도를 감소(예컨대, 종양 성장을 억제)시키거나 다른 원치않는 세포 증식을 예방 또는 지연시키기에 충분한 양을 포함한다. 일부 양태에서, 유효량은 종양 발달을 지연시키기에 충분한 양이다. 일부 양태에서, 유효량은 종양 재발을 예방하거나 지연시키기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 약물 또는 조성물의 유효량은 (i) 암 세포의 수를 감소시킬 수 있고/있거나; (ii) 종양 크기를 감소시킬 수 있고/있거나; (iii) 말초 기관으로 암 세포 침윤을 어느 정도로 억제, 지연, 늦출 수 있거나 이를 정지시킬 수 있고/있거나; (iv) 저해(즉, 종양 전이를 어느 정도로 늦출 수 있고 이를 정지시킬 수 있음)시킬 수 있고/있거나; (v) 종양 성장을 저해시킬 수 있고/있거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 예방 또는 지연시킬 수 있고/있거나; (vii) 암과 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도로 완화시킬 수 있다. 일부 양태에서, "치료적 유효량"은 암의 현저한 감소 또는 암, 예컨대, 진행성 고형 종양의 진행의 늦춤(퇴행)에 영향을 미치는 것으로 임상적으로 입증된 조합의 IL-7 단백질의 양 및 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-1 경로 저해제, 예를 들어 항-PD-1 항체)의 양이다. 질환 퇴행을 촉진시키는 치료제의 능력은, 예컨대, 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 분석에서 작용제의 활성을 분석함으로써, 숙련된 실무자에게 알려진 다양한 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

[0103] 용어 "투약 빈도"는 치료제(예를 들어, IL-7 단백질 또는 면역 관문 저해제)가 특정 기간 내에 대상체에게 투여되는 횟수를 지칭한다. 투약 빈도는 주어진 시간 당 투약 수로서, 예를 들어 1일에 1회, 1주에 1회, 또는 2주에 1회로 표시될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "투약 빈도"는 대상체가 치료제의 다중(또는 반복된) 투여를 받는 경우에 적용 가능하다.

[0104] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "표준 치료"는 특정 유형의 질환에 대한 적절한 치료법으로서 의학 전문가에 의해 수용되고 의료 전문가에 의해 널리 사용되는 치료법을 지칭한다. 상기 용어는 용어 "모범 실무", "표준 의학 치료", 및 "표준 요법" 중 임의의 것과 호환 가능하게 사용될 수 있다.

[0105] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약물"은 질환 또는 다른 바람직하지 않은 병태를 예방 또는 치료하기 위해 인간 또는 비-인간 포유동물에게 투여하기 위한 임의의 생체활성제(예를 들어, IL-7 단백질 또는 면역 관문 저해제)를 지칭한다. 약물은 호르몬, 성장 인자, 단백질, 펩타이드 및 기타 화합물을 포함한다. 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 약물은 항암제이다.

[0106] 예로서, "항암제"는 대상체에서 암 퇴행을 촉진시키거나 추가의 종양 성장을 예방한다. 특정 양태에서, 치료적 유효량의 약물은 암을 제거하는 지점까지 암 퇴행을 촉진시킨다. "암 퇴행을 촉진시키는 것"은 유효량의 약물을 단독으로 또는 항-신생물제와 조합하여 투여하면 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양의 괴사, 적어도 하나의 질환 증상의 중증도 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 기간 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 예방을 초래함을 의미한다. 추가적으로, 치료와 관련하여 용어 "효과적" 및 "유효성"은 약리학적 유효성 및 생리적 안전성을 둘 다 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진시키는 약물의 능력을 지칭한다. 생리적 안전성은 독성 수준, 또는 약물의 투여로 인한 세포, 기관 및/또는 유기체 수준에서 다른 부정적인 생리적 효과(부작용)를 지칭한다.

[0107] 종양 치료를 위한 예로서, 치료적 유효량의 항암제는 비치료 대상체에 비하여, 또는 특정 양태에서 표준 치료 요법으로 치료된 환자에 비하여 세포 성장 또는 종양 성장을 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 40%, 적어도 약 60%, 또는 적어도 약 80%만큼 저해시킬 수 있다. 본 발명의 다른 양태에서, 종양 퇴행은 적어도 약 20일, 적어도 약 40일, 또는 적어도 약 60일 동안 관찰되고 지속될 수 있다. 이러한 치료 유효성의 극극적인 측정에도 불구하고, 면역요법 약물의 평가는 또한 "면역-관련" 반응 패턴을 참작해야 한다.

[0108] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 관문 저해제"는 하나 이상의 관문 단백질을 전체적으로 또는 부분적으로 감소, 억제, 방해 또는 조정하는 분자를 지칭한다. 관문 단백질은 T-세포 활성화 또는 기능을 조절한다. 수많은 관문 단백질, 예컨대, CTLA-4 및 그의 리간드인 CD80 및 CD86; 및 PD-1과 그의 리간드인 PD-L1 및 PD-L2가 알려져 있다. 문헌[Pardoll, D.M., *Nat Rev Cancer* 12(4):252-64 (2012)]. 이 단백질은 T-세포 반응의 공동자극 또는 억제 상호작용을 담당한다. 면역 관문 단백질은 자가 내성 및 생리적 면역 반응의 기간 및 크기를 조절하고 유지한다. 면역 관문 저해제는 항체를 포함하거나 항체로부터 유래된다.

[0109] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "기준(reference)"은 IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합을 투여받지 않은 상응하는 대상체(예를 들어, 암 대상체), 예를 들어 IL-7 단백질을 단독으로 또는 면역 관문 저해제를 단독으로 투여받은 대상체를 지칭한다. 일부 양태에서, 기준 대상체는 IL-7 단백질도 면역 관문 저해제로 투여받지 않았다. 용어 "기준"은 또한 동일한 암 대상체이지만 IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합의 투여

전인 암 대상체를 지칭한다. 특정 양태에서, 용어 "기준"은 대상체(예를 들어, 암 대상체) 집단의 평균을 지칭한다.

[0110] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "ug" 및 "uM"은 각각 " μg " 및 " μM "과 호환 가능하게 사용된다.

[0111] 본 명세서에 기재된 다양한 양태는 다음 하위 섹션에서 더 상세히 기재된다.

[0112] II. 개시내용의 방법

[0113] 본 개시내용은 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 면역 관문 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양(또는 암)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양(또는 암)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 방법과 함께 사용될 수 있는 면역 관문 저해제의 비제한적인 예는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA-4 항체, 및 이들의 조합을 포함한다.

[0114] 일부 양태에서, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합은 대상체에게 투여될 때 대상체에서 절대 림프구 수를 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 절대 림프구 수는 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여한 후 상응하는 대상체에서의 값)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 또는 그 이상만큼 증가된다.

[0115] 일부 양태에서, 대상체에게 본 명세서에 개시된 조합(즉, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합)의 투여는 대상체에서 T 세포 증식(예를 들어, CD8^+ T 세포)을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, T 세포 증식의 증가는 말초(예를 들어, 종양 내부가 아님)에서 일어난다. 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체에서 종양에 대한 이펙터 T 세포(예를 들어, 세포독성 CD8^+ T 림프구)의 동원을 증가시킬 수 있다.

[0116] 특정 양태에서, T 세포 증식은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여한 후 상응하는 대상체에서의 값)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 또는 그 이상만큼 증가된다. 특정 양태에서, IL-7 투여에 반응하여 증식하는 T 세포(예를 들어, CD8^+ T 세포)는 에오메소더민(Eomes), 그랜자임 B, CXCR3, IFN- γ 또는 이들의 조합물인 마커 중 하나 이상을 발현한다.

[0117] 특정 양태에서, 종양에 대한 이펙터 T 세포의 동원은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여한 후 상응하는 대상체에서의 값)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 또는 그 이상만큼 증가된다.

[0118] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체에서 종양 성장을 억제하고/하거나 감소시킨다. 일부 양태에서, 종양 성장(예를 들어, 종양 부피 또는 중량)은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여한 후 상응하는 대상체에서의 종양 부피)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.

[0119] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 종양 항원에 대한 면역 반응을 촉진시키고/시키거나 향상시킴으로써 종양 또는 종양에 의해 고통받는 대상체를 치료한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 조성물의 투여는 대상체의 종양에서 종양-침윤 림프구(TIL)(예를 들어, CD4^+ 또는 CD8^+)의 수 및/또는 백분율을 증가시킨다. 일부 양태에서, TIL의 수 및/또는 백분율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 대상체의 종양에서의 TIL의 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 투여 후 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.

[0120] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체의 종양에서 조절 T 세포(Treg)의 수 및/

또는 백분율을 감소시킨다. 일부 양태에서, 조절 T 세포는 $CD4^{+}$ 조절 T 세포이다. 일부 양태에서, 조절 T 세포는 $Foxp3^{+}$ 이다. 특정 양태에서, 종양에서 조절 T 세포의 수 및/또는 백분율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여받은 대상체에서 상응하는 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.

[0121] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체의 종양에서 Treg에 대한 $CD8^{+}$ TIL의 비율을 증가시킨다. 특정 양태에서, Treg에 대한 $CD8^{+}$ TIL의 비율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 대상체의 종양에서의 TIL의 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.

[0122] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체의 종양에서 골수-유래 억제 세포(MDSC)의 수 및/또는 백분율을 감소시킨다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "골수-유래 억제 세포"(MDSC)는 골수 기원, 미성숙 상태, 및 T 세포 반응을 강력하게 억제하는 능력에 의해 정의되는 면역 세포의 이중 집단을 지칭한다. 이는 만성 감염 및 암과 같은 특정 병리학적 병태에서 확장되는 것으로 알려져 있다. 특정 양태에서, MDSC는 단핵구 MDSC(M-MDSC)이다. 다른 양태에서, MDSC는 다형핵 MDSC(PMN-MDSC)이다. 일부 양태에서, 종양에서 MDSC의 수 및/또는 백분율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독의 투여 후 상응하는 대상체에서의 값)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.

[0123] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체의 종양에서 MDSC에 대한 $CD8^{+}$ TIL의 비율을 증가시킨다. 특정 양태에서, MDSC에 대한 $CD8^{+}$ TIL의 비율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독의 투여 후 상응하는 대상체에서의 값)과 비교하여, 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.

[0124] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체에서 TIL 상에서의 면역 관문 저해제 분자(예를 들어, PD-1)의 발현을 감소시킨다. 특정 양태에서, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합은 TIL 상에서 면역 관문 저해제 분자(예를 들어, PD-1) 발현의 평균 형광 지수(MFI)를 감소시킨다. 일부 양태에서, 면역 관문 저해제 분자는 PD-1이다. 특정 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여받은 대상체에서 상응하는 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 $CD8^{+}$ TIL 상에서의 PD-1 발현의 MFI를 감소시킨다.

[0125] 일부 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체에서 TIL 상에서의 이펙터(예를 들어, 항-종양) 활성화와 연관된 마커의 발현을 증가시킨다. 이펙터 활성화와 연관된 마커의 비제한적인 예는 Ki-67, 그랜자임 B, T-bet, Eomes, CXCR3, IFN- γ , TNF- α 및 IL-2를 포함한다. 특정 양태에서, 이펙터 활성화와 연관된 마커는 Ki-67 및 그랜자임 B를 포함한다. 특정 양태에서, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합을 투여받지 않은 대상체에서의 상응하는 값)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 TIL 상에서의 이펙터 활성화와 연관된 마커의 발현의 평균 형광 지수(MFI)를 증가시킨다.

[0126] 상기 기재된 바와 같이, 다수의 이용 가능한 표준 치료 암 치료법(예를 들어, 화학요법 및 방사선요법)은 림프구감소증을 유발하는 것으로 알려져 있으므로, 많은 암 환자에는 림프구감소증이 있다. 따라서, 본 명세서에 개시된 방법은 또한 림프구감소증 대상체에서 암을 치료하는 데 사용될 수 있다.

- [0127] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "림프구감소증 대상체"는 림프구감소증이 있는 대상체를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "림프구감소증(lymphopenia)" 및 "림프구감소증(lymphocytopenia)"은 호환 가능하게 사용되며 순환 면역 세포(예를 들어, 림프구)의 비정상적인 적은 수를 특징으로 하는 병태를 지칭한다. 모든 유형의 림프구 또는 림프구의 하위 집단(예를 들어, $CD4^+$ T 세포)의 말초 순환은 림프구감소증을 앓고 있는 환자에서 고갈될 수 있거나 비정상적으로 낮을 수 있다. 예를 들어, 문헌[Lymphopenia Description, The Merck Manual (18th Edition, 2006, Merck & Co.)]을 참조한다. 일부 양태에서, 정상적인 대상체(예를 들어, 건강한 개체)와 비교하여, 림프구감소증 대상체는 감소된 수의 T-림프구("T-림프구감소증"), B-림프구("B-림프구감소증"), 및/또는 NK 세포("NK 림프구감소증")를 가진다.
- [0128] 정량적으로, 림프구감소증은 다양한 컷오프에 의해 기재될 수 있다. 일부 양태에서, 림프구감소증 대상체는 림프구감소증을 나타내지 않는 상응하는 대상체에서 순환하는 혈액 총 림프구 수와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 더 적은 순환하는 혈액 총 림프구 수를 가진다. 일부 양태에서, 대상체가 약 1,500개 림프구/ μL 미만, 약 1,000개 림프구/ μL 미만, 약 800개 림프구/ μL 미만, 약 500개 림프구/ μL 미만, 또는 약 200개 림프구/ μL 미만의 순환하는 혈액 총 림프구 수를 가지는 경우, 대상체에는 림프구감소증이 있다.
- [0129] 림프구감소증에는 광범위한 가능한 원인이 있다. 일부 양태에서, 림프구감소증은 종양에 의해 유발되거나 종양과 연관된다. 일부 양태에서, 림프구감소증은 종양에 대한 이전 요법(예를 들어, 화학요법 및 방사선요법)에 의해 유발되거나 이와 연관된다. 일부 양태에서, 림프구감소증은 바이러스(예를 들어, HIV 또는 간염 감염), 박테리아(예를 들어, 활동성 결핵 감염), 및 진균 감염을 포함하는 감염; 심장 우심실의 만성 부전, 호지킨병 및 림프계의 암, 백혈병, 흉관 누수 또는 파열, 항암제, 항바이러스제, 및 글루코코르티코이드를 포함한 처방약의 부작용, 단백질이 낮은 식단으로 인한 영양실조, 방사선요법, 요독증, 자가면역 장애, 면역 결핍 증후군, 높은 스트레스 수준, 외상에 의해 유발되거나 이들과 연관된다.
- [0130] 일부 양태에서, 림프구감소증은 특발성이다(즉, 병인이 알려져 있지 않음). 특발성 림프구감소증의 비제한적인 예는 특발성 $CD4$ 양성 T-림프구감소증(ICL), 급성 방사선 증후군(ARS), 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0131] 일부 양태에서, 종양이 있는 림프구감소증 대상체에게 면역 관문 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 투여는 대상체에서 종양 성장을 억제시키고/시키거나 감소시킨다. 일부 양태에서, 종양 성장(예를 들어, 종양 부피 또는 중량)은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독의 투여 후 상응하는 대상체에서의 종양 부피)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.
- [0132] 일부 양태에서, 종양이 있는 림프구감소증 대상체에게 면역 관문 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 투여는 대상체의 종양에서 종양-침윤 림프구(TIL)(예를 들어, $CD4^+$ 또는 $CD8^+$)의 수 및/또는 백분율을 증가시킨다. 일부 양태에서, TIL의 수 및/또는 백분율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 대상체의 종양에서의 TIL의 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 투여 후 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.
- [0133] 일부 양태에서, 종양이 있는 림프구감소증 대상체에게 면역 관문 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 투여는 대상체의 종양에서 조절 T 세포의 수 및/또는 백분율을 감소시킨다. 일부 양태에서, 조절 T 세포는 Foxp3^+ 이다. 특정 양태에서, 종양에서 조절 T 세포의 수 및/또는 백분율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여받은 대상체에서 상응하는 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.
- [0134] 일부 양태에서, 림프구감소증 대상체에게 IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체의 종양에서 Treg에 대한 $CD8^+$ TIL의 비율을 증가시킨다. 특정 양태에서, Treg에 대한 $CD8^+$ TIL의 비율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료받은 대상체의 종양에서의 TIL의 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 투여 후 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.

50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.

[0135] 일부 양태에서, 림프구감소증 대상체에게 IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 대상체에서 TIL 상에서의 면역 관문 저해제 분자(예를 들어, PD-1)의 발현을 감소시킨다. 특정 양태에서, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제의 조합은 TIL 상에서의 면역 관문 저해제 분자(예를 들어, PD-1)의 평균 형광 지수(MFI)를 감소시킨다. 일부 양태에서, 면역 관문 저해제 분자는 PD-1이다. 특정 양태에서, IL-7 단백질과 면역 관문 저해제 조합의 투여는 기준(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독을 투여받은 대상체에서 상응하는 수 및/또는 백분율)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 CD8⁺ TIL 상에서의 PD-1 발현의 MFI를 감소시킨다.

[0136] 본 명세서에 개시된 방법으로 치료될 수 있는 암(또는 종양)의 비제한적인 예는 편평세포 암종, 소세포 폐암(SCLC), 비-소세포 폐암, 편평 비-소세포 폐암(NSCLC), 비평편 NSCLC, 위장암, 신장암(예를 들어, 투명세포 암종), 난소암, 간암(예를 들어, 간세포 암종), 결장직장암, 자궁내막암, 신장암(예를 들어, 신세포 암종(RCC)), 전립선암(예를 들어, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 갑상선암, 췌장암, 자궁경부암, 위암(stomach cancer), 방광암, 간세포암, 유방암, 결장 암종, 및 두경부암(또는 암종), 위암(gastric cancer), 배아세포 종양, 소아 육종, 비부비동 자연 살해, 흑색종(예를 들어, 전이성 악성 흑색종, 예컨대, 피부 또는 안구내 악성 흑색종), 골암, 피부암, 자궁암, 항문 부위 암, 고환암, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암(예를 들어, 위식도 접합부위 암), 소장암, 내분비계암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 소아 고형 종양, 요관암, 신우 암종, 종양 혈관신생, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 암을 포함한 환경-유발 암, 바이러스-관련 암 또는 바이러스 기원의 암(예를 들어, 인유두종 바이러스(HPV-관련 또는 -기원 종양)), 및 2가지 주요 혈액 세포 계통, 즉, 골수 세포주(과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포 및 비만세포를 생성함) 또는 림프 세포주(B, T, NK 및 형질 세포를 생성함) 중 어느 하나로부터 유래된 혈액암, 예컨대, 모든 유형의 백혈병, 림프종, 및 골수종, 예를 들어 급성, 만성, 림프구성 및/또는 골수성 백혈병, 예컨대, 급성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 및 만성 골수성 백혈병(CML), 미분화 AML(MO), 골수아구성 백혈병(M1), 골수아구성 백혈병(M2; 세포 성숙이 있음), 전골수구 백혈병(M3 또는 M3 변이체[M3V]), 골수단핵구 백혈병(M4 또는 호산구증가증이 있는 M4 변이체[M4E]), 단핵구성 백혈병(M5), 적백혈병(M6), 거핵아구성 백혈병(M7), 단리된 과립구 육종, 및 녹색종; 림프종, 예컨대, 호지킨 림프종(HL), 비호지킨 림프종(NHL), B 세포 혈액암, 예를 들어, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 림프형질세포양 림프종, 단구양 B-세포 림프종, 점막-연관 림프 조직(MALT) 림프종, 역형성(예를 들어, Ki1⁺) 대세포 림프종, 성인 T-세포 림프종/백혈병, 맨틀세포 림프종, 혈관면역모구 T-세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장관 T-세포 림프종, 원발성 종격동 B-세포 림프종, 전구 T-림프아구성 림프종, T-림프아구성; 및 림프종/백혈병(T-Lbly/T-ALL), 말초 T-세포 림프종, 림프아구성 림프종, 이식 후 림프증식 장애, 진조직구성 림프종, 원발성 삼출액 림프종, B 세포 림프종, 림프아구성 림프종(LBL), 림프구 계통의 조혈 종양, 급성 림프아구성 백혈병, 미만성 거대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 소포성 림프종, 광범위 조직구 림프종(DHL), 면역모세포성 거대 세포 림프종, 전구 B-림프아구성 림프종, 피부 T-세포 림프종(CTLC)(또한, 균상식육종 또는 세자리 증후군이라고도 함), 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증이 있는 림프형질세포양 림프종(LPL); 골수종, 예컨대, IgG 골수종, 경쇄 골수종, 비분비성 골수종, 무증상 골수종(또한 무통성 골수종이라고도 함), 단일 형질세포종, 및 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 모발세포 림프종; 골수 계통의 조혈 종양, 섬유육종 및 횡문근육종을 포함하는 간엽 기원의 종양; 섬유육종, 횡문근육종, 및 골육종을 포함하는 간엽 기원의 종양, 정상피종, 기형암종; 및 흑색종, 색소성 건피증, 각질가시세포종, 정상피종, 갑상선 소포성 암 및 기형암종을 포함하는 기타 종양, 림프구 계통의 조혈 종양, 예를 들어 소세포 및 대뇌모양 세포 유형을 포함하는 T-전림프구성 백혈병(T-PLL)과 같은 T-세포 장애를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, T-세포 및 B-세포 종양; T-세포 유형의 거대과립 림프구 백혈병(LGL); a/d T-NHL 간비장 림프종; 말초/흉선 후 T 세포 림프종(다형성 및 면역모세포 아형); 혈관중심성(비강) T-세포 림프종; 두경부암, 신장암, 직장암, 갑상선암; 급성 골수성 림프종, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0137] 일부 양태에서, 치료될 수 있는 암(또는 종양)은 유방암, 두경부암, 자궁암, 뇌암, 피부암, 신장암, 폐암, 결장 직장암, 전립선암, 간암, 방광암, 신장암, 췌장암, 갑상선암, 식도암, 안암, 위암, 위장암, 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 양태에서, 본 방법으로 치료될 수 있는 암(또는 종양)은 유방암이다. 일부 양태에서, 유방암은 삼중음성 유방암(TNBC)이다. 일부 양태에서, 치료될 수 있는 암

(또는 종양)은 뇌암이다. 특정 양태에서, 뇌암은 교모세포종이다. 일부 양태에서, 본 방법으로 치료될 수 있는 암(또는 종양)은 피부암이다. 일부 양태에서, 피부암은 기저세포 암종(BCC), 피부 편평세포 암종(cSCC), 흑색종, 메르켈 세포 암종(MCC), 또는 이들의 조합이다. 특정 양태에서, 두경부암은 두경부 편평세포 암종이다. 추가 양태에서, 폐암은 소세포 폐암(SCLC)이다. 일부 양태에서, 식도암은 위식도 접합부위 암이다. 특정 양태에서, 신장암은 신세포 암종이다. 일부 양태에서, 간암은 간세포 암종이다.

[0138] 일부 양태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 또한 전이성 암, 절제불가능한 불응성 암(예를 들어, 이전 암 요법, 예를 들어 면역요법(예를 들어, 차단 항-PD-1 항체를 이용함)에 대해 불응성인 암), 및/또는 재발성 암의 치료에 사용될 수 있다. 특정 양태에서, 이전 암 요법은 화학요법을 포함한다. 일부 양태에서, 화학요법은 백금-기반 요법을 포함한다. 일부 양태에서, 백금-기반 요법은 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 네다플라틴, 트리플라틴 테트라나이트레이트, 페난트리플라틴, 피코플라틴, 사트라플라틴, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백금-기반 항신생물제를 포함한다. 특정 양태에서, 백금-기반 요법은 시스플라틴을 포함한다. 추가 양태에서, 백금-기반 요법은 카보플라틴을 포함한다.

[0139] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 방법으로 치료될 대상체는 이전에 1, 2, 3, 4, 5회 또는 그 이상의 암 치료를 받았다. 다른 양태에서, 대상체는 치료 경험이 없다(즉, 이전에 암 치료를 받은 적이 없음). 일부 양태에서, 대상체는 다른 암 치료를 진행하였다. 특정 양태에서, 이전 암 치료는 면역요법(예를 들어, 항-PD-1 항체를 이용함)을 포함하였다. 다른 양태에서, 이전 암 치료는 화학요법을 포함하였다. 일부 양태에서, 종양은 재발하였다. 일부 양태에서, 종양은 전이성이다. 다른 양태에서, 종양은 전이성이 아니다.

[0140] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 방법은 (예를 들어, 종양으로 고통받는) 이를 필요로 하는 대상체의 생존 기간을 효과적으로 증가시킨다. 예를 들어, 일부 양태에서, 대상체의 생존 기간은 기준 개체(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 상응하는 대상체)와 비교할 때 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 또는 적어도 약 1년 또는 그 이상만큼 증가된다. 다른 양태에서, 본 명세서에 개시된 방법은 기준 대상체(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 상응하는 대상체)의 생존 기간보다 더 높은 수준(약 1개월 초과, 약 2개월 초과, 약 3개월 초과, 약 4개월 초과, 약 5개월 초과, 약 6개월 초과, 약 7개월 초과, 약 8개월 초과, 약 9개월 초과, 약 10개월 초과, 약 11개월 초과, 또는 약 1년 초과)으로 대상체의 생존 기간을 증가시킨다.

[0141] 일부 양태에서, 본 개시내용의 방법은 대상체(예를 들어, 암환자)의 무진행생존 기간을 효과적으로 증가시킨다. 예를 들어, 대상체의 무진행생존은 기준 대상체(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 상응하는 대상체)와 비교할 때 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 또는 적어도 약 1년만큼 증가된다.

[0142] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 방법은 대상체 그룹에서 반응물을 효과적으로 증가시킨다. 예를 들어, 대상체 그룹에서 반응물은 기준 대상체(예를 들어, IL-7 단백질 단독 또는 면역 관문 저해제 단독으로 치료된 상응하는 대상체)와 비교할 때 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99% 또는 적어도 약 100%만큼 증가된다.

[0143] 일부 양태에서, 방법에서 치료될 대상체는 비인간 동물, 예컨대, 래트 또는 마우스이다. 일부 양태에서, 방법에서 치료될 대상체는 인간이다.

[0144] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질의 (예를 들어, 인간 사용을 위한) 단위 용량은 0.001 mg/kg 내지 10 mg/kg의 범위일 수 있다. 특정 양태에서, IL-7 단백질의 단위 용량은 0.01 mg/kg 내지 2 mg/kg의 범위이다. 일부 양태에서, 단위 용량은 0.02 mg/kg 내지 1 mg/kg의 범위이다. 단위 용량은 치료할 대상체 질환 및 부작용의 존재 여부에 따라 달라질 수 있다. IL-7 단백질의 투여는 주기적인 볼루스 주사 또는 외부 저장소(예를 들어, 정맥내 백)에 의해 또는 내부로부터의 지속적인 정맥내, 피하, 또는 복강내 투여(예를 들어, 생체부식성 임플란트)에 의해 수행될 수 있다. 특정 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 근육내 주사를 통해 투여된다.

[0145] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 중량-기반 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 양태

[illegible]

kg의 용량으로 투여된다. 다른 양태에서, IL-7 단백질은 약 1,980 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 약 2,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다.

- [0151] 일부 양태에서, IL-7은 고정 용량으로 투여될 수 있다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 약 0.25mg 내지 약 9mg의 고정 용량으로 투여될 수 있다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 0.25 mg, 약 1 mg, 약 3 mg, 약 6 mg, 또는 약 9mg의 고정 용량으로 투여될 수 있다.
- [0152] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 다중 용량(즉, 반복 투여)으로 대상체에게 투여된다. 특정 실시형태에서, IL-7 단백질은 적어도 2회, 적어도 3회, 적어도 4회, 적어도 5회, 적어도 6회, 적어도 7회, 적어도 8회, 적어도 9회, 또는 적어도 10회 또는 그 이상 대상체에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 대상체는 (예를 들어, 면역 관문 저해제의 투여 전, 동시에 또는 후에) IL-7 단백질의 단일 투여를 받는다.
- [0153] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 1주에 1회, 약 2주에 1회, 약 3주에 1회, 약 4주에 1회, 약 5주에 1회, 약 6주에 1회, 약 7주에 1회, 약 8주에 1회, 약 9주에 1회, 약 10주에 1회, 약 11주에 1회, 또는 약 12주에 1회의 투약 빈도로 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 약 10일마다 1회, 약 20일마다 1회, 약 30일마다 1회, 약 40일마다 1회, 약 50일마다 1회, 약 60일마다 1회, 약 70일마다 1회, 약 80일마다 1회, 약 90일마다 1회, 또는 약 100일마다 1회의 투약 빈도로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 3주에 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 2주에 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 4주에 1회 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 6주에 1회 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 8주에 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 9주에 1회 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 12주에 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 10일마다 1회 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 20일마다 1회 투여된다. 다른 양태에서, IL-7 단백질은 30일마다 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 40일마다 1회 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 50일마다 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 60일마다 1회 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 70일마다 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 80일마다 1회 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 90일마다 1회 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회 투여된다.
- [0154] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 1주, 약 2주, 약 3주, 또는 약 4주의 간격으로 약 720 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 양으로 2회 이상 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 2주, 약 3주, 약 4주, 또는 약 5주의 간격으로 약 840 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 양으로 2회 이상 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 2주, 약 3주, 약 4주, 약 5주, 또는 약 6주의 간격으로 약 960 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 양으로 2회 이상 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 3주, 약 4주, 약 5주, 약 6주, 약 7주, 또는 약 8주의 간격으로 약 1200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 양으로 2회 이상 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 약 3주, 약 4주, 약 5주, 약 6주, 약 7주, 약 8주, 약 2개월, 약 8주, 약 10주, 약 12주, 또는 약 3개월의 간격으로 약 1440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 양으로 2회 이상 투여된다.
- [0155] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 480 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 720 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 960 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 다른 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,420 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,460 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,480 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 1,700 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 1주에 1회의 투약 빈도로 2,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다.
- [0156] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 2주에 1회의 투약 빈도로 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 2주에 1회의 투약 빈도로 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 2주에 1회의 투약 빈도로 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 2주에 1회의 투약 빈도로 480 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 2주에 1회의 투약 빈도로 720 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여된다.

약 빈도로 1,440 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회의 투약 빈도로 1,460 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다. 특정 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회의 투약 빈도로 1,480 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회의 투약 빈도로 1,500 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다. 추가 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회의 투약 빈도로 1,600 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회의 투약 빈도로 1,700 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 100일마다 1회의 투약 빈도로 2,000 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 투여된다.

[0177] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 방법(IL-7 단백질을 면역 관문 저해제와 조합하여 투여하는 것)은 하나 이상의 추가적인 항암제 및/또는 면역조절제와 조합하여 사용될 수 있다. 이와 같은 작용제는, 예를 들어 화학요법 약물, 소분자 약물, 또는 주어진 암에 대한 면역 반응을 자극하는 항체를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 표준 치료 치료법(예를 들어, 수술, 방사선, 및 화학요법)과 조합하여 사용된다. 본 명세서에 기재된 방법은 또한 유지 요법, 예를 들어 종양의 발생 또는 재발을 예방하는 것으로 의도되는 요법으로서 사용될 수 있다.

[0178] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 종양을 치료하는 방법은 면역 경로의 다수 요소가 표적화될 수 있도록 IL-7 단백질을 하나 이상의 면역-항암 작용제와 조합하여 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 비제한적인 이와 같은 조합은 다음을 포함한다: 종양 항원 제시를 향상시키는 요법(예를 들어, 수지상 세포 백신, GM-CSF 분비 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오타이드, 이미퀴모드); 예를 들어 CTLA-4 및/또는 PD1/PD-L1/PD-L2 경로를 억제하고/하거나 Treg 또는 다른 면역 억제 세포(예를 들어, 골수 유래 억제 세포)를 고갈시키거나 차단시킴으로써 음성 면역 조절을 억제하는 요법; 예를 들어 CD-137, OX-40, 및/또는 CD40 또는 GITR 경로를 자극하고/하거나 T 세포 이펙터 기능을 자극하는 효현제를 이용하여, 양성 면역 조절을 자극하는 요법; 항-종양 T 세포의 빈도를 전신적으로 증가시키는 요법; 예를 들어 CD25의 길항제(예를 들어, 다클리주맙)를 사용하여 또는 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의해, Treg, 예컨대, 종양에서의 Treg를 고갈시키거나 억제하는 요법; 종양에서 억제제 골수 세포의 기능에 영향을 미치는 요법; 종양 세포의 면역원성을 향상시키는 요법(예를 들어, 안트라사이클린); 유전적으로 변형된 세포, 예를 들어 키메라 항원 수용체에 의해 변형된 세포를 포함하는 양자 T 세포 또는 NK 세포 전달(CAR-T 요법); 대사 효소, 예컨대, 인돌아민 다이옥시게나제(IDO), 다이옥시게나제, 아르기나제, 또는 일산화질소 합성효소를 억제하는 요법; T 세포 아네르기 또는 고갈을 역전/방지하는 요법; 종양 부위에서 선천적 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발시키는 요법; 면역 자극 사이토카인의 투여; 또는 면역 억제 사이토카인의 차단.

[0179] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여 사용될 수 있는 면역-항암 작용제는 면역 관문 저해제를 포함한다(즉, 특정 면역 관문 경로를 통해 신호전달을 차단함). 본 방법에서 사용될 수 있는 면역 관문 저해제의 비제한적인 예는 CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), PD-1 길항제(예를 들어, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체), 또는 이들의 조합물을 포함한다.

[0180] 일부 양태에서, 면역-항암 작용제는 면역 관문 활성화제를 포함한다(즉, 특정 면역 관문 경로를 통해 신호전달을 촉진시킴). 특정 양태에서, 면역 관문 활성화제는 OX40 효현제(예를 들어, 항-OX40 항체), LAG-3 효현제(예를 들어, 항-LAG-3 항체), 4-1BB(CD137) 효현제(예를 들어, 항-CD137 항체), GITR 효현제(예를 들어, 항-GITR 항체), 또는 이들의 임의의 조합물을 포함한다.

[0181] 일부 양태에서, IL-7 단백질 및 본 명세서에 논의된 제2 작용제(예를 들어, 면역 관문 저해제)의 조합은 약학적으로 허용 가능한 담체 중 단일 조성물로서 동시에 투여될 수 있다. 다른 양태에서, IL-7 단백질 및 본 명세서에 논의된 제2 작용제(예를 들어, 면역 관문 저해제)의 조합은 별개의 조성물로서 동시에 투여될 수 있다. 추가 양태에서, IL-7 단백질 및 본 명세서에 논의된 제2 작용제(예를 들어, 면역 관문 저해제)의 조합은 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 제2 작용제(예를 들어, 면역 관문 저해제)의 투여 전에 투여된다.

[0182] IIa. 개시내용에 유용한 IL-7 단백질

[0183] 암(또는 종양)을 치료하기 위해 면역 관문 저해제와 조합하여 사용될 수 있는 IL-7 단백질이 본 명세서에 개시된다. 일부 양태에서, 본 용도에 유용한 IL-7 단백질은 IL-7 단백질이, 예를 들어 IL-7R에 결합하여, 예를 들어 초기 T-세포 발달을 유도하고, T-세포 항상성을 촉진시킬 수 있는, IL-7의 하나 이상의 생물학적 활성을 포함하는 한, 야생형 IL-7 또는 변형된 IL-7(즉, 야생형 IL-7 단백질이 아님)(예를 들어, IL-7 변이체, IL-7 기능성 단편, IL-7 유도체, 또는 이들의 임의의 조합, 예를 들어 융합 단백질, 키메라 단백질 등)일 수 있다. 문헌 [ElKassar and Gress, *J Immunotoxicol.* 2010 Mar; 7(1): 1-7]을 참조한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 단백질은 야생형 IL-7 단백질이 아니다(즉, 하나 이상의 변형을 포함함). 이와 같은 변형의 비제한적인 예는

올리고펩타이드 및/또는 반감기 연장 모이어티를 포함할 수 있다. WO 2016/200219를 참조하며, 이는 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된다.

- [0184] IL-7은 흉선 기질상 림포포이에틴(thymic stromal lymphopoietin; TSLP)(Ziegler and Liu, 2006)과 공유되는 2개 사슬의 IL-7R α (CD127), 및 IL-2, IL-15, IL-9 및 IL-21에 대한 공통 γ 사슬(CD132)로 구성되는 수용체에 결합한다. γ c는 대부분 조혈 세포에서 발현되는 반면, IL-7R α 는 거의 독점적으로 림프 세포 상에서 발현된다. 수용체에 결합한 후, IL-7은 2가지 상이한 경로, 즉, 각각 분화 및 생존을 담당하는 Jak-Stat(야누스 키나제-신호 전달체 및 전사 활성화제) 및 PI3K/Akt를 통해 신호전달한다. IL-7 신호전달의 부재는 항-IL-7 중화 단클론성 항체(MAb)(Grabstein et al., 1993)를 투여받은 마우스, IL-7-/- (von Freeden-Jeffry et al., 1995), IL-7R α -/- (Peschon et al., 1994; Maki et al., 1996), γ c-/- (Malissen et al., 1997) 및 Jak3-/- 마우스(Park et al., 1995)에서 관찰되는 바와 같이 흉선 세포충실도 감소의 원인이 된다. IL-7 신호전달의 부재시, 마우스는 T-, B-, 및 NK-T 세포가 부족하다. IL-7 α -/- 마우스(Peschon et al., 1994)는 IL-7-/- 마우스(von Freeden-Jeffry et al., 1995)와 유사하지만 이보다 더 심각한 표현형을 가지고 있는데, 이는 아마도 TSLP 신호 전달이 또한 IL-7 α -/- 마우스에서 무효화되기 때문일 것이다. IL-7은 γ δ 세포(Maki et al., 1996) 및 NK-T 세포(Boesteanu et al., 1997)의 발달에 필요하다.
- [0185] 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 IL-7 단백질은 서열번호 1 내지 6 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 다른 양태에서, IL-7 단백질은 서열번호 1 내지 6의 서열과 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 이상의 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0186] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 변형된 IL-7 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 변형된 IL-7 또는 단편은 야생형 IL-7의 하나 이상의 생물학적 활성을 유지한다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 인간, 래트, 마우스, 원숭이, 소, 또는 양으로부터 유래될 수 있다.
- [0187] 일부 양태에서, 인간 IL-7은 서열번호 1(젠뱅크 수탁 번호 P13232)로 표현되는 아미노산 서열을 가질 수 있고; 래트 IL-7은 서열번호 2(젠뱅크 수탁 번호 P56478)로 표현되는 아미노산 서열을 가질 수 있으며; 마우스 IL-7은 서열번호 3(젠뱅크 수탁 번호 P10168)으로 표현되는 아미노산 서열을 가질 수 있고; 원숭이 IL-7은 서열번호 4(젠뱅크 수탁 번호 NP 001279008)로 표현되는 아미노산 서열을 가질 수 있으며; 소 IL-7은 서열번호 5(젠뱅크 수탁 번호 P26895)로 표현되는 아미노산 서열을 가질 수 있고; 양 IL-7은 서열번호 6(젠뱅크 수탁 번호 Q28540)으로 표현되는 아미노산 서열을 가질 수 있다.
- [0188] 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 IL-7 단백질은 IL-7 융합 단백질을 포함한다. 특정 양태에서, IL-7 융합 단백질은 (i) 올리고펩타이드 및 (ii) IL-7 또는 이의 변이체를 포함한다. 일부 양태에서, 올리고펩타이드는 IL-7 또는 이의 변이체의 N-말단 영역에 연결된다.
- [0189] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 올리고펩타이드는 1 내지 10개의 아미노산으로 이루어진다. 특정 양태에서, 올리고펩타이드는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 또는 10개의 아미노산으로 이루어진다. 일부 양태에서, 올리고펩타이드의 하나 이상의 아미노산은 메티오닌, 글리신, 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 양태에서, 올리고펩타이드는 메티오닌, 글리신, 메티오닌-메티오닌, 글리신-글리신, 메티오닌-글리신, 글리신-메티오닌, 메티오닌-메티오닌-메티오닌, 메티오닌-메티오닌-글리신, 메티오닌-글리신-메티오닌, 글리신-메티오닌-메티오닌, 메티오닌-글리신-글리신, 글리신-메티오닌-글리신, 글리신-글리신-메티오닌 및 글리신-글리신-글리신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 올리고펩타이드는 메티오닌-글리신-메티오닌이다.
- [0190] 일부 양태에서, IL-7 융합 단백질은 (i) IL-7 또는 이의 변이체, 및 (ii) 반감기 연장 모이어티를 포함한다. 일부 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 IL-7 또는 이의 변이체의 반감기를 연장한다. 일부 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 IL-7 또는 이의 변이체의 C-말단 영역에 연결된다.
- [0191] 일부 양태에서, IL-7 융합 단백질은 (i) IL-7(제1 도메인), (ii) 메티오닌, 글리신, 또는 이들의 조합, 예를 들어 MGM으로 이루어진 1 내지 10개의 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함하는 제2 도메인, 및 (iii) 반감기 연장 모이어티를 포함하는 제3 도메인을 포함한다. 일부 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 제1 도메인 또는 제2 도메인의 N-말단 또는 C-말단에 연결될 수 있다. 추가적으로, 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 IL-7은 제3 도메인의 양쪽 말단에 연결될 수 있다.
- [0192] 반감기 연장 모이어티의 비제한적인 예는 Fc, 알부민, 알부민-결합 폴리펩타이드, Pro/Ala/Ser(PAS), 인간 융모

성 생식선 자극호르몬의 β 서브유닛의 C-말단 펩타이드(CTP), 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 아미노산의 구조화되지 않은 긴 친수성 서열(XTEN), 하이드록시에틸 전분(HES), 알부민-결합 소분자, 및 이들의 조합물을 포함한다.

[0193] 일부 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 Fc이다. 특정 양태에서, Fc는 Fc 수용체 및/또는 보체와의 결합 친화성의 변형으로 인해 항체-의존성 세포 독성(ADCC) 또는 보체-의존성 세포독성(CDC)이 약화된 변형된 면역글로불린으로부터 유래한다. 일부 양태에서, 변형된 면역글로불린은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 양태에서, Fc는 힌지 영역, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 하이브리드 Fc("hFc" 또는 "hyFc")이다. 특정 양태에서, 본 명세서에 개시된 하이브리드 Fc의 힌지 영역은 인간 IgD 힌지 영역을 포함한다. 특정 양태에서, 하이브리드 Fc의 CH2 도메인은 인간 IgD CH2 도메인의 일부 및 인간 IgG4 CH2 도메인의 일부를 포함한다. 특정 양태에서, 하이브리드 Fc의 CH3 도메인은 인간 IgG4 CH3 도메인의 일부를 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 하이브리드 Fc는 힌지 영역, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하며, 여기서 힌지 영역은 인간 IgD 힌지 영역을 포함하고, CH2 도메인은 인간 IgD CH2 도메인의 일부 및 IgG4 CH2 도메인의 일부를 포함하며, CH3 도메인은 인간 IgG4 CH3 도메인의 일부를 포함한다.

[0194] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 Fc는 Fc 변이체일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "Fc 변이체"는 Fc 영역 중 아미노산의 일부를 치환함으로써 또는 상이한 종류의 Fc 영역을 조합함으로써 제조된 Fc를 지칭한다. Fc 영역 변이체는 힌지 영역에서 절단되는 것을 방지할 수 있다. 구체적으로, 일부 양태에서, Fc 변이체는 서열번호 9의 144번째 아미노산 및/또는 145번째 아미노산에서 변형을 포함한다. 특정 양태에서, 144번째 아미노산(K) 및/또는 145번째 아미노산(K)은 G 또는 S로 치환된다.

[0195] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 Fc 또는 Fc 변이체는 하기 식으로 표현될 수 있으며:

[0196] $N' - (Z1)_p - Y - Z2 - Z3 - Z4 - C$

[0197] 여기서,

[0198] N'은 N-말단을 포함하고;

[0199] Z1은 서열번호 7의 90 내지 98번 위치의 아미노산 잔기 중에서 N-말단 방향으로 98번 위치의 아미노산 잔기로부터 5 내지 9개의 연속적인 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함하며;

[0200] Y는 서열번호 7의 99 내지 162번 위치의 아미노산 잔기 중에서 N-말단 방향으로 162번 위치의 아미노산 잔기로부터 5 내지 64개의 연속적인 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함하고;

[0201] Z2는 서열번호 7의 163 내지 199번 위치의 아미노산 잔기 중에서 C-말단 방향으로 163번 위치의 아미노산 잔기로부터 4 내지 37개의 연속적인 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함하며;

[0202] Z3은 서열번호 8의 115 내지 220번 위치의 아미노산 잔기 중에서 N-말단 방향으로 220번 위치의 아미노산 잔기로부터 71 내지 106개의 연속적인 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함하고;

[0203] Z4는 서열번호 8의 221 내지 327번 위치의 아미노산 잔기 중에서 C-말단 방향으로 221번 위치의 아미노산 잔기로부터 80 내지 107개의 연속적인 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함한다.

[0204] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 Fc 영역은 서열번호 9(hyFc), 서열번호 10(hyFcM1), 서열번호 11(hyFcM2), 서열번호 12(hyFcM3), 또는 서열번호 13(hyFcM4)의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, Fc 영역은 서열번호 14의 아미노산 서열(비-용해성 마우스 Fc)을 포함할 수 있다.

[0205] 본 개시내용과 함께 사용될 수 있는 Fc 영역의 다른 비제한적인 예는 미국 특허 제7,867,491호에 기재되어 있으며, 상기 특허는 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0206] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 융합 단백질은 올리고펩타이드 및 반감기 연장 모이어티를 둘 다 포함한다.

[0207] 일부 양태에서, IL-7 단백질은 알부민, 이의 변이체, 또는 단편에 융합될 수 있다. IL-7 알부민 융합 단백질의 예는 국제 출원 공개 WO 2011/124718 A1에서 찾을 수 있다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은, 선택적으로 가요성 링커에 의해, 프리-프로-B-세포 성장 자극 인자(pre-pro-B cell Growth Stimulating Factor; PPBSF)에 융합된다. US 2002/0058791A1을 참조한다. 다른 양태에서, 개시내용에 유용한 IL-7 단백질은 특정 3차원 구조를 가지는 IL-7 형태이성질체이다. US 2005/0249701 A1을 참조한다. 일부 양태에서, IL-7 단백질은 Ig 사슬에 융합될

수 있으며, 여기서 IL-7 단백질의 아미노산 잔기 70 및 91번은 글리코실화되고 IL-7 단백질의 아미노산 잔기 116번은 비-글리코실화된다. US 7,323,549 B2를 참조한다. 일부 양태에서, 잠재적인 T-세포 에피토프를 포함하지 않는(이에 의해 항-IL-7 T-세포 반응을 감소시킴) IL-7 단백질이 또한 본 개시내용에 사용될 수 있다. US 2006/0141581 A1을 참조한다. 다른 양태에서, 카복시-말단 나선 D 영역에서 하나 이상의 아미노산 잔기 돌연변이를 가지는 IL-7 단백질이 본 개시내용에 사용될 수 있다. IL-7 돌연변이체는 수용체에 대한 더 낮은 결합 친화성에도 불구하고 IL-7R 부분 효현제로서 작용할 수 있다. US 2005/0054054A1을 참조한다. 상기 열거된 특허 또는 간행물에 기재된 임의의 IL-7 단백질은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0208] 추가적으로, 본 개시내용에 유용한 추가적인 IL-7 단백질의 비제한적인 예는 US 7708985, US 8034327, US 8153114, US 7589179, US 7323549, US 7960514, US 8338575, US 7118754, US 7488482, US 7670607, US 6730512, WO0017362, GB2434578A, WO 2010/020766 A2, WO91/01143, 문헌[Beq *et al.*, *Blood*, vol. 114 (4), 816, 23 July 2009, Kang *et al.*, *J. Virol.* Doi:10.1128/JVI.02768-15, Martin *et al.*, *Blood*, vol. 121 (22), 4484, May 30, 2013, McBride *et al.*, *Acta Oncologica*, 34:3, 447-451, July 8, 2009, 및 Xu *et al.*, *Cancer Science*, 109: 279-288, 2018]에 기재되어 있으며, 이들은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0209] 본 개시내용은 유효량의 인터류킨-7(IL-7) 단백질을 유효량의 면역 관문 저해제와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양(또는 암)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양(또는 암)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 방법과 사용될 수 있는 면역 관문 저해제의 비제한적인 예는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA-4 항체, 및 이들의 조합을 포함한다.

[0210] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 올리고펩타이드는 IL-7 또는 이의 변이체의 N-말단 영역에 직접 연결된다. 다른 양태에서, 올리고펩타이드는 링커를 통해 N-말단 영역에 연결된다. 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 반감기 연장 모이어티는 IL-7 또는 이의 변이체의 C-말단 영역에 직접 연결된다. 특정 양태에서, 반감기 연장 모이어티는 링커를 통해 C-말단 영역에 연결된다. 일부 양태에서, 링커는 펩타이드 링커이다. 특정 양태에서, 펩타이드 링커는 Gly 및 Ser 잔기로 이루어진 10 내지 20개 아미노산 잔기의 펩타이드를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 알부민 링커이다. 일부 양태에서, 링커는 화학 결합이다. 특정 양태에서, 화학 결합은 이황화 결합, 다이아민 결합, 설파이드-아민 결합, 카복시-아민 결합, 에스터 결합, 공유 결합, 또는 이들의 조합을 포함한다. 링커가 펩타이드 링커일 때, 일부 양태에서 연결은 임의의 연결 영역에서 일어날 수 있다. 이들은 당업계에 알려진 가교결합제를 사용하여 커플링될 수 있다. 일부 양태에서, 가교결합제의 예는 N-하이드록시 석신이미드 에스터, 예컨대, 1,1-비스(다이아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데하이드, 및 4-아지도살리실산; 다이석신이미드 에스터, 예컨대, 3,3'-다이티오비스 (석신이미드 프로피오네이트), 및 이작용성 말레이미드, 예컨대, 비스-N말레이미드-1,8-옥탄을 포함한 이미도 에스터를 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[0211] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 융합 단백질의 IL-7(또는 이의 변이체)는 서열번호 15 내지 20에 제시된 아미노산 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 융합 단백질의 IL-7(또는 이의 변이체)는 서열번호 15 내지 20에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0212] 일부 양태에서, IL-7 융합 단백질은 IL-7의 활성 또는 이의 유사한 활성을 가지는 폴리펩타이드를 포함하는 제1 도메인; 메티오닌, 글리신, 또는 이들의 조합으로 이루어진 1 내지 10개 아미노산 잔기를 가지는 아미노산 서열을 포함하는 제2 도메인; 및 제1 도메인의 C-말단에 커플링된 변형된 면역글로불린의 Fc 영역인 제3 도메인을 포함한다.

[0213] 일부 양태에서, 본 방법과 함께 사용될 수 있는 IL-7 융합 단백질은 서열번호 21 내지 25에 제시된 아미노산 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 융합 단백질은 서열번호 21 내지 25에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 추가 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 융합 단백질은 서열번호 26 및 27에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0214] 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 IL-7 단백질은 대상체에게 투여될 때 대상체에서 절대 림프구 수를 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 대상체는 본 명세서에 개시된 질환 또는 장애(예를 들어, 암)를 앓고 있다. 다른 양태에서, 대상체는 건강한 개체이다(예를 들어, 본 명세서에 기재된 질환 또는 장애, 예를 들어 암을 앓지 않음). 특정 양태에서, 절대 림프구 수는 기준(예를 들어, IL-7 단백질을 투여받지 않은 대상체에서의 상응하는

수준)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%만큼 증가된다.

[0215] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 대상체에서 T 세포 증식(예를 들어, $CD8^+$ T 세포)을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, T 세포 증식의 증가는 말초(예를 들어, 종양 내가 아님)에서 일어난다. 특정 양태에서, T 세포 증식은 기준(예를 들어, IL-7 단백질을 투여받지 않은 대상체에서의 상응하는 수준)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 또는 그 이상만큼 증가된다. 특정 양태에서, IL-7 투여에 반응하여 증식하는 T 세포(예를 들어, $CD8^+$ T 세포)는 에오메소 더민(Eomes), 그랜자임 B, CXCR3, IFN- γ , 또는 이들의 조합인 마커 중 하나 이상을 발현한다.

[0216] 일부 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 단백질은 종양에 대한 이펙터 T 세포(예를 들어, 세포독성 $CD8^+$ T 림프구)의 동원을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 종양에 대한 이펙터 T 세포의 동원은 기준(예를 들어, IL-7 단백질을 투여받지 않은 대상체에서의 상응하는 수준)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 또는 그 이상만큼 증가된다.

[0217] 일부 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 단백질은 대상체의 종양에서 골수-유래 억제 세포(MDSC)의 수 및/또는 백분율을 감소시킬 수 있다. 특정 양태에서, 종양에서 MDSC의 수 및/또는 백분율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질을 투여받지 않은 대상체에서의 상응하는 수준)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%만큼 감소된다.

[0218] 일부 양태에서, 본 개시내용과 함께 사용될 수 있는 IL-7 단백질은 대상체에게 투여될 때 종양에서 MDSC에 대한 $CD8^+$ TIL의 비율을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, MDSC에 대한 $CD8^+$ TIL의 비율은 기준(예를 들어, IL-7 단백질을 투여받지 않은 대상체에서의 상응하는 수준)과 비교하여, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 100%, 적어도 약 125%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 250%, 또는 적어도 약 300%만큼 증가된다.

[0219] IIb.PD-1 길항제

[0220] 일부 양태에서, 본 개시내용은 유효량의 IL-7 단백질을 유효량의 PD-1 경로의 길항제("PD-1 길항제")와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "PD-1 길항제"는 용어 "PD-1 경로 저해제"와 호환 가능하게 사용될 수 있으며, PD-1 결합제, PD-L1 결합제, 및 PD-L2 결합제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. PD-1 결합제는 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다. PD-L1 및 PD-L2 결합제는 PD-L1 및/또는 PD-L2에 특이적으로 결합하는 항체뿐만 아니라, PD-L1 및/또는 PD-L2에 결합하는 가용성 PD-1 폴리펩타이드를 포함한다.

[0221] 항-PD-1 항체

[0222] 일부 양태에서, 본 개시내용과 함께 사용될 수 있는 PD-1 길항제는 항-PD-1 항체이다. 높은 친화성으로 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체(예를 들어, 인간 항체)는 미국 특허 제8,008,449호 및 제8,779,105호에 개시되었으며, 이들 특허는 각각 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 다른 항-PD-1 mAb는, 예를 들어 미국 특허 제6,808,710호, 제7,488,802호, 제8,168,757호 및 제8,354,509호, 및 PCT 공개 WO 2012/145493에 기재되었으며, 이들은 각각 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 미국 특허 8,008,449에 개시된 항-PD-1 HuMAb 각각은 다음 특징 중 하나 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) Biacore 바이오센서 시스템을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정될 때, 1×10^{-7} M 이하의 K_D 로 인간 PD-1에 결합함; (b) 인간 CD28, CTLA-4 또는 ICOS에 실질적으로 결합하지 않음; (c) 혼합 림프구 반응(MLR) 분석에서 T-세포 증식을 증가시킴; (d) MLR 분석

에서 인터페론- γ 생성을 증가시킴; (e) MLR 분석에서 IL-2 분비를 증가시킴; (f) 인간 PD-1 및 필리핀 원숭이 PD-1에 결합함; (g) PD-1에 대한 PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 억제함; (h) 항원-특이적 기억 반응을 자극함; (i) Ab 반응을 자극함; 및 (j) 생체내 종양 세포 성장을 억제함. 본 발명에 유용한 항-PD-1 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 상기 특징 중 적어도 하나, 바람직하게는 5개를 나타내는 mAb를 포함한다.

[0223]

일부 양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 니볼루맙(또한 "OPDIVO[®]"로도 알려짐; 5C4, BMS-936558, MDX-1106, 또는 ONO-4538)은 PD-1 리간드(PD-L1 및 PD-L2)와의 상호작용을 선택적으로 방지하여, 항종양 T-세포 기능의 하향 조절을 차단하는 완전 인간 IgG4(S228P) PD-1 면역 관문 저해제 항체이다(미국 특허 제8,008,449호; 문헌[Wang *et al.*, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56], 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 단편은 니볼루맙과 교차-경쟁한다. 다른 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 단편은 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙과 동일한 CDR을 가진다. 일부 양태에서, 항-PD-1 항체(예를 들어, 니볼루맙)는 2주마다 약 240mg 또는 4주마다 약 480mg의 고정 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 대상체에게 투여된다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체(예를 들어, 니볼루맙)는 2주마다 약 3 mg/kg의 체중-기반 용량으로 투여된다.

[0224]

본 발명에 사용하기에 적합한 항-PD-1 항체(또는 이로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당업계에서 인정된 항-PD-1 항체가 사용될 수 있다. 예를 들어, WO 2006/121168(이의 교시내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 기재된 단클론성 항체 5C4(본 명세서에서 니볼루맙 또는 BMS-936558로 지칭됨), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 및 5F4가 사용될 수 있다. 다른 알려진 PD-1 항체는 WO 2008/156712에 기재된 램브롤리주맙(MK-3475), WO 2012/145493에 기재된 AMP-514를 포함하며, 이들의 교시내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 추가로 알려진 항-PD-1 항체 및 다른 PD-1 저해제는 WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 및 WO 2011/161699에 기재된 것을 포함하며, 이들의 교시내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 또 다른 알려진 항-PD-1 항체는 피딜리주맙(CT-011)이다. PD-1에의 결합을 위해 이들 항체 또는 저해제 중 임의의 것과 경쟁하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 또한 사용될 수 있다.

[0225]

일부 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트로리주맙과 교차-경쟁한다. 일부 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트로리주맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트로리주맙과 동일한 CDR을 가진다. 또 다른 양태에서, 항-PD-1 항체는 펙트로리주맙이다. 펙트로리주맙(또한 "KEYTRUDA[®]", 램브롤리주맙, 및 MK-3475로도 알려짐)은 인간 세포 표면 수용체 PD-1(예정사-1 또는 세포 예정사-1)에 대한 인간화 단클론성 IgG4 항체이다. 펙트로리주맙은, 예를 들어 미국 특허 제8,354,509호 및 제8,900,587호에 기재되어 있고; 또한 웹사이트 [worldwideweb.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789](2017년 5월 25일에 최종 접속함)를 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 펙트로리주맙은 재발성 또는 불응성 흑색종의 치료를 위해 FDA의 승인을 받았다. 일부 양태에서, 항-PD-1 항체(예를 들어, 펙트로리주맙)는 3주마다 약 200mg의 고정 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 대상체에게 투여된다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체(예를 들어, 펙트로리주맙)는 3주마다 약 2 mg/kg의 체중-기반 용량으로 투여된다.

[0226]

다른 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 MEDI0608과 교차-경쟁한다. 또 다른 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 MEDI0608과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체는 MEDI0608과 동일한 CDR을 가진다. 다른 양태에서, 항-PD-1 항체는 단클론성 항체인 MEDI0608(이전의 AMP-514)이다. MEDI0608은, 예를 들어 미국 특허 제8,609,089호 또는 웹사이트 [worldwideweb.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047](2017년 5월 25일에 최종 접속함)에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0227]

다른 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BGB-A317과 교차-경쟁한다. 일부 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BGB-A317과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BGB-A317과 동일한 CDR을 가진다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간화 단클론성 항체인 BGB-A317이다. BGB-A317은 미국 특허 공개 제2015/0079109호에 기재되어 있으며, 이는 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0228]

일부 양태에서, 인간 PD-1에 대한 결합을 위해 교차-경쟁하거나, 니볼루맙과 인간 PD-1의 동일한 에피토프 영역에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 mAb이다. 인간 대상체에게 투여하기 위해, 이러한 교차-경쟁하는 항체는 키메라 항체, 또는 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. 이와 같은 키메라, 인간화 또는 인간 mAb는 당업

계에 잘 알려진 방법에 의해 제조되고 단리될 수 있다.

[0229] 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 높은 특이성 및 친화성으로 PD-1에 결합하고, PD-L1 및 또는 PD-L2의 결합을 차단하며, PD-1 신호전달 경로의 면역억제 효과를 저해하는 항체이다. 특정 양태에서, 항-PD-1 항체, 또는 이의 항원-결합 부분은 인간 PD-1에 대한 결합을 위해 니볼루맙과 교차-경쟁한다. 다른 양태에서, 항-PD-1 항체, 또는 이의 항원-결합 부분은 키메라, 인간화 또는 인간 단클론성 항체 또는 이의 일부이다. 특정 양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 다른 양태에서, 항체는 인간 항체이다. IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 아이소타입의 항체가 사용될 수 있다.

[0230] 특정 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 IgG1 또는 IgG4 아이소타입을 가지는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 다른 특정 양태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 IgG4 중쇄 불변 영역의 서열은 힌지 영역의 세린 잔기를 IgG1 아이소타입 항체의 상응하는 위치에서 정상적으로 발견되는 프롤린 잔기로 대체하는 S228P 돌연변이를 포함한다. 니볼루맙에 존재하는 이러한 돌연변이는 야생형 IgG4 항체와 연관된 Fc 수용체를 활성화시키기 위한 낮은 친화성을 유지하면서 내인성 IgG4 항체와의 Fab 암(arm) 교환을 방지한다(Wang *et al.*, 2014). 또 다른 양태에서, 항체는 인간 카파 또는 람다 불변 영역인 경쇄 불변 영역을 포함한다. 다른 양태에서, 항-PD-1 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 mAb 또는 이의 항원-결합 부분이다. 항-PD-1 항체의 투여를 포함하는 본 명세서에 기재된 임의의 치료 방법의 특정 양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 다른 양태에서, 항-PD-1 항체는 켈브로리주맙이다. 다른 양태에서, 항-PD-1 항체는 미국 특허 제8,008,449호에 기재된 인간 항체 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 및 5F4로부터 선택되며, 상기 특허는 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 또 다른 양태에서, 항-PD-1 항체는 MEDI0608(이전의 AMP-514), AMP-224, 또는 피딜리주맙(CT-011)이다.

[0231] 항-PD-L1 항체

[0232] 일부 양태에서, 본 개시내용과 함께 사용될 수 있는 PD-1 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 항-인간-PD-L1 항체(또는 이로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당업계에서 인정된 항-PD-L1 항체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제7,943,743호(이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 개시된 인간 항-PD-L1 항체가 사용될 수 있다. 이와 같은 항-PD-L1 항체는 3G10, 12A4(또한 BMS-936559로 지칭됨), 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7, 및 13G4를 포함한다. 사용될 수 있는 당업계에서 인정된 다른 항-PD-L1 항체는, 예를 들어 미국 특허 제7,635,757호 및 제8,217,149호, 미국 특허 출원 공개 제2009/0317368호, 및 PCT 공개 WO 2011/066389 및 WO 2012/145493에 기재된 것을 포함하며, 이들의 교시내용은 또한 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 항-PD-L1 항체의 다른 예는 아테졸리주맙(TECENTRIQ[®]; RG7446), 또는 더발루맙(IMFINZI[®]; MEDI4736)을 포함한다. PD-L1에 대한 결합을 위해 이러한 당업계에서 인정된 항체 또는 저해제 중 임의의 것과 경쟁하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 또한 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD-L1 항체(예를 들어, 아테졸리주맙)는 3주마다 약 1200 mg의 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 대상체에게 투여된다. 일부 양태에서, 항-PD-L1 항체(예를 들어, 더발루맙)는 2주마다 약 10 mg/kg의 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 투여된다.

[0233] 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559(이전의 12A4 또는 MDX-1105)이다(예를 들어, 미국 특허 제7,943,743호; WO 2013/173223을 참조하며, 이들 둘 다 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 다른 양태에서, 항-PD-L1 항체는 MPDL3280A(또한 RG7446 및 아테졸리주맙으로도 알려짐)(예를 들어, 문헌[Herbst *et al.* 2013 *J Clin Oncol* 31(suppl):3000]; 미국 특허 제8,217,149호 참조, 이들 둘 다 본 명세서에 참조에 의해 인용됨), MEDI4736(문헌[Khleif, 2013, In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27–October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802], 이는 본 명세서에 참조에 의해 인용됨), 또는 MSB0010718C(또한 아벨루맙이라고도 함; 미국 특허 출원 공개 제2014/0341917호를 참조하며, 이는 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)이다. 특정 양태에서, 인간 PD-L1에 대한 결합을 위해 교차-경쟁하거나, 상기-참조 PD-L1 항체와 인간 PD-L1의 동일한 에피토프 영역에 결합하는 항체는 mAb이다. 인간 대상체에게 투여하기 위해, 이러한 교차-경쟁하는 항체는 키메라 항체일 수 있거나, 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. 이와 같은 키메라, 인간화 또는 인간 mAb는 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 제조되고 단리될 수 있다. 일부 양태에서, 항-PD-L1 항체(예를 들어, 아벨루맙)는 2주마다 약 800mg의 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 대상체에게 투여된다.

[0234] IIc.CTLA-4 길항제

[0235] 일부 양태에서, 본 개시내용은 또한 유효량의 IL-7 단백질을 유효량의 CTLA-4 경로의 길항제("CTLA-4 길항제")

와 조합하여 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, CTLA-4 길항제는 항-CTLA-4 항체이다.

[0236] 높은 친화성으로 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 HuMAb는 미국 특허 제6,984,720호 및 제7,605,238호에 개시되었으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 원용된다. 다른 항-CTLA-4 mAb는, 예를 들어 미국 특허 제5,977,318호, 제6,051,227호, 제6,682,736호 및 제7,034,121호에 기재되었으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 원용된다. 미국 특허 제6,984,720호 및 제7,605,238호(이들 둘 다 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 개시된 항-CTLA-4 HuMAb는 다음 특징 중 하나 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) Biacore 분석에 의해 결정될 때, 적어도 약 10^7 M^{-1} , 또는 약 10^9 M^{-1} , 또는 약 10^{10} M^{-1} 내지 10^{11} M^{-1} 또는 그 이상의 평형 결합 상수(K_d)에 의해 반영된 결합 친화성으로 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합함; (b) 적어도 약 10^3 , 약 10^4 , 또는 약 $10^5 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 운동 결합 상수(k_d); (c) 적어도 약 10^3 , 약 10^4 , 또는 약 $10^5 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 운동 해리 상수(k_d); 및 (d) B7-1(CD80) 및 B7-2(CD86)에 대한 CTLA-4의 결합을 억제함. 본 발명에 유용한 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합하고 상기 특징 중 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 적어도 3개를 나타내는 mAb를 포함한다. 예시적인 임상 항-CTLA-4 항체는 미국 특허 6,984,720(이는 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 개시된 바와 같은 인간 mAb 10D1(현재는 이필리무맙으로 알려지고 YERVOY[®]로 판매됨)이다. 이필리무맙은 본 명세서에 개시된 방법에서 사용하기 위한 항-CTLA-4 항체이다. 이필리무맙은 CTLA-4의 이의 B7 리간드에 대한 결합을 차단하며, 이에 의해 T 세포 활성화를 자극하고 진행성 흑색종 환자에서 전체생존기간(OS)을 개선하는 완전 인간, IgG1 단클론성 항체이다. 일부 양태에서, 항-CTLA-4 항체(예를 들어, 이필리무맙)는 (예를 들어, 절제불가능한 또는 전이성 흑색종을 치료하기 위해) 3주마다 약 3 mg/kg의 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 대상체에게 투여된다. 일부 양태에서, 항-CTLA-4 항체(예를 들어, 이필리무맙)는 (보조 흑색종을 치료하기 위해) 4회 용량 동안 3주마다 약 10 mg/kg, 그 다음 최대 3년 동안 12주마다 10 mg/kg의 용량으로 (예를 들어, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 조합하여) 대상체에게 투여된다.

[0237] 본 방법에서 유용한 또 다른 항-CTLA-4 항체는 트레멜리무맙(또한 티실리무맙 및 CP-675,206으로 알려짐)이다. 트레멜리무맙은 인간 IgG2 단클론성 항-CTLA-4 항체이다. 트레멜리무맙은 WO/2012/122444, 미국 특허 출원 공개 제2012/263677호, 및 WO 공개 2007/113648 A2에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 원용된다. 본 개시내용에 유용한 항-CTLA-4 항체의 다른 비제한적인 예는 MK-1308(Merck) 및 AGEN-1884(Agenus Inc.); WO 2016/196237 참조)를 포함한다.

[0238] 본 개시내용에 유용한 항-CTLA-4 항체는 또한 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합하고 인간 CTLA-4에 대한 결합을 위해 이필리무맙, 트레멜리무맙, MK-1308, 또는 AGEN-1884와 교차-경쟁하거나, 이필리무맙, 트레멜리무맙, MK-1308, 또는 AGEN-1884와 인간 CTLA-4의 동일한 에피토프 영역에 결합하는 단리된 항체를 포함한다. 특정 양태에서, 인간 CTLA-4에 대한 결합을 위해 교차-경쟁하거나, 이필리무맙, 트레멜리무맙, MK-1308, 또는 AGEN-1884와 인간 CTLA-4의 동일한 에피토프 영역에 결합하는 항체는 인간 IgG1 아이소타입의 중쇄를 포함하는 항체이다. 인간 대상체에게 투여하기 위해, 이러한 교차-경쟁하는 항체는 키메라 항체, 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. 상기 항체의 항원-결합 부분, 예컨대, Fab, F(ab')₂, Fd 또는 Fv 단편이 또한 본 방법과 함께 사용될 수 있다.

[0239] III. 핵산, 벡터, 숙주 세포

[0240] 본 명세서에 기재된 추가 양태는 본 명세서에 기재된 치료제(예를 들어, IL-7 단백질)를 인코딩하는 하나 이상의 핵산 분자에 관한 것이다. 핵산은 전체 세포, 세포 용해물, 또는 부분적으로 정제된 또는 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은 알칼리/SDS 처리, CsCl 밴딩, 컬럼 크로마토그래피, 제한 효소, 아가로스 겔 전기영동 및 당업계에 잘 알려진 다른 기법을 포함한 표준 기법에 의해, 다른 세포 성분 또는 다른 오염물질, 예를 들어 다른 세포 핵산(예를 들어, 다른 염색체 DNA, 예를 들어 사실상 단리된 DNA에 연결된 염색체 DNA) 또는 단백질로부터 정제될 때 "단리"되거나 "실질적으로 순수하게 된다". 문헌[F. Ausubel, *et al.*, ed. (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York]을 참조한다. 본 명세서에 기재된 핵산은, 예를 들어 DNA 또는 RNA일 수 있고 인트론 서열을 포함할 수 있거나 포함할 수 없다. 특정 양태에서, 핵산은 cDNA 분자이다. 본 명세서에 기재된 핵산은 당업계에 알려진 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 얻어질 수 있다.

[0241] 본 명세서에 개시된 특정 핵산 분자는 (예를 들어, 본 명세서에 개시된) IL-7 단백질을 인코딩하는 것이다. 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질을 인코딩하는 예시적인 핵산 서열은 서열번호 29 내지 39에 제시되어 있다.

- [0242] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 치료제(예를 들어, IL-7 단백질)를 인코딩하는 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 양태에서, 벡터는 유전자 요법에 사용될 수 있다.
- [0243] (예를 들어, 인간에서) 유전자 요법으로서 사용될 때, 본 명세서에 개시된 치료제(예를 들어, IL-7 단백질)를 인코딩하는 핵산은 0.1mg 내지 200mg 범위의 투약량으로 투여될 수 있다. 특정 양태에서, 투약량은 0.6mg 내지 100mg 범위이다. 추가 양태에서, 투약량은 1.2mg 내지 50mg의 범위이다.
- [0244] 개시내용에 적합한 벡터는 발현 벡터, 바이러스 벡터, 및 플라스미드 벡터를 포함한다. 일부 양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다.
- [0245] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 발현 벡터는 삽입된 코딩 서열의 전사 및 번역에 필요한 요소, 또는 RNA 바이러스 벡터의 경우에 적절한 숙주 세포에 도입될 때 복제 및 번역에 필요한 요소를 포함하는 임의의 핵산 작제 물을 지칭한다. 발현 벡터는 플라스미드, 파지미드, 바이러스, 및 이들의 유도체를 포함할 수 있다.
- [0246] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 바이러스 벡터는, 레트로바이러스, 예컨대, 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스, 하비 뮤린 육종 바이러스, 뮤린 유선 종양 바이러스, 및 라우스 육종 바이러스; 렌티바이러스; 아데노바이러스; 아데노-연관 바이러스; SV40-유형 바이러스; 폴리오마바이러스; 엡스타인-바 바이러스; 유두종 바이러스; 헤르페스 바이러스; 백시니아바이러스; 폴리오바이러스; 및 RNA 바이러스, 예컨대, 레트로바이러스와 같은 바이러스 유래의 핵산 서열을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 당업계에 잘 알려진 다른 벡터를 용이하게 이용할 수 있다. 특정 바이러스 벡터는 비-필수 유전자가 관심이 있는 유전자로 대체된 비-세포변성 진핵 바이러스를 기반으로 한다. 비-세포변성 바이러스는 레트로바이러스를 포함하며, 이의 생활주기는 게놈 바이러스 RNA를 DNA로 역전사한 후 숙주 세포 DNA로의 후속 프로바이러스(proviral) 통합을 포함한다.
- [0247] 일부 양태에서, 벡터는 아데노-연관 바이러스로부터 유래된다. 다른 양태에서, 벡터는 렌티바이러스로부터 유래된다. 렌티바이러스 벡터의 예는 W09931251, W09712622, W09817815, W09817816, 및 W09818934에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.
- [0248] 다른 벡터는 플라스미드 벡터를 포함한다. 플라스미드 벡터는 당업계에 광범위하게 기재되었으며, 당업자에게 잘 알려져있다. 예를 들어, 문헌[Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989]을 참조한다. 지난 몇 년 동안, 플라스미드 벡터는 숙주 게놈 내에서 복제하고 통합하는 것이 불가능하기 때문에, 생체 내에서 유전자를 세포에 전달하는 데 특이 유리한 것으로 밝혀졌다. 그러나, 숙주 세포에 적합한 프로모터를 가지는 이러한 플라스미드는 플라스미드 내에 작동가능하게 인코딩된 유전자로부터 펩타이드를 발현할 수 있다. 상업적 공급업체로부터 일반적으로 사용되는 일부 플라스미드는 pBR322, pUC18, pUC19, 다양한 pcDNA 플라스미드, pRC/CMV, 다양한 pCMV 플라스미드, pSV40, 및 피블루스크립트(pBlueScript)를 포함한다. 구체적인 플라스미드의 추가적인 예는 pcDNA3.1, 카탈로그 번호 V79020; pcDNA3.1/hygro, 카탈로그 번호 V87020; pcDNA4/myc-His, 카탈로그 번호 V86320; 및 pBudCE4.1, 카탈로그 번호 V53220을 포함하며, 이들 모두 인비트로젠(Invitrogen; 미국 캘리포니아주 칼즈배드 소재)의 것이다. 다른 플라스미드는 당업자에게 잘 알려져 있다. 추가적으로, 플라스미드는 표준 분자 생물학 기법을 사용하여 맞춤 설계되어 DNA의 특정 단편을 제거하고/하거나 추가할 수 있다.
- [0249] 또한 본 명세서에 개시된 치료제(예를 들어, IL-7 단백질)의 제조 방법이 본 개시내용에 포함된다. 일부 양태에서, 이와 같은 방법은 치료제를 인코딩하는 핵산 분자, 예를 들어 서열번호 29 내지 39를 포함하는 세포에서 치료제(예를 들어, IL-7 단백질)를 발현하는 단계를 포함할 수 있다. 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질을 제조하는 방법에 관한 추가적인 상세 내용은, 예를 들어 WO 2016/200219에 제공되어 있으며, 이는 본 명세서에 전문이 참고로 포함된다. 이러한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 숙주 세포가 본 명세서에 포함된다. 사용될 수 있는 숙주 세포의 비제한적인 예는 무한증식 하이브리도마 세포, NS/O 골수종 세포, 293 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 헬라(HeLa) 세포, 인간 양수-유래 세포(CapT 세포), COS 세포, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0250] IV. 약학 조성물

- [0251] 생리학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제 중 원하는 정도의 순도를 가지는 하나 이상의 치료제(예를 들어, IL-7 단백질 및/또는 면역 관문 저해제)를 포함하는 조성물이 본 명세서에서 추가로 제공된다 (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 IL-7 단백질 또는 면역 관문 저해제를 포함한다. 본 명세서에 개시된 바와 같이, 이와 같은 조성물은 조합하여 사용될 수 있다(예를 들어, IL-7 단백질을 포함하는 제1 조성물 및 면역 관문 저해제를 포함하는 제2 조성물). 다른 양태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제를 둘 다 포

함할 수 있다.

- [0252] 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정화제는 이용되는 투약량 및 농도에서 수용체에 대하여 무독성이며, 완충액, 예컨대, 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 방부제(예컨대, 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 단당류, 이당류, 및 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대, EDTA; 당, 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 반대 이온, 예컨대, 나트륨; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, TWEEN®, PLURONICS® 또는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG)을 포함한다.
- [0253] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 조성물(예를 들어, IL-7 단백질 또는 면역 관문 저해제를 포함함)은 증량제, 안정화제, 계면활성제, 완충제, 또는 이들의 조합물로부터 선택되는 하나 이상의 추가적인 성분을 포함한다.
- [0254] 본 개시내용에 유용한 완충제는 또 다른 산 또는 염기의 첨가 후 선택된 값 근처에서 용액의 산도(pH)를 유지하는 데 사용되는 약산 또는 약염기일 수 있다. 적합한 완충제는 조성물의 pH 제어를 유지함으로써 약학 조성물의 안정성을 최대화할 수 있다. 적합한 완충제는 또한 생리학적 호환성을 보장하거나 용해도를 최적화할 수 있다. 레올로지, 점도 및 기타 특성은 또한 조성물의 pH에 따라 달라질 수 있다. 일반적인 완충제는 트리스 완충액, 트리스-Cl 완충액, 히스티딘 완충액, TAE 완충액, HEPES 완충액, TBE 완충액, 소듐 포스페이트 완충액, MES 완충액, 암모늄 설페이트 완충액, 포타슘 포스페이트 완충액, 포타슘 티오사이아네이트 완충액, 석시네이트 완충액, 타트레이트 완충액, DIPSO 완충액, HEPPSO 완충액, POPSO 완충액, PIPES 완충액, PBS 완충액, MOPS 완충액, 아세테이트 완충액, 포스페이트 완충액, 카코딜레이트 완충액, 글리신 완충액, 설페이트 완충액, 이미다졸 완충액, 구아니딘 하이드로클로라이드 완충액, 포스페이트-시트레이트 완충액, 보레이트 완충액, 말로네이트 완충액, 3-피콜린 완충액, 2-피콜린 완충액, 4-피콜린 완충액, 3,5-루티딘 완충액, 3,4-루티딘 완충액, 2,4-루티딘 완충액, Aces, 다이에틸말로네이트 완충액, N-메틸이미다졸 완충액, 1,2-다이메틸이미다졸 완충액, TAPS 완충액, 비스-트리스 완충액, L-아르기닌 완충액, 락테이트 완충액, 글라이콜레이트 완충액, 또는 이들의 조합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0255] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 증량제를 더 포함한다. 증량제는 생성물에 부피 및 질량을 추가하고, 이에 의해 이의 정확한 계량 및 취급을 용이하게 하기 위해 의약품에 첨가될 수 있다. 본 개시내용과 함께 사용될 수 있는 증량제는 염화나트륨(NaCl), 만니톨, 글리신, 알라닌, 또는 이들의 조합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0256] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 또한 안정화제를 포함할 수 있다. 본 개시내용과 함께 사용될 수 있는 안정화제의 비제한적인 예는 수크로스, 트레할로스, 라피노스, 아르기닌, 또는 이들의 조합물을 포함한다.
- [0257] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 계면활성제를 포함한다. 특정 양태에서, 계면활성제는 알킬 에톡실레이트, 노닐페놀 에톡실레이트, 아민 에톡실레이트, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리프로필렌 옥사이드, 지방 알코올, 예컨대, 세틸 알코올 또는 올레일 알코올, 코카미드 MEA, 코카미드 DEA, 폴리솔베이트, 도데실 다이메틸아민 옥사이드, 또는 이들의 조합물로부터 선택될 수 있다. 일부 양태에서, 계면활성제는 폴리솔베이트 20 또는 폴리솔베이트 80이다.
- [0258] 일부 양태에서, IL-7 단백질을 포함하는 조성물은 본 명세서에 개시된 면역 관문 저해제의 동일한 제형을 사용하여 제형화될 수 있다(예를 들어, 상기 면역 관문 저해제는 IL-7 단백질과 조합하여 사용되어야 함). 다른 양태에서, IL-7 단백질 및 면역 관문 저해제는 상이한 제형을 사용하여 제형화된다.
- [0259] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 (a) 기초 완충액, (b) 당, 및 (c) 계면활성제를 포함하는 조성물로 제형화된다. 특정 양태에서, 기초 완충액은 히스티딘-아세테이트 또는 소듐 시트레이트를 포함한다. 일부 양태에서, 기초 완충액은 약 10 내지 약 50nM의 농도이다. 일부 양태에서, 당은 수크로스, 트레할로스, 텍스트로스, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 당은 약 2.5 내지 약 5.0 w/v%의 농도로 존재한다. 추가 양태에서, 계면활성제는 폴리솔베이트, 폴리옥시에틸렌 알킬 에터, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 알킬 설페이트, 폴리비닐 피리돈, 폴록사머, 또는 이들의 조합물로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 계면활성제는 약

0.05% 내지 약 6.0 w/v%의 농도이다.

- [0260] 일부 양태에서, IL-7이 제형화된 조성물은 아미노산을 더 포함한다. 특정 실시형태에서, 아미노산은 아르기닌, 글루타메이트, 글리신, 히스티딘, 또는 이들의 조합으로부터 선택된다. 특정 양태에서, 조성물은 당 알코올을 더 포함한다. 당 알코올의 비제한적인 예는 솔비톨, 자일리톨, 말티톨, 만니톨, 또는 이들의 조합물을 포함한다.
- [0261] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질은 (a) 소듐 시트레이트(예를 들어, 약 20mM), (b) 수크로스(예를 들어, 약 5%), (c) 솔비톨(예를 들어, 약 1.5%), 및 (d) Tween 80(예를 들어, 약 0.05%)을 포함하는 조성물로 제형화된다.
- [0262] 일부 양태에서, 본 개시내용의 IL-7 단백질은 WO 2017/078385 A1에 기재된 바와 같이 제형화되며, 이는 본 명세서에 전문이 포함된다.
- [0263] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 함께 사용될 수 있는 조성물은 (i) 니볼루맵(OPDIVO[®])(예를 들어, 약 10mg), (ii) 만니톨(예를 들어, 약 30mg), (iii) 펜테틴산(예를 들어, 약 0.008mg), (iv) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg), (v) 염화나트륨(예를 들어, 약 2.92mg), 및 (vi) 소듐 시트레이트 탈수화물(예를 들어, 약 5.88mg)을 포함한다. 특정 양태에서, 조성물은 조성물의 pH를 약 6으로 조정하기 위해 염산 및/또는 수산화나트륨을 더 포함할 수 있다.
- [0264] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 함께 사용될 수 있는 조성물은 (i) 켈브로리주맵(KEYTRUDA[®])(예를 들어, 약 25mg), (ii) L-히스티딘(예를 들어, 약 1.55mg), (iii) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg), 및 (iv) 수크로스(예를 들어, 약 70mg)를 포함한다. 특정 양태에서, 조성물은 또한 pH를 약 5.5로 조정하기 위해 염산 및/또는 수산화나트륨을 포함할 수 있다.
- [0265] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 함께 사용될 수 있는 조성물은 (i) 아테졸리주맵(TECENTRIQ[®])(예를 들어, 약 60mg), (ii) 빙초산(예를 들어, 약 16.5mg), (iii) L-히스티딘(예를 들어, 약 62mg), (iv) 수크로스(예를 들어, 약 821.6mg), 및 (v) 폴리솔베이트 20(예를 들어, 약 8mg)을 포함한다. 특정 양태에서, 조성물은 pH를 약 5.8로 조정하기 위해 염산 및/또는 수산화나트륨을 포함한다.
- [0266] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 함께 사용될 수 있는 조성물은 (i) 디발루맵(IMFINZI[®])(예를 들어, 약 50mg), (ii) L-히스티딘(예를 들어, 약 2mg), (iii) L-히스티딘 하이드로클로라이드 일수화물(예를 들어, 약 2.7mg), (iv) α, α-트레할로스 이수화물(예를 들어, 약 104mg), 및 (v) 폴리솔베이트 80(예를 들어, 약 0.2mg)을 포함한다.
- [0267] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 함께 사용될 수 있는 조성물은 (i) 이필리루맵(YERVOY[®])(예를 들어, 5mg), (ii) 다이에틸렌 트라이아민 펜타아세트산(DTPA)(예를 들어, 약 0.04mg), (iii) 만니톨(예를 들어, 약 10mg), (iv) 폴리솔베이트 80(식물성 기원)(예를 들어, 약 0.1mg), (v) 염화나트륨(예를 들어, 약 5.85mg), 및 (vi) 트리스 하이드로클로라이드(예를 들어, 약 3.15mg)를 포함한다.
- [0268] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질과 함께 사용될 수 있는 조성물은 (i) 아벨루맵(BAVENCIO[®])(예를 들어, 약 20mg), (ii) D-만니톨(예를 들어, 약 51mg), (iii) 빙초산(예를 들어, 약 0.6mg), (iv) 폴리솔베이트 20(예를 들어, 약 0.5mg), 및 (v) 수산화나트륨(예를 들어, 약 0.3mg)을 포함한다.
- [0269] 약학 조성물은 대상체에 대한 임의의 투여 경로용으로 제형화될 수 있다. 투여 경로의 구체적인 예는 근육내, 피하, 안구, 정맥내, 복강내, 피내, 안와내, 대뇌내, 두개내, 척수내, 심실내, 척추강내, 수조내, 피막내, 또는 종양내 투여를 포함한다. 피하, 근육내 또는 정맥내 주사를 특징으로 하는 비경구 투여도 또한 본 명세서에서 고려된다. 주사제는 액체 용액 또는 현탁액, 주사 전에 액체 중 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태, 또는 에멀션으로서 통상적인 형태로 제조될 수 있다. 주사제, 용액 및 에멀션은 또한 하나 이상의 부형제를 포함한다. 적합한 부형제는, 예를 들어 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 추가적으로, 원하는 경우, 투여되는 약학 조성물은 또한 소량의 무독성 보조 물질, 예컨대, 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 안정화제, 용해도 향상제, 및 예를 들어 소듐 아세테이트, 솔비탄 모노라우레이트, 트라이에탄올아민 올레이트 및 사이클로 텍스트린과 같은 이와 같은 기타 작용제를 포함할 수 있다.
- [0270] 비경구 제제에 사용되는 약학적으로 허용 가능한 담체는 수성 비히클, 비수성 비히클, 향균제, 등장화제, 완충

액, 향산화제, 국소마취제, 현탁화제 및 분산제, 유화제, 금속이온봉쇄제 또는 킬레이트제 및 기타 약학적으로 허용 가능한 물질을 포함한다. 수성 비히클의 예는 염화나트륨 주사제, 링거 주사제, 등장성 텍스트로스 주사제, 멸균수 주사제, 텍스트로스 및 젖산 링거 주사제를 포함한다. 비수성 비경구용 비히클은 식물성 기원의 고정유, 면실유, 옥수수유, 참기름 및 땅콩유를 포함한다. 페놀 또는 크레졸, 수은, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-하이드록시벤조산 에스터, 티메로살, 벤잘코늄 클로라이드 및 벤제토늄 클로라이드를 포함하는 정균 또는 정진균 농도의 항균제가 다회 용량 용기에 포장된 비경구 제제에 첨가될 수 있다. 등장화제는 염화나트륨 및 텍스트로스를 포함한다. 완충액은 포스페이트 및 시트레이트를 포함한다. 향산화제는 소듐 바이설페이트를 포함한다. 국소마취제는 프로카인 하이드로클로라이드를 포함한다. 현탁화제 및 분산제는 소듐 카복시메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유화제는 폴리솔베이트 80(TWEEN® 80)을 포함한다. 금속 이온의 금속이온봉쇄제 또는 킬레이트제는 EDTA를 포함한다. 약학 담체는 또한 수산화성 비히클용 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글라이콜 및 프로필렌 글라이콜; 및 pH 조절을 위한 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.

[0271] 비경구 투여용 제제는 주사용 멸균 용액, 사용 직전에 용매와 조합될 준비가 된 멸균 건조 가용성 생성물, 예컨대, 동결건조 분말(피하주사용 정제를 포함함), 주사용 멸균 현탁액, 사용 직전에 비히클과 조합될 준비가 된 멸균 건조 불용성 생성물 및 멸균 에멀션을 포함한다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다.

[0272] 정맥내로 투여되는 경우, 적합한 담체는 생리 식염수 또는 포스페이트 완충 식염수(PBS), 및 증점제 및 가용화제, 예컨대, 글루코스, 폴리에틸렌 글라이콜, 및 폴리프로필렌 글라이콜 및 이들의 혼합물을 포함하는 용액을 포함한다.

[0273] 국소 및 전신 투여에 대해 기재된 바와 같이 항체를 포함하는 국부용 혼합물이 제조된다. 생성된 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀션 등일 수 있고 크림, 젤, 연고, 에멀션, 용액, 엘릭서, 로션, 현탁액, 팅크, 페이스트, 폼, 에어로졸, 관주(irrigation), 스프레이, 좌약, 봉대, 피부 패치 또는 국부 투여에 적합한 임의의 다른 제형일 수 있다.

[0274] 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원 결합 부분은 흡입과 같은 국부 적용을 위한 에어로졸로서 제형화될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,044,126호, 제4,414,209호 및 제4,364,923호를 참조하며, 이들 특허는 염증성 질환, 특히 천식의 치료에 유용한 스테로이드의 전달을 위한 에어로졸을 기재함). 기도에 투여하기 위한 이러한 제형은 네블라이저용 에어로졸 또는 용액의 형태, 또는 흡입제용 미세 분말로서 단독으로 또는 락토스와 같은 불활성 담체와 조합된 것일 수 있다. 이와 같은 경우에, 제형의 입자는 일 양태에서 직경이 50 마이크론 미만, 일 양태에서 10 마이크론 미만일 것이다.

[0275] 본 명세서에 개시된 치료제(예를 들어, IL-7 단백질)는 국소 또는 국부 도포용, 예컨대, 젤, 크림, 및 로션 형태로 피부 및 점막, 예컨대, 눈의 국부 도포용, 및 눈의 도포 또는 수조내 또는 척추내 적용을 위해 제형화될 수 있다. 국부 투여는 경피 전달 및 또한 눈 또는 점막으로의 투여, 또는 흡입 치료법 용으로 고려된다. 또한 항체의 비강 용액은 단독으로 또는 다른 약학적으로 허용 가능한 부형제와 조합하여 투여될 수 있다.

[0276] 이온영동 및 전기영동 장치를 포함하는 경피 패치는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 항체를 투여하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 이와 같은 패치는 미국 특허 제6,267,983호, 제6,261,595호, 제6,256,533호, 제6,167,301호, 제6,024,975호, 제6,010,715호, 제5,985,317호, 제5,983,134호, 제5,948,433호 및 제5,860,957호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0277] 특정 양태에서, 본 명세서에 기재된 치료제(예를 들어, IL-7 단백질 또는 면역 관문 저해제)를 포함하는 약학 조성물은 동결건조된 분말이며, 상기 동결건조된 분말은 용액, 에멀션 및 다른 혼합물로서 투여를 위해 재구성될 수 있다. 이는 또한 고체 또는 겔로서 재구성 및 제형화될 수 있다. 동결건조된 분말은 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 부분, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 유도체를 적합한 용매 중에 용해시킴으로써 제조된다. 일부 양태에서, 동결건조된 분말은 멸균된다. 용매는 분말로부터 제조되는 재구성된 용액 또는 분말의 안정성 또는 다른 약리학적 성분을 개선시키는 부형제를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 텍스트로스, 솔비톨, 프럭토스, 옥수수시럽, 자일리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스 또는 다른 적합한 작용제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 용매는 또한 완충액, 예컨대, 시트레이트, 소듐 또는 포트슘 포스페이트 또는 일 양태에서 거의 중성 pH에서 당업자에게 알려진 다른 이와 같은 완충액을 포함할 수 있다. 용액의 후속 멸균 여과 후 당업자에게 알려진 표준 조건 하에서 동결건조하여 원하는 제형을 제공한다. 일부 양태에서, 생성된 용액은 동결건조를 위해 바이알에 배분될 수 있다. 각각의 바이알은 단일 투약량 또는 다회 투약량의 화합물을 포

함할 수 있다. 동결건조된 분말은 적절한 조건, 예컨대, 약 4℃ 내지 실온 하에서 저장될 수 있다.

[0278] 이러한 동결건조된 분말을 주사용수로 재구성하는 것은 비경구 투여에서 사용하기 위한 제형을 제공한다. 재구성을 위해, 동결건조된 분말은 멸균수 또는 기타 적합한 담체에 첨가된다. 정확한 양은 선택된 화합물에 따라 다르다. 이와 같은 양은 경험적으로 결정될 수 있다.

[0279] 본 명세서에서 제공되는 조성물은 또한 치료될 대상체의 특정 조직, 수용체, 또는 신체의 다른 부위를 표적으로 하도록 제형화될 수 있다. 이와 같은 다수의 표적화 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 이와 같은 모든 표적화 방법은 본 조성물에 사용하기 위해 본 명세서에서 고려된다. 표적화 방법의 비제한적인 예는, 예를 들어 미국 특허 제6,316,652호, 제6,274,552호, 제6,271,359호, 제6,253,872호, 제6,139,865호, 제6,131,570호, 제6,120,751호, 제6,071,495호, 제6,060,082호, 제6,048,736호, 제6,039,975호, 제6,004,534호, 제5,985,307호, 제5,972,366호, 제5,900,252호, 제5,840,674호, 제5,759,542호 및 제5,709,874호를 참조한다.

[0280] 생체내 투여에 사용될 조성물은 멸균될 수 있다. 이는, 예를 들어 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0281] 본 개시내용을 읽을 때 많은 변이 및 균등물이 당업자에게 명백하게 될 것이므로, 하기 실시예는 단지 예시적인 것이며, 어떠한 방식으로든 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0282] 실시예

[0283] 실시예 1 종양 부피에 대한 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 조합 처리의 효과

[0284] 종양 부피에 대한 PD-1 경로 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 효과를 평가하기 위해, 결장 선암종 동물 모델을 사용하였다. 간략하게, MC-38 결장 선암종 종양 세포(1×10^5 , 피하)를 각각 C57BL/6 마우스에 이식하였다. 종양 접종 후 제4일에, 동물에 IL-7 단백질(1.25 mpk 또는 25 μ g/마우스) 또는 IL-7-제형화 완충액을 피하 투여하였다. 도 1A를 참조한다. 그 다음, 종양 접종 후 제12일, 제15일, 및 제18일에 항-PD-1 항체(5 mpk 또는 100 μ g/마우스) 또는 아이소타입 대조군 항체를 동물에게 복강내 투여하였다. 종양 접종 후 제8일, 제11일, 제13일, 제15일, 제18일, 및 제20일에 종양 부피를 측정하였다. 도 1A는 투약 일정의 그래프 도시를 제공하고, 표 1(하기)은 상이한 처리 그룹을 제공한다.

표 1

[0285] 처리 그룹

그룹	처리 요법
대조군	IL-7-제형화 완충액 단독
IL-7 단백질	IL-7 단백질 + PBS
항-PD-1 항체	IL-7-제형화 완충액 + 항-PD-1 항체
조합	IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체

[0286] 도 1B 및 도 1C는 2가지 별개의 연구 결과를 제공한다. 나타낸 바와 같이, 조합 치료법(IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체)을 이용하여 처리된 동물은 대조군 동물(즉, IL-7-제형화 완충액만 투여받음)뿐만 아니라 IL-7 단백질 또는 항-PD-1 항체 단독으로 처리한 동물과 비교하여 종양 부피가 현저하게 감소하였다.

[0287] 실시예 2 종양-침윤 림프구에 대한 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 조합 처리의 효과

[0288] PD-1 경로 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 항-종양 효과를 추가로 평가하기 위해, MC-38 결장 선암종 종양 세포(1×10^5 , 피하)를 다시 C57BL/6 마우스에 이식하였다. 종양 접종 후 제4일에, 동물을 단일 용량의 IL-7 단백질(1.25 mpk 또는 25 μ g/mouse, 피하) 또는 IL-7-제형화 완충액으로 처리하였다. 도 2A를 참조한다. 그 다음, 종양 접종 후 제9일 및 제12일에, 동물을 항-PD-1 항체(5 mpk 또는 100 μ g/마우스, 복강내) 또는 아이소타입 대조군 항체로 처리하였다. 종양 접종 후 제14일에 동물을 희생시키고, 상이한 동물에서 종양-침윤 림프구를 유세포 분석으로 분석하였다.

[0289] 도 2B에 나타낸 바와 같이, 항-PD-1 항체 또는 IL-7 단백질 단독으로 처리한 동물에서, 동물 종양의 CD45⁺ 세포의 대략 5 내지 7%가 CD4⁺ TIL이었다. 이 백분율은 대조군 동물에서 관찰된 것과 유사하였다. 그러나, 조합 처

리(IL-7 단백질 + 항-PD-1 항체)로 처리한 동물에서, 종양에서 $CD4^+$ TIL 수의 현저한 증가가 있었다(종양에서 $CD45^+$ 세포의 대략 10 내지 12%). 도 2C에 나타낸 바와 같이, $CD8^+$ TIL의 경우, IL-7 단백질 단독의 처리는 대조군 동물 및 항-PD-1 항체 단독으로 처리한 동물 둘 다와 비교하여 $CD8^+$ TIL의 수를 중간 정도로 증가시켰다. 동물을 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 둘 다로 처리했을 때, $CD45^+$ 세포 중에서 $CD8^+$ TIL의 수가 훨씬 더 증가하였다.

[0290] 종합적으로, 실시예 1 및 2 둘 다로부터의 상기 결과는 PD-1 경로 저해제(예를 들어, 항-PD-1 항체)와 조합한 IL-7 단백질의 치료 요법이 암을 효과적으로 치료할 수 있음을 입증한다.

[0291] 실시예 3 종양 부피 및 생존에 대한 사이클로포스파마이드(CPA), IL-7 단백질, 및 PD-1 경로 저해제의 삼중 조합의 효과

[0292] 다음으로, 화학요법제(예를 들어, CPA)와 조합한 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 처리의 항-종양 효과를 결장 선암종 동물 모델에서 평가하였다. 간략하게, MC-38 결장 선암종 종양 세포(1×10^5 , 피하)를 C57BL/6 마우스에 이식하였다. 그 다음, 종양 접종 10일 후에, 동물에 단일 용량의 CPA(100 mpk 또는 2 mg/마우스) 또는 PBS를 복강내로 투여하였다. CPA 투여 후 제2일에, 동물에 IL-7 단백질(10 mpk 또는 200 μ g/마우스) 또는 IL-7-제형화 완충액을 피하 투여하였다. CPA 투여 후 제6일에 시작하여, 항-PD-1 항체(5 mpk 또는 100 μ g/마우스), 항-PD-L1-항체(5 mpk 또는 100 μ g/마우스), 또는 아이소타입 대조군 항체를 총 5회 투약에 대해 3일마다(즉, CPA 유도 후 제6일, 제9일, 제12일, 제15일, 및 제18일) 동물에게 복강내 투여하였다. 도 3A를 참조한다. CPA 유도 후 제0일, 제1일, 제4일, 제6일, 제8일, 제11일, 제13일, 제15일, 제18일, 및 제20일에 종양 부피를 측정하였다.

[0293] 도 3B에 나타낸 바와 같이, CPA 및 IL-7 단백질로 처리한 동물("3")은 PBS("1") 또는 CPA 단독("2")으로 처리한 동물과 비교하여 종양 부피가 현저하게 감소하였다. CPA 및 IL-7 단백질에 항-PD1 항체 또는 항-PD-L1 항체의 추가는 동물에서 종양 부피를 추가로 감소시켰다(각각 "4" 및 "5"). 도 3C에 나타낸 바와 같이, 종양 부피의 감소 증가는 생존 증가와 상관관계가 있었다.

[0294] 상기 결과는 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 조합 처리가 다른 항암제, 예컨대, 사이클로포스파마이드와 조합하여 효과적으로 사용될 수 있음을 입증한다.

[0295] 실시예 4 흉선절제-유도 림프구감소증에서 종양 부피에 대한 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 조합 처리의 효과

[0296] 상기 논의된 바와 같이, 많은 항암제(예를 들어, 화학요법 또는 방사선요법)은 암 대상체에서 림프구감소증을 유발할 수 있다. 따라서, 림프구감소증 상태에서 PD-1 경로 저해제와 조합한 IL-7 단백질의 항-종양 효과를 평가하기 위해, 흉선절제된 마우스를 사용하였다. 간략하게, C57BL/6 마우스를 마취시키고 해부 보드에 고정시켰다. 고무 밴드를 사용하여, 머리를 뒤로 들어올려 마우스의 기도를 열었다. 말아놓은 티슈 패드를 마우스의 어깨 아래에 두어 심장과 흉선을 앞으로 밀어 더 쉽게 접근할 수 있게 하였다. 멸균을 위해, 마우스의 목과 가슴 상단 부분을 70% 에탄올로 닦았다. 흉골상절흔 상에서 중간의 세로방향 피부를 가슴 아래로 1.5 내지 2 cm 절개하였다. 첫 번째 갈비뼈를 절단하기 위해 가위를 흉골 아래에 삽입하였다. 포셉을 확장시킴으로써 가슴을 열었다. 역대근을 분리한 후, 흉선을 조심스럽게 잡은 다음 가슴에서 꺼냈다. 동물 피부 봉합에 사용되는 어플라이어와 클립을 사용하여 상기 중간의 세로방향 피부를 빠르게 봉합하였다. 첫 번째 갈비뼈를 절단하고 피부 봉합까지의 시간은 1분 미만이었다. 동물은 대략 5주 동안 수술로부터 회복되도록 하였다. 그 다음, 동물에게 MC-38 결장 선암종 종양 세포(1×10^5 , 피하)를 접종하였다. 도 4A를 참조한다. 종양 접종 후 제5일에, 동물에 IL-7 단백질(1.25 mpk 또는 25 μ g/마우스) 또는 IL-7-제형화 완충액을 피하 투여하였다. 종양 접종 후 제10일, 제13일, 및 제16일에 항-PD-1 항체(5 mpk 또는 100 μ g/마우스) 또는 아이소타입 대조군 항체를 동물에게 투여하였다. 종양 접종 후 제10일, 제13일, 제16일, 제19일, 제21일, 및 제23일에 종양 부피를 측정하였다.

[0297] 도 4B에 나타낸 바와 같이, IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체의 조합 처리 요법으로 처리된 흉선절제된 동물은 다른 처리 그룹(대조군, IL-7 단독, 및 항-PD-1 항체 단독)과 비교하여 종양 부피가 현저하게 감소하였다.

[0298] 실시예 5 흉선절제-유도 림프구감소증에서 종양-침윤 림프구에 대한 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 조합 처리의 효과

[0299] PD-1 경로 저해제와 조합한 IL-7 단백질이 림프구감소증 환경에서 TIL에 어떤 영향을 미치는지 여부를 평가하기

위해, C57BL/6 마우스를 실시예 4에 기재된 바와 같이 흉선을 절제하였다. 수술 후 제5주에, MC-38 결장 선암종 종양 세포(1×10^5 , 피하)를 동물에게 이식하였다. 종양 접종 후 제4일에, 동물을 단일 용량의 IL-7 단백질(1.25 mpk 또는 25 μg /마우스, 피하) 또는 IL-7-제형화 완충액으로 처리하였다. 도 5A를 참조한다. 종양 접종 후 제9일 및 제12일에 동물을 항-PD-1 항체(5 mpk 또는 100 μg /마우스, 복강내) 또는 아이소타입 대조군 항체로 처리하였다. 종양 접종 후 제14일에 동물을 희생시키고, 상이한 동물에서의 종양-침윤 림프구를 유세포분석으로 분석하였다.

[0300] 비-림프구감소증 동물에서 관찰된 바와 같이(도 2B 참조), 흉선절제된 동물을 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 둘 다로 처리하면, 다른 처리 그룹과 비교하여 종양에서 CD4^+ TIL의 백분율이 현저하게 증가하였다. 도 5B. 또한 CD8^+ TIL의 백분율에서 현저한 증가가 있었다. 도 5C에 나타난 바와 같이, 흉선절제된 동물을 IL-7 단백질 및 항-PD-1 항체 둘 다로 처리하면, 대조군 그룹 및 항-PD-1 항체 단독 그룹 둘 다와 비교하여 종양에서 CD8^+ TIL의 백분율이 현저하게 더 높았다. 증가는 IL-7 단백질 단독 처리 그룹에서 관찰된 것과 비슷하였다.

[0301] 종합적으로, 상기 결과(즉, 실시예 4 및 5)는 IL-7 단백질 및 PD-1 경로 저해제 조합 요법이 또한 심지어 림프구감소증 상태 하에서도 암을 효과적으로 치료할 수 있음을 입증한다.

[0302] 실시예 6: T 세포 증식 및 활성화에 대한 IL-7 단백질의 효과

[0303] 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질의 항-종양 효과를 보다 잘 이해하기 위해, T 세포의 증식 및 활성화에 대한 IL-7 단백질의 효과를 먼저 정상 마우스에서 평가하였다. 간략하게, C57BL/6 마우스에 10 mg/kg의 IL-7 단백질을 피하 처리하였다. 대조군 동물에는 완충액만을 투여하였다. 투여 후 다양한 시점(즉, 제2일, 제4일, 제5일, 제6일, 제8일, 제10일, 제12일, 및 제14일)에 동물에서 채혈하고 상이한 CD8^+ T 세포 집단의 백분율을 유세포분석을 사용하여 평가하였다. 처리 후 제5일에, 일부 동물을 희생시키고, 비장으로부터의 CD8^+ T 세포를 다양한 활성화 마커(T-bet, Eomes, PD-1, 그랜자임 B(GzmB), CXCR3)의 발현 및 사이토카인 생성($\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$ 및 IL-2)에 대하여 평가하였다. 생체의 PMA/이오노마이신 자극 후 세포내 사이토카인 염색을 사용하여 사이토카인 생성을 평가하였다.

[0304] 도 6A에 나타난 바와 같이, 정상 마우스로의 IL-7 단백질 투여는 대조군 동물과 비교하여 CD8^+ T 세포 증식의 증가(Ki-67 발현 증가에 의해 입증됨)를 초래하였다. 가장 큰 효과는 CD44^+ (중심 기억) CD8^+ T 세포 집단에서 관찰되었다. 증식 증가에 추가적으로, IL-7 단백질 처리된 동물 유래의 비장 CD8^+ T 세포는 또한 더 높은 수준의 T-bet, Eomes, PD-1, 그랜자임 B, 및 CXCR3를 발현하였으며, 이는 세포가 대조군 동물 유래의 것과 비교하여 더 활성화되었음을 시사한다(도 6B 참조). 세포의 더 많은 비율은 또한 생체의 자극 후 $\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$ 및 IL-2를 생성하였다.

[0305] 다음으로, T 세포에 대한 IL-7 단백질의 효과를 추가로 평가하기 위해, 미경험(10^6 개 세포/마우스) 또는 중심 기억(5×10^5 개 세포/마우스) T 세포를 셀트레이스(CELLTRACE)(상표) 바이올렛(Violet)(CTV)으로 표지화하고 유사유전자형(congenic) 마우스로 양자전달하였다. 전달 1일 후, 수용체 동물을 IL-7 단백질(10 mg/kg) 또는 완충액으로 피하 처리하였다. 처리 5일 후, 동물을 희생시키고, 비장 CD8^+ T 세포를 분석하였다.

[0306] 도 6C에 나타난 바와 같이, IL-7 투여는 미경험 및 중심 기억 CD8^+ T 세포 둘 다의 증식을 증가시켰다. 그러나, 가장 큰 효과는 중심 기억 CD8^+ T 세포 중에서 관찰되었으며, 이는 정상 C57BL/6 마우스에 의해 상기 관찰된 결과를 확인시켜준다. 이러한 결과는 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질의 투여가 T 세포의 증식 및 활성화를 유도할 수 있음을 입증한다.

[0307] 실시예 7: IL-7 단백질의 항-종양 효과의 분석

[0308] 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질의 항-종양 효과를 보다 잘 특성화하기 위해, MC-38 결장 선암종 종양 세포(1×10^5 , 피하)를 C57BL/6 마우스에 이식하였다. 종양 접종 후 제5일에, 마우스를 다음 농도의 IL-7 단백질 중 하나로 처리하였다: (i) 0 mg/kg(즉, 완충액 단독), (ii) 1.25 mg/kg, (iii) 2.5 mg/kg, (iv) 5 mg/kg, 및 (v) 10 mg/kg. 투여 후 종양 부피를 주기적으로 평가하였다. 처리 후 제7일에, 동물에서 채혈하고 다양한 면역 세포(즉, CD8^+ T 세포, CD4^+ T 세포, Foxp3+ CD4^+ 조절 T 세포, B220+ 세포)의 백분율을 평가하였다.

[0309] 도 8A에 나타난 바와 같이, 종양 마우스에 대한 IL-7 단백질의 투여로 종양 부피의 용량-의존적 감소를 초래하였다. 종양 부피의 감소는 말초 혈액에서 CD8^+ T 세포 수의 상당한 증가와 상관관계가 있었다(도 8B 및 도 8C

참조). 이들 결과는 종양 마우스에서 IL-7 단백질 투여의 항-종양 효과를 입증한다.

[0310] 실시예 8: IL-7 단백질 투여 후 종양 미세환경의 분석

[0311] IL-7 단백질의 항-종양 효과를 추가로 특성화하기 위해, MC-38 결장 선암종 종양 세포를 이전 실시예에 기재된 바와 같이 C57BL/6 마우스에 이식하였다. 그 다음, 종양 접종 후 제5일에, 동물을 10 mg/kg의 IL-7 단백질 또는 완충액으로 피하 처리하였다. 처리 후 제7일에, 동물을 희생시키고 종양 조직을 다양한 면역 세포(즉, 단핵구 골수-유래 억제 세포(M-MDSC), 다형핵 골수-유래 억제 세포(PMN-MDSC), 종양 연관 대식세포(TAM), 종양 연관 수지상 세포(TADC), CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, Foxp3+ CD4+ 조절 T 세포(Treg 세포), NK 세포, 및 B 세포)의 존재에 대해 평가하였다.

[0312] 말초 혈액에서 관찰된 바와 같이(실시예 7 참조), IL-7 단백질의 투여는 종양에서 CD8+ T 세포 수(TIL)의 상당한 증가를 초래하였으며, 이는 종양 미세환경에서 높은 CD8+ T/Treg 세포 비율을 산출하였다(도 9A 및 도 9B 참조). 대조군 동물 유래의 세포와 비교하여, IL-7 단백질로 처리된 마우스의 TIL의 더 많은 비율이 Ki-67 및 그랜자임 B를 발현하였으며, 이는 이들 세포가 더 고도로 활성화되었음을 나타낸다(도 9C 참조). IL-7 처리 동물 유래의 TIL은 또한 IFN- γ 및 TNF- α 의 더 강력한 생산자였으며, 저해제 수용체, 예컨대, PD-1 및 LAG-3의 더 낮은 수준을 발현하였다(도 9D 내지 도 9G 참조). 흥미롭게도, IL-7 단백질 투여는 종양 미세환경에서 골수-유래 억제 세포(MDSC)의 수를 감소시켰으며, 이는 CD8+ T/MDSC 비율의 증가를 초래하였다(도 9A 및 도 9B 참조). CCL5 발현의 중간정도의 증가 이외에, IL-7 단백질로 처리된 마우스 및 완충액 단독으로 처리된 마우스 유래의 종양 용해물 내에서 케모카인 발현의 상당한 차이가 없었다(도 9H).

[0313] 이러한 결과는 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질이 CD8+ T 세포 침윤-염증-면역 선호 종양 미세환경을 유도함으로써 항암 활성을 부여할 수 있음을 입증한다.

[0314] 실시예 9: 다른 항암제와 조합한 IL-7 단백질의 항-종양 효과의 분석

[0315] IL-7 단백질의 항-종양 효과가 다른 항암제와 조합될 때 향상될 수 있는지 여부를 추가로 평가하기 위해, MC-38 결장 선암종 종양 세포를 이전 실시예에 기재된 바와 같이 C57BL/6 마우스에 접종하였다. 그 다음, 마우스를 다음 중 하나로 처리하였다: (i) 완충액 단독, (ii) 면역 관문 저해제(10 mg/kg)와 조합한 사이클로포스파마이드(CPA)(100 mg/kg), 및 (iii) CPA, 면역 관문 저해제, 및 IL-7 단백질(10 mg/kg)의 삼중 조합. 사용된 면역 관문 저해제는 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 또는 항-CTLA-4 항체를 포함하였다. 종양 접종 후 제10일에 CPA를 동물 복강내로 투여하였다. CPA 처리 후 제6일부터(총 5회 용량에 대해 3일마다) 면역 관문 저해제를 복강내 투여하였다. CPA 처리 후 제2일에 IL-7 단백질을 피하 투여하였다. 처리 후 다양한 시점에서 종양 부피 및 생존을 평가하였다.

[0316] 도 10에 나타난 바와 같이, 삼중 조합(즉, CPA + 면역 관문 저해제 + IL-7 단백질)으로 처리한 동물이 가장 큰 종양 감소를 보였다. 종양 감소 증가는 생존 증가와 상관관계가 있었다. 이러한 결과는 IL-7이 다른 면역화학요법 처리의 항-종양 효능을 현저하게 향상시킬 수 있음을 입증한다.

[0317] 실시예 10: 흉선절제-유도 림프구감소증에서 IL-7 단백질의 항-종양 효과의 분석

[0318] 림프구감소증 환경에서 IL-7 단백질의 항-종양 효과를 보다 잘 특성화하기 위해, C57BL/6 마우스를 실시예 4에 기재된 바와 같이 흉선을 절제하였다. 도 11A에 나타난 바와 같이, 모의 대조군(즉, 흉선을 제거하지 않은 것을 제외하고 동일한 수술 절차)과 비교하여, 흉선절제 동물은 비장, 혈액, 및 림프절에서 더 적은 수의 CD8+ T 세포를 발현하였으며, 이는 림프구감소증 상태를 확인시켜준다. 수술로부터 회복시, 동물을 PBS 또는 IL-7 단백질(1.25 mg/kg, 피하)로 처리하였다. 그 다음, 처리 후 제1주, 제2주, 및 제4주에 동물을 희생시키고 비장에서 다양한 CD8+ T 세포 집단의 수를 평가하였다.

[0319] 정상 C57BL/6 마우스에서 관찰된 것과 유사하게(실시예 6 참조), 흉선절제된 동물에 11B, IL-7 단백질 투여는 모의 대조군과 비교하여 더 많은 수의 CD8+ T 세포를 생성하였다(도 11B). 분석된 모든 CD8+ T 세포 집단, 즉, 미경험(CD44- CD62L+), 이펙터-기억(CD44+ CD62L-), 및 중심 기억(CD44+ CD62L+)에 대해 수의 증가가 관찰되었다.

[0320] 실시예 11: 진행성 고형암 환자에서 IL-7 단백질의 항-종양 효과의 분석

[0321] 진행성 고형암 환자에서 본 명세서에 개시된 IL-7 단백질(즉, hyFc를 포함함; "IL-7-hyFc")의 안전성 및 효능을 평가하기 위해 1b상 임상 시험을 수행하였다. 연구의 주요 목적은, (i) IL-7-hyFc의 안전성 및 내약성을 평가하는 것; 및 (ii) 환자에서 최대 허용 용량(MTD), 권장 2상 용량(RP2D), 및 용량 제한 독성(DLT)을 결정하는 것이

다. 2차 목적은, (i) 약동학 및 약력학, 및 (ii) 환자에서 IL-7-hyFc의 면역원성을 결정하는 것을 포함하였다. 또한 예비적 바이오마커를 평가하였다.

[0322] 연구에 적격이기 위해, 환자는 다음 기준을 충족해야 했다: (i) 19세 이상; (ii) 동부종양협력그룹(Eastern Cooperative Oncology Group: ECOG) 수행 상태 점수가 0 내지 1점; (iii) 기대 수명이 12주 이상; (iv) RECIST v1.1에 따른 측정가능한 질환; 및 (v) 국소 진행성 또는 전이성 고형 종양. 총 21명의 환자가 연구에 등록하였다(결장암 10명, 직장암 5명, 유방암 2명, 난소암 1명, 활막육종 1명, 항문암 1명, 및 자궁경부암 1명).

[0323] 다음의 용량 증분을 사용하여 전통적인 3+3 용량 증가 설계를 구현하였다: (i) 60 $\mu\text{g/kg}$, (ii) 120 $\mu\text{g/kg}$, (iii) 240 $\mu\text{g/kg}$, (iv) 480 $\mu\text{g/kg}$, (v) 720 $\mu\text{g/kg}$, (vi) 960 $\mu\text{g/kg}$, 및 (vii) 1,200 $\mu\text{g/kg}$. IL-7-hyFc를 투여 받은 환자에게 IL-7-hyFc를 3주마다 근육내 투여하였다. 도 12는 전체적인 연구 설계의 개략도를 제공한다.

[0324] 시험 전반에 걸쳐 다양한 시점에서, 다음 중 하나 이상을 사용하여 임의의 이상 반응에 대해 환자를 스크리닝하였다: 비정상적인 실험실 테스트, 대상체가 기재한 임상 증상 및 징후, 및 조사자 평가. 도 13에 나타난 바와 같이, 테스트한 모든 용량에 대해 44건의 약물 유해 반응(ADR) 사례가 있었으며, 이들 대부분은 주사 부위 반응을 포함하였고, 이들 반응은 항-히스타민제 및/또는 코르티코스테로이드의 통상적인 사용으로 관리할 수 있었다.

[0325] 진행성 고형암 환자에서 IL-7-hyFc의 약동학적 프로파일을 특성화하기 위해, IL-7-hyFc 투여 전에 혈액을 수집한 다음 투여 후 0.5, 6, 12, 24, 48, 72, 168, 336 및 504시간째 혈액을 수집하였다. ELISA(인간 IL-7 퀀타카인 HS ELISA 키트(Human IL-7 Quantikine HS ELISA Kit) HS750; R&D Systems)를 사용하여 IL-7의 농도를 결정하였다. 도 14A에 나타난 바와 같이, IL-7-hyFc의 농도는 투여 후 평균 12 내지 48시간 사이에 최고치를 나타내었으며, 이 때 반감기는 약 33 내지 147시간이었다. $C_{\max}$ 및 AUC에서 용량 의존적 증가가 있었다(도 14B 및 도 14C 참조).

[0326] IL-7-hyFc의 약력학적 프로파일을 특성화하기 위해, 투여 전에 진행성 고형암 환자로부터 혈액을 수집한 다음 투여 3주 후에 혈액을 수집하였다. 그 다음, 다양한 생물학적 마커를 사용하여 절대 림프구 수(ALC)뿐만 아니라 다양한 림프구 하위집합을 계산하였다. 도 15A 내지 도 15D에 나타난 바와 같이, 또한 대상체에서 ALC, CD3+, CD4+ 및 CD8+ T 세포의 용량-의존적 증가가 있었다. ALC에 대한 효과는 림프구감소증($\text{ALC} < 1,000$ 개 세포/ mm^3) 및 비-림프구감소증($\text{ALC} \geq 1,000$ 개 세포/ mm^3) 환자 둘 다에서 관찰되었다(도 15E 및 도 15F 참조). IL-7-hyFc를 투여받은 환자는 또한 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 다에서 더 많은 CCR5 발현을 나타내었다(도 16G 및 도 16H 참조). 유사하게, 더 높은 용량(720 내지 1,200 $\mu\text{g/kg}$)을 투여받은 환자는 더 낮은 용량을 투여받은 환자와 비교하여 Ki67+ CD4+ 및 CD8+ T 세포의 백분율이 더 높았다(도 16A 및 도 16C 참조). 더 높은 용량(720 내지 1,200 $\mu\text{g/kg}$)에서, CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 다에서 IL-7R α 발현의 현저한 감소가 있었다(도 16B 및 도 16D 참조). IL-7-hyFc를 투여받은 진행성 고형암 환자가 특정 용량에서 더 큰 CD4+/Treg 또는 CD8+/Treg 비율을 가지는 것으로 보였으므로, IL-7-hyFc는 조절 T 세포(Treg)에 미치는 영향이 더 적은 것으로 보였다(도 16E 참조). T 세포에 대한 IL-7-hyFc의 용량 의존적 효과는 모든 미경험, 이펙터 기억(EM), 및 중심 기억(CM) CD4+ 및 CD8+ T 세포 중에서 관찰되었다(도 16F 참조). NK 세포의 증가가 고용량(720 내지 1,200 $\mu\text{g/kg}$)에서 관찰되었지만, 진행성 고형암 환자에 대한 IL-7-hyFc의 투여는 테스트한 모든 용량에 있어서 B 세포에 대해 영향을 미치지 않았다(도 17A 및 도 17B 참조).

[0327] 상기 데이터는 IL7-hyFc가 일반적으로 안전하고 3주마다 1회의 투약 간격으로 심지어 더 높은 용량(예를 들어, 720 내지 1,200 $\mu\text{g/kg}$)에서도 진행성 고형암을 치료하는 데 효과적일 수 있음을 입증한다.

[0328] 실시예 12: 교모세포종 환자에서 IL-7 단백질의 항-종양 효과의 분석

[0329] 상기 임상 시험(실시예 11 참조)은 또한 교모세포종을 치료함에 있어서 IL7-hyFc의 안전성 및 효능을 평가하였다. 전체적인 연구 설계는 실시예 11과 동일하지만(예를 들어, 3+3 전통적인 용량 증가 및 유사한 자격 요건), 교모세포종 시험에 대한 용량은 다음과 같았다: (i) 60 $\mu\text{g/kg}$, (ii) 360 $\mu\text{g/kg}$, (iii) 600 $\mu\text{g/kg}$, (iv) 840 $\mu\text{g/kg}$ 및 (v) 1,440 $\mu\text{g/kg}$. 총 15명의 환자가 연구에 등록하였다.

[0330] 진행성 고형암 환자에서 관찰된 바와 같이, 교모세포종 환자에 대한 IL7-hyFc의 투여는 일반적으로 테스트한 모든 용량에 대하여 잘 용인되었다(도 18 참조). 다시 말하지만, 가장 흔한 약물 유해 반응은 주사 부위 반응이었으며, 이는 용이하게 치료가능하였다. 전체적인 약력학 및 약동학 프로파일은 또한 진행성 고형암 환자에서 관찰된 것과 유사하였다. 교모세포종 환자에 대한 IL7-hyFc의 투여는 또한 림프구감소증 및 비-림프구감소증 환자

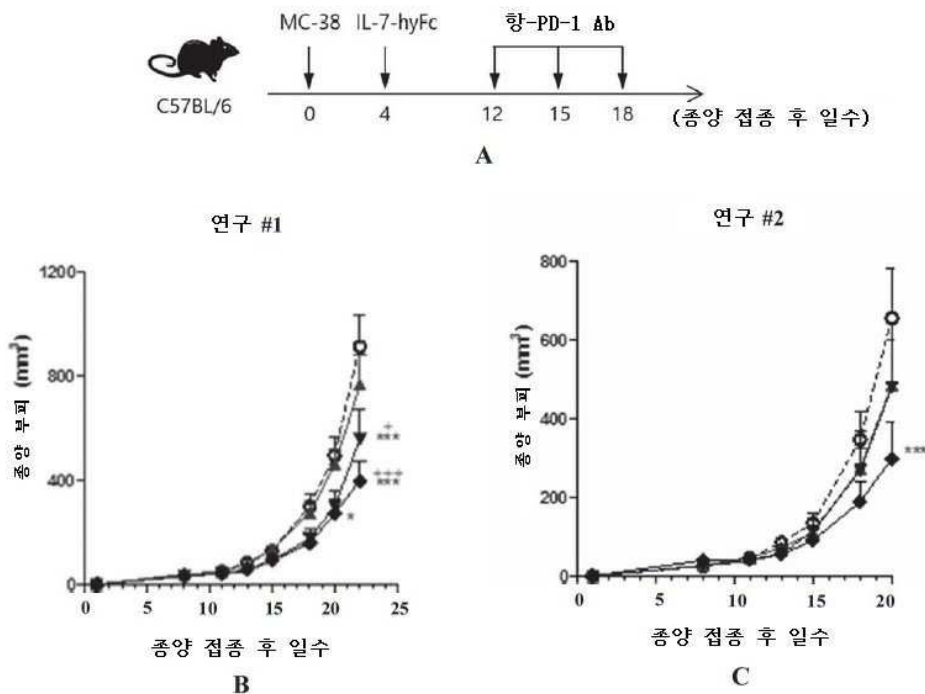
들 다에서 ALC, CD3+, CD4+ 및 CD8+ T 세포의 용량-의존적 증가를 초래하였다(도 19B 내지 도 19F 참조).

[0331] 교모세포종 환자 중에서, 상이한 화학요법제의 효과에 대한 IL7-hyFc 투여의 영향을 또한 평가하였다. 도 20A 내지 도 20C에 나타난 바와 같이, IL7-hyFc 투여(8주마다 1회의 투약 간격으로 720 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량)는 또한 테모졸로마이드를 투여받은 교모세포종 대상체에서 ALC와 Ki67+ CD4+ 및 CD8+ T 세포의 빈도를 증가시켰다. IL7-hyFc를 12주마다 1회의 투약 간격으로 600 내지 720 $\mu\text{g/kg}$ 의 용량으로 대상체에게 투여할 때 아바스틴/이리노테칸을 투여받은 교모세포종 환자에서 유사한 결과가 관찰되었다(도 21A 내지 도 21C 참조).

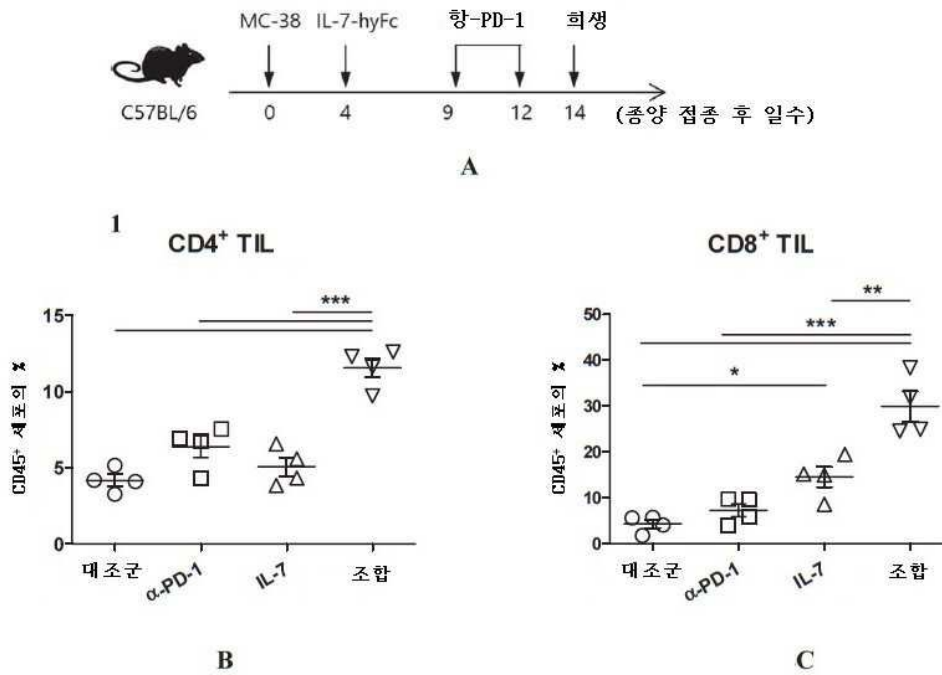
[0332] 종합적으로, 상기 데이터는 IL7-hyFc가 안전하고 진행성 고형암 및 교모세포종 둘 다에 대하여 잠재적인 치료 효과를 가질 수 있음을 나타낸다. 상기에서 관찰된 치료 효과(예를 들어, 다양한 암 유형에서 T 세포를 증가시키는 능력)는 IL7-hyFc가, 특히 다른 항암 치료 요법, 예컨대, 면역 관문 저해제와 조합하여, 다양한 암의 치료에 효과적일 수 있음을 시사한다.

도면

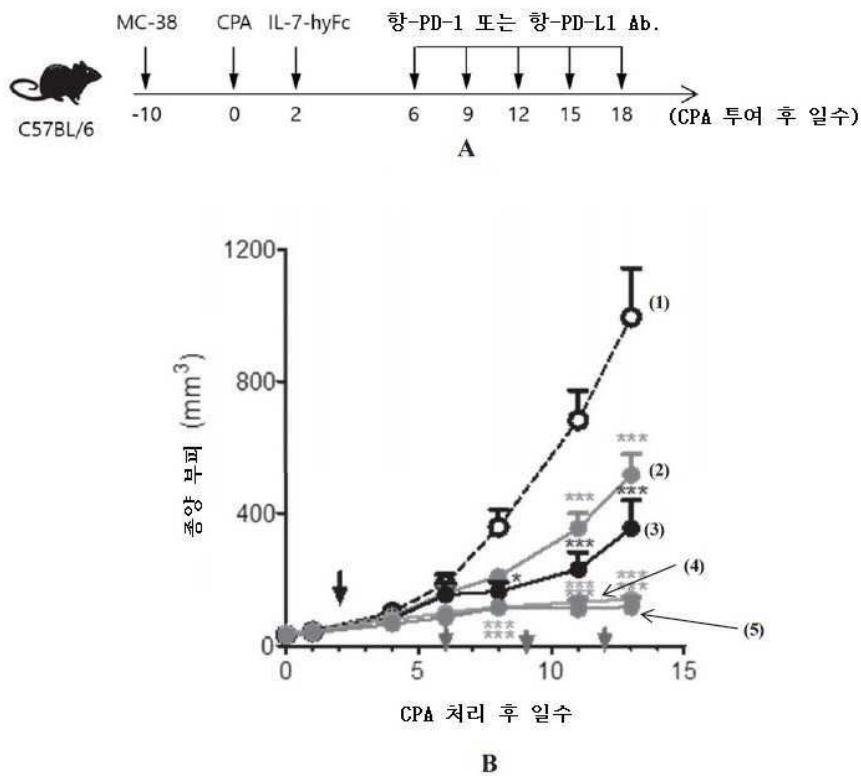
도면1



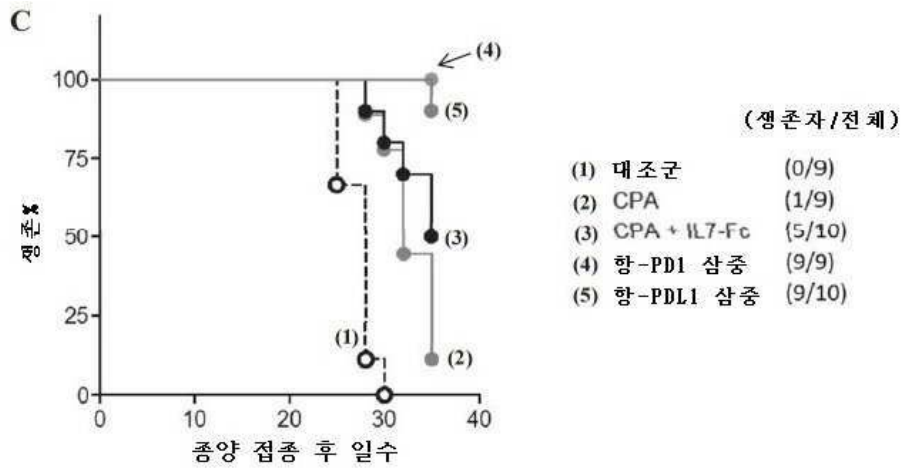
도면2



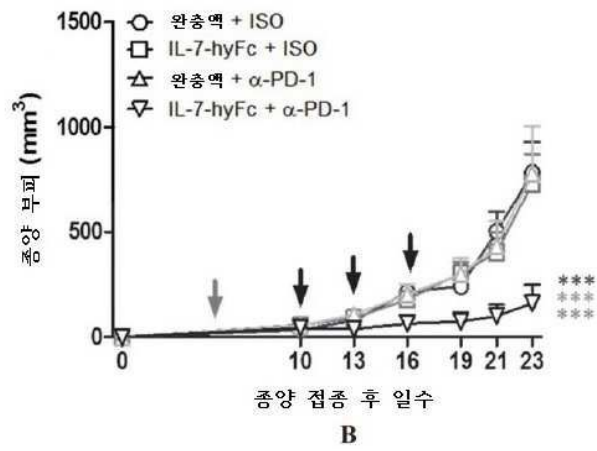
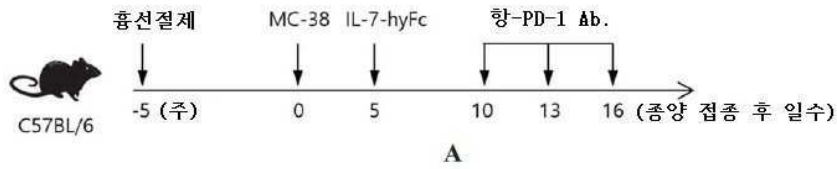
도면3ab



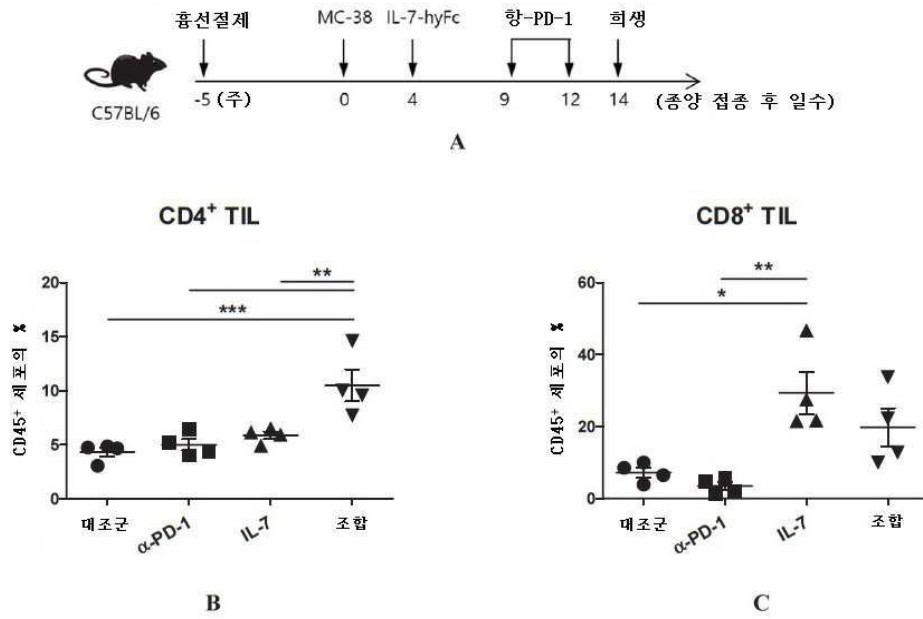
도면3c



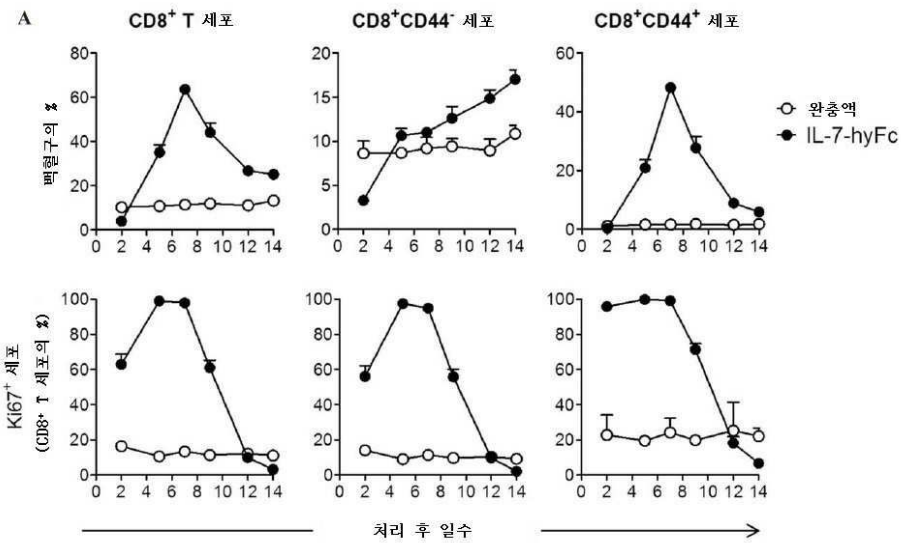
도면4



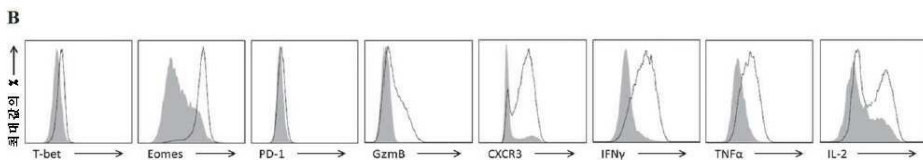
도면5



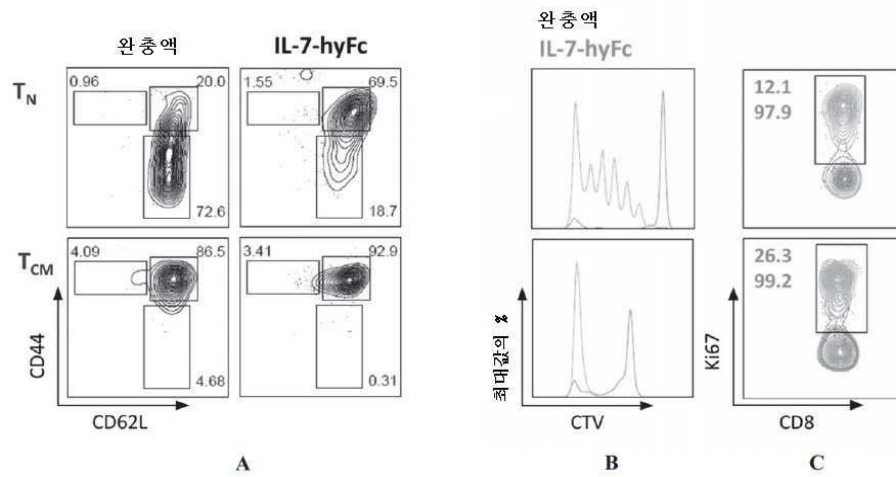
도면6a



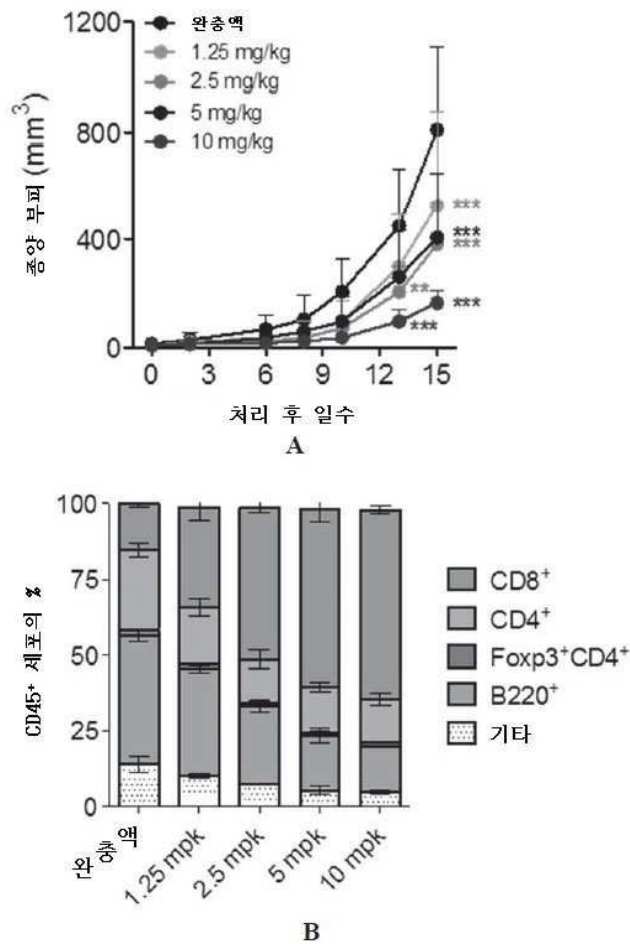
도면6b



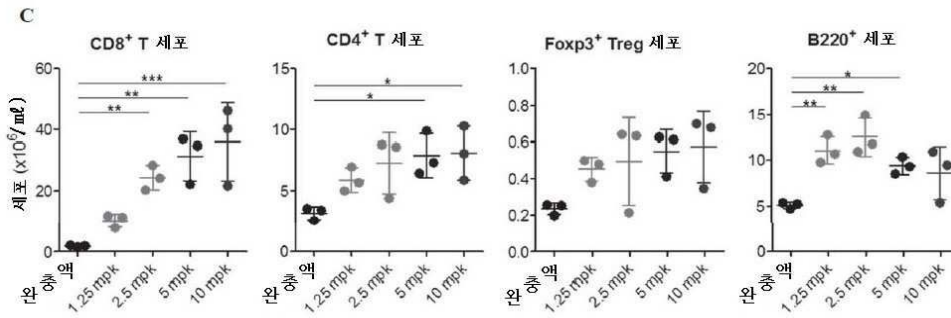
도면7



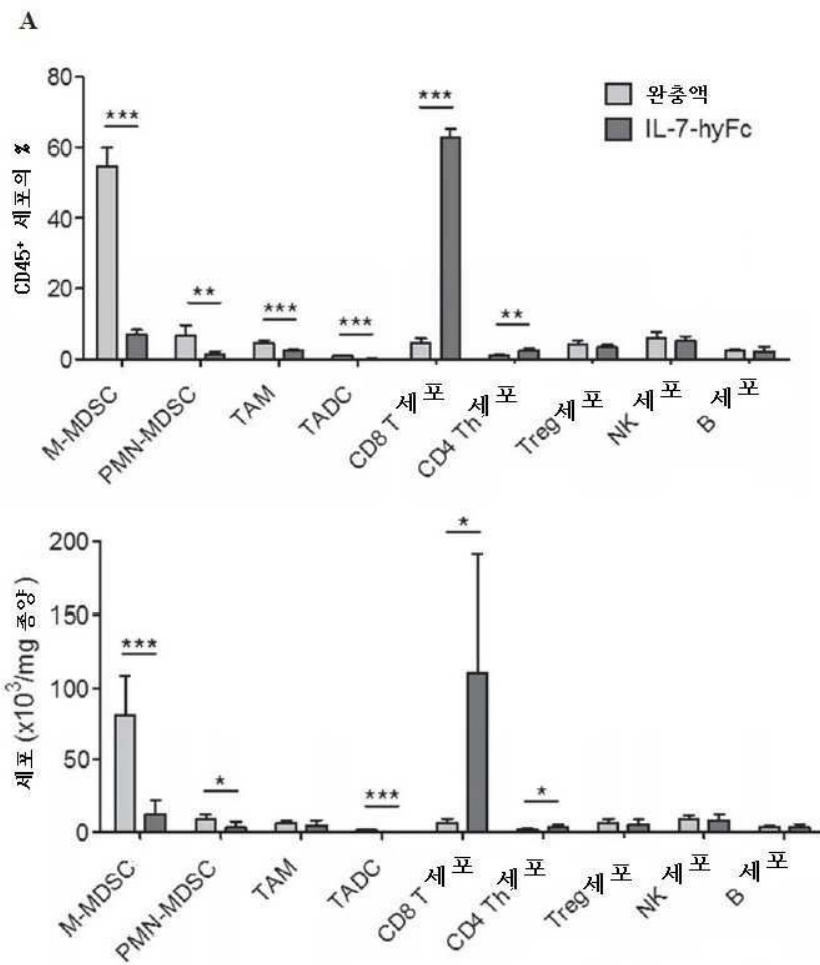
도면8ab



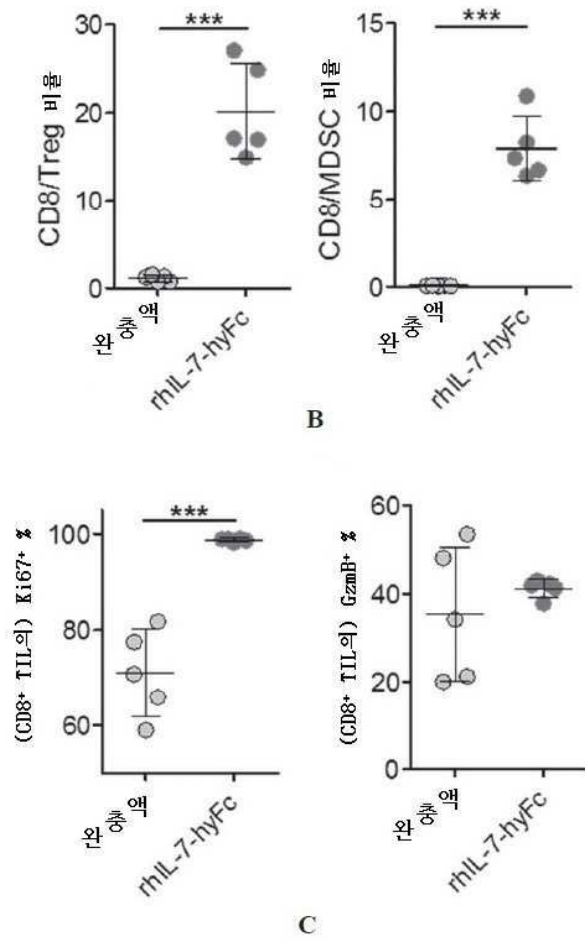
도면8c



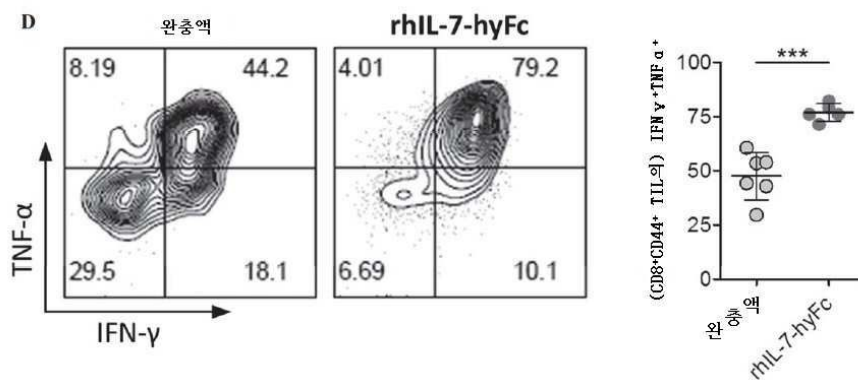
도면9a



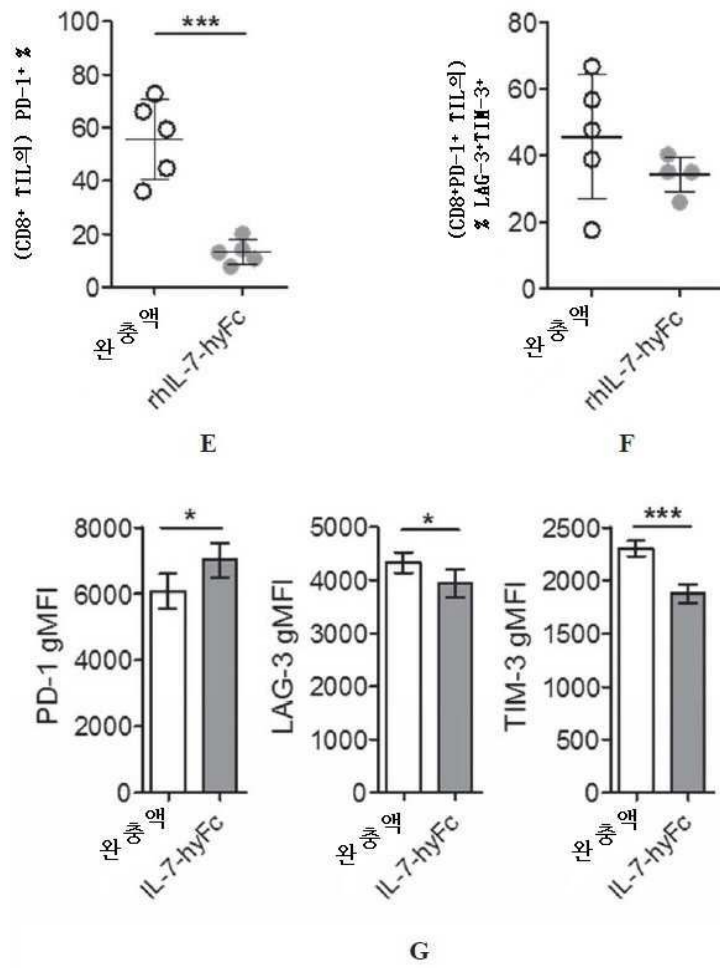
도면9bc



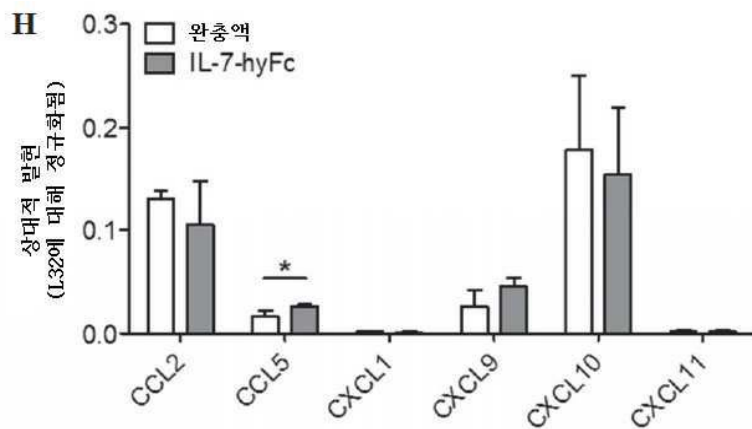
도면9d



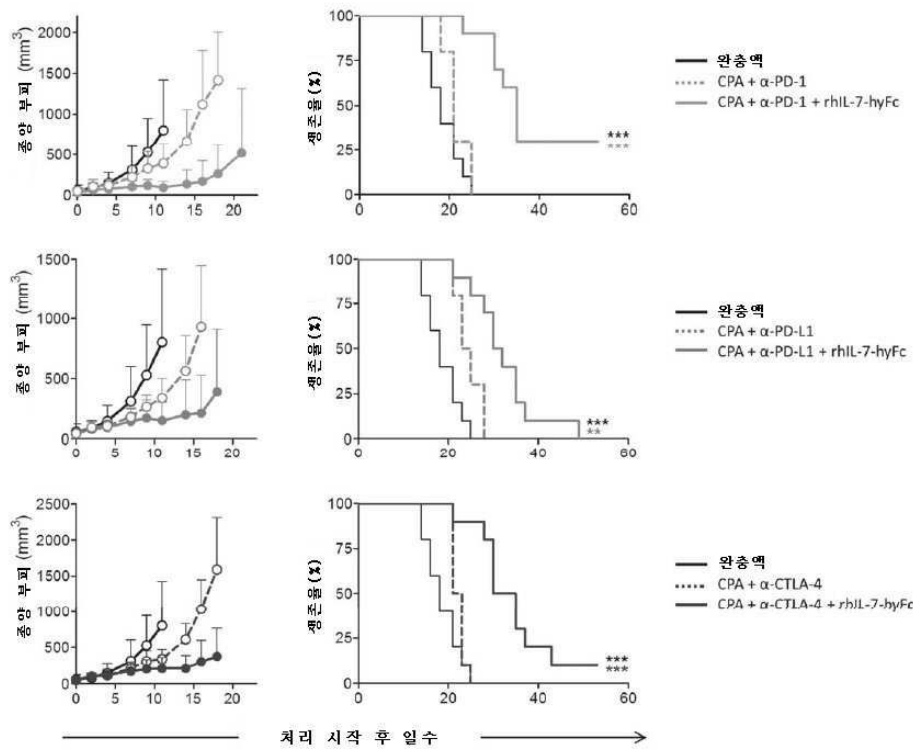
도면9efg



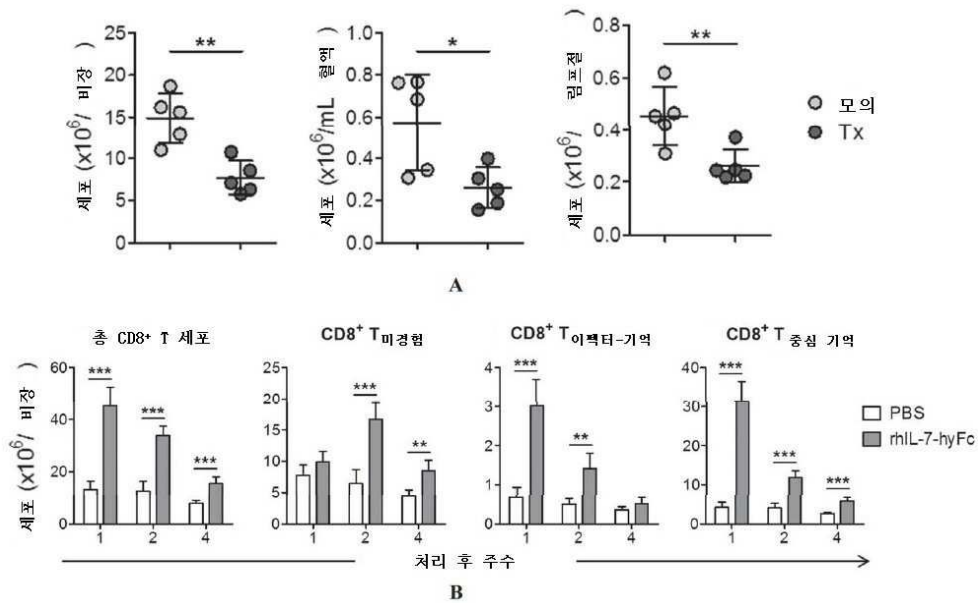
도면9h



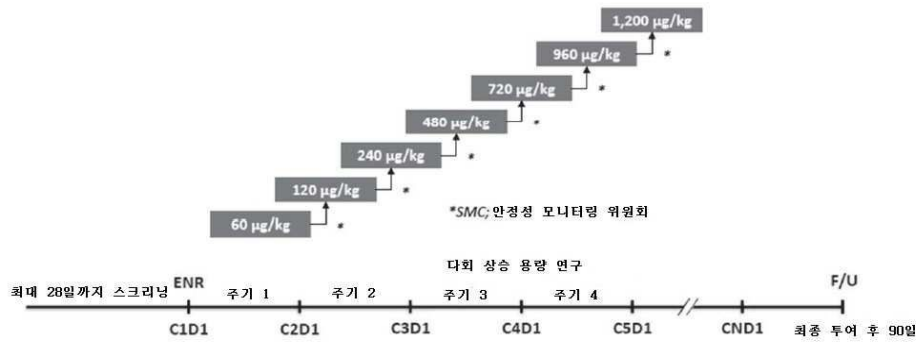
도면10



도면11



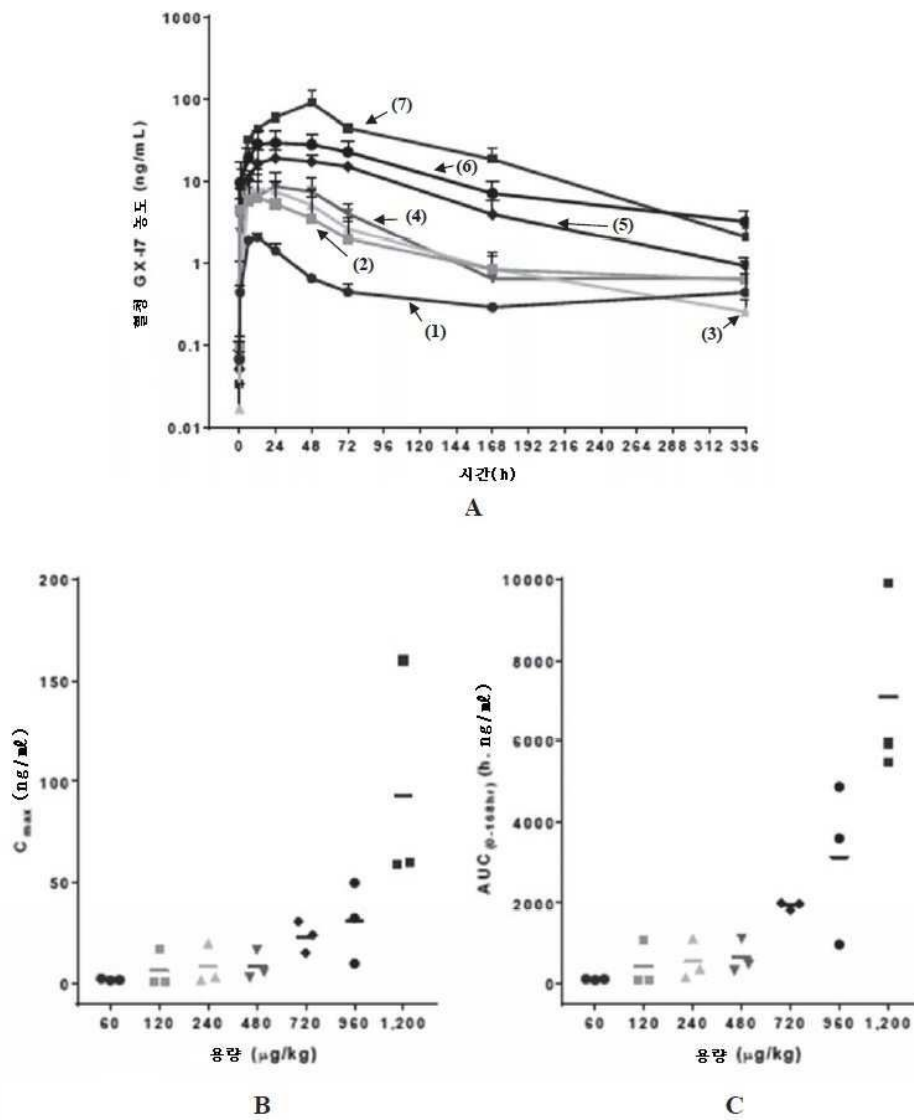
도면12



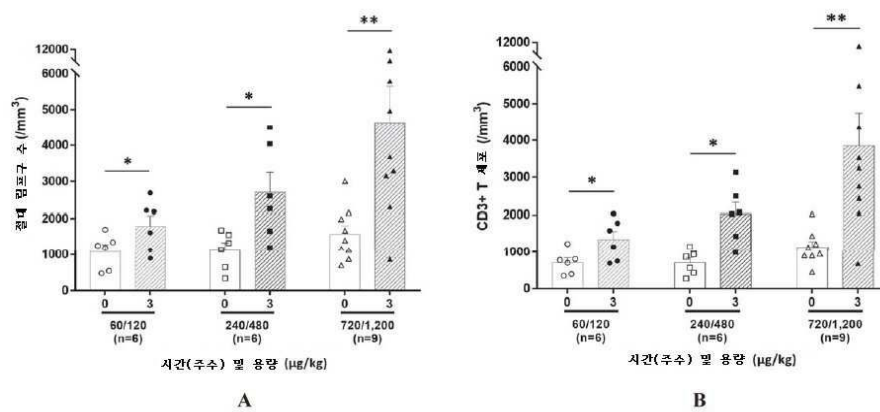
도면13

n(%), [사례]	GX-17 (hIL-7-hyFc)							총 (n=21)
	60 µg/kg (n=3)	120 µg/kg (n=3)	240 µg/kg (n=3)	480 µg/kg (n=3)	720 µg/kg (n=3)	960 µg/kg (n=3)	1200 µg/kg (n=3)	
임의의 TEAE	3(100.0), [13]	3(100.0), [29]	3(100.0), [14]	3(100.0), [18]	3(100.0), [18]	3(100.0), [4]	3(100.0), [14]	21(100.0), [110]
ADR	3(100.0), [6]	2(66.7), [9]	3(100.0), [6]	2(66.7), [6]	1(33.3), [5]	2(66.7), [2]	3(100.0), [10]	16(76.2), [44]
Gr1	2(66.7), [4]	2(66.7), [7]	3(100.0), [4]	2(66.7), [4]	1(33.3), [2]	1(33.3), [1]	2(66.7), [7]	13(61.9), [29]
Gr2	1(33.3), [2]	2(66.7), [2]	2(66.7), [2]	2(66.7), [2]	1(33.3), [3]	1(33.3), [1]	3(100.0), [3]	12(57.1), [15]
중증도								
Gr3	-	-	-	-	-	-	-	-
Gr4	-	-	-	-	-	-	-	-
Gr5	-	-	-	-	-	-	-	-
대표용어에 의한 ADR								
주사 부위 반응	3(100.0), [6]	2(66.7), [5]	3(100.0), [3]	2(66.7), [4]	1(33.3), [3]	-	3(100.0), [4]	14(66.7), [25]
발열	-	1(33.3), [1]	1(33.3), [1]	1(33.3), [2]	-	1(33.3), [1]	2(66.7), [3]	6(28.6), [8]
발진/구진상 발진	-	1(33.3), [1]	-	-	1(33.3), [1]	1(33.3), [1]	1(33.3), [1]	4(19.0), [4]
식욕 감소	-	1(33.3), [1]	-	-	-	-	1(33.3), [1]	2(9.5), [2]
무력증	-	-	1(33.3), [1]	-	-	-	-	1(4.8), [1]
요통	-	1(33.3), [1]	-	-	-	-	-	1(4.8), [1]
변비	-	-	-	-	1(33.3), [1]	-	-	1(4.8), [1]
인플루엔자 유사 질병	-	-	-	-	-	-	1(33.3), [1]	1(4.8), [1]
근육통	-	-	1(33.3), [1]	-	-	-	-	1(4.8), [1]

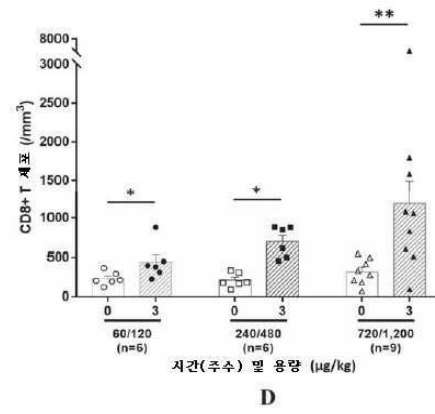
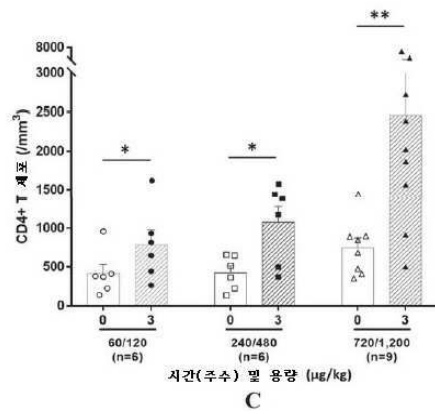
도면14



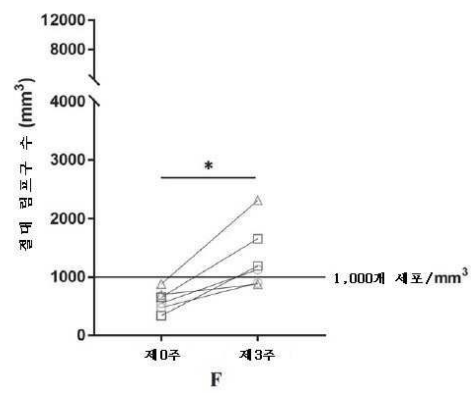
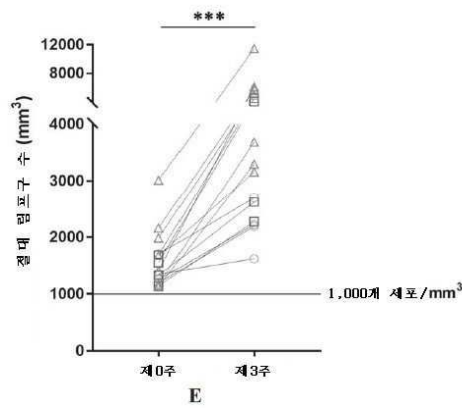
도면15ab



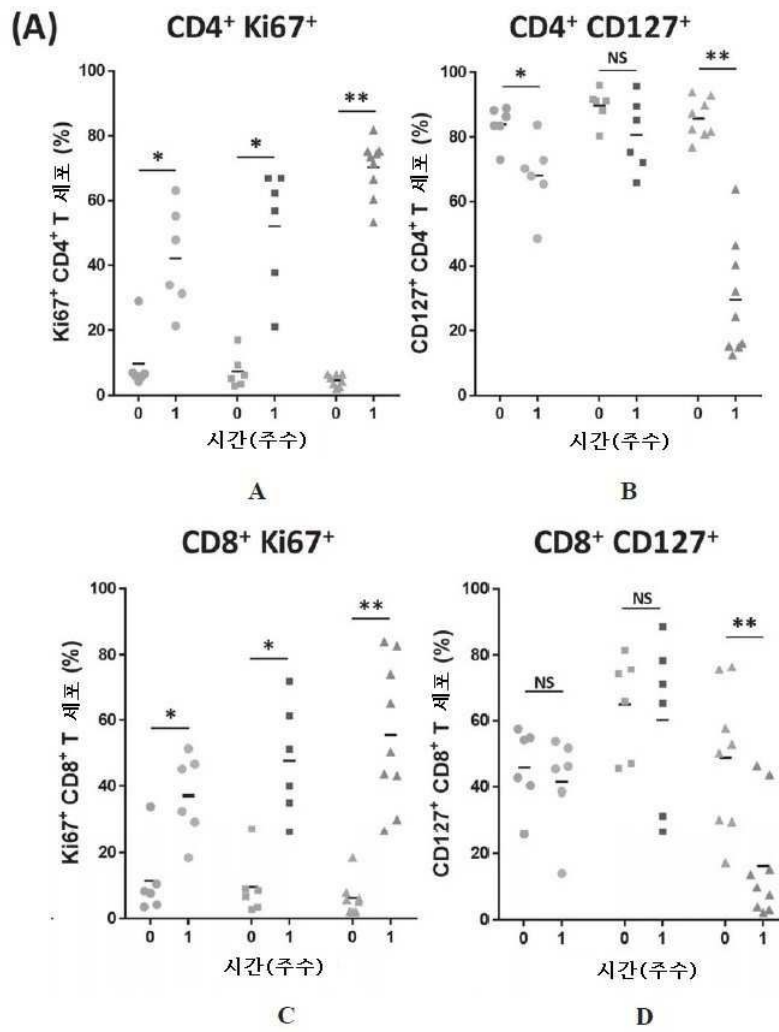
도면15cd



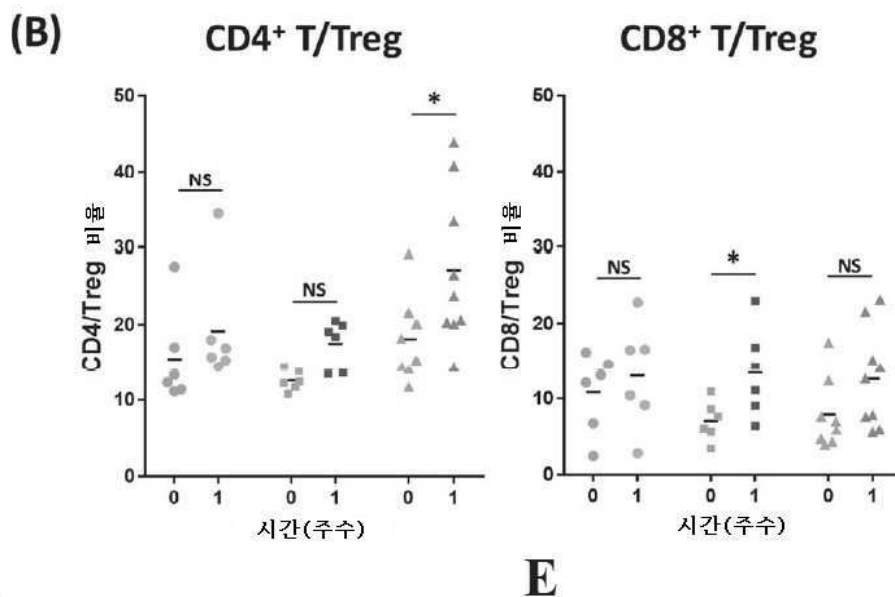
도면15ef



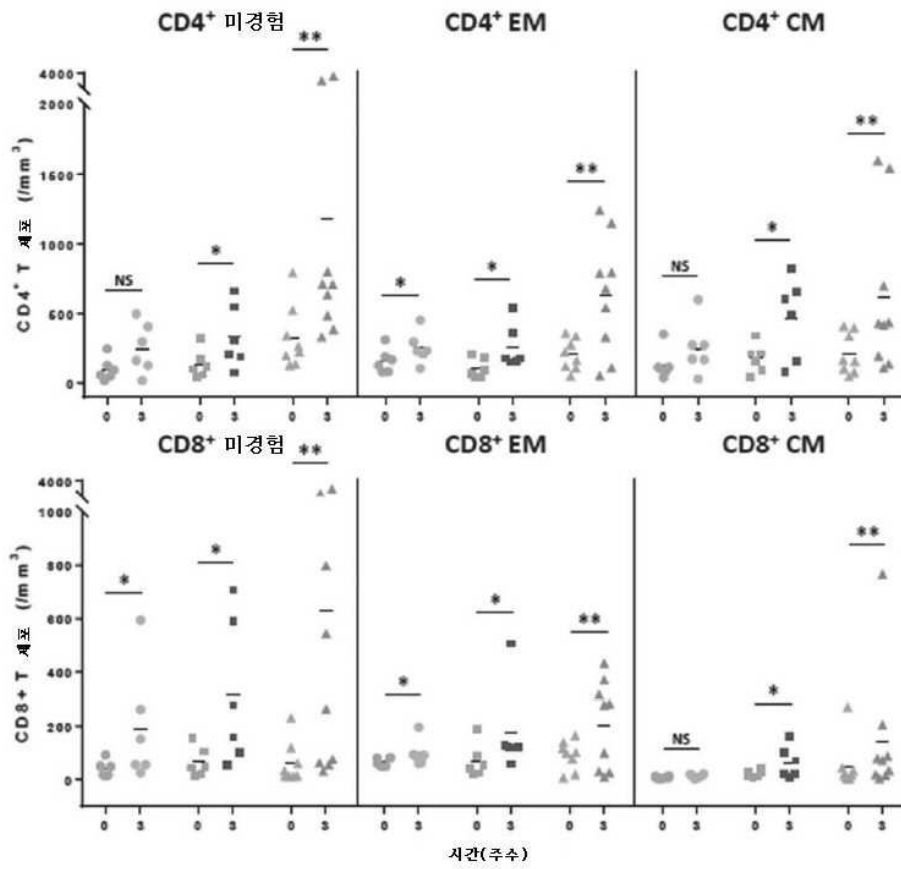
도면16ad



도면16e

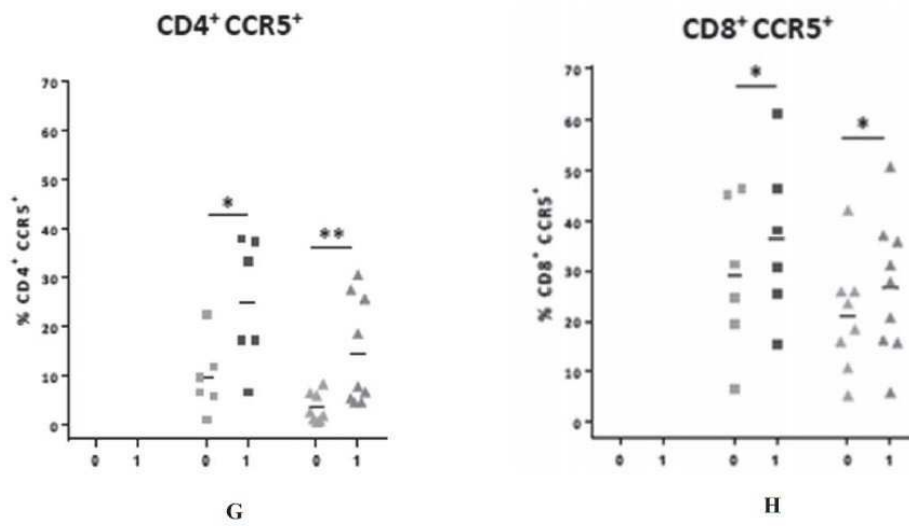


도면16f



F

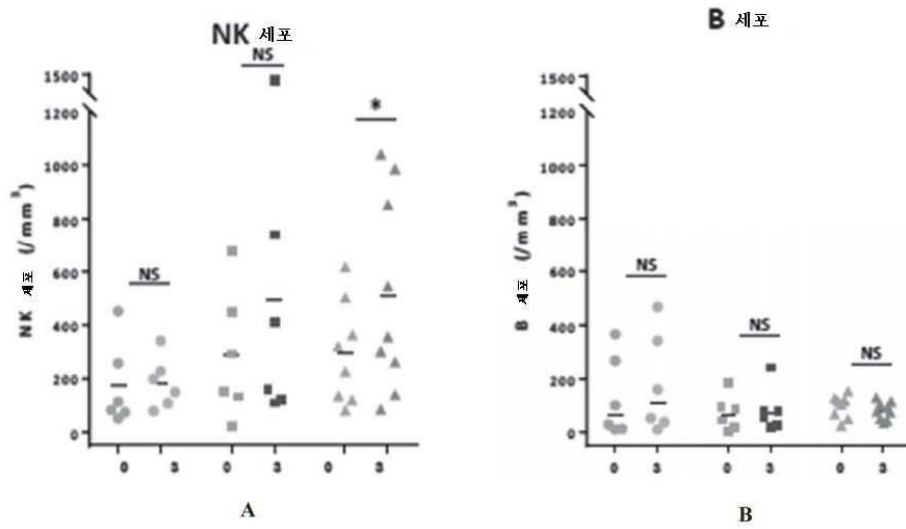
도면16gh



G

H

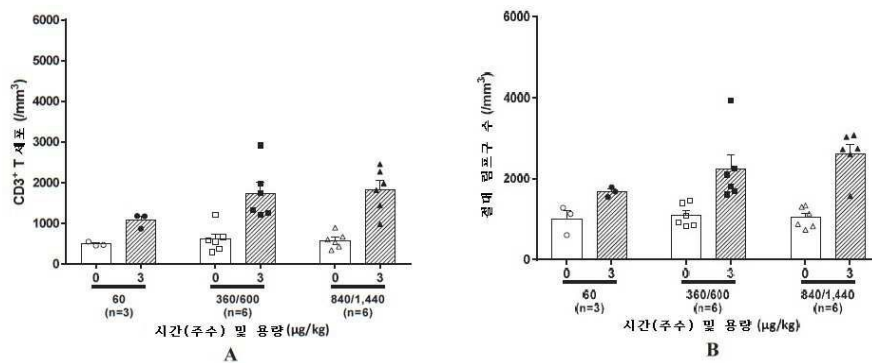
도면17



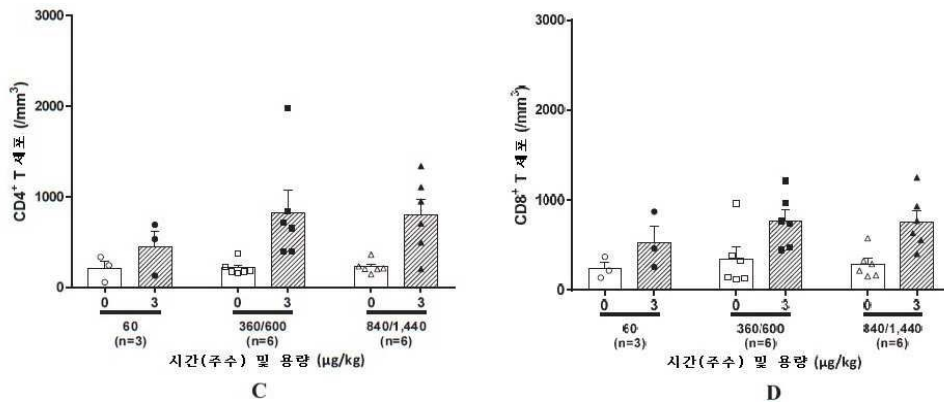
도면18

n(%) [사례]	GX-17 (hIL-7-hyFc)					총 (n=15)
	60 $\mu\text{g/kg}$ (n=3)	360 $\mu\text{g/kg}$ (n=3)	600 $\mu\text{g/kg}$ (n=3)	840 $\mu\text{g/kg}$ (n=3)	1,440 $\mu\text{g/kg}$ (n=3)	
임의의 TEAE	3(100.0), [22]	3(100.0), [22]	3(100.0), [24]	3(100.0), [18]	3(100.0), [9]	15(100.0), [95]
ADR	1(33.3), [2]	3(100.0), [10]	3(100.0), [5]	3(100.0), [7]	3(100.0), [8]	13(86.7), [32]
중증도	Gr1	1(33.3), [1]	3(100.0), [7]	3(100.0), [5]	2(66.7), [6]	11(73.3), [21]
	Gr2	1(33.3), [1]	1(33.3), [3]	0(0.0), [0]	3(100.0), [5]	8(53.3), [11]
	Gr3					
	Gr4					
	Gr5					
대표용어에 의한 ADR						
주사 부위 반응	1(33.3), [1]	3(100.0), [5]	1(33.3), [1]	2(66.7), [2]	2(66.7), [2]	9(60.0), [11]
주사 부위 통증	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(6.7), [1]
두드러기	1(33.3), [1]	1(33.3), [1]	2(66.7), [2]	1(33.3), [1]	1(33.3), [1]	6(40.0), [6]
소양증	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	2(66.7), [2]	3(20.0), [3]
열감	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	2(13.3), [2]
발열	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	2(13.3), [2]
종창	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	1(33.3), [1]	2(13.3), [2]
근육통	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(6.7), [1]
말초 부종	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(6.7), [1]
피로	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [1]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(6.7), [1]
발진	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	0(0.0), [0]	1(33.3), [2]	0(0.0), [0]	1(6.7), [2]

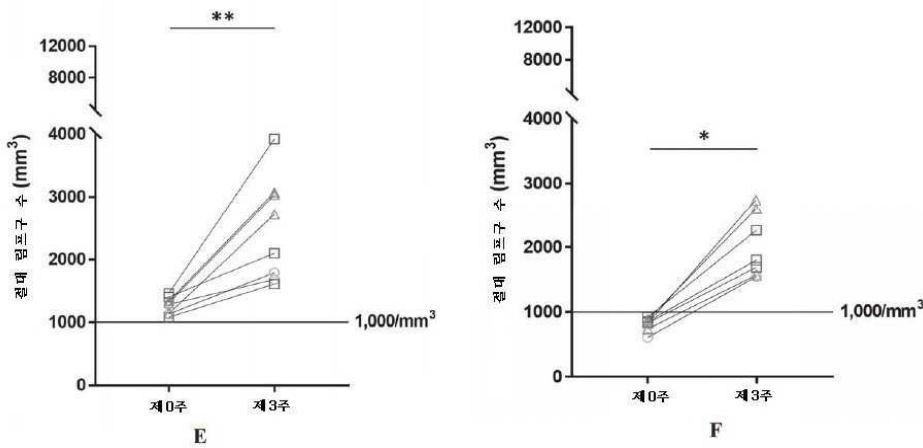
도면19ab



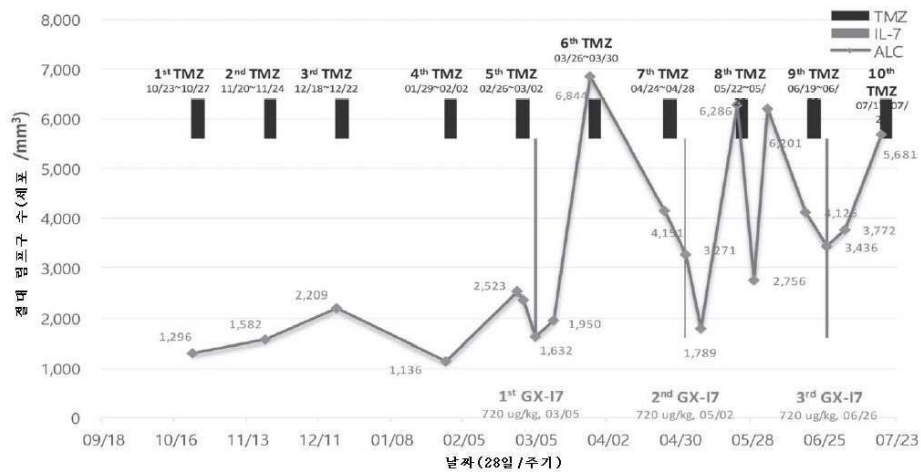
도면19cd



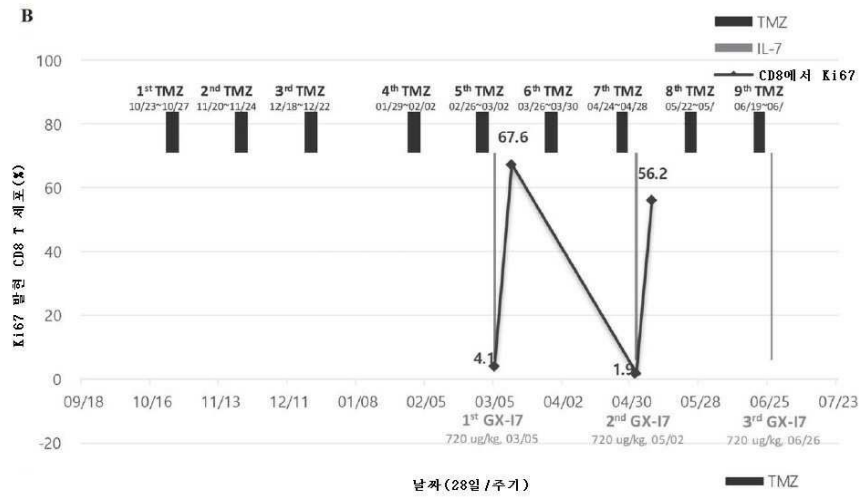
도면19ef



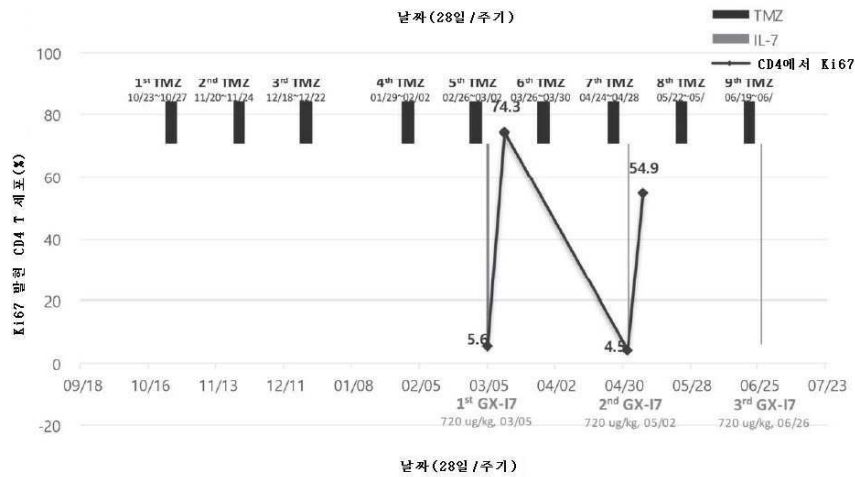
도면20a



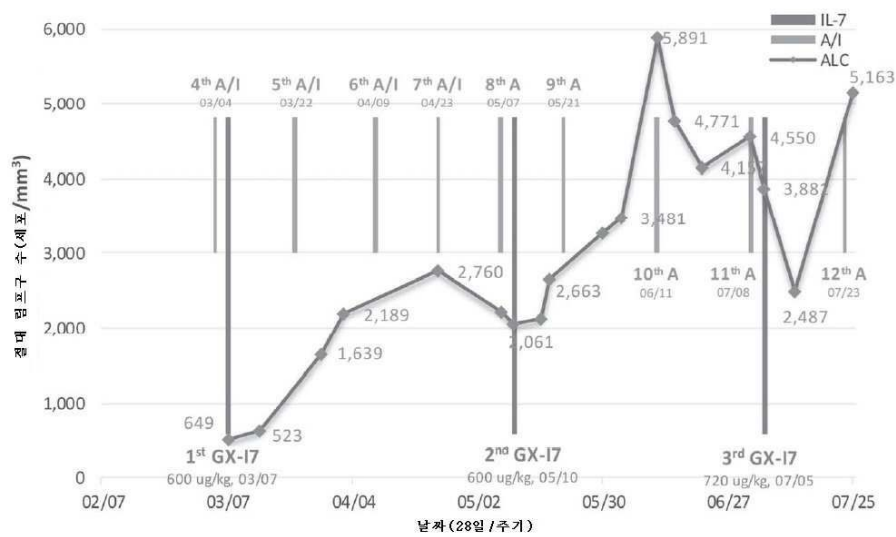
도면20b



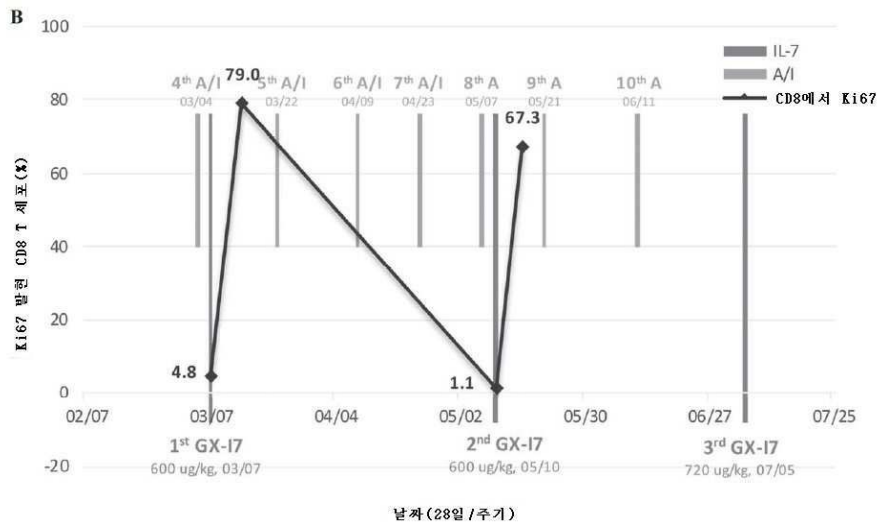
도면20c



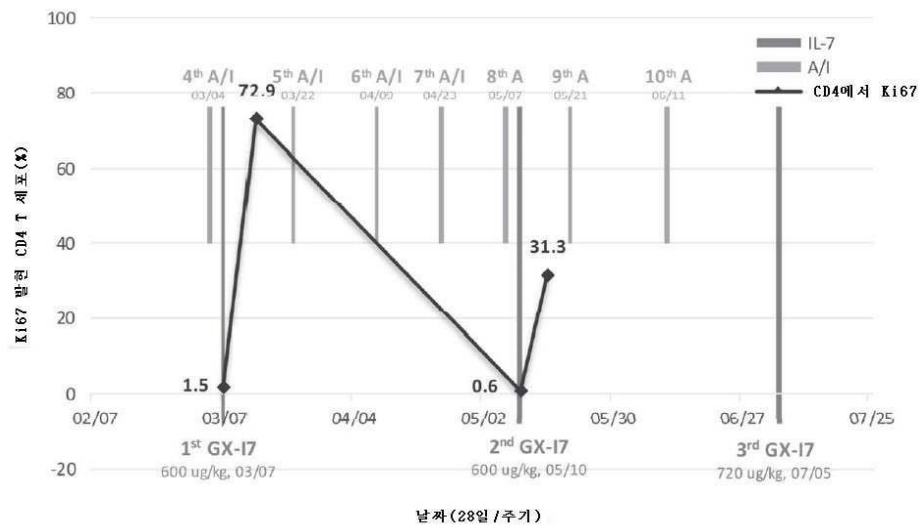
도면21a



도면21b



도면21c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> NeoImmuneTech, Inc. and Genexine, Inc.

<120> METHOD OF TREATING A TUMOR WITH A COMBINATION OF IL-7 PROTEIN AND AN IMMUNE CHECKPOINT INHIBITOR

<130> 4241.002PC03/C-K/DKC

<140> PCT/US2019/061813

<141> 2019-11-15

<150> US 62/768,355

<151> 2018-11-16

<150> US 62/826,734
 <151> 2019-03-29
 <150> US 62/896,484
 <151> 2019-09-05
 <160> 40
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 177
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1

```

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

Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe
65           70           75           80
Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser
           85           90           95
Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr
           100          105          110
Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala
           115          120          125

Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu
           130          135          140
Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu
145          150          155          160
Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu
    
```

165 170 175

His

<210> 2

<211> 154

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 2

Met Phe His Val Ser Phe Arg Tyr Ile Phe Gly Ile Pro Pro Leu Ile

1 5 10 15

Leu Val Leu Leu Pro Val Thr Ser Ser Asp Cys His Ile Lys Asp Lys

20 25 30

Asp Gly Lys Ala Phe Gly Ser Val Leu Met Ile Ser Ile Asn Gln Leu

35 40 45

Asp Lys Met Thr Gly Thr Asp Ser Asp Cys Pro Asn Asn Glu Pro Asn

50 55 60

Phe Phe Lys Lys His Leu Cys Asp Asp Thr Lys Glu Ala Ala Phe Leu

65 70 75 80

Asn Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ile Ser

85 90 95

Glu Glu Phe Asn Asp His Leu Leu Arg Val Ser Asp Gly Thr Gln Thr

100 105 110

Leu Val Asn Cys Thr Ser Lys Glu Glu Lys Thr Ile Lys Glu Gln Lys

115 120 125

Lys Asn Asp Pro Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Arg Glu Ile Lys Thr

130 135 140

Cys Trp Asn Lys Ile Leu Lys Gly Ser Ile

145 150

<210> 3

<211> 154

<212> PRT

<213> Mus Musculus

<400> 3

```

Met Phe His Val Ser Phe Arg Tyr Ile Phe Gly Ile Pro Pro Leu Ile
1           5           10          15
Leu Val Leu Leu Pro Val Thr Ser Ser Glu Cys His Ile Lys Asp Lys
          20          25          30
Glu Gly Lys Ala Tyr Glu Ser Val Leu Met Ile Ser Ile Asp Glu Leu

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

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

```

<210> 4

<211> 177

<212> PRT

<213> Cercopithecus aethiops

<400> 4

```

Met Phe His Val Ser Phe Arg Tyr Ile Phe Gly Leu Pro Pro Leu Ile

1           5           10          15
Leu Val Leu Leu Pro Val Ala Ser Ser Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys
          20          25          30
Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu
          35          40          45

```

Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe
50 55 60
Asn Phe Phe Lys Arg His Leu Cys Asp Asp Asn Lys Glu Gly Met Phe
65 70 75 80
Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Lys Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser
85 90 95
Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr
100 105 110
Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Lys Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala
115 120 125
Leu Gly Glu Pro Gln Pro Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu
130 135 140
Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Ser Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu
145 150 155 160
Gln Lys Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu
165 170 175
His

<210> 5

<211> 176

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 5

Met Phe His Val Ser Phe Arg Tyr Ile Phe Gly Ile Pro Pro Leu Ile
1 5 10 15

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

65					70					75					80
Asn	Arg	Ala	Ser	Arg	Lys	Leu	Arg	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Asn	Ile	Ser
85				90				95							
Asp	Asp	Phe	Lys	Leu	His	Leu	Ser	Thr	Val	Ser	Gln	Gly	Thr	Leu	Thr
100				105				110							
Leu	Leu	Asn	Cys	Thr	Ser	Lys	Gly	Lys	Gly	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser	Leu
115				120				125							
Ser	Glu	Ala	Gln	Pro	Thr	Lys	Asn	Leu	Glu	Glu	Asn	Lys	Ser	Ser	Lys
130				135				140							
Glu	Gln	Lys	Lys	Gln	Asn	Asp	Leu	Cys	Phe	Leu	Lys	Ile	Leu	Leu	Gln
145				150				155				160			
Lys	Ile	Lys	Thr	Cys	Trp	Asn	Lys	Ile	Leu	Arg	Gly	Ile	Lys	Glu	His
165				170				175							
<210>	6														
<211>	176														
<212>	PRT														
<213>	Ovis aries														
<400>	6														
Met	Phe	His	Val	Ser	Phe	Arg	Tyr	Ile	Phe	Gly	Ile	Pro	Pro	Leu	Ile
1				5				10				15			
Leu	Val	Leu	Leu	Pro	Val	Ala	Ser	Ser	Asp	Cys	Asp	Phe	Ser	Gly	Lys
20				25				30							
Asp	Gly	Gly	Ala	Tyr	Gln	Asn	Val	Leu	Met	Val	Ser	Ile	Asp	Asp	Leu
35				40				45							
Asp	Asn	Met	Ile	Asn	Phe	Asp	Ser	Asn	Cys	Leu	Asn	Asn	Glu	Pro	Asn
50				55				60							
Phe	Phe	Lys	Lys	His	Ser	Cys	Asp	Asp	Asn	Lys	Glu	Ala	Ser	Phe	Leu
65				70				75				80			
Asn	Arg	Ala	Ala	Arg	Lys	Leu	Lys	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Asn	Ile	Ser
85				90				95							
Asp	Asp	Phe	Lys	Leu	His	Leu	Ser	Thr	Val	Ser	Gln	Gly	Thr	Leu	Thr

100 105 110
 Leu Leu Asn Cys Thr Ser Lys Gly Lys Gly Arg Lys Pro Pro Ser Leu
 115 120 125
 Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Asn Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys
 130 135 140
 Glu Gln Arg Lys Gln Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Ile Leu Leu Gln

 145 150 155 160
 Lys Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys Ile Leu Arg Gly Ile Thr Glu His
 165 170 175
 <210> 7
 <211> 384
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of human IgD constant region (Genbank
 accession No. P01880)
 <400> 7
 Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg
 1 5 10 15
 His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly

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

 85 90 95
 Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro
 100 105 110
 Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala
 115 120 125

Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys
130 135 140
Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu
145 150 155 160
Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala
165 170 175
Val Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val
180 185 190
Val Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly
195 200 205
Lys Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser
210 215 220
Asn Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu
225 230 235 240
Trp Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu
245 250 255
Pro Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro
260 265 270
Val Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala
275 280 285
Ala Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile
290 295 300
Leu Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe
305 310 315 320
Ala Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala
325 330 335
Trp Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr
340 345 350
Tyr Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala
355 360 365
Ser Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys

370 375 380

<210> 8

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of Partial human IgG4 constant region
(Genbank accession No. AAH25985)

<400> 8

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

 <210> 9
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of hyFc
 <400> 9
 Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys
 1 5 10 15
 Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His
 20 25 30
 Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 35 40 45

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
50 55 60
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
65 70 75 80
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
85 90 95
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
100 105 110

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
115 120 125
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
130 135 140
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
145 150 155 160
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
165 170 175

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
180 185 190
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
195 200 205
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
210 215 220
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
225 230 235 240

Leu Ser Leu Gly Lys
245

<210> 10

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of hyFcM1

<400> 10

Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly Gly Lys Glu Lys
 1 5 10 15
 Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His
 20 25 30
 Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 35 40 45

 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 50 55 60
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 65 70 75 80
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 85 90 95
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 100 105 110

 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 115 120 125
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 130 135 140
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 145 150 155 160
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 165 170 175

 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 180 185 190
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 195 200 205
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 210 215 220
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 225 230 235 240

 Leu Ser Leu Gly Lys

245

<210> 11

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of hyFcM2

<400> 11

Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Gly Ser Lys Glu Lys

1 5 10 15

Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His

20 25 30

Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

180 185 190

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

195 200 205
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 210 215 220
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 225 230 235 240

Leu Ser Leu Gly Lys
 245

<210> 12

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of hyFcM3

<400> 12

Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Ser Gly Lys Glu Lys
 1 5 10 15
 Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His
 20 25 30
 Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 35 40 45

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 50 55 60
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 65 70 75 80
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 85 90 95
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 100 105 110

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 115 120 125
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 130 135 140
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

145 150 155 160
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 165 170 175

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 180 185 190
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 195 200 205
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 210 215 220
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
225 230 235 240

Leu Ser Leu Gly Lys
 245

<210> 13

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of hyFcM4

<400> 13

Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Ser Ser Lys Glu Lys
1 5 10 15
Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His
 20 25 30
Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 35 40 45

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

100 105 110
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 115 120 125
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 130 135 140
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 145 150 155 160
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 165 170 175

 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 180 185 190
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 195 200 205
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 210 215 220
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 225 230 235 240

 Leu Ser Leu Gly Lys
 245
 <210> 14
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of mouse IgG Fc variant
 <400> 14
 Ala Ser Ala Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15
 Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe
 20 25 30
 Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val

35

40

45

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

<210> 15

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(M)

<400> 15

Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val
1 5 10 15
Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly
20 25 30
Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys
35 40 45
Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu
50 55 60
Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu
65 70 75 80
Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln
85 90 95
Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys
100 105 110
Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp
115 120 125
Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn
130 135 140
Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
145 150
<210> 16
<211> 154
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MM)
<400> 16
Met Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser
1 5 10 15
Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile
20 25 30
Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile
35 40 45

Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys
50 55 60

Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His
65 70 75 80

Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly
85 90 95

Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr
100 105 110

Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn
115 120 125

Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp
130 135 140

Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
145 150

<210> 17

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MMM)

<400> 17

Met Met Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu
1 5 10 15

Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu

20 25 30

Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His
35 40 45

Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg
50 55 60

Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu
65 70 75 80

His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr

85 90 95
 Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro
 100 105 110
 Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu
 115 120 125
 Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys
 130 135 140
 Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
 145 150 155

<210> 18

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MGM)

<400> 18

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

Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg
 50 55 60
 Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu
 65 70 75 80
 His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr
 85 90 95
 Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro
 100 105 110

Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu
 115 120 125
 Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys

130 135 140
 Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
 145 150 155
 <210> 19
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of modified IL-7(DDD)
 <400> 19
 Asp Asp Asp Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu

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

 65 70 75 80
 His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr
 85 90 95
 Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro
 100 105 110
 Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu
 115 120 125
 Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys

130 135 140
 Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
 145 150 155
 <210> 20
 <211> 156
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MMMM)

<400> 20

Met Met Met Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr

1 5 10 15

Glu Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys

20 25 30

Glu Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg

35 40 45

His Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala

50 55 60

Arg Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp

65 70 75 80

Leu His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys

85 90 95

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

100 105 110

Pro Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys

115 120 125

Leu Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr

130 135 140

Cys Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His

145 150 155

<210> 21

<

211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(M) fused hyFc

<400> 21

Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val

1 5 10 15

Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly

20 25 30
 Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys
 35 40 45

 Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu
 50 55 60
 Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu
 65 70 75 80
 Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln
 85 90 95
 Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys
 100 105 110

 Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp
 115 120 125
 Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn
 130 135 140
 Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly
 145 150 155 160
 Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu
 165 170 175

 Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe
 180 185 190
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 195 200 205
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 210 215 220
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 225 230 235 240

 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 245 250 255
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 260 265 270

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
275 280 285

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
290 295 300

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
305 310 315 320

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
325 330 335

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
340 345 350

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
355 360 365

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
370 375 380

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
385 390 395

<210> 22

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MM) fused hyFc

<400> 22

Met Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser
1 5 10 15

Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile
20 25 30

Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile
35 40 45

Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys
50 55 60

Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His

65				70				75				80			
Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Glu	Gly	Thr	Thr	Ile	Leu	Leu	Asn	Cys	Thr	Gly
				85				90				95			
Gln	Val	Lys	Gly	Arg	Lys	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Glu	Ala	Gln	Pro	Thr
				100				105				110			
Lys	Ser	Leu	Glu	Glu	Asn	Lys	Ser	Leu	Lys	Glu	Gln	Lys	Lys	Leu	Asn
				115				120				125			
Asp	Leu	Cys	Phe	Leu	Lys	Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Ile	Lys	Thr	Cys	Trp
130				135				140							
Asn	Lys	Ile	Leu	Met	Gly	Thr	Lys	Glu	His	Arg	Asn	Thr	Gly	Arg	Gly
145				150				155				160			
Gly	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Glu	Lys	Glu	Lys	Glu	Glu	Gln	Glu	Glu	Arg
				165				170				175			
Glu	Thr	Lys	Thr	Pro	Glu	Cys	Pro	Ser	His	Thr	Gln	Pro	Leu	Gly	Val
				180				185				190			
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
195				200				205							
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
210				215				220							
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
225				230				235				240			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				245				250				255			
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
260				265				270							
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
275				280				285							
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
290				295				300							
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
305				310				315				320			

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
325 330 335

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
340 345 350

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
355 360 365

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
370 375 380

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
385 390 395

<210> 23

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MMM) fused hyFc

<400> 23

Met Met Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu
1 5 10 15

Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu
20 25 30

Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His
35 40 45

Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg
50 55 60

Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu
65 70 75 80

His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr
85 90 95

Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro
100 105 110

Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu

115	120	125	
Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys			
130	135	140	
Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Arg Asn Thr Gly Arg			
145	150	155	160
Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu			
165	170	175	
Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly			
180	185	190	
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
195	200	205	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro			
210	215	220	
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
225	230	235	240
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
245	250	255	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
260	265	270	
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr			
275	280	285	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
290	295	300	
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
305	310	315	320
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
325	330	335	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
340	345	350	
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser			
355	360	365	

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
370 375 380

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
385 390 395 400

<210> 24

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MGM) fused hyFc

<400> 24

Met Gly Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu
1 5 10 15

Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu
20 25 30

Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His
35 40 45

Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg
50 55 60

Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu
65 70 75 80

His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr
85 90 95

Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro
100 105 110

Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu
115 120 125

Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys
130 135 140

Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Arg Asn Thr Gly Arg
145 150 155 160

Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu
165 170 175

Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly
180 185 190

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
195 200 205

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
210 215 220

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
225 230 235 240

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
245 250 255

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
260 265 270

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
275 280 285

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
290 295 300

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
305 310 315 320

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
325 330 335

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
340 345 350

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
355 360 365

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
370 375 380

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
385 390 395 400

<210> 25

<211> 401

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of modified IL-7(MMMM) fused hyFc

<400> 25

Met Met Met Met Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr

1 5 10 15

Glu Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys

20 25 30

Glu Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg

35 40 45

His Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala

50 55 60

Arg Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp

65 70 75 80

Leu His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys

85 90 95

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

100 105 110

Pro Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys

115 120 125

Leu Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr

130 135 140

Cys Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Arg Asn Thr Gly

145 150 155 160

Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu

165 170 175

Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu

180 185 190

Gly Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

195 200 205

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp

210 215 220

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

225 230 235 240

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val

245 250 255

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

260 265 270

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

325 330 335

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

340 345 350

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

355 360 365

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

370 375 380

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

385 390 395 400

Lys

<210> 26

<211> 397

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of human IL-7 fused hyFc

<400> 26

Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu

1 5 10 15

Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser
20 25 30

Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp
35 40 45

Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg
50 55 60

Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu
65 70 75 80

Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val
85 90 95

Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser
100 105 110

Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu
115 120 125

Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys
130 135 140

Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu
145 150 155 160

Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr
165 170 175

Lys Thr Pro Glu Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Phe Leu
180 185 190

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
195 200 205

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
210 215 220

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
225 230 235 240

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
245 250 255

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

260 265 270

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

275 280 285

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

290 295 300

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

355 360 365

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

370 375 380

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

385 390 395

<210>

27

<211> 395

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of human IL-7 fused nonlytic mouse Fc

<400> 27

Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu

1 5 10 15

Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser

20 25 30

Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp

35 40 45

Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg

50 55 60

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

Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu
115 120 125
Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys
130 135 140
Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Ala Ser Ala Glu Pro Arg Gly Pro
145 150 155 160
Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu
165 170 175

Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu
180 185 190
Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
195 200 205
Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu
210 215 220
Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr
225 230 235 240

Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser
245 250 255
Gly Lys Ala Phe Ala Cys Ala Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro
260 265 270
Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln
275 280 285
Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val
290 295 300

Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val

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

Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg
 370 375 380
 Thr Pro Gly Lys Gly Gly Gly Asn Ser Gly Ser
 385 390 395

<210> 28

<211> 531

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of human IL-7

<400> 28

atgttccacg tgagcttcag gtacatcttc ggctgccac cctgacatc ggtgctgctg 60
 cctgtggcca gctccgactg cgacatcgag ggaaaagacg gcaagcagta cgaaagcgtg 120
 ctgatgggtg ccatcgacca gctgctggat tctatgaagg agattgggag taactgcctg 180

aacaatgagt tcaacttctt caaacggcac atttgtgatg ccaacaagga gggaatgttc 240
 ctgtttcggg ccgctagaaa actgaggcag ttctgaaga tgaacagcac cggagacttt 300
 gatctgcatc tgctgaaagt gtctgagggc accacaatcc tgctgaactg cactgggcag 360
 gtgaaaggaa ggaagcctgc cgctctggga gaggtcagc caaccaagtc actggaggaa 420
 aacaaaagcc tgaaggaaca gaagaaactg aatgacctgt gctttctgaa acggctgctg 480
 caggagatca aaacatgttg gaacaagatt ctgatgggca caaaggaaca c 531

<210> 29

<211> 534

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(M)

<400> 29

atgtttccacg tgagcttcag atacatcttc ggccctgcccc ccctgaccc ggtgctgctg 60
cccgtggcca gcagcatgga ctgcgacatc gagggcaagg acggcaagca gtacgagagc 120
gtgctgatgg tgagcatcga ccagctgctg gacagcatga aggagatcgg cagcaactgc 180
ctgaacaacg agttcaactt cttcaagaga cacatctgcg acgccaacaa ggaggggcatg 240
ttcctgttca gagccgccag aaagctgaga cagttcctga agatgaacag caccggcgac 300
ttcgacctgc acctgctgaa ggtgagcgag ggacacaacca tctgctgaa ctgcaccggc 360

caggtgaagg gcagaaagcc cgccgccctg ggccgaggccc agcccaccaa gaccctggag 420
gagaacaaga gcctgaagga gcagaagaag ctgaacgacc tgtgcttcct gaagagactg 480
ctgcaggaga tcaagacctg ctggaacaag atcctgatgg gcaccaagga gcac 534

<210> 30

<211> 537

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MM)

<400> 30

atgtttccacg tgagcttcag atacatcttc ggccctgcccc ccctgaccc ggtgctgctg 60
cccgtggcca gcagcatgat ggactgcgac atcgagggca aggacggcaa gcagtacgag 120

agcgtgctga tggtagcat cgaccagctg ctggacagca tgaaggagat cggcagcaac 180
tgctgaaca acgagttcaa cttcttcaag agacacatct gcgacgcaa caaggagggc 240
atgttctgt ttagagccgc cagaaagctg agacagttcc tgaagatgaa cagcaccggc 300
gacttcgacc tgcacctgct gaaggtgagc gagggcacia ccatcctgct gaactgcacc 360
ggccaggtga agggcagaaa gcccggccc ctggcgagg ccagccac caagagcctg 420
gaggagaaca agagcctgaa ggagcagaag aagctgaacg acctgtgctt cctgaagaga 480
ctgctgcagg agatcaagac ctgctggaac aagatcctga tgggcaccaa ggagcac 537

<210> 31

<211> 540

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MMM)

<400> 31

atgtttccacg tgagcttcag atacatcttc ggccctgcccc ccctgaccc ggtgctgctg 60
cccgtggcca gcagcatgat gatggactgc gacatcgagg gcaaggacgg caagcagtac 120

gagagcgtgc tgatggtgag catcgaccag ctgctggaca gcatgaagga gatcggcagc 180
aactgcctga acaacgagtt caacttcttc aagagacaca tctgcgacgc caacaaggag 240
ggcatgttcc tgttcagagc cgccagaaag ctgagacagt tcctgaagat gaacagcacc 300

ggcgacttcg acctgcacct gctgaagggtg agcgaggga caaccatcct gctgaactgc 360
accggccagg tgaagggcag aaagcccgcc gccctgggagc agggccagcc caccaagagc 420
ctggaggaga acaagagcct gaaggagcag aagaagctga acgacctgtg cttcctgaag 480
agactgctgc aggagatcaa gacctgctgg aacaagatcc tgatgggcac caaggagcac 540

<210> 32

<211> 540

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MGM)

<400> 32

atgttccacg tgagcttcag gtacatcttc ggctgcccac ccctgaccc ggtgctgctg 60

ccctgtggcca gctccatggg gatggactgc gacatcgagg gaaaagacgg caagcagtac 120
gaaagcgtgc tgatggtgac catcgaccag ctgctggatt ctatgaagga gattgggagt 180
aactgcctga acaatgagtt caacttcttc aaacggcaca tttgtgatgc caacaaggag 240
ggaatgttcc tgttcgggac cgctagaaaa ctgaggcagt tcctgaagat gaacagcacc 300
ggagactttg atctgcatct gctgaaagtg tctgaggga ccacaatcct gctgaactgc 360
actgggcagg tgaaggaag gaagcctgcc gctctgggag aggcctagcc aaccaagtca 420
ctggaggaaa acaaaagcct gaaggaacag aagaactga atgacctgtg ctttctgaaa 480

cggtgctgc aggagatcaa aacatgttgg aacaagattc tgatgggcac caaggagcac 540

<210> 33

<211> 540

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(DDD)

<400> 33

atgttccacg tgagcttcag atacatcttc ggctgcccc ccctgaccc ggtgctgctg 60
cccgtggcca gcagcgacga tgacgactgc gacatcgagg gcaaggacgg caagcagtac 120
gagagcgtgc tgatggtgag catcgaccag ctgctggaca gcatgaagga gatcggcagc 180

aactgcctga acaacgagtt caacttcttc aagagacaca tctgcgacgc caacaaggag 240

ggcatgttcc tgttcagagc cgccagaaag ctgagacagt tcctgaagat gaacagcacc 300

ggcgacttcg acctgcacct gctgaagggtg agcgagggca caaccatcct gctgaactgc 360

accggccagg tgaaggcgag aaagcccgcc gccctgggag aggccagacc caccaagagc 420

ctggaggaga acaagagcct gaaggagcag aagaagctga acgacctgtg cttcctgaag 480

agactgctgc aggagatcaa gacctgctgg aacaagatcc tgatgggcac caaggagcac 540

<210> 34

<211> 543

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MMM)

<400>

> 34

atgttccacg tgagcttcag atacatcttc ggctgcccc ccctgaccc ggtgctgctg 60

cccgtggcca gcagcatgat gatgatggac tgcgacatcg agggcaagga cggcaagcag 120

tacgagagcg tgctgatggt gagcatcgac cagctgctgg acagcatgaa ggagatcggc 180

agcaactgcc tgaacaacga gttcaacttc ttcaagagac acatctgcga cgccaacaag 240

gagggcgatg tctgttcag agccgccaga aagctgagac agttcctgaa gatgaacagc 300

accggcgact tcgacctgca cctgtgtaag gtgagcgagg gcacaacat cctgtgtaac 360

tgcaccggcc aggtgaaggg cagaaagccc gccgccttgg gcgaggccca gccaccaag 420

agcctggagg agaacaagag cctgaaggag cagaagaagc tgaacgacct gtgcttcctg 480

aagagactgc tgcaggagat caagacctgc tgaacaaga tcctgatggg caccaaggag 540

cac 543

<210> 35

<211> 1284

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(M) fused hyFc

<400> 35

atgttccacg tgagcttcag atacatcttc ggctgcccc ccctgaccc ggtgctgctg 60

cccgtggcca gcagcatgga ctgcgacatc gagggaagga acggaagca gtacgagagc 120

gtgctgatgg tgagcatcga ccagctgctg gacagcatga aggagatcgg cagcaactgc 180

ctgaacaacg agttcaactt cttcaagaga cacatctgcg acgccaacaa ggagggcatg 240
 ttctgttca gagccgccag aaagctgaga cagttcctga agatgaacag caccggcgac 300
 ttcgacctgc acctgctgaa ggtgagcgag ggacacaacca tctgctgaa ctgcaccggc 360
 caggtgaagg gcagaaagcc cgccgccctg ggcgaggccc agcccaccaa gagcctggag 420
 gagaacaaga gcctgaagga gcagaagaag ctgaacgacc tgtgtcttct gaagagactg 480
 ctgcaggaga tcaagacctg ctggaacaag atcctgatgg gcaccaagga gcacaggaac 540

acaggcagag gcggcgagga gaagaagaag gagaaggaga aggaggagca ggaggaaaga 600
 gagaccaaga ccccgagtg cccagccac acccagcccc tgggcgtgtt cctgttcct 660
 cccaagcccc aggacacct gatgatcagc agaaccctcg aggtgacctg cgtggctctg 720
 gatgtgagcc aggaagatcc cgaagtgcag ttcaactggt acgtggatgg cgtggaagtg 780
 cacaacgcca agaccaagcc cagagaagag cagttcaact ccacctacag agtgggtgagc 840
 gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtgtcc 900
 aacaaaggcc tgcccagctc catcgagaag accatcagca aagccaaagg ccagcccaga 960

gaaccccagg tgtacacct gcctcccagc caggaagaga tgaccaagaa ccaggtgtcc 1020
 ctgacctgcc tggtgaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggaaagcaac 1080
 ggccagcccc agaacaatta caagacaacc cctcccgtgc tggatagcga tggcagcttc 1140
 tttctgtaca gcagactgac cgtggacaag agcagatggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1200
 tgcagcgtga tgcacgaagc cctgcacaac cactacaccc agaagagcct gtccctgagc 1260
 ctgggcaagt gactcgagtc taga 1284

<210> 36

<211> 1272

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MM) fused hyFc

<400> 36

atgttcacg tgagcttcag atacatcttc ggctgcccc ccctgacatc ggtgctgctg 60
 cccgtggcca gcagcatgat ggactgagc atcgagggca aggacggcaa gcagtacgag 120
 agcgtgctga tggtagcat cgaccagctg ctggacagca tgaaggagat cggcagcaac 180
 tgcctgaaca acgagttcaa cttcttcaag agacacatct gcgacgcaa caaggagggc 240
 atgttctgt tcaagccgc cagaaagctg agacagtcc tgaagatgaa cagcaccggc 300
 gacttcgacc tgcacctgct gaaggtgagc gagggcacia ccatcctgct gaactgcacc 360

ggccaggtga agggcagaaa gcccgccgcc ctgggcgagg cccagcccac caagagcctg 420
gaggagaaca agagcctgaa ggagcagaag aagctgaacg acctgtgctt cctgaagaga 480
ctgctgcagg agatcaagac ctgctggaac aagatcctga tgggcaccaa ggagcacagg 540
aacacaggca gaggcggcga ggagaagaag aaggagaagg agaaggagga gcaggaggaa 600
agagagacca agacccccga gtgccccagc cacaccagc ccctgggcgt gttcctgttc 660
cctcccaagc ccaaggacac cctgatgatc agcagaaccc ccgaggtgac ctgcgtggtc 720
gtggatgtga gccaggaaga tcccgaagtg cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggaa 780

gtgcacaacg ccaagaccaa gcccagagaa gagcagttca actccaccta cagagtgggtg 840
agcgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggtg 900
tccaacaaag gcctgcccag ctccatcgag aagaccatca gcaaagccaa aggccagccc 960
agagaacccc aggtgtacac cctgcctccc agccaggaag agatgaccaa gaaccagggtg 1020
tcctgacct gcctgggtgaa aggcttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggaaagc 1080
aacggccagc ccgagaacaa ttacaagaca acccctcccg tgctggatag cgatggcagc 1140
ttctttctgt acagcagact gaccgtggac aagagcagat ggaggaagg caacgtgttc 1200

agctgcagcg tgatgcacga agccctgcac aaccactaca cccagaagag cctgtccctg 1260
agcctgggca ag 1272

<210> 37

<211> 1275

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MMM) fused hyFc

<400> 37

atgttccacg tgagcttcag atacatcttc ggccctgcccc cctgatcct ggtgctgctg 60
cccgtggcca gcagcatgat gatggactgc gacatcgagg gcaaggacgg caagcagtac 120
gagagcgtgc tgatggtgag catcgaccag ctgctggaca gcatgaagga gatcggcagc 180

aactgcctga acaacgagtt caacttcttc aagagacaca tctgcgacgc caacaaggag 240
ggcatgttcc tgttcagagc cgccagaaag ctgagacagt tctgaagat gaacagcacc 300
ggcgacttcg acctgcacct gctgaagggtg agcgagggca caaccatcct gctgaactgc 360
accggccagg tgaagggcag aaagcccgcc gcctgggcg agggccagcc caccaagagc 420
ctggaggaga acaagagcct gaaggagcag aagaagctga acgacctgtg cttcctgaag 480
agactgctgc aggagatcaa gacctgctgg aacaagatcc tgatgggcac caaggagcac 540

aggaacacag gcagaggcgg cgaggagaag aagaaggaga aggagaagga ggagcaggag 600

gaaagagaga ccaagacccc cgagtgtccc agccacaccc agcccctggg cgtgttcctg 660

ttccctccca agcccaagga caccctgatg atcagcagaa cccccgaggt gacctgcgtg 720

gtcgtggatg tgagccagga agatcccga gtgcagttca actggtacgt ggatggcgtg 780

gaagtgcaca acgccaagca caagcccaga gaagagcagt tcaactccac ctacagagtg 840

gtgagcgtgc tgaccgtgct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtcaag 900

gtgtccaaca aaggcctgcc cagctccatc gagaagacca tcagcaaagc caaaggccag 960

cccagagaac ccaggtgta caccctgcct ccagccagg aagagatgac caagaaccag 1020

gtgtccctga ccgtccctgt gaaaggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggaa 1080

agcaacggcc agcccagaa caattacaag acaaccctc ccgtgctgga tagcgatggc 1140

agcttctttc tgtacagcag actgaccgtg gacaagagca gatggcagga aggcaacgtg 1200

ttcagctgca gcgtgatgca cgaagccctg cacaaccact acaccagaa gacccgtgcc 1260

ctgagcctgg gcaag 1275

<210> 38

<211> 1275

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MGM) fused hyFc

<400> 38

atgttccacg tgagcttcag gtacatcttc ggctgtccac ccctgacatc ggtgctgctg 60

cctgtggcca gctccatggg gatggactgc gacatcgagg gaaaagacgg caagcagtac 120

gaaagcgtgc tgatggtgtc catcgaccag ctgctggatt ctatgaagga gattgggagt 180

aactgcctga acaatgagtt caacttcttc aaacggcaca tttgtgatgc caacaaggag 240

ggaatgttcc tgtttcgggc cgctagaaaa ctgaggcagt tcctgaagat gaacagcacc 300

ggagactttg atctgcatct gctgaaagtg tctgagggca ccacaatcct gctgaactgc 360

actgggcagg tgaaaggaag gaagcctgcc gctctgggag aggctcagcc aaccaagtca 420

ctggaggaaa acaaaagcct gaaggaacag aaaaaactga atgacctgtg ctttctgaaa 480

cggctgctgc aggagatcaa aacatgttgg aacaagattc tgatgggcac aaaggaacac 540

cgcaatactg ggcggggcgg ggaggaaaag aaaaaggaga aggaaaagga ggaacaggag 600

gaaagagaga ctaagacccc agaatgtccc agccatactc agcccctggg ggtgttcctg 660

tttcccccta aacctagga taccctgatg atcagcagga cccccgaggt gacctgcgtg 720

gtcgtggatg tgagccagga agatcccgaa gtgcagttca actggtacgt ggatggcgtg 780
gaagtgcaca acgccaagac caagcccaga gaagagcagt tcaactccac ctacagagtg 840

gtgagcgtgc tgaccgtgct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtcaag 900
gtgtccaaca aaggcctgcc cagctccatc gagaagacca tcagcaaagc caaaggccag 960
cccagagaac cccaggtgta caccctgcct cccagccagg aagagatgac caagaaccag 1020
gtgtccctga cctgcctggt gaaaggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggaa 1080
agcaacggcc agcccagaaa caattacaag acaaccctc cctgctgga tagcgatggc 1140
agcttctttc tgtacagcag actgaccgtg gacaagagca gatggcagga aggcaacgtg 1200
ttcagctgca gcgtgatgca cgaagccctg cacaaccact acaccagaa gaggcctgtcc 1260

ctgagcctgg gcaag 1275

<210> 39

<211> 1278

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence of modified IL-7(MMMM) fused hyFc

<400> 39

atgttccacg tgagcttcag atacatcttc ggctgcccc cctgatcct ggtgctgctg 60
cccgtggcca gcagcatgat gatgatggac tgcgacatcg agggcaagga cggcaagcag 120
tacgagagcg tgctgatggt gagcatcgac cagctgctgg acagcatgaa ggagatcggc 180
agcaactgcc tgaacaacga gttcaacttc ttcaagagac acatctgcga cgccaacaag 240

gagggcatgt tcctgttcag agccgccaga aagctgagac agttcctgaa gatgaacagc 300
accggcgact tcgacctgca cctgctgaag gtgagcgagg gcacaacat cctgctgaac 360
tgaccgggcc aggtgaaggg cagaaagccc gccgccctgg gcgaggccca gccaccaag 420
agcctggagg agaacaagag cctgaaggag cagaagaagc tgaacgacct gtgcttcctg 480
aagagactgc tgcaggagat caagacctgc tggaacaaga tcctgatggg caccaaggag 540
cacaggaaca caggcagagg cggcgaggag aagaagaagg agaaggagaa ggaggagcag 600
gaggaaagag agaccaagac ccccgagtgc cccagccaca cccagcccct gggcgtgttc 660

ctgttcctc ccaagcccaa ggacacctg atgatcagca gaacccccga ggtgacctgc 720
gtggtcgtgg atgtgagcca ggaagatccc gaagtgcagt tcaactgta cgtggatggc 780
gtggaagtgc aacagccaa gaccaagccc agagaagagc agttcaactc cacctacaga 840
gtggtgagcg tgctgacctg gctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 900

aaggtgtcca acaaaggcct gccagctcc atcgagaaga ccatcagcaa agccaaaggc 960
 cagcccagag aaccccaggt gtacaccctg cctcccagcc aggaagagat gaccaagaac 1020
 caggtgtccc tgacctgcct ggtgaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1080

gaaagcaacg gccagcccgga gaacaattac aagacaaccc ctcccgtgct ggatagcgat 1140
 ggcagcttct ttctgtacag cagactgacc gtggacaaga gcagatggca ggaaggcaac 1200
 gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaagcc ctgcacaacc actacacca gaagagcctg 1260
 tccctgagcc tgggcaag 1278

<210> 40

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligopeptide

<400> 40

Met Met Met Met

1