(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0082387
(43) 공개일자 2024년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7014273
(22) 출원일자(국제) 2022년10월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월29일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/077749
(87) 국제공개번호 WO 2023/057535
국제공개일자 2023년04월13일
(30) 우선권주장
63/253,106 2021년10월06일 미국(US)
63/257,901 2021년10월20일 미국(US)

전체 청구항 수 : 총 101 항

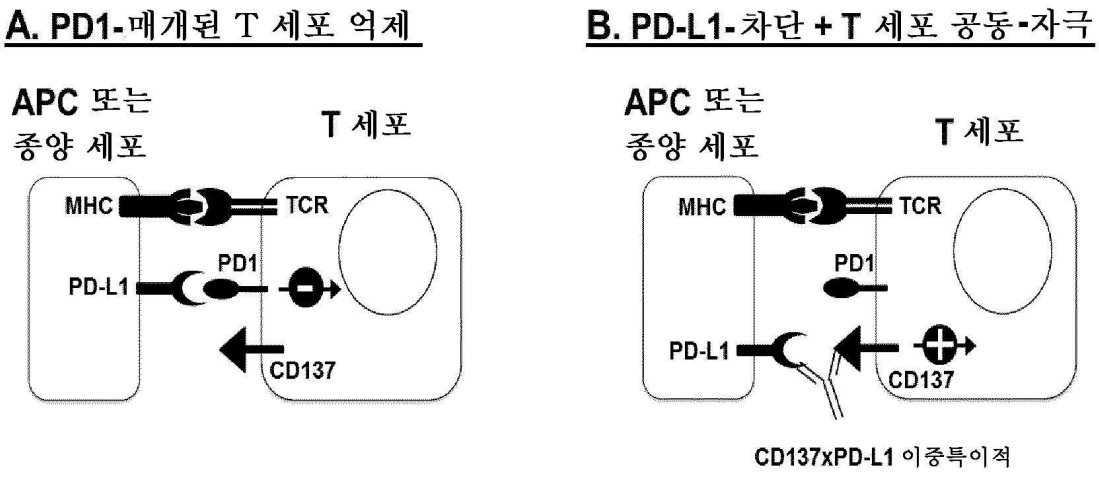
(71) 출원인
젠맵 에이/에스
덴마크 2500 발뷔 칼 야콥센 바이 30
엠에스디 인터내셔널 비즈니스 게엠베하
스위스 6005 루체른 트립셴슈트라쎄 60
비온테크 에스이
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12
(72) 발명자
무이크, 알렉산더
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 씨/오
뉘름베르거, 크리스티나
독일 55131 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 씨/오
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

(54) 발명의 명칭 **암을 치료하기 위한 항 PD-1 항체와 조합된 PD-L1 및 CD137에 대한 다중특이적 결합제**

(57) 요 약

본 개시내용은 인간 PD-L1 및 인간 CD137에 결합하는 결합제를 펨브롤리주맙과 조합하여 사용하여 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 조합 요법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자
펜체바, 노라
네덜란드 3584 씨티 유트레흐트 웝살라란 15 젠맵 비.브이. 씨/오
주르-쿤켈, 마리아,엔,
미국 08536 플레인스보로 스쿠더스 밀 로드 777 젠맵 인크 씨/오
사힌, 우구르
독일 55116 마인츠 안 데어 골트그루베 12 비온테크 에스이 씨/오

명 세 서

청구범위

청구항 1

대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 결합제로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 프로그램화된 사멸-1 (PD-1)에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며,

여기서

결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고;

a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나; 또는 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

결합제.

청구항 2

제1항에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 서열식별번호: 49의 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 서열식별번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 결합제.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1에 결합하는 항체가 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, PD-L1이 인간 PD-L1, 특히 서열식별번호: 40에 제시된 서열을 포함하는 인간 PD-L1이고/거나 CD137이 인간 CD137, 특히 서열식별번호: 38에 제시된 서열을 포함하는 인간 CD137인 결합제.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

결합제의 제1 결합 영역이 서열식별번호: 1 또는 9에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

결합제의 제2 결합 영역이 서열식별번호: 11에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 25 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 제1 결합 영역이 서열식별번호: 1 또는 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 제2 결합 영역이 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

a) 결합제의 제1 결합 영역이 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하고;

b) 결합제의 제2 결합 영역이 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인

결합제.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 다중특이적 항체, 예컨대 이중특이적 항체인 결합제.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 전장 항체 또는 항체 단편의 포맷인 결합제.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 가변 영역이 3개의 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3) 및 4개의 프레임워크 영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4)을 포함하는 것인 결합제.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 상보성 결정 영역 및 상기 프레임워크 영역이 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4로 배열되는 것인 결합제.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

i) 상기 제1 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제1 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 폴리펩티드, 및

ii) 상기 제2 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 폴리펩티드

를 포함하는 결합제.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

i) 상기 제1 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함하는 폴리펩티드, 및

ii) 상기 제2 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고 제2 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함하는 폴리펩티드

를 포함하는 결합제.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제가 제1 결합 아암 및 제2 결합 아암을 포함하는 항체이며, 여기서

제1 결합 아암은

i) 상기 제1 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제1 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

ii) 상기 제1 경쇄 가변 영역 (VL) 및 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 폴리펩티드

를 포함하고;

제2 결합 아암은

iii) 상기 제2 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

iv) 상기 제2 경쇄 가변 영역 (VL) 및 제2 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 폴리펩티드

를 포함하는 것인 결합제.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서,

i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄, 및

ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄

를 포함하는 결합제.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄이며, 제1 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 제1 경쇄 불변 영역을 포함하는 제1 경쇄; 및

ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄이며, 제2 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 제2 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 경쇄

를 포함하는 결합제.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 불변 중쇄 1 (CH1) 영역, 힌지 영역, 불변 중쇄 2 (CH2) 영역 및 불변 중쇄 3 (CH3) 영역 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 힌지

영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 것인 결합제.

청구항 22

제16항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 CH3 영역을 포함하며, 여기서 2개의 CH3 영역은 비대칭 돌연변이를 포함하는 것인 결합제.

청구항 23

제16항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)에서 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 T366, L368, K370, D399, F405, Y407 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에 상응하는 위치에서의 아미노산 중 적어도 1개가 치환되었고, 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)에서 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 T366, L368, K370, D399, F405, Y407 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에 상응하는 위치에서의 아미노산 중 적어도 1개가 치환되었고, 여기서 상기 제1 및 상기 제2 중쇄는 동일한 위치에서 치환되지 않는 것인 결합제.

청구항 24

제23항에 있어서, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)에서 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)에서 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제1 중쇄에서 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제2 중쇄에서 L인 결합제.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 동일한 제1 및 제2 항원 결합 영역 및 인간 IgG1 힌지, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 2개의 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 또 다른 항체와 비교하여 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도하는 결합제.

청구항 26

제25항에 있어서, 항체가 비-변형된 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 것을 제외하고는 동일한 항체와 비교하여 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도하도록 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 변형된 것인 결합제.

청구항 27

제26항에 있어서, 각각의 상기 비-변형된 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 서열식별번호: 19 또는 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 결합제.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 Fc-매개된 이펙터 기능이 Fcɣ 수용체에 대한 결합, C1q에 대한 결합 또는 Fcɣ 수용체의 Fe-매개된 가교의 유도에 의해 측정되는 것인 결합제.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 Fc-매개된 이펙터 기능이 C1q에 대한 결합에 의해 측정되는 것인 결합제.

청구항 30

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체에 대한 C1q의 결합이 야생형 항체와 비교하여 감소되도록, 바람직하게는 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100%만큼 감소되도록 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역이 변형되었으며, 여기서 C1q 결합은 바람직하게는 ELISA에 의해 결정되는 것인 결합제.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH) 중 적어도 하나에서, EU 넘

버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235, D265, N297 및 P331에 상응하는 위치에서의 1개 이상의 아미노산이 각각 L, L, D, N 및 P가 아닌 것인 결합제.

청구항 32

제31항에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234 및 L235에 상응하는 위치가 상기 제1 및 제2 중쇄에서 각각 F 및 E인 결합제.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235 및 D265에 상응하는 위치가 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (HC)에서 각각 F, E 및 A인 결합제.

청구항 34

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234 및 L235에 상응하는 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 둘 다의 위치가 각각 F 및 E이고, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치가 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제2 중쇄의 위치가 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치가 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제2 중쇄의 위치가 L인 결합제.

청구항 35

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235 및 D265에 상응하는 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 둘 다의 위치가 각각 F, E 및 A이고, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치가 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제2 중쇄 불변 영역의 위치가 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제1 중쇄의 위치가 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제2 중쇄의 위치가 L인 결합제.

청구항 36

제16항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄의 불변 영역이

a) 서열식별번호: 19 또는 25에 제시된 서열 [IgG1-FC];

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

청구항 37

제16항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 또는 제2 중쇄, 예컨대 제2 중쇄의 불변 영역이

a) 서열식별번호: 20 또는 26에 제시된 서열 [IgG1-F405L];

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 9개의 치환, 예컨대 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

청구항 38

제16항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 또는 제2 중쇄, 예컨대 제1 중쇄의 불변 영역이

a) 서열식별번호: 21 또는 27에 제시된 서열 [IgG1-K409R];

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

청구항 39

제16항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄의 불변 영역이

a) 서열식별번호: 22 또는 28에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEA];

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 7개의 치환, 예컨대 최대 6개의 치환, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

청구항 40

제16항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄, 예컨대 제2 중쇄의 불변 영역이

a) 서열식별번호: 24 또는 30에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEAL];

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 6개의 치환, 예컨대 최대 5개의 치환, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

청구항 41

제16항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄, 예컨대 제1 중쇄의 불변 영역이

a) 서열식별번호: 23 또는 29에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEAR];

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 6개의 치환, 예컨대 최대 5개의 치환, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 카파 (κ) 경쇄 불변 영역을 포함하는 결합제.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 람다 (λ) 경쇄 불변 영역을 포함하는 결합제.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 경쇄 불변 영역이 카파 (κ) 경쇄 불변 영역 또는 람다 (λ) 경쇄 불변 영역인 결합제.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 경쇄 불변 영역이 람다 (λ) 경쇄 불변 영역 또는 카파 (κ) 경쇄 불변 영역인 결합제.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 경쇄 불변 영역이 카파 (κ) 경쇄 불변 영역이고, 상기 제2 경쇄 불변 영역이 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이거나, 또는 상기 제1 경쇄 불변 영역이 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이고, 상기 제2 경쇄 불변 영역이 카파 (κ) 경쇄 불변 영역인 결합제.

청구항 47

제42항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 카파 (κ) 경쇄가

a) 서열식별번호: 35에 제시된 서열,

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 결합제.

청구항 48

제43항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 람다 (λ) 경쇄가

a) 서열식별번호: 36에 제시된 서열,

b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 결합제.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된 이소형의 결합제.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 전장 IgG1 항체인 결합제.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1m(f) 동종이형의 항체인 결합제.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서,

i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄이며, 서열식별번호: 31에 제시된

서열을 포함하는 제1 중쇄 및 서열식별번호: 32에 제시된 서열을 포함하는 제1 경쇄;

ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄이며, 서열식별번호: 33에 제시된 서열을 포함하는 제2 중쇄 및 서열식별번호: 34에 제시된 서열을 포함하는 제2 경쇄

를 포함하는 결합제.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제.

청구항 54

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 히스티딘, 수크로스 및 폴리소르베이트-80을 포함하고 5 내지 6의 pH를 갖는 조성물 또는 제제 중에 존재하는 결합제.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 약 20 mM 히스티딘, 약 250 mM 수크로스, 약 0.02% 폴리소르베이트-80을 포함하고 약 5.5의 pH를 갖는 조성물 또는 제제 중에 존재하는 결합제.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 10-30 mg 결합제/mL, 예컨대 20 mg 결합제/mL를 포함하는 조성물 또는 제제 중에 존재하는 결합제.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 제54항 내지 제56항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 조성물 중에 존재하고, 투여 전에 0.9% NaCl (염수) 중에 희석되는 결합제.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 인간 대상체인 결합제.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 고형 종양 또는 암인 결합제.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 PD-L1 양성 종양인 결합제.

청구항 61

제1항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 흑색종, 난소암, 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 (NSCLC)), 결장직장암, 두경부암, 위암, 유방암, 신암, 요로상피암, 방광암, 식도암, 췌장암, 간암, 흉선종 및 흉선 암종, 뇌암, 신경교종, 부신피질 암종, 갑상선암, 다른 피부암, 육종, 다발성 골수종, 백혈병, 림프종, 골수이형성 증후군, 자궁내막암, 전립선암, 음경암, 자궁경부암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 메르켈 세포 암종 및 중피종으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 결합제.

청구항 62

제1항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 (NSCLC)), 요로상피암 (방광암, 요관암, 요도암 또는 신우암), 자궁내막암 (EC), 유방암 (예를 들어, 삼중 음성 유방암 (TNBC)) 및 두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) (예를 들어, 구강암, 인두암 또는 후두암)으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 결합제.

청구항 63

제61항 또는 제62항에 있어서, 종양 또는 암이 폐암, 특히 비소세포 폐암 (NSCLC), 예컨대 편평 또는 비-편평

NSCLC인 결합제.

청구항 64

제61항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 전이성, 예컨대 전이성 NSCLC인 결합제.

청구항 65

제61항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 표피 성장 인자 (EGFR)-감작 돌연변이 및/또는 역형성 림프종 (ALK) 전위 / ROS1 재배열을 갖지 않는 것인 결합제.

청구항 66

제61항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 암 세포를 포함하고, PD-L1이, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 암 세포 또는 종양 세포의 ≥1%에서 발현되는 것인 결합제.

청구항 67

제66항에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 암 세포를 포함하고, PD-L1이, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 암 세포 또는 종양 세포의 1% 내지 49%에서 발현되는 것인 결합제.

청구항 68

제66항에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 암 세포를 포함하고, PD-L1이, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 암 세포 또는 종양 세포의 ≥50%에서 발현되는 것인 결합제.

청구항 69

제1항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 전이성 질환의 선행 전신 치료를 받지 않은 것인 결합제.

청구항 70

제1항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 체크포인트 억제제; 예를 들어 PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 선행 치료를 받지 않은 것인 결합제.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 4-1BB (CD137) 표적화제, 예컨대 항-4-1BB (CD137) 항체, 항종양 백신 또는 자가 세포 면역요법을 사용한 선행 치료를 받지 않은 것인 결합제.

청구항 72

제1항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 치료, 예컨대 체크포인트 억제제를 사용한 전신 치료 후에 재발되었고/거나 불응성인 결합제.

청구항 73

제1항 내지 제68항 및 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 적어도 1차의 선행 전신 요법, 예컨대 PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 포함하는 전신 요법을 받은 것인 결합제.

청구항 74

제1항 내지 제68항, 제72항 및 제73항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료 후에 암 또는 종양이 재발되었고/거나 불응성이거나 또는 대상체가 진행되었으며, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제는 단독요법으로서 또는 조합 요법의 일부로서 투여된 것인 결합제.

청구항 75

제1항 내지 제68항 및 제72항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 마지막 선행 치료가 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용하였으며, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제는 단독요법

으로서 또는 조합 요법의 일부로서 투여된 것인 결합제.

청구항 76

제1항 내지 제68항 및 제72항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 마지막 치료 시 진행으로부터의 시간이 8개월 이하, 예컨대 7개월 이하, 6개월 이하, 5개월 이하, 4개월 이하, 3개월 이하, 2개월 이하, 1개월 이하, 3주 이하 또는 예컨대 2주 이하인 결합제.

청구항 77

제1항 내지 제68항 및 제72항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 마지막 선행 치료의 일부로서의 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체의 마지막 투여로부터의 시간이 8개월 이하, 예컨대 7개월 이하, 6개월 이하, 5개월 이하, 4개월 이하, 3개월 이하, 2개월 이하, 1개월 이하, 3주 이하 또는 예컨대 2주 이하인 결합제.

청구항 78

제1항 내지 제68항 및 제72항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서,

i) 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료 후 백금 이중 화학요법, 또는

ii) 백금 이중 화학요법 후 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료

동안 또는 그 후에, 암 또는 종양이 재발되었고/거나 불응성이거나 또는 대상체가 진행된 것인 결합제.

청구항 79

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 탁산 화학요법제, 예를 들어 도세탁셀을 사용한 선행 치료, 예컨대 탁산 화학요법제, 예를 들어 도세탁셀을 사용한 NSCLC의 선행 치료를 받지 않은 것인 결합제.

청구항 80

제1항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 적어도 1회의 치료 주기로 투여되며, 각각의 치료 주기는 3주 (21일) 또는 6주 (42일)인 결합제.

청구항 81

제1항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량이 3주마다 (1Q3W) 투여되는 것인 결합제.

청구항 82

제1항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량이 6주마다 (1Q6W) 투여되는 것인 결합제.

청구항 83

제1항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량이 각각의 치료 주기의 제1일에 투여되는 것인 결합제.

청구항 84

제1항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 상기 결합제의 양이 100 mg인 결합제.

청구항 85

제1항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는, PD-1에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양이 200 mg인 결합제.

청구항 86

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는, PD-1에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양이 400 mg인 결합제.

청구항 87

제1항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 100 mg 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 200 mg 용량이 3주마다 (1Q3W) 투여되는 것인 결합제.

청구항 88

제1항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 결합제의 100 mg 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 400 mg 용량이 6주마다 (1Q6W) 투여되는 것인 결합제.

청구항 89

제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 NSCLC이고; 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨볼리주맙인 PD-1에 결합하는 항체의 200 mg 용량이 3주마다 (1Q3W), 예컨대 각각의 3주 치료 주기의 제1일에 투여되는 것인 결합제.

청구항 90

제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 또는 암이 NSCLC이고; 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨볼리주맙인 PD-1에 결합하는 항체의 400 mg 용량이 6주마다 (1Q6W), 예컨대 매 6주 치료 주기의 제1일에 투여되는 것인 결합제.

청구항 91

제1항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 먼저 투여되고, 이어서 결합제가 투여되는 것인 결합제.

청구항 92

제1항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 최소 30분에 걸쳐, 예컨대 최소 60분에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여되는 결합제.

청구항 93

제1항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 30분에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여되는 결합제.

청구항 94

제1항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1 억제제가 30분에 걸쳐 정맥내 주입으로서 투여되는 것인 결합제.

청구항 95

키트로서,

(i) CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하는 결합제이며, 여기서

a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

결합제, 및

(ii) PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이며, 여기서 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편

을 포함하는 키트.

청구항 96

제95항에 있어서, 결합제 및/또는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 제1항 내지 제94항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 것인 키트.

청구항 97

제95항 또는 제96항에 있어서, 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 전신 투여, 특히 주사 또는 주입, 예컨대 정맥내 주사 또는 주입을 위한 것인 키트.

청구항 98

제95항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 키트.

청구항 99

제98항에 있어서, 종양 또는 암 및/또는 대상체 및/또는 방법이 제1항 내지 제94항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 것인 키트.

청구항 100

대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며,

여기서 결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고,

c) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

d) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

여기서 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

방법.

청구항 101

제100항에 있어서, 종양 또는 암 및/또는 대상체 및/또는 방법 및/또는 결합제 및/또는 PD-1 억제제가 제1항 내지 제94항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인간 PD-L1 및 인간 CD137에 결합하는 결합제를 펨브롤리주맙과 조합하여 사용하여 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 조합 요법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] CD137 (4-1BB)은 TNFR 패밀리의 구성원이고, $CD8^+$ 및 CD4+ T 세포, 조절 T 세포 (Treg), 자연 킬러 T 세포 (NK(T) 세포), B 세포 및 호중구 상의 공동-자극 분자이다. T 세포 상에서, CD137은 구성적으로 발현되지 않지만, T-세포 수용체 (TCR) 활성화 시에 (예를 들어, 종양 침윤 림프구 (TIL) 상에서 (Gros et al., J. Clin Invest 2014;124(5):2246-59)) 유도된다. 그의 천연 리간드 4-1BBL 또는 효능제 항체를 통한 자극은 어댑터로서 TRAF-2 및 TRAF-1을 사용하는 신호전달로 이어진다. CD137에 의한 초기 신호전달은 K-63 폴리-유비퀴틴화 반응을 수반하며, 이는 궁극적으로 핵 인자 (NF)-κB 및 미토겐-활성화 단백질 (MAP)-키나제 경로의 활성화를 유발한다. 신호전달은 증가된 T 세포 공동-자극, 증식, 시토카인 생산, 성숙 및 연장된 CD8+ T-세포 생존으로 이어진다. CD137에 대한 효능작용 항체는 다양한 전임상 모델에서 T 세포에 의한 항종양 제어를 촉진하는 것으로 제시되었다 (Murillo et al., Clin Cancer Res 2008;14(21):6895-906). CD137을 자극하는 항체는 T 세포의 생존 및 증식을 유도하여, 항종양 면역 반응을 증진시킬 수 있다. CD137을 자극하는 항체는 선행 기술에 개시되었고, 인간 IgG4 항체인 우렐루맙 (AU 2004279877) 및 인간 IgG2 항체인 우토밀루맙 (Fisher et al., 2012, Cancer Immunol. Immunother. 61: 1721-1733)을 포함한다.

[0003] 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1, PDL1, CD274, B7H1)은 33 kDa, 단일-통과 유형 I 막 단백질이다. 선택적 스플라이싱에 기초하여 PD-L1의 3종의 이소형이 기재되었다. PD-L1은 이뮤노글로불린 (Ig) 슈퍼패밀리에 속하고, 1개의 Ig-유사 C2-유형 도메인 및 1개의 Ig-유사 V-유형 도메인을 함유한다. 새로 단리된 T 및 B 세포는 무시할만한 양의 PD-L1을 발현하고, 소정 분율 (약 16%)의 $CD14^+$ 단핵구는 PD-L1을 구성적으로 발현한다. 그러나, 인터페론-γ (IFNγ)는 종양 세포 상의 PD-L1을 상향조절하는 것으로 공지되어 있다.

[0004] PD-L1은 1) 활성화된 T 세포 상의 그의 수용체인 프로그램화된 세포 사멸 단백질 1 (PD-1) (CD279)에 결합하여 종양-반응성 T 세포를 관용화하고; 2) 종양 세포-발현된 PD-L1을 통한 PD-1 신호전달에 의해 종양 세포를 $CD8^+$ T 세포 및 Fas 리간드-매개된 용해에 대해 저항성을 갖도록 하고; 3) T 세포-발현된 CD80 (B7.1)을 통한 역 신호전달에 의해 T 세포를 관용화하고; 4) 유도된 T 조절 세포의 발생 및 유지를 촉진함으로써 항종양 면역을 방해한다. PD-L1은 흑색종, 난소암, 폐암 및 결장암을 포함한 많은 인간 암에서 발현된다 (Latchman et al., 2004 Proc Natl Acad Sci USA 101, 10691-6).

[0005] PD-L1 차단 항체는 PD-L1을 과다발현하는 것으로 공지된 여러 암 (흑색종, NSCLC 포함)에서 임상 활성을 나타냈다. 예를 들어, 아테졸리주맙은 PD-L1에 대한 인간화 IgG1 모노클로날 항체이다. 이는 현재 다양한 유형의 고형 종양을 포함한 여러 적응증에 대한 면역요법으로서 임상 시험 중이고 (예를 들어, 문헌 [Rittmeyer et al., 2017 Lancet 389:255-265] 참조), 비소세포 폐암 및 방광암 적응증에 대해 승인되어 있다. PD-L1 항체인 아벨루맙 (Kaufman et al. Lancet Oncol. 2016;17(10):1374-1385)은 전이성 메르켈 세포 암종을 갖는 성인 및 12세 이상의 소아 환자의 치료를 위해 FDA에 의해 승인되었고, 현재 방광암, 위암, 두경부암, 중피종, NSCLC, 난소암 및 신암을 포함한 여러 암 적응증에서 임상 시험 중이다. PD-L1 항체인 두르발루맙은 국부 진행성 또는 전이성 요로상피 암종 적응증에 대해 승인되어 있고, 다수의 고형 종양 및 혈액 암에서 임상 개발 중이다 (예를 들어, 문헌 [Massard et al., 2016 J Clin Oncol. 34(26):3119-25] 참조). 추가의 항-PD-L1 항체는, 예를 들어 WO2004004771에 기재되었다.

[0006] 문헌 [Horton et al. (J Immunother Cancer. 2015; 3(Suppl 2): O10)]은 효능작용 4-1BB 항체와 중화 PD-L1 항체의 조합을 개시한다. WO 2019/025545는 인간 PD-L1에 결합하고 인간 CD137에 결합하는 결합제, 예컨대 이중특이적 항체를 제공한다.

[0007] 그러나, 관련 기술분야에서의 이들 진보에도 불구하고, 종양의 진행을 예방하거나 암을 치료하기 위한 개선된 요법에 대한 상당한 필요가 존재한다.

발명의 내용

[0008] 본 발명자들은 놀랍게도 (i) 인간 PD-L1에 결합하고 인간 CD137에 결합하는 결합제로의 자극 및 (ii) 프로그램

화된 사멸-1 (PD-1)에 결합하는 항체의 조합이 면역 반응을 증폭시킨다는 것을 발견하였다.

[0009] 따라서, 제1 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 결합제로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 프로그램화된 사멸-1 (PD-1)에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고;

[0010] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호(SEQ ID NO): 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0011] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0012] 여기서 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0013] 결합제를 제공한다.

[0014] 제2 측면에서, 본 개시내용은 키트로서,

[0015] (i) CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하는 결합제이며, 여기서

[0016] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0017] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0018] 결합제, 및

[0019] (ii) PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이며, 여기서 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0020] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편

[0021] 을 포함하는 키트를 제공한다.

[0022] 제3 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 제2 측면의 키트를 제공한다.

[0023] 제4 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에, CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하는 결합제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서

[0024] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0025] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변

영역 (VL)을 포함하고;

[0026] 여기서 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0027] 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 CD137xPD-L1 이중특이적 항체의 예상되는 작용 방식의 개략적 표현을 보여준다. (A) PD-L1은 항원-제시 세포 (APC)뿐만 아니라 종양 세포 상에서 발현된다. 음성 조절 분자 PD-1을 발현하는 T 세포에 대한 PD-L1 결합은 T 세포 활성화 신호를 효과적으로 중단시켜 결국 T 세포 억제로 이어진다. (B) CD137xPD-L1 이중특이적 항체의 첨가 시에, 억제 PD-1:PD-L1 상호작용은 PD-L1-특이적 아암을 통해 차단되고, 동시에 이중특이적 항체는 세포-세포 상호작용을 통해 T 세포 상에서 발현된 CD137에 효능작용 신호전달을 제공하여 강한 T 세포 공동자극을 유발한다.

도 2는 LPS-성숙 mDC 및 정제된 CD8+ T-세포의 MLR 검정에서 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046에 의해 유도된 IL-2 생산을 보여준다. 정제된 CD8+ T 세포를 동종 mDC와 함께 GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL), 펨브롤리주맙 (0.01 - 100 μg/mL) 단독 또는 조합, 대조군 항체의 존재 하에 또는 임의의 항체 부재 (Tx 없음) 하에 5일 동안 공동-배양하였다. IL-2 분비를 루미넥스(Luminex)에 의해 분석하였다. 제시된 데이터는 이중 웰의 평균 IL-2 ± SD이다. 각각의 개별 그래프는 3개의 공여자 쌍 중 하나를 나타낸다.

도 3은 LPS-성숙 수지상 세포 (mDC) 및 정제된 CD8+ T 세포의 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046에 의해 유도된 IFNγ 생산을 보여준다. 정제된 CD8+ T 세포를 동종 mDC와 함께 GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL), 펨브롤리주맙 (0.01 - 100 μg/mL) 단독 또는 조합, 대조군 항체의 존재 하에 또는 임의의 항체 부재 (Tx 없음) 하에 5일 동안 공동-배양하였다. IFNγ 분비를 ELISA에 의해 분석하였다. 제시된 데이터는 이중 웰의 평균 IFNγ ± 표준 편차 (SD)이다. 각각의 개별 그래프는 3개의 DC/T-세포 공여자 쌍 중 하나를 나타낸다.

도 4는 LPS-성숙 mDC 및 정제된 CD8+ T-세포의 MLR 검정에서 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046에 의해 유도된 TNFα 생산을 보여준다. 정제된 CD8+ T 세포를 동종 mDC와 함께 GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL), 펨브롤리주맙 (0.01 - 100 μg/mL) 단독 또는 조합, 대조군 항체의 존재 하에 또는 임의의 항체 부재 (Tx 없음) 하에 5일 동안 공동-배양하였다. TNFα 분비를 루미넥스에 의해 분석하였다. 제시된 데이터는 이중 웰의 평균 TNFα ± SD이다. 각각의 개별 그래프는 3개의 공여자 쌍 중 하나를 나타낸다.

도 5는 C57BL/6 마우스 내로의 1 x 10^6개 MC38 세포의 피하 접종에 의해 확립된 MC38 동계 종양 모델을 보여준다. 종양이 64 mm^3의 평균 부피에 도달하였을 때, 마우스를 무작위화하고, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg), 항-마우스 PD-1 항체 (항-mPD-1; 10 mg/kg) 단독 또는 조합, 또는 PBS로 처리하였다 (모두 2QWx3). A. 제시된 데이터는 처리군 (n=10)당 중앙 종양 부피이며, 종결 기준에 도달한 동물의 경우 데이터는 이월된 것이다. 성장 곡선은 처리군 내의 동물의 <50%가 살아 남아있을 때에 (PBS, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1) 또는 제35일까지에 (mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합) 중단되었다. 화살표는 처리일을 나타낸다. B. 종양 부피가 500 mm^3 미만인 마우스의 백분율로서 정의되는 무진행 생존은 카플란 마이어 곡선으로서 제시된다. 만텔 콕스 분석을 사용하여 제45일에 처리군 사이의 생존을 비교하였다 (표 Y).

도 6은 활성 PD1/PD-L1 축을 사용한 항원-특이적 T 세포 검정에서 GEN1046 (듀오바디(DuoBody)-PD-L1x4-1BB) 및 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙의 증식 용량-반응의 분석을 보여준다. 클라우딘-6-특이적 T-세포 수용체 (TCR)- 및 PD-1-시험관내 번역된 (IVT)-RNA로 전기천공된 카르복시플루오레세인 숙신이미딜 에스테르 (CFSE)-표지된 T 세포를 클라우딘-6-IVT-RNA-전기천공된 미성숙 수지상 세포와 함께 (A) GEN1046 (1 내지 0.00015 μg/mL의 3배 연속 희석물) 또는 (B) 펨브롤리주맙 (0.8 내지 0.00005 μg/mL의 4배 연속 희석물)의 존재 하에 5일 동안 인큐베이션하였다. CD8+ T 세포 증식을 유동 세포측정법에 의해 측정하였다. 제시된 데이터는 항체 농도의 함수로서 플로우조 소프트웨어 v10.7.1을 사용하여 계산된 확장 지수이다. 오차 막대 (SD)는 실험 내의 변동을 나타낸다 (하나의 대표적인 공여자로부터의 세포를 사용하여, (A)에서 n=3 반복; (B)에서 n=2 이중). 곡선을 4-파

라미터 로그 피트에 의해 피팅하고, EC_{50} 값 및 힐-기울기 (표 1 및 2에 제시됨)를 그래프패드 프리즘 소프트웨어 v9.0을 사용하여 결정하였다.

도 7은 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙의 부재 또는 존재 하에 GEN1046에 의한 PD-1/PD-L1-매개된 T 세포 억제의 해제 및 CD8+ T 세포 증식의 추가의 공동-자극을 보여준다. 클라우딘-6-특이적 TCR- 및 PD-1-시험관내 번역된 (IVT)-RNA로 전기천공된 CFSE-표지된 T 세포를 클라우딘-6-IVT-RNA-전기천공된 미성숙 수지상 세포와 함께 고정 농도의 0.8 μg/mL 펨브롤리주맙 또는 이소형 대조군 항체 IgG1-ctrl과 조합된 0.2 μg/mL, 0.0067 μg/mL 또는 0.0022 μg/mL GEN1046의 존재 하에 5일 동안 인큐베이션하였다 (n=3 개별 공여자로부터의 세포를 사용하여, 조건당 n=2 기술적 반복). 배지 단독, 0.8 μg/mL IgG1-ctrl 단독 및 0.8 μg/mL 펨브롤리주맙 단독을 사용하여 GEN1046의 부재 하에 기준선 증식을 결정하였다. CD8+ T 세포 증식을 유동 세포측정법에 의해 측정하였다. 막대 그래프는 플로우조 소프트웨어 v10.7.1을 사용하여 계산된 표시된 조건당 확장 지수의 평균±SD를 나타낸다. 파선은 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙의 존재 하에서의 기준선 증식을 나타낸다.

도 8은 악성 고형 종양을 갖는 대상체에서 GEN1046의 안전성을 평가하기 위한 확장 코호트를 사용한 최초 인간 대상의 오픈-라벨 용량 증량 시험의 개략적 표현이다.

도 9는 체크포인트 억제제를 사용한 선행 요법을 받은 대상체 (회색선) 및 체크포인트 억제제 나이브 환자 (흑색선)에서의 무진행 생존을 보여주는 폭포형 플롯이다.

도 10은 CPI-경험 확장 코호트 (GEN1046 단독요법)에 걸쳐 안정 질환 (SD) 또는 진행성 질환 (PD)을 갖는 대상체와 비교하여 임상 반응 (PR)을 갖는 대상체에서의 마지막 선행 항-PD-(L)1 이후 시간을 비교한다. 반응 군을 윌콕슨 검정을 사용하여 비교하였다. PR 대 PD: p=0.0017; PR 대 SD: p=0.034.

도 11은 통합 정량적 시스템 약리학 (QSP) 모델에서 펨브롤리주맙과 조합된 100 mg Q3W 또는 Q6W로서 주어진 GEN1046에 대한 예측된 부분 반응 (PR) 및 완전 반응 (CR) 비율을 보여준다.

도 12는 2 라운드의 CD3/CD28 자극 후 $CD3^+$ T 세포의 소진된 표현형의 특징화를 보여준다. (A) 시험관내 소진된 $CD3^+$ T 세포 또는 나이브 T 세포를 CD3/CD28 비드로 자극하였다. IFNγ의 분비를 ELISA에 의해 분석하였다. 제시된 데이터는 하나의 대표적인 공여자 쌍의 이중 웰의 평균 + 표준 편차 (SD)이다. (B) 나이브 및 시험관내 소진된 $CD3^+$ T 세포 상에서의 TIM3, LAG3, PD-1 및 4-1BB의 발현을 유동 세포측정법에 의해 결정하였다. 제시된 데이터는 배경 형광에 대해 보정된 중앙 형광 강도 (ΔMFI)이다. (C) 나이브 및 시험관내 소진된 $CD3^+$ T 세포 상에서의 Ki67의 발현을 유동 세포측정법에 의해 결정하였다.

도 13은 성숙 수지상 세포 (mDC) 및 시험관내 소진된 $CD3^+$ T 세포 (Tex)의 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046에 의해 유도된 IFNγ의 분비를 보여준다. Tex를 동종 LPS-성숙 DC와 함께 (1:4의 DC:T 세포 비로) GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL) 또는 펨브롤리주맙 (1 μg/mL) 단독 또는 조합의 존재 하에 5일 동안 공동-배양하였다. 항체 처리가 없거나 (항체 부재) 또는 bsIgG1-PD-L1xctrl (30 μg/mL), bsIgG1-ctrlx4-1BB (30 μg/mL), IgG4 이소형 대조군 (1 μg/mL) 또는 IgG1-ctrl-FEAL (30 μg/mL)로 처리된 공동-배양물을 대조군으로서 포함시켰다. IFNγ의 분비를 ELISA에 의해 분석하였다. 제시된 데이터는 시험된 4개의 공여자 쌍 중 하나의 대표적인 공여자 쌍의 이중 웰의 평균 + 표준 편차 (SD)이다.

도 14는 mDC 및 Tex의 MLR에서 GEN1046과 펨브롤리주맙의 조합에 대한 최고 단일 작용제 (HSA) 상승작용 점수를 보여준다. Tex를 동종 LPS-성숙 DC와 함께 (1:4의 DC:T 세포 비로) GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL) 또는 펨브롤리주맙 (1 μg/mL) 단독 또는 조합의 존재 하에 5일 동안 공동-배양하였다. 제시된 데이터는 시험된 4개의 공여자 쌍 (도 13에 제시된 바와 동일한 공여자) 중 하나의 대표적인 공여자 쌍의 HSA 상승작용 점수이다. 점수 >10은 이 모델에서 상승작용을 나타낸다.

도 15는 C57BL/6 마우스 내로 1 x 10^6개 MC38 세포를 SC 접종하여 확립된 MC38 결장암 모델을 보여준다. 종양이 60 mm^3의 평균 부피에 도달하였을 때, 마우스를 무작위화하고, 표시된 항체 또는 그의 조합으로 처리하였다 (모두 2QWx3). A. 제시된 데이터는 처리군 (n=10)당 중앙 종양 부피이며, 종결 기준에 도달한 동물의 경우 데이터는 이월된 것이다. 성장 곡선은 처리군 내의 동물의 <50%가 살아 남아있을 때에 (mIgG2a-ctrl-AAKR, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-마우스 PD-1 항체 [항-mPD-1]) 또는 제60일까지에 (mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합) 중단되었다. 하향 삼각형은 처리일을 나타낸다. B. 종양 부피가 500 mm^3 미만인 마우스의 백분율

로서 정의되는 무진행 생존은 카플란 마이어 곡선으로서 제시된다. 만텔 콕스 분석을 사용하여 제69일에 처리군 사이의 생존을 비교하였다 (표 19).

도 16은 처리 시 완전한 종양 퇴행을 갖는 마우스 및 대조군인 종양-나이브 마우스의 (리)챌린지를 보여준다. 마우스에게 항체를 사용한 처리를 개시한 후 제121일에 1 x 10^6개 MC38 종양 세포를 SC 주사로 (리)챌린지하였다. 제시된 데이터는 평균 종양 부피 ± SEM이다.

도 17은 MC38 결장암 모델로부터의 절제된 종양 조직에서 발현된 세포 면역 및 종양 마커에 대한 정량적 IHC 및 ISH 데이터를 보여준다. C57BL/6 마우스에게 1 x 10^6개 MC38 세포를 접종하였다. 종양이 50-70 mm^3의 평균 부피에 도달하였을 때, 마우스를 무작위화하고, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1 또는 그의 조합으로 처리하였다. 종양을 처리 개시 후 제7일 (처리군당 n=5) 또는 제14일 (처리군당 n=5)에 절제하였다. 절제된 종양 샘플 중 일부는 IHC 분석을 수행하기에 너무 작아서, 처리군당 4-5개 종양을 분석하였다. 절제된 종양의 절편 (4 μm)을 면역조직화학 (IHC)에 의해 항-CD3, 항-CD4, 항-CD8 또는 항-PD-L1 항체를 사용하여 염색하거나, 또는 계내 혼성화 (ISH)에 의해 4-1BB 또는 PD-L2에 대해 염색하였다. IHC로부터의 데이터는 슬라이드에서 카운팅된 총 세포의 % 마커 양성 세포, 뿐만 아니라 처리군당 평균 ± SEM으로서 도시된다. ISH로부터의 데이터는 슬라이드당 RNA스코프(RNAscope) H-점수, 뿐만 아니라 처리군당 평균 ± SEM으로서 도시된다.

도 18은 MC38 결장암 모델로부터의 해리된 종양 조직으로부터의 CD8 T-세포 하위세트에서의 GzmB 및 Ki67 발현을 보여준다. C57BL/6 마우스에게 1 x 10^6개 MC38 세포를 접종하였다. 종양이 50-70 mm^3의 평균 부피에 도달하였을 때, 마우스를 무작위화하고, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1 또는 그의 조합으로 처리하였다. 종양을 처리 개시 후 제7일에 절제하고 (처리군당 n=5), 단일 세포 현탁액으로 해리시키고, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 제시된 데이터는 개별 마우스의 $CD8^+$ T-세포 집단 내의 $GzmB^+$ 세포 (A) 또는 $Ki67^+$ 세포 (B)의 백분율 및 처리군당 평균 ± SEM이다. 만-휘트니 통계적 분석을 수행하여 처리군 사이에 $CD8^+$ T-세포 집단 내의 $GzmB^+$ 또는 $Ki67^+$ 세포의 백분율을 비교하였다 (* $p < 0.05$ 및 ** $p < 0.01$).

도 19는 단일 작용제로서 또는 조합으로의 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1 항체 또는 비결합 대조군 항체 IgG2a-ctrl-AAKR로 처리된 MC38-종양 보유 C57BL/6 마우스의 말초 혈액 중 시토카인 수준을 보여준다. 기준선 (처리 1일 전 [제-1일], 점선) 및 각각의 처리 2일 후 (제2일 및 제5일)에 말초 혈액 샘플을 채취하였다. 시토카인 분석을 ECLIA에 의해 수행하였다.

표 1 - 서열: 볼드체 및 밑줄표시는 각각 위치 234 및 235; 265; 405 및 409에 상응하는 F; E; A; L 및 R이며, 상기 위치는 EU-넘버링에 따른다. 서열식별번호: 63 및 64에서, 볼드체 아미노산은 제어된 Fab-아암 교환에 요구되는 -AAKR 또는 -AALT 돌연변이를 나타낸다. 가변 영역에서, (달리 언급되거나 문맥에 의해 모순되지 않는 한) IMGT 정의에 따라 주석달린 상기 CDR 영역은 밑줄표시된다.

SEQ ID	명칭	서열	유기체
1	VH_CD137-009-H7	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMSWVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFDLWGQGTLVTVSS	합성 구축물
2	VH_CD137-009-H7_CDR1	GFSLNDYW	합성 구축물
3	VH_CD137-009-H7_CDR2	IDVGGSL	합성 구축물
4	VH_CD137-009-H7_CDR3	ARGGLTYGFDL	합성 구축물
5	VL_CD137-009-L2	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDISSYLAWYQQKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIK	합성 구축물
6	VL_CD137-009-L2_CDR1	EDISSY	합성 구축물
7	VL_CD137-009-L2_CDR2	GAS	합성 구축물
8	VL_CD137-009-L2_CDR3	HYYATISGLGVA	합성 구축물
9	VH_CD137-009	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNDYWMSWVRQAPGKGLEWIGYIDVGGSLYYASWAKGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGGLTYGFDLWGPGTLVTVSS	합성 구축물
10	VL_CD137-009	DIVMTQTPASVSEPVGGTVTINCQASEDISSYLAWYQQKPGQRPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTEYALTISDLESADAATYYCHYYATISGLGVAFGGGTEVVVK	합성 구축물
11	VH-PD-L1-547	EVQLLEPGGGLVQPGGSLRLSCEASGSTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVSGFSGSGGFTFYADSVRGRFTISRDSSKNTLFLQMSSLRAEDTAVYYCAIPARGYNYGSFQHWGQGTLVTVSS	합성 구축물
12	VH- PD-L1-547-CDR1	GSTFSTYA	합성 구축물
13	VH- PD-L1-547-CDR2	FSGSGGFT	합성 구축물
14	VH- PD-L1-547-CDR3	AIPARGYNYGSFQH	합성 구축물
15	VL- PD-L1-547	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDNDRPSGLPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	합성 구축물
16	VL- PD-L1-547-CDR1	NIGSKS	합성 구축물
17	VL- PD-L1-547-CDR2	DDN	합성 구축물
18	VL- PD-L1-547-CDR3	QVWDSSSDHVV	합성 구축물
19	IgG1-Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	합성 구축물

20	IgG1-Fc_F405L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L** LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	합성 구축물
21	IgG1-Fc_K409R	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	합성 구축물
22	IgG1-Fc_FEA	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV V**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	합성 구축물
23	IgG1-FEAR-Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV V**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	합성 구축물
24	IgG1-FEAL-Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV V**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L** LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	합성 구축물
25	IgG1-Fc (C-말단 리신 부재)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS	합성 구축물

		SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	
26	IgG1-Fc_F405L (C-말단 리신 부재)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L** LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	합성 구축물
27	IgG1-Fc_K409R (C-말단 리신 부재)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	합성 구축물
28	IgG1-Fc_FEA (C-말단 리신 부재)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV V**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	합성 구축물
29	IgG1-FEAR-Fc (C-말단 리신 부재)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV V**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	합성 구축물
30	IgG1-FEAL-Fc (C-말단 리신 부재)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV	합성 구축물

		V**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L** LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG	
31	CD137-009 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMS WVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAASVKGRFTIS RDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFDL WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKS LSLSPG	합성 구축물
32	CD137-009 경쇄	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDISSYLAWYQ QKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTDYTFT ISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	합성 구축물
33	PD-L1-547 중쇄	EVQLLEPGGGLVQPGGSLRLSCEASGSTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVSGFSGSGGFTFYADSVRGRFTI SRDSSKNTLFLQMSSLRAED TAVYYCAIPARGYNYGSFQHWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG	합성 구축물
34	PD-L1-547 경쇄	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWY QQKPGQAPVLVVYDDNDRPSGLPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKL TVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	합성 구축물
35	카파-C	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	합성 구축물
36	람다-C	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLS LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	합성 구축물

37	인간 CD137 (유니프롯KB - Q07011; 신호 펩티드 서열: aa 1-23 포함)	MGNSCYNIVALLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFC DNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVF RTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCK QGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLD GKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPA REPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC EL	호모 사피엔스
38	인간 CD137 (유니프롯KB - Q07011; 성숙 서열)	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGG QRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHC LGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQ KRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPA DLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFL LFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCEL	호모 사피엔스
39	인간 PD-L1 (유니프롯KB - Q9NZQ7; 신호 펩티드 서열: aa 1-18 포함)	MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSN MTIECFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEE DLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQD AGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVV DPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTT TTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEE NHTAELVIPELPLAHPPNERTHLVILGAILLCLGVALT FIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET	호모 사피엔스
40	인간 PD-L1 (유니프롯KB - Q9NZQ7; 성숙 서열)	FTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIV YWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKD QLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRI TVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCQAEGYPK AEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRI NTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNE RTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGI QDTNSKKQSDTHLEET	호모 사피엔스
41	인간 PD-1	MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPW NPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWY RMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPN GRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESL RAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVGVV GGLLGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLK EDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQ TEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPED GHCSWPL	호모 사피엔스
42	CTLA-4	MACLGFQRHKAQLNLATRTWPCTLLFFLLFIPVFCK AMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVT VLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTS SGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYYLGI GNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAAVSSGLFFYSFLL TAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPTEPECEKQFQP YFIPIN	호모 사피엔스
43	펨브롤리주맙 VH CDR1	GYTFTNYY	합성 구축물
44	펨브롤리주맙 VH CDR2	INPSNGGT	합성 구축물
45	펨브롤리주맙 VH CDR3	ARRDYRFDMGFDY	합성 구축물

46	펨브롤리주맙 VL CDR1	KGVSTSGYSY	합성 구축물
47	펨브롤리주맙 VL CDR2	LAS	합성 구축물
48	펨브롤리주맙 VL CDR3	QHSRDLPLT	합성 구축물
49	펨브롤리주맙 VH	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMY WVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRV TLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFD MGFDYWGQGTTVTVSS	합성 구축물
50	펨브롤리주맙 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLH WYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK	합성 구축물
51	펨브롤리주맙 중쇄	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMY WVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRV TLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFD MGFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSLGK	합성 구축물
52	펨브롤리주맙 경쇄	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLH WYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	합성 구축물
53	VH_IgG1-b12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIH WVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDR VTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYS WDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSS	합성 구축물
54	VL_IgG1-b12	EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSSHSIRSRRVAWY QHKPGQAPRLVIHGVSNRASGISDRFSGSGSGTDFT LTITRVEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERK	합성 구축물
55	m4-1BB-3H3 VH	EMQLVESGGGLVQPGRSMKLSCAGSGFTLSDYGVA WVRQAPKKGLEWVAYISYAGGTTYYRESVKGRFTIS RDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCTIDGYGGYSGS HWYFDFWGPGTMVTVSS	합성 구축물
56	m4-1BB-3H3 VL	DIQMTQSPSLLSASVGDRVTLNCRTSQNVYKNLAW YQQKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDVATYFCQQYYSGNTFGAGTNLELK	합성 구축물
57	AALT	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPN**AA**GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIER	합성 구축물

		TISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVT DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY**L** MYSKL**T**VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGK	
58	AAKR	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPV TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPN**AA**GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV**K** DFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYF MYS**R**LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGK	합성 구축물
59	불변 영역 마우스 카파 LC	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSST LTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	합성 구축물
60	MPDL3280A VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIH WYRQAPGKGLEWYAWISPYGGSTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGG FDYWGQGTLVTVSS	합성 구축물
61	MPDL3280A VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAW YQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK	합성 구축물
62	펨브롤리주맙 VH CDR1 (카바트 넘버링)	NYYMY	합성 구축물
63	펨브롤리주맙 VH CDR2 (카바트 넘버링)	GINPSNGGTNFNEKFKN	합성 구축물
64	펨브롤리주맙 VH CDR3 (카바트 넘버링)	RDYRFDMGFDY	합성 구축물
65	펨브롤리주맙 VL CDR1 (카바트 넘버링)	RASKGVSTSGYSYLH	합성 구축물
66	펨브롤리주맙 VL CDR2 (카바트 넘버링)	LASYLES	합성 구축물
67	펨브롤리주맙 VL CDR3 (카바트 넘버링)	QHSRDLPLT	합성 구축물

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 본 개시내용이 하기에 보다 상세히 추가로 기재되지만, 본 개시내용은 본원에 기재된 특정한 방법론, 프로토콜 및 시약이 달라질 수 있기 때문에 이들에 제한되지는 않는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본원에 사용된 용어는 단지 특정한 실시양태를 기재하기 위한 목적의 것이며, 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다는 것이 이해되어야 한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0030] 하기에서, 본 개시내용의 요소가 보다 상세히 기재될 것이다. 이들 요소는 구체적 실시양태와 함께 열거되지만, 이들은 임의의 방식으로 및 임의의 수로 조합되어 추가의 실시양태를 생성할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 다양하게 기재된 실시예 및 바람직한 실시양태는 본 개시내용을 단지 명백하게 기재된 실시양태로 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본 설명은 명백하게 기재된 실시양태를 임의의 수의 개시된 및/또는 바람직한 요소와 조합하는 실시양태를 지지하고 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 추가로, 본 출원에 기재된 모든 요소의 임의의 순열 및 조합은 문맥이 달리 나타내지 않는 한 본 출원의 설명에 의해 개시된 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 본원에 사용된 결합제의 바람직한 실시양태에서 제1 중쇄가 서열식별번호: 23 또는 29에 제시된 아미노산 서열 [IgG1-Fc_FEAR]을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어지고, 본원에 사용된 결합제의 또 다른 바람직한 실시양태에서 제2 중쇄가 서열식별번호: 24 또는 30에 제시된 아미노산 서열 [IgG1-Fc_FEAL]을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 경우에, 이때 본원에 사용된 결합제의 추가의 바람직한 실시양태에서 제1 중쇄는 서열식별번호: 23 또는 29에 제시된 아미노산 서열 [IgG1-Fc_FEAR]을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어지고, 제2 중쇄는 서열식별번호: 24 또는 30에 제시된 아미노산 서열 [IgG1-Fc_FEAL]을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진다.

[0031] 바람직하게는, 본원에 사용된 용어는 문헌 ["A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", H.G.W. Leuenberger, B. Nagel, and H. Koelbl, Eds., Helvetica Chimica Acta, CH-4010

Basel, Switzerland, (1995)]에 기재된 바와 같이 정의된다.

[0032] 본 개시내용의 실시는, 달리 나타내지 않는 한, 관련 분야의 문헌에 설명된 통상적인 화학, 생화학, 세포 생물학, 면역학 및 재조합 DNA 기술을 사용할 것이다 (예를 들어, 문헌 [Organikum, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1990; Streitwieser/Heathcook, "Organische Chemie", VCH, 1990; Beyer/Walter, "Lehrbuch der Organischen Chemie", S. Hirzel Verlag Stuttgart, 1988; Carey/Sundberg, "Organische Chemie", VCH, 1995; March, "Advanced Organic Chemistry", John Wiley & Sons, 1985; Roempp Chemie Lexikon, Falbe/Regitz (Hrsg.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1989; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, J. Sambrook et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989] 참조).

[0033] 본원에 기재된 모든 방법은 본원에 달리 나타내지 않거나 또는 문맥에 의해 달리 명확하게 모순되지 않는 한, 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예 또는 예시적인 용어 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 개시내용을 보다 잘 예시하기 위한 것으로 의도되며, 달리 청구된 본 개시내용의 범주에 대한 제한을 제기하지 않는다. 본 명세서 내의 어떠한 용어도 임의의 청구되지 않은 요소가 본 개시내용의 실시에 필수적임을 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0034] 본원에서 값의 범위에 대한 언급은 단지 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 지칭하는 약칭 방법으로서의 역할을 하는 것으로 의도된다. 본원에 달리 나타내지 않는 한, 각각의 개별 값은 본원에 개별적으로 인용된 것처럼 명세서에 포함된다.

[0035] 여러 문헌이 본 명세서의 본문 전반에 걸쳐 인용된다. 본원에 인용된 각각의 문헌 (모든 특허, 특허 출원, 과학 간행물, 제조업체의 명세서, 지침서 등 포함)은, 상기이든 하기이든, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 본원에서의 어떠한 내용도 본 발명이 선행 발명에 의해 이러한 개시내용에 선행할 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0036] **정의**

[0037] 하기에서, 본 개시내용의 모든 측면에 적용되는 정의가 제공될 것이다. 하기 용어는 달리 나타내지 않는 한 하기 의미를 갖는다. 임의의 정의되지 않은 용어는 그의 관련 기술분야에서 인식되는 의미를 갖는다.

[0038] 본 명세서 및 하기 청구범위 전반에 걸쳐, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 용어 "포함하다" 및 변형어, 예컨대 "포함한다" 및 "포함하는"은 언급된 구성원, 정수 또는 단계, 또는 구성원, 정수 또는 단계의 군의 포함을 의미하지만, 임의의 다른 구성원, 정수 또는 단계, 또는 구성원, 정수 또는 단계의 군의 배제를 의미하지는 않는 것으로 이해될 것이다. 용어 "본질적으로 이루어진"은 임의의 본질적으로 유의한 다른 구성원, 정수 또는 단계를 배제하는 것을 의미한다. 용어 "포함하는"은 용어 "본질적으로 이루어진"을 포괄하며, 이는 다시 용어 "이루어진"을 포괄한다. 따라서, 본 출원에서 각각의 경우에, 용어 "포함하는"은 용어 "본질적으로 이루어진" 또는 "이루어진"으로 대체될 수 있다. 마찬가지로, 본 출원에서 각각의 경우에, 용어 "본질적으로 이루어진"은 용어 "이루어진"으로 대체될 수 있다.

[0039] 본 개시내용을 기재하는 문맥에서 (특히 청구범위의 문맥에서) 사용된 단수 용어 및 유사한 언급은, 본원에 달리 나타내거나 문맥에 의해 명확하게 모순되지 않는 한, 단수형 및 복수형 둘 다를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.

[0040] 본원에 사용된 경우에, "및/또는"은 2개의 명시된 특색 또는 성분 각각이 다른 것과 함께 또는 다른 것 없이 구체적으로 개시된 것으로서 이해되어야 한다. 예를 들어, "X 및/또는 Y"는 (i) X, (ii) Y 및 (iii) X 및 Y 각각이 본원에 개별적으로 제시된 것처럼 각각이 구체적으로 개시된 것으로서 이해되어야 한다.

[0041] 본 개시내용의 문맥에서, 용어 "약"은 해당 특색의 기술적 효과를 여전히 보장하는 것으로 통상의 기술자가 이해할 정확도의 간격을 나타낸다. 상기 용어는 전형적으로 나타낸 수치로부터 ±5%, ±4%, ±3%, ±2%, ±1%, ±0.9%, ±0.8%, ±0.7%, ±0.6%, ±0.5%, ±0.4%, ±0.3%, ±0.2%, ±0.1%, ±0.05% 및 예를 들어 ±0.01%만큼의 편차를 나타낸다. 통상의 기술자에 의해 인지되는 바와 같이, 주어진 기술적 효과에 대한 수치에 대한 구체적인 이러한 편차는 기술적 효과의 성질에 좌우될 것이다. 예를 들어, 자연적 또는 생물학적 기술적 효과는 일반적으로 인공적 또는 공학적 기술적 효과에 대한 것보다 더 큰 이러한 편차를 가질 수 있다.

[0042] 본 개시내용의 문맥에서 용어 "결합제"는 목적하는 항원에 결합할 수 있는 임의의 작용제를 지칭한다. 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 결합제는 항체, 항체 단편 또는 그의 구축물이다. 결합제는 또한 합성, 변형된 또

는 비-자연 발생 모이어티, 특히 비-펩티드 모이어티를 포함할 수 있다. 이러한 모이어티는, 예를 들어 목적하는 항원-결합 관능기 또는 영역, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 연결할 수 있다. 한 실시양태에서, 결합제는 항원-결합 CDR 또는 가변 영역을 포함하는 합성 구축물이다.

[0043] 본원에 사용된 "면역 체크포인트"는 면역계의 조절제, 및 특히 항원의 T 세포 수용체 인식의 진폭 및 품질을 조절하는 공동-자극 및 억제 신호를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 면역 체크포인트는 억제 신호이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 PD-1과 PD-L1 및/또는 PD-L2 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 CD28 결합을 대체시키는 CTLA-4와 CD80 또는 CD86 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 LAG-3과 MHC 부류 II 분자 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 TIM-3과 그의 리간드, 예컨대 갈렉틴 9, PtdSer, HMGB1 및 CEACAM1 중 1종 이상 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 1종 또는 여러 KIR과 그의 리간드 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 TIGIT와 그의 리간드인 PVR, PVRL2 및 PVRL3 중 1종 이상 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 CD94/NKG2A와 HLA-E 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 VISTA와 그의 결합 파트너(들) 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 1종 이상의 Siglec와 그의 리간드 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 GARP와 그의 리간드 중 1종 이상 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 CD47과 SIRPα 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 PVRIG와 PVRL2 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 CSF1R과 CSF1 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 BTLA와 HVEM 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 아데노신성 경로, 예를 들어 A2AR 및/또는 A2BR과 CD39 및 CD73에 의해 생산된 아데노신 사이의 상호작용의 일부이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 B7-H3과 그의 수용체 및/또는 B7-H4와 그의 수용체 사이의 상호작용이다. 특정 실시양태에서, 억제 신호는 IDO, CD20, NOX 또는 TDO에 의해 매개된다.

[0044] 용어 "체크포인트 억제제" (CPI) 및 "면역 체크포인트 (ICP) 억제제"는 본원에서 동의어로 사용된다. 상기 용어는 1종 이상의 체크포인트 단백질을 완전히 또는 부분적으로 감소시키거나, 억제하거나, 방해하거나 또는 음성으로 조정하는 분자, 예컨대 결합제, 또는 1종 이상의 체크포인트 단백질의 발현을 완전히 또는 부분적으로 감소시키거나, 억제하거나, 방해하거나 또는 음성으로 조정하는 것, 예컨대 면역 체크포인트를 억제하는, 특히 면역 체크포인트의 억제 신호를 억제하는 분자, 예컨대 결합제를 지칭한다. 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 1종 이상의 체크포인트 단백질에 결합한다. 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 체크포인트 단백질을 조절하는 1종 이상의 분자에 결합한다. 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는, 예를 들어 DNA- 또는 RNA-수준에서 1종 이상의 체크포인트 단백질의 전구체에 결합한다. 본 개시내용에 따른 체크포인트 억제제로서 기능하는 임의의 작용제가 사용될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "부분적으로"는 수준, 예를 들어 체크포인트 단백질의 억제 수준의 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%를 의미한다.

[0045] 한 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트의 억제 신호를 억제하는 임의의 화합물, 예컨대 임의의 결합제일 수 있으며, 여기서 억제 신호는 PD-1과 PD-L1 및/또는 PD-L2 사이의 상호작용; CD28 결합을 대체시키는 CTLA-4와 CD80 또는 CD86 사이의 상호작용; LAG-3과 MHC 부류 II 분자 사이의 상호작용; TIM-3과 그의 리간드, 예컨대 갈렉틴 9, PtdSer, HMGB1 및 CEACAM1 중 1종 이상 사이의 상호작용; 1종 또는 여러 KIR과 그의 리간드 사이의 상호작용; TIGIT와 그의 리간드인 PVR, PVRL2 및 PVRL3 중 1종 이상 사이의 상호작용; CD94/NKG2A와 HLA-E 사이의 상호작용; VISTA와 그의 결합 파트너(들) 사이의 상호작용; 1종 이상의 Siglec와 그의 리간드 사이의 상호작용; GARP와 그의 리간드 중 1종 이상 사이의 상호작용; CD47과 SIRPα 사이의 상호작용; PVRIG와 PVRL2 사이의 상호작용; CSF1R과 CSF1 사이의 상호작용; BTLA와 HVEM 사이의 상호작용; 아데노신성 경로의 일부, 예를 들어 A2AR 및/또는 A2BR과 CD39 및 CD73에 의해 생산된 아데노신 사이의 상호작용; B7-H3과 그의 수용체 및/또는 B7-H4와 그의 수용체 사이의 상호작용; IDO, CD20, NOX 또는 TDO에 의해 매개된 억제 신호로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, PD-L2 억제제, CTLA-4 억제제, TIM-3 억제제, KIR 억제제, LAG-3 억제제, TIGIT 억제제, VISTA 억제제 및 GARP 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종이다. 한 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 차단 항체, 예컨대 PD-1 차단 항체, CTLA4 차단 항체, PD-L1 차단 항체, PD-L2 차단 항체, TIM-3 차단 항체, KIR 차단 항체, LAG-3 차단 항체, TIGIT 차단 항체, VISTA 차단 항체 또는 GARP 차단 항체일 수 있다. PD-1 차단 항체의 예는 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙 및 스파르탈리주맙을 포함한다. CTLA4 차단 항체의 예는 이필리무맙 및 트레멜리무맙을 포함한다. PD-L1 차단 항체의 예는 아테졸리주맙, 두르발루맙 및 아벨루맙을 포함한다.

[0046] 용어 "이뮤노글로불린"은 이뮤노글로불린 슈퍼패밀리의 단백질, 바람직하게는 항원 수용체, 예컨대 항체 또는 B

세포 수용체 (BCR)에 관한 것이다. 이뮤노글로불린은 구조적 도메인, 즉 특징적인 이뮤노글로불린 (Ig) 폴드를 갖는 이뮤노글로불린 도메인을 특징으로 한다. 상기 용어는 막 결합된 이뮤노글로불린, 뿐만 아니라 가용성 이뮤노글로불린을 포괄한다. 막 결합된 이뮤노글로불린은 또한 표면 이뮤노글로불린 또는 막 이뮤노글로불린으로 명명되며, 이는 일반적으로 BCR의 일부이다. 가용성 이뮤노글로불린은 일반적으로 항체로 명명된다.

[0047] 이뮤노글로불린의 구조는 잘 특징화되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))]을 참조한다. 간략하게, 이뮤노글로불린은 일반적으로 여러 쇄, 전형적으로 디술피드 결합을 통해 연결된 2개의 동일한 중쇄 및 2개의 동일한 경쇄를 포함한다. 이들 쇄는 주로 이뮤노글로불린 도메인 또는 영역, 예컨대 V_L 또는 VL (가변 경쇄) 도메인/영역, C_L 또는 CL (불변 경쇄) 도메인/영역, V_H 또는 VH (가변 중쇄) 도메인/영역 및 C_H 또는 CH (불변 중쇄) 도메인/영역 C_H1 (CH1), C_H2 (CH2), C_H3 (CH3) 및 C_H4 (CH4)로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 전형적으로 3개의 도메인인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 힌지 영역은 중쇄의 CH1 및 CH2 도메인 사이의 영역이고, 고도로 가요성이다. 힌지 영역 내의 디술피드 결합은 IgG 분자 내의 2개의 중쇄 사이의 상호작용의 일부이다. 각각의 경쇄는 전형적으로 VL 및 CL로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 전형적으로 1개의 도메인인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 명명되는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 명명되는 초가변성 영역 (또는 서열 및/또는 구조적으로 정의된 루프의 형태에서 초가변적일 수 있는 초가변 영역)으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 전형적으로 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (또한 문헌 [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987)] 참조). 달리 언급되거나 문맥에 의해 모순되지 않는 한, 본원의 CDR 서열은 도메인갭얼라인 (DomainGapAlign)을 사용하여 IMGT 규칙에 따라 확인된다 (Lefranc MP., Nucleic Acids Research 1999;27:209-212 및 Ehrenmann F., Kaas Q. and Lefranc M.-P. Nucleic Acids Res., 38, D301-307 (2010); 또한 인터넷 http 주소 www.imgt.org 참조). 달리 언급되거나 문맥에 의해 모순되지 않는 한, 본 개시내용에서 불변 영역 내의 아미노산 위치에 대한 언급은 EU-넘버링에 따른다 (Edelman et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1969 May;63(1):78-85; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition. 1991 NIH Publication No. 91-3242).

[0048] 상이한 부류의 항체, 즉 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM을 설명하는 5가지 유형의 포유동물 이뮤노글로불린 중쇄, 즉 α, δ, ε, γ 및 μ가 존재한다. 가용성 이뮤노글로불린의 중쇄와 대조적으로, 막 또는 표면 이뮤노글로불린의 중쇄는 그의 카르복시-말단에 막횡단 도메인 및 짧은 세포질 도메인을 포함한다. 포유동물에는 2가지 유형의 경쇄, 즉 람다 및 카파가 존재한다. 이뮤노글로불린 쇄는 가변 영역 및 불변 영역을 포함한다. 불변 영역은 본질적으로 이뮤노글로불린의 상이한 이소형 내에서 보존되며, 여기서 가변 부분은 고도로 다양하고, 항원 인식을 담당한다.

[0049] 용어 "아미노산" 및 "아미노산 잔기"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 제한적인 것으로 이해되어서는 안된다. 아미노산은 아민 ($-NH_2$) 및 카르복실 (-COOH) 관능기를 각각의 아미노산에 특이적인 측쇄 (R 기)와 함께 함유하는 유기 화합물이다. 본 개시내용의 문맥에서, 아미노산은 구조 및 화학적 특징에 기초하여 분류될 수 있다. 따라서, 아미노산의 부류는 하기 표 중 하나 또는 둘 다에 반영되어 있을 수 있다:

[0050] 표 2: R 기의 구조 및 일반적 화학적 특징화에 기초한 주요 분류

[0051]

부류	아미노산
산성 잔기	D 및 E
염기성 잔기	K, R 및 H
친수성 비하전된 잔기	S, T, N 및 Q
지방족 비하전된 잔기	G, A, V, L 및 I
비-극성 비하전된 잔기	C, M 및 P
방향족 잔기	F, Y 및 W

[0052] 표 3: 아미노산 잔기의 대안적 물리적 및 기능적 분류

부류	아미노산
히드록실 기 함유 잔기	S 및 T
지방족 잔기	I, L, V 및 M
시클로알케닐-연관 잔기	F, H, W 및 Y
소수성 잔기	A, C, F, G, H, I, L, M, R, T, V, W 및 Y
음으로 하전된 잔기	D 및 E
극성 잔기	C, D, E, H, K, N, Q, R, S 및 T
양으로 하전된 잔기	H, K 및 R
작은 잔기	A, C, D, G, N, P, S, T 및 V
매우 작은 잔기	A, G 및 S
턴 형성에 수반되는 잔기	A, C, D, E, G, H, K, N, Q, R, S, P 및 T
가요성 잔기	Q, T, K, S, G, P, D, E 및 R

[0053]

[0054] 본 개시내용의 목적상, 아미노산 서열 (펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드)의 "변이체"는 아미노산 삽입 변이체, 아미노산 부가 변이체, 아미노산 결실 변이체 및/또는 아미노산 치환 변이체를 포함한다. 용어 "변이체"는 모든 돌연변이체, 스플라이스 변이체, 번역후 변형된 변이체, 입체형태, 이소형, 대립유전자 변이체, 종 변이체 및 종 상동체, 특히 자연 발생인 것을 포함한다. 용어 "변이체"는 특히 아미노산 서열의 단편을 포함한다.

[0055] 아미노산 삽입 변이체는 특정한 아미노산 서열 내의 단일 또는 2개 이상의 아미노산의 삽입을 포함한다. 삽입을 갖는 아미노산 서열 변이체의 경우에, 1개 이상의 아미노산 잔기가 아미노산 서열 내의 특정한 부위 내로 삽입되지만, 생성된 생성물의 적절한 스크리닝 하에 무작위 삽입이 또한 가능하다.

[0056] 아미노산 부가 변이체는 1개 이상의 아미노산, 예컨대 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50개 또는 그 초과의 아미노산의 아미노- 및/또는 카르복시-말단 융합체를 포함한다.

[0057] 아미노산 결실 변이체는 서열로부터 1개 이상의 아미노산의 제거, 예컨대 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50개 또는 그 초과의 아미노산의 제거를 특징으로 한다. 결실은 단백질의 임의의 위치에 있을 수 있다. 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단 단부에 결실을 포함하는 아미노산 결실 변이체는 또한 N-말단 및/또는 C-말단 절단 변이체로 불린다.

[0058] 아미노산 치환 변이체는 서열 내의 적어도 하나의 잔기가 제거되고 또 다른 잔기가 그 자리에 삽입되는 것을 특징으로 한다. 하나의 아미노산의 또 다른 아미노산으로의 치환은 보존적 또는 비보존적 치환으로서 분류될 수 있다. 상동 단백질 또는 펩티드 사이에 보존되지 않는 아미노산 서열 내의 위치에서 변형이 이루어지고/거나 아미노산을 유사한 특성을 갖는 다른 것으로 대체하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 펩티드 및 단백질 변이체 내의 아미노산 변화는 보존적 아미노산 변화, 즉 유사하게 하전된 또는 비하전된 아미노산의 치환이다. 보존적 아미노산 변화는 그의 측쇄에서 관련이 있는 아미노산의 패밀리 중 하나의 치환을 수반한다. 본 개시내용의 문맥에서, "보존적 치환"은 하나의 아미노산의 유사한 구조적 및/또는 화학적 특징을 갖는 또 다른 아미노산으로의 치환, 예컨대 하나의 아미노산 잔기의 상기 2개의 표 중 임의의 것에 정의된 바와 같은 동일한 부류의 또 다른 아미노산 잔기로의 치환이며: 예를 들어, 류신은 이소류신으로 치환될 수 있는데, 이는 이들이 둘 다 지방족, 분지형 소수성이기 때문이다. 유사하게, 아스파르트산은 글루탐산으로 치환될 수 있는데, 이는 이들이 둘 다 작은 음으로 하전된 잔기이기 때문이다. 자연 발생 아미노산은 또한 일반적으로 4개의 패밀리로 나뉠 수 있다: 산성 (아스파르테이트, 글루타메이트), 염기성 (리신, 아르기닌, 히스티딘), 비-극성 (알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판) 및 비하전된 극성 (글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신) 아미노산. 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신은 때때로 함께 방향족 아미노산으로 분류된다. 한 실시양태에서, 보존적 아미노산 치환은 하기 군 내에서의 치환을 포함한다:

[0059] - 글리신, 알라닌;

[0060] - 발린, 이소류신, 류신;

[0061] - 아스파르트산, 글루탐산;

[0062] - 아스파라긴, 글루타민;

[0063] - 세린, 트레오닌;

[0064] - 리신, 아르기닌; 및

[0065] - 페닐알라닌, 티로신.

[0066] 본원에 사용된 용어 "위치...에 상응하는 아미노산" 및 유사한 표현은 인간 IgG1 중쇄 내의 아미노산 위치 번호를 지칭한다. 다른 이뮤노글로불린 내의 상응하는 아미노산 위치는 인간 IgG1과의 정렬에 의해 발견될 수 있다. 따라서, 또 다른 서열 내의 아미노산 또는 절편"에 상응하는" 하나의 서열 내의 아미노산 또는 절편은 전형적으로 디폴트 설정의 표준 서열 정렬 프로그램, 예컨대 ALIGN, 클러스탈W 또는 유사한 것을 사용하여 다른 아미노산 또는 절편과 정렬되고, 인간 IgG1 중쇄에 대해 적어도 50%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 것이다. 서열 또는 서열 내의 절편을 정렬하고, 이에 의해 본 개시내용에 따른 아미노산 위치에 대한 서열 내의 상응하는 위치를 결정하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지된 것으로 간주된다.

[0067] 본 개시내용의 문맥에서 용어 "항체" (Ab)는 이뮤노글로불린 분자, 이뮤노글로불린 분자의 단편 또는 그의 유도체를 지칭하며, 이는 전형적인 생리학적 조건 하에, 바람직하게는 유의한 기간의 반감기, 예컨대 적어도 약 30분, 적어도 약 45분, 적어도 약 1시간, 적어도 약 2시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 8시간, 적어도 약 12시간, 약 24시간 이상, 약 48시간 이상, 약 3, 4, 5, 6, 7일 이상 등 또는 임의의 다른 관련된 기능적으로-정의된 기간 (예컨대 항원에 대한 항체 결합과 연관된 생리학적 반응을 유도, 촉진, 증진 및/또는 조정하는 데 충분한 시간 및/또는 항체가 이펙터 활성을 동원하는 데 충분한 시간)으로 항원 (특히 항원 상의 에피토프)에 특이적으로 결합하는 능력을 갖는다. 특히, 용어 "항체"는 디술피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질을 지칭한다. 용어 "항체"는 모노클로날 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체 및 상기 중 임의의 것의 조합을 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 중쇄 불변 영역 (CH)으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (VL) 및 경쇄 불변 영역 (CL)으로 구성된다. 가변 영역 및 불변 영역은 또한 본원에서 각각 가변 도메인 및 불변 도메인으로 지칭된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 명명되는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 명명되는 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. VH의 CDR은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 (또는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)으로 명명되고, VL의 CDR은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 (또는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)으로 명명된다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 중쇄 불변 영역 (CH) 및 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하며, 여기서 CH는 불변 도메인 CH1, 힌지 영역 및 불변 도메인 CH2 및 CH3으로 추가로 세분될 수 있다 (아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열됨: CH1, CH2, CH3). 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 보체계의 성분, 예컨대 C1q를 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 천연 공급원 또는 재조합 공급원으로부터 유래된 무손상 이뮤노글로불린일 수 있고, 무손상 이뮤노글로불린의 면역활성 부분일 수 있다. 항체는 전형적으로 이뮤노글로불린 분자의 사량체이다. 항체는, 예를 들어 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, Fv, Fab 및 $F(ab)_2$, 뿐만 아니라 단일 쇄 항체 및 인간화 항체를 포함한 다양한 형태로 존재할 수 있다.

[0068] 이뮤노글로불린 분자의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 용어 "결합 영역" 및 "항원-결합 영역"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 항원과 상호작용하고 VH 영역 및 VL 영역 둘 다를 포함하는 영역을 지칭한다. 본원에 사용된 항체는 단일특이적 항체, 뿐만 아니라 다수, 예컨대 2개 이상, 예를 들어 3개 이상의 상이한 항원-결합 영역을 포함하는 다중특이적 항체를 포함한다.

[0069] 상기 나타낸 바와 같이, 본원의 용어 항체는 달리 언급되거나 문맥에 의해 명확하게 모순되지 않는 한, 항원-결합 단편인, 즉 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 단편을 포함한다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 제시되었다. 용어 "항체" 내에 포괄되는 항원-결합 단편의 예는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편 또는 WO 2007/059782 (젠맙(Genmab))에 기재된 바와 같은 1가 항체인 Fab' 또는 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 본질적으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 본질적으로 이루어진 Fv 단편; (v) VH 도메인으로 본질적으로 이루어지고 또한 도메인 항체 (Holt et al.; Trends Biotechnol. 2003 Nov;21(11):484-90)로 불리는 dAb 단편 (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)); (vi) 낙타류 또는 나노바디 분자 (Revets et al.; Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan;5(1):111-24) 및 (vii) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다. 추가로, Fv 단편의 2개의 도메인인 VL 및 VH는 개별 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여, VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇄 (단일 쇄 항체 또는 단일 쇄 Fv (scFv)로 공지됨, 예를 들어 문헌 [Bird et

al., Science 242, 423-426 (1988) 및 Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)] 참조)로 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해 연결될 수 있다. 이러한 단일 쇄 항체는 달리 언급되거나 문맥에 의해 명확하게 나타나지 않는 한 용어 항체 내에 포괄된다. 이러한 단편이 일반적으로 항체의 의미 내에 포함되지만, 이들은 집합적으로 및 각각 독립적으로, 상이한 생물학적 특성 및 유용성을 나타내는 본 개시내용의 특유한 특색이다. 본 개시내용의 문맥에서 이들 및 다른 유용한 항체 단편, 뿐만 아니라 이러한 단편의 이중특이적 포맷은 본원에서 추가로 논의된다. 용어 항체는, 달리 명시되지 않는 한, 또한 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 (mAb), 항체-유사 폴리펩티드, 예컨대 키메라 항체 및 인간화 항체, 및 임의의 공지된 기술, 예컨대 효소적 절단, 펩티드 합성 및 재조합 기술에 의해 제공되는 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체 단편 (항원-결합 단편)을 포함하는 것으로 또한 이해되어야 한다.

[0070] 생성된 항체는 임의의 이소형을 보유할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 코딩되는 이뮤노글로불린 부류 (예를 들어, IgG (예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgD, IgA (예컨대 IgA1, IgA2), IgE, IgM 또는 IgY)를 지칭한다. 특정한 이소형, 예를 들어 IgG1이 본원에 언급되는 경우에, 상기 용어는 특정 이소형 서열, 예를 들어 특정한 IgG1 서열에 제한되는 것이 아니라, 항체가 다른 이소형보다 그 이소형, 예를 들어 IgG1과 서열이 더 유사하다는 것을 나타내는 데 사용된다. 따라서, 예를 들어 본원에 개시된 IgG1 항체는 불변 영역 내의 변이를 포함한, 자연 발생 IgG1 항체의 서열 변이체일 수 있다.

[0071] IgG1 항체는 동종이형으로 명명되는 다수의 다형성 변이체로 존재할 수 있으며 (문헌 [Jefferis and Lefranc 2009. mAbs Vol 1 Issue 4 1-7]에서 검토됨), 이들 중 임의의 것은 본원의 실시양태 중 일부에 사용하기에 적합하다. 인간 집단에서의 통상의 동종이형 변이체는 문자 a, f, n, z 또는 그의 조합에 의해 지정된 것이다. 본원의 임의의 실시양태에서, 항체는 인간 IgG Fc 영역을 포함하는 중쇄 Fc 영역을 포함할 수 있다. 추가 실시양태에서, 인간 IgG Fc 영역은 인간 IgG1을 포함한다.

[0072] 본 개시내용의 문맥에서 용어 "다중특이적 항체"는 상이한 항체 서열에 의해 정의되는 적어도 2개의 상이한 항원-결합 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 상기 상이한 항원-결합 영역은 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 결합한다. 그러나, 바람직한 실시양태에서, 상기 상이한 항원-결합 영역은 상이한 표적 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 다중특이적 항체는 "이중특이적 항체" 또는 "bs"이다. 다중특이적 항체, 예컨대 이중특이적 항체는 하기 본원에 기재된 이중특이적 또는 다중특이적 항체 포맷 중 임의의 것을 포함한 임의의 포맷을 가질 수 있다.

[0073] 용어 "전장"은 항체와 관련하여 사용되는 경우에, 항체가 단편이 아니라, 자연에서 그 이소형에 대해 통상적으로 발견되는 특정한 이소형의 모든 도메인, 예를 들어 IgG1 항체의 경우 VH, CH1, CH2, CH3, 힌지, VL 및 CL 도메인을 함유한다는 것을 나타낸다.

[0074] 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 프레임워크 영역 및 인간 이뮤노글로불린 불변 도메인을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 본원에 개시된 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이, 삽입 또는 결실)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 비-인간 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프팅된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0075] 본원에 사용된 용어 "키메라 항체"는 가변 영역이 비-인간 종으로부터 유래되고 (예를 들어, 설치류로부터 유래됨) 불변 영역이 상이한 종, 예컨대 인간으로부터 유래된 항체를 지칭한다. 키메라 항체는 항체 조작에 의해 생성될 수 있다. "항체 조작"은 상이한 종류의 항체 변형에 대해 일반적으로 사용되는 용어이고, 항체 조작 방법은 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다. 특히, 키메라 항체는 문헌 [Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning: A laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Ch. 15]에 기재된 바와 같은 표준 DNA 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 따라서, 키메라 항체는 유전자 또는 효소 조작된 재조합 항체일 수 있다. 키메라 항체를 생성하는 것은 통상의 기술자의 지식 내에 있고, 따라서 키메라 항체의 생성은 본원에 기재된 것과는 다른 방법에 의해 수행될 수 있다. 인간에서의 치료 용도를 위한 키메라 모노클로날 항체는 비-인간 항체, 예를 들어 설치류 항체의 예상되는 항체 면역원성을 감소시키기 위해 개발된다. 이들은 전형적으로 관심 항원에 특이적인 비-인간 (예를 들어, 뮤린 또는 토끼) 가변 영역 및 인간 불변 항체 중쇄 및 경쇄 도메인을 함유할 수 있다. 키메라 항체와 관련하여 사용된 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 하기 기재된 바와 같은 이뮤노글로불린의 중쇄 및 경쇄 둘 다의 CDR 및 프레임워크 영역을 포함하는 영역을 지칭한다.

[0076] 본원에 사용된 용어 "인간화 항체"는 인간 항체 불변 도메인 및 인간 가변 도메인에 대해 높은 수준의 서열 상

동성을 함유하도록 변형된 비-인간 가변 도메인을 함유하는 유전자 조작된 비-인간 항체를 지칭한다. 이는 함께 항원 결합 부위를 형성하는 6개의 비-인간 항체 상보성-결정 영역 (CDR)을 상동 인간 수용자 프레임워크 영역 (FR) 상에 그라프팅함으로써 달성될 수 있다 (WO 92/22653 및 EP 0 629 240 참조). 모 항체의 결합 친화도 및 특이성을 완전히 재구성하기 위해서는, 모 항체 (즉, 비-인간 항체)로부터의 프레임워크 잔기를 인간 프레임워크 영역 내로 치환하는 것 (복귀-돌연변이)이 요구될 수 있다. 구조적 상동성 모델링은 항체의 결합 특성에 중요한 프레임워크 영역 내의 아미노산 잔기를 확인하는 것을 도울 수 있다. 따라서, 인간화 항체는 비-인간 CDR 서열, 비-인간 아미노산 서열에 1개 이상의 아미노산 복귀-돌연변이를 임의로 포함하는 주로 인간 프레임워크 영역 및 완전 인간 불변 영역을 포함할 수 있다. 임의로, 바람직한 특징, 예컨대 친화도 및 생화학적 특성을 갖는 인간화 항체를 수득하기 위해, 반드시 복귀-돌연변이일 필요는 없는 추가의 아미노산 변형이 적용될 수 있다.

[0077] 본원에 사용된 바와 같이, 또 다른 단백질, 예를 들어 모 단백질"로부터 유래된" 단백질은 단백질의 1개 이상의 아미노산 서열이 다른 또는 모 단백질 내의 1개 이상의 아미노산 서열과 동일하거나 유사하다는 것을 의미한다. 예를 들어, 또 다른 또는 모 항체, 결합 아암, 항원-결합 영역 또는 불변 영역으로부터 유래된 항체, 결합 아암, 항원-결합 영역, 불변 영역 등에서, 1개 이상의 아미노산 서열은 다른 또는 모 항체, 결합 아암, 항원-결합 영역 또는 불변 영역의 것과 동일하거나 유사하다. 이러한 1개 이상의 아미노산 서열의 예는 VH 및 VL CDR 및/또는 프레임워크 영역, VH, VL, CL, 힌지 또는 CH 영역 중 1개 이상 또는 모두의 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 인간화 항체는 비-인간 모 항체"로부터 유래된" 것으로서 본원에 기재될 수 있으며, 이는 적어도 VL 및 VH CDR 서열이 상기 비-인간 모 항체의 VH 및 VL CDR 서열과 동일하거나 유사하다는 것을 의미한다. 키메라 항체는 비-인간 모 항체"로부터 유래된" 것으로서 본원에 기재될 수 있으며, 이는 전형적으로 VH 및 VL 서열이 비-인간 모 항체의 것과 동일하거나 유사할 수 있다는 것을 의미한다. 또 다른 예는 특정한 모 항체"로부터 유래된" 것으로서 본원에 기재될 수 있는 결합 아암 또는 항원-결합 영역이며, 이는 상기 결합 아암 또는 항원-결합 영역이 전형적으로 상기 모 항체의 결합 아암 또는 항원-결합 영역과 동일하거나 유사한 VH 및/또는 VL CDR 또는 VH 및/또는 VL 서열을 포함한다는 것을 의미한다. 그러나, 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이, 목적하는 특징을 도입하기 위해 CDR, 불변 영역 또는 항체, 결합 아암, 항원-결합 영역 등의 다른 곳에 아미노산 변형, 예컨대 돌연변이가 만들어질 수 있다. 제1 또는 모 단백질로부터 유래된 1개 이상의 서열과 관련하여 사용될 때, "유사한" 아미노산 서열은 바람직하게는 적어도 약 50%, 예컨대 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는다.

[0078] 비-인간 항체는 다수의 상이한 종, 예컨대 마우스, 토끼, 닭, 기니 피그, 라마 및 염소에서 생성될 수 있다.

[0079] 모노클로날 항체는 통상적인 모노클로날 항체 방법론, 예를 들어 문헌 [Kohler and Milstein, Nature 256: 495 (1975)]의 표준 체세포 혼성화 기술을 포함한 다양한 기술에 의해 생산될 수 있다. 모노클로날 항체를 생산하기 위한 다른 기술, 예를 들어 B-림프구의 바이러스 또는 종양원성 형질전환 또는 항체 유전자의 라이브러리를 사용하는 파지 디스플레이 기술이 사용될 수 있고, 이러한 방법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다.

[0080] 이러한 비-인간 종에서의 하이브리도마 생산은 매우 널리 확립된 절차이다. 면역화 프로토콜 및 융합을 위한 면역화된 동물/비-인간 종의 비장세포의 단리 기술은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 융합 파트너 (예를 들어, 뮤린 골수종 세포) 및 융합 절차가 또한 공지되어 있다.

[0081] 문맥에 의해 모순되지 않는 한, 본원에 사용될 때의 용어 "Fab-아암" 또는 "아암"은 1개의 중쇄-경쇄 쌍을 지칭하고, 본원에서 "절반 분자"와 상호교환가능하게 사용된다.

[0082] 용어 "항원-결합 영역을 포함하는 결합 아암"은 항원-결합 영역을 포함하는 항체 분자 또는 단편을 의미한다. 따라서, 결합 아암은, 예를 들어 6개의 VH 및 VL CDR 서열, VH 및 VL 서열, Fab 또는 Fab' 단편, 또는 Fab-아암을 포함할 수 있다.

[0083] 문맥에 의해 모순되지 않는 한, 본원에 사용될 때의 용어 "Fc 영역"은 이뮤노글로불린의 중쇄의 2개의 Fc 서열로 이루어진 항체 영역을 지칭하며, 여기서 상기 Fc 서열은 적어도 힌지 영역, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 사용된 용어 "Fc 영역"은 항체의 N-말단 단부에서 C-말단 단부 방향으로 적어도 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 영역을 지칭한다. 항체의 Fc 영역은 면역계의 다양한 세포 (예컨대 이펙터 세포) 및 보체계의 성분을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다.

[0084] 본 개시내용과 관련하여, 다중특이적 항체를 포함한 항체와 관련하여 사용된 용어 "더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도한다"는, 항체가 (i) 특히 상기 항체와 동일한 제1 및 제2 항원-결합 영역을 포함하는 동일한 CDR 서열 및 (ii) 인간 IgG1 힌지, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 2개의 중쇄를 포함하는 인간 IgG1 항체와 비교하여, 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능, 특히 IgG Fc 수용체 (Fc감마R, FcγR) 결합, C1q 결합, ADCC 또는 CDC의 목록으로부터 선택된 이러한 기능을 유도한다는 것을 의미한다.

[0085] Fc-매개된 이펙터 기능은 FcγR에 대한 결합, C1q에 대한 결합 또는 FcγR을 통한 Fc-매개된 가교의 유도에 의해 측정될 수 있다.

[0086] 본원에 사용된 용어 "힌지 영역"은 이뮤노글로불린 중쇄의 힌지 영역을 지칭한다. 따라서, 예를 들어 인간 IgG1 항체의 힌지 영역은 카바트(Kabat)의 문헌 [Kabat, E.A. et al., Sequences of proteins of immunological interest. 5th Edition - US Department of Health and Human Services, NIH publication No. 91-3242, pp 662,680,689 (1991)]에 제시된 바와 같은 EU 넘버링에 따른 아미노산 216-230에 상응한다. 그러나, 힌지 영역은 또한 본원에 기재된 바와 같은 다른 하위유형 중 임의의 것일 수 있다.

[0087] 본원에 사용된 용어 "CH1 영역" 또는 "CH1 도메인"은 이뮤노글로불린 중쇄의 CH1 영역을 지칭한다. 따라서, 예를 들어 인간 IgG1 항체의 CH1 영역은 카바트 (상기 동일 문헌)에 제시된 바와 같은 EU 넘버링에 따른 아미노산 118-215에 상응한다. 그러나, CH1 영역은 또한 본원에 기재된 바와 같은 다른 하위유형 중 임의의 것일 수 있다.

[0088] 본원에 사용된 용어 "CH2 영역" 또는 "CH2 도메인"은 이뮤노글로불린 중쇄의 CH2 영역을 지칭한다. 따라서, 예를 들어 인간 IgG1 항체의 CH2 영역은 카바트 (상기 동일 문헌)에 제시된 바와 같은 EU 넘버링에 따른 아미노산 231-340에 상응한다. 그러나, CH2 영역은 또한 본원에 기재된 바와 같은 다른 하위유형 중 임의의 것일 수 있다.

[0089] 본원에 사용된 용어 "CH3 영역" 또는 "CH3 도메인"은 이뮤노글로불린 중쇄의 CH3 영역을 지칭한다. 따라서, 예를 들어 인간 IgG1 항체의 CH3 영역은 카바트 (상기 동일 문헌)에 제시된 바와 같은 EU 넘버링에 따른 아미노산 341-447에 상응한다. 그러나, CH3 영역은 또한 본원에 기재된 바와 같은 다른 하위유형 중 임의의 것일 수 있다.

[0090] 용어 "1가 항체"는 본 개시내용의 문맥에서 항체 분자가 단일 항원 분자에 결합할 수 있고, 따라서 항원 가교가 불가능하다는 것을 의미한다.

[0091] "CD137 항체" 또는 "항-CD137 항체"는 항원 CD137에 특이적으로 결합하는 상기 기재된 바와 같은 항체이다.

[0092] "CD137xPD-L1 항체" 또는 "항-CD137xPD-L1 항체"는 하나가 항원 CD137에 특이적으로 결합하고 하나가 항원 PD-L1에 특이적으로 결합하는 2개의 상이한 항원-결합 영역을 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0093] 본원에 사용된 용어 "바이오시밀러" (예를 들어, 승인된 참조 제품/생물학적 약물의 바이오시밀러)는 하기로부터의 데이터에 기초하여 참조 제품과 유사한 생물학적 제품을 지칭한다: (a) 생물학적 제품이 임상적으로 불활성인 성분에서의 경미한 차이에도 불구하고 참조 제품과 고도로 유사하다는 것을 입증하는 분석 연구; (b) 동물 연구 (독성의 평가 포함); 및/또는 (c) 참조 제품이 승인되어 있고 사용되도록 의도되는 용도 및 승인을 받고자 하는 용도의 하나 이상의 적절한 조건에서 안전성, 순도 및 효력을 입증하기에 충분한 임상 연구 또는 연구들 (면역원성 및 약동학 또는 약역학의 평가 포함) (예를 들어, 제품의 안전성, 순도 및 효력의 관점에서 생물학적 제품과 참조 제품 사이에 임상적으로 의미있는 차이가 존재하지 않음). 일부 실시양태에서, 바이오시밀러 생물학적 제품 및 참조 제품은 제안된 라벨링에서 처방, 권장 또는 시사된 용도의 조건 또는 조건들에 대해 동일한 작용 메카니즘 또는 메카니즘들을 이용하지만, 작용 메카니즘 또는 메카니즘들을 참조 제품에 대해 공지된 정도로만 이용한다. 일부 실시양태에서, 생물학적 제품에 대해 제안된 라벨링에서 처방, 권장 또는 시사된 용도의 조건 또는 조건들은 참조 제품에 대해 이전에 승인되었다. 일부 실시양태에서, 생물학적 제품의 투여 경로, 투여 형태 및/또는 강도는 참조 제품의 것과 동일하다. 바이오시밀러는, 예를 들어 시판 항체와 동일한 1차 아미노산 서열을 갖는 현재 공지된 항체일 수 있지만, 상이한 세포 유형에서 또는 상이한 생산, 정제 또는 제제화 방법에 의해 제조될 수도 있다.

[0094] 미리 결정된 항원 또는 에피토프에 대한 항체의 결합과 관련하여 본원에 사용된 용어 "결합하는" 또는 "결합할 수 있는"은 전형적으로 리간드로서 항원 및 분석물로서 항체를 사용하여 생물층 간섭측정법 (BLI)을 사용하여 결정하였을 때 또는 예를 들어 비아코어(BIAcore) 3000 기기에서 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술을 사용하여 결

정하였을 때, K_D에 상응하는 친화도가 약 10^{-7} M 이하, 예컨대 약 10^{-8} M 이하, 예컨대 약 10^{-9} M 이하, 약 10^{-10} M 이하 또는 약 10^{-11} M 또는 훨씬 그 미만인 결합이다. 항체는 미리 결정된 항원 또는 밀접하게 관련된 항원 이외의 다른 비-특이적 항원 (예를 들어, BSA, 카세인)에의 결합에 대한 그의 K_D보다 적어도 10배 더 낮은, 예컨대 적어도 100배 더 낮은, 예를 들어 적어도 1,000배 더 낮은, 예컨대 적어도 10,000배 더 낮은, 예를 들어 적어도 100,000배 더 낮은 K_D에 상응하는 친화도로 미리 결정된 항원에 결합한다. 친화도가 더 높은 경우의 양은 항체의 K_D에 의존하므로, 항체의 K_D가 매우 낮은 경우 (즉, 항체가 고도로 특이적인 경우)라면, 항원에 대한 친화도가 비-특이적 항원에 대한 친화도보다 더 낮은 정도는 적어도 10,000배일 수 있다.

[0095] 본원에 사용된 용어 "k_d" (sec^{-1})는 특정한 항체-항원 상호작용의 해리율 상수를 지칭한다. 상기 값은 또한 k_{off} 값으로 지칭된다.

[0096] 본원에 사용된 용어 "K_D" (M)는 특정한 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 지칭한다.

[0097] 두 항체는 이들이 동일한 항원 및 동일한 에피토프에 결합하는 경우에 "동일한 특이성"을 갖는다. 시험될 항체가 특정 항원-결합 항체와 동일한 에피토프를 인식하는지, 즉 항체가 동일한 에피토프에 결합하는지 여부는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 상이한 방법에 의해 시험될 수 있다.

[0098] 항체 사이의 경쟁은 교차-차단 검정에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 경쟁적 ELISA 검정이 교차-차단 검정으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 표적 항원이 마이크로타이터 플레이트의 웰 상에 코팅될 수 있고, 항원-결합 항체 및 후보 경쟁 시험 항체가 첨가될 수 있다. 웰 내 항원에 결합된 항원-결합 항체의 양은 동일한 에피토프에의 결합에 대해 그와 경쟁하는 후보 경쟁 시험 항체의 결합 능력과 간접적으로 상관관계가 있다. 구체적으로, 동일한 에피토프에 대한 후보 경쟁 시험 항체의 친화도가 클수록, 항원-코팅된 웰에 결합된 항원-결합 항체의 양이 적다. 웰에 결합된 항원-결합 항체의 양은 항체를 검출가능한 또는 측정가능한 표지 물질로 표지함으로써 측정될 수 있다.

[0099] 항원에의 결합에 대해 또 다른 항체와 경쟁하는 항체, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 또는 또 다른 항체의 항원에 대한 특이성을 갖는 항체, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체는, 본원에 기재된 바와 같은 상기 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역의 변이체, 예를 들어 CDR 내의 변형 및/또는 본원에 기재된 바와 같은 특정 정도의 동일성을 포함하는 항체일 수 있다.

[0100] 본원에 사용된 "단리된 다중특이적 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 다중특이적 항체를 지칭하는 것으로 의도된다 (예를 들어, CD137 및 PD-L1에 특이적으로 결합하는 단리된 이중특이적 항체는 CD137 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 단일특이적 항체가 실질적으로 없음).

[0101] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 단일 분자 조성의 항체 분자의 제제를 지칭한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다.

[0102] 본원에 사용된 용어 "제1 및 제2 CH3 영역 사이의 이종이량체 상호작용"은 제1-CH3/제2-CH3 이종이량체 항체에서 제1 CH3 영역과 제2 CH3 영역 사이의 상호작용을 지칭한다.

[0103] 본원에 사용된 용어 "제1 및 제2 CH3 영역의 동종이량체 상호작용"은 제1-CH3/제1-CH3 동종이량체 항체에서 제1 CH3 영역과 또 다른 제1 CH3 영역 사이의 상호작용 및 제2-CH3/제2-CH3 동종이량체 항체에서 제2 CH3 영역과 또 다른 제2 CH3 영역 사이의 상호작용을 지칭한다.

[0104] 본원에 사용될 때의 용어 "동종이량체 항체"는 2개의 제1 Fab-아암 또는 절반-분자를 포함하며, 여기서 상기 Fab-아암 또는 절반-분자의 아미노산 서열이 동일한 항체를 지칭한다.

[0105] 본원에 사용될 때의 용어 "이종이량체 항체"는 제1 및 제2 Fab-아암 또는 절반-분자를 포함하며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fab-아암 또는 절반-분자의 아미노산 서열이 상이한 항체를 지칭한다. 특히, 상기 제1 및 제2 Fab-아암/절반-분자의 CH3 영역 또는 항원-결합 영역 또는 CH3 영역 및 항원-결합 영역은 상이하다.

[0106] 용어 "환원 조건" 또는 "환원 환경"은 기질, 예컨대 항체의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기가 산화되기 보다는 환원될 가능성이 더 큰 조건 또는 환경을 지칭한다.

[0107] 본 개시내용은 또한 예의 이중특이적 항체의 VL 영역, VH 영역 또는 1개 이상의 CDR의 기능적 변이체를 포함하

는 다중특이적 항체, 예컨대 이중특이적 항체를 기재한다. 이중특이적 항체와 관련하여 사용된 VL, VH 또는 CDR의 기능적 변이체는 여전히 이중특이적 항체의 각각의 항원-결합 영역이 모 이중특이적 항체의 친화도 및/또는 특이성/선택성의 적어도 실질적인 비율 (적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 초과)을 보유하게 하고, 일부 경우에 이러한 이중특이적 항체는 모 이중특이적 항체보다 더 큰 친화도, 선택성 및/또는 특이성과 연관될 수 있다.

[0108] 이러한 기능적 변이체는 전형적으로 모 이중특이적 항체에 대한 유의한 서열 동일성을 보유한다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은, 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려한, 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다 (즉, % 상동성 = 동일한 위치의 #/위치의 총 # x 100). 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은, 예를 들어 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입된 문헌 [E. Meyers and W. Miller, Comput. Appl. Biosci 4, 11-17 (1988)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 추가로, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 문헌 [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48, 444-453 (1970)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0109] 본 개시내용의 문맥에서, 달리 나타내지 않는 한, 하기 표기법이 돌연변이를 기재하는 데 사용된다: i) 주어진 위치에서의 아미노산의 치환은, 예를 들어 K409R로서 기재되며, 이는 단백질의 위치 409에서의 리신의 아르기닌으로의 치환을 의미하고; ii) 특정 변이체의 경우에 특정 3 또는 1 문자 코드가 사용되며, 이는 임의의 아미노산 잔기를 나타내기 위한 코드 Xaa 및 X를 포함한다. 따라서, 위치 409에서 리신의 아르기닌으로의 치환은 K409R로서 지정되고, 위치 409에서 리신의 임의의 아미노산 잔기로의 치환은 K409X로서 지정된다. 위치 409에서 리신이 결실된 경우에, 이는 K409*로 표시된다.

[0110] 예시적인 변이체는 주로 보존적 치환에 의해 모 서열의 VH 및/또는 VL 및/또는 CDR과 상이한 것을 포함하며; 예를 들어, 변이체 내의 치환 중 12개, 예컨대 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개는 보존적 아미노산 잔기 대체이다.

[0111] 본 개시내용의 문맥에서, 보존적 치환은 표 2 및 3에 정의된 바와 같은 아미노산의 부류 내에서의 치환에 의해 정의될 수 있다.

[0112] 본원에 사용된 용어 "CD137"은 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9 (TNFRSF9)로도 지칭되는 CD137 (4-1BB)을 지칭하며, 이는 리간드 TNFSF9/4-1BBL에 대한 수용체이다. CD137 (4-1BB)은 T-세포 활성화에 관여하는 것으로 여겨진다. CD137에 대한 다른 동의어는 4-1BB 리간드 수용체, CDw137, T-세포 항원 4-1BB 상동체 및 T-세포 항원 ILA를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, CD137 (4-1BB)은 유니프롯 수탁 번호 Q07011을 갖는 인간 CD137 (4-1BB)이다. 인간 CD137의 서열은 또한 서열식별번호: 37에 제시된다. 서열식별번호: 37의 아미노산 1-23은 인간 CD137의 신호 펩티드에 상응하고; 서열식별번호: 37의 아미노산 24-186은 인간 CD137의 세포외 도메인에 상응하고; 단백질의 나머지, 즉 서열식별번호: 37의 아미노산 187-213 및 214-255는 각각 막횡단 및 세포질 도메인이다.

[0113] "프로그램화된 사멸-1 (PD-1)" 수용체는 CD28 패밀리에 속하는 면역억제 수용체를 지칭한다. PD-1 (CD279로도 공지됨)은 생체내에서 이전에 활성화된 T 세포 상에서 우세하게 발현되고, 2종의 리간드인 PD-L1 (B7-H1 또는 CD274로도 공지됨) 및 PD-L2 (B7-DC 또는 CD273으로도 공지됨)에 결합한다. 본원에 사용된 용어 "PD-1"은 인간 PD-1 (hPD-1), hPD-1의 변이체, 이소형 및 종 상동체 및 hPD-1과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 인간 PD-1의 서열은 또한 서열식별번호: 39에 제시된다. "프로그램화된 사멸 리간드-1 (PD-L1)"은 PD-1에 결합 시 T 세포 활성화 및 시토카인 분비를 하향조절하는, PD-1에 대한 2종의 세포 표면 당단백질 리간드 중 하나이다 (다른 것은 PD-L2임).

[0114] 본원에 사용된 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1의 변이체, 이소형 및 종 상동체, 예컨대 마카크 (시노몰구스 원숭이), 아프리카 코끼리, 멧돼지 및 마우스 PD-L1 (예를 들어, 각각 진뱅크(Genbank) 수탁 번호 NP_054862.1, XP_005581836, XP_003413533, XP_005665023 및 NP_068693 참조) 및 hPD-L1과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 인간 PD-L1의 서열은 또한 서열식별번호: 40에 제시되며, 여기서 아미노산 1-18은 신호 펩티드인 것으로 예측된다. 본원에 사용된 용어 "PD-L2"는 인간 PD-L2 (hPD-L2), hPD-L2의 변이체, 이소형 및 종 상동체 및 hPD-L2와 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. PD-1의 리간드 (PD-L1 및 PD-L2)는 항원-제시 세포, 예컨대 수지상 세포 또는 대식세포 및 다른 면역 세포의 표면 상에서 발현된다. PD-1의 PD-L1 또는 PD-L2에 대한 결합은 T 세포 활성화의 하향조절을 유발한다. PD-L1 및/또는 PD-L2를 발현하는 암 세포는 PD-1을 발현하는 T 세포를 스위치 오프할 수 있으며, 이는 항암 면역 반응의 억제를

유발한다. PD-1과 그의 리간드 사이의 상호작용은 종양 침윤 림프구의 감소, T 세포 수용체 매개된 증식의 감소 및 암성 세포에 의한 면역 회피를 유발한다. 면역 억제는 PD-1과 PD-L1의 국부 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있고, 효과는 PD-1과 PD-L2의 상호작용도 또한 차단되는 경우에 상가적이다.

[0115] 본원에 사용된 용어 "기능장애"는 항원 자극에 대한 감소된 면역 반응성의 상태에 있는 면역 세포를 지칭한다. 기능장애는 항원 인식에 대한 미반응성 및 항원 인식을 하류 T 세포 이펙터 기능, 예컨대 증식, 시토카인 생산 (예를 들어, IL-2) 및/또는 표적 세포 사멸로 번역하는 능력의 손상을 포함한다.

[0116] 본원에 사용된 용어 "무반응"은 T 세포 수용체 (TCR)를 통해 전달된 불완전하거나 불충분한 신호로부터 유발되는 항원 자극에 대한 미반응성의 상태를 지칭한다. T 세포 무반응은 또한 공동-자극의 부재 하에 항원으로의 자극 시 발생할 수 있으며, 이는 세포가 심지어 공동-자극의 상황에서도 항원에 의한 후속 활성화에 대해 불응성이 되게 한다. 미반응성 상태는 종종 IL-2의 존재에 의해 중단될 수 있다. 무반응성 T 세포는 클론 확장을 겪지 않고/않거나 이펙터 기능을 획득하지 않는다.

[0117] 본원에 사용된 용어 "소진"은 면역 세포 소진, 예컨대 많은 만성 감염 및 암 동안 발생하는 지속적인 TCR 신호전달로부터 발생하는 T 세포 기능장애의 상태로서의 T 세포 소진을 지칭한다. 이는 불완전 또는 결핍 신호전달을 통해서가 아니라 지속적인 신호전달로부터 발생한다는 점에서 무반응과 구별된다. 소진은 불량한 이펙터 기능, 억제 수용체의 지속적인 발현 및 기능적 이펙터 또는 기억 T 세포의 것과 구별되는 전사 상태에 의해 정의된다. 소진은 질환 (예를 들어, 감염 및 종양)의 최적 제어를 막는다. 소진은 외인성 음성 조절 경로 (예를 들어, 면역조절 시토카인) 뿐만 아니라 세포 내인성 음성 조절 경로 (억제 면역 체크포인트 경로, 예컨대 본원에 기재된 것) 둘 다로부터 발생할 수 있다.

[0118] "T 세포 기능을 증진시키는"은 T 세포가 지속적이거나 증폭된 생물학적 기능을 갖도록 유도, 유발 또는 자극하거나, 또는 소진되거나 불활성인 T 세포를 재생 또는 재활성화시키는 것을 의미한다. T 세포 기능을 증진시키는 것의 예는 CD8+ T 세포로부터의 γ-인터페론의 증가된 분비, 증가된 증식, 증가된 항원 반응성 (예를 들어, 종양 클리어런스) (개입 전 이러한 수준에 비해)을 포함한다. 한 실시양태에서, 증진 수준은 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200% 또는 그 초과이다. 이러한 증진을 측정하는 방식은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0119] 본원에 사용된 용어 "억제 핵산" 또는 "억제 핵산 분자"는 1종 이상의 PD-1 단백질을 완전히 또는 부분적으로 감소시키거나, 억제하거나, 방해하거나 또는 음성적으로 조정하는 핵산 분자, 예를 들어 DNA 또는 RNA를 지칭한다. 억제 핵산 분자는, 비제한적으로, 올리고뉴클레오티드, siRNA, shRNA, 안티센스 DNA 또는 RNA 분자 및 압타머 (예를 들어, DNA 또는 RNA 압타머)를 포함한다.

[0120] 본원에 사용된 용어 "올리고뉴클레오티드"는 단백질 발현, 특히 PD-1 단백질, 예컨대 본원에 기재된 PD-1 단백질의 발현을 감소시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 올리고뉴클레오티드는 전형적으로 2 내지 50개의 뉴클레오티드를 포함하는 짧은 DNA 또는 RNA 분자이다. 올리고뉴클레오티드는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있다. PD-1 억제제 올리고뉴클레오티드는 안티센스-올리고뉴클레오티드일 수 있다.

[0121] 안티센스-올리고뉴클레오티드는 주어진 서열, 특히 PD-1 단백질의 핵산 서열 (또는 그의 단편)의 서열에 대해 상보적인 단일-가닥 DNA 또는 RNA 분자이다. 안티센스 RNA는 전형적으로 mRNA, 예를 들어 PD-1 단백질을 코딩하는 mRNA에 결합함으로서 상기 mRNA의 단백질 번역을 방지하는 데 사용된다. 안티센스 DNA는 전형적으로 특이적인 상보적 (코딩 또는 비-코딩) RNA를 표적화하는 데 사용된다. 결합이 일어나면, 이러한 DNA/RNA 하이브리드는 효소 RNase H에 의해 분해될 수 있다. 더욱이, 모르폴리노 안티센스 올리고뉴클레오티드는 척추동물에서 유전자 녹다운을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Kryczek et al., 2006 (J Exp Med, 203:871-81)]은 대식세포에서 B7-H4 발현을 특이적으로 차단하여 종양 연관 항원 (TAA)-특이적 T 세포를 갖는 마우스에서 증가된 T 세포 증식 및 감소된 종양 부피를 유발하는 B7-H4-특이적 모르폴리노를 설계하였다.

[0122] 용어 "siRNA" 또는 "소형 간섭 RNA" 또는 "소형 억제 RNA"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 상보적 뉴클레오티드 서열을 갖는 특정 유전자, 예컨대 PD-1 단백질을 코딩하는 유전자의 발현을 방해하는 20-25개 염기 쌍의 전형적인 길이를 갖는 이중-가닥 RNA 분자를 지칭한다. 한 실시양태에서, siRNA는 mRNA를 방해하여 번역, 예를 들어 PD-1 단백질의 번역을 차단한다. 외인성 siRNA의 형질감염은 유전자 녹다운을 위해 사용될 수 있지만, 효과는 특히 급속하게 분열하는 세포에서 단지 일시적일 수 있다. 안정한 형질감염은, 예를 들어 RNA 변형에 의해 또는 발현 벡터를 사용함으로써 달성될 수 있다. siRNA를 사용한 세포의 안정한 형질감염을 위한 유용

한 변형 및 벡터는 관련 기술분야에 공지되어 있다. siRNA 서열은 또한 두 가닥 사이에 짧은 루프를 도입하도록 변형되어 "소형 헤어핀 RNA" 또는 "shRNA"를 생성할 수 있다. shRNA는 다이서에 의해 기능적 siRNA로 프로세싱될 수 있다. shRNA는 비교적 낮은 분해 및 전환 비율을 갖는다. 따라서, PD-1 억제제는 shRNA일 수 있다.

[0123] 본원에 사용된 용어 "압타머"는 표적 분자, 예컨대 폴리펩티드에 결합할 수 있는, 전형적으로 25-70개 뉴클레오티드 길이의 단일-가닥 핵산 분자, 예컨대 DNA 또는 RNA를 지칭한다. 한 실시양태에서, 압타머는 PD-1 단백질, 예컨대 본원에 기재된 PD-1 단백질에 결합한다. 예를 들어, 본 개시내용에 따른 압타머는 PD-1 단백질 또는 폴리펩티드에 또는 PD-1 단백질 또는 폴리펩티드의 발현을 조정하는 신호전달 경로 내의 분자에 특이적으로 결합할 수 있다. 압타머의 생성 및 치료 용도는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, US 5,475,096 참조).

[0124] 용어 "소분자 억제제" 또는 "소분자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 상기 기재된 바와 같은 1종 이상의 PD-1 단백질을 완전히 또는 부분적으로 감소시키거나, 억제하거나, 방해하거나 또는 음성으로 조정하는 저분자량, 통상적으로 1000 달톤 이하의 유기 화합물을 지칭한다. 이러한 소분자 억제제는 통상적으로 유기 화학에 의해 합성되지만, 또한 천연 공급원, 예컨대 식물, 진균 및 미생물로부터 단리될 수 있다. 소분자량은 소분자 억제제가 세포 막을 가로질러 급속하게 확산되도록 한다. 예를 들어, 관련 기술분야에 공지된 다양한 A2AR 길항제는 500 달톤 미만의 분자량을 갖는 유기 화합물이다.

[0125] 용어 "세포 기반 요법"은 질환 또는 장애 (예를 들어, 암 질환)를 치료하기 위한 목적으로 PD-1 억제제를 발현하는 세포 (예를 들어, T 림프구, 수지상 세포 또는 줄기 세포)를 대상체 내로 이식하는 것을 지칭한다.

[0126] 본원에 사용된 용어 "종양용해 바이러스"는 시험관내 또는 생체내 암성 또는 과다증식성 세포에서 선택적으로 복제되고, 암성 또는 과다증식성 세포의 성장을 늦추거나 사멸을 유도할 수 있으면서, 정상 세포에 대해서는 효과를 갖지 않거나 최소로 갖는 바이러스를 지칭한다. PD-1 억제제의 전달을 위한 종양용해 바이러스는 억제 핵산 분자, 예컨대 siRNA, shRNA, 올리고뉴클레오티드, 안티센스 DNA 또는 RNA, 압타머, 항체 또는 그의 단편 또는 가용성 PD-1 단백질 또는 융합체인 PD-1 억제제를 코딩할 수 있는 발현 카세트를 포함한다. 종양용해 바이러스는 바람직하게는 복제 적격이고, 발현 카세트는 바이러스 프로모터, 예를 들어 합성 초기/후기 폭스바이러스 프로모터의 제어 하에 있다. 예시적인 종양용해 바이러스는 수포성 구내염 바이러스 (VSV), 랍도바이러스 (예를 들어, 피코르나바이러스, 예컨대 세네카 밸리 바이러스; SVV-001), 콕사키바이러스, 파르보바이러스, 뉴캐슬병 바이러스 (NDV), 단순 포진 바이러스 (HSV; 온코벡스(OncoVEX) GMCSF), 레트로바이러스 (예를 들어, 인플루엔자 바이러스), 홍역 바이러스, 레오바이러스, 신비스 바이러스, WO 2017/209053에 예시적으로 기재된 바와 같은 백시니아 바이러스 (코펜하겐, 웨스턴 리저브, 와이어쓰 균주 포함) 및 아데노바이러스 (예를 들어, 델타-24, 델타-24-RGD, ICOVIR-5, ICOVIR-7, 오닉스-015, ColoAd1, H101, AD5/3-D24-GMCSF)를 포함한다. PD-1 억제제의 가용성 형태를 포함하는 재조합 종양용해 바이러스의 생성 및 그의 사용 방법은 WO 2018/022831 (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시되어 있다. 종양용해 바이러스는 약독화 바이러스로서 사용될 수 있다.

[0127] "치료 주기"는 본원에서 결합제의 약역학으로 인해 결합제의 개별 투여량이 추가되는 효과 내에서의 기간, 또는 다시 말해서 대상체의 신체가 투여된 결합제로부터 본질적으로 청소된 후의 기간으로서 정의된다. 작은 시간 범위 내, 예를 들어 2-24의 몇 시간, 예컨대 2-12시간 이내 또는 동일한 날에서의 다수의 작은 용량은 보다 큰 단일 용량과 동등할 수 있다.

[0128] 본 문맥에서, 용어 "치료", "치료하는" 또는 "치료적 개입"은 질환 또는 장애와 같은 상태와 싸우기 위한 목적의 대상체의 관리 및 치유에 관한 것이다. 상기 용어는 대상체가 앓고 있는 소정의 상태에 대한 전체 범위의 치료, 예컨대 증상 또는 합병증을 완화시키고/거나, 질환, 장애 또는 상태의 진행을 지연시키고/거나, 증상 및 합병증을 완화 또는 경감시키고/거나, 질환, 장애 또는 상태를 치유 또는 제거하는 치료상 유효한 화합물의 투여, 뿐만 아니라 상태의 예방을 포함하는 것으로 의도되며, 여기서 예방은 질환, 상태 또는 장애와 싸우기 위한 목적의 개체의 관리 및 치유로서 이해되어야 하고, 증상 또는 합병증의 발병을 예방하기 위한 활성 화합물의 투여를 포함한다. 한 실시양태에서, "치료"는 증상 또는 질환 상태의 완화, 호전, 정지 또는 근절 (치유)을 목적으로 한 유효량의 본 개시내용의 치료 활성 결합제, 예컨대 치료 활성 항체의 투여를 지칭한다.

[0129] 본 개시내용의 결합제를 사용한 치료에 대한 반응뿐만 아니라 치료에 대한 저항성, 그에 대한 반응 실패 및/또는 그로부터의 재발은 고형 종양의 반응 평가 기준; 버전 1.1 (RECIST 기준 v1.1)에 따라 결정될 수 있다. RECIST 기준은 하기 표에 제시된다 (LD: 가장 긴 치수).

[0130] 표 4: 반응의 정의 (RECIST 기준 v1.1)

	카테고리	기준
표적 병변에 기초함	완전 반응 (CR)	모든 표적 병변의 소멸. 임의의 병리학적 림프절은 짧은 축에서 < 10 mm 로 감소되어야 함.
	부분 반응 (PR)	기준선 합계 LD 를 참조로 하여, 표적 병변의 LD 의 합계의 ≥ 30% 감소.
	안정 질환 (SD)	치료를 시작한 이후 LD 의 최소 합계를 참조로 하여, PR 에 대한 자격을 갖기에 충분한 수축도 PD 에 대한 자격을 갖기에 충분한 증가도 아님.
	진행성 질환 (PD)	치료를 시작한 이후 기록된 LD 의 최소 합계를 참조로 하여, 표적 병변의 LD 의 합계의 ≥ 20% 증가, 또는 1 개 이상의 새로운 병변의 출현.
비-표적 병변에 기초함	CR	모든 비-표적 병변의 소멸 및 종양 마커 수준의 정상화. 모든 림프절은 크기가 비-병리학적이어야 함 (짧은 축에서 < 10 mm).
	SD	1 개 이상의 비-표적 병변(들)의 지속 또는/및 정상 한계치 초과의 종양 마커 수준의 유지.
	PD	1 개 이상의 새로운 병변의 출현 및/또는 기존 비-표적 병변의 명백한 진행.

[0131]

[0132] "최상의 전체 반응"은 치료 시작부터 질환 진행/재발까지 기록된 최상의 반응이다 (치료 시작 이후 기록된 가장 작은 측정치가 PD에 대한 참조로서 사용될 것임). CR 또는 PR을 갖는 대상체는 객관적 반응자인 것으로 간주된다. CR, PR 또는 SD를 갖는 대상체는 질환 제어 하에 있는 것으로 간주된다. NE를 갖는 대상체는 비-반응자로서 카운팅된다. "최상의 전체 반응"은 치료 시작부터 질환 진행/재발까지 기록된 최상의 반응이다 (치료 시작 이후 기록된 가장 작은 측정치가 PD에 대한 참조로서 사용될 것임). CR, PR 또는 SD를 갖는 대상체는 질환 제어 하에 있는 것으로 간주된다. NE를 갖는 대상체는 비-반응자로서 카운팅된다.

[0133] "반응 지속기간 (DOR)"은 확인된 최상의 전체 반응이 CR 또는 PR인 대상체에만 적용되고, 객관적 종양 반응 (CR 또는 PR)의 최초 기록으로부터 최초 PD 또는 기저 암으로 인한 사망 일까지의 시간으로서 정의된다.

[0134] "무진행 생존 (PFS)"은 제1주기의 제1일부터 최초 기록된 진행 또는 임의의 원인으로 인한 사망까지의 일수로서 정의된다.

[0135] "전체 생존 (OS)"은 제1주기의 제1일부터 임의의 원인으로 인한 사망까지의 일수로서 정의된다. 대상체가 사망한 것으로 알려지지 않은 경우에, 이때 OS는 대상체가 살아있는 것으로 알려진 가장 늦은 일자에 (컷-오프 일자에 또는 그 전에) 중도절단될 것이다.

[0136] 본 개시내용의 문맥에서, 용어 "치료 요법"은 건강을 개선하고 유지하도록 설계된 구조화된 치료 계획을 지칭한다.

[0137] 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 필요한 투여량에서 필요한 기간 동안 목적하는 치료 결과를 달성하는 데 효과적인 양을 지칭한다. 결합제, 예컨대 항체, 예컨대 다중특이적 항체 또는 모노클로날 항체의 치료 유효량은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 목적하는 반응을 도출하는 결합제의 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 치료 유효량은 또한 결합제 또는 그의 단편의 임의의 독성 또는 유해 효과를 치료상 유익한 효과가 능가하는 양이다. 환자에서의 반응이 초기 용량으로 불충분한 경우에, 더 높은 용량 (또는 상이한, 보다 국재화된 투여 경로에 의해 달성되는 효과적으로 더 높은 용량)이 사용될 수 있다. 환자에서 소정 용량으로 원치 않는 부작용이 발생하는 경우에, 더 낮은 용량 (또는 상이한, 보다 국재화된 투여 경로에 의해 달성되는 효과적으로 더 낮은 용량)이 사용될 수 있다.

[0138] 본원에 사용된 용어 "암"은 이상 조절된 세포 성장, 증식, 분화, 부착 및/또는 이동을 특징으로 하는 질환을 포함한다. "암 세포"는 급속한 비제어된 세포 증식에 의해 성장하고 새로운 성장을 개시한 자극이 중지된 후에 계속 성장하는 비정상적 세포를 의미한다.

[0139] 본 개시내용에 따른 용어 "암"은 또한 암 전이를 포함한다. "전이"는 암 세포의 그의 원래 부위로부터 신체의 또 다른 부분으로의 확산을 의미한다. 전이의 형성은 매우 복잡한 과정이고, 악성 세포의 원발성 종양으로부터의 탈착, 세포외 매트릭스의 침습, 내피 기저 막의 침투에 의한 체강 및 혈관으로의 진입, 및 이어서 혈액에 의한 수송 후 표적 기관의 침윤에 좌우된다. 최종적으로, 표적 부위에서의 새로운 종양, 즉 속발성 종양 또는 전이성 종양의 성장은 혈관신생에 좌우된다. 종양 전이는 종종 원발성 종양의 제거 후에도 일어나는데, 이는 종

양 세포 또는 성분이 남아 전이 잠재력을 발생시킬 수 있기 때문이다. 한 실시양태에서, 본 개시내용에 따른 용어 "전이"는 원발성 종양 및 부위 림프절 시스템으로부터 떨어진 전이에 관한 "원격 전이"에 관한 것이다.

[0140] 본원에 사용된 용어, 예컨대 "감소시키다", "억제하다", "방해하다" 및 "음성 조정하다"는 수준의, 예를 들어 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상 또는 약 75% 이상의 전체 감소를 유발하는 능력을 의미한다. 용어 "억제하다" 또는 유사한 어구는 완전한 또는 본질적으로 완전한 억제, 즉 0 또는 본질적으로 0으로의 감소를 포함한다.

[0141] 한 실시양태에서 "증가시키다" 또는 "증진시키다"와 같은 용어는 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 100%만큼의 증가 또는 증진에 관한 것이다.

[0142] 본원에 사용된 "생리학적 pH"는 7.5 또는 약 7.5의 pH를 지칭한다.

[0143] 본 개시내용에 사용된 "중량%"는 그램 (g) 단위의 총 조성물의 총 중량의 퍼센트로서 표현된 그램 (g) 단위의 물질의 양을 측정하는 농도의 단위인 중량 퍼센트를 지칭한다.

[0144] 용어 "TPS" 또는 "종양 비율 점수"는 세포 막 상에서 PD-L1을 발현하는 종양 세포의 백분율을 지칭한다. TPS는 전형적으로 임의의 강도 (약한, 중간 또는 강한 강도)로 PD-L1을 발현하는 신생물성 세포의 백분율을 포함하며, 이는 WO 2014/100079에 기재된 진단 항-인간 PD-L1 mAb, 예를 들어 항체 20C3 및 항체 22C3을 사용하는 면역조직화학 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 세포는 부분 막 염색을 갖는 세포를 비롯하여, 막 염색이 존재하는 경우에 PD-L1을 발현하는 것으로 간주된다.

[0145] 용어 "동결"은 통상적으로 열의 제거에 의한 액체의 응고에 관한 것이다.

[0146] 용어 "동결건조시키는" 또는 "동결건조"는 물질을 동결시킨 다음 주위 압력을 감소시켜 (예를 들어, 15 Pa 미만, 예컨대 10 Pa 미만, 5 Pa 미만 또는 1 Pa 이하) 물질 내의 동결된 매질이 고체 상에서 기체 상으로 직접 승화되게 함으로써 물질을 동결-건조시키는 것을 지칭한다. 따라서, 용어 "동결건조" 및 동결-건조"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0147] 본 개시내용과 관련하여 용어 "재조합"은 "유전자 조작을 통해 제조됨"을 의미한다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 문맥에서 "재조합 대상"은 자연 발생이 아니다.

[0148] 본원에 사용된 용어 "자연 발생"은 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 유기체 (바이러스 포함)에 존재하고 자연에서 공급원으로부터 단리될 수 있으며 실험실에서 인간에 의해 의도적으로 변형되지 않은 펩티드 또는 핵산은 자연 발생이다. 용어 "자연에서 발견되는"은 "자연에 존재하는"을 의미하고, 알려진 대상뿐만 아니라 자연으로부터 아직 발견 및/또는 단리되지 않았으나 향후에 천연 공급원으로부터 발견 및/또는 단리될 수 있는 대상을 포함한다.

[0149] 본 개시내용에 따르면, 용어 "펩티드"는 올리고- 및 폴리펩티드를 포함하고, 펩티드 결합을 통해 서로 연결된 약 2개 이상, 약 3개 이상, 약 4개 이상, 약 6개 이상, 약 8개 이상, 약 10개 이상, 약 13개 이상, 약 16개 이상, 약 20개 이상 및 약 50개, 약 100개 또는 약 150개 이하의 연속 아미노산을 포함하는 물질을 지칭한다. 용어 "단백질"은 큰 펩티드, 특히 적어도 약 151개의 아미노산을 갖는 펩티드를 지칭하지만, 용어 "펩티드" 및 "단백질"은 본원에서 통상적으로 동의어로서 사용된다.

[0150] "치료 단백질"은 대상체에게 치료 유효량으로 제공되는 경우에 대상체의 상태 또는 질환 상태에 대해 긍정적이거나 유리한 효과를 갖는다. 한 실시양태에서, 치료 단백질은 치유적 또는 완화적 특성을 갖고, 질환 또는 장애의 1종 이상의 증상을 호전시키거나, 경감시키거나, 완화시키거나, 역전시키거나, 그의 발병을 지연시키거나 또는 그의 중증도를 줄이기 위해 투여될 수 있다. 치료 단백질은 예방적 특성을 가질 수 있고, 질환의 발병을 지연시키거나 또는 이러한 질환 또는 병리학적 상태의 중증도를 줄이는 데 사용될 수 있다. 용어 "치료 단백질"은 전체 단백질 또는 펩티드를 포함하고, 또한 그의 치료 활성 단편을 지칭할 수 있다. 이는 또한 단백질의 치료 활성 변이체를 포함할 수 있다. 치료 활성 단백질의 예는 백신접종을 위한 항원 및 면역자극제, 예컨대 시토카인을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0151] 용어 "부분"은 분획을 지칭한다. 특정한 구조, 예컨대 아미노산 서열 또는 단백질에 관하여, 용어 그의 "부분"은 상기 구조의 연속 또는 불연속 분획을 지정할 수 있다.

[0152] 용어 "일부" 및 "단편"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 연속 요소를 지칭한다. 예를 들어, 아미노산 서열 또는 단백질과 같은 구조의 일부는 상기 구조의 연속 요소를 지칭한다. 조성물과 관련하여 사용될 때, 용

어 "일부"는 조성물의 한 부분을 의미한다. 예를 들어, 조성물의 일부는 상기 조성물의 0.1% 내지 99.9%의 임의의 부분 (예컨대 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 50%, 90% 또는 99%)일 수 있다.

[0153] 아미노산 서열 (펩티드 또는 단백질)과 관련하여 "단편"은 아미노산 서열의 일부, 즉 N-말단 및/또는 C-말단에서 단축된 아미노산 서열을 나타내는 서열에 관한 것이다. C-말단에서 단축된 단편 (N-말단 단편)은, 예를 들어 오픈 리딩 프레임의 3'-단부가 결여된 말단절단된 오픈 리딩 프레임의 번역에 의해 수득가능하다. N-말단에서 단축된 단편 (C-말단 단편)은, 예를 들어 오픈 리딩 프레임의 5'-단부가 결여된 말단절단된 오픈 리딩 프레임의 번역에 의해 수득가능하며, 다만 말단절단된 오픈 리딩 프레임은 번역을 개시하는 역할을 하는 개시 코돈을 포함해야 한다. 아미노산 서열의 단편은, 예를 들어 아미노산 서열로부터의 아미노산 잔기의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%를 포함한다. 아미노산 서열의 단편은 바람직하게는 아미노산 서열로부터의 적어도 6개, 특히 적어도 8개, 적어도 12개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 50개 또는 적어도 100개의 연속 아미노산을 포함한다.

[0154] 본 개시내용에 따르면, 펩티드 또는 단백질의 일부 또는 단편은 바람직하게는 그것이 유래된 펩티드 또는 단백질의 적어도 1종의 기능적 특성을 갖는다. 이러한 기능적 특성은 약리학적 활성, 다른 펩티드 또는 단백질과의 상호작용, 효소적 활성, 항체와의 상호작용 및 핵산의 선택적 결합을 포함한다. 예를 들어, 펩티드 또는 단백질의 약리학적 활성 단편은 단편이 유래된 펩티드 또는 단백질의 약리학적 활성 중 적어도 1종을 갖는다. 펩티드 또는 단백질의 일부 또는 단편은 바람직하게는 펩티드 또는 단백질의 적어도 6개, 특히 적어도 8개, 적어도 10개, 적어도 12개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 30개 또는 적어도 50개의 연속 아미노산의 서열을 포함한다. 펩티드 또는 단백질의 일부 또는 단편은 바람직하게는 펩티드 또는 단백질의 8개 이하, 특히 10개 이하, 12개 이하, 15개 이하, 20개 이하, 30개 이하 또는 55개 이하의 연속 아미노산의 서열을 포함한다.

[0155] 본원에서 "변이체"는 적어도 1개의 아미노산 변형에 의해 모 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 의미한다. 모 아미노산 서열은 자연 발생 또는 야생형 (WT) 아미노산 서열일 수 있거나 또는 야생형 아미노산 서열의 변형된 버전일 수 있다. 바람직하게는, 변이체 아미노산 서열은 모 아미노산 서열과 비교하여 적어도 1개의 아미노산 변형, 예를 들어 모 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 약 20개의 아미노산 변형, 바람직하게는 1 내지 약 10개 또는 1 내지 약 5개의 아미노산 변형을 갖는다.

[0156] 본원에서 "야생형" 또는 "WT" 또는 "천연"은 대립유전자 변이를 포함한, 자연에서 발견되는 아미노산 서열을 의미한다. 야생형 아미노산 서열, 펩티드 또는 단백질은 의도적으로 변형되지 않은 아미노산 서열을 갖는다.

[0157] 바람직하게는, 소정의 아미노산 서열과 상기 소정의 아미노산 서열의 변이체인 아미노산 서열 사이의 유사성, 바람직하게는 동일성의 정도는 적어도 약 60%, 70%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 것이다. 유사성 또는 동일성의 정도는 바람직하게는 참조 아미노산 서열의 전체 길이의 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%인 아미노산 영역에 대해 주어진다. 예를 들어, 참조 아미노산 서열이 200개의 아미노산으로 이루어진 경우에, 유사성 또는 동일성의 정도는 바람직하게는 적어도 약 20개, 적어도 약 40개, 적어도 약 60개, 적어도 약 80개, 적어도 약 100개, 적어도 약 120개, 적어도 약 140개, 적어도 약 160개, 적어도 약 180개 또는 약 200개의 아미노산, 일부 실시양태에서는 연속 아미노산에 대해 주어진다. 일부 실시양태에서, 유사성 또는 동일성의 정도는 참조 아미노산 서열의 전체 길이에 대해 주어진다. 서열 유사성, 바람직하게는 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 관련 기술분야에 공지된 도구를 사용하여, 바람직하게는 최상의 서열 정렬을 사용하여, 예를 들어 얼라인(Align)을 사용하여, 표준 설정, 바람직하게는 EMBOSS::needle, 매트릭스: Blosum62, 갭 개방 10.0, 갭 연장 0.5를 사용하여 수행될 수 있다.

[0158] "서열 유사성"은 동일하거나 또는 보존적 아미노산 치환을 나타내는 아미노산의 백분율을 나타낸다. 2개의 아미노산 서열 사이의 "서열 동일성"은 서열 사이에 동일한 아미노산의 백분율을 나타낸다. 2개의 핵산 서열 사이의 "서열 동일성"은 서열 사이에 동일한 뉴클레오티드의 백분율을 나타낸다.

[0159] 용어 "% 동일한" 및 "% 동일성" 또는 유사한 용어는 특히 비교될 서열 사이의 최적 정렬에서 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산의 백분율을 지칭하는 것으로 의도된다. 상기 백분율은 순전히 통계적이며, 2개의 서열 사이의 차이는 비교될 서열의 전체 길이에 걸쳐 무작위로 분포될 수 있지만 반드시 그런 것은 아니다. 2개의 서열의 비교는 통상적으로 상응하는 서열의 국부 영역을 확인하기 위해 절편 또는 "비교 윈도우"에 관하여 최적 정렬 후 서열을 비교함으로써 수행된다. 비교를 위한 최적 정렬은 수동으로 또는 문헌 [Smith and Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482]의 국부 상동성 알고리즘의 보조로, 문헌 [Neddleman and Wunsch, 1970, J. Mol.

Biol. 48, 443]의 국부 상동성 알고리즘의 보조로, 문헌 [Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2444]의 유사성 검색 알고리즘의 보조로, 또는 상기 알고리즘을 사용하는 컴퓨터 프로그램 (위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package) 내의 GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N 및 TFASTA)의 보조로 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 2개의 서열의 퍼센트 동일성은 미국 국립 생물 정보 센터 (NCBI) 웹사이트 (예를 들어, blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)에서 이용가능한 바와 같은 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, NCBI 웹사이트 상의 BLASTN 알고리즘에 사용되는 알고리즘 파라미터는 하기를 포함한다: (i) 10으로 설정된 예상 한계값; (ii) 28로 설정된 워드 크기; (iii) 0으로 설정된 질의 범위 내의 최대 매치; (iv) 1, -2로 설정된 매치/미스매치 점수; (v) 선형으로 설정된 갭 비용; 및 (vi) 낮은 복잡성 영역에 대한 필터 사용. 일부 실시양태에서, NCBI 웹사이트 상의 BLASTP 알고리즘에 사용되는 알고리즘 파라미터는 하기를 포함한다: (i) 10으로 설정된 예상 한계값; (ii) 3으로 설정된 워드 크기; (iii) 0으로 설정된 질의 범위 내의 최대 매치; (iv) BLOSUM62로 설정된 매트릭스; (v) 존재: 11 연장: 1로 설정된 갭 비용; 및 (vi) 조건부 조성 점수 매트릭스 조정.

[0160] 백분율 동일성은 비교될 서열이 상응하는 동일한 위치의 수를 결정하고, 이 수를 비교된 위치의 수 (예를 들어, 참조 서열에서의 위치의 수)로 나누고, 이 결과에 100을 곱함으로써 수득된다.

[0161] 일부 실시양태에서, 유사성 또는 동일성의 정도는 참조 서열의 전체 길이의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 약 100%인 영역에 대해 주어진다. 예를 들어, 참조 아미노산 서열이 200개의 아미노산 잔기로 이루어진 경우에, 동일성 정도는 적어도 약 100개, 적어도 약 120개, 적어도 약 140개, 적어도 약 160개, 적어도 약 180개 또는 약 200개의 아미노산 잔기, 일부 실시양태에서는 연속 아미노산 잔기에 대해 주어진다. 일부 실시양태에서, 유사성 또는 동일성의 정도는 참조 서열의 전체 길이에 대해 주어진다.

[0162] 상동 아미노산 서열은 본 개시내용에 따라 아미노산 잔기의 적어도 40%, 특히 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 적어도 98 또는 적어도 99% 동일성을 나타낸다.

[0163] 본원에 기재된 아미노산 서열 변이체는 통상의 기술자에 의해, 예를 들어 재조합 DNA 조작에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 치환, 부가, 삽입 또는 결실을 갖는 펩티드 또는 단백질을 제조하기 위한 DNA 서열의 조작은, 예를 들어 문헌 [Sambrook et al. (1989)]에 상세히 기재되어 있다. 추가로, 본원에 기재된 펩티드 및 아미노산 변이체는 공지된 펩티드 합성 기술의 보조로, 예컨대, 예를 들어 고체 상 합성 및 유사한 방법에 의해 용이하게 제조될 수 있다.

[0164] 한 실시양태에서, 아미노산 서열의 단편 또는 변이체 (펩티드 또는 단백질)는 바람직하게는 "기능적 단편" 또는 "기능적 변이체"이다. 용어 아미노산 서열의 "기능적 단편" 또는 "기능적 변이체"는 그것이 유래된 아미노산 서열의 것과 동일하거나 유사한 1종 이상의 기능적 특성을 나타내는 임의의 단편 또는 변이체에 관한 것이며, 즉 이는 기능적으로 등가이다. 항원 또는 항원성 서열에 관하여, 하나의 특정한 기능은 단편 또는 변이체가 유래된 아미노산 서열에 의해 나타나는 1종 이상의 면역원성 활성이다. 본원에 사용된 용어 "기능적 단편" 또는 "기능적 변이체"는 특히 모 분자 또는 서열의 아미노산 서열과 비교하여 1개 이상의 아미노산만큼 변경되고 모 분자 또는 서열의 기능 중 1종 이상을 여전히 충족시킬 수 있는, 예를 들어 면역 반응을 유도할 수 있는 아미노산 서열을 포함하는 변이체 분자 또는 서열을 지칭한다. 한 실시양태에서, 모 분자 또는 서열의 아미노산 서열 내의 변형은 분자 또는 서열의 특징에 유의하게 영향을 미치거나 이를 변경시키지 않는다. 상이한 실시양태에서, 기능적 단편 또는 기능적 변이체의 기능은 감소될 수 있지만 여전히 유의하게 존재할 수 있으며, 예를 들어 기능적 변이체의 면역원성은 모 분자 또는 서열의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%일 수 있다. 그러나, 다른 실시양태에서, 기능적 단편 또는 기능적 변이체의 면역원성은 모 분자 또는 서열과 비교하여 증진될 수 있다.

[0165] 지정된 아미노산 서열 (펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드)"로부터 유래된" 아미노산 서열 (펩티드, 단백질 또는 폴리펩티드)은 제1 아미노산 서열의 기원을 지칭한다. 바람직하게는, 특정한 아미노산 서열로부터 유래된 아미노산 서열은 그 특정한 서열 또는 그의 단편과 동일하거나, 본질적으로 동일하거나 또는 상동인 아미노산 서열을 갖는다. 특정한 아미노산 서열로부터 유래된 아미노산 서열은 그 특정한 서열 또는 그의 단편의 변이체일 수 있다. 예를 들어, 본원에 사용하기에 적합한 항원은 천연 서열의 바람직한 활성을 보유하면서 이들이 유래된 자연 발생 또는 천연 서열과 서열이 달라지도록 변경될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다.

[0166] "단리된"은 천연 상태로부터 변경 또는 제거된 것을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 자연적으로 존재하는 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이 아니지만, 그의 천연 상태의 공존하는 물질로부터 부분적으로 또는 완전히 분리된 동일한 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있거나 또는 비-천연 환경, 예컨대, 예를 들어 숙주 세포에 존재할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 개시내용에 사용된 결합제는 실질적으로 정제된 형태이다.

[0167] 용어 "유전자 변형" 또는 간단히 "변형"은 세포를 핵산으로 형질감염시키는 것을 포함한다. 용어 "형질감염"은 세포 내로의 핵산, 특히 RNA의 도입에 관한 것이다. 본 개시내용의 목적상, 용어 "형질감염"은 또한 세포 내로의 핵산의 도입 또는 이러한 세포에 의한 핵산의 흡수를 포함하며, 여기서 세포는 대상체, 예를 들어 환자에 존재할 수 있다. 따라서, 본 개시내용에 따르면, 본원에 기재된 핵산의 형질감염을 위한 세포는 시험관내 또는 생체내에 존재할 수 있으며, 예를 들어 세포는 환자의 기관, 조직 및/또는 유기체의 일부를 형성할 수 있다. 본 개시내용에 따르면, 형질감염은 일시적이거나 안정할 수 있다. 형질감염의 일부 적용의 경우, 형질감염된 유전 물질이 단지 일시적으로 발현되는 것으로 충분하다. RNA는 세포 내로 형질감염되어 그의 코딩된 단백질을 일시적으로 발현할 수 있다. 형질감염 과정에서 도입된 핵산은 통상적으로 핵 게놈 내로 통합되지 않기 때문에, 외래 핵산은 유사분열을 통해 희석되거나 또는 분해될 것이다. 핵산의 에피솜 증폭을 허용하는 세포는 희석 속도를 크게 감소시킨다. 형질감염된 핵산이 실제로 세포 및 그의 딸 세포의 게놈에 남아있는 것이 요망되는 경우에, 안정한 형질감염이 일어나야 한다. 이러한 안정한 형질감염은 형질감염을 위한 바이러스-기반 시스템 또는 트랜스포손-기반 시스템을 사용하여 달성될 수 있다. 일반적으로, 항원을 코딩하는 핵산은 세포 내로 일시적으로 형질감염된다. RNA는 세포 내로 형질감염되어 그의 코딩된 단백질을 일시적으로 발현할 수 있다.

[0168] 본 개시내용에 따르면, 펩티드 또는 단백질의 유사체는 그것이 유래된 상기 펩티드 또는 단백질의 변형된 형태이고, 상기 펩티드 또는 단백질의 적어도 1종의 기능적 특성을 갖는다. 예를 들어, 펩티드 또는 단백질의 약리학적 활성 유사체는 유사체가 유래된 펩티드 또는 단백질의 적어도 1종의 약리학적 활성을 갖는다. 이러한 변형은 임의의 화학적 변형을 포함하고, 단백질 또는 펩티드와 연관된 임의의 분자, 예컨대 탄수화물, 지질 및/또는 단백질 또는 펩티드의 단일 또는 다중 치환, 결실 및/또는 부가를 포함한다. 한 실시양태에서, 단백질 또는 펩티드의 "유사체"는 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 팔미토일화, 미리스토일화, 이소프레닐화, 지질화, 알킬화, 유도체화, 보호/차단 기의 도입, 단백질분해적 절단 또는 항체 또는 또 다른 세포 리간드에 대한 결합으로부터 생성된 변형된 형태를 포함한다. 용어 "유사체"는 또한 상기 단백질 및 펩티드의 모든 기능적 화학적 등가물로 확장된다.

[0169] 본원에 사용된 "활성화" 또는 "자극"은 검출가능한 세포 증식을 유도하기에 충분히 자극된 면역 이펙터 세포, 예컨대 T 세포의 상태를 지칭한다. 활성화는 또한 신호전달 경로의 개시, 유도된 시토카인 생산 및 검출가능한 이펙터 기능과 연관될 수 있다. 용어 "활성화된 면역 이펙터 세포"는 특히 세포 분열을 겪고 있는 면역 이펙터 세포를 지칭한다.

[0170] 용어 "프라이밍"은 면역 이펙터 세포, 예컨대 T 세포가 그의 특이적 항원과 그의 최초 접촉을 갖고 이펙터 세포, 예컨대 이펙터 T 세포로의 분화를 유발하는 과정을 지칭한다.

[0171] 용어 "클론 확장" 또는 "확장"은 특정 엔티티가 증식되는 과정을 지칭한다. 본 개시내용의 문맥에서, 상기 용어는 바람직하게는 면역 이펙터 세포가 항원에 의해 자극되고, 증식하고, 상기 항원을 인식하는 특이적 면역 이펙터 세포가 증폭되는 면역학적 반응의 맥락에서 사용된다. 바람직하게는, 클론 확장은 면역 이펙터 세포의 분화로 이어진다.

[0172] 본 개시내용에 따른 "항원"은 면역 반응을 도출할 임의의 물질 및/또는 면역 반응 또는 면역 메카니즘, 예컨대 세포성 반응이 지시되는 임의의 물질을 포함한다. 이는 또한 항원이 항원 펩티드로 프로세싱되고, 면역 반응 또는 면역 메카니즘이, 특히 MHC 분자와 관련하여 제시되는 경우 1종 이상의 항원 펩티드에 대해 지시되는 상황을 포함한다. 특히, "항원"은 항체 또는 T-림프구 (T-세포)와 특이적으로 반응하는 임의의 물질, 바람직하게는 펩티드 또는 단백질에 관한 것이다. 본 개시내용에 따르면, 용어 "항원"은 적어도 1개의 에피토프, 예컨대 T 세포 에피토프를 포함하는 임의의 분자를 포함한다. 바람직하게는, 본 개시내용의 문맥에서 항원은, 임의로 프로세싱 후에, 바람직하게는 항원 (항원을 발현하는 세포 포함)에 특이적인 면역 반응을 유도하는 분자이다. 한 실시양태에서, 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양 항원, 바이러스 항원 또는 박테리아 항원, 또는 이러한 항원으로부터 유래된 에피토프이다.

[0173] 용어 "에피토프"는 분자, 예컨대 항원 내의 항원 결정기, 즉 면역계에 의해 인식되는, 예를 들어 특히 MHC 분자

와 관련하여 제시되는 경우 항체 T 세포 또는 B 세포에 의해 인식되는 분자 내의 일부 또는 그의 단편을 지칭한다. 한 실시양태에서, "에피토프"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정기를 의미한다. 에피토프는 통상적으로 분자, 예컨대 아미노산 또는 당 측쇄의 표면 그룹핑으로 이루어지고, 통상적으로 특이적 3차원 구조적 특징, 뿐만 아니라 특이적 전하 특징을 갖는다. 입체형태적 및 비-입체형태적 에피토프는 변성 용매의 존재 하에 전자에 대한 결합은 상실되지만 후자에 대한 결합은 상실되지 않는다는 점에서 구별된다. 에피토프는 결합에 직접 관여하는 아미노산 잔기 및 결합에 직접 관여하지 않는 다른 아미노산 잔기, 예컨대 특이적 항원-결합 펩티드에 의해 효과적으로 차단되거나 커버되는 아미노산 잔기 (다시 말해서, 이러한 아미노산 잔기는 특이적 항원-결합 펩티드의 풋프린트 내에 있음)를 포함할 수 있다.

[0174] 단백질의 에피토프는 바람직하게는 상기 단백질의 연속 또는 불연속 부분을 포함하고, 바람직하게는 약 5 내지 약 100개, 바람직하게는 약 5 내지 약 50개, 보다 바람직하게는 약 8 내지 약 0개, 가장 바람직하게는 약 10 내지 약 25개 아미노산 길이이고, 예를 들어 에피토프는 바람직하게는 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개 아미노산 길이일 수 있다. 본 개시내용과 관련하여 에피토프가 T 세포 에피토프인 것이 특히 바람직하다.

[0175] 본원에 사용된 용어 "임의적인" 또는 "임의로"는 후속적으로 기재된 사건, 상황 또는 상태가 발생할 수 있거나 발생하지 않을 수 있고, 상기 기재가 상기 사건, 상황 또는 상태가 발생하는 경우 및 발생하지 않는 경우를 포함한다는 것을 의미한다.

[0176] 본원에 사용된 용어 "연결된", "융합된" 또는 "융합"은 상호교환가능하게 사용된다. 이들 용어는 2개 이상의 요소 또는 성분 또는 도메인을 함께 연결하는 것을 지칭한다.

[0177] 용어 "질환" (본원에서 "장애"로도 지칭됨)은 개체의 신체에 영향을 미치는 비정상적 상태를 지칭한다. 질환은 종종 특정 증상 및 징후와 연관된 의학적 상태로 해석된다. 질환은 원래 외부 공급원으로부터의 인자, 예컨대 감염성 질환에 의해 유발될 수 있거나, 또는 내부 기능장애, 예컨대 자가면역 질환에 의해 유발될 수 있다. 인간에서, "질환"은 종종 이를 앓는 개체에 대해 통증, 기능장애, 고통, 사회적 문제 또는 사망을 유발하거나 또는 이러한 개체와 접촉하는 자들에 대해 유사한 문제를 유발하는 임의의 상태를 지칭하는 것으로 보다 광범위하게 사용된다. 이러한 보다 넓은 의미에서, 이는 때때로 손상, 불능, 장애, 증후군, 감염, 고립성 증상, 일탈 행동 및 구조 및 기능의 비정형 변이를 포함하지만, 다른 문맥에서 및 다른 목적을 위해 이들은 구별가능한 카테고리로 간주될 수 있다. 질환은 통상적으로 개체에게 신체적으로뿐만 아니라 정서적으로도 영향을 미치는데, 이는 많은 질환에 걸려 생활하게 되면 삶에 대한 관점과 성격이 바뀔 수 있기 때문이다.

[0178] 용어 "치유적 치료"는 개체의 건강 상태를 개선시키고/거나 수명을 연장 (증가)시키는 임의의 치료에 관한 것이다. 상기 치료는 개체에서 질환을 제거하고/거나, 개체에서 질환의 발생을 정지 또는 늦추고/거나, 개체에서 질환의 발생을 억제 또는 늦추고/거나, 개체에서 증상의 빈도 또는 중증도를 감소시키고/거나, 현재 질환을 갖거나 이전에 질환을 가졌던 개체에서 재발을 감소시킬 수 있다.

[0179] 용어 "예방적 치료" 또는 "예방 치료"는 개체에서 질환이 발생하는 것을 예방하는 것으로 의도된 임의의 치료에 관한 것이다. 용어 "예방적 치료" 또는 "예방 치료"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 유사하게, 질환의 진행, 예컨대 종양 또는 암의 진행과 관련하여 용어 "예방하는 방법"은 개체에서 질환이 진행하는 것을 예방하는 것으로 의도된 임의의 방법에 관한 것이다.

[0180] 용어 "개체" 및 "대상체"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 이들은 인간 또는 또 다른 포유동물 (예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 개, 고양이, 소, 돼지, 양, 말 또는 영장류) 또는 임의의 다른 비-포유동물-동물, 예컨대 조류 (닭), 어류, 또는 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)를 앓을 수 있거나 그에 걸리기 쉬운 임의의 다른 동물 종을 지칭한다. 달리 언급되지 않는 한, 용어 "개체" 및 "대상체"는 특정한 연령을 나타내지 않고, 따라서 성인, 노인, 소아 및 신생아를 포괄한다. 본 개시내용의 실시양태에서, "개체" 또는 "대상체"는 "환자"이다.

[0181] 용어 "환자"는 치료를 위한 개체 또는 대상체, 특히 이환된 개체 또는 대상체를 의미한다.

[0182] **본 개시내용의 측면 및 실시양태**

[0183] 제1 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 결합제로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 프로그램화된 사멸-1 (PD-1)에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 결합제는

CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고,

[0184] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0185] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0186] 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0187] 결합제를 제공한다.

[0188] CD137 및 PD-L1에 결합하는 결합제

[0189] 한 실시양태에서, CD137은 인간 CD137, 특히 서열식별번호: 38에 제시된 서열을 포함하는 인간 CD137이다. 한 실시양태에서, PD-L1은 인간 PD-L1, 특히 서열식별번호: 40에 제시된 서열을 포함하는 인간 PD-L1이다. 한 실시양태에서, CD137은 인간 CD137이고, PD-L1은 인간 PD-L1이다. 한 실시양태에서, CD137은 서열식별번호: 38에 제시된 서열을 포함하는 인간 CD137이고, PD-L1은 서열식별번호: 40에 제시된 서열을 포함하는 인간 PD-L1이다.

[0190] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 인간 CD137에 결합하는 제1 결합 영역은 서열식별번호: 1 또는 9에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0191] 제1 측면에 따른 결합제의 추가 실시양태에서, 인간 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역은 서열식별번호: 11에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 25 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0192] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서,

[0193] a) 인간 CD137에 결합하는 제1 결합 영역은 서열식별번호: 1 또는 9에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하고;

[0194] b) 인간 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역은 서열식별번호: 11에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 25 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0195] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 인간 CD137에 결합하는 제1 결합 영역은 서열식별번호: 1 또는 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0196] 제1 측면에 따른 결합제의 추가 실시양태에서, 인간 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역은 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0197] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서,

[0198] a) 인간 CD137에 결합하는 제1 결합 영역은 서열식별번호: 1 또는 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을

포함하고;

[0199] b) 인간 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역은 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0200] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서,

[0201] a) 인간 CD137에 결합하는 제1 결합 영역은 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하고;

[0202] b) 인간 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역은 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함한다.

[0203] 결합제는 특히 항체, 예컨대 다중특이적 항체, 예를 들어 이중특이적 항체일 수 있다. 또한, 결합제는 전장 항체 또는 항체 단편의 포맷일 수 있다.

[0204] 결합제가 인간 항체 또는 인간화 항체인 것이 추가로 바람직하다.

[0205] 각각의 가변 영역은 3개의 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3) 및 4개의 프레임워크 영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4)을 포함할 수 있다.

[0206] 상보성 결정 영역 (CDR) 및 프레임워크 영역 (FR)은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열될 수 있다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0207] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는

[0208] i) 상기 제1 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제1 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

[0209] ii) 상기 제2 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드

[0210] 를 포함한다.

[0211] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는

[0212] i) 상기 제1 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함하는 폴리펩티드, 및

[0213] ii) 상기 제2 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고 제2 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함하는 폴리펩티드

[0214] 를 포함한다.

[0215] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는 제1 결합 아암 및 제2 결합 아암을 포함하는 항체이며, 여기서 제1 결합 아암은

[0216] i) 상기 제1 중쇄 가변 영역 (VH) 및 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

[0217] ii) 상기 제1 경쇄 가변 영역 (VL) 및 상기 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 폴리펩티드

[0218] 를 포함하고;

[0219] 제2 결합 아암은

[0220] iii) 상기 제2 중쇄 가변 영역 (VH) 및 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

[0221] iv) 상기 제2 경쇄 가변 영역 (VL) 및 상기 제2 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 폴리펩티드

[0222] 를 포함한다.

[0223] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는 i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄이며, 제1 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 제1 경쇄 불변 영역을 포함하는 제1 경쇄; 및 ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄이며, 제2 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 제2 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 경쇄를 포함한다.

[0224] 각각의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)은 불변 중쇄 1 (CH1) 영역, 힌지 영역, 불변 중쇄 2 (CH2) 영역 및 불변 중쇄 3 (CH3) 영역, 바람직하게는 적어도 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0225] 각각의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)은 CH3 영역을 포함할 수 있으며, 여기서 2개의 CH3 영역은 비대칭 돌연

변이를 포함한다. 비대칭 돌연변이는 상기 제1 및 제2 CH3 영역의 서열이 동일하지 않은 위치에서의 아미노산 치환을 함유한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 상기 제1 및 제2 CH3 영역 중 하나는 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 405에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 함유하고, 상기 제1 및 제2 CH3 영역 중 다른 것은 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 409에 상응하는 위치에서의 돌연변이를 함유한다.

[0226] 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)에서 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 T366, L368, K370, D399, F405, Y407 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에 상응하는 위치에서의 아미노산 중 적어도 1개가 치환되었을 수 있고, 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)에서 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 T366, L368, K370, D399, F405, Y407 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에 상응하는 위치에서의 아미노산 중 적어도 1개가 치환되었을 수 있다. 특정한 실시양태에서, 제1 및 제2 중쇄는 동일한 위치에서 치환되지 않는다 (즉, 제1 및 제2 중쇄는 비대칭 돌연변이를 함유함).

[0227] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 위치에서의 아미노산은 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)에서 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 위치에서의 아미노산은 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)에서 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 위치에서의 아미노산은 상기 제1 중쇄에서 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 위치에서의 아미노산은 상기 제2 중쇄에서 L이다.

[0228] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는 동일한 제1 및 제2 항원 결합 영역 및 인간 IgG1 힌지, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 2개의 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 또 다른 항체와 비교하여 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도한다.

[0229] 제1 측면에 따른 결합제의 하나의 특정한 실시양태에서, 항체가 비-변형된 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 것을 제외하고는 동일한 항체와 비교하여 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도하도록 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)은 변형된다. 특히, 상기 비-변형된 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH) 각각 또는 둘 다는 서열식별번호: 19 또는 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어질 수 있다.

[0230] Fc-매개된 이펙터 기능은 Fcɣ 수용체에 대한 결합제의 결합, C1q에 대한 결합 또는 Fcɣ 수용체의 Fc-매개된 가교의 유도를 측정함으로써 결정될 수 있다. 특히, Fc-매개된 이펙터 기능은 C1q에 대한 결합제의 결합을 측정함으로써 결정될 수 있다.

[0231] 결합제의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역은 상기 항체에 대한 C1q의 결합이 야생형 항체와 비교하여 감소되도록, 바람직하게는 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100%만큼 감소되도록 변형되었으며, 여기서 C1q 결합은 바람직하게는 ELISA에 의해 결정될 수 있다.

[0232] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH) 중 적어도 하나에서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235, D265, N297 및 P331에 상응하는 위치에서의 1개 이상의 아미노산은 각각 L, L, D, N 및 P가 아니다.

[0233] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234 및 L235에 상응하는 위치는 상기 제1 및 제2 중쇄에서 각각 F 및 E일 수 있다.

[0234] 특히, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235 및 D265에 상응하는 위치는 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (HC)에서 각각 F, E 및 A일 수 있다.

[0235] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234 및 L235에 상응하는 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 둘 다의 위치는 각각 F 및 E이며, 여기서 (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치는 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제2 중쇄의 위치는 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치는 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제2 중쇄의 위치는 L이다.

[0236] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235 및 D265에 상응하는 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 둘 다의 위치는 각각 F, E 및 A이며, 여기서 (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치는 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제2 중쇄 불변 영역의 위치는 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409

에 상응하는 제1 중쇄의 위치는 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제2 중쇄의 위치는 L이다.

[0237] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄의 불변 영역은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다:

[0238] a) 서열식별번호: 19 또는 서열식별번호: 25에 제시된 서열 [IgG1-FC];

[0239] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0240] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0241] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 또는 제2 중쇄, 예컨대 제2 중쇄의 불변 영역은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진다:

[0242] a) 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 26에 제시된 서열 [IgG1-F405L];

[0243] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0244] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 9개의 치환, 예컨대 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0245] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 또는 제2 중쇄, 예컨대 제1 중쇄 내의 불변 영역은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진다:

[0246] a) 서열식별번호: 21 또는 27에 제시된 서열 [IgG1-F409R];

[0247] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0248] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0249] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄의 불변 영역은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진다:

[0250] a) 서열식별번호: 22 또는 서열식별번호: 28에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEA];

[0251] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0252] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 7개의 치환, 예컨대 최대 6개의 치환, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0253] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄, 예컨대 제2 중쇄의 불변 영역은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진다:

[0254] a) 서열식별번호: 24 또는 서열식별번호: 30에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEAL];

[0255] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0256] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 6개의 치환, 예컨대 최대 5개의 치환, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0257] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄, 예컨대 제1 중쇄 내의 불변 영역은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로

이루어진다:

[0258] a) 서열식별번호: 23 또는 서열식별번호: 29에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEAR];

[0259] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0260] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 6개의 치환, 예컨대 최대 5개의 치환, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0261] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는 카파 (κ) 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0262] 제1 측면의 한 실시양태에서, 결합제는 람다 (λ) 경쇄 불변 영역을 포함한다.

[0263] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 제1 경쇄 불변 영역은 카파 (κ) 경쇄 불변 영역 또는 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이다.

[0264] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 제2 경쇄 불변 영역은 람다 (λ) 경쇄 불변 영역 또는 카파 (κ) 경쇄 불변 영역이다.

[0265] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 제1 경쇄 불변 영역은 카파 (κ) 경쇄 불변 영역이고, 제2 경쇄 불변 영역은 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이거나, 또는 제1 경쇄 불변 영역은 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이고, 제2 경쇄 불변 영역은 카파 (κ) 경쇄 불변 영역이다.

[0266] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 카파 (κ) 경쇄는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다:

[0267] a) 서열식별번호: 35에 제시된 서열;

[0268] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0269] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0270] 제1 측면에 따른 결합제의 한 실시양태에서, 람다 (λ) 경쇄는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다:

[0271] a) 서열식별번호: 36에 제시된 서열;

[0272] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0273] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열.

[0274] 제1 측면에 따른 결합제 (특히, 항체)는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된 이소형의 것이다. 특히, 결합제는 전장 IgG1 항체일 수 있다. 제1 측면의 바람직한 실시양태에서, 결합제 (특히, 항체)는 IgG1m(f) 동종이형의 것이다.

[0275] 제1 측면에 따른 결합제의 바람직한 실시양태에서, 결합제는 하기를 포함한다:

[0276] i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄이며, 서열식별번호: 31에 제시된 서열을 포함하는 제1 중쇄 및 서열식별번호: 32에 제시된 서열을 포함하는 제1 경쇄;

[0277] ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄이며, 서열식별번호: 33에 제시된 서열을 포함하는 제2 중쇄 및 서열식별번호: 34에 제시된 서열을 포함하는 제2 경쇄.

[0278] 제1 측면에 따라 사용하기 위한 결합제는 특히 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러일 수 있다.

[0279] 현재 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 하기이다:

[0280] a) 약 0.3-5 mg/kg 체중 또는 총 약 25-400 mg; 및/또는

[0281] b) 약 2.1 x 10^{-9} - 3.4 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 1.7 x 10^{-7} - 2.7 x 10^{-6} mol.

[0282] 이들 실시양태에 따르면, mg/kg으로 정의된 용량은 결합제가 투여되는 대상체의 중앙 체중 80 kg을 기준으로 균일 용량으로 전환될 수 있고, 그 반대의 경우도 가능하다.

[0283] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.3-4.0 mg/kg 체중 또는 총 약 25-320 mg 일 수 있고/거나;

[0284] 약 2.1 x 10^{-9} - 2.7 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 1.7 x 10^{-7} - 2.2 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0285] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.38-4.0 mg/kg 체중 또는 총 약 30-320 mg일 수 있고/거나;

[0286] 약 2.6 x 10^{-9} - 2.7 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 2.4 x 10^{-7} - 2.2 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0287] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.5-3.3 mg/kg 체중 또는 총 약 40-260 mg일 수 있고/거나;

[0288] 약 3.4 x 10^{-9} - 2.2 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 2.7 x 10^{-7} - 1.8 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0289] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.6-2.5 mg/kg 체중 또는 총 약 50-200 mg일 수 있고/거나;

[0290] 약 4.3 x 10^{-9} - 1.7 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 3.4 x 10^{-7} - 1.4 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0291] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.8-1.8 mg/kg 체중 또는 총 약 60-140 mg일 수 있고/거나;

[0292] 약 5.1 x 10^{-9} - 1.2 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 4.1 x 10^{-7} - 9.5 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0293] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.9-1.8 mg/kg 체중 또는 총 약 70-140 mg일 수 있고/거나;

[0294] 약 6.0 x 10^{-9} - 1.2 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 4.8 x 10^{-7} - 9.5 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0295] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 1-1.5 mg/kg 체중 또는 총 약 80-120 mg일 수 있고/거나;

[0296] 약 6.8 x 10^{-9} - 1.0 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 5.5 x 10^{-7} - 8.2 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0297] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 1.1-1.4 mg/kg 체중 또는 총 약 90-110 mg일 수 있고/거나;

[0298] 약 7.7 x 10^{-9} - 9.4 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 약 6.1 x 10^{-7} - 7.5 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0299] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 1.2-1.3 mg/kg 체중 또는 총 약 95-105 mg일 수 있고/거나;

[0300] 약 6.8 x 10^{-9} - 8.9 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 약 6.5 x 10^{-7} - 7.2 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0301] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.8-1.5 mg/kg 체중 또는 총 약 65-120 mg일 수 있고/거나;

[0302] 약 5.5 x 10^{-9} - 1.0 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 약 4.4 x 10^{-7} - 8.2 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0303] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 약 0.9-1.3 mg/kg 체중 또는 총 약 70-100 mg일 수 있고/거나;

[0304] 약 6.0 x 10^{-9} - 8.5 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 약 4.8 x 10^{-7} - 6.8 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0305] 약 0.9-1.1 mg/kg 체중 또는 총 약 75-90 mg일 수 있고/거나;

[0306] 약 6.4 x 10^{-9} - 7.7 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 약 5.1 x 10^{-7} - 6.1 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0307] 추가로, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.3-4.0 mg/kg 체중 또는 총 25-320 mg일 수 있고/거나;

[0308] 2.1 x 10^{-9} - 2.7 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 1.7 x 10^{-7} - 2.2 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0309] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.38-4.0 mg/kg 체중 또는 총 30-320 mg일 수 있고/거나;

[0310] 2.6 x 10^{-9} - 2.7 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 2.4 x 10^{-7} - 2.2 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0311] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.5-3.3 mg/kg 체중 또는 총 40-260 mg일 수 있고/거나;

[0312] 3.4 x 10^{-9} - 2.2 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 2.7 x 10^{-7} - 1.8 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0313] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.6-2.5 mg/kg 체중 또는 총 50-200 mg일 수 있고/거나;

[0314] 4.3 x 10^{-9} - 1.7 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 3.4 x 10^{-7} - 1.4 x 10^{-6} mol일 수 있다.

[0315] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.8-1.8 mg/kg 체중 또는 총 60-140 mg일 수 있고/거나;

[0316] 5.1 x 10^{-9} - 1.2 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 4.1 x 10^{-7} - 9.5 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0317] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.9-1.8 mg/kg 체중 또는 총 70-140 mg일 수 있고/거나;

[0318] 6.0 x 10^{-9} - 1.2 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 4.8 x 10^{-7} - 9.5 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0319] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 1-1.5 mg/kg 체중 또는 총 80-120 mg일 수 있고/거나;

[0320] 6.8 x 10^{-9} - 1.0 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 5.5 x 10^{-7} - 8.2 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0321] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 1.1-1.4 mg/kg 체중 또는 총 90-110 mg일 수 있고/거나;

[0322] 7.7 x 10^{-9} - 9.4 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 6.1 x 10^{-7} - 7.5 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0323] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 1.2-1.3 mg/kg 체중 또는 총 95-105 mg일 수 있고/거나;

[0324] 6.8 x 10^{-9} - 8.9 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 6.5 x 10^{-7} - 7.2 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0325] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.8-1.5 mg/kg 체중 또는 총 65-120 mg일 수 있고/거나;

[0326] 5.5 x 10^{-9} - 1.0 x 10^{-8} mol/kg 체중 또는 총 4.4 x 10^{-7} - 8.2 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0327] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.9-1.3 mg/kg 체중 또는 총 70-100 mg일 수 있고/거나;

[0328] 6.0 x 10^{-9} - 8.5 x 10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 4.8 x 10^{-7} - 6.8 x 10^{-7} mol일 수 있다.

[0329] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 특히 0.9-1.1 mg/kg 체중 또는 총 75-90

mg일 수 있고/거나;

[0330] 6.4×10^{-9} - 7.7×10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 5.1×10^{-7} - 6.1×10^{-7} mol일 수 있다.

[0331] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 하기일 수 있다:

[0332] a) 약 1.1 mg/kg 체중 또는 총 약 80 mg; 및/또는

[0333] b) 약 6.8×10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 약 5.5×10^{-7} mol.

[0334] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 하기일 수 있다:

[0335] a) 1.1 mg/kg 체중 또는 총 80 mg; 및/또는

[0336] b) 6.8×10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 5.5×10^{-7} mol.

[0337] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양은 하기와 같은 것이 현재 바람직하다:

[0338] a) 약 1.25 mg/kg 체중 또는 총 약 100 mg; 및/또는

[0339] b) 약 8.5×10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 약 6.8×10^{-7} mol.

[0340] 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 결합제의 양이 하기인 것이 마찬가지로 바람직하다:

[0341] a) 1.25 mg/kg 체중 또는 총 100 mg; 및/또는

[0342] b) 8.5×10^{-9} mol/kg 체중 또는 총 6.8×10^{-7} mol.

[0343] 결합제는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방식 및 임의의 경로로 투여될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 결합제는 전신으로, 예컨대 비경구로, 특히 정맥내로 투여된다.

[0344] 결합제는 본원에 기재된 바와 같은 임의의 적합한 제약 조성물의 형태로 투여될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 결합제는 주입의 형태로 투여된다.

[0345] 본 발명에 따라 사용하기 위한 결합제는 정맥내 (IV) 주입을 사용하여, 예컨대 최소 30분, 예컨대 최소 60분에 걸친 정맥내 주입에 의해, 예를 들어 30 내지 120분에 걸친 정맥내 주입을 사용하여 투여될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 사용하기 위한 결합제는 30분에 걸친 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여된다.

[0346] 결합제는 PD-1 억제제의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여될 수 있다.

[0347] 한 실시양태에서, 결합제는 PD-1 억제제의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 결합제의 투여 종료와 PD-1 억제제의 투여 시작 사이의 간격은 적어도 약 10분, 예컨대 적어도 약 15분, 적어도 약 20분, 적어도 약 25분, 적어도 약 30분, 적어도 약 35분, 적어도 약 40분, 적어도 약 45분, 적어도 약 50분, 적어도 약 55분, 적어도 약 60분, 적어도 약 90분 또는 적어도 약 120분 및 약 14일 이하 (약 2주 이하), 예컨대 약 13일 이하, 약 12일 이하, 약 11일 이하, 약 10일 이하, 약 9일 이하, 약 8일 이하, 약 7일 이하 (약 1주 이하), 약 6일 이하, 약 5일 이하, 약 4일 이하, 약 3일 이하, 약 2일 이하, 약 1일 이하 (약 24시간 이하), 약 18시간 이하, 약 12시간 이하, 약 6시간 이하, 약 5시간 이하, 약 4시간 이하, 약 3시간 이하, 약 2.5시간 이하 또는 약 2시간 이하일 수 있다.

[0348] 한 실시양태에서, 결합제는 PD-1 억제제의 투여 후에 투여된다. 예를 들어, PD-1 억제제의 투여 종료와 결합제의 투여 시작 사이의 간격은 적어도 약 10분, 예컨대 적어도 약 15분, 적어도 약 20분, 적어도 약 25분, 적어도 약 30분, 적어도 약 35분, 적어도 약 40분, 적어도 약 45분, 적어도 약 50분, 적어도 약 55분, 적어도 약 60분, 적어도 약 90분 또는 적어도 약 120분 및 약 14일 이하 (약 2주 이하), 예컨대 약 13일 이하, 약 12일 이하, 약 11일 이하, 약 10일 이하, 약 9일 이하, 약 8일 이하, 약 7일 이하 (약 1주 이하), 약 6일 이하, 약 5일 이하, 약 4일 이하, 약 3일 이하, 약 2일 이하, 약 1일 이하 (약 24시간 이하), 약 18시간 이하, 약 12시간 이하, 약 6시간 이하, 약 5시간 이하, 약 4시간 이하, 약 3시간 이하, 약 2.5시간 이하 또는 약 2시간 이하일 수 있다.

[0349] 한 실시양태에서, 결합제는 PD-1 억제제와 동시에 투여된다. 예를 들어, 결합제 및 PD-1 억제제는 약물 둘 다를 포함하는 조성물을 사용하여 투여될 수 있다. 대안적으로, 결합제는 대상체의 한 사지 내로 투여될 수 있고, PD-1 억제제는 대상체의 또 다른 사지 내로 투여될 수 있다.

[0350] PD-1에 결합하는 항체

[0351] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 바람직하게는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성, 예컨대 적어도 90% 서열 동일성, 95% 서열 동일성, 98% 서열 동일성 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성, 예컨대 적어도 90% 서열 동일성, 95% 서열 동일성, 98% 서열 동일성 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0352] 현재 가장 바람직한 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0353] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 51의 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 중쇄 및 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 경쇄를 포함할 수 있다.

[0354] 본 발명에 따라 사용되는 PD-1에 결합하는 항체는 바람직하게는 PD-1과 연관된 억제 신호를 방지한다. PD-1에 결합하는 항체는 바람직하게는 PD-1과 연관된 억제 신호전달을 파괴하거나 억제한다.

[0355] 본원에 기재된 바와 같은 PD-1 신호전달의 억제 또는 차단은 면역-억제의 방지 또는 역전 및 암 세포에 대한 T 세포 면역의 확립 또는 증진을 유발한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 PD-1 신호전달의 억제는 면역계의 기능장애를 감소시키거나 억제한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 PD-1 신호전달의 억제는 기능장애성 면역 세포를 덜 기능장애성이게 한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 PD-1 신호전달의 억제는 기능장애성 T 세포를 덜 기능장애성이게 한다.

[0356] 한 실시양태에서, PD-1 억제제는 PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용을 방지한다. 또 다른 실시양태에서, PD-1 억제제는 PD-1과 PD-L2 사이의 상호작용을 방지한다.

[0357] 특히, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 키메라화, 인간화 또는 인간 항체이다.

[0358] 바람직한 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 단리된 항체이다.

[0359] 이론에 얽매이지는 않지만, 상기 정의된 바와 같은 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하는 결합제와 상기 정의된 바와 같은 PD-1에 결합하는 항체의 조합은, 조합 요법이 4-1BB의 공동 조건부 활성화와 함께 PD-1 경로의 완전한 차단을 유도하기 때문에, 조합 요법을 받은 대상체에서 반응률을 증가시키고 개선된 반응 지속기간을 유도하는 것으로 여겨진다. PD-1 차단 항체는 PD-L1 및 PD-L2 둘 다와의 상호작용을 차단한다. PD-1에 결합하는 항체와의 조합 요법은 결합제에 의해 결합되는 데 이용가능한 PD-L1의 양을 증가시키는 것으로 추가로 여겨진다.

[0360] PD-1 억제제는 특히 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러일 수 있다.

[0361] 추가 실시양태에서, PD-1 억제제는 서열식별번호: 49에 제시된 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 50에 제시된 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 항체이다. PD-1 억제제는 특히 서열식별번호: 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 중쇄 및 서열식별번호: 52에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 경쇄를 포함하는 항체일 수 있다.

[0362] 본 개시내용의 항-PD-1 항체는 바람직하게는 모노클로날이고, 다중특이적, 인간, 인간화 또는 키메라 항체, 단일 쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 단편 및 상기 중 임의의 것의 PD-1 결합 단편일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-PD-1 항체는 PD-1 (예를 들어, 인간 PD-1)에 특이적으로 결합한다. 본 개시내용의 이뮤노글로불린 분자는 이뮤노글로불린 분자의 임의의 이소형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류의 것일 수 있다.

[0363] 본원에 기재된 바와 같은 항원-결합 단편 (예를 들어, 인간 항원-결합 단편)은 Fab, Fab' 및 $F(ab')_2$, Fd, 단일-쇄 Fv (scFv), 단일-쇄 항체, 디술피드-연결된 Fv (sdFv) 및 V_L 또는 V_H 도메인을 포함하는 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 단일-쇄 항체를 포함한 항원-결합 단편은 가변 영역(들)을 단독으로 또는 하기: 힌지

영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인 중 전체 또는 한 부분과 조합하여 포함할 수 있다. 또한, 가변 영역(들)과 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인의 임의의 조합을 포함하는 항원-결합 단편이 본 개시내용에 포함된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간, 뮤린 (예를 들어, 마우스 및 래트), 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니 피그, 낙타류, 말 또는 닭의 것이다.

[0364] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 CDR 서열 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Lefranc, M. P. et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27, 55-77]에 기재된 바와 같은 IMGT 넘버링 스킴에 따른다.

[0365] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 또한 변형된, 즉 항체에 대한 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 (이러한 공유 부착은 항체가 PD-1에 결합하는 것을 방지하지 않도록 함) 유도체 및 구축물을 포함한다. 예를 들어, 그러나 비제한적으로, 항-PD-1 항체 유도체는 변형된, 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, PEG화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단 기에 의한 유도체화, 단백질분해적 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 임의의 수많은 화학적 변형은 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 튜니카마이신의 대사 합성 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 공지된 기술에 의해 수행될 수 있다. 추가적으로, 유도체 또는 구축물은 1개 이상의 비-전형적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0366] 바람직하게는, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 적합한 양으로 투여된다. 각각의 용량 및/또는 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양은 특히 5% 초과, 바람직하게는 10% 초과, 보다 바람직하게는 15% 초과, 보다 더 바람직하게는 20% 초과, 보다 더 바람직하게는 25% 초과, 보다 더 바람직하게는 30% 초과, 보다 더 바람직하게는 35% 초과, 보다 더 바람직하게는 40% 초과, 보다 더 바람직하게는 45% 초과, 가장 바람직하게는 50% 초과의 상기 PD-1 억제제가 PD-1에 결합하는 범위 내일 수 있다.

[0367] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1 억제제의 양은 총 약 10 - 약 1000 mg, 예컨대 총 약 100 - 약 600 mg, 예를 들어 총 약 150 - 약 600 mg, 총 약 150 - 약 500 mg, 총 약 175 -약 500 mg, 총 약 175 - 약 450 mg, 총 약 200 - 약 450 mg 또는 예컨대 총 약 200 - 약 400 mg이다.

[0368] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1 억제제의 양은 총 10 - 1000 mg, 예컨대 총 100 - 600 mg, 예를 들어 총 150 - 600 mg, 총 150 - 500 mg, 총 175 - 500 mg, 총 175 - 450 mg, 총 200 - 450 mg 또는 예컨대 총 200 - 400 mg이다.

[0369] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체의 양은 하기이다:

[0370] 총 약 100 - 600 mg; 및/또는

[0371] 총 약 6.84×10^{-7} - 4.11×10^{-7} mol.

[0372] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체의 양은 총 약 100 - 400 mg; 및/또는 총 약 6.84×10^{-7} - 2.73×10^{-6} mol, 예컨대 총 100 - 400 mg; 및/또는 총 6.84×10^{-7} - 2.73×10^{-6} mol이다.

[0373] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체의 양은 총 약 200 - 400 mg; 및/또는 총 약 6.84×10^{-7} - 2.73×10^{-6} mol, 예컨대 총 200 - 400 mg; 및/또는 총 6.84×10^{-7} - 2.73×10^{-6} mol이다.

[0374] 특정 실시양태에서, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양은 총 약 200 mg 또는 약 1.37×10^{-6} mol, 예컨대 총 200 mg 또는 1.37×10^{-6} mol이다.

[0375] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양은 총 약 200 mg 또는 약 1.37×10^{-6} mol, 예컨대 총 200 mg 또는 1.37×10^{-6} mol이다.

[0376] 특정 실시양태에서, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체 또

는 그의 항원-결합 단편의 양은 총 약 400 mg 또는 총 약 2.73 x 10^{-6}, 예컨대 총 400 mg 또는 총 2.73 x 10^{-6}이다.

[0377] 특정 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체는 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러이고, 예를 들어 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양은 총 약 400 mg 또는 총 약 2.73 x 10^{-6}, 예컨대 총 400 mg 또는 총 2.73 x 10^{-6}이다.

[0378] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 임의의 방식으로 및 관련 기술분야에 공지된 임의의 경로에 의해 투여될 수 있다. 투여 방식 및 경로는 사용되는 항체의 유형에 좌우될 것이다. 바람직한 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 전신으로, 예컨대 비경구로, 특히 정맥내로 투여된다.

[0379] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 본원에 기재된 바와 같은 임의의 적합한 제약 조성물의 형태로 투여될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 주입, 예컨대 정맥내 주입의 형태로 투여된다.

[0380] 치료될 대상체 및 종양 또는 암

[0381] 본 개시내용에 따라 치료될 대상체는 바람직하게는 인간 대상체이다.

[0382] 하나의 바람직한 실시양태에서, 치료될 종양 또는 암은 고형 종양 또는 암이다. 종양 또는 암은 전이성 종양 또는 암일 수 있다.

[0383] 바람직하게는, 종양 또는 암은 흑색종, 난소암, 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 (NSCLC)), 결장직장암, 두경부암, 위암, 유방암, 신암, 요로상피암, 방광암, 식도암, 췌장암, 간암, 흉선종 및 흉선 암종, 뇌암, 신경교종, 부신피질 암종, 갑상선암, 다른 피부암, 육종, 다발성 골수종, 백혈병, 림프종, 골수이형성 증후군, 자궁내막암, 전립선암, 음경암, 자궁경부암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 메르켈 세포 암종 및 중피종으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 보다 바람직하게는, 종양 또는 암은 흑색종, 폐암, 결장직장암, 췌장암 및 두경부암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0384] 특정한 실시양태에서, 종양 또는 암은 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 (NSCLC), 요로상피암 (방광암, 요관암, 요도암 또는 신우암), 자궁내막암 (EC), 유방암 (예를 들어, 삼중 음성 유방암 (TNBC)), 두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) (예를 들어, 구강암, 인두암 또는 후두암) 및 자궁경부암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0385] 바람직하게는, 종양은 PD-L1 양성 종양이다. 특정 실시양태에서, PD-L1이 암 세포 또는 종양 세포의 ≥1%에서 발현되는 것이 바람직하다. PD-L1의 발현은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 기술을 사용하여 결정될 수 있고, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가될 수 있다.

[0386] 종양 또는 암은 특히 폐암일 수 있다. 폐암은 비소세포 폐암 (NSCLC), 예컨대 편평 또는 비-편평 NSCLC일 수 있다. 폐암은 두번째로 가장 흔한 악성종양으로, 추정 연령-표준화된 발생률이 100,000명당 22.4명이고, 남성 및 여성 둘 다에 대한 암 사망의 주요 원인이다 (Kantar, 2021). 전세계적으로, 2020년에 대략 2,206,771건의 새로운 폐암 사례 및 1,796,144건의 사망이 추정된다 (GLOBOCAN, 2020). 비소세포 폐암 (NSCLC)은 모든 사례의 85% 내지 90%를 차지하며, 5년 생존율이 질환의 모든 병기에 걸쳐 대략 18%이고, 전이성 질환의 경우에는 단지 3.5%이다 (Jemal et al., 2011) (Kantar, 2021; SEER, 2018). 1L 세팅에서, 치료는 전형적으로 분자 및 바이오마커 분석 및 종양의 조직학에 따라, 면역요법 또는 표적화 요법과 조합된 백금-기반 화학요법으로 이루어진다 (NCCN, 2021d). 보다 최근에, PD-1 및 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1) 억제제의 출현은 드라이버 돌연변이를 갖지 않는 환자에 대해 개선된 결과를 가져온다 (비-편평 집단의 대략 62% 및 편평 집단의 77% (Kantar, 2021)). 종양이 특정 종양원성 돌연변이를 보유하지 않거나 또는 체크포인트 억제제 (CPI) 옵션에 대한 바이오마커를 발현하지 않는 환자의 경우에는 보다 많은 치료 대안이 필요하다. 반응을 증진시키기 위한 상보적 접근법과의 신규 조합은 이 집단에서의 미충족 필요를 추가로 해결할 수 있다. 2L 세팅의 환자의 경우, SOC는 백금-기반 화학요법, CPI 단독요법 또는 도세탁셀로 제한되며, 라무시루맙은 이전에 받은 요법에 따라 존재하거나 존재하지 않는다. 3차 (3L) 세팅의 환자의 경우, 화학요법 단독요법이 표준이다. 이 집단에서 독성을 제한하고 효능을 잠재적으로 증진시키기 위한 신규 요법이 필요하다 (NCCN, 2021d).

[0387] 종양 또는 암이 폐암인 한 실시양태에서, 이러한 종양 또는 암은 비소세포 폐암 (NSCLC), 예컨대 편평 또는 비-편평 NSCLC이다. 종양 또는 암은 특히 전이성 암, 예컨대 전이성 NSCLC일 수 있다.

[0388] 종양 또는 암이 폐암, 특히 NSCLC인 한 실시양태에서, 종양 또는 암은 표피 성장 인자 (EGFR)-감작 돌연변이 및

/또는 역형성 림프종 (ALK) 전위 / ROS1 재배열을 갖지 않는다. EGFR-감작 돌연변이는 승인된 티로신 키나제 억제제 (TKI)를 사용한 치료에 적용가능한 돌연변이이다.

[0389] 종양 또는 암이 폐암, 특히 NSCLC인 한 실시양태에서, 종양 또는 암은 암 세포를 포함하고, PD-L1은 암 세포의 ≥1%에서 발현된다. 이러한 발현은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수단 및 방법에 의해, 예컨대 면역조직화학 (IHC)에 의해 결정될 수 있으며, 예컨대 지역 SOC 시험 (바람직하게는 FDA-승인된 시험)에 의해 또는 중앙 실험실에서 결정될 수 있다.

[0390] 종양 또는 암이 폐암, 특히 NSCLC인 한 실시양태에서, 종양 또는 암은 암 세포를 포함하고, PD-L1은 암 세포의 1% 내지 49%에서 발현된다. 이러한 발현은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수단 및 방법에 의해, 예컨대 면역조직화학 (IHC)에 의해 결정될 수 있으며, 예컨대 지역 SOC 시험 (바람직하게는 FDA-승인된 시험)에 의해 또는 중앙 실험실에서 결정될 수 있다.

[0391] 종양 또는 암이 폐암, 특히 NSCLC인 한 실시양태에서, 종양 또는 암은 암 세포를 포함하고, PD-L1은 암 세포의 ≥50%에서 발현된다. 이러한 발현은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수단 및 방법에 의해, 예컨대 면역조직화학 (IHC)에 의해 결정될 수 있으며, 예컨대 지역 SOC 시험 (바람직하게는 FDA-승인된 시험)에 의해 또는 중앙 실험실에서 결정될 수 있다.

[0392] 한 실시양태에서, 대상체는 전이성 질환의 선행 전신 치료를 받지 않았으며, 즉 대상체는 본 발명에 따른 치료를 받기 전에 전이성 질환의 어떠한 전신 치료도 받지 않았다. 이러한 실시양태에 따르면, 종양 또는 암은 바람직하게는 폐암, 예컨대 NSCLC이다.

[0393] 한 실시양태에서, 대상체는 체크포인트 억제제/면역 체크포인트 (ICP) 억제제를 사용한 선행 치료를 받지 않았으며, 즉 제1 측면에 따른 치료 전에, 대상체는 ICP 억제제를 사용한 치료를 받지 않았다. 추가 실시양태에서, 대상체는 PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 선행 치료를 받지 않았다. 이들 실시양태에서, 종양 또는 암은 바람직하게는 폐암, 예컨대 NSCLC이다.

[0394] 추가 실시양태에서, 대상체는 4-1BB (CD137) 표적화제, 항종양 백신 또는 자가 세포 면역요법을 사용한 선행 치료를 받지 않았다. 한 실시양태에서, 대상체는 항-4-1BB (CD137) 항체를 사용한 선행 치료를 받지 않았다. 이들 실시양태에서, 종양 또는 암은 바람직하게는 폐암, 예컨대 NSCLC이다.

[0395] 다른 실시양태에서, 종양 또는 암은 치료, 예컨대 체크포인트 억제제를 사용한 전신 치료 후에 재발되었고/거나 불응성이다.

[0396] 대상체는 적어도 1차의 선행 전신 요법, 예컨대 PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 포함하는 전신 요법을 받았을 수 있다. PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료 후에 암 또는 종양은 특히 재발되었을 수 있고/거나 불응성이거나 또는 대상체는 진행되었으며, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제는 단독요법으로서 또는 조합 요법의 일부로서 투여된다.

[0397] 특정한 실시양태에서, 본 발명에 따른 치료는, 예를 들어 상기 정의된 바와 같은 선행 치료를 받은 대상체에게 제공되며, 여기서 마지막 선행 치료는 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용하였으며, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제는 단독요법으로서 또는 조합 요법의 일부로서 투여된다. 마지막 선행 치료는 상기 정의된 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제를 사용하였을 수 있다.

[0398] 바람직하게는, 본 발명에 따른 요법은, PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 마지막 치료 시 대상체의 진행으로부터의 시간이 8개월 이하, 예컨대 7개월 이하, 6개월 이하, 5개월 이하, 4개월 이하, 3개월 이하, 2개월 이하, 1개월 이하, 3주 이하 또는 예컨대 2주 이하인 경우에, 그 대상체에게 제공된다.

[0399] 유사하게, 마지막 선행 치료의 일부로서의 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체의 마지막 투여로부터의 시간이 8개월 이하, 예컨대 7개월 이하, 6개월 이하, 5개월 이하, 4개월 이하, 3개월 이하, 2개월 이하, 1개월 이하, 3주 이하 또는 예컨대 2주 이하인 경우에, 대상체에게 본 발명에 따른 요법을 제공하는 것이 바람직할 수 있다.

[0400] 추가 실시양태에서, 하기 동안 또는 하기 후에 암 또는 종양은 재발되었고/거나 불응성이거나 또는 대상체는 진행되었다:

[0401] i) 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료 후 백금 이중 화학요법, 또는

[0402] ii) 백금 이중 화학요법 후 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료.

[0403] 또한, 이들 실시양태에서 종양 또는 암은 바람직하게는 폐암, 예컨대 NSCLC이다.

[0404] 본 발명에 따른 치료를 받은 대상체는 특히 탁산 화학요법제, 예를 들어 도세탁셀 또는 파클리탁셀을 사용한 선행 치료, 예컨대 탁산 화학요법제, 예를 들어 도세탁셀을 사용한 NSCLC의 선행 치료를 받지 않은 대상체일 수 있다.

[0405] 치료 요법

[0406] 결합제 및 PD-1 억제제는 임의의 적합한 방식으로, 예컨대 정맥내로, 동맥내로, 피하로, 피내로, 근육내로, 결절내로 또는 종양내로 투여될 수 있다.

[0407] 제1 측면의 한 실시양태에서, 상기 정의된 결합제는 전신 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 바람직하게는, 결합제는 정맥내 주사 또는 주입에 의해 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 결합제는 적어도 1회의 치료 주기로 투여된다.

[0408] 한 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 특히 전신 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 바람직하게는, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 정맥내 주사 또는 주입에 의해 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 적어도 1회의 치료 주기로 투여된다.

[0409] 한 실시양태에서, 상기 정의된 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 특히 전신 투여에 의해 대상체에게 투여된다. 바람직하게는, 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 정맥내 주사 또는 주입에 의해 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 적어도 1회의 치료 주기로 투여된다.

[0410] 한 실시양태에서, 각각의 치료 주기는 약 2주 (14일), 3주 (21일) 또는 4주 (28일), 5주 (35일) 또는 6주 (48일)이다. 바람직한 실시양태에서, 각각의 치료 주기는 3주 (21일)이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 각각의 치료 주기는 6주 (48일)이다.

[0411] 특정한 실시양태에서, 상기 정의된 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량은 2주마다 (1Q2W), 3주마다 (1Q3W) 또는 4주마다 (1Q4W), 5주마다 (1Q5W), 바람직하게는 3주마다 (1Q3W) 투여 또는 주입된다. 다른 실시양태에서, 상기 정의된 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량은 6주마다 (1Q6W) 투여된다. 결합제의 양 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양은 바람직하게는 상기 정의된 바와 같다.

[0412] 일부 실시양태에서, 1회 용량 또는 각각의 용량은 각각의 치료 주기의 제1일에 투여 또는 주입된다. 예를 들어, 상기 정의된 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량은 각각의 치료 주기의 제1일에 투여될 수 있다.

[0413] 일부 실시양태에서 상기 정의된 결합제의 100 mg 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 200 mg 용량은 3주마다 (1Q3W) 투여된다.

[0414] 다른 실시양태에서 상기 정의된 결합제의 100 mg 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 400 mg 용량은 6주마다 (1Q6W) 투여된다.

[0415] 특정한 실시양태에서, 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러인 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 200 mg 용량은 3주마다 (1Q3W), 예컨대 각각의 3주 치료 주기의 제1일에 투여된다.

[0416] 특정한 실시양태에서, 종양 또는 암은 NSCLC이고; 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러인 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 200 mg 용량은 3주마다 (1Q3W), 예컨대 각각의 3주 치료 주기의 제1일에 투여된다.

[0417] 다른 실시양태에서, 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러인 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 400 mg 용량은 6주마다 (1Q6W), 예컨대 매 6주 치료 주기의 제1일에 투여된다.

[0418] 또 다른 실시양태에서, 종양 또는 암은 NSCLC이고; 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량

및 펨브롤리주맙인 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 400 mg 용량은 6주마다 (1Q6W), 예컨대 매 6주 치료 주기의 제1일에 투여된다.

[0419] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 먼저 투여되고, 이어서 결합제가 투여될 수 있다. 대안적으로, 결합제가 먼저 투여되고, 이어서 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 투여된다.

[0420] 각각의 용량은 최소 30분에 걸쳐, 예컨대 최소 60분, 최소 90분, 최소 120분 또는 최소 240분에 걸쳐 투여 또는 주입될 수 있다.

[0421] 결합제는 특히 30분에 걸쳐, 예컨대 최소 40분, 최소 50분에 걸쳐 또는 예컨대 최소 60분에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여될 수 있다.

[0422] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 특히 30분에 걸쳐, 예컨대 최소 40분, 최소 50분에 걸쳐 또는 예컨대 최소 60분에 걸쳐 정맥내 주입으로서 투여될 수 있다.

[0423] 상기 정의된 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 동시에 투여될 수 있다. 대안적인 바람직한 실시양태에서, 결합제 및 PD-1 억제제는 개별적으로 투여된다.

[0424] 상기 정의된 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 임의의 적합한 형태 (예를 들어, 그 자체 네이키드)로 투여될 수 있다. 그러나, 결합제 및 PD-1 억제제는 본원에 기재된 바와 같은 임의의 적합한 제약 조성물의 형태로 투여되는 것이 바람직하다. 한 실시양태에서, 적어도 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 개별 제약 조성물 (즉, 하나는 결합제를 위한 제약 조성물이고, 하나는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 위한 제약 조성물임)의 형태로 투여되고, 바람직하게는 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 개별 제약 조성물 (즉, 하나는 결합제를 위한 제약 조성물이고, 하나는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 위한 제약 조성물임)의 형태로 투여된다.

[0425] 조성물 또는 제약 조성물은 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995]에 개시된 것과 같은 통상적인 기술에 따라, 공지된 아주반트를 포함한, 담체, 부형제 및/또는 희석제, 뿐만 아니라 제약 조성물에 적합한 임의의 다른 성분과 함께 제제화될 수 있다. 제약상 허용되는 담체 또는 희석제뿐만 아니라 임의의 공지된 아주반트 및 부형제는 결합제 및/또는 PD-1에 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편 및 선택된 투여 방식에 적합하여야 한다. 제약 조성물의 담체 및 다른 성분에 대한 적합성은 선택된 화합물 또는 제약 조성물의 목적하는 생물학적 특성에 대한 유의한 부정적 영향의 결여 (예를 들어, 항원 결합 시 실질적인 영향 미만 [10% 이하의 상대 억제, 5% 이하의 상대 억제 등])에 기초하여 결정된다.

[0426] 조성물, 특히 상기 정의된 결합제의 제약 조성물, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 제약 조성물은 희석제, 충전제, 염, 완충제, 세제 (예를 들어, 비이온성 세제, 예컨대 트윈-20 또는 트윈-80), 안정화제 (예를 들어, 당 또는 단백질-유리 아미노산), 보존제, 가용화제 및/또는 제약 조성물에 포함되기에 적합한 다른 물질을 포함할 수 있다.

[0427] 치료 용도를 위한 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제는 제약 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985]에 기재되어 있다.

[0428] 제약 담체, 부형제 또는 희석제는 의도된 투여 경로 및 표준 제약 실시와 관련하여 선택될 수 있다.

[0429] 제약상 허용되는 담체는 활성 화합물, 특히 상기 정의된 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 적합한 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제, 항산화제 및 흡수-지연제 등을 포함한다.

[0430] (제약) 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비-수성 담체의 예는 물, 염수, 포스페이트 완충 염수, 에탄올, 덱스트로스, 폴리올 (예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 옥수수 오일, 땅콩 오일, 목화씨 오일 및 참깨 오일, 카르복시메틸 셀룰로스 콜로이드성 용액, 트라가칸트 검 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 및/또는 다양한 완충제를 포함한다. 다른 담체는 제약 기술분야에 널리 공지되어 있다.

[0431] 제약상 허용되는 담체는 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 수성 용액 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 제약 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 관련 기술분야에 공지되어 있

다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비상용성인 경우를 제외하고는, (제약) 조성물에서의 그의 사용이 고려된다.

[0432] 본원에 사용된 용어 "부형제"는 본 개시내용의 (제약) 조성물에 존재할 수 있지만 활성 성분이 아닌 물질을 지칭한다. 부형제의 예는 비제한적으로 담체, 결합제, 희석제, 윤활제, 증점제, 표면 활성제, 보존제, 안정화제, 유화제, 완충제, 향미제 또는 착색제를 포함한다.

[0433] 용어 "희석제"는 희석제 및/또는 시닝제에 관한 것이다. 더욱이, 용어 "희석제"는 유체, 액체 또는 고체 현탁액 및/또는 혼합 매질 중 어느 하나 이상을 포함한다. 적합한 희석제의 예는 에탄올, 글리세롤 및 물을 포함한다.

[0434] (제약) 조성물은 또한 제약상 허용되는 항산화제, 예를 들어 (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속-킬레이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등을 포함할 수 있다.

[0435] (제약) 조성물은 또한 조성물 중에 등장화제, 예컨대 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 글리세롤 또는 염화나트륨을 포함할 수 있다.

[0436] (제약) 조성물은 또한 조성물의 보관 수명 또는 유효성을 증진시킬 수 있는, 선택된 투여 경로에 적절한 1종 이상의 아주반트, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제, 분산제, 보존제 또는 완충제를 함유할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 조성물은 화합물을 급속 방출로부터 보호할 담체와 함께, 예컨대 이식물, 경피 패치 및 마이크로-캡슐화 전달 시스템을 포함한 제어 방출 제제로 제조될 수 있다. 이러한 담체는 젤라틴, 글리세릴 모노스테아레이트, 글리세릴 디스테아레이트, 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리-오르토 에스테르 및 폴리락트산을 단독으로 또는 왁스 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 물질과 함께 포함할 수 있다. 이러한 제제의 제조 방법은 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978] 참조).

[0437] "제약상 허용되는 염"은, 예를 들어 산 부가염, 예를 들어 제약상 허용되는 산, 예컨대 염산, 황산, 푸마르산, 말레산, 숙신산, 아세트산, 벤조산, 시트르산, 타르타르산, 탄산 또는 인산을 사용하여 형성될 수 있는 산 부가염을 포함한다. 추가로, 적합한 제약상 허용되는 염은 알칼리 금속 염 (예를 들어, 나트륨 또는 칼륨 염); 알칼리 토금속 염 (예를 들어, 칼슘 또는 마그네슘 염); 암모늄 (NH_4^+); 및 적합한 유기 리간드를 사용하여 형성된 염 (예를 들어, 반대음이온, 예컨대 할라이드, 히드록시드, 카르복실레이트, 술페이트, 포스페이트, 니트레이트, 알킬 술포네이트 및 아릴 술포네이트를 사용하여 형성된 4급 암모늄 및 아민 양이온)을 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 염의 예시적인 예는 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아르기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠술포네이트, 벤조에이트, 비카르보네이트, 비술페이트, 비타르트레이트, 보레이트, 브로마이드, 부티레이트, 에데트산칼슘, 캄포레이트, 캄포르술포네이트, 캄실레이트, 카르보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 클라불라네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 디히드로클로라이드, 도데실술페이트, 에데테이트, 에디실레이트, 에스톨레이트, 에실레이트, 에탄술포네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 갈락테이트, 갈락투로네이트, 글루셉테이트, 글루코헵토네이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리세로포스페이트, 글리콜릴아르사닐레이트, 헤미술페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 헥실레조르시네이트, 히드라바민, 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 히드로아이오다이드, 2-히드록시-에탄술포네이트, 히드록시나프토에이트, 아이오다이드, 이소부티레이트, 이소티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 라우레이트, 라우릴술페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 만델레이트, 메실레이트, 메탄술포네이트, 메틸술페이트, 뮤케이트, 2-나프탈렌술포네이트, 나프실레이트, 니코티네이트, 니트레이트, N-메틸글루카민 암모늄 염, 올레에이트, 옥살레이트, 파모에이트 (엠보네이트), 팔미테이트, 판토테네이트, 펙티네이트, 퍼술페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트/디포스페이트, 프탈레이트, 피크레이트, 피발레이트, 폴리갈락투로네이트, 프로피오네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 술페이트, 수베레이트, 숙시네이트, 탄네이트, 타르트레이트, 테오클레이트, 토실레이트, 트리에티오다이드, 운데카노에이트, 발레레이트 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다 (예를 들어, 문헌 [S. M. Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 66, pp. 1-19 (1977)] 참조). 제약상 허용되지 않는 염은 제약상 허용되는 염을 제조하는 데 사용될 수 있고, 본 개시내용에 포함된다.

[0438] 한 실시양태에서, 본원에 사용된 결합제 및 PD-1 억제제는 생체내에서 적절한 분포를 보장하도록 제제화될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제약상 허용되는 담체는 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 수성 용액 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 제약 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비상용성인 경우를 제외하고는, 조성물에서의 그의 사용이 고려된다. 다른 활성 또는 치료 화합물이 또한 조성물 내로 혼입될 수 있다.

[0439] 주사용 제약 조성물은 전형적으로 제조 및 저장 조건 하에 멸균되고 안정해야 한다. 조성물은 용액, 마이크로-에멀젼, 리포솜 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제제화될 수 있다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트를 함유하는 수성 또는 비-수성 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 많은 경우에, 조성물 중에 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 글리세롤, 만니톨, 소르비톨 또는 염화나트륨을 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 지속 흡수는 조성물 중에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 일어날 수 있다. 멸균 주사가능한 용액은 요구되는 양의 활성 화합물을 적절한 용매 중에, 예를 들어 요구되는 경우 상기 열거된 바와 같은 성분 중 하나 또는 그의 조합과 함께 혼입시키고, 이어서 멸균 마이크로여과하여 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 예를 들어 상기 열거된 것으로부터의 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사가능한 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법의 예는 활성 성분 플러스 그의 이전에 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가의 목적하는 성분의 분말을 생성하는 진공 건조 및 동결-건조 (동결건조)이다.

[0440] 멸균 주사가능한 용액은 요구되는 양의 활성 화합물을 적절한 용매 중에, 요구되는 경우 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합과 함께 혼입시키고, 이어서 멸균 마이크로여과하여 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터의 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사가능한 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법의 예는 활성 성분 플러스 그의 이전에 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가의 목적하는 성분의 분말을 생성하는 진공-건조 및 동결-건조 (동결건조)이다.

[0441] 특정 실시양태에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 결합제는 히스티딘, 수크로스 및 폴리소르베이트-80을 포함하고 약 5 내지 약 6, 예컨대 5 내지 6의 pH를 갖는 조성물 또는 제제 중에 제제화된다. 특히, 본 발명에 따라 사용하기 위한 결합제는 약 20 mM 히스티딘, 약 250 mM 수크로스, 약 0.02% 폴리소르베이트-80을 포함하고 약 5.5의 pH를 갖는 조성물 또는 제제, 예컨대 20 mM 히스티딘, 250 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트-80을 포함하고 5.5의 pH를 갖는 조성물 또는 제제 중에 존재할 수 있다. 제제는 특정한 실시양태에서 약 10 내지 약 30 mg 결합제/mL, 예컨대 10-30 mg 결합제/mL, 특히 약 20 mg 결합제/mL, 예컨대 20 mg 결합제/mL를 포함할 수 있다.

[0442] 본 발명에 따라 사용하기 위한 결합제는 상기 정의된 바와 같은 조성물 중에 제공될 수 있고, 이어서 투여 전에 0.9% NaCl (염수) 중에 희석될 수 있다.

[0443] 제2 측면에서, 본 개시내용은 키트로서,

[0444] (i) CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하는 결합제이며, 여기서

[0445] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0446] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0447] 결합제, 및

[0448] (ii) PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이며, 여기서 항체는 PD-1 활성을 억제하고, 각각 서열식

별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0449] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편

[0450] 을 포함하는 키트를 제공한다.

[0451] 제1 측면에 관하여 (특히 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관하여) 본원에 개시된 실시양태는 또한 제2 측면의 키트에 적용된다. 한 실시양태에서, 키트는 적어도 2개의 용기를 포함하며, 여기서 그 중 1개는 결합제 (그 자체로 또는 (제약) 조성물의 형태로)를 함유하고, 제2 용기는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편 (그 자체로 또는 (제약) 조성물의 형태로)을 함유한다.

[0452] 제3 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 제2 측면의 키트를 제공한다. 제1 측면에 관하여 (특히 결합제, PD-1 억제제, 치료 요법, 특이적 종양/암 및 대상체에 관하여) 및/또는 제2 측면에 관하여 본원에 개시된 실시양태는 또한 제3 측면의 사용을 위한 키트에 적용된다.

[0453] 제4 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고,

[0454] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0455] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0456] 여기서 항체는 PD-1 활성을 억제하고, 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0457] 방법을 제공한다.

[0458] 제1 측면에 관하여 (특히 결합제, PD-1 억제제, 치료 요법, 특이적 종양/암 및 대상체에 관하여) 본원에 개시된 실시양태는 또한 제4 측면의 방법에 적용된다.

[0459] 추가 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 PD-1 억제제를 투여하는 것을 포함하며,

[0460] 여기서 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0461] 여기서 결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고,

[0462] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (V

L)을 포함하고,

[0463] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0464] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0465] 제1 측면에 관하여 (특히 결합제, PD-1 억제제, 임의적인 1종 이상의 추가의 치료제, 치료 요법, 특이적 종양/암 및 대상체에 관하여) 본원에 개시된 실시양태는 또한 이러한 추가 측면의 사용을 위한 PD-1 억제제에 적용된다.

[0466] 본원에 언급된 문헌 및 연구의 인용은 상기 중 임의의 것이 관련 선행 기술임을 인정하는 것으로 의도되지 않는다. 이들 문헌의 내용에 관한 모든 언급은 출원인에게 이용가능한 정보에 기초하며, 이들 문헌의 내용의 정확성에 관한 어떠한 인정도 구성하지 않는다.

[0467] 설명 (하기 실시예 포함)은 관련 기술분야의 통상의 기술자가 다양한 실시양태를 제조하고 사용할 수 있도록 제시된다. 특정 장치, 기술 및 적용의 설명은 단지 예로서 제공된다. 본원에 기재된 실시예에 대한 다양한 변형은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백할 것이고, 본원에 정의된 일반적 원리는 다양한 실시양태의 취지 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 다른 실시예 및 적용에 적용될 수 있다. 따라서, 다양한 실시양태는 본원에 기재되고 제시된 실시예에 제한되는 것으로 의도되지 않으며, 청구범위와 일치하는 범주에 따라야 한다.

[0468] **본 개시내용의 항목**

[0469] 1. 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 결합제로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 프로그램화된 사멸-1 (PD-1)에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며,

[0470] 여기서

[0471] 결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고;

[0472] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0473] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0474] PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나; 또는 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0475] 결합제.

[0476] 2. 항목 1에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 서열식별번호: 49의 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0477] 3. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0478] 4. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 서열식별번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것인 결합제.

[0479] 5. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, PD-1에 결합하는 항체가 펨브롤리주맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제.

[0480] 6. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, PD-L1이 인간 PD-L1, 특히 서열식별번호: 40에 제시된 서열을 포함하는 인간 PD-L1이고/거나 CD137이 인간 CD137, 특히 서열식별번호: 38에 제시된 서열을 포함하는 인간 CD137인 결합제.

[0481] 7. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0482] 결합제의 제1 결합 영역이 서열식별번호: 1 또는 9에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0483] 8. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0484] 결합제의 제2 결합 영역이 서열식별번호: 11에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 25 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0485] 9. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 제1 결합 영역이 서열식별번호: 1 또는 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5 또는 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0486] 10. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 제2 결합 영역이 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0487] 11. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0488] a) 결합제의 제1 결합 영역이 서열식별번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하고;

[0489] b) 결합제의 제2 결합 영역이 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 서열식별번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 영역을 포함하는 것인

[0490] 결합제.

[0491] 12. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 다중특이적 항체, 예컨대 이중특이적 항체인 결합제.

[0492] 13. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 전장 항체 또는 항체 단편의 포맷인 결합제.

[0493] 14. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 각각의 가변 영역이 3개의 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3) 및 4개의 프레임워크 영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4)을 포함하는 것인 결합제.

[0494] 15. 항목 13에 있어서, 상기 상보성 결정 영역 및 상기 프레임워크 영역이 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4로 배열되는 것인 결합제.

[0495] 16. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0496] i) 상기 제1 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제1 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 폴리펩티드, 및

[0497] ii) 상기 제2 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하거나, 그로 이루어지거나 또는 그로 본질적으로 이루어진 폴리펩티드

[0498] 를 포함하는 결합제.

[0499] 17. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0500] i) 상기 제1 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함하는 폴리펩티드, 및

[0501] ii) 상기 제2 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고 제2 경쇄 불변 영역 (CL)을 추가로 포함하는 폴리펩티드

[0502] 를 포함하는 결합제.

[0503] 18. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제가 제1 결합 아암 및 제2 결합 아암을 포함하는 항체이며, 여기서

[0504] 제1 결합 아암은

[0505] i) 상기 제1 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제1 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

[0506] ii) 상기 제1 경쇄 가변 영역 (VL) 및 제1 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 폴리펩티드

[0507] 를 포함하고;

[0508] 제2 결합 아암은

[0509] iii) 상기 제2 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 폴리펩티드, 및

[0510] iv) 상기 제2 경쇄 가변 영역 (VL) 및 제2 경쇄 불변 영역 (CL)을 포함하는 폴리펩티드

[0511] 를 포함하는 것인 결합제.

[0512] 19. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0513] i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄, 및

[0514] ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄

[0515] 를 포함하는 결합제.

[0516] 20. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0517] i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄이며, 제1 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 제1 경쇄 불변 영역을 포함하는 제1 경쇄; 및

[0518] ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄이며, 제2 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 제2 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 경쇄

[0519] 를 포함하는 결합제.

[0520] 21. 항목 16-20 중 어느 하나에 있어서, 각각의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 불변 중쇄 1 (CH1) 영역, 힌지 영역, 불변 중쇄 2 (CH2) 영역 및 불변 중쇄 3 (CH3) 영역 중 1종 이상, 바람직하게는 적어도 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역을 포함하는 것인 결합제.

[0521] 22. 항목 16-21 중 어느 하나에 있어서, 각각의 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 CH3 영역을 포함하며, 여기서 2개의 CH3 영역은 비대칭 돌연변이를 포함하는 것인 결합제.

[0522] 23. 항목 16-21 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)에서 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 T366, L368, K370, D399, F405, Y407 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에 상응하는 위치에서의 아미노산 중 적어도 1개가 치환되었고, 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)에서 EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 T366, L368, K370, D399, F405, Y407 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에 상응하는 위치에서의 아미노산 중 적어도 1개가 치환되었고, 여기서 상기 제1 및 상기 제2 중쇄는 동일한 위치에서 치환되지 않는 것인 결합제.

[0523] 24. 항목 23에 있어서, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제1 중쇄 불변 영역 (CH)에서 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제2 중쇄 불변 영역 (CH)에서 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제1 중쇄에서 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 위치에서의 아미노산이 상기 제2 중쇄에서 L인 결합제.

[0524] 25. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 동일한 제1 및 제2 항원 결합 영역 및 인간 IgG1 힌지, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 2개의 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 또 다른 항체와 비교하여 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도하는 결합제.

[0525] 26. 항목 25에 있어서, 항체가 비-변형된 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)을 포함하는 것을 제외하고는 동일한 항체와 비교하여 더 적은 정도로 Fc-매개된 이펙터 기능을 유도하도록 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 변형된 것인 결합제.

[0526] 27. 항목 26에 있어서, 각각의 상기 비-변형된 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH)이 서열식별번호: 19 또는 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 결합제.

[0527] 28. 항목 26 또는 27에 있어서, 상기 Fc-매개된 이펙터 기능이 Fcɣ 수용체에 대한 결합, C1q에 대한 결합 또는 Fcɣ 수용체의 Fe-매개된 가교의 유도에 의해 측정되는 것인 결합제.

[0528] 29. 항목 28에 있어서, 상기 Fc-매개된 이펙터 기능이 C1q에 대한 결합에 의해 측정되는 것인 결합제.

[0529] 30. 항목 25-29 중 어느 하나에 있어서, 상기 항체에 대한 C1q의 결합이 야생형 항체와 비교하여 감소되도록, 바람직하게는 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100%만큼 감소되도록 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역이 변형되었으며, 여기서 C1q 결합은 바람직하게는 ELISA에 의해 결정되는 것인 결합제.

[0530] 31. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (CH) 중 적어도 하나에서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235, D265, N297 및 P331에 상응하는 위치에서의 1개 이상의 아미노산이 각각 L, L, D, N 및 P가 아닌 것인 결합제.

[0531] 32. 항목 31에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234 및 L235에 상응하는 위치가 상기 제1 및 제2 중쇄에서 각각 F 및 E인 결합제.

[0532] 33. 항목 31 또는 32에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235 및 D265에 상응하는 위치가 상기 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 (HC)에서 각각 F, E 및 A인 결합제.

[0533] 34. 항목 31-33 중 어느 하나에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234 및 L235에 상응하는 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 둘 다의 위치가 각각 F 및 E이고, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치가 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제2 중쇄의 위치가 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치가 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제2 중쇄의 위치가 L인 결합제.

[0534] 35. 항목 31-34 중 어느 하나에 있어서, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 위치 L234, L235 및 D265에 상응하는 제1 및 제2 중쇄 불변 영역 둘 다의 위치가 각각 F, E 및 A이고, (i) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제1 중쇄 불변 영역의 위치가 L이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제2 중쇄 불변 영역의 위치가 R이거나, 또는 (ii) EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 K409에 상응하는 제1 중쇄의 위치가 R이고, EU 넘버링에 따른 인간 IgG1 중쇄 내의 F405에 상응하는 제2 중쇄의 위치가 L인 결합제.

[0535] 36. 항목 16-35 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄의 불변 영역이

[0536] a) 서열식별번호: 19 또는 25에 제시된 서열 [IgG1-FC];

[0537] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0538] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0539] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

[0540] 37. 항목 16-36 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 또는 제2 중쇄, 예컨대 제2 중쇄의 불변 영역이

[0541] a) 서열식별번호: 20 또는 26에 제시된 서열 [IgG1-F405L];

[0542] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0543] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 9개의 치환, 예컨대 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최

대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0544] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

[0545] 38. 항목 16-36 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 또는 제2 중쇄, 예컨대 제1 중쇄의 불변 영역이

[0546] a) 서열식별번호: 21 또는 27에 제시된 서열 [IgG1-K409R];

[0547] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0548] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0549] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

[0550] 39. 항목 16-15 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄의 불변 영역이

[0551] a) 서열식별번호: 22 또는 28에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEA];

[0552] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0553] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 7개의 치환, 예컨대 최대 6개의 치환, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0554] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

[0555] 40. 항목 16-39 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄, 예컨대 제2 중쇄의 불변 영역이

[0556] a) 서열식별번호: 24 또는 30에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEAL];

[0557] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0558] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 6개의 치환, 예컨대 최대 5개의 치환, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0559] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

[0560] 41. 항목 16-40 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 중쇄, 예컨대 제1 중쇄의 불변 영역이

[0561] a) 서열식별번호: 23 또는 29에 제시된 서열 [IgG1-Fc_FEAR];

[0562] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0563] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 6개의 치환, 예컨대 최대 5개의 치환, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0564] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그로 본질적으로 이루어지거나 또는 그로 이루어진 것인 결합제.

[0565] 42. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 카파 (κ) 경쇄 불변 영역을 포함하는 결합제.

[0566] 43. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 람다 (λ) 경쇄 불변 영역을 포함하는 결합제.

[0567] 44. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 경쇄 불변 영역이 카파 (κ) 경쇄 불변 영역 또는 람다 (λ) 경쇄 불변 영역인 결합제.

[0568] 45. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 상기 제2 경쇄 불변 영역이 람다 (λ) 경쇄 불변 영역 또는 카파 (κ)

경쇄 불변 영역인 결합제.

[0569] 46. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 경쇄 불변 영역이 카파 (κ) 경쇄 불변 영역이고, 상기 제2 경쇄 불변 영역이 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이거나, 또는 상기 제1 경쇄 불변 영역이 람다 (λ) 경쇄 불변 영역이고, 상기 제2 경쇄 불변 영역이 카파 (κ) 경쇄 불변 영역인 결합제.

[0570] 47. 항목 42-46 중 어느 하나에 있어서, 카파 (κ) 경쇄가

[0571] a) 서열식별번호: 35에 제시된 서열,

[0572] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0573] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0574] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 결합제.

[0575] 48. 항목 43-47 중 어느 하나에 있어서, 람다 (λ) 경쇄가

[0576] a) 서열식별번호: 36에 제시된 서열,

[0577] b) a)에서의 서열의 하위서열, 예컨대 a)에 정의된 서열의 N-말단 또는 C-말단으로부터 시작하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 연속 아미노산이 결실된 하위서열; 및

[0578] c) a) 또는 b)에 정의된 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 치환, 예컨대 최대 9개의 치환, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개의 치환, 최대 3개, 최대 2개의 치환 또는 최대 1개의 치환을 갖는 서열

[0579] 로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 결합제.

[0580] 49. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된 이소형의 결합제.

[0581] 50. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 전장 IgG1 항체인 결합제.

[0582] 51. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, IgG1m(f) 동종이형의 항체인 결합제.

[0583] 52. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서,

[0584] i) CD137에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제1 중쇄 및 경쇄이며, 서열식별번호: 31에 제시된 서열을 포함하는 제1 중쇄 및 서열식별번호: 32에 제시된 서열을 포함하는 제1 경쇄;

[0585] ii) PD-L1에 결합할 수 있는 상기 항원-결합 영역을 포함하는 제2 중쇄 및 경쇄이며, 서열식별번호: 33에 제시된 서열을 포함하는 제2 중쇄 및 서열식별번호: 34에 제시된 서열을 포함하는 제2 경쇄

[0586] 를 포함하는 결합제.

[0587] 53. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제.

[0588] 54. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 히스티딘, 수크로스 및 폴리소르베이트-80을 포함하고 5 내지 6의 pH를 갖는 조성물 또는 제제 중에 존재하는 결합제.

[0589] 55. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 약 20 mM 히스티딘, 약 250 mM 수크로스, 약 0.02% 폴리소르베이트-80을 포함하고 약 5.5의 pH를 갖는 조성물 또는 제제 중에 존재하는 결합제.

[0590] 56. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 10-30 mg 결합제/mL, 예컨대 20 mg 결합제/mL를 포함하는 조성물 또는 제제 중에 존재하는 결합제.

[0591] 57. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 항목 54 내지 56 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 조성물 중에 존재하고, 투여 전에 0.9% NaCl (염수) 중에 희석되는 결합제.

[0592] 58. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 인간 대상체인 결합제.

[0593] 59. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 고형 종양 또는 암인 결합제.

[0594] 60. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 상기 종양이 PD-L1 양성 종양인 결합제.

[0595] 61. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 흑색종, 난소암, 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 (NSCLC)), 결장직장암, 두경부암, 위암, 유방암, 신암, 요로상피암, 방광암, 식도암, 췌장암, 간암, 흉선종 및 흉선 암종, 뇌암, 신경교종, 부신피질 암종, 갑상선암, 다른 피부암, 육종, 다발성 골수종, 백혈병, 림프종, 골수이형성 증후군, 자궁내막암, 전립선암, 음경암, 자궁경부암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 메르켈 세포 암종 및 중피종으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 결합제.

[0596] 62. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 폐암 (예를 들어, 비소세포 폐암 (NSCLC)), 요로상피암 (방광암, 요관암, 요도암 또는 신우암), 자궁내막암 (EC), 유방암 (예를 들어, 삼중 음성 유방암 (TNBC)) 및 두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) (예를 들어, 구강암, 인두암 또는 후두암)으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 결합제.

[0597] 63. 항목 61 또는 62에 있어서, 종양 또는 암이 폐암, 특히 비소세포 폐암 (NSCLC), 예컨대 편평 또는 비-편평 NSCLC인 결합제.

[0598] 64. 항목 61 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 전이성, 예컨대 전이성 NSCLC인 결합제.

[0599] 65. 항목 61 내지 64 중 어느 하나에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 표피 성장 인자 (EGFR)-감작 돌연변이 및/또는 역형성 림프종 (ALK) 전위 / ROS1 재배열을 갖지 않는 것인 결합제.

[0600] 66. 항목 61 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 암 세포를 포함하고, PD-L1이, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 암 세포 또는 종양 세포의 ≥1%에서 발현되는 것인 결합제.

[0601] 67. 항목 66에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 암 세포를 포함하고, PD-L1이, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 암 세포 또는 종양 세포의 1% 내지 49%에서 발현되는 것인 결합제.

[0602] 68. 항목 66에 있어서, 폐암, 특히 NSCLC가 암 세포를 포함하고, PD-L1이, 예를 들어 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 암 세포 또는 종양 세포의 ≥50%에서 발현되는 것인 결합제.

[0603] 69. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 전이성 질환의 선행 전신 치료를 받지 않은 것인 결합제.

[0604] 70. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 체크포인트 억제제; 예를 들어 PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 선행 치료를 받지 않은 것인 결합제.

[0605] 71. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 4-1BB (CD137) 표적화제, 예컨대 항-4-1BB (CD137) 항체, 항종양 백신 또는 자가 세포 면역요법을 사용한 선행 치료를 받지 않은 것인 결합제.

[0606] 72. 항목 1 내지 68 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 치료, 예컨대 체크포인트 억제제를 사용한 전신 치료 후에 재발되었고/거나 불응성인 결합제.

[0607] 73. 항목 1 내지 68 및 72 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 적어도 1차의 선행 전신 요법, 예컨대 PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 포함하는 전신 요법을 받은 것인 결합제.

[0608] 74. 항목 1 내지 68, 72 및 73 중 어느 하나에 있어서, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료 후에 암 또는 종양이 재발되었고/거나 불응성이거나 또는 대상체가 진행되었으며, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제는 단독요법으로서 또는 조합 요법의 일부로서 투여된 것인 결합제.

[0609] 75. 항목 1 내지 68 및 72 내지 74 중 어느 하나에 있어서, 마지막 선행 치료가 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용하였으며, PD-1 억제제 또는 PD-L1 억제제는 단독요법으로서 또는 조합 요법의 일부로서 투여된 것인 결합제.

[0610] 76. 항목 1 내지 68 및 72 내지 74 중 어느 하나에 있어서, PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 마지막 치료 시 진행으로부터의 시간이 8개월 이하, 예컨대 7개월 이하, 6개월 이하, 5개월 이하, 4개월 이하, 3개월 이하, 2개월 이하, 1개월 이하, 3주 이하 또는 예컨대 2주 이하인 결합제.

[0611] 77. 항목 1 내지 68 및 72 내지 74 중 어느 하나에 있어서, 마지막 선행 치료의 일부로서의 PD1 억제제 또는 PD-L1 억제제, 예컨대 항 PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체의 마지막 투여로부터의 시간이 8개월 이하, 예컨대 7개월 이하, 6개월 이하, 5개월 이하, 4개월 이하, 3개월 이하, 2개월 이하, 1개월 이하, 3주 이하 또는 예컨대 2주 이하인 결합제.

[0612] 78. 항목 1 내지 68 및 72 내지 74 중 어느 하나에 있어서,

[0613] i) 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료 후 백금 이중 화학요법, 또는

[0614] ii) 백금 이중 화학요법 후 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료

[0615] 동안 또는 그 후에, 암 또는 종양이 재발되었고/거나 불응성이거나 또는 대상체가 진행된 것인 결합제.

[0616] 79. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 탁산 화학요법제, 예를 들어 도세탁셀을 사용한 선행 치료, 예컨대 탁산 화학요법제, 예를 들어 도세탁셀을 사용한 NSCLC의 선행 치료를 받지 않은 것인 결합제.

[0617] 80. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 적어도 1회의 치료 주기로 투여되며, 각각의 치료 주기는 3주 (21일) 또는 6주 (42일)인 결합제.

[0618] 81. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량이 3주마다 (1Q3W) 투여되는 것인 결합제.

[0619] 82. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량이 6주마다 (1Q6W) 투여되는 것인 결합제.

[0620] 83. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 1회 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 1회 용량이 각각의 치료 주기의 제1일에 투여되는 것인 결합제.

[0621] 84. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는 상기 결합제의 양이 100 mg인 결합제.

[0622] 85. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는, PD-1에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양이 200 mg인 결합제.

[0623] 86. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 각각의 용량으로 및/또는 각각의 치료 주기로 투여되는, PD-1에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 양이 400 mg인 결합제.

[0624] 87. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 100 mg 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 200 mg 용량이 3주마다 (1Q3W) 투여되는 것인 결합제.

[0625] 88. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 결합제의 100 mg 용량 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 400 mg 용량이 6주마다 (1Q6W) 투여되는 것인 결합제.

[0626] 89. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 NSCLC이고; 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨볼리주맙인 PD-1에 결합하는 항체의 200 mg 용량이 3주마다 (1Q3W), 예컨대 각각의 3주 치료 주기의 제1일에 투여되는 것인 결합제.

[0627] 90. 항목 1-88 중 어느 하나에 있어서, 종양 또는 암이 NSCLC이고; 아카순리맙 또는 그의 바이오시밀러인 결합제의 100 mg 용량 및 펨볼리주맙인 PD-1에 결합하는 항체의 400 mg 용량이 6주마다 (1Q6W), 예컨대 매 6주 치료 주기의 제1일에 투여되는 것인 결합제.

[0628] 91. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 먼저 투여되고, 이어서 결합제가 투여되는 것인 결합제.

[0629] 92. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 최소 30분에 걸쳐, 예컨대 최소 60분에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여되는 결합제.

[0630] 93. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, 30분에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여되는 결합제.

[0631] 94. 상기 항목 중 어느 하나에 있어서, PD-1 억제제가 30분에 걸쳐 정맥내 주입으로서 투여되는 것인 결합제.

[0632] 95. 키트로서,

[0633] (i) CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하는 결합제이며, 여기서

[0634] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고,

[0635] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0636] 결합제, 및

[0637] (ii) PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이며, 여기서 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0638] PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편

[0639] 을 포함하는 키트.

[0640] 96. 항목 95에 있어서, 결합제 및/또는 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 항목 1 내지 94 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 것인 키트.

[0641] 97. 항목 95 또는 96에 있어서, 결합제 및 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 전신 투여, 특히 주사 또는 주입, 예컨대 정맥내 주사 또는 주입을 위한 것인 키트.

[0642] 98. 항목 95-97 중 어느 하나에 있어서, 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 키트.

[0643] 99. 항목 98에 있어서, 종양 또는 암 및/또는 대상체 및/또는 방법이 항목 1-94 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 것인 키트.

[0644] 100. 대상체에서 종양의 진행을 감소시키거나 예방하거나 또는 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 대상체에게 PD-1에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 결합제를 투여하는 것을 포함하며,

[0645] 여기서 결합제는 CD137에 결합하는 제1 결합 영역 및 PD-L1에 결합하는 제2 결합 영역을 포함하고,

[0646] a) 제1 결합 영역은 각각 서열식별번호: 2, 3 및 4에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 6, 7 및 8에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0647] b) 제2 항원-결합 영역은 각각 서열식별번호: 12, 13 및 14에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 16, 17 및 18에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고;

[0648] 여기서 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 43, 44 및 45에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 46, 47 및 48에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하거나, 또는 PD-1에 결합하는 항체는 각각 서열식별번호: 62, 63 및 64에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 각각 서열식별번호: 65, 66 및 67에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함하는 것인

[0649] 방법.

[0650] 101. 항목 100에 있어서, 종양 또는 암 및/또는 대상체 및/또는 방법 및/또는 결합제 및/또는 PD-1 억제제가 항목 1-94 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 것인 방법.

[0651] 본 개시내용의 추가 측면이 본원에 개시된다.

[0652] **실시예**

[0653] **실시예 1: 정제된 CD8+ T 세포 및 동종 성숙 수지상 세포 (mDC)의 공동-배양물에서의 시토카인 분비**

[0654] **방법**

[0655] 건강한 공여자로부터의 단핵구 및 T 세포

[0656] CD14+ 단핵구 및 정제된 CD8+ T 세포를 프리시젼 메디신(Precision Medicine) 또는 바이오IVT(BioIVT)로부터 입수하였다. 동종이형 공여자 쌍을 동종이형 혼합 림프구 반응 (MLR 검정)에 사용하였다.

[0657] 단핵구의 미성숙 수지상 세포로의 분화

[0658] 인간 $CD14^+$ 단핵구를 건강한 공여자로부터 수득하였다 (상기 참조). 미성숙 수지상 세포 (iDC)로의 분화를 위해, 1 - 1.5 x 10^6개 단핵구/mL를 37℃에서 T25 배양 플라스크 (팔콘(Falcon), 카탈로그 번호 353108) 내 10% 열-불활성화 태아 소 혈청 (FBS; 깁코(Gibco), 카탈로그 번호 16140071), 100 ng/mL 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF; 바이오레전드(BioLegend), 카탈로그 번호 766106) 및 300 ng/mL 인터류킨-4 (IL-4; 바이오레전드, 카탈로그 번호 766206)로 보충된 로스웰 파크 메모리얼 인스티튜트(Roswell Park Memorial Institute) (RPMI) 1640 완전 배지 (ATCC 변형 포뮬라; 써모피셔(ThermoFisher), 카탈로그 번호 A1049101) 중에서 6일 동안 배양하였다. 이들 6일 동안 1회, 배지를 보충물을 함유하는 신선한 배지로 대체하였다.

[0659] iDC의 성숙

[0660] iDC를 성숙시키기 위해, 비-부착 세포를 수집하여 세포를 수거하고, 카운팅하고, MLR 검정을 시작하기 전에 37℃에서 24시간 동안 10% FBS, 100 ng/mL GM-CSF, 300 ng/mL IL-4 및 리포폴리사카라이드 (LPS; 써모피셔, 카탈로그 번호 00-4976-93)로 1x 보충된 RPMI 1640 완전 배지 중에서 1 - 1.5 x 10^6개 세포/mL로 인큐베이션하였다.

[0661] 혼합 림프구 반응 (MLR)

[0662] MLR 검정을 시작하기 1일 전에, 동종의 건강한 공여자로부터 수득된 정제된 CD8+ T 세포를 해동시켰다. 세포를 10% FBS 및 10 ng/mL IL-2 (바이오레전드, 카탈로그 번호 589106)로 보충된 RPMI 1640 완전 배지 중에 1 x 10^6개 세포/mL로 재현탁시키고, 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다.

[0663] 다음 날, LPS-성숙 수지상 세포 (mDC, iDC의 성숙 참조) 및 동종이형의 정제된 CD8+ T 세포를 수거하고, AIM-V 배지 (써모피셔, 카탈로그 번호 12055091) 중에 각각 4 x 10^5개 세포/mL 및 4 x 10^6개 세포/mL로 재현탁시켰다.

[0664] 공동-배양물에서, 20,000개의 mDC를 200,000개의 동종의 정제된 CD8+ T 세포 (1:10의 DC:T 세포 비)와 함께 GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL)의 존재 하에 단독으로 또는 연구-등급 펨브롤리주맙 (0.1 - 30 μg/mL 또는 0.1 - 100 μg/mL), 연구-등급 펨브롤리주맙 (0.1 - 30 μg/mL 또는 0.1 - 100 μg/mL), bsIgG1-PD-L1xctrl (30 μg/mL), bsIgG1-ctrlx4-1BB (30 μg/mL), 이소형 대조군 항체 IgG4 (100 μg/mL) 또는 IgG1-ctrl-FEAL (30 μg/mL; 표 5)과 조합하여 37℃에서 96-웰 둥근-바닥 플레이트 (팔콘, 카탈로그 번호 353227) 내 AIM-V 배지 중에서 인큐베이션하였다. 5일 후, 플레이트를 500 xg로 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 각각의 웰로부터 새로운 96-웰 둥근 바닥 플레이트로 조심스럽게 옮겼다.

[0665] MLR 검정으로부터 수집된 상청액을 엔비전(Envision) 기기 상에서 알파 리사(Alpha Lisa) IFNγ 키트 (퍼킨 엘머(Perkin Elmer), 카탈로그 번호 AL217)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 인터페론 (IFN)γ 수준에 대해 분석하였다. TNFα 및 IL-2를 루미넥스(Luminex) FLEXMAP 3D 기기 상에서 밀리플렉스(Milliplex) MAP-인간 시토카인/TH17 패널 (밀리포어 시그마(Millipore Sigma), 카탈로그 번호 SPR1526)의 일부로서 측정하였다.

[0666] 표 5:

시험 화합물	공급업체, 카탈로그 번호	포함하는 SEQ ID NO
GEN1046	N/A	CD137 결합 아암: SEQ ID NO: 1, 5, 35, 29 PD-L1 결합 아암: SEQ ID NO: 11, 15, 36, 30
bsIgG1-PD-L1xctrl[1]	N/A	SEQ ID NO: 11, 15, 53, 54, 35, 36, 29, 30
bsIgG1-ctrlx4-1BB[1]	N/A	SEQ ID NO: 35, 36, 1, 5, 35, 36, 29, 30
IgG1-ctrl-FEAL[2]	N/A	SEQ ID NO: 53, 54, 30
펨브롤리주맙	셀렉켐, 카탈로그 번호 A2005 (임상 제품 펨브롤리주맙의 비-임상/연구-등급 버전; 로트 번호 A200504)	N/A
IgG4	바이오레전드, 카탈로그 번호 403702 (펨브롤리주맙에 대한 이소형 대조군 항체)	N/A

[0667]

[0668] [1]항-HIV gp120 항체 IgG1-b12에 기초한 대조군 결합 모이어티 (Barbas et al., J Mol Biol 230: 812-823)

[0669] **결과**

[0670] GEN1046은 3개의 공여자 쌍에서 IgG1-ctrl-FEAL과 비교하여, 정제된 CD8+ T 세포 및 동종 mDC의 공동-배양물에서 IL-2 분비를 유도하였다 (도 2 참조). 대조적으로, 펨브롤리주맙은 이소형 대조군 IgG4 항체와 비교하여 IL-2의 제한된 증가 (<50 pg/mL)만을 유도하였다. GEN1046 및 펨브롤리주맙에 대한 공동 노출은 GEN1046 또는 펨브롤리주맙 단독과 비교하여 IL-2의 강력한 증가를 유도하여, GEN1046 단독과 비교하여 IL-2의 최대 농도를 약 2-3배 증가시켰다.

[0671] 추가로, GEN1046은 3개의 공여자 쌍에서 IgG1-ctrl-FEAL과 비교하여, 정제된 CD8+ T 세포 및 동종 mDC의 공동-배양물에서 IFNγ 분비를 유도하였다 (도 3 참조). 유사하게, 펨브롤리주맙은 GEN1046과 비교하여 보다 제한된 정도이긴 하지만, 모든 3개의 공여자 쌍에서 IFNγ 분비를 증진시켰다. GEN1046 및 펨브롤리주맙에 대한 공동 노출은 특히 보다 낮은 용량의 GEN1046 (<1 μg/mL)에서 GEN1046 또는 펨브롤리주맙 단독과 비교하여 IFNγ의 추가의 증가를 유도하였다.

[0672] 추가로, GEN1046은 3개의 공여자 쌍에서 IgG1-ctrl-FEAL과 비교하여, 정제된 CD8+ T 세포 및 동종 mDC의 공동-배양물에서 TNFα 분비를 유도하였다 (도 4 참조). 대조적으로, 펨브롤리주맙은 GEN1046과 비교하여 단지 제한된 양의 TNFα를 유도하였다. GEN1046 및 펨브롤리주맙에 대한 공동 노출은, 특히 0.1 μg/mL GEN1046과 시험된 펨브롤리주맙의 모든 농도에서, GEN1046 단독과 비교하여 TNFα의 약간의 증가를 유도하였으며, 이는 효력의 좌측 이동을 나타낸다.

[0673] 종합하면, 이들 결과는 GEN1046을 펨브롤리주맙과 조합하면 mDC/$CD8^+$ T 세포 MLR 검정에서 각각의 항체 단독에 비해 IFNγ, IL-2 및 TNFα 분비를 강화시킨다는 것을 나타낸다. IFNγ의 강화는 주로 GEN1046의 저농도에서 관찰되었지만, GEN1046과 펨브롤리주맙의 조합은 다수의 농도에서 IL-2의 강화를 나타냈다.

[0674] **실시예 2: MC38 마우스 결장암 종양 증식**

[0675] **방법**

[0676] MC38 마우스 결장암 세포를 37℃, 5% CO_2에서 10% 열-불활성화 태아 소 혈청으로 보충된 둘베코 변형 이글 배지 중에서 배양하였다. MC38 세포를 대수기로 성장하는 세포 배양물로부터 수거하고, 정량화하였다.

[0677] MC38 세포 (100 μL PBS 중 1 x 10^6개 종양 세포)를 암컷 C57BL/6 마우스 (바이탈 리버 래보러토리즈 리서치 모델즈 앤드 서비시즈(Vital River Laboratories Research Models and Services)로부터 입수함; 실험 시작 시 6-8주령)의 우측 하부 측복부에 피하로 주사하였다.

[0678] 캘리퍼를 사용하여 1주에 3회 종양 성장을 평가하였다. 캘리퍼 측정으로부터 종양 부피 (mm^3)를 ([길이] x [폭]^2) / 2로서 계산하였으며, 여기서 길이는 가장 긴 종양 치수이고, 폭은 길이에 수직인 가장 긴 종양 치수이다.

[0679] 종양이 64 mm^3의 중앙 부피에 도달하였을 때 처리를 개시하였다. 마우스를 처리 전에 동일한 평균 종양 부피 (64 mm^3)를 갖는 군 (n = 10/군)으로 무작위화하였다. 처리일에, 마우스에게 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg; 10 μL/g 체중의 주사 부피; 3주 동안 매주 2회 용량 [2QWx3]), 항-마우스 PD-1 항체 (항-mPD-1; 10 mg/kg; 10 μL/g 체중의 주사 부피; 2QWx3; 클론 RMP1-14; 레인코 테크놀로지스(Leinco Technologies), 카탈로그 번호 P372), mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)와 항-mPD-1 (10 mg/kg)의 조합 (2회의 개별 주사 [mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB에 이어서 20분 후 항-mPD-1]; 10 μL/g 체중의 주사 부피; 2QWx3) 또는 PBS (10 μL/g 체중의 주사 부피)를 복강내로 주사하였다 (표 6).

[0680] 마우스를 질병의 임상 징후에 대해 매일 모니터링하였다. 체중 측정을 무작위화 후 1주 3회 수행하였다. 종양 부피가 1500 mm^3를 초과하였을 때 또는 동물이 인도적 종점에 도달하였을 때 (예를 들어, 마우스가 체중 감소 > 20%를 나타냈을 때, 종양이 궤양화 [> 75%]를 나타냈을 때, 심각한 임상 징후가 관찰되었을 때 및/또는 종양 성장으로 마우스의 신체 활동이 방해받았을 때) 개별 마우스에 대해 실험을 종료하였다.

[0681] 표 6. 처리군 및 투여 요법

[0682]

처리군	군당 N	처리	용량[a]	투여 경로	투여 요법	Seq ID/ 공급업체, 카탈로그 번호
1	10	PBS	N/A	IP	2QW×3[a]	N/A
2	10	항-mPD-1	10 mg/kg	IP	2QW×3[a]	레인코 테크놀로지스, 카탈로그 번호 P372
3	10	mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB	5 mg/kg	IP	2QW×3[a]	Seq ID: 60, 61, 55, 56, 57, 58, 59
4	10	mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB + 항-mPD-1	5 mg/kg + 10 mg/kg	IP	2QW×3[a]	Seq ID: 60, 61, 55, 56, 57, 58, 59 레인코 테크놀로지스, 카탈로그 번호 P372

[0683] [a] 2QWx3: 3주 동안 매주 2회 용량

[0684] **결과**

[0685] PBS로 처리된 MC38-보유 마우스에서는 급속한 종양 증식이 관찰되었다 (도 5A). 항-mPD-1 (10 mg/kg) 또는 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)로 처리된 마우스에서는 지연된 종양 증식이 관찰되었으며, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB에 의해 유도된 종양 증식이 보다 현저하게 지연되었다 (도 5A). mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)와 조합된 항-mPD-1 (10 mg/kg; 둘 다 2QWx3)로 처리된 마우스에서는, 처리 개시 후 제21일에 6/10마리의 마우스에서 완전한 종양 퇴행이 관찰되었으며, 이러한 모델에서 어느 하나의 작용제 단독에 대해 완전한 종양 퇴행이 관찰되지 않은 것과 비교된다 (도 5A). 카플란-마이어 분석은 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합을 사용한 처리가 PBS-처리군 ($p<0.001$)과 비교하였을 때 및 항체 단독 ($p\leq0.001$; 만텔-콕스; 도 5B, 표 7)과 비교하였을 때 500 mm^3보다 더 작은 종양 부피를 갖는 마우스의 백분율로서 정의되는 무진행 생존의 유의한 증가를 유도한다는 것을 보여주었다. 따라서, 단독요법으로서의 각각의 작용제에 의해 나타난 활성에 비해 우수한 ($p<0.05$) 항종양 효능으로서 정의되는 치료 상승작용이 이 조합에서 관찰되었다.

[0686] 이들 결과는 암 환자에서 항종양 면역 반응을 추가로 증폭시켜 지속적이고 깊은 임상 반응을 생성하고 생존을 증진시키기 위해 GEN1046과 항-PD-1 항체의 조합을 평가하기 위한 근거를 제공한다.

[0687] 표 7. C57BL/6 마우스의 MC38 모델에서 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1 (단독 또는 조합)에 의해 유도된 무진행 생존의 만텔-콕스 분석

비교된 처리군			무진행 생존[1]
			만텔-콕스 P 값
PBS	vs	항-mPD-1	0.012
PBS	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	<0.001
PBS	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	<0.001
항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	0.515
항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	0.001
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB (5 mg/kg)	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	<0.001

[0688]

[0689] [1]종양 부피 < 500mm^3를 무진행 생존에 대한 컷-오프로서 사용하였다. 만텔-콕스 분석을 제45일에 수행하였다.

[0690] **실시예 3: 활성 PD1/PD-L1 축을 사용한 항원-특이적 T 세포 검정에서 GEN1046 및 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙의 증식 용량-반응을 결정하기 위한 항원-특이적 CD8+ T 세포 증식 검정.**

[0691] 듀오바디-PD-L1x4-1BB 또는 펨브롤리주맙에 의한 T 세포 증식의 유도를 측정하기 위해, 활성 PD1/PD-L1 축을 사용한 항원-특이적 T 세포 증식 검정을 수행하였다.

[0692] HLA-A2+ 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 건강한 공여자로부터 입수하였다 (독일 마인츠 소재 대학 병원 수혈센터 (Transfusionszentrale, University Hospital)). 항-CD14 마이크로비즈(MicroBeads) (밀테니(Miltenyi); 카탈로그 번호 130-050-201)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 자기-활성화 세포 분류 (MACS) 기술에 의해 PBMC로부터 단핵구를 단리하였다. 말초 혈액 림프구 (PBL, CD14-음성 분획)를 향후 T-세포 단리를 위해 동결시켰다. 미성숙 DC (iDC)로의 분화를 위해, 1x10^6개 단핵구/mL를 5% 인간 AB 혈청 (시그마-알드리치 케미 게엠베하 (Sigma-Aldrich Chemie GmbH), 카탈로그 번호 H4522-100ML), 피루브산나트륨 (라이프 테크놀로지스 게엠베하 (Life technologies GmbH), 카탈로그 번호 11360-039), 비-필수 아미노산 (라이프 테크놀로지스 게엠베하, 카탈로그 번호 11140-035), 100 IU/mL 페니실린-스트렙토마이신 (라이프 테크놀로지스 게엠베하, 카탈로그 번호 15140-122), 1000 IU/mL 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF; 밀테니, 카탈로그 번호 130-093-868) 및 1000 IU/mL 인터류킨-4 (IL-4; 밀테니, 카탈로그 번호 130-093-924)를 함유하는 RPMI 글루타맥스(GlutaMAX) (라이프 테크놀로지스 게엠베하, 카탈로그 번호 61870-044) 중에서 5일 동안 배양하였다. 이들 5일 동안 1회, 배지의 절반을 신선한 배지로 대체하였다. 비-부착 세포를 수집하여 iDC를 수거하고, 부착 세포를 2mM EDTA를 함유하는 PBS와 함께 37℃에서 10분 동안 인큐베이션함으로써 탈착시켰다. 세척 후, iDC를 향후 항원-특이적 T 세포 검정을 위해 10% v/v DMSO (어플라이켐 게엠베하(AppliChem GmbH), 카탈로그 번호 A3672,0050) + 50% v/v 인간 AB 혈청을 함유하는 RPMI 글루타맥스 중에서 동결시켰다.

[0693] 항원-특이적 CD8+ T 세포 증식 검정의 시작 1일 전에, 동일한 공여자로부터의 동결된 PBL 및 iDC를 해동시켰다. 항-CD8 마이크로비즈 (밀테니, 카탈로그 번호 130-045-201)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 MACS 기술에 의해 PBL로부터 CD8+ T 세포를 단리하였다. 약 10-15 x 10^6개 CD8+ T 세포를 BTX ECM® 830 전기천공 시스템 장치 (BTX; 500 V, 1 x 3 ms 펄스)를 사용하여 4-mm 전기천공 큐벳 (VWR 인터내셔널 게엠베하(VWR International GmbH), 카탈로그 번호 732-0023) 내 250 µL X-Vivo15 (바이오짐 사이언티픽 게엠베하(Biozym Scientific GmbH), 카탈로그 번호 881026) 중 알파-쇄를 코딩하는 시험관내 번역된 (IVT)-RNA 10 µg 플러스 클라우딘-6-특이적 뮤린 TCR의 베타-쇄를 코딩하는 IVT-RNA (HLA-A2-제한됨; WO 2015150327 A1에 기재됨) 10 µg 플러스 PD-1을 코딩하는 IVT-RNA 10 µg으로 전기천공하였다. 전기천공 직후, 세포를 5% 인간 AB 혈청으로 보충된 신선한 IMDM 배지 (라이프 테크놀로지스 게엠베하, 카탈로그 번호 12440-061)로 옮기고, 37℃, 5% CO_2에서 적어도 1시간 동안 휴지시켰다. PBS 중 1.6 µM 카르복시플루오레세인 숙신이미딜 에스테르 (CFSE; 인비트로젠 (Invitrogen), 카탈로그 번호 C34564)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 T 세포를 표지하고, 5% 인간 AB 혈청으로 보충된 IMDM 배지 중에서 밤새 인큐베이션하였다.

[0694] 5 x 10^6개 이하의 해동된 iDC를 상기 기재된 바와 같은 전기천공 시스템 (300 V, 1x12 ms 펄스)을 사용하여 250 µL X-Vivo15 배지 중에서 전장 클라우딘-6을 코딩하는 IVT-RNA 1 µg (GEN1046 용량-반응) 또는 3 µg (펨브롤리주맙 용량-반응)으로 전기천공하고, 5% 인간 AB 혈청으로 보충된 IMDM 배지 중에서 밤새 인큐베이션하였다.

[0695] 다음 날, 세포를 수거하였다. DC 상의 클라우딘-6 및 PD-L1 및 T 세포 상의 TCR 및 PD-1의 세포 표면 발현을

유동 세포측정법에 의해 검사하였다. DC를 알렉사647-접합된 CLDN6-특이적 항체 (비-상업적으로 입수가능함; 사내 생산) 및 항-인간 CD274 항체 (PD-L1, 이바이오사이언스(eBioscience), 카탈로그 번호 12-5983)로 염색하고, T 세포를 항-마우스 TCR β 쇄 항체 (벡톤 디킨슨 게엠베하(Becton Dickinson GmbH), 카탈로그 번호 553174) 및 항-인간 CD279 항체 (PD-1, 이바이오사이언스, 카탈로그 번호 17-2799)로 염색하였다. 전기천공된 DC를 전기천공된 CFSE-표지된 T 세포와 함께 1:10의 비로 96-웰 둥근-바닥 플레이트 내 5% 인간 AB 혈청으로 보충된 IMDM 글루타맥스 중에서 GEN1046 (1 내지 0.00015 μg/mL의 3배 연속 희석물) 또는 임상-등급 펨브롤리주맙 (0.8 내지 0.00005 μg/mL의 4배 연속 희석물; 키트루다(Keytruda), 포에닉스 아포테케(Phoenix Apotheke), PZN 10749897)의 존재 하에 인큐베이션하였다. CFSE-희석물에 기초한 T 세포 증식의 유동 세포측정 분석을 BD FACSCanto™ II 또는 BD FACSCelesta™ 유동 세포측정기 (벡톤 디킨슨 게엠베하) 상에서 5일 후에 수행하였다. 획득된 데이터를 플로우조 소프트웨어 버전 10.7.1을 사용하여 분석하였다. 처리 조건당 확장 지수 값 (전체 배양물의 배수-확장을 결정함)을 계산하고, GEN1046 또는 펨브롤리주맙 농도의 함수로서 플롯팅하였다. 용량-반응 곡선을 생성하고, EC_{20}, EC_{50}, EC_{90} 및 힐-기울기 값을 4-파라미터 로그 피트를 사용하여 그래프패드 프리즘 버전 9 (그래프패드 소프트웨어, 인크.)에서 계산하였다.

[0696] 표 8에 주어진 EC_{20}, EC_{50}, EC_{90} 및 힐-기울기 값으로 1 내지 0.00015 μg/mL의 3배 연속 희석물에서 GEN1046 용량 반응을 분석하였다 (도 6A). 시험된 4명의 공여자에 걸쳐 0.0064 μg/mL의 평균 EC_{50}으로 강한 증식 유도 효과가 관찰되었다.

[0697] 표 9에 주어진 EC_{50}, EC_{90} 및 힐-기울기 값으로 0.8 내지 0.00005 μg/mL의 4배 연속 희석물에서 펨브롤리주맙 용량 반응을 분석하였다 (도 6B). 시험된 4명의 공여자에 걸쳐 0.0149 μg/mL의 평균 EC_{50}으로 강한 증식 유도 효과가 관찰되었다.

[0698] 표 8. 항원-특이적 T-세포 증식 검정에 의해 측정된 바와 같은 $CD8^+$ T-세포 확장 데이터에 기초한 GEN1046의 EC_{20}, EC_{50} 및 EC_{90}-값의 결정. 제시된 데이터는 4 파라미터 로그 피트에 기초하여 계산된 값이다.

[0699]

공여자	EC_{50} 값 [μg/ml]	힐-기울기	계산된 EC_{20} [μg/ml]	계산된 EC_{90} [μg/ml]
28	0.00754	1.485	0.00296	0.03311
89	0.00776	1.469	0.00302	0.03464
02	0.00523	1.910	0.00253	0.01651
72	0.00506	1.334	0.00179	0.02626
평균	0.0064	1.549	0.0026	0.0276

[0700] 표 9. 항원-특이적 T-세포 증식 검정에 의해 측정된 바와 같은 $CD8^+$ T-세포 확장 데이터에 기초한 승인된 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙의 EC_{50} 및 EC_{90}-값의 결정. 제시된 데이터는 4 파라미터 로그 피트에 기초하여 계산된 값이다. 평균은 산술 평균이다.

[0701]

공여자	EC_{50} 값 [μg/ml]	힐-기울기	계산된 EC_{90} [μg/ml]
26268_B	0.0218	1.122	0.1545
26685_A	0.0115	0.974	0.1098
26395_B	0.0113	0.9689	0.1091
평균	0.0149	1.021	0.1245

[0702] **실시예 4: 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙의 존재 또는 부재 하에 GEN1046에 의한 PD-1/PD-L1-매개된 T 세포 억제의 해제 및 CD8+ T 세포 증식의 추가의 공동-자극.**

[0703] 항-PD-1 항체 펨브롤리주맙 또는 IgG1-ctrl 항체와 조합된 GEN1046에 의한 T 세포 증식의 유도를 측정하기 위해, 활성 PD1/PD-L1 축을 사용한 항원-특이적 T 세포 증식 검정을 수행하였다 (실시예 1과 유사한 일반적 검정 설정). 간략하게, 클라우딘-6-IVT-RNA 전기천공된 DC를 클라우딘-6-특이적 TCR- 및 PD1-IVT-RNA 전기천공된, CFSE-표지된 T 세포와 함께 (1:10의 비로) 96-웰 둥근 바닥 플레이트 내 5% 인간 AB 혈청으로 보충

된 IMDM 글루타맥스 중에서 고정 농도의 펨브롤리주맙 또는 이소형 대조군 항체 IgG1-ctrl과 조합된 GEN1046의 존재 하에 인큐베이션하였다. 이전 실험에서 결정된 최적, 반수-최대 및 준최적 유효 농도를 나타내는 3가지 상이한 농도의 GEN1046을 시험하였다 (0.2 μg/mL >EC90; 0.0067 μg/mL ≈EC50; 0.0022 μg/mL ≈EC20, 실시예 1, 표 1 참조). 펨브롤리주맙 및 IgG1-ctrl 항체를 펨브롤리주맙에 대한 EC90 값을 훨씬 초과하는 농도인 0.8 μg/mL의 농도에서 시험하였다 (실시예 1, 표 2 참조). 배지 및 0.8 μg/mL IgG1-ctrl 단독을 사용하여 기준선 증식을 결정하였다. 펨브롤리주맙 (0.8 μg/mL)을 추가의 체크포인트 억제 대조군으로서 사용하였다. CFSE-희석물에 기초한 T 세포 증식의 유동 세포측정 분석을 BD FACSCanto™ II 또는 BD FACSCelesta™ 유동 세포측정기 (벡톤 디킨슨 게엠베하) 상에서 5일 후에 수행하였다. 획득된 데이터를 플로우조 소프트웨어 버전 10.7.1을 사용하여 분석하였다. 처리 조건당 확장 지수 값을 계산하고, 그래프패드 프리즘 버전 9 (그래프패드 소프트웨어, 인크.)를 사용하여 플롯팅하였다.

[0704] PD-1 및 클라우딘-6-특이적 TCR 발현 CD8+ T 세포와 PD-L1 및 동족 항원 발현 DC의 인큐베이션은 시험된 모든 3명의 공여자에 대해 배지 단독 및 IgG1-ctrl 처리된 배양물에서 1을 약간 초과하는 확장 지수 값으로 최소 증식 유도를 가져왔다 (도 7 참조). 펨브롤리주맙을 공동-배양 세팅에 첨가함으로써 PD-1:PD-L1 매개된 억제를 해제하는 것은 확장 지수의 보통의 증가를 가져왔으며, 이는 그래프에서 파선으로 표시된다. T 세포 증식의 보다 현저한 증가뿐만 아니라 용량-의존성 증가가 GEN1046의 첨가 후에 관찰되었으며, 시험된 최고 농도는 중간 및 저농도 단일 화합물 처리 조건과 비교하여 최고 증식 유도를 가져왔다. 주목할 만하게, 최저 농도 0.0022 μg/mL의 GEN1046 (펨브롤리주맙 조합 부재)은 펨브롤리주맙 단독 대조군에 대해 기록된 값과 동등하거나 또는 심지어 그 미만인 확장 지수 값을 생성하였으며, 이는 준최적 PD-1:PD-L1 체크포인트 차단을 나타낸다. 두드러지게 대조적으로, 시험된 GEN1046 농도와 독립적으로, 펨브롤리주맙 조합이 있는 GEN1046에 대한 T 세포 증식 유도가 펨브롤리주맙 조건이 없는 듀오바디-PD-L1x4-1BB보다 항상 더 우수하였다. 펨브롤리주맙 존재와 부재 조건 사이의 확장 지수의 차이는 중간 및 낮은 GEN1046 농도에 대해 특히 강하였다. 특히, 준최적 GEN1046 조건 (0.0022 μg/mL ≈EC20)의 경우에, 펨브롤리주맙의 첨가는 펨브롤리주맙 단독 대조군에 대해 관찰된 것과 비교하여 상당히 더 높은 확장 지수로 CD8+ T 세포 증식을 유도하였다.

[0705] **실시예 6: 악성 고형 종양을 갖는 대상체에서 GEN1046의 안전성을 평가하기 위한 확장 코호트를 사용한 최초 인간 대상의 오픈-라벨 용량-증량 시험**

[0706] 연구는 GEN1046 (듀오바디® PD L1x4 1BB)의 오픈-라벨, 다기관, 1/2a상 안전성 시험이다. 시험은 2개의 파트; 최초 인간 대상 (FIH) 용량 증량 (1상) 및 확장 (2a상)으로 이루어진다. 용량 증량 파트는 최대 허용 용량 (MTD) 또는 최대 투여 용량 및/또는 권장 2상 용량 (RP2D)을 결정하기 위해 고형 악성 종양을 갖는 대상체에서 GEN1046을 평가하였다.

[0707] 확장 파트는 비소세포 폐암 (NSCLC) (PD-1/L1 사전-치료됨 및 PD-1/L1 나이브), 요로상피암 (UC), 자궁내막암 (EC), 삼중 음성 유방암 (TNBC) (PD-1/L1 억제제를 사용한 선행 치료를 받은 대상체 및 이러한 치료를 받지 않은 대상체에서): 및 두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN)에 대한 선택된 고형 종양 확장 코호트에서 선택된 용량 (들)의 안전성, 내약성, PK 및 항종양 활성을 추가로 평가한다.

[0708] 표 10: 확장 코호트

코호트 번호	n	암 유형	하위-코호트	선행 치료	임상시험 치료
EC1	140	NSCLC		선행 CPI 치료	GEN1046 100 mg 1Q3W
EC2	40	NSCLC		PD-1/L1 나이브	GEN1046 100 mg 1Q3W
EC3	40	UC		선행 CPI 치료	GEN1046 100 mg 1Q3W
EC4	40	자궁내막암		PD-1/L1 나이브	GEN1046 100 mg 1Q3W
EC5	40	TNBC	5a	선행 CPI 치료	GEN1046 100 mg 1Q3W
			5b	PD-1/L1 나이브	GEN1046 100 mg 1Q3W
EC6	40	SCCHN	6a	선행 CPI 치료	GEN1046 100 mg 1Q3W
			6b	PD-1/L1 나이브	GEN1046 100 mg 1Q3W

[0709]

[0710] 시험 설계의 다이어그램이 도 8에 제공된다. 용량 증량 및 확장 코호트의 추가의 개시내용, 뿐만 아니라 용량 증량으로부터의 예비 결과는 국제 특허 출원 WO 2021/156326에 제공된다.

[0711] **확장 코호트 (EC) A 및 B: 전이성 질환에 대해 NSCLC 치료-나이브: 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046**

[0712] 확장 코호트 ECA 및 ECB는 2가지 상이한 투여 스케줄로 펨브롤리주맙과 조합된 100 mg GEN1046을 평가한다:

[0713] ECA는 100 mg 1Q3W의 GEN1046 요법과 200 mg 1Q3W의 펨브롤리주맙 요법을 시험한다. PK/약역학적 모델링에 기초하여, 이러한 GEN1046 요법은 피크 삼량체 형성 및 지속적인 4-1BB 활성화를 유발할 것으로 예상되며, 이는 펨브롤리주맙과 조합되어 표적/경로 둘 다의 최적 결속 및 개선된 항종양 효능을 가능하게 할 수 있다.

[0714] ECB는 100 mg 1Q6W의 GEN1046 요법과 400 mg 1Q6W의 펨브롤리주맙 요법을 평가한다. PK/약역학적 모델링에 기초하여, 이러한 GEN1046 요법은 3주 투여 주기에서의 지속적인 4-1BB 활성화와 비교하여 6주 투여 주기에서의 4-1BB의 간헐적/일시적 활성화를 제공할 것으로 예상된다. 4-1BB의 일시적 활성화는 T-세포 반응이 리셋되게 하고 만성 인터페론 신호전달을 감소시킬 것으로 예상되며 (Weber, E. W., et al. (2021), Science 372 (6537)), 이는 연속적 4-1BB 활성화로 인한 종양 침윤 CD8+ T 세포의 소진을 방지할 수 있고, 펨브롤리주맙과 조합되어 개선된 깊이 및 반응 지속기간 (DoR)을 제공할 수 있다.

[0715] 200 mg Q3W 및 400 mg Q6W의 펨브롤리주맙 요법은 각각 NSCLC에 대한 1차 및 2차 SOC 치료로서 승인되었다.

[0716] 치료 중단

[0717] 치료는 대상체가 치료 중단 기준 (하기를 참조하기 바람) 중 1가지를 충족시킬 때까지 계속된다.

[0718] **포함 기준**

[0719] 확장 코호트 A 및 B

[0720] a. 전이성 NSCLC를 가지며 전이성 질환에 대한 선행 전신 치료 요법을 받지 않은 대상체. 대상체는 PD-1/L1 억제제를 사용한 선행 치료를 받지 않았어야 한다. 대상체는 마지막 선행 치료 시에 또는 그 후에 방사선촬영상 질환 진행을 가져야 한다. 이는 새로 진단된 질환을 갖는 대상체에 대해 요구되지 않는다.

[0721] b. 임의의 조직학의 NSCLC를 갖는 대상체가 등록된다. 비-편평 NSCLC의 조직학적 또는 세포학적 진단을 갖는 대상체는 EGFR-감작 돌연변이 및/또는 ALK 전위/ROS1 재배열을 갖지 않아야 한다. EGFR-감작 돌연변이는 승인된 TKI를 사용한 치료가 적용가능한 돌연변이이다.

[0722] c. 대상체는 제1주기 제1일 (C1D1) 전에 중심부-바늘 또는 절제 생검에 의해 수득된 신선한 종양 샘플로부터 또는 전이성 질환이 진단된 시점에 절제된 종양 조직으로부터 이용가능한 중앙 실험실로부터의 PD-L1 발현 결과를 가져야 한다.

[0723] d. 종양은 중앙 실험실 시험에 의해 결정된 면역조직화학 (IHC)에 의해 평가 시 종양 세포의 ≥1%에서의 PD-L1 발현 (TPS ≥1%)을 입증한다.

[0724] 용량 증량 및 확장 둘 다에 대해

[0725] 3. 대상체는 ≥18세의 남성 또는 여성이어야 한다.

[0726] 4. 대상체는 그 또는 그녀가 시험에 요구되는 목적 및 절차를 이해하고 임의의 시험 관련 평가 또는 절차 전에 시험에 참여할 의향이 있다는 것을 나타내는 사전 동의서 (ICF)에 서명하여야 한다.

[0727] 5. 대상체는 RECIST 1.1에 따른 측정가능한 질환을 가져야 한다.

[0728] 6. 대상체는 동부 협동 종양학 그룹 (ECOG) 0-1을 가져야 한다.

[0729] 7. 대상체는 하기와 같은 기관 및 골수 기능을 가져야 한다:

[0730] a. 골수/혈액 기능:

[0731] 절대 호중구 수 (ANC) ≥1.5 x 10^9개/L; 헤모글로빈 ≥9.0 g/dL; 혈소판 수 ≥100 x 10^9개/L

[0732] b. 간 기능:

[0733] - 총 빌리루빈 ≤ 정상 상한치 (ULN)

[0734] - ALT ≤1.5 x ULN

[0735] - AST ≤1.5 x ULN

[0736] - 알부민 ≥30 g/L

[0737] c. 응고 상태:

[0738] - 프로트롬빈 시간 (PT)/국제 정규화 비 (INR) ≤1.5

[0739] - 활성화 부분 트롬보플라스틴 시간 (aPTT) ≤1.5 x ULN (항응고 요법 부재)

[0740] - 항응고 요법을 받은 대상체는 항응고제의 의도된 용도의 치료 범위 내의 PT 및 aPTT를 가져야 함

[0741] d. 신장 기능:

[0742] 사구체 여과율 (GFR) ≥45 mL/분/1.73 m^2 - 예를 들어 약칭 신질환에서의 식이 조절 방정식에 따름:

[0743] $GFR = 186 \times (SCr^{-1.154}) \times (연령^{-0.203})$

[0744] (여기서 SCr, 혈청 크레아티닌 수준은 mg/dL로 표현되고; 대상체가 여성인 경우 0.742를 곱하고; 대상체가 아프리카계-미국인인 경우 1.212를 곱함 (Levey et al., 1999)).

[0745] 12. A) 용량 증량 파트에서, 모든 대상체는 바람직하게는 진행성 질환 병기로부터 유래된, 제1주기 제1일 전에 수집된 보관 조직 또는 신선한 생검으로부터의 종양 조직 샘플 (포르말린 고정 파라핀 포매 블록/슬라이드)을 제공하여야 한다.

[0746] B) 확장 파트에서, 모든 대상체는 종양 조직을 함유하고 마지막 선행 치료의 실패/정지 후에 취해지는 의무적인 신선한 생검 (포르말린 고정 파라핀 포매 [FFPE] 블록/슬라이드) (기관지경검사-가이드 생검, 미세 바늘 흡인물, 세포 블록, 세포 펠릿, 응괴, 골수 및 세포학적 시편은 허용되지 않음)을 제공하여야 한다.

[0747] **배제 기준**

[0748] 하기 기준 중 임의의 것을 충족시키는 임의의 잠재적 대상체는 시험 참여로부터 배제될 것이다.

[0749] 1. 대상체는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는 비제어된 병발 질병을 갖는다:

[0750] a. 제1 용량의 2주 미만 전에 투여된 항감염 요법을 사용한 IV 치료가 요구되는 진행중인 또는 활성 감염.

[0751] b. 증후성 울혈성 심부전 (뉴욕 심장 학회에 의해 분류된 바와 같은 등급 III 또는 IV), 불안정형 협심증 또는 심장 부정맥.

[0752] c. 최적의 의료 관리에도 불구하고, 수축기 혈압 ≥160 mmHg 및/또는 확장기 혈압 ≥100 mmHg로서 정의되는 비제어된 고혈압.

[0753] d. 면역-관련 유해 사건 (irAE)에 대한 위험을 시사할 수 있는, 전신 면역억제 치료를 사용한 치료가 요구되는 유의한 자가면역 질환의 진행중인 또는 최근 (1년 이내) 증거.

[0754] e. 선행 면역요법 치료의 치료 중단으로 이어지는 등급 3 이상의 irAE의 병력을 갖는 대상체는 배제되어야 한다. 중단으로 이어지는 등급 3 미만의 irAE를 갖는 대상체는 의뢰자와 논의되어야 한다.

[0755] f. 임의의 등급의 근염, 길랑-바레 증후군 또는 중증 근무력증의 이전 병력을 갖는 대상체는 배제된다.

[0756] g. 만성 간 질환의 병력 또는 간 경변증의 증거.

[0757] h. 스테로이드가 요구되는 비-감염성 폐장염의 병력 또는 현재 폐장염을 갖는다.

[0758] i. GEN1046의 제1 용량 전 3개월 이내에 기관 동종이식편 (각막 이식 제외) 또는 자가 또는 동종 골수 이식 또는 줄기 세포 구출의 병력.

[0759] j. 심각한 비-치유 상처, 피부 궤양 (임의의 등급) 또는 골절.

[0760] 2. 모든 대상체는 새로운 또는 기존 CNS 병변을 기록하기 위해 뇌의 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔 또는 자기 공명 영상화 (MRI)를 받아야 한다. 뇌내 동정맥 기형, 뇌 동맥류, 척수 압박 (질환으로부터), 암종성 수막염 또는 졸중의 임의의 병력은 배제될 것이다.

[0761] a. 스크리닝 >1개월 전의 일과성 허혈 발작이 허용된다.

[0762] b. 새로 확인된 또는 알려진 불안정한 또는 증후성 CNS 전이를 갖는 대상체는 배제될 것이다. 이전에 치료된 뇌 전이를 갖는 대상체는 반복 영상화에 의해 적어도 28일 동안 방사선학적으로 안정하다면 (즉, 진행의 증거 부재) 참여할 수 있다 (반복 영상화는 시험 스크리닝 동안 수행되어야 한다는 것을 주목함). 대상체는 임상적으로 안정해야 하고, 급성 코르티코스테로이드 요법 또는 스테로이드 점감을 받지 않아야 하거나 또는 C1D1 전 14일 이내에 정위 방사선 또는 전뇌 방사선을 받았어야 한다. 만성 스테로이드 요법은 용량이 C1D1 전 마지막 14일 동안 안정하다면 허용가능하다 (1일 ≤10 mg 프레드니손 또는 등가물).

[0763] 3. 선행 요법:

[0764] a. 방사선요법: 제1 GEN1046 투여 전 14일 이내의 방사선요법. 완화적 방사선요법이 허용될 것이다.

[0765] b. 하기에 달리 나타내지 않는 한, GEN1046 투여 전에 항암제를 사용한 치료 (약물의 28일 이내 또는 적어도 5회 반감기 후 중 어느 것이든 더 짧은 기간). 허용되는 예외는 비스포스포네이트 (예를 들어, 파미드로네이트, 졸레드론산 등) 및 데노수맙이다.

[0766] c. 대상체는 GEN1046의 계획된 제1 용량 전 28일 이내에 임의의 임상시험용 작용제 (임상시험용 백신 포함)를 받았거나 또는 침습성 임상시험용 의료 장치를 사용하였거나 또는 현재 개입 시험에 등록되어 있다.

[0767] 주: 개입 시험의 추적기에 있는 대상체는 대상체가 GEN1046의 제1 용량의 28일 이내에 임상시험용 작용제를 받지 않은 경우에 참여할 수 있다.

[0768] d. GEN1046 치료의 개시 전 3주 이내에 생 약독화 백신을 사용한 선행 치료.

[0769] e. 만성 전신 면역억제 코르티코스테로이드 용량, 즉 1일 >10 mg의 프레드니손 또는 제1 GEN1046 투여 전 14일 이내에 >150 mg 프레드니손의 누적 용량. 대체 요법 (예를 들어, 부신 또는 뇌하수체 기능부전에 대한 티록신, 인슐린 또는 생리학적 코르티코스테로이드 대체 요법)은 전신 치료의 형태로 간주되지 않고, 허용된다.

[0770] f. 제1 GEN1046 투여 4주 전에 과립구 콜로니 자극 인자 (G-CSF) 또는 과립구/대식세포 콜로니 자극 인자 (GM-CSF) 지원을 받았거나 또는 만성적으로 수혈 의존성이었다.

[0771] g. 모노클로날 항체 (mAb) 요법에 대한 ≥ 등급 3 알레르기 반응의 병력, 뿐만 아니라 이 시험의 과정에서 주어진 임의의 작용제에 대한 알려진 또는 의심되는 알레르기 또는 불내성.

[0772] h. CPI 함유 치료의 처음 6주 이내에 질환 진행으로 인해 치료를 중단한 대상체.

[0773] i. 4-1BB (CD137) 표적화제를 사용한 선행 치료.

[0774] j. 치료 개시 전 12주 이내에 T-세포 효능제 또는 항-세포독성 T 림프구-연관 단백질 4 표적화제를 사용한 선행 치료.

[0775] 4. 탈모증, 식욕부진, 백반증, 피로, 갑상선기능항진증, 갑상선기능저하증 및 말초 신경병증을 제외하고, 기준선 수준으로 또는 등급 1 이하로 해소되지 않은 이전 항암 요법으로부터의 독성. 식욕부진, 갑상선기능항진증, 갑상선기능저하증 및 말초 신경병증은 ≤ 등급 2로 회복되었어야 한다.

[0776] 5. 하기를 제외하고, 포함 진단 이외의 다른 알려진 과거 또는 현재 악성종양:

[0777] a. 1B기 이하의 자궁경부 암종.

[0778] b. 비-침습성 기저 세포 또는 편평 세포 피부 암종.

[0779] c. 비-침습성, 표재성 방광암.

[0780] d. 현재 검출불가능한 PSA를 갖는 전립선암.

[0781] e. BRCA1 또는 BRCA2 양성 난소암 대상체에서의 유방암 (유방암 확장 코호트에는 적용가능하지 않음).

[0782] f. >2년 지속기간의 CR을 갖는 임의의 치유가능한 암.

[0783] 6. 대상체는 GEN1046 또는 그의 부형제에 대해 알려진 알레르기, 과민성 또는 불내성을 갖는다.

[0784] 7. 대상체는, 임상연구자의 견해에서, 참여가 대상체에게 최선의 이익이 아니거나 (예를 들어, 웰빙을 손상시키거나) 또는 프로토콜-명시된 평가를 방지, 제한 또는 혼동시킬 수 있는 임의의 상태를 갖는다.

[0785] 8. 대상체는 스크리닝 전 4주 이내에 대수술 (예를 들어, 전신 마취가 요구됨)을 받았거나 또는 수술로부터 완전히 회복되지 않았거나 또는 대상체가 시험에 참여할 것으로 예상되는 시간 동안 수술이 계획되었다.

[0786] 주: 국부 마취 하에 수행될 외과적 절차가 계획되어 있는 대상체는 참여할 수 있다.

[0787] 9. 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)에 대한 혈청양성의 알려진 병력.

[0788] 10. B형 간염에 대한 알려진 병력/양성 혈청학 (백신접종으로 인한 면역 또는 자연 감염 해소가 아닌 한 또는 이뮤노글로불린 요법으로 인한 수동 면역화가 아닌 한):

[0789] a. B형 간염 코어 항원에 대한 항체 시험에서 양성

[0790] 및

[0791] b. B형 간염 표면 항원에 대한 항체에 시험에서 음성.

[0792] 11. 치유되지 않은 알려진 병력 또는 진행중인 C형 간염 감염.

[0793] 12. 시험에의 대상체 참여 또는 시험 결과의 평가를 방해할 수 있는 물질 남용, 의학적, 심리적 또는 사회적 상태.

[0794] 13. 대상체는 이 시험에서 미리 투여되었다.

[0795] 14. 대상체는 임신 또는 모유 수유 중인 여성이다.

[0796] 15. 대상체는 지역 처방 정보에 따라 펨브롤리주맙의 사용에 대한 금기를 갖는다.

[0797] **GEN1046의 투여**

[0798] GEN1046은 모든 절차 및 평가가 완료된지 21일 또는 42일 후의 각각의 치료 주기의 제1일에 최소 60분에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입을 사용하여 투여된다.

[0799] ECA 및 -B에서, 대상체는 펨브롤리주맙 200 mg 1Q3W (ECA)와 조합된 GEN1046 100 mg 1Q3W 또는 펨브롤리주맙 400 mg 1Q6W (ECB)와 조합된 GEN1046 100 mg 1Q6W를 받는다.

[0800] **펨브롤리주맙의 투여**

[0801] ECA 및 ECB: 펨브롤리주맙 200 mg 또는 400 mg은 모든 치료전 절차 및 평가가 완료된 후에 각각 각각의 3주 또는 6주 치료 주기의 제1일에 투여된다.

[0802] 펨브롤리주맙이 먼저 투여되고, 이어서 GEN1046이 투여된다. 펨브롤리주맙은 30분에 걸쳐 정맥내 주입으로서 투여된다. 펨브롤리주맙 직후에, GEN1046의 주입을 시작하기 전 라인을 청소하기 위해 염수 플러싱이 이어져야 한다. 주입 사이의 시간은 상황에 따라 대략 30분 이상이다. 펨브롤리주맙에 대한 용량 감소는 권장되지 않는다.

[0803] **시험 약물 정보**

[0804] GEN1046 - 20 mM 히스티딘, 250 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트-80, pH 5.5 중에 제제화된 20 mg/mL - 는 0.9% NaCl (염수) 중에 (현장에서) 희석될 주입용 용액을 위한 농축물로서 공급되는 투명 내지 유백색, 무색 내지 미황색 용액이다.

[0805] 펨브롤리주맙 (키트루다®) 주입은 IV 주입을 위해 희석이 요구되는 멸균, 보존제-무함유, 투명 내지 약간 유백색, 무색 내지 미황색 용액이다.

[0806] **GEN1046에 대한 주입-관련 반응 (IRR)**

[0807] GEN1046의 투여와 연관된 IRR을 경험한 대상체의 경우:

[0808] ● 등급 1: IRR 등급 1이 발생하는 경우에, 주입은 중단될 필요가 없고, 임상연구자의 판단으로 면밀한 의료 감독 하에 주입 속도의 절반으로 계속될 수 있다.

[0809] ● 등급 2-3: IRR 등급 2 또는 3이 발생하는 경우에, 주입은 중단되어야 하고, 적절한 의료 관리가 실행되어야 한다. 증상이 1시간 이내에 ≤ 등급 1로 해소된 경우에, 임상연구자의 판단으로 면밀한 의료 감독 하에 주입 속도의 절반으로 주입이 재시작될 수 있다.

[0810] ○ 시험에서 선행 주입 관련 등급 2 또는 3 반응을 경험한 대상체는 예비-투약되어야 한다. 후속 주입에서 IRR을 예방하기 위한 예비-투약은 임상연구자의 판단으로 지역 가이드라인에 따라 투여될 수 있지만, 바람직하게는 항히스타민제 (예를 들어, 디펜히드라민 50 mg 또는 등가의 항히스타민제), 아세트아미노펜/파라세타몰 (예를 들어, 아세트아미노펜 500-1000 mg 또는 등가물)을 포함하고, 필요한 것으로 간주되는 경우에, 대상체는 100 mg 프레드니손 또는 등가물의 제안된 최대 용량으로 코르티코스테로이드를 받아야 한다.

[0811] ○ 대상체가 예비-투약에도 불구하고 제2의 등급 3 IRR을 갖는 경우에, 주입은 정지되어야 하고, 대상체는 치료로부터 철회되어야 한다.

[0812] ● 등급 4: 아나필락시스 또는 등급 4 IRR이 발생하는 경우에, GEN1046의 투여는 즉시 및 영구적으로 중단되어야 하고, 적절한 의료 요법이 투여되어야 한다.

[0813] **펨브롤리주맙에 대한 주입-관련 반응**

[0814] 펨브롤리주맙은 중증 과민성 또는 아나필락시스를 포함한 중증 또는 생명-위협적 IRR을 유발할 수 있다. 징후 및 증상은 통상적으로 약물 주입 동안 또는 그 직후에 발생하고, 일반적으로 주입의 완료 24시간 이내에 완전히 해소된다.

[0815] 표 11: 펨브롤리주맙과 연관된 부작용

[0816]

가장 흔한 부작용 (환자의 ≥20%)	덜 흔한 부작용 (중증 또는 생명 위협적일 수 있음)
• *피로* • *기침* • *오심* • *소양증* • *발진* • *식욕 감소* • *변비* • *관절통* • *설사*	• *면역-관련 AE* • *주입-관련 반응* • *펨브롤리주맙의 지역 라벨 참조*

[0817] **치료의 중단**

[0818] 대상체는 미리 정의된 치료 중단 기준 (하기) 중 1가지가 충족될 때까지 각각의 3주 또는 6주 치료 주기의 제1일에 GEN1046 치료를 받는다.

[0819] 코호트 ECA 및 ECB 내의 대상체는 진행성 질환까지 또는 미리 정의된 치료 중단 기준 중 1가지가 충족될 때까지 각각 각각의 3주 치료 주기의 제1일에 또는 각각의 6주 치료 주기의 제1일에 GEN1046과 조합된 펨브롤리주맙 치료를 받는다. GEN1046 및 펨브롤리주맙 둘 다는 중단되어야 한다. 대상체는 단지 의뢰자의 의료 모니터에 의해 승인된 경우에 GEN1046 또는 펨브롤리주맙 단독요법을 계속 받을 수 있다. 약물 둘 다가 중단되면 대상체는 안전성 추적 기간으로 이동한다.

[0820] ● 방사선촬영상 질환 진행 또는 iRECIST에 의한 확인된 방사선촬영상 질환 진행

[0821] ● 임상 진행

[0822] ● 추적 소실

[0823] ● 대상체의 치료 중단 요청

[0824] ● 사망

[0825] ● 시험 치료 중단이 요구되지 않는 허용되지 않는 AE

[0826] ● 임상연구자는 시험 치료를 정지하는 것이 대상체에게 최선의 이익인 것으로 여긴다.

[0827] ● 동의 철회

[0828] ● 임신

[0829] **효능 평가**

[0830] 모든 대상체는 스크리닝 동안 뇌, 흉부, 복부 및 골반의 영상화를 수행하였다. SCCHN을 갖는 대상체에 대해 두

경부 영상화가 항상 요구된다.

[0831] 종양 영상화는 바람직하게는 컴퓨터 단층촬영 (CT)에 의해 획득된다. 5개 이하의 표적 병변 (기관당 최대 2개)이 스크리닝 시에 정의되고, 시험 전반에 걸쳐 추적된다. 비-표적 병변도 또한 시험 전반에 걸쳐 평가된다. 스크리닝 시의 초기 종양 영상화는 제1 용량 일자 전 21일 이내에 수행된다. 현장은 대상체가 RECIST 1.1에 따른 측정가능한 질환을 갖는다는 것을 확인하기 위해 스크리닝 영상을 검토한다.

[0832] 시험중 영상화는 50주 동안 6주 (±7일)마다 및 그 후 제1 용량 일자로부터 질환 진행이 임상연구자에 의해 평가될 때 (임상연구자가 치료를 계속하고 iRECIST를 따르도록 선택하지 않는 한), 새로운 항암 요법의 시작, 동의 철회 또는 사망 중 어느 것이든 먼저 발생하는 때까지 12주 (±7일)마다 수행된다.

[0833] RECIST 1.1 기준은 2차 종점 반응 평가에 사용되고 (Eisenhauer et al., 2009, Eur J Cancer 45, 228-247.); iRECIST는 탐색적 종점 반응 평가에 사용된다 (Seymour et al., 2017, Lancet Oncol 18, e143-e152). 임상연구자가 iRECIST를 적용하도록 선택하는 경우에, 치료는 PD가 검증될 때까지 계속되어야 한다.

[0834] 추가의 CT 스캔 또는 MRI 스캔은 반응 또는 새로운 증상을 확인하기 위해 임상연구자 판단으로 수행될 수 있다. PR 또는 CR을 확인하기 위한 종양 영상화는 반응의 제1 지표가 관찰된지 적어도 4주 후에 수행되어야 한다.

[0835] **질환의 iRECIST 평가**

[0836] iRECIST는 RECIST 1.1에 기초하지만, 면역요법으로 관찰된 특유한 반응 패턴을 설명하도록 변형되었다. 이 시험에서, iRECIST는 탐색적 종점으로서 평가된다 (Seymour et al., 2017, Lancet Oncol 18, e143-e152).

[0837] iRECIST 질환 진행은 임상적으로 안정한 참가자에서 PD의 최초 방사선학적 증거의 적어도 4 내지 7주 후에 확인되어야 한다. 미확인 질환 진행을 갖는 대상체는 대상체가 임상적으로 안정한 한 진행이 확인될 때까지 GEN1046 치료를 계속 받을 수 있다. 임상적으로 안정한 대상체는 하기 기준을 충족시켜야 한다:

[0838] ● 대상체는 GEN1046 치료의 계속으로부터 임상 이익을 가져야 하고 (임상연구자에 의해 평가 시), 급속한 질환 진행을 갖지 않아야 한다.

[0839] ● 대상체는 GEN1046 치료를 견디고 있다.

[0840] ● 대상체는 안정한 ECOG 상태를 가져야 한다.

[0841] ● 진행 이후의 치료는 질환 진행에 대한 심각한 합병증 (예를 들어, 즉각적 치료가 요구되는 중추 신경계 전이)을 예방하기 위한 임박한 개입을 지연시키지 않을 것이다.

[0842] 임의의 임상적으로 불안정한 대상체는 방사선촬영상 질환 진행의 제1 발생 시에 GEN1046 치료로부터 중단된다. 반복 영상화가 iRECIST 확인된 질환 진행 (iCPD)을 나타내는 경우에, 대상체는 GEN1046 치료를 중단할 것이다.

[0843] **ECOG 수행 상태**

[0844] ECOG 수행 상태는 스크리닝 시, 각각의 주기의 제1일 및 치료 중단 방문 시에 임상연구자에 의해 평가될 것이다. 수행 상태는 ECOG 수행 상태 척도 지수를 사용하여 점수화될 것이다 (표 12).

[0845] 표 12:

[0846]

점수	정의
0	완전히 활동함, 제한 없이 모든 정상 활동을 수행할 수 있음.
1	신체적으로 격렬한 활동이 제한되지만, 보행가능하며, 가벼운 또는 좌식 성질의 작업, 예를 들어 가벼운 가사, 사무실 작업을 수행할 수 있음.
2	보행가능하고 모든 자기-관리가 가능하지만, 임의의 작업 활동을 수행할 수 없음. 깨어있는 시간의 50% 초과 동안 일어나 거동함.
3	단지 제한된 자기-관리만이 가능하며, 깨어있는 시간의 50% 초과 동안 침대 또는 의자에 얽매여 있음.
4	완전히 불능화됨. 어떠한 자기-관리도 수행할 수 없음. 전적으로 침대 또는 의자에 얽매여 있음.
5	사망.

[0847] ECOG=동부 협동 종양학 그룹.

[0848] **예비 결과 및 결론**

[0849] ● FIH 시험의 증량 상에서 평가된 25 내지 1200 mg Q3W의 용량은 안전하고 일반적으로 내약성이 우수하였다.

MTD에 도달하지 않았다.

[0850] ● 안전성 데이터의 예비 평가는 용량 의존성을 나타내지 않았으며, 이는 AE의 빈도에 관하여 용량 반응이 없음을 나타낸다.

[0851] ● RECIST v1.1에 따른 반응은 FIH 시험의 용량-증량 상에서 80 내지 200 mg Q3W의 GEN1046 용량으로 관찰되었다. 추가적으로, 반응은 또한 확장 상에서 100 mg Q3W의 용량으로 관찰되었다.

[0852] ● 약역학적 마커 (증식성 [Ki67+] 이펙터 기억 CD8+ T 세포 및 총 CD8+ T 세포 및 IFNɣ 및 IP-10의 증가된 수준)의 일관된 조정이 말초 혈액에서 용량 수준 ≤200 mg에서 관찰되었다. 이들 종점의 감소된 조정은 보다 높은 용량 수준 (≥400 mg)에서 관찰되었다.

[0853] ● 반-기계론적 PK/약역학적 모델 (WO 2021/156326의 실시예 13 참조)은 삼량체 형성에 대한 종-형상 반응을 예측하였으며, 이는 약 100 mg Q3W에서 피크였다. PD-L1 RO에 관하여 삼량체 수준 및 표적 결속의 균형을 맞추기 위해, GEN1046에 대한 최적 초기 반응을 제공할 수 있는 100 mg Q3W의 용량을 선택하였다.

[0854] ● GEN1046 단독요법의 경우, 무진행 생존 (PFS)은 체크포인트 억제제를 사용한 선행 치료를 받은 대상체에서 더 길었다 (도 9).

[0855] ● 체크포인트 억제제 사전-치료된 NSCLC 대상체에서의 GEN1046 단독요법에 대한 임상 반응은 마지막 선행 항-PD-1 요법으로부터의 시간과 연관된다 (도 12).

[0856] ○ GEN1046 단독요법에 대해 이익을 갖는 NSCLC 대상체는 마지막 항-PD-1 작용제를 사용한 보다 최근의 치료 경향을 나타냈다.

[0857] 항-PD-1 작용제 함유 요법이 잔류 항-PD-1 활성을 시사할 수 있기 때문에 보다 짧은 시간은 GEN1046에 대한 반응을 용이하게 한다. 이를 지지하는 것으로, 클리닉에서 항-PD-1 작용제로 치료된 환자는 200일 초과 동안 지속될 수 있는 치료 항체에 의한 장기간 PD-1 수용체 점유율을 나타낸다 (Brahmer et al., JCO 2010; 28(19): 3167-3175). 치료 항-PD-1 작용제가 여전히 PD-1 수용체에 결합하면, 결국 보다 많은 수의 유리 PD-L1 분자가 GEN1046에 대한 결합에 이용가능하도록 할 수 있다.

[0858] 잔류 항-PD-1 활성의 존재는 또한 PD-1 경로의 보다 완전한 차단 (PD-1과 PD-L1 및 PD-L2 둘 다의 상호작용을 차단함)을 가능하게 할 수 있으며, 이는 CPI-후 세팅에서 GEN1046의 생물학적 활성에 중요할 수 있다.

[0859] 보다 최근의 항-PD-1 치료는, 예를 들어 항-PD-1 함유 요법 시 진행 직후에 또는 진행 후 곧 주어지는 경우 GEN1046에 의해 증진될 수 있는 항종양 면역 반응을 개시함으로써 종양 미세환경에 직접 영향을 미칠 수 있다.

[0860] ○ 반응자는 선행 항-PD-1 치료에 의한 수용체 점유율 (RO)을 반영할 수 있는 "낮은" PD-1+ CD8 T 세포 빈도를 제시하였다.

[0861] ○ 반대로, 비-반응자는 보다 소진된 표현형을 나타낼 수 있는 일반적으로 높은 PD-1+ CD8 T 세포 빈도를 제시하였다.

[0862] **실시예 8: 면역 체크포인트 억제제에 의한 표준 관리 요법을 사용한 치료 후 재발성/불응성 전이성 비소세포 폐암을 갖는 대상체에서 단독요법으로서의 및 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046의 2상, 다기관, 무작위, 오픈-라벨 시험**

[0863] **시험 설계**

[0864] 시험은 CPI-함유 요법을 사용한 치료 후에 국부 진행성 또는 전이성 NSCLC를 갖는 성인 대상체에서 단독요법으로서의 및 펨브롤리주맙과의 조합 요법으로의 GEN1046의 안전성 및 효능을 평가하는 2상, 다기관, 무작위, 오픈-라벨 시험이다.

[0865] 대략 126명의 대상체가 시험에 등록될 것이고, 120명의 적격 대상체 (각각의 부문에서 40명)가 하기 기재된 치료 부문 중 하나로 무작위화될 것이다. 대상체는 종양에서의 PD-L1 발현의 전향적 중앙기관 확인을 위해 신선한 및/또는 보관 종양 조직을 제공해야 한다. 비-편평 조직학을 갖는 대상체의 백분율은 대략 70%로 캡핑될 것이다. 무작위화는 PD-L1 발현 (TPS ≥50% 대 1% 내지 49%) 및 조직학 (편평 대 비-편평)에 의해 계층화될 것이다.

[0866] A. 처음 2 주기 동안 GEN1046 100 mg Q3W, 이어서 후속 주기 동안 GEN1046 500 mg Q6W

[0867] B. 펨브롤리주맙 200 mg Q3W와 조합된 GEN1046 100 mg Q3W

[0868] C. 펨브롤리주맙 400 mg Q6W와 조합된 GEN1046 100 mg Q6W

[0869] 예비 안전성 준비 동안, 6명의 대상체가 부문 B 및 C에 등록될 것이다 (부문당 3명의 대상체). 이들 대상체는 면밀히 모니터링되고, 최소 3주 동안 추적될 것이다. 이들 코호트에 대한 안전성 준비의 완료 후에, 수집된 데이터 (모든 관련 안전성 및 임상 데이터를 포함하나 이에 제한되지는 않음)가 평가될 것이다. 이러한 검토 후에, 조합 요법이 잘 허용되는 것으로 간주되는 경우에, 부문 A, B 및 C로의 무작위화가 시작될 것이다.

[0870] 대상체에 대한 치료는 대상체가 하기 정의된 치료 중단 기준 중 1가지를 충족시킬 때까지 계속되어야 한다.

[0871] 조영제를 사용한 컴퓨터 단층촬영 (CT) 또는 자기 공명 영상화 (MRI)는 기준선에서 시험 의약의 제1 용량 전 및 제1 용량의 6, 12, 18 및 24주 (±7일) 후 및 그 후에, 9주 (±7일)마다 수득된다. CT 또는 MRI는 질환 진행 (임상연구자에 의해 평가 시), 후속 항암 요법의 시작, 동의 철회 또는 사망 중 어느 것이든 먼저 발생하는 때까지 계속 수득될 것이다. 고형 종양의 반응 평가 기준 (RECIST) v1.1-정의된 질환 진행은 초기 기록된 진행성 질환 (PD) 후 추가의 확증적 스캔에 의해 확인되어야 한다. 임의의 임상적으로 불안정한 대상체는 방사선촬영상 질환 진행의 제1 발생 시에 시험 치료로부터 중단되고, PD를 확인하기 위해 반복 영상화가 요구되지 않는다. 치료에 대한 지연된 반응이 의심되는 경우에, 임상연구자는 대상체가 임상 이익을 경험하고 있는 경우에 RECIST v1.1-정의된 진행 시점 이후에 치료를 계속할 수 있다. 대상체가 PD를 경험하면, 사망, 동의 철회, 추적 소실 또는 시험 종료 중 어느 것이든 먼저 발생하는 때까지 12주마다 생존 상태가 수집된다. 후속 항암 치료 및 그에 대한 대상체의 반응이 또한 수집된다. RECIST v1.1-정의된 진행 이후의 치료 동안, iRECIST가 후속 진행을 평가하는 데 사용된다.

[0872] **시험 설계 근거**

[0873] 시험은 CPI-함유 요법을 사용한 치료 후에 재발성/불응성 전이성 NSCLC를 갖는 성인 대상체에서 단독요법으로서의 또는 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046의 안전성 및 효능을 평가하는 무작위화, 오픈-라벨 시험이다. 무작위화는 잠재적 할당 편향을 제거하는 데 사용되는 한편 오픈-라벨 설계는 효율적인 AE/SAE 관리를 가능하게 할 것이다. PD L1 발현 수준은 펨브롤리주맙에 대한 효능과 연관되고, 조직학은 중요한 기준선 질환 특징이다. 무작위화는 이들 2가지 인자에 대한 부문에 걸친 균형을 보장하도록 계층화될 것이다.

[0874] 1차 목적은 단독요법으로서의 및 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046의 항종양 활성인 객관적 반응률 (ORR)을 평가하는 것이다. ORR은 NSCLC에서의 개념 증명 시험에서 항종양 활성을 평가하기 위한 널리 확립된 효능 파라미터이다.

[0875] **용량 및 스케줄 근거**

[0876] GEN1046에 대한 100 mg Q3W 용량의 선택은 FIH 시험인 GCT1046-01로부터의 임상 데이터에 기초하였으며, 여기서 25 내지 1200 mg Q3W 범위의 용량을 용량-증량 상에서 61명의 대상체에서 평가하였다. 추가로, PK/약역학적/효능 관계를 이해하기 위해 종양에서 4-1BB, GEN1046, PD-L1 삼분자 복합체 (삼량체) 형성 및 PD-L1에 대한 RO를 예측하도록 PK/약역학적 모델을 개발하였다 (실시예 9 참조).

[0877] 요약하면, 100 mg Q3W의 GEN1046 용량을 실시예 7에서의 용량 증량 연구에 기초하여 선택하였다.

[0878] 부문 A는 하기에 기초하여 GEN1046의 활성화 용량 (2 주기 동안 100 mg Q3W)에 이어서 GEN1046의 보다 높은 유지 용량 (후속 주기 동안 500 mg Q6W 투여)의 요법을 시험할 것이다:

[0879] ● 반-기계론적 PK/약역학적 모델은 종양에서의 삼량체 형성이 100 mg Q3W의 GEN1046 요법에서 피크라는 것을 보여주며, 이는 연속적 4 1BB 활성화를 제공할 것으로 예상되고, 처음 2 주기 동안 활성화 용량으로서 선택된다. GCT1046-01 시험에서, 확장 코호트로부터의 임상 데이터는 100 mg Q3W의 용량이 처음 2주기 이내에 반응을 유발하였다는 것을 보여주었다.

[0880] ● GEN1046 500 mg Q6W의 유지 요법은 처음 2 주기 후에 사용될 것이고, 100 mg Q3W와 비교하여 더 적은 정도로의 삼량체 결속을 통해 투여 주기에 걸쳐 더 높은 PD-L1 RO 및 간헐적 4-1BB 활성화를 제공할 것으로 예측된다. 이 용량은 개선된 반응 지속기간 (DOR)을 제공할 것으로 예상된다.

[0881] 부문 B 및 C는 2가지 상이한 투여 스케줄로 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046을 평가할 것이다:

[0882] ● 부문 B는 100 mg Q3W의 GEN1046 요법과 200 mg Q3W의 펨브롤리주맙 요법을 시험할 것이다. 이러한 요법에서, GEN1046은 피크 삼량체 형성 및 지속적인 4-1BB 활성화를 유발할 것으로 예상되며, 이는 펨브롤리주맙과 조합되어 표적/경로 둘 다의 최적 결속 및 개선된 항종양 효능을 가능하게 할 수 있다.

[0883] ● 부문 C는 100 mg Q6W의 GEN1046 요법과 400 mg Q6W의 펨브롤리주맙 요법을 평가할 것이다. PK/약역학적 모델에 기초하여, GEN1046은 3주 투여 주기에서의 지속적인 4 1BB 활성화와 비교하여 6주 투여 주기에서의 4-1BB의 간헐적/일시적 활성화를 제공할 것으로 예상된다. 4-1BB의 일시적 활성화는 T-세포 반응이 리셋되게 하고 만성 인터페론 신호전달을 감소시킬 것으로 예상되며 (Weber, E. W., et al. (2021), Science 372 (6537)), 이는 연속적 4-1BB 활성화로 인한 종양 침윤 CD8+ T 세포의 소진을 방지할 수 있고, 펨브롤리주맙과 조합되어 개선된 깊이 및 DOR을 제공할 수 있다.

[0884] 200 mg Q3W 및 400 mg Q6W의 펨브롤리주맙 요법은 각각 NSCLC에 대한 1차 및 2차 SOC 치료로서 승인되었다. 펨브롤리주맙 200 mg Q3W 및 400 mg Q6W는 대등한 효능 및 안전성 프로파일을 제공할 것으로 예상된다 (Lala et al., 2020, Eur J Cancer 131, 68-75).

[0885] **포함 기준**

[0886] 1. 대상체는 적어도 18세이어야 한다.

[0887] 2. 대상체는 4기 NSCLC의 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된 진단을 갖고 전이성 질환에 대한 항-PD-1/PD-L1 mAb를 함유하는 적어도 1차의 선행 전신 요법을 받았어야 한다. 주: 대상체는 NSCLC에 대해 승인된 적어도 2회 용량의 승인된 항-PD-1/PD-L1 mAb를 받았어야 한다.

[0888] a. 대상체는 1종의 항-PD-1/PD-L1 mAb를 단독요법으로서 또는 SOC 조합으로서 투여하는 치료 동안 또는 그 후에 진행되었다.

[0889] b. 대상체는 항-PD-1/PD-L1 mAb 후 백금 이중 화학요법 동안 또는 그 후에 진행되었다.

[0890] c. 대상체는 백금 이중 화학요법 후 항-PD-1/PD-L1 mAb 동안 또는 그 후에 진행되었다.

[0891] 3. 대상체는 스크리닝 동안 중앙 실험실에 의해 평가된 TPS ≥1%의 PD-L1 종양 발현 점수를 가져야 한다.

[0892] 4. 대상체는 RECIST v1.1에 따른 측정가능한 질환을 가져야 한다.

[0893] 5. 대상체는 동부 협동 종양학 그룹 (ECOG) 수행 상태 (PS) ≤1을 가져야 한다.

[0894] 6. 대상체는 적어도 3개월의 기대 수명을 가져야 한다.

[0895] 7. 대상체는 하기와 같은 기관 및 골수 기능을 가져야 한다:

[0896] a. 절대 호중구 수 (ANC) ≥1500개/L.

[0897] b. 혈소판 ≥100,000개/L.

[0898] c. 헤모글로빈 ≥9.0 g/dL (무작위화 전 4주 이내에 수혈의 부재 하에).

[0899] d. 총 빌리루빈 ≤1.5 x 임상시험 정상 상한치 (ULN) (길버트 증후군 제외, 이때 직접 빌리루빈 ≤2 x 임상시험 ULN 및 총 빌리루빈 <3 mg/dL).

[0900] e. 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 및 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) ≤3 x ULN. 수반되는 알칼리성 포스파타제 증가가 >2.5 x ULN인 경우에, ALT 및 AST 수준은 ≤1.5 x ULN이어야 한다.

[0901] f. 약칭 신질환에서의 식이 조절 방정식에 따른 사구체 여과율 ≥45 mL/분/1.73 m^2.

[0902] g. 프로트롬빈 시간 (PT)/국제 정규화 비 (INR) ≤1.5 x ULN (대상체가 항응고 요법 중이지 않는 한, 이 경우 PT는 항응고제의 의도된 용도의 치료 범위 내에 있어야 함).

[0903] h. 활성화 부분 트롬보플라스틴 시간 (aPTT) ≤1.5 x ULN (대상체가 항응고 요법 중이지 않는 한, 이 경우에 aPTT는 항응고제의 의도된 용도의 치료 범위 내에 있어야 함).

[0904] **배제 기준**

[0905] 하기 기준 중 임의의 것을 충족시키는 임의의 잠재적 대상체는 시험 참여로부터 배제될 것이다.

[0906] 1. 알려진 EGFR, ROS1 또는 ALK 돌연변이 또는 유전자 재배열의 기록. 돌연변이 상태의 기록이 이용가능하지 않은 경우에, 비-편평 조직학 또는 비-편평 및 편평의 혼합 조직학을 갖는 대상체에 대해, 임의의 연령의 포르말린-고정, 파라핀-포매 (FFPE) 종양 조직이 바이오마커 패널 시험 (이는 BRAF, METex 14 스킵핑, KRAS 돌연변이, RET 재배열, 고수준 MET 증폭 또는 NTRK 유전자 주입을 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않음)을 위해 의뢰자에 의해 지정된 중앙 실험실에 제출되어야 한다. 현장의 원천 기록으로부터 바이오마커 상태가 이용가능할 때까지 대상체는 무작위화되어서는 안된다.

[0907] 2. 대상체는 하기 선행 요법 중 임의의 것에 노출되었다:

[0908] a. NSCLC를 위한 도세탁셀을 사용한 선행 치료.

[0909] b. 4-1BB (CD137) 표적화제, 임의의 유형의 항종양 백신 또는 자가 세포 면역요법을 사용한 선행 치료.

[0910] c. GEN1046 투여 전 28일 이내에 항암제를 사용한 치료.

[0911] d. 4기 NSCLC의 치료를 위한 임의의 임상시험용 작용제.

[0912] e. GEN1046의 개시 전 30일 이내에 생 약독화 백신을 사용한 선행 치료. 생백신의 예는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 홍역, 볼거리, 풍진, 바리셀라/조스터 (수두), 황열, 광견병, 바실루스 칼메트-게랭 및 장티푸스 백신. 주사를 위한 계절성 인플루엔자 백신은 일반적으로 사 바이러스 백신이고 허용되지만; 비강내 인플루엔자 백신 (예를 들어, 플루미스트(FluMist)®)은 생 약독화 백신이고 허용되지 않는다. 실험적 및/또는 비-인가 SARS-CoV-2 백신접종은 허용되지 않는다.

[0913] f. 제1 GEN1046 투여 전 14일 이내의 방사선요법. 대상체가 >30 Gy의 방사선 요법을 받은 경우에, 이들은 개입으로부터의 독성 및/또는 합병증으로부터 회복되었어야 한다.

[0914] g. 만성 전신 면역억제 코르티코스테로이드 용량, 즉 1일 >10 mg의 프레드니손 또는 제1 GEN1046 투여 전 14일 이내에 >150 mg 프레드니손의 누적 용량. 대체 요법 (예를 들어, 부신 또는 뇌하수체 기능부전에 대한 티록신, 인슐린 또는 생리학적 코르티코스테로이드 대체 요법)은 전신 치료의 형태로 간주되지 않고, 허용된다.

[0915] h. 제1 GEN1046 투여 4주 전에 과립구 콜로니 자극 인자 (G-CSF) 또는 과립구/대식세포 콜로니 자극 인자 지원을 받았거나 또는 만성적으로 수혈 의존성이었다.

[0916] 3. 대상체는 GEN1046의 계획된 제1 용량 전 28일 이내에 침습성 임상시험용 의료 장치를 사용하였거나 또는 현재 개입 시험에 등록되어 있다.

[0917] 4. 대상체는 면역 CPI 함유 치료의 처음 6주 이내에 질환 진행으로 인해 치료를 중단하였다.

[0918] 5. 대상체는 이 시험에 등록하기 >250일 전에 항-PD-1/PD-L1 mAb의 마지막 용량을 받았다.

[0919] 6. 대상체는 비-흑색종 피부암; 상피내 방광암, 위암, 결장암, 자궁경부암/이형성증, 자궁내막암, 흑색종 또는 유방암; 및 임의의 추가의 요법이 요구되지 않거나 요구될 것으로 예상되지 않는 >2년 지속기간의 완전 반응을 갖는 임의의 치유가능한 암을 제외하고, 포함 진단 이외의 다른 알려진 과거 또는 현재 악성종양을 갖는다.

[0920] 7. 모든 대상체는 새로운 또는 기존의 중추 신경계 (CNS) 병변을 기록하기 위해 뇌의 CT 스캔 또는 MRI를 받아야 한다. 뇌내 동정맥 기형, 뇌 동맥류, 진행성 뇌 전이, 척수 압박 (질환으로부터) 또는 졸중의 병력을 갖는 대상체는 배제될 것이다.

[0921] 8. 알려진 불안정한 CNS 전이 및 암종성 수막염의 임의의 활성 또는 병력을 갖는 대상체는 배제될 것이다. 이전에 치료된 뇌 전이를 갖는 대상체는 반복 영상화에 의해 적어도 28일 동안 방사선학적으로 안정하다면 (즉, 진행의 증거 부재) 참여할 수 있다 (반복 영상화는 시험 스크리닝 동안 수행되어야 한다는 것을 주목함). 대상체는 임상적으로 안정해야 하고, 급성 코르티코스테로이드 요법 또는 스테로이드 점감을 받지 않아야 하거나 또는 C1D1 전 14일 이내에 정위 방사선 또는 전뇌 방사선을 받았어야 한다. 만성 스테로이드 요법은 용량이 C1D1 전 마지막 14일 동안 안정하다면 허용가능하다 (1일 ≤10 mg 프레드니손 또는 등가물).

[0922] 9. 대상체는 GEN1046 또는 그의 부형제에 대해 알려진 알레르기, 과민성 또는 불내성을 갖는다.

[0923] 10. 대상체는 지역 처방 정보에 따라 펨브롤리주맙의 사용에 대한 금기를 갖는다.

[0924] 11. 대상체는 이 시험에 등록되어 있는 동안 또는 GEN1046의 마지막 용량 후 6개월 이내에 임신, 모유 수유 또

는 임신 계획 중인 여성이다.

[0925] 12. 대상체는 이 시험에 등록되어 있는 동안 또는 GEN1046의 마지막 용량 후 6개월 이내에 아이를 가질 계획이 있는 남성이다.

[0926] 13. 대상체는 활성 간질성 폐 질환 또는 활성 비-감염성 폐장염의 증거를 갖는다.

[0927] 14. 대상체는 하기 중 임의의 것을 갖는다:

[0928] a. 제1 용량 <2주 전에 투여된 항감염 요법을 사용한 정맥내 치료가 요구되는 진행중인 또는 활성 감염.

[0929] b. 증후성 울혈성 심부전 (뉴욕 심장 학회에 의해 분류된 바와 같은 등급 III 또는 IV), 불안정형 협심증 또는 심장 부정맥.

[0930] c. 최적의 의료 관리에도 불구하고, 수축기 혈압 ≥160 mmHg 및/또는 확장기 혈압 ≥100 mmHg로서 정의되는 비제어된 고혈압.

[0931] d. irAE에 대한 위험을 시사할 수 있는, 전신 면역억제 치료를 사용한 치료가 요구되는 유의한 자가면역 질환의 진행중인 또는 최근 (6개월 이내) 증거.

[0932] e. 진행중인 등급 ≥2 감각 또는 운동 신경병증.

[0933] a. 심각한 비-치유 상처, 피부 궤양 또는 골절.

[0934] f. 시험에의 대상체 참여 또는 시험 결과의 평가를 방해할 수 있는 물질 남용, 의학적, 심리적 또는 사회적 상태.

[0935] 15. 대상체는 하기 중 임의의 것의 알려진 병력을 갖는다:

[0936] a. 선행 면역요법 치료의 치료 중단으로 이어지는 등급 3 이상의 irAE.

[0937] b. 근염, 길랑-바레 증후군 또는 임의의 등급의 중증 근무력증.

[0938] c. 간 질환 (예를 들어, 알콜성 간염 또는 비-알콜성 지방간염, 약물-관련 또는 자가면역 간염 또는 간 경변증의 증거).

[0939] d. GEN1046의 제1 용량 전 3개월 이내에 기관 동종이식편 (각막 이식 제외) 또는 자가 또는 동종 골수 이식 또는 줄기 세포 구출.

[0940] e. 모노클로날 항체 요법에 대한 등급 3 이상의 알레르기 반응, 뿐만 아니라 이 시험의 과정에서 주어진 임의의 작용제에 대한 알려진 또는 의심되는 알레르기 또는 불내성.

[0941] f. AE가 임상적으로 유의하지 않고/거나 임상연구자의 견해에서 지지 요법 시에 안정하지 않는 한, 선행 치료와 관련된 진행중인 ≥ 등급 2 독성 (탈모증 제외).

[0942] 16. 대상체는 대수술을 받았고 (예를 들어, 연장된 회복 기간이 요구됨), 이 시험에 참여하기 전에 그의 이전 기준선 상태로 완전히 회복되지 않을 것이다.

[0943] 17. 대상체는 인간 면역결핍 바이러스 HIV에 대한 혈청양성의 알려진 병력을 갖는다.

[0944] 18. 대상체는 B형 간염 바이러스 (HBV)에 대한 병력/양성 혈청학을 갖는다 (백신접종으로 인한 면역 또는 자연 감염 해소가 아닌 한 또는 이뮤노글로불린 요법으로 인한 수동 면역화가 아닌 한):

[0945] a. B형 간염 코어 항원에 대한 항체 (항-HBc) 시험에서 양성

[0946] 및

[0947] b. B형 간염 표면 항원에 대한 항체 (항-HBs) 시험에서 음성.

[0948] 19. 대상체는 치유되지 않은 진행중인 C형 간염 바이러스 (HCV) 감염의 병력을 갖는다.

[0949] 20. 대상체는 HBV (B형 간염 표면 항원 [HBsAg] 또는 HBV DNA에 대해 양성으로 정의됨) 또는 알려진 활성 HCV 바이러스 (HCV RNA [정성적]가 검출되는 것으로 정의됨) 감염의 병력을 갖는다.

[0950] 21. 대상체는, 임상연구자의 견해에서, 참여가 대상체에게 최선의 이익이 아니거나 (예를 들어, 웰빙을 손상시

키거나) 또는 프로토콜-명시된 평가를 방지, 제한 또는 혼동시킬 수 있는 임의의 상태를 갖는다.

[0951] **투여된 시험 치료**

[0952] 시험 치료는 하기 중단 기준 중 1가지 이상이 충족될 때까지 표 13에 기재된 바와 같이 투여된다.

[0953] GEN1046 및 펨브롤리주맙은 자격이 있는 현장 직원에 의해 IV 주입으로서 투여될 것이다. 약물 제품 제조 및 취급 동안, 격렬한 혼합 또는 진탕은 피해야 한다. 제품은 어떠한 항미생물 보존제 또는 정박테리아제도 함유하지 않기 때문에, 제조된 용액의 멸균성을 보장하도록 주의를 기울여야 한다.

[0954] 표 13: 치료 투여

[0955]

부문	치료	용량 (mg)	투여 제제	경로	투여 지침	스케줄	주기 길이
A	**GEN1046**	100	용액을 위한 농축물	IV	30분 주입	1회	3주
A	**GEN1046**	500	용액을 위한 농축물	IV	30분 주입	1회	6주
B	**GEN1046**	100	용액을 위한 농축물	IV	30분 주입	1회	3주
B	**펨브롤리주맙**	200	용액	IV	처방 정보에 따라 30분 주입	1회	3주
C	**GEN1046**	100	용액을 위한 농축물	IV	30분 주입	1회	6주
C	**펨브롤리주맙**	400	용액	IV	처방 정보에 따라 30분 주입	1회	6주

[0956] GEN1046 단독요법

[0957] 부문 A에서, GEN1046 100 mg Q3W는 처음 2 치료 주기 동안 제1일에 30분 IV 주입으로서 투여되고; 그 후에, GEN1046 500 mg Q6W는 후속 6주 치료 주기의 제1일에 30분 IV 주입으로서 투여된다. GEN1046에 대해서는 용량 감소가 허용되지 않는다.

[0958] GEN1046 및 펨브롤리주맙

[0959] 부문 B에서, GEN1046 100 mg 및 펨브롤리주맙 200 mg은 매 3주 주기의 제1일에 투여될 것이다.

[0960] 부문 C에서, GEN1046 100 mg 및 펨브롤리주맙 400 mg은 매 6주 주기의 제1일에 투여될 것이다.

[0961] 펨브롤리주맙이 먼저 투여되고, 이어서 GEN1046이 투여된다. 펨브롤리주맙 직후에, GEN1046의 주입을 시작하기 전 라인을 청소하기 위해 염수 플러싱이 이어진다. 주입 사이의 시간은 상황에 따라 대략 30분 이상이다. GEN1046 및/또는 펨브롤리주맙에 대한 용량 감소는 허용되지 않는다.

[0962] **시험 치료의 설명**

[0963] GEN1046 - 20 mM 히스티딘, 250 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트-80, pH 5.5 중에 제제화된 20 mg/mL - 는 0.9% NaCl (염수) 중에 (현장에서) 희석될 주입용 용액을 위한 농축물로서 공급되는 투명 내지 유백색, 무색 내지 미황색 용액이다.

[0964] 펨브롤리주맙 (키트루다®) 주입은 IV 주입을 위해 희석이 요구되는 멸균, 보존제-무함유, 투명 내지 약간 유백색, 무색 내지 미황색 용액이다.

[0965] **시험 치료의 중단**

[0966] 대상체의 시험 치료는 하기의 경우에 중단되어야 한다:

[0967] ● 치료 중단이 요구되는 허용되지 않는 AE*

[0968] ● 대상체 비-순응도

[0969] ● 시험 치료를 중단하기 위한 대상체 요청*

[0970] ● 임신

[0971] ● 임상 진행*

[0972] ● 질환 진행 (반응 기준에 따름)

[0973] **생존 상태**

[0974] 생존 상태는 마지막 GEN1046 용량 일로부터 시작하여 대상체가 사망하거나 시험으로부터 철회될 때까지 계속 12주 (±14일)마다 평가된다. 이 평가를 위해 이용가능하지 않거나 또는 지정된 가족 구성원이 이용가능하지 않은 대상체는 "추적 소실"로 기입된다.

[0975] **시험으로부터의 대상체 철회**

[0976] 대상체는 하기 이유 중 임의의 것으로 인해 시험으로부터 철회될 것이다:

[0977] ● 사망

[0978] ● 추적 소실

[0979] ● 대상체의 동의 철회

[0980] ● 시험 종료

[0981] ● 의뢰자의 시험 종결

[0982] 대상체가 PD를 입증하기 전에 시험 치료를 중단하고 시험을 철회하는 경우에, 치료 종료 평가가 수득되어야 한다.

[0983] **효능 평가**

[0984] 종양 반응은 RECIST v1.1 기준 (Eisenhauer et al., 2009)에 따라 지역 평가된다. 영상화 평가 수집 계획은 하기에 제시된다. 추가로, 선행 종양 스캔 영상은 실현가능한 경우에 수집된다.

[0985] 영상화 데이터는 중앙 수집되고, 의뢰자에 의해 지정된 영상화 위탁 연구 기관 (CRO)에 의해 품질 검사된다. 지역 임상연구자의 평가는 1차 종점 분석 및 치료 결정을 위해 사용될 것이다.

[0986] 표 14: 영상화 평가 수집 계획

절차	스크리닝/기준선	치료/추적 동안
흉부, 복부 및 골반 CT 또는 MRI (IV 조영 증강 사용)	의무화됨	의무화됨
뇌 CT 또는 MRI	임상적으로 지시된 경우	병변이 기준선에서 기록된 경우, 흉부, 복부 및 골반의 CT/MRI 와 동일한 스케줄을 따름
전신 골 스캔 (임상시험 표준 관리 [예를 들어, Tc-99 골 스캔, 전신 골 MRI, FDG-PET 또는 NaF PET]에 따름)	임상적으로 지시된 경우	임상적으로 지시된 경우
국부 골 CT, MRI 또는 X 선	흉부, 복부 및 골반 CT 또는 MRI 에서 보이지 않는, 전신 골 스캔 상에서 확인된 임의의 병변에 대해	병변이 기준선에서 기록된 경우, 흉부, 복부 및 골반의 CT/MRI 와 동일한 스케줄을 따름
다른 전이 부위 (예를 들어, 목)의 CT 또는 MRI	임상적으로 지시된 경우	병변이 기준선에서 기록된 경우, 흉부, 복부 및 골반의 CT/MRI 와 동일한 스케줄을 따름

[0987]

[0988] 약어: CT=컴퓨터 단층촬영; MRI=자기 공명 영상화; PET=양전자 방출 단층촬영.

[0989] 초기 RECIST-정의된 질환 진행 이후에 시험 치료를 계속하는 대상체의 경우, 효능 평가는 계속되어야 한다.

[0990] 임상연구자에 의해 평가 시 RECIST-정의된 질환 진행의 부재 하에 시험 치료를 중단하는 대상체의 경우, 시험중 영상화는 RECIST-정의된 질환 진행, 후속 항암 요법의 시작, 동의 철회, 사망 또는 추적 소실 중 어느 것이든 먼저 발생하는 때까지 계속되어야 한다.

[0991] 기준선 영상화 평가

[0992] 영상화 평가는 스크리닝 시/기준선에서 시험 치료의 제1 용량의 투여 21일 이내에 (C1D1 전 제-21일 내지 제-1일) 수행된다. 모든 전이성 질환 부위는 기준선에서 표적 또는 비-표적 병변으로서 보고되고, 시험 전반에 걸쳐 추적된다.

[0993] 주요 시험 ICF에 서명하기 전을 포함한, 치료 시작 전 21일 이내의 대상체의 정규 평가 동안 이미 완료된 임의

의 영상화 평가는, 단지 이들이 시험에 대한 기술적 영상화 요건을 충족시키는 경우에만 이 시험에 대한 기준선 영상으로서 간주될 수 있다. 무작위화 후에 수득된 임의의 영상화 평가는 기준선 영상으로 간주될 수 없다.

[0994] 스크리닝을 포함한 모든 스케줄링된 종양 영상화는 흉부, 복부 및 골반의 완전한 영상화를 포함하여야 한다. 종양 영상화는 아이오딘화 조영제를 사용한 CT에 의해 획득하는 것이 매우 바람직하다. 복부 및 골반에 대해, MRI는 아이오딘화 조영제를 사용한 CT가 금기되는 경우 또는 지역 실무가 이를 의무화하는 경우 사용될 수 있다. 흉부 영상화는 CT에 의해 수행되어야 하지만, 아이오딘화 조영제가 금기되는 경우에는 조영제 없이 수행될 수 있다.

[0995] MRI는 뇌를 영상화하기 위한 매우 바람직한 양식이다. 알려진 또는 의심되는 뇌 전이의 경우에, 뇌 MRI는 기준선에서 완료된다. 조영-증강 뇌 MRI가 바람직하지만; MRI 조영제가 금기되는 경우에, 이때 조영제를 사용한 MRI 또는 조영제를 사용/비사용한 CT가 허용된다.

[0996] 이전에 방사선요법으로 치료된 임의의 잠재적으로 측정가능한 병변은 비-측정가능한 병변으로 간주되어야 한다. 그러나, 이전에 방사선요법으로 치료된 병변이 방사선요법 이후로 명확하게 진행된 경우에, 이는 측정가능한 병변으로 간주될 수 있다.

[0997] 기준선-후 영상화 평가

[0998] 표 14에 기재된 바와 같은 영상화 평가는 시험 치료 중단 또는 실제 투여와 무관하게 기준선에서 사용된 동일한 영상화 양식을 사용하여 수행된다. 시험중 영상화는 처음 24주 동안 6주 (±7일)마다 및 그 후 제1 용량 일자로부터 질환 진행 (임상연구자에 의해 평가 시), 후속 항암 요법의 시작, 동의 철회, 사망 또는 추적 소실 중 어느 것이든 먼저 발생하는 때까지 9주 (±7일)마다 수행된다. 영상화 평가는 참조로서 시험 치료의 제1 용량 일자를 사용하여 스케줄링되고, 시험 약물을 사용한 치료가 일시적으로 보류되었는지 또는 스케줄링되지 않은 평가가 수행되었는지 여부와 관계없이 고려된다.

[0999] 추가의 영상화 평가는 필요에 따라 대상체에 대한 효능 평가를 지지하기 위해 임상연구자의 판단으로 시험 동안 임의의 시점에 수행될 수 있다. 임의의 시점에서의 질환 진행이 임상적으로 의심되는 경우에 다음 스케줄링된 영상화 평가를 기다리기 보다는 신체 검사 및 영상화 평가가 즉시 수행될 것이 요구된다.

[1000] 기준선에서 평가되는 각각의 병변은 영상화 방법에 의해, 및 가능한 경우, 비교가 일관되도록 시험 전반에 걸쳐 동일한 지역 방사선과의사/의사에 의해 평가되어야 한다. 진행이 의심되기 때문에 스케줄-외 영상화 평가가 수행되는 경우에, 후속 영상화 평가는 원래 영상화 스케줄에 따라 수행되어야 한다.

[1001] 조합된 양전자 방출 단층촬영 (PET)-CT는 CT가 PET 없이 수행된 CT (IV 조영 매체의 이용 포함)와 유사한 진단 품질을 갖는 경우에만 사용될 수 있다. 임상연구자의 판단으로, FDG-PET 스캔은 RECIST 1.1에 따른 PD를 기록하기 위해 수행될 수 있다.

[1002] **무진행 생존 2**

[1003] 무진행 생존 2 (PFS2)는 제1 주입으로부터 다음 차수 치료 시 객관적 종양 진행 또는 임의의 원인으로 인한 사망까지의 시간으로서 정의된다. PFS2의 경우, 객관적 종양 진행은 다음 차수 요법 시 진행에 대한 임상연구자 평가에 기초하여 결정될 것이다. 이러한 목적을 위해, 시작/종료 일자, 중단 이유 및 질환 진행 일자를 포함한 후속 항신생물 요법이 포착될 것이다.

[1004] **질환의 iRECIST 평가**

[1005] iRECIST 질환 진행은 임상적으로 안정한 참가자에서 PD의 제1 방사선학적 증거의 적어도 4-7주 후에 확인되어야 한다. 미확인 질환 진행을 갖는 대상체는 대상체가 임상적으로 안정한 한 진행이 확인될 때까지 시험 치료를 계속 받을 수 있다.

[1006] 임상적으로 안정한 대상체는 하기 기준을 충족시켜야 한다:

[1007] ● 대상체는 GEN1046 또는 GEN1046 조합 요법의 계속으로부터 임상 이익을 가져야 하고 (임상연구자에 의해 평가 시), 급속한 질환 진행을 갖지 않아야 한다.

[1008] ● 대상체는 시험 치료를 견디고 있다.

[1009] ● 대상체는 안정한 ECOG 상태를 가져야 한다.

[1010] ● 진행 이후의 치료는 질환 진행에 대한 심각한 합병증 (예를 들어, 즉각적 치료가 요구되는 중추 신경계

전이)을 예방하기 위한 임박한 개입을 지연시키지 않을 것이다.

[1011] 임의의 임상적으로 불안정한 대상체는 방사선촬영상 질환 진행의 제1 발생 시에 시험 치료로부터 중단된다. 임상적으로 불안정한 대상체는 iRECIST에 의한 PD를 확인하기 위해 반복 영상화가 요구되지는 않지만; 진행 확인 스캔은 임상연구자의 판단으로 의뢰자와의 협의 후에 수득될 수 있다.

[1012] 반복 영상화가 iRECIST-확인된 질환 진행 (iCPD)을 나타내는 경우에, 대상체는 시험 치료를 중단할 것이다. 그러나, iCPD가 관찰된 후에 대상체가 이익을 얻고 있는 경우에, 시험 치료 계속에 대한 예외는 의뢰자 의료 모니터에 의해 승인되어야 한다. 반복 영상화가 iRECIST 안정 질환 (iSD), iRECIST 부분 반응 (iPR) 또는 iRECIST 완전 반응 (iCR)을 나타내는 경우에, 영상화는 6주 (±7일)마다 계속되어야 하고, 대상체는 시험 치료를 계속 받아야 한다.

[1013] **예비 결과**

[1014] 2022년 8월 10일 당시, 4명의 환자가 부문 C의 안전성 준비 파트에 등록되었고, 제4 환자의 DLT 기간이 완료되었다. 평가가능한 대상체에서 DLT는 보고되지 않았고, 보고된 SAE 중 어떠한 것도 연구 약물 (GEN1046 또는 펨브롤리주맙)과 관련되지 않았다. 1명의 대상체는 부분 반응을 경험하였고, 1명의 대상체는 안정 질환을 가졌다.

[1015] **실시예 9: 약동학적/약역학적 모델**

[1016] 다중-구획 생리학-기반 약동학 (PBPK) 모델을 종양 미세환경 및 배액 림프절에서 발생하는 종양/면역 과정 및 상호작용을 나타내는 기계론적 시스템 생물학 모델과 조합한 통합 정량적 시스템 약리학 (QSP) 모델을 개발하였다. PBPK 모델은 건강한 조직 공간 및 종양 공간으로의 FcRn-매개된 GNE1046 수송 및 분포와 림프 유동에 의해 매개되는 혈장으로의 복귀를 기재한다. 기계론적 시스템 생물학 모델은 종양 증식, 암/면역 주기 및 GEN1046 및 항-PD1 약물 펨브롤리주맙의 활성과 직접 관련된 메카니즘에 관여하는 공지된 생물학을 재현하도록 설계된다. 모델은 이들 경로의 파라미터화에 대한 광범위한 문헌, 전임상, 약동학 및 약역학 데이터를 활용하였다. 모델은 핵심 마커 (예를 들어, 기준선에서의 PD-1 및 PD-L1 발현)에서 관찰된 가변성을 포괄하는 가상 환자의 집단을 생성하는 데 사용되고, GEN1046 및 펨브롤리주맙이 단독요법으로서 또는 조합되어 제공되는 경우에 객관적 반응률 (ORR)을 예측하는 데 사용되었다. 펨브롤리주맙 (문헌으로부터의 데이터) 및 GEN1046 단독요법 임상 시험에 대해 관찰된 객관적 반응률 (ORR)에 기초하여 모델을 검증하였다. 100 mg Q3W 또는 100 mg Q6W의 GEN1046이 단독요법으로서 또는 200 mg Q3W 또는 400 mg Q6W의 승인된 용량의 펨브롤리주맙과 조합되어 제공된 경우에 대해 평가를 수행하였다.

[1017] 펨브롤리주맙과 조합되어 100 mg Q3W 또는 Q6W로서 제공된 GEN1046에 대한 부분 반응 (PR) 및 완전 (CR) 비율 둘 다에서 약한 용량-의존성 관계가 관찰되었다. PR 및 CR 비율에 대한 예측은 GEN1046 100mg과 300mg Q3W 사이의 최대 반응을 보여준다. 추가적으로, 예측은 Q3W 또는 Q6W로 제공된 경우 GEN1046과 펨브롤리주맙 사이의 최소 차이를 보여준다 (도 11).

[1018] **실시예 10: LPS-성숙 수지상 세포 및 시험관내 소진된 T 세포의 동종 MLR 검정에서 시토카인 분비에 대한 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046의 효과**

[1019] **목적**: GEN1046과 펨브롤리주맙의 조합이 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 소진을 역전시킬 수 있는지를 분석하기 위해, 인간 성숙 수지상 세포 (mDC) 및 시험관내 소진된 T 세포 (Tex)의 4개의 특유한 동종 쌍을 GEN1046 단독, 펨브롤리주맙 단독 또는 두 항체의 조합의 존재 하에 공동-배양하였다. Tex 상에서의 억제 수용체의 발현을 유동 세포측정법에 의해 결정하고, 인터페론 (IFN)γ의 분비를 공동-배양물의 상청액에서 평가하였다.

[1020] **방법**

[1021] 건강한 공여자로부터의 단핵구 및 T 세포

[1022] $CD14^+$ 단핵구 및 정제된 $CD3^+$ T 세포를 바이오IVT로부터 입수하였다. 4개의 특유한 동종 공여자 쌍을 MLR 검정에 사용하였다.

[1023] 단핵구의 미성숙 수지상 세포로의 분화

[1024] 인간 $CD14^+$ 단핵구를 건강한 공여자로부터 수득하였다. 미성숙 수지상 세포 (iDC)로의 분화를 위해, 1 - 1.5 x

10^6개 단핵구/mL를 37℃에서 T25 배양 플라스크 (팔콘, 카탈로그 번호 353108) 내 10% 열-불활성화 태아 소 혈청 (FBS; 깁코, 카탈로그 번호 16140071), 100 ng/mL 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF; 바이오레전드, 카탈로그 번호 766106) 및 300 ng/mL 인터류킨 (IL)-4 (바이오레전드, 카탈로그 번호 766206)로 보충된 로스웰 파크 메모리얼 인스티튜트 (RPMI) 1640 완전 배지 (ATCC 변형 포뮬라; 써모피셔, 카탈로그 번호 A1049101) 중에서 6일 동안 배양하였다. 4일 후, 배지를 신선한 배지 및 보충물로 대체하였다.

[1025] iDC의 mDC로의 분화

[1026] MLR 검정을 시작하기 전에, 비-부착 세포를 수집하여 iDC를 수거하고, 37℃에서 24시간 동안 10% FBS, 100 ng/mL GM-CSF, 300 ng/mL IL-4 및 5 μg/mL 리포폴리사카라이드 (LPS; 써모피셔, 카탈로그 번호 00-4976-93)로 보충된 RPMI 1640 완전 배지 중에서 1 - 1.5 x 10^6개 세포/mL를 인큐베이션함으로써 mDC로 분화시켰다.

[1027] T 세포의 소진

[1028] 건강한 공여자로부터 수득된 정제된 $CD3^+$ T 세포를 해동시키고, 5% FBS 및 10 ng/mL IL-2 (바이오레전드, 카탈로그 번호 589106)로 보충된 AIM-V 배지 (써모피셔, 카탈로그 번호 12055091) 중에 1 x 10^6개 세포/mL로 재현탁시켰다. 소진-유사 표현형을 갖는 T 세포를 생성하기 위해, 세포를 37℃ 및 5% CO_2에서 48시간 동안 디나비즈(Dynabeads)™ 인간 T 활성화제 CD3/CD28 (깁코, 카탈로그 번호 11161D)에 의해 1:1의 비드:세포 비로 2 라운드 자극하였다. T 세포의 소진 표현형을 하기 기재된 바와 같이 CD3/CD28 재자극에 대한 저반응성 (IFNɣ 분비의 결여)에 의해 확인하였다. 억제 수용체 TIM3, LAG3 및 PD-1의 높은 발현은 소진된 표현형과 일치하였다. 2 라운드의 자극 후, 소진된 $CD3^+$ T 세포 (Tex)를 24시간 동안 휴지시켰다.

[1029] 나이브 대조군으로서, 건강한 공여자로부터 수득된 정제된 $CD3^+$ T 세포를 MLR 검정의 시작 1일 전에 해동시키고, 10% FBS 및 10 ng/mL IL-2로 보충된 RPMI 1640 완전 배지 중에 1 x 10^6개 세포/mL로 재현탁시키고, 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. MLR 검정 전에, 나이브 T 세포 및 Tex의 분취물을 유동 세포측정법을 위해 수집하였다.

[1030] 유동 세포측정법

[1031] Tex 상의 억제 수용체의 유동 세포측정 분석을 위해, 세포를 400 xg로 5분 동안 펠릿화하고, 포스페이트-완충 염수 (PBS) 중에서 세척하고, 다시 펠릿화하고, 라이브/데드(LIVE/DEAD)™ 고정가능한 근적외선 사멸 세포 염색제 (써모피셔 사이언티픽, 카탈로그 번호 L10119, 1:500 희석됨) 또는 생존능 라이브/데드 블루 (써모피셔 사이언티픽, 카탈로그 번호 L2305, 1:500 희석됨)로 보충된 1 mL PBS 중에 재현탁시키고, 암흑 하에 4℃에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 다음에, 세포를 세척하고, 펠릿화하고, 5% 인간 혈청 (시그마, 카탈로그 번호 H4522)을 함유하는 FACS 완충제 (0.5% 소 혈청 알부민 [BSA, 시그마, 카탈로그 번호 A9576] 및 2 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 [EDTA, 인비트로젠, 카탈로그 번호 15575-038]으로 보충된 둘베코 포스페이트-완충 염수 [DPBS, 깁코, 카탈로그 번호 14190136]) 중에 8 x 10^6개 세포/mL로 재현탁시키고, 4℃에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 2 x 10^5개 세포를 함유하는 25 μL를 브릴리언트 스테인 버퍼 플러스(Brilliant Stain Buffer Plus) (BD 호리즌(Horizon), 카탈로그 번호 566385)로 보충된 FACS 완충제 중에 희석된 표 15에 제시된 형광-표지된 항체와의 150 μL 염색 믹스를 함유하는 새로운 96-웰 플레이트로 옮기고, 암흑 하에 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 펠릿화하고, FACS 완충제를 사용하여 세척하고, 100 μL 고정 완충제 (바이오레전드, 카탈로그 번호 420801) 중에 재현탁시키고, 암흑 하에 4℃에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 다시 펠릿화하고, 세척하고, 100 μL FACS 완충제 중에 재현탁시켰다. 샘플을 사이텍(Cytek)® 오로라 유동 세포측정기 (사이텍 바이오사이언시스(Cytek Biosciences)) 상에서 분석하였다.

[1032] 표 15. 유동 세포측정법에 사용된 항체

마커	형광색소	클론	판매업체	카탈로그 #	역가
TIM3	BV421	7D3	BD	565562	1:60
PD-1	PerCP-eFluor 710	J105	씨모피셔	46-2799-42	1:15
Lag3	PE	11C3C65	바이오레전드	369306	1:30
4-1BB	PE-Cy5	4B4-1	바이오레전드	309808	1:30
Ki67	BV786	B56	BD	563756	1:150

[1033]

[1034] MLR 검정

[1035] mDC (iDC의 mDC로의 분화 참조)를 수거하고, AIM-V 배지 중에 4 x 10^5개 세포/mL로 재현탁시켰다. Tex 및 나이브 $CD3^+$ T 세포 (T 세포의 소진 참조)를 수거하고, AIM-V 배지 중에 4 x 10^6개 세포/mL로 재현탁시켰다. mDC와 Tex의 공동-배양물을 2 x 10^4개 mDC와 함께 인큐베이션된 8 x 10^4개 또는 2 x 10^5개 Tex에 상응하는 1:4 또는 1:10의 DC:T 세포 비로 시딩하고, 96-웰 둥근-바닥 플레이트 (팔콘, 카탈로그 번호 353227) 내 AIM-V 배지 중에서 단일 작용제로서의 펨브롤리주맙 (1 μg/mL; 임상 제품 펨브롤리주맙의 비-임상/연구-등급 버전; 셀렉켐 (Selleckchem), 카탈로그 번호 A2005) 또는 GEN1046 (0.001 - 30 μg/mL) 또는 두 작용제의 조합의 존재 하에 37℃에서 5일 동안 배양하였다. bsIgG1-PD-L1xctrl (30 μg/mL), bsIgG1-ctrlx4-1BB (30 μg/mL), IgG1-ctrl-FEAL (30 μg/mL) 또는 IgG4 이소형 대조군 (1 μg/mL)으로 처리된 공동-배양물을 대조군으로서 포함시켰다 (표 16). 병행하여, 2 x 10^4개 mDC와 함께 인큐베이션된 2 x 10^5개 T 세포에 상응하는 1:10의 DC:T 세포 비의 mDC 및 나이브 $CD3^+$ T 세포의 공동-배양물을 1 μg/mL 펨브롤리주맙의 존재 및 부재 하에 배양하였다. 5일 후, 플레이트를 500 xg로 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 각각의 웰로부터 새로운 96-웰 둥근 바닥 플레이트로 조심스럽게 옮겼다.

[1036] 수집된 상청액을 엔비전 기기 상에서 알파리사 IFNγ 키트 (퍼킨 엘머, 카탈로그 번호 AL217)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 IFNγ 수준에 대해 분석하였다.

[1037] 표 16: 항체

시험 화합물	공급업체, 카탈로그 번호	포함하는 SEQ ID NO
GEN1046	N/A	CD137 결합 아암: SEQ ID NO: 1, 5, 35, 29 PD-L1 결합 아암: SEQ ID NO: 11, 15, 36, 30
bsIgG1-PD-L1×ctrl[1]	N/A	SEQ ID NO: 11, 15, 53, 54, 35, 36, 29, 30
bsIgG1-ctrl×4-1BB[1]	N/A	SEQ ID NO: 35, 36, 1, 5, 53, 54, 29, 30
IgG1-ctrl-FEAL[1]	N/A	SEQ ID NO: 53, 54, 30, 35
펨브롤리주맙	셀렉켐, 카탈로그 번호 A2005, 로트 번호 A200504 (임상 제품 펨브롤리주맙의 비-임상/연구-등급 버전)	N/A
IgG4 이소형 대조군	바이오레전드, 카탈로그 번호 403702 (펨브롤리주맙에 대한 이소형 대조군 항체)	N/A

[1038]

[1039] [1]항-HIV gp120 항체 IgG1-b12에 기초한 대조군 결합 모이어티 (Barbas et al., J Mol Biol 1993, 230: 812-823)

[1040] 최고 단일 작용제 (HSA) 상승작용 분석

[1041] 각각의 처리 조건에서의 시토카인 농도 값은 배경 대조군 값 (비처리 대조군 웰)을 차감하여 정규화하고, 검정에서의 최대 값의 백분율로서 표현하였다. 조합 효과는 상응하는 농도에서의 최대 단일 약물 반응으로서 정의되는 최고 단일 작용제 (HSA) 참조 모델을 사용하여 관찰된 반응을 예상된 반응에 대해 비교함으로써 정량화하였다.

[1042] **결과 및 결론**

[1043] CD3/CD28 비드에 의한 2 라운드의 자극 후에, T 세포는 이중 항-CD3 및 항-CD28 자극에 대해 저반응성이 되었으며, 이는 IFNɣ의 감소된 분비에 의해 입증된 바와 같은 소진된 표현형과 일치한다 (도 12A). 추가로, T 세포는 나이브 T 세포와 비교하여 억제 수용체 TIM3, LAG3 및 PD-1의 증가된 발현 (도 12B) 및 증식 마커 Ki67의 감소된 발현 (도 12C)을 나타냈으며, 이는 소진-유사 표현형과 일치한다.

[1044] mDC 및 나이브 $CD3^+$ T 세포의 MLR 검정과 비교하여 mDC 및 Tex의 MLR 검정에서 감소된 IFNɣ 분비가 또한 명백하였다 (도 13). 단일 작용제로서의 펨브롤리주맙 또는 GEN1046을 사용한 처리는 IFNɣ 분비를 부분적으로 구출하였다. ≥ 0.1 μg/mL GEN1046과 1 μg/mL 펨브롤리주맙의 조합은 이들 mDC:Tex MLR 검정에서 단일-작용제 활성과 비교하여 IFNɣ의 분비를 추가로 강화시켰고 (도 13), HSA 모델에 기초하여 상승작용을 나타냈다 (도 14). 이들 데이터는 소진된 T 세포에 의한 시토카인 분비의 상실이 펨브롤리주맙과 조합된 GEN1046을 통해 부분적으로 역전될 수 있다는 것을 시사한다.

[1045] **실시예 11: mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합을 사용한 처리 시 MC38 마우스 결장암 종양 증식에서의 항종양 활성**

[1046] **목적**: C57BL/6 마우스의 MC38 결장암 모델에서 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 항체 단독 또는 항-mPD-1과의 조합의 항종양 활성을 조사하기 위한 것이다.

[1047] **방법**

[1048] MC38 마우스 결장암 세포를 37℃, 5% CO_2에서 10% 열-불활성화 태아 소 혈청으로 보충된 둘베코 변형 이글 배지 중에서 배양하였다. MC38 세포를 대수기로 성장하는 세포 배양물로부터 수거하고, 정량화하였다.

[1049] MC38 세포 (100 μL PBS 중 1 x 10^6개 종양 세포)를 암컷 C57BL/6 마우스 (상하이 링창 바이오테크놀로지 캄파니, 리미티드 앤드 서비시즈(Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd and Services)로부터 입수함; 실험 시작 시 6-8주령)의 우측 하부 측복부에 피하로 주사하였다.

[1050] 캘리퍼를 사용하여 1주에 3회 종양 성장을 평가하였다. 캘리퍼 측정으로부터 종양 부피 (mm^3)를 ([길이] x $[폭]^2$) / 2로서 계산하였으며, 여기서 길이는 가장 긴 종양 치수이고, 폭은 길이에 수직인 가장 긴 종양 치수이다.

[1051] 종양이 60 mm^3의 평균 부피에 도달하였을 때 처리를 개시하였다. 마우스를 처리 전에 동일한 평균 종양 부피를 갖는 군 (n = 10/군)으로 무작위화하였다. 처리일 (3주 동안 매주 2회 용량 [2QWx3])에, 마우스에게 표 17에 나타낸 항체를 10 μL/g 체중의 주사 부피로 복강내로 주사하였다. 조합 처리의 경우, 항체들을 2회의 개별 주사로 그 사이 20분 간격을 두고 주사하였다 (표 17). 용량 수준은 MC38 마우스 모델에서 이들 항체를 사용한 이전 경험에 기초하였다.

[1052] 마우스를 질병의 임상 징후에 대해 매일 모니터링하였다. 체중 측정을 무작위화 후 1주 3회 수행하였다. 항체 및 그의 조합은, 마우스가 처리 시에 체중 증가보다는 오히려 최소 체중 감소 (<20%)를 나타냈기 때문에 잘 허용되었다. 종양 부피가 1500 mm^3를 초과하였을 때 또는 동물이 인도적 종점에 도달하였을 때 (예를 들어, 마우스가 체중 감소 > 20%를 나타냈을 때, 종양이 궤양화 [> 75%]를 나타냈을 때, 심각한 임상 징후가 관찰되었을 때 및/또는 종양 성장으로 마우스의 신체 활동이 방해받았을 때) 개별 마우스에 대해 실험을 종료하였다.

[1053] 표 17. 처리군 및 투여 요법

처리군	군당 N	처리	용량	투여 요법	Seq ID/ 공급업체, 카탈로그 번호
1	10	mIgG2a-ctrl-AAKR	5 mg/kg	2QW×3	Seq ID: 53, 54, 58, 59
2	10	항-mPD-1	10 mg/kg	2QW×3	클론 RMP1-14, 레인코 테크놀로지스, 카탈로그 번호 P372
3	10	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	5 mg/kg	2QW×3	Seq ID: 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61
4	10	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB[a] + 항-mPD-1	5 mg/kg + 10 mg/kg	2QW×3	상기 참조: 군 2 및 3

[1054]

[1055] [a] mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB를 먼저 주사하고, 제2 항체를 20분 후에 주사하였다.

[1056] 항체 처리 후에 완전한 종양 퇴행을 나타낸 마우스를 처리 개시 121일 후에 MC38 종양 세포로 리챌린지하였다. 마우스에게 원래 종양 세포 접종의 반대쪽 측복부에 1 x 10^6개의 신선한 MC38 종양 세포를 접종하였다. 종양 증식의 대조군 처리로서, 연령 매칭 나이브 C57BL/6 마우스의 군 (n = 6)에게 동일한 세포 배양물로부터의 MC38 종양 세포를 접종하였다.

[1057] **결과**

[1058] 비결합 대조군 항체 mIgG2a-ctrl-AAKR (5 mg/kg; 도 15A)로 처리된 MC38-보유 마우스에서는 급속한 종양 증식이 관찰되었다. 단일 작용제로서 항-마우스 PD-1 항체 (항-mPD-1; 10 mg/kg) 또는 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg; 도 15A)로 처리된 마우스에서는, 지연된 종양 증식이 관찰되었으며, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB에 의해 유도된 종양 증식이 보다 현저하게 지연되었다. mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)와 조합된 항-mPD-1 (10 mg/kg; 둘 다 2QWx3)로 처리된 마우스에서는, 각각의 작용제 단독과 비교하여 종양 증식이 추가로 지연되었고 (도 15A), 처리 개시 후 제23일에 4/10마리의 마우스에서 완전한 종양 퇴행이 관찰되었다 (각각 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 및 항-mPD-1 단독에 대해 1/10마리 및 0/10마리의 마우스에서 완전한 종양 퇴행이 관찰된 것과 비교됨; 표 18). 카플란-마이어 분석은 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합을 사용한 처리가 대조군 항체-처리군 ($p<0.001$)과 비교하였을 때 및 항체 단독 ($p<0.05$; 만텔-콕스; 도 15B, 표 19)과 비교하였을 때 500 mm^3보다 더 작은 종양 부피를 갖는 마우스의 백분율로서 정의되는 무진행 생존의 유의한 증가를 유도한다는 것을 보여주었다. 따라서, 단독요법으로서의 각각의 작용제에 의해 나타난 활성에 비해 우수한 ($p<0.05$) 항종양 효능으로서 정의되는 치료 상승작용이 이 조합에서 관찰되었다.

[1059] 완전한 종양 퇴행을 갖는 마우스 (예를 들어, 종양이 관찰 기간의 지속기간 동안 완전히 사라진 경우) (표 18) 및 대조군인 6마리의 연령-매칭된 종양-나이브 마우스에게 항체를 사용한 처리를 개시한 후 제121일에 MC38 종양 세포를 SC 주사로 (리)챌린지하였다. 대조군인 6마리의 연령-매칭된 종양-나이브 마우스에게 동시에 MC38 종양 세포를 SC 주사하였다. 모든 나이브 마우스에서, MC38 종양은 종양 접종 후 제24일에 1,500 mm^3로 성장한 반면, 리챌린지된 마우스에서는, 리챌린지 35일 후 (MC38 종양 세포를 사용한 원래 접종 156일 후)의 전체 추적 기간 동안 종양 증식이 관찰되지 않았으며, 이는 면역 기억의 발생과 일치한다 (도 16).

[1060] 이들 결과는 암 환자에서 항종양 면역 반응을 추가로 증폭시켜 지속적이고 깊은 임상 반응을 생성하고 생존을 증진시키기 위해 GEN1046과 항-PD-1 항체의 조합을 평가하기 위한 근거를 제공한다.

[1061] 표 18. MC38-종양 보유 마우스의 처리 시 완전한 종양 퇴행.

[1062]

처리군	처리	용량	완전한 종양 퇴행 (CR을 갖는 마우스의 수/군당 마우스의 총수)
1	mIgG2a-ctrl-AAKR	5 mg/kg	0/10
2	항-mPD-1	10 mg/kg	0/10
3	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	5 mg/kg	1/10
4	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	5 mg/kg + 10 mg/kg	4/10

[1063] 표 19. C57BL/6 마우스의 MC38 모델에서 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1 또는 그의 조합에 의해 유도된 무진행 생존의 만텔-콕스 분석

[1064]

비교된 처리군			무진행 생존[1]
			만텔-콕스 P 값
mIgG2a-ctrl-AAKR	vs	항-mPD-1	0.008
mIgG2a-ctrl-AAKR	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	0.002
mIgG2a-ctrl-AAKR	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	<0.001
항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	0.070
항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	<0.001
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	0.043

[1065] [1]종양 부피 < 500㎣[3]를 무진행 생존에 대한 컷-오프로서 사용하였다. 만텔-콕스 분석을 제69일에 수행하였다.

[1066] [2]p-값 <0.05를 유의한 것으로 간주하였다.

[1067] **실시예 12: mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합은 별개이면서 상보적인 면역 조정 효과를 통해 MC38 마우스 결장암 종양 모델에서 항종양 면역을 강화시킨다**

[1068] **목적**: 실시예 2 및 11에 기재된 바와 같이, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합은 C57BL/6 마우스의 MC38 결장암 모델에서 지속적인 반응으로 강력한 항종양 활성을 나타냈다. 따라서, 이 모델을 사용하여 생체내에서 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합의 작용 메카니즘을 추가로 연구하였다. MC38-보유 마우스를 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB, 항-mPD-1 또는 그의 조합으로 처리하였다.

[1069] **방법**

[1070] MC38 결장암 모델

[1071] 면역조직화학 및 유동 세포측정법 평가를 위한 2가지 독립적 연구로부터의 MC38 마우스 결장 암종 종양을 수집하여, 단독요법 및 조합으로서의 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 및 항-mPD-1의 생체내 활성을 특징화하였다.

[1072] MC38 종양 모델을 실시예 2 및 11에 기재된 바와 같이 확립하였다. MC38 SC 종양을 보유하는 마우스의 처리를 종양이 50-70 ㎣의 종양 부피에 도달하였을 때 개시하였다. 마우스를 처리 전에 동일한 평균 종양 부피를 갖는 군으로 무작위화하였다. 처리일 (2주 동안 매주 2회 용량 [2QWx2])에, 마우스에게 표 20에 나타낸 항체를 10 μL/g 체중의 주사 부피로 복강내로 주사하였다. 조합 처리의 경우, 항체들을 2회의 개별 주사로 그 사이 20분 간격을 두고 주사하였다 (표 20).

[1073] 마우스를 질병의 임상 징후에 대해 매일 모니터링하였다. 체중 측정을 무작위화 후 1주 3회 수행하였다. 처리 개시 후 제7일 또는 제14일에, 종양 절제를 위해 마우스 (군당 n=5)를 안락사시켰다.

[1074] 표 20. 처리군 및 투여 요법

[1075]

처리군	처리	용량	투여 요법	Seq ID/ 공급업체, 카탈로그 번호
1	PBS	N/a	2QW×2	n/a
2	항-mPD-1	10 mg/kg	2QW×2	클론 RMP1-14, 레인코 테크놀로지스, 카탈로그 번호 P372
3	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	5 mg/kg	2QW×2	Seq ID: 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61
4	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB[a] + 항-mPD-1	5 mg/kg + 10 mg/kg	2QW×2	상기 참조: 군 2 및 3

[1076] [a] mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB를 먼저 주사하고, 제2 항체를 20분 후에 주사하였다.

[1077] 종양 조직의 면역조직화학 및 계내 혼성화

[1078] 종양을 해부하고, 포르말린에 고정시키고, 파라핀 포매하고, 절편화하였다 (4 μm). 조직학적 평가를 위해, 종양 절편을 탈파라핀화하고, 티슈-텍 프리즈마(Tissue-Tek Prisma) 플러스 자동화 슬라이드 염색기 (사쿠라(Sakura))를 사용하여 티슈-텍 프리즈마 H&E 염색 키트 (사쿠라 [캘리포니아주 토런스], 6190)로 염색하였다. 종양 내의 $CD3^+$, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ 세포의 평가를 위해, 절편을 탈파라핀화하고, 항원을 CC1 완충제 (로슈(Roche), 950-124)를 사용하여 회수하고, 이어서 내인성 퍼옥시다제 (다코 애질런트(Dako Agilent), S2003)를 켄칭하고, 로슈 벤타나 디스커버리 (DISC) 자동염색기 플랫폼을 사용하여 차단 완충제 (로슈, 05268869001)로 비특이적 결합 부위를 차단하였다. 절편을 1차 항체 (표 21에 열거됨)와 함께 인큐베이션하였으며, 이를 항-토끼 면역조직화학 검출 키트를 사용하여 검출하였다: CD3 및 CD4에 대해 항-토끼 DISC만, CD8에 대해 옴니맵 (로슈, 05269679001), 순차적으로 DISC 항-토끼 HQ (로슈, 07017812001) 및 DISC, 및 항-HQ HRP 다량체 (로슈, 06442544001)에 대해 증폭. 3,3'-디아미노벤지딘 (크로모맵 DAB; 로슈, 05266645001)을 제조업체의 지침에 따라 사용하여 HRP를 가시화하였다. 종양 내의 $PD\text{-}L1^+$ 세포의 평가를 위해, 절편을 탈파라핀화하고, 항원을 ER2 완충제 (라이카 바이오시스템즈(Leica Biosystems), AR9640)를 사용하여 회수하고, 이어서 내인성 퍼옥시다제 (다코 애질런트, S2003)를 켄칭하고, 라이카 본드 Rx 자동염색기 플랫폼을 사용하여 차단 완충제 (라이카 바이

오시스템즈, DS9800)로 비특이적 결합 부위를 차단하였다. 절편을 1차 항체 (표 21에 열거됨)와 함께 인큐베이션하고, 이를 항-토끼 면역조직화학 검출 키트 (라이카 바이오시스템즈, DS9800)를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 검출하였다. 종양 내의 4-1BB+ 및 PD-L2+ 세포의 평가를 위해, 라이카 본드 Rx에서 유전자-특이적 mRNA 분자의 검출을 위한 상응하는 RNA스코프 프로브 (각각 ACDBio, 493658 및 447788) 및 RNA스코프 검출 키트 (ACDBio, 322150)를 사용하여 RNA스코프 검정을 수행하였다. 모든 검정에서, 핵을 메이어 헤마톡실린과의 인큐베이션에 의해 대조염색하였다. 연속 조직 절편 상에 이소형, 양성 및 음성 대조군 염색을 혼입시켜 염색 특이성을 제어하였다. 염색된 슬라이드를 전체 슬라이드 영상화 (자이스(Zeiss), 악시오스캔(Axioscan))에 적용하고, 전체 슬라이드 영상을 할로(Halo) 소프트웨어 (인디카 랩스(Indica Labs), 뉴멕시코주 알부케르케)에 업로딩하고, 사전프로그램화된 소프트웨어 분석 도구를 사용하여 분석함으로써 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ 및 $PD\text{-}L1^+$ 세포 (시토뉴클리어(CytoNuclear) v2.0.9)를 결정하고, $4\text{-}1BB^+$ 및 $PD\text{-}L2^+$ 세포 (ISH v4.1.3)를 결정하였다. 후속적으로 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ 및 $PD\text{-}L1^+$ 세포에 대한 정량적 데이터를 총 세포 수 대비 마커-양성 세포의 백분율로서 표현하였다. $4\text{-}1BB^+$ 및 $PD\text{-}L2^+$ 세포에 대한 정량적 데이터를, 4개의 RNA스코프 강도 버킷을 생성하고, H-점수를 식: H-점수 = [(0 x 0개의 도트/세포인 % 세포) + (1 x 1-3개의 도트/세포인 % 세포) + (2 x 4-9개의 도트/세포인 % 세포) + (3 x 10-15개의 도트/세포인 % 세포) + (4 x >15개의 도트/세포인 % 세포)]으로 계산하여 RNA스코프 H-점수로서 표현하였다.

[1079] 표 21. 면역조직화학에 사용된 항체

표적	표지	클론	공급업체	카탈로그 번호
CD3	비접합됨	2GV6	벤타나	790-4341
CD4	비접합됨	EPR19514	압캠	Ab183685
CD8α	비접합됨	D4W2Z	셀 시그널링 테크놀로지	98941
PD-L1	비접합됨	D5V3B	셀 시그널링 테크놀로지	64988

[1080]

[1081] 종양 조직의 유동 세포측정법

[1082] 해리된 종양 세포를 암흑 하에 4℃에서 10분 동안 1 μg/mL 마우스 BD Fc 블록(Fc Block)™ (Fc 차단 완충제; BD, 카탈로그 번호 553141)으로 차단하였다. 세포 표면 마커의 염색을 위해, Fc 차단 완충제 중에 희석된 표 22에 기재된 형광-표지된 항체 혼합물 (Ki67 및 GzmB 제외)을 세포에 첨가하고, 광으로부터 보호하면서 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포내 염색 (Ki67 및 GzmB)을 위해, 세포를 광으로부터 보호하면서 실온에서 30분 동안 Fix/Perm 희석 완충제 (1:4; 이바이오사이언스, 카탈로그 번호 00-5223) 중에 희석된 200 μL Fix/Perm 농축물 (이바이오사이언스, 카탈로그 번호 00-5123)과 함께 인큐베이션함으로써 투과화하였다. 투과화 완충제 (이바이오사이언스, 카탈로그 번호 00-8333) 중에서 2회 세척한 후, 세포를 광으로부터 보호하면서 실온에서 30분 동안 투과화 완충제 중에 희석된 Ki67 및 GzmB 항체 (표 22)와 함께 인큐베이션하였다. 최종적으로, 세포를 250 μL FACS 완충제 (10% FBS [깁코, 카탈로그 번호 10099-141] 및 40 mM EDTA [보스톤 바이오프로덕츠(Boston BioProducts), 카탈로그 번호 BM-711-K]로 보충된 PBS) 중에 재현탁시키고, BD LSR포르테사(LSRFortessa)™ X20 세포 분석기 (BD 바이오사이언시스(BD Biosciences), 미국 캘리포니아주 산호세)에서 측정하였다. 데이터를 칼루자 분석 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[1083] 표 22. 유동 세포측정법에 사용된 항체

표적	표지[1]	클론	공급업체	카탈로그 번호
CD45	BV785	30-F11	바이오레전드	103149
CD3	BUV395	17A2	BD	740268
CD4	BV510	GK1.5	바이오레전드	100449
CD8	PE-eFluor610	53-6.7	이바이오사이언스	61-0081-82
Ki67	PerCP/Cy5.5	SolA15	이바이오사이언스	46-5698-82
GzmB	AF700	QA16A02	바이오레전드	372222
라이브/데드	eFluor780	N/A	이바이오사이언스	65-0865

[1084]

[1085] **결과 및 결론**

[1086] 종양 조직 절편을 처리 개시 후 제7일 및 제14일에 면역조직화학 (IHC) 및 계내 혼성화 (ISH)에 의해 T 세포 하위세트 및 표적 발현에 대해 평가하고 (도 17), 해리된 종양 조직을 처리 개시 후 제7일에 유동 세포측정법에 의해 Ki.67+ 증식성 및 GzmB+ 세포독성 종양내 $CD8^+$ T 세포에 대해 평가하였다 (도 18).

[1087] 단일 작용제로서의 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 및 항-mPD-1을 사용한 처리는 처리 후 제7일 및 제14일에 종양 내

$CD3^+$ 세포의 백분율을 증진시켰다. mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합은 제14일에 $CD3^+$ 세포의 백분율을 추가로 증가시켰다 (도 17A).

[1088] 제7일에 처리군 사이에 $CD4^+$ 세포의 백분율의 차이는 관찰되지 않았다. 대조적으로, $CD4^+$ 세포의 백분율은 제14일에 PBS-처리군과 비교하여 단일 작용제로서의 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 및 항-mPD-1을 사용한 처리에 의해 증가되었고, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합에 의해 훨씬 더 증진되었다 (도 17B).

[1089] $CD8^+$ 세포의 백분율은 제7일 및 제14일 둘 다에서 PBS 군과 비교하여 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB에 의해 증가되었지만, 항-mPD-1에 의해서는 그렇지 않았다. mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합은 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 단독과 비교하여 유사한 수준의 $CD8^+$ 세포를 나타냈으며, 이는 $CD8^+$ 세포의 증가가 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB에 의해 구동되었다는 것을 시사한다 (도 17C).

[1090] 제7일 및/또는 제14일에, 종양내 PD-L1 및 PD-L2 발현은 PBS-처리된 마우스와 비교하여 단일 작용제로서의 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 및 항-mPD-1에 의해 증가되었다. 대조적으로, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합은 이러한 증가를 나타내지 않았는데, 이는 종양내 PD-L1 및 PD-L2의 수준이 PBS-처리된 마우스에서의 수준과 대등하였기 때문이다 (도 17D-E).

[1091] 최종적으로, 4-1BB의 종양 발현은 제7일에 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB에 의해 증가되었다. 대조적으로, 4-1BB의 발현은 제14일에 단일 작용제로서의 항-mPD-1에 의해 및 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합에 의해 감소되었다 (도 17F).

[1092] 해리된 종양 조직에서, 총 종양내 $CD8^+$ T 세포 집단 내의 $GzmB^+$의 백분율은 각각의 단일 작용제와 비교하여 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합에 의해 유의하게 증진된 것으로 밝혀졌으며 (도 18A), 이는 증가된 CD8 T-세포 세포독성을 시사한다. 유사하게, 총 종양-침윤 $CD8^+$ T 세포 집단 내의 $Ki67^+$의 백분율은 각각의 단일 작용제 단독과 비교하여 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합에 의해 증진되었으며, 이는 증가된 CD8 T-세포 증식을 시사한다 (도 18B).

[1093] 종합하면, 이들 결과는 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합이 단일 작용제로서의 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 또는 항-mPD-1을 사용한 치료와 비교하여 종양 면역 콘텍스쳐의 별개이면서 상보적인 조정을 유도한다는 것을 시사한다. 특히, mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-PD1 조합 처리군에서의 증식성 및 세포독성 $CD8^+$ TIL의 보다 큰 빈도는 개선된 항종양 활성과 연관될 가능성이 있는 TIL의 증진된 기능적 및 이펙터 기능을 나타낸다.

[1094] **실시예 13: mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1 항체의 조합으로 처리된 MC38-종양 보유 마우스의 말초 혈액 중 시토카인 분석**

[1095] **목적**: mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB 단독 또는 항-mPD-1 항체와의 조합으로 처리된 MC38-종양 보유 C57BL/6 마우스의 말초 혈액 중 시토카인 수준을 조사하기 위한 것이다.

[1096] **방법**

[1097] 실시예 11에 기재된 실험에서, 혈액 샘플을 하기 시점에 MC38-종양 보유 C57BL/6 마우스로부터 수집하였다: 치료 개시 후 제-1일 (기준선; 제1 용량을 사용한 치료 1일 전), 제2일 (제1 용량의 2일 후) 및 제5일 (제2 용량의 2일 후).

[1098] 메조 퀵플렉스(MESO QuickPlex) SQ 120 기기 (MSD, LLC, R31QQ-3) 상에서 V-플렉스(V-PLEX) 염증유발 패널 1 마우스 키트 (MSD LLC, 카탈로그 번호 K15048D-2) 및 V-플렉스 시토카인 패널 1 마우스 키트 (MSD LLC, 카탈로그 번호 K15245D-2)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 전기화학발광 (ECLIA)에 의해 혈장 샘플 중 시토카인을 분석하였다.

[1099] **결과**

[1100] 단일 작용제로서 mIgG2a-ctrl-AAKR (5 mg/kg) 또는 항-마우스 PD-1 항체 (항-mPD-1; 10 mg/kg)로 처리된 마우스에서는, 제-1일과 비교하여 제2일 또는 제5일에 IFNγ, TNFα, IL-2 및 IP-10의 수준 상의 변화가 전혀 관찰되지 않거나 또는 경미하게 관찰되었다 (도 19). mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)로 처리된 마우스에서는, IFNγ, TNFα, IL-2 및 IP-10의 혈장 수준이 제2일에 증가되었고, 제5일에 추가로 증진되었다. mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)와 항-mPD-1 (10 mg/kg)의 조합으로 처리된 마우스에서는, 각각의 단일 작용제에 비해 제2

일 및/또는 제5일에 IFNγ, TNFα, IL-2 및 IP-10의 수준의 증가가 강화되었다 (도 19). 제5일에, IFNγ, TNFα 및 IP-10의 수준은 mIgG2a-ctrl-AAKR 및 항-PD-1 처리군 둘 다와 비교하여 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합으로 처리된 마우스에서 >3배 더 높았고, TNFα 및 IP-10의 수준은 mbsIgG2-PD-L1x4-1BB 처리군과 비교하여 >1.48배 더 높았다 (표 23).

[1101] 이들 결과는 암 환자에서 항종양 면역 반응을 추가로 증폭시키기 위해 GEN1046과 항-PD-1 항체의 조합을 평가하기 위한 근거를 제공한다.

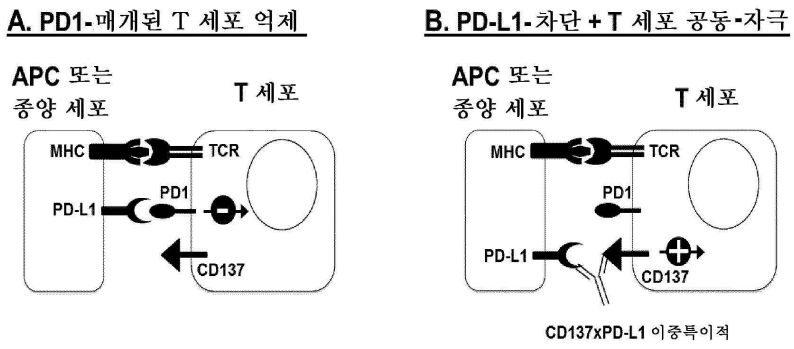
[1102] 표 23. 단일 작용제와 비교하여 mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB와 항-mPD-1의 조합에 반응한 시토카인 수준의 배수 변화

시토카인	비교된 처리군			중앙 배수 변화의 비	
				제2일	제5일
IFNγ	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mIgG2a-ctrl-AAKR	1.77	3.39
IFNγ	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	항-mPD-1	1.93	3.42
IFNγ	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	0.98	0.99
TNFα	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mIgG2a-ctrl-AAKR	3.07	3.56
TNFα	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	항-mPD-1	2.59	3.44
TNFα	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	1.97	1.87
IL-2	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mIgG2a-ctrl-AAKR	2.66	1.85
IL-2	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	항-mPD-1	2.87	2.87
IL-2	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	1.39	1.17
IP-10	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mIgG2a-ctrl-AAKR	3.54	6.41
IP-10	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	항-mPD-1	4.70	4.94
IP-10	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB + 항-mPD-1	vs	mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB	1.41	1.48

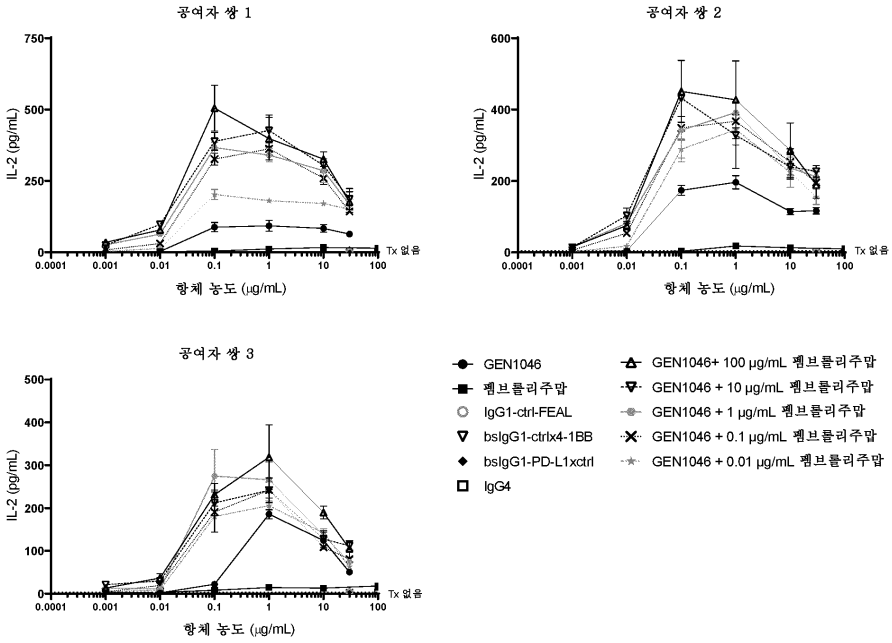
[1103]

도면

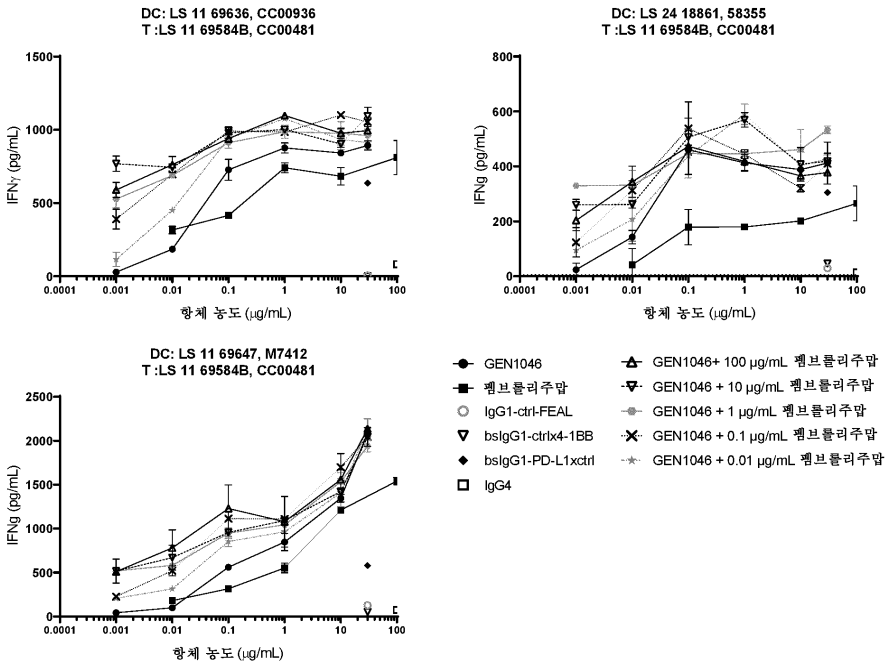
도면1



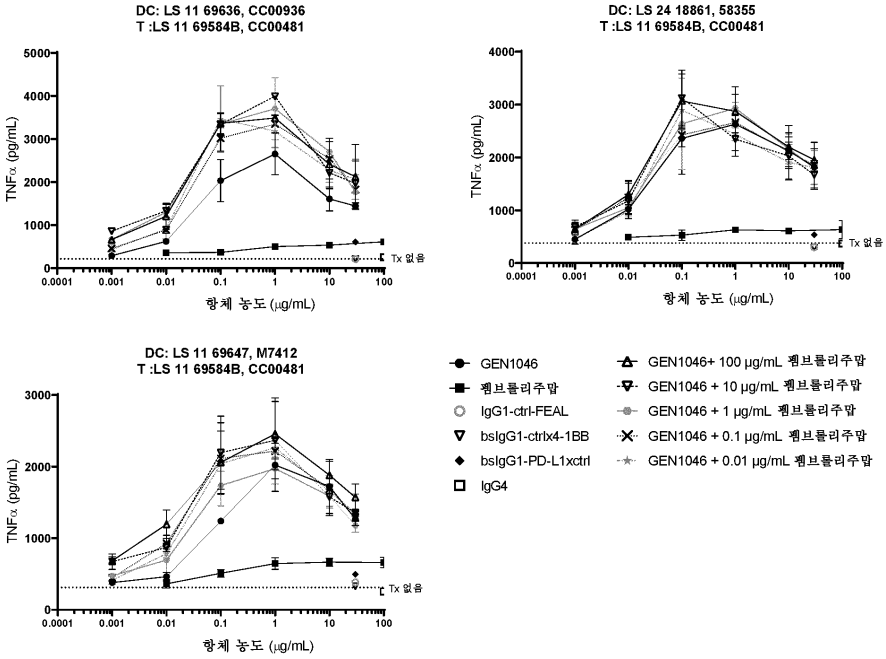
도면2


공여자 쌍 1
공여자 쌍 2
공여자 쌍 3
IL-2 (pg/mL)
항체 농도 (μg/mL)
Tx 없음
GEN1046
펨브롤리주맙
IgG1-ctrl-FEAL
bsIgG1-ctrlx4-1BB
bsIgG1-PD-L1xctrl
IgG4
GEN1046+ 100 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 10 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 1 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 0.1 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 0.01 μg/mL 펨브롤리주맙

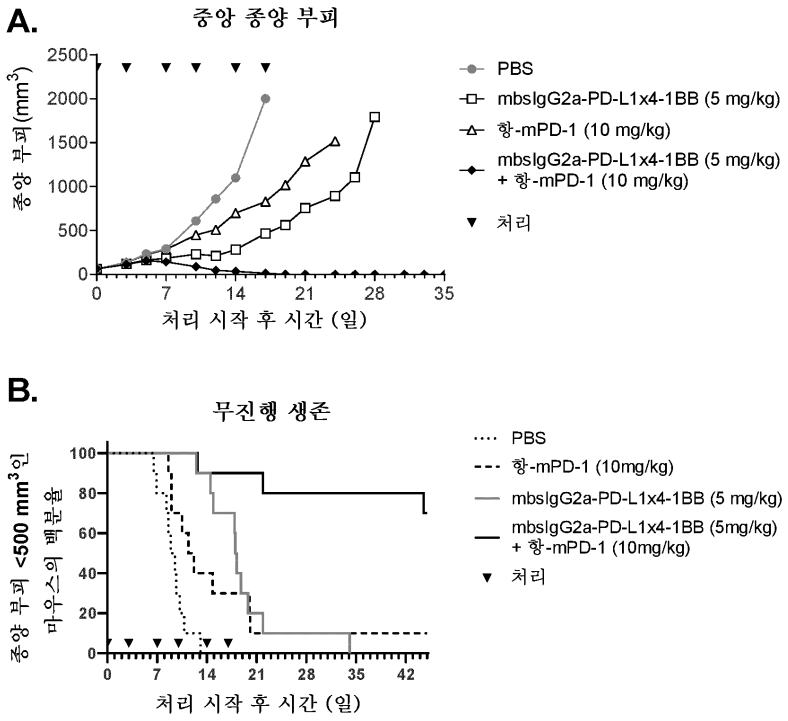
도면3


DC: LS 11 69636, CC00936
T :LS 11 69584B, CC00481
DC: LS 24 18861, 58355
T :LS 11 69584B, CC00481
DC: LS 11 69647, M7412
T :LS 11 69584B, CC00481
IFNγ (pg/mL)
IFNg (pg/mL)
항체 농도 (μg/mL)
GEN1046
펨브롤리주맙
IgG1-ctrl-FEAL
bsIgG1-ctrlx4-1BB
bsIgG1-PD-L1xctrl
IgG4
GEN1046+ 100 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 10 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 1 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 0.1 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 0.01 μg/mL 펨브롤리주맙

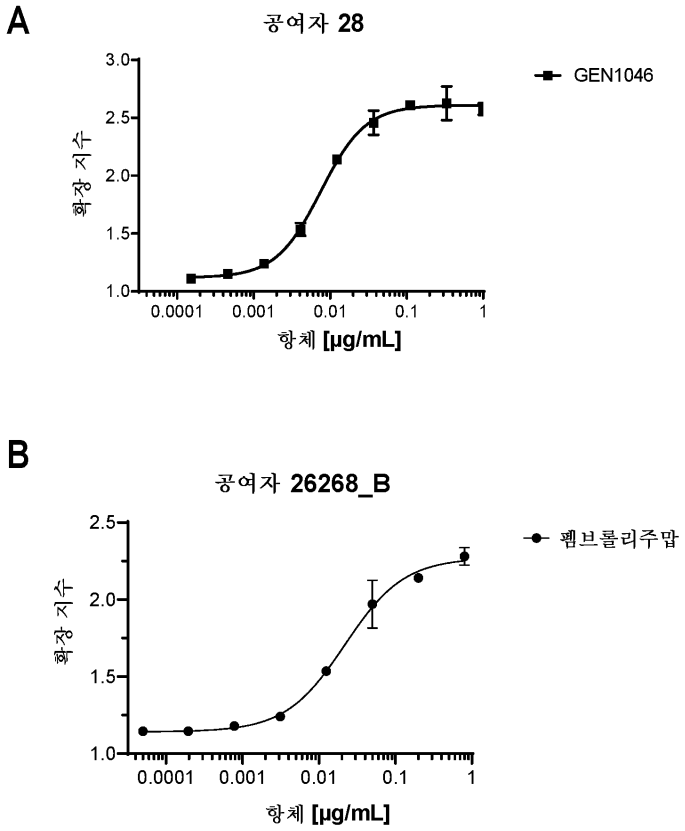
도면4


DC: LS 11 69636, CC00936
T :LS 11 69584B, CC00481
DC: LS 24 18861, 58355
T :LS 11 69584B, CC00481
DC: LS 11 69647, M7412
T :LS 11 69584B, CC00481
TNFα (pg/mL)
항체 농도 (μg/mL)
Tx 없음
GEN1046
펨브롤리주맙
IgG1-ctrl-FEAL
bsIgG1-ctrlx4-1BB
bsIgG1-PD-L1xctrl
IgG4
GEN1046+ 100 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 10 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 1 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 0.1 μg/mL 펨브롤리주맙
GEN1046 + 0.01 μg/mL 펨브롤리주맙

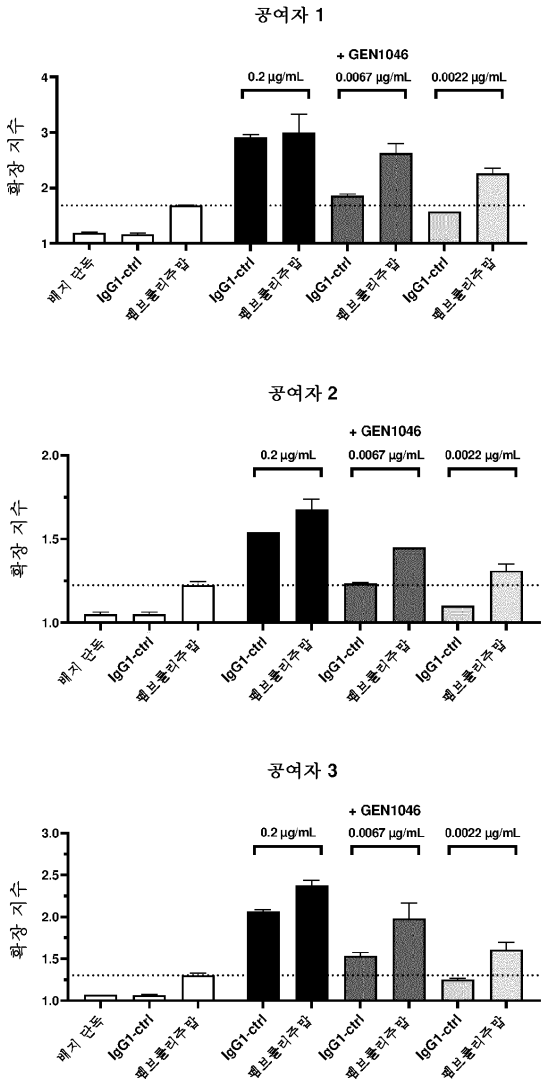
도면5


A.
중앙 종양 부피
종양 부피(mm3)
처리 시작 후 시간 (일)
PBS
mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)
항-mPD-1 (10 mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)
+ 항-mPD-1 (10 mg/kg)
처리
B.
무진행 생존
종양 부피 <500 mm3인
마우스의 백분율
처리 시작 후 시간 (일)
PBS
항-mPD-1 (10mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5 mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1x4-1BB (5mg/kg)
+ 항-mPD-1 (10mg/kg)
처리

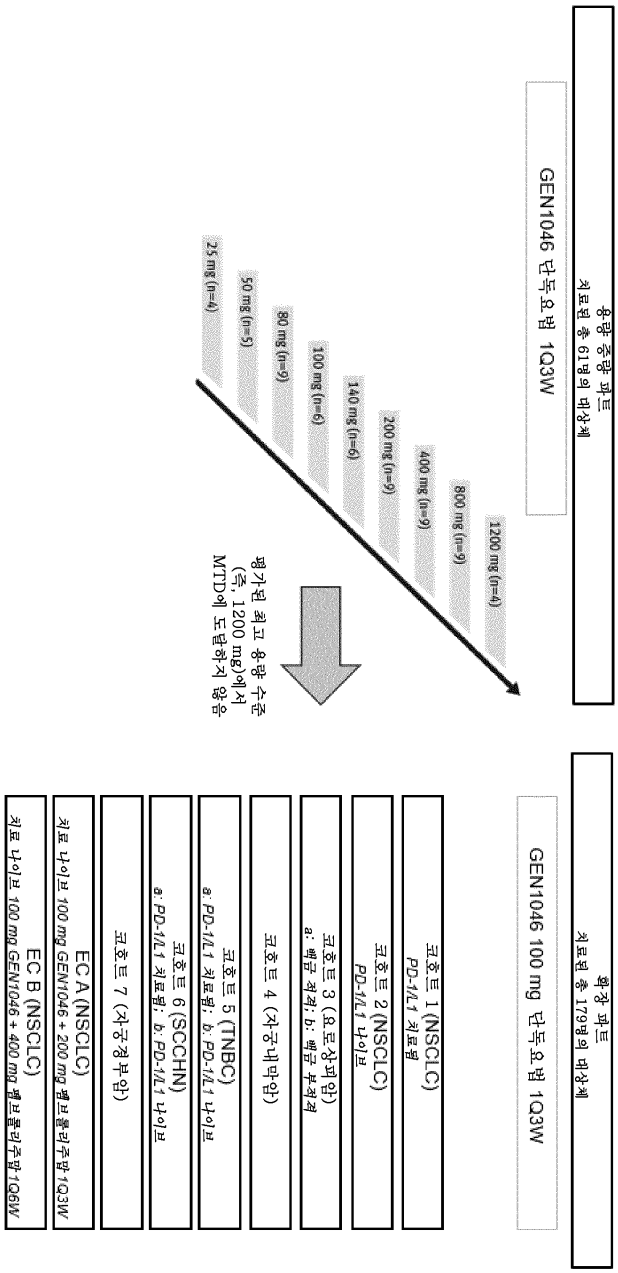
도면6


A
공여자 28
GEN1046
확장 지수
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
항체 [μg/mL]
B
공여자 26268_B
퀘브롤리주맙
확장 지수
2.5
2.0
1.5
1.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
항체 [μg/mL]

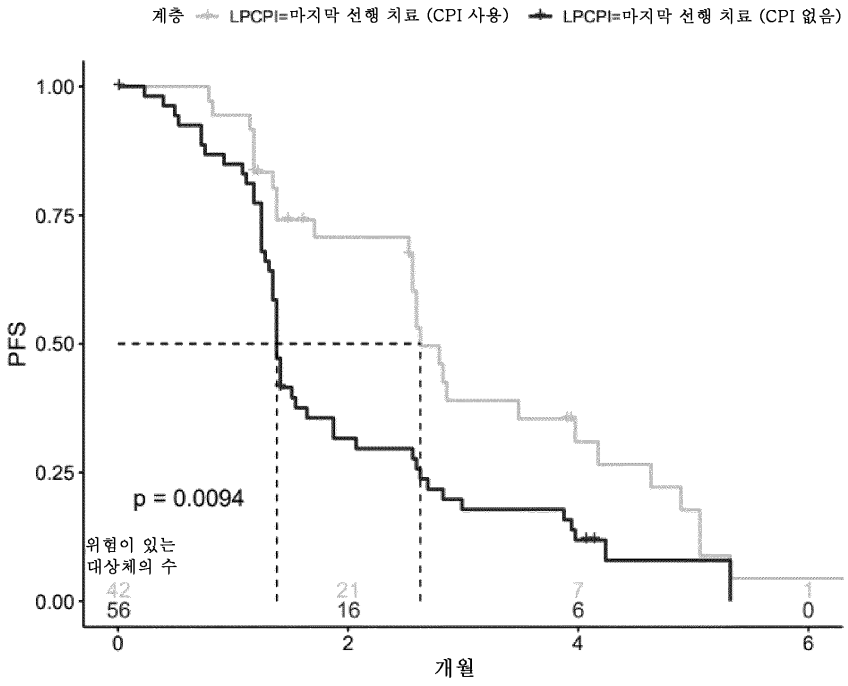
도면7


공여자 1
+ GEN1046
0.2 μg/mL
0.0067 μg/mL
0.0022 μg/mL
확장 지수
4
3
2
1
배지 단독
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
공여자 2
+ GEN1046
0.2 μg/mL
0.0067 μg/mL
0.0022 μg/mL
확장 지수
2.0
1.5
1.0
배지 단독
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
공여자 3
+ GEN1046
0.2 μg/mL
0.0067 μg/mL
0.0022 μg/mL
확장 지수
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
배지 단독
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙
IgG1-ctrl
웹브롤리주맙

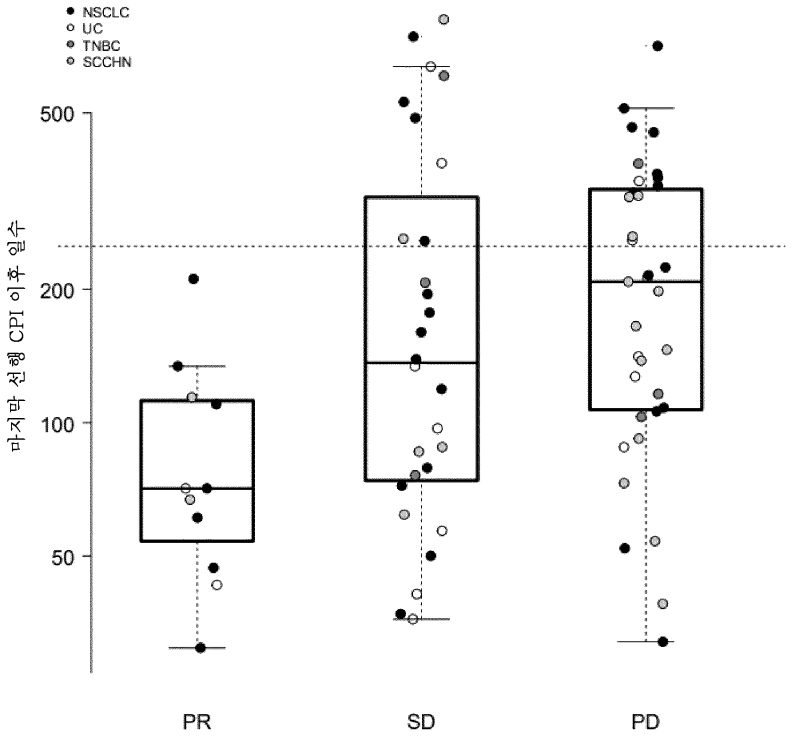
도면8


용량 증량 파트
치료된 총 61명의 대상체
GEN1046 단독요법 1Q3W
1200 mg (n=4)
800 mg (n=9)
400 mg (n=9)
200 mg (n=9)
140 mg (n=6)
100 mg (n=6)
80 mg (n=9)
50 mg (n=5)
25 mg (n=4)
평가된 최고 용량 수준
(즉, 1200 mg)에서
MTD에 도달하지 않음
확장 파트
치료된 총 179명의 대상체
GEN1046 100 mg 단독요법 1Q3W
코호트 1 (NSCLC)
PD-1/L1 치료됨
코호트 2 (NSCLC)
PD-1/L1 나이브
코호트 3 (요로상피암)
a: 백금 적격; b: 백금 부적격
코호트 4 (자궁내막암)
코호트 5 (TNBC)
a: PD-1/L1 치료됨; b: PD-1/L1 나이브
코호트 6 (SCCHN)
a: PD-1/L1 치료됨; b: PD-1/L1 나이브
코호트 7 (자궁경부암)
EC A (NSCLC)
치료 나이브 100 mg GEN1046 + 200 mg 펨브롤리주맙 1Q3W
EC B (NSCLC)
치료 나이브 100 mg GEN1046 + 400 mg 펨브롤리주맙 1Q6W

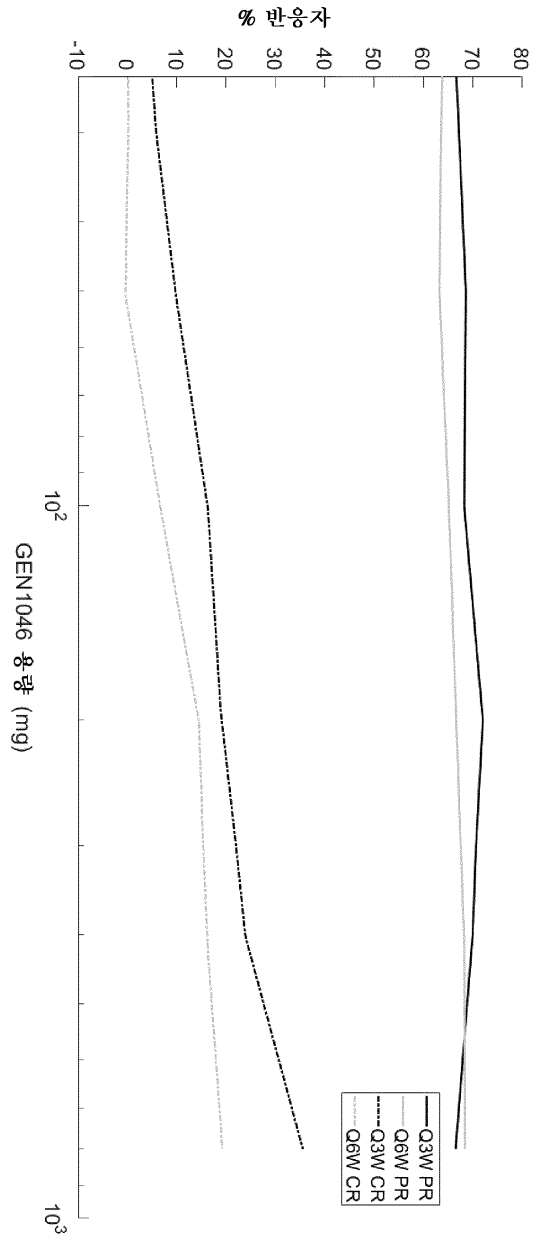
도면9


계층 LPCPI=마지막 선행 치료 (CPI 사용) LPCPI=마지막 선행 치료 (CPI 없음)
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
PFS
p = 0.0094
위험이 있는
대상체의 수
42
56
21
16
7
6
1
0
0
2
4
6
개월

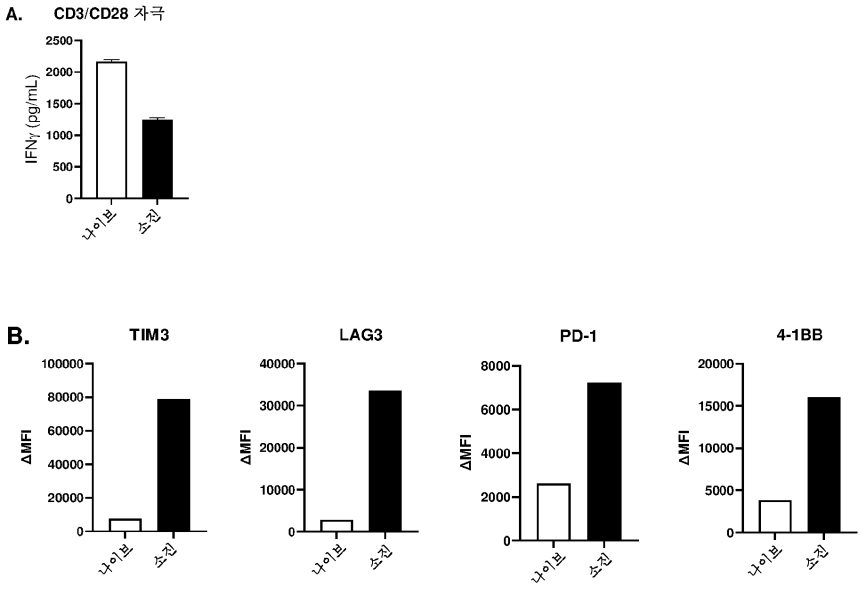
도면10


NSCLC
UC
TNBC
SCCHN
500
200
100
50
마지막 선행 CPI 이후 일수
PR
SD
PD

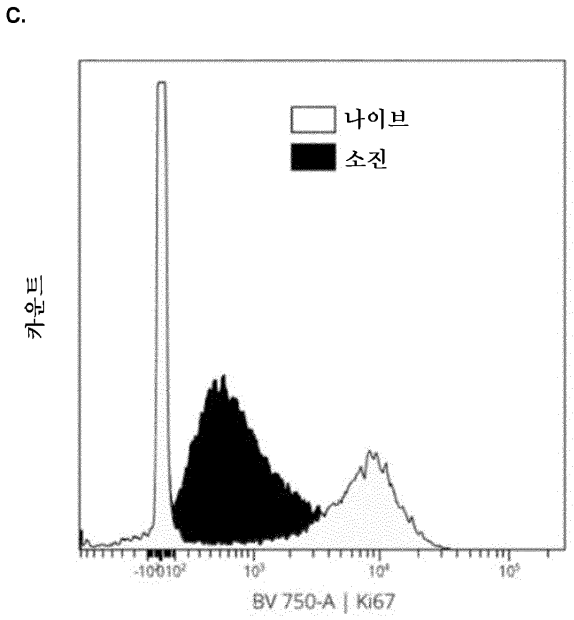
도면11


% 반응자
-10
0
10
20
30
40
50
60
70
80
10^2
10^3
GEN1046 용량 (mg)
Q3W PR
Q6W PR
Q3W CR
Q6W CR

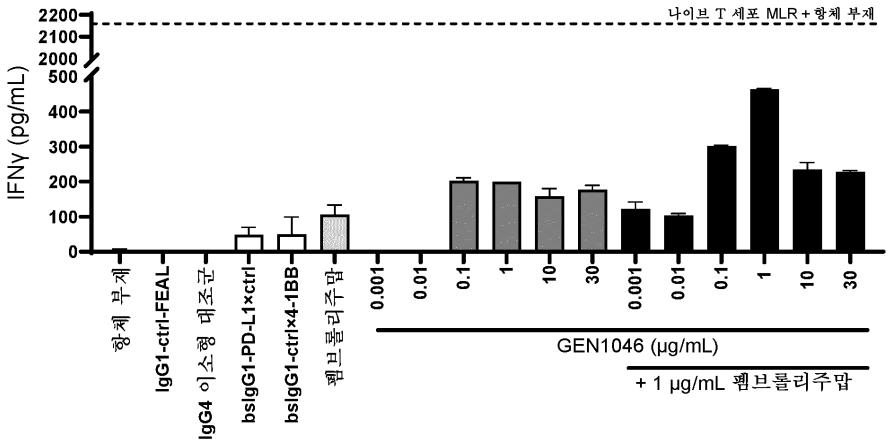
도면12i



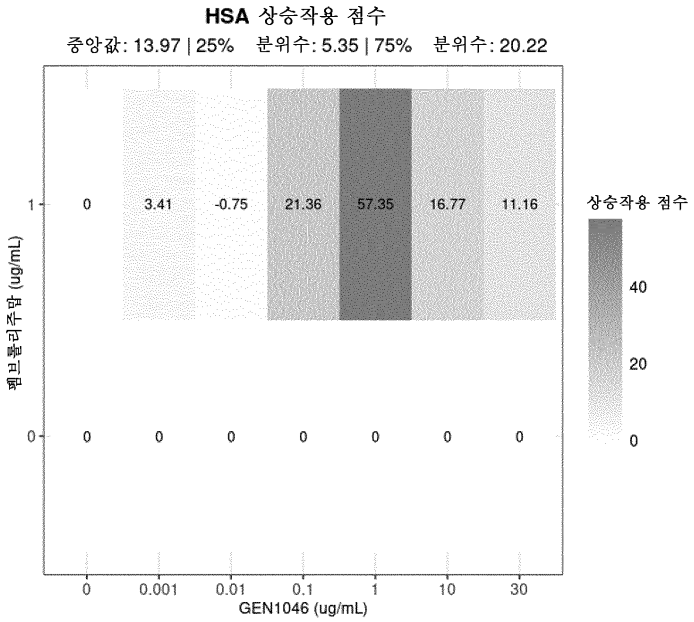
도면12ii



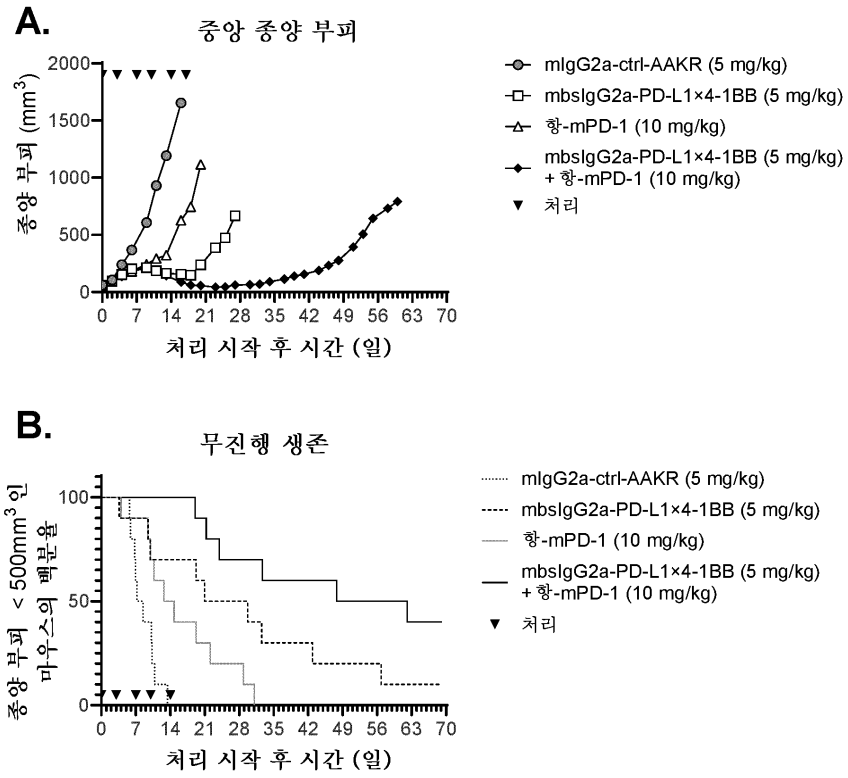
도면13


나이브 T 세포 MLR + 항체 부재
IFNγ (pg/mL)
2200
2100
2000
500
400
300
200
100
0
항체 부재
IgG1-ctrl-FEAL
IgG4 이소형 대조군
bsIgG1-PD-L1×ctrl
bsIgG1-ctrl×4-1BB
펨브롤리주맙
0.001
0.01
0.1
1
10
30
GEN1046 (μg/mL)
+ 1 μg/mL 펨브롤리주맙

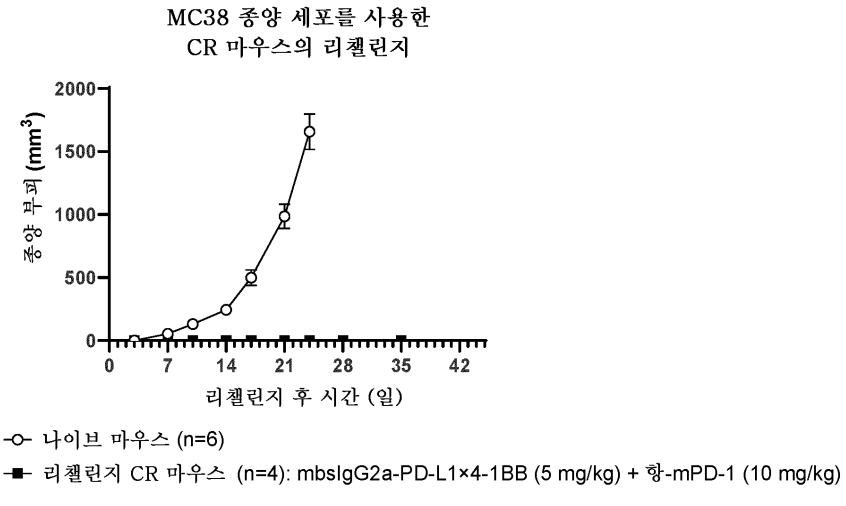
도면14


HSA 상승작용 점수
중앙값: 13.97 | 25% 분위수: 5.35 | 75% 분위수: 20.22
펨브롤리주맙 (ug/mL)
1
0
0 3.41 -0.75 21.36 57.35 16.77 11.16
0 0 0 0 0 0 0
상승작용 점수
40
20
0
0 0.001 0.01 0.1 1 10 30
GEN1046 (ug/mL)

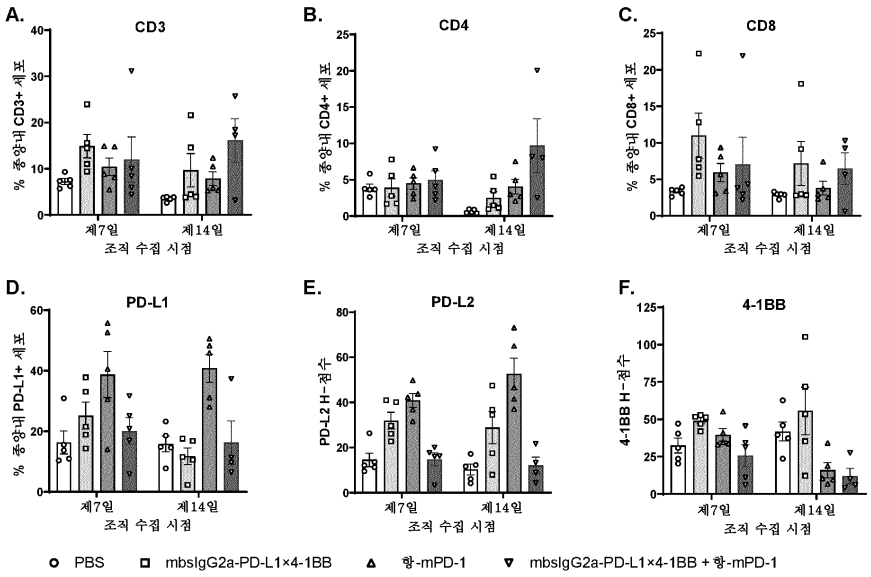
도면15


A.
중앙 종양 부피
종양 부피 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70
처리 시작 후 시간 (일)
mIgG2a-ctrl-AAKR (5 mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB (5 mg/kg)
항-mPD-1 (10 mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB (5 mg/kg) + 항-mPD-1 (10 mg/kg)
처리
B.
무진행 생존
종양 부피 < 500mm3 인 마우스의 백분율
100
50
0
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70
처리 시작 후 시간 (일)
mIgG2a-ctrl-AAKR (5 mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB (5 mg/kg)
항-mPD-1 (10 mg/kg)
mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB (5 mg/kg) + 항-mPD-1 (10 mg/kg)
처리

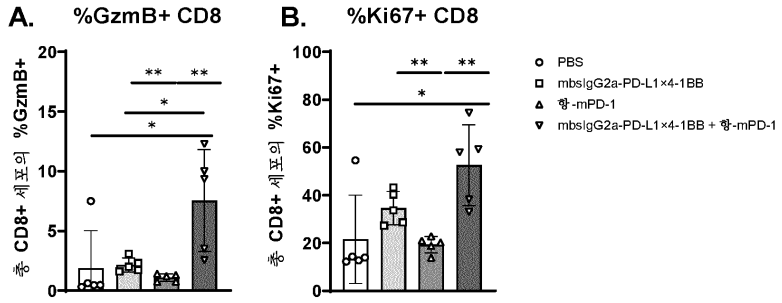
도면16


MC38 종양 세포를 사용한
CR 마우스의 리챌린지
종양 부피 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0 7 14 21 28 35 42
리챌린지 후 시간 (일)
나이브 마우스 (n=6)
리챌린지 CR 마우스 (n=4): mbsIgG2a-PD-L1×4-1BB (5 mg/kg) + 항-mPD-1 (10 mg/kg)

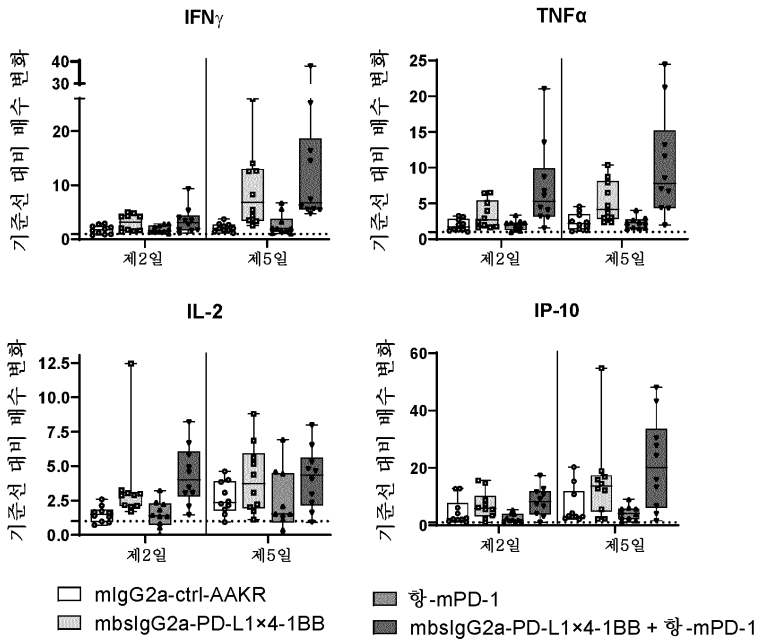
도면17



도면18



도면19



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.