



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월08일

(11) 등록번호 10-2360693

(24) 등록일자 2022년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 39/3955 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7003488
(22) 출원일자(국제) 2015년05월29일
심사청구일자 2020년05월28일
(85) 번역문제출일자 2017년02월08일
(65) 공개번호 10-2017-0032350
(43) 공개일자 2017년03월22일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/033395
(87) 국제공개번호 WO 2016/007235
국제공개일자 2016년01월14일
(30) 우선권주장
62/023,741 2014년07월11일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20130309250 A1
WO2014100079 A1
Clin Cancer Res. 2013 Mar 1; 19(5):
1021-1034.

(73) 특허권자
벤틀나 메디컬 시스템즈, 인코포레이티드
미국, 애리조나주 85755, 투손, 1910 이스트 이
노베이션 파크 드라이브
(72) 발명자
리아오, 지밍
미국 94588 캘리포니아주 플레젠티 하시엔다 드라
이브 4300
코와네츠, 마르신
미국 94080-4990 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스
코 디엔에이 웨이 1
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 35 항

심사관 : 박정민

(54) 발명의 명칭 **항-PD-L1 항체 및 이의 진단 용도**

(57) 요약

본 발명은 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1) 항체 및 이를 사용하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
C07K 14/70532 (2013.01)
G01N 33/57484 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/54 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2319/30 (2013.01)

(72) 발명자

보이드, 자차리

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

코에펜, 하르트무트

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

주, 이페이

미국 95131 캘리포니아주 새너제이 맥스웰 웨이 1408

로체, 패트릭, 씨.

미국 85718 애리조나주 투손 이. 칼레 마리포사 931

벤나푸사, 바라티

미국 85737 애리조나주 투손 엔. 구아바 드라이브 10871

명세서

청구범위

청구항 1

PD-L1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체이며,

하기 초가변 영역 (HVR):

- (a) SNGLT (서열 번호: 2)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1,
 - (b) TINKDASAYYASWAKG (서열 번호: 3)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2,
 - (c) IAFKTGTISI (서열 번호: 4)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3,
 - (d) QASESVSYNNYLS (서열 번호: 9)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1,
 - (e) LASTLAS (서열 번호: 10)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및
 - (f) IGGKSSSTDGNA (서열 번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3
- 을 포함하는 단리된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서,

하기 중쇄 가변 도메인 프레임워크 영역 (FR):

- (a) QSLEESGGRLVKPDETLTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1,
- (b) WVRQAPGEGLEWIG (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2,
- (c) RLTISKPSSTKVLDKITSPTTEDTATYFCGR (서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3, 및
- (d) WPGTLVTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4, 또는

하기 경쇄 가변 도메인 FR:

- (e) AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINC (서열 번호: 12)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L1,
- (f) WFQQKPGQPPLLIY (서열 번호: 13)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L2,
- (g) GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYC (서열 번호: 14)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L3, 및
- (h) FGGGTEVVVR (서열 번호: 15)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L4

을 추가로 포함하는 항체.

청구항 3

제1항에 있어서,

서열 번호: 16의 VH 서열 및

서열 번호: 17의 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 4

제1항에 있어서, 단클론성 항체인 항체.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 단클론성 항체가 래빗 단클론성 항체인 항체.

청구항 6

제1항에 있어서, IgG 항체인 항체.

청구항 7

제1항에 있어서, PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 단편인 항체.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 항체 단편이 Fab, 단일 쇠 가변 단편 (scFv), Fv, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂ 및 디아바디로부터 선택되는 것인 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 단리된 항체를 암호화하는 단리된 핵산.

청구항 10

제9항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 11

제10항의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 면역곤주게이트.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 생물학적 샘플 내 PD-L1의 존재 또는 발현 수준 검출에 사용하기 위한 항체.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 검출이 면역조직화학 (IHC), 면역형광 (IF), 유동 세포측정, 효소-결합 면역흡착 검정법 (ELISA) 또는 면역블롯팅에 의한 것인 항체.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 샘플이 고정 조직을 포함하는 것인 항체.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 고정 조직이 포르말린-고정 파라핀-포매 (FFPE) 조직인 항체.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 샘플이 암 또는 면역 기능이상을 갖거나, 또는 이의 위험에 처한 대상체로부터 유래한 것인 항체.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 면역 기능이상이 T-세포 기능이상 장애인 항체.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 T-세포 기능이상 장애가 미해결 급성 감염, 만성 감염, 또는 종양 면역성(tumor immunity)인 항체.

청구항 20

대상체로부터의 샘플 내 PD-L1의 존재 또는 발현 수준에 대한 정보를 제공하는 방법이며,
제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체와 상기 샘플을 접촉시키는 단계, 및
결합된 항체의 존재를 검출하는 단계
를 포함하는 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 샘플이 종양 샘플인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 종양 샘플이 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포 또는 이의 조합을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 종양 샘플이, 영역 기준으로 종양 샘플의 1% 이상, 5% 이상 또는 10% 이상을 포함하는, 종양-침윤 면역 세포 내 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는 것인 방법.

청구항 24

제22항에 있어서, 상기 종양 샘플이, 종양 샘플 내 종양 세포의 1% 이상, 5% 이상, 10% 이상 또는 50% 이상의, PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는 것인 방법.

청구항 25

제20항에 있어서, 상기 검출이 IHC, IF, 유동 세포측정, ELISA 또는 면역블롯팅에 의한 것인 방법.

청구항 26

제20항에 있어서, 상기 샘플이 고정 조직을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 고정 조직이 FFPE 조직인 방법.

청구항 28

제20항에 있어서, 상기 샘플이 암 또는 면역 기능이상을 갖거나, 또는 이의 위험에 처한 대상체로부터 유래한 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 면역 기능 이상이 T-세포 기능이상 장애인 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 T-세포 기능이상 장애가 미해결 급성 감염, 만성 감염 또는 종양 면역성인 방법.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 샘플이 암을 갖는 대상체로부터 유래한 것인 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 암이 비-소 세포 폐암, 편평상피 세포 암, 소-세포 폐암, 복막의 암, 간세포암, 위장암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포종, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막암종 또는 자궁암종, 침샘암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병 또는 두경부암인 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 암이 비-소 세포 폐암 (NSCLC)인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 NSCLC가 폐의 선암종 또는 폐의 편평상피 암종인 방법.

청구항 35

제20항에 있어서, 상기 대상체가 인간인 방법.

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2014년 7월 11일 출원된 미국 가출원 번호 62/023,741의 출원일의 우선권을 주장하고, 이의 개시내용은 본원에서 그 전체가 참조로 편입된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 항-프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1) 항체 및 이의 이용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1)은 만성 감염, 임신, 조직 동종이식, 자가면역 질환, 및 암 동안에 면역계 반응의 억제에서 관련되는 단백질이다. PD-L1은, T-세포, B-세포, 및 단핵 세포의 표면상에서 발현되는, 프로그램된 사멸 1 (PD-1)로서 공지된, 억제성 수용체에 결합에 의해 면역 반응을 조절한다. PD-L1은 또 다른 수용체, B7.1 (또한 B7-1 또는 CD80으로서 공지됨)과 또한 상호작용을 통해 T-세포 작용을 음성으로 조절한다. PD-L1/PD-1 및 PD-L1/B7.1 복합체의 형성은 T-세포 수용체 신호화를 음성으로 조절하여, T 세포 활성화의 후속 하향조절 및 항-종양 면역성 활성화의 억제를 초래한다. PD-L1은, 광범위의 고형 종양, 예컨대 방광, 유방, 결장, 폐, 흑색종, 난소, 침샘, 위, 및 갑상선 종양을 포함하여, 많은 암에서 과잉발현된다. 종양 세포에서 PD-L1 과잉발현은 종양 침습을 증진시킬 수 있고 종종 불리한 예후와 관련된다.

[0006] 암 발달 및 면역계 조절에서 PD-L1의 역할이 제공되면, PD-L1의 존재를 검출하기 위한, 예를 들어 진단 및/또는 환자 선택을 위한 추가의 도구가 요망된다.

[0007] 요약

[0008] 본 발명은 항-프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1) 항체 및 이의 이용 방법에 관한 것이다.

[0009] 일 양태에서, 본 발명은 PD-L1에 특이적으로 결합하는, 단리된 항체를 특징으로 하며, 여기서 상기 항체는 인간 PD-L1 폴리펩티드 (서열 번호: 1)의 아미노산 잔기 279-290을 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 하기 추가변 영역 (HVR)을 포함한다: (a) SNGLT (서열 번호: 2)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) TINKDASAYYASWAKG (서열 번호: 3)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) IAFKTGTSI (서열 번호: 4)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3. 일부 구현예에서, 항체는 하기 중쇄 가변 도메인 프레임워크 영역 (FR)을 추가로 포함한다: (a) QSLEESGGRLVKPDETLTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1; (b) QSLEESGGRLVKPDETLTITCTVSGIDLS (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2; (c) RLTIKSPSSTKVDLKITSPTEDTATYFCGR (서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3; 및 (d) WGPGLTVTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4. 일부 구현예에서, 항체는 하기 HVR 을 추가로 포함한다: (a) QASESVYSNNYLS (서열 번호: 9)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) LASTLAS (서열 번호: 10)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) IGGKSSSTDGNA (서열 번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3. 일부 구현예에서, 항체는 하기 경쇄 가변 도메인 FR 을 추가로 포함한다: (a) AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINC (서열 번호: 12)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L1; (b) WFQKPGQPPKLLIY (서열 번호: 13)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L2; (c) GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYC (서열 번호: 14)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L3; 및 (d) FGGGTEVVVR (서열 번호: 15)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L4. 일부 구현예에서, 항체는 하기를 포함한다: (a) 서열 번호: 16의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열 번호: 17의 아미노산 서열에 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는, (c) (a)에서와 같은 VH 서열 및 (b)에서와 같은 VL 서열. 일부 구현예에서, 항체는 서열 번호: 16의 VH 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 서열 번호: 17의 VL 서열을 포함한다.

[0010] 다른 구현예에서, 항체는 하기 HVR 을 포함한다: (a) QASESVYSNNYLS (서열 번호: 9)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) LASTLAS (서열 번호: 10)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) IGGKSSSTDGNA (서열 번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3. 일부 구현예에서, 항체는 하기 경쇄 가변 도메인 FR 을 추가로 포함한다: (a) AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINC (서열 번호: 12)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L1; (b) WFQKPGQPPKLLIY (서열 번호: 13)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L2; (c) GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYC (서열 번호: 14)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L3; 및 (d) FGGGTEVVVR (서열 번호: 15)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L4.

[0011] 또 다른 양태에서, 본 발명은 PD-L1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 특징으로 하며, 여기서 상기 항체는 하기 HVR 를 포함한다: (a) SNGLT (서열 번호: 2)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) TINKDASAYYASWAKG (서열 번호: 3)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) IAFKTGTSI (서열 번호: 4)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) QASESVYSNNYLS (서열 번호: 9)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) LASTLAS (서열 번호: 10)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) IGGKSSSTDGNA (서열 번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3. 일부 구현예에서, 항체는 하기 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인 FR 을 추가로 포함한다: (a)

QSLSESGRLVKPDETLTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1; (b) QSLSESGRLVKPDETLTITCTVSGIDLS (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2; (c) RLTISKPSSTKVDLKITSPTTEDTATYFCGR(서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3; (d) WPGTLVTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4; (e) AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINC (서열 번호: 12)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L1; (f) WFQKPGQPPKLLIY (서열 번호: 13)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L2; (g) GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYC (서열 번호: 14)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L3; 및 (h) FGGGTEVVVR (서열 번호: 15)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L4. 일부 구현예에서, 항체는 서열 번호: 16의 VH 및 서열 번호: 17의 VL 서열을 포함한다.

- [0012] 또 다른 양태에서, 본 발명은 PD-L1 로의 결합에 대해 선행 항체 중 임의의 하나와 경쟁하는 단리된 항체를 특징으로 한다.
- [0013] 또 다른 양태에서, 본 발명은 선행 항체 중 임의의 하나와 상동한 에피토프에 결합하는 단리된 항체를 특징으로 한다.
- [0014] 일부 구현예에서, 선행 항체 중 임의의 것은 단클론성 항체일 수 있다. 일부 구현예에서, 단클론성 항체는 래빗 단클론성 항체일 수 있다.
- [0015] 일부 구현예에서, 선행 항체 중 임의의 것은 IgG 항체 (예컨대, IgG1 항체)일 수 있다.
- [0016] 일부 구현예에서, 선행 항체 중 임의의 것은 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 단편은 Fab, 단일쇄 가변 단편 (scFv), Fv, Fab', Fab' -SH, F(ab')₂, 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0017] 또 다른 양태에서, 본 발명은 선행 항체 중 임의의 하나를 포함하는, 면역곤주게이트를 특징으로 한다.
- [0018] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 임의의 항체를 암호화하는 단리된 핵산을 특징으로 한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 항체를 발현하는 핵산을 포함하는, 벡터 (예컨대, 발현 벡터)를 특징으로 한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 선행 핵산 및/또는 벡터를 포함하는, 숙주 세포를 특징으로 한다.
- [0019] 일부 양태에서, 선행 항체 중 임의의 것은 생물학적 샘플 내 PD-L1의 존재 또는 발현 수준의 검출용일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 검출은 면역조직화학 (IHC), 면역형광 (IF), 유동 세포측정, ELISA, 또는 면역블롯에 의한 것이다. 일부 구현예에서, 상기 검출은 IHC에 의한 것이다. 일부 구현예에서, 샘플은 고정된 조직을 포함한다. 일부 구현예에서, 고정된 조직은 포르말린-고정 파라핀-포매 (FFPE) 조직이다. 일부 구현예에서, 샘플은 암 또는 면역 기능 이상을 갖거나, 또는 그 위험에 처한 대상체로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 면역 기능 이상은 T-세포 기능 이상 장애이다. 일부 구현예에서, T-세포 기능 이상 장애는 미해결 급성 감염, 만성 감염, 또는 종양 면역성(tumor immunity)이다.
- [0020] 본 발명의 추가 양태는 하기이다: 선행 항체 중 임의의 것과 생물학적 샘플의 접촉 단계 및 결합된 항체의 존재의 검출 단계를 포함하는, 생물학적 샘플 내 PD-L1의 존재 또는 발현 수준의 검출 방법. 일부 구현예에서, 검출은 IHC, IF, 유동 세포측정, ELISA, 또는 면역블롯에 의한 것이다. 일부 구현예에서, 상기 검출은 IHC에 의한 것이다. 일부 구현예에서, 샘플은 고정된 조직을 포함한다. 일부 구현예에서, 고정된 조직은 FFPE 조직이다. 일부 구현예에서, 샘플은 암 또는 면역 기능 이상을 갖거나, 또는 그 위험에 처한 대상체로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 면역 기능 이상은 T-세포 기능 이상 장애이다. 일부 구현예에서, T-세포 기능 이상 장애는 미해결 급성 감염, 만성 감염, 또는 종양 면역성(tumor immunity)이다. 일부 구현예에서, 샘플은 암을 갖는 대상체로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 샘플에서의 PD-L1의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 항암 요법을 이용한 치료에 반응할 가능성이 크다는 것을 표지한다. 일부 구현예에서, 샘플에서의 PD-L1의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 항암 요법을 이용한 치료에 반응할 가능성이 보다 크다는 것을 표지한다. 일부 구현예에서, 샘플에서의 PD-L1의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 항암 요법을 이용한 치료로부터 이점을 얻을 공산을 표지한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 샘플에서 PD-L1의 존재 또는 발현 수준에 기반하여, 대상체에 대해 항암 요법을 선택하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 대상체에 항암 요법의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 비-소 세포 폐암, 편평상피 세포암, 소-세포 폐암, 복막의 암, 간세포암, 위장암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포종, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막암 또는 자궁암, 침샘암, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병, 및 두경부암. 일부 구현예에서, 암은 비-소세포 폐암(NSCLC)이다. 일부 구현예에서, NSCLC 는 폐의 선암종 또는 폐의 편평상피암종이다. 일부 구현예에서, 샘플은 종양 샘플이다. 일부 구현예에서,

종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 영역 기준으로 상기 종양 샘플의 약 1% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 영역 기준으로 상기 종양 샘플의 약 5% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 영역 기준으로 상기 종양 샘플의 약 10% 이상을 포함하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 1% 이상으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 5% 이상으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 10% 이상으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 갖는다. 일부 구현예에서, 항암 요법은 PD-1 축 결합 길항제를 포함한다. 일부 구현예에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제, 및 PD-L2 결합 길항제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대의 하나 이상으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 모두으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 로 구성된 군으로부터 선택된다: YW243.55.S70, MPDL3280A (아테졸리주맵), MDX-1105, MEDI4736 (두르발루맵), 및 MSB0010718C (아벨루맵). 일부 구현예에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대의 하나 이상으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 모두으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 로 구성된 군으로부터 선택된다: MDX 1106 (니볼루맵), MK-3475 (팍블리루맵), CT-011 (피딜리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 및 BGB-108. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 일부 구현예에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제, 및 이들의 조합. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다.

도면의 간단한 설명

[0021]

출원 파일은 칼라로 나타낸 하나 이상의 도면을 함유한다. 칼라 도면(들)을 갖는 상기 특허 또는 특허 출원의 카피물은 요구시 및 필요한 비용의 납부시 청에 의해 제공될 것이다.

도 1은 SP142 항-PD-L1 항체에 대한, 일반적인 항체 생산 공정을 나타내는 모식도이다.

도 2A 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, 앵프티 벡터 (음성 대조군)으로 형질감염된 포르말린-고정, 파라핀-포매 (FFPE) HEK-293 세포 상에서의 면역조직화학 (IHC)의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 2B 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE DOR-13 세포 (배지 발현에 대해 낮음) 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 2C 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 결장 암종 RKO (배지 발현) 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 2D 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, 전장 인간 PD-L1 (높은 발현)으로 형질감염된 FFPE HEK-293 세포 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 3A 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 3B 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 편도 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 3C 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 호지킨 (HK) 림프종 환자 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 4는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, 하기로부터 유래된 세포 용해물 내의 PD-L1 발현을 나타내는 웨스턴 블롯이다: FFPE NIH H820 폐 선암종 세포주 (고 발현), 카르파스 299 T 세포 림프종 세포주 (중간 발현), 및 Calu-3 폐 선암종 세포주 (음성 대조군).

도 5A 는 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5B 는 0.44 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5C 는 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5D 는 7.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5E 는 28.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5F 는 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5G 는 0.44 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5H 는 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5I 는 7.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 5J 는 28.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 태반 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6A 는 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6B 는 0.44 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6C 는 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6D 는 7.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6E 는 28.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6F 는 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6G 는 0.44 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6H 는 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6I 는 7.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6J 는 28.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6K 는 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6L 는 0.44 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6M 는 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6N 는 7.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6O 는 28.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6P 는 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6Q 는 0.44 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6R 는 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6S 는 7.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 6T 는 28.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 신경 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7A 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7B 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 신장 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7C 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 방광 이행 세포 암종 (TCC) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7D 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 유방 유관 암종 (Ca) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7E 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 폐 편평상피 세포 암종 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7F 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 위 상피 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7G 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 신장 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7H 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 방광 이행 세포 암종 (TCC) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7I 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 유방 유관 암종 (Ca) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 7J 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 폐 편평상피 세포 암종 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8A 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 편도 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8B 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 자궁경부 편평상피 세포 암종 (SCC) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8C 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 호지킨 림프종 (HK) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8D 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 채장 선암종 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8E 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE 전립선 선암종 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8F 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, FFPE IHC SCC 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8G 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 편도 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8H 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 자궁경부 편평상피 세포 암종 (SCC) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8I 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 호지킨 림프종 (HK) 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8J 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 채장 선암종 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8K 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE 전립선 선암종 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 8L 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, FFPE IHC SCC 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9A 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9B 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9C 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9D 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9E 는 항-PD-L1 항체 E1L3N 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9F 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9G 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9H 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9I 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 9J 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다.

도 10 은 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다. 상기 이미지는 종양 간질 내의 응집물로서 존재하는, PD-L1-양성 종양-침윤 면역 세포 (IC, 암갈색 염색)을 나타낸다. 상기 조직 절편은 헤마톡실린 (청색)으로 대비-염색되었다.

도 11 은 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타내는 이미지이다. 상기 이미지는 PD-L1-양성 종양 세포 (TC) 염색을 나타낸다. PD-L1 신호는 암갈색으로 나타난다.

상기 조직 절편은 헤마톡실린 (청색)으로 대비-염색되었다.

도 12A 는 H&E 염색된 NSCLC 종양 절개 시료 내의 간질 영역 및 종양 영역을 나타내는 이미지이다. 화살표는 종양주변 간질, 종양 세포 매쓰, 및 종양내 간질을 표지한다. 흑색 선은 종양 영역의 모서리를 개괄한다. 이미지는 보다 높은 배율로 수행되었다.

도 12B-12C 는 NSCLC 종양 절개 시료의 종양 영역을 나타내는 이미지이다. 종양 시료의 일련의 절편은 H&E (도 12B) 에 의하여, 또는 SP142 항체를 사용한 PD-L1 IHC (도 12C) 에 의하여 염색되었다. 도 12C 내의 PD-L1 신호는 암갈색으로 나타난다. 청색 선은 종양 영역을 개괄한다 (참고: 실시예 5). 이러한 이미지는 도 12A에서 나타난 상동한 시료에 상응하나, 보다 낮은 배율에서 수행된다.

도 13은 PD-L1-양성 종양-침윤 면역 세포 (IC%) 에 의하여 망라된 종양 영역의 백분율을 측정하기 위한 예시적 작업흐름을 나타내는 도식이다. 이러한 예시에서, IC% 는 가시적으로 10%가 될 것으로 추산된다.

도 14A-14B 는 PD-L1-양성 IC 응집물 염색 패턴으로의 PD-L1 IHC 를 위한 예시적 스코어링 방법을 나타낸다. 도 14A 는, PD-L1-양성 IC 응집물 (암갈색 신호) 이 가능한 한 가깝게 가시적으로 에워싸여 각 PD-L1-양성 IC 응집물의 개괄선 (청색 개괄선)을 생성하는 것을 나타낸다. 이러한 영역은 조합되고, 종양 영역의 백분율로서의 조합된 영역이 추산된다 (도 14B). 도 14B 에서, 종양 영역은 1/10 (박스)로 나뉘지고, 도 14A로부터의 PD-L1-양성 IC 응집물의 개괄선이 조합된다. 상기 개괄선은 상기 박스 중 하나를 채우고, 따라서, 이러한 예시에서, PD-L1-양성 IC 에 의하여 망라된 종양 영역의 백분율은 10%가 될 것으로 추산된다. 상기 이미지는, 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타낸다.

도 15A-15B 는 단일 세포 확산 PD-L1-양성 IC 염색 패턴을 갖는 이미지를 나타낸다. 이러한 예시에서, 상기 이미지는 참조 이미지와의 비교에 의하여 단일 세포 확산의 밀도를 기준으로 스코어링되었다 (참고: 예를 들어, 도 16). 도 15A 는 단일 세포 확산 PD-L1-양성 IC 에 대한 세포 밀도가 1%인, 이미지를 나타낸다. 도 15B 는 단일 세포 확산 PD-L1-양성 IC 에 대한 세포 밀도가 5%인, 이미지를 나타낸다. 상기 이미지는, 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타낸다.

도 16A-16H 는 표지된 PD-L1 IC 발현 컷오프에서의 단일 세포 확산 PD-L1-양성 IC 염색 패턴에 대한 예시적인 참조 이미지를 나타낸다. 상기 이미지는, 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타낸다. 도 16A-16B 는 PD-L1-양성 IC%가 1% 미만인 이미지를 나타낸다. 도 16C-16D 는 PD-L1-양성 IC%가 1% 이상 내지 5% 미만인 이미지를 나타낸다. 도 16E-16F 는 PD-L1-양성 IC%가 5% 이상 내지 10% 미만인 이미지를 나타낸다. 도 16G-16H 는 PD-L1-양성 IC%가 10% 이상인 이미지를 나타낸다.

도 17a 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, IHC에 대해 처리되거나 H&E-염색된, NSCLC 환자 유래의 일련의 FFPE 조직 절편의 이미지를 나타낸다 (최하부). 이러한 예시에서, H&E-염색된 절편 내에서 종양내 IC 는 검출되지 않았고, 강한 TC PD-L1 염색이 IHC에 의하여 검출되었다. IC 는 간질 내에서 스코어링되었다 (화살표).

도 17b 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, IHC에 대해 처리되거나 H&E-염색된, NSCLC 환자 유래의 일련의 FFPE 조직 절편의 이미지를 나타낸다 (최하부). 이러한 예시에서, H&E-염색된 절편 내에서 종양내 IC 가 검출되었고, 약한 정도 내지 중간 정도의 TC PD-L1 염색이 IHC에 의하여 검출되었다. IC 는 간질 및 종양 세포군 둘 모두에서 스코어링되었다 (화살표).

도 17c 는 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, IHC에 대해 처리되거나 H&E-염색된, NSCLC 환자 유래의 일련의 FFPE 조직 절편의 이미지를 나타낸다 (최하부). 이러한 예시에서, H&E-염색된 절편 내에서 종양내 IC 는 검출되지 않았고, 과립상 PD-L1 TC 염색이 IHC에 의하여 검출되었다. 과립상 염색은, 염색이 선형 방식으로 (즉, 세포막의 개괄선에 따라) 배열되는 한, PD-L1-양성 TC 로 스코어링된다.

도 18A-18F 는 표지된 PD-L1 TC% 발현 컷오프에서의 PD-L1-양성 IC 염색 패턴에 대한 예시적인 이미지를 나타낸다. 상기 이미지는, 항-PD-L1 항체 SP142 를 사용한, NSCLC 환자 유래의 FFPE 조직 절편 상에서의 IHC 의 결과를 나타낸다. 도 18A-18B 는 TC%가 5% 미만인 이미지를 나타낸다. 도 18C-18D 는 TC%가 5% 이상 내지 50% 미만인 이미지를 나타낸다. 도 18E-18F 는 TC%가 50% 이상인 이미지를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

본원에 사용된 바와 같이 용어 "약"은 본 기술 분야의 숙련자에게 쉽게 공지된 각각의 값에 대한 통상적인 오차

범위를 나타낸다. 본원에서 "약(about)" 값 또는 파라미터에 대한 지칭은 상기 값 또는 파라미터 그 자체에 관한 구현예를 포함한다 (그리고 기술한다). 예를 들면, "약 X"를 지칭하는 기술은 "X"의 지칭을 포함한다.

[0024] "친화도"는 분자(예컨대, 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 상대(예컨대, 항원) 간의 비공유 상호작용의 총합의 강도를 나타낸다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에서 사용되는 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍(예컨대, 항체 및 항원)의 구성원들 간의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화도를 나타낸다. 그 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로 해리 상수 (K_d)로 나타낼 수 있다. 친화성은 본원에서 기재된 것을 포함하여 당해분야에서 공지된 공통의 방법으로 측정될 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 특정의 구체적인 예시적인 구현예들이 아래에 기재되어 있다.

[0025] "친화도 성숙" 항체는 항원에 대한 항체의 친화도에 있어서의 개선을 야기하는 변형을 갖지 않는 친계 항체와 비교하여, 하나 이상의 초가변 영역(HVR)에 하나 이상의 변형을 갖는 항체를 나타내며, 이러한 변형은 항원에 대한 항체의 친화도에 있어서의 개선을 야기한다.

[0026] 용어 "무감작(anergy)"은, T 세포 수용체를 통하여 전달된 불완전하거나 불충분한 신호로 인하여 유발된 항원 자극에 대한 비반응성 상태 (예컨대, ras-활성화의 부재 하에서 세포내 Ca^{+2} 의 증가)를 지칭한다. T 세포 무감작은 또한, 공-자극의 부재하에서 항원에 의한 자극에서의 결과일 수 있으며, 이는 세포 내에서 공자극의 맥락 내에서도 항원에 의한 차후 활성화에 내화성이 되는 것을 유발한다. 비반응성 상태는 종종 인터류킨-2의 존재에 의하여 무시될 수 있다. 무감작 T 세포는 클론성 증식을 경험하고/하거나 효과기 작용을 획득하지 않는다.

[0027] 용어 "항암 요법"은 암을 치료하는데 유용한 요법을 지칭한다. 항암 치료제의 예시에는 비제한적으로 세포독성제, 화학치료제, 성장 억제제, 방사선 요법에서 사용되는 제제, 항-신생혈관계, 세포자멸제, 항-튜블린 제제, 및 암을 치료하기 위한 다른 제제, 예를 들어, PD-1 축 결합 길항제, 항-CD20 항체, 혈소판 유도된 성장 인자 억제제(예를 들면, GLEEVEC™ (이마티닙 메실레이트)), COX-2 억제제(예를 들면, 셀레코시브), 인터페론, 사이토카인, 하나 이상의 하기 표적 중 하나 이상에 결합하는 길항제 (예컨대, 중화 항체): PDGFR- β , BlyS, APRIL, BCMA 수용체(들), TRAIL/Apo2에 결합하는 길항제(예를 들면, 중화 항체), 다른 생물활성 및 유기 화학 제제 등이 포함된다. 이들의 조합도 본 발명에 포함된다.

[0028] 용어 "항-PD-L1 항체", "항-PD-L1 항체", "PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체" 및 "PD-L1에 결합하는 항체"는, 항체가 PD-L1을 표적화하는데 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 하기에 충분한 친화도로 PD-L1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 일 구현예에서, 비관련, 비-PD-L1 단백질에 대한 항-PD-L1 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정법(RIA)으로 측정 시, 약 10% 미만의 PD-L1에 대한 항체의 결합이다. 특정 구현예에서, PD-L1에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, $\leq 0.1 nM$, $\leq 0.01 nM$, 또는 $\leq 0.001 nM$ (예컨대, $10^{-8} M$ 이하, 예를 들면 $10^{-8} M$ 내지 $10^{-13} M$, 예를 들면 $10^{-9} M$ 내지 $10^{-13} M$)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 상이한 중 유래의 PD-L1 중 보존되어 있는 PD-L1의 에피토프에 결합한다.

[0029] 용어 "항-PD-1 항체" 및 "PD-1에 결합하는 항체"는 항체가 PD-1을 표적화하는데 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 하기에 충분한 친화도로 PD-1에 결합할 수 있는 항체를 나타낸다. 일 구현예에서, 비관련, 비-PD-1 단백질에 대한 항-PD-1 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정법(RIA)으로 측정 시, 약 10% 미만의 PD-1에 대한 항체의 결합이다. 특정 구현예에서, PD-1에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, $\leq 0.1 nM$, $\leq 0.01 nM$, 또는 $\leq 0.001 nM$ (예컨대, $10^{-8} M$ 이하, 예를 들면 $10^{-8} M$ 내지 $10^{-13} M$, 예를 들면 $10^{-9} M$ 내지 $10^{-13} M$)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항-PD-1 항체는 상이한 중 유래의 PD-1 중 보존되어 있는 PD-1의 에피토프에 결합한다. 예시적인 항-PD-1 항체는 비제한적으로 하기를 포함한다: MDX 1106 (니볼루맵), MK-3475 (켄트롤리주맵), 및 CT-011 (피달리주맵).

[0030] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고 이들이 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 동안, 비제한적으로 단클론성 항체, 다클론성 항체, 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체)를 포함하여, 다양한 항체 구조, 및 항체 단편을 포함한다.

[0031] "항체 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원과 결합하는 온전한 항체의 일부분을 포함하는 온전한 항체가 아닌 분자를 가리킨다. 항체 단편들의 예시들은 비제한적으로 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자 (예컨대, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

- [0032] 항체의 파파인 소화는 각각 단일 항원-결합 부위를 갖는 "Fab" 단편으로 불리는 2 개의 동일한 항원-결합 단편 및 그 명칭이 쉽게 측정화하는 그 능력을 반영하는 잔여 "Fc" 단편을 생성한다. 펩신 처리는 $F(ab')_2$ 단편을 산출하는데, 이것은 2개의 항원 결합 부위를 갖고 항원을 여전히 가교결합할 수 있다.
- [0033] "Fv"는 완전한 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 일 구현예에서, 2-쇄 Fv 종은 밀접한 비-공유 결합으로 1 개의 중쇄 및 1 개의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 구성된다. 단일-쇄 $Fv(scFv)$ 종에서, 1 개의 중쇄 및 1 개의 경쇄 가변 도메인은 경쇄 및 중쇄가 2-쇄 Fv 종에서와 비슷한 "이량체" 구조로 결합할 수 있도록 가요성 펩티드 링커에 의해 공유 결합될 수 있다. 이는 상기 입체배치에서 각각의 가변 도메인의 3 개의 HVR은 VH-VL 이량체의 표면 상에서 항원-결합 부위를 정의하도록 상호작용한다. 총괄적으로, 6 개의 HVR은 항체에 대한 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 전체 결합 부위에 비해 더 낮은 친화도에서지만, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 대해 특이적인 3 개의 HVR만을 포함하는 Fv의 절반)도 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.
- [0034] Fab 단편은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 함유하고, 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1) 을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서 몇 개의 잔기를 첨가함으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 자유 티올 그룹을 보유하는 Fab'에 대해 본원에서 지정된다. $F(ab')_2$ 항체 단편은 본래 이들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생산되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링이 또한 공지되어 있다.
- [0035] "단일-쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하며, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 쇠에 존재한다. 일반적으로, scFv 폴리펩티드는 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하며, 그것은 scFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다. scFv의 재고를 위해, 예를 들어, 하기를 참고한다: Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269-315.
- [0036] 용어 "디아바디"는 2 개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편을 나타내며, 이 단편은 동일한 폴리펩티드 쇠(VH-VL)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 동일한 쇠 상에서 2 개의 도메인 간 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 이용함으로써, 도메인은 또 하나의 쇠의 상보적 도메인과 쌍을 이루고 2 개의 항원-결합 부위를 생성하도록 유도된다. 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있다. 디아바디는 하기에 더욱 충분히 기술된다: 예를 들면, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993). 트리아바디 및 테트라바디가 또한 하기에 기술된다: Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003).
- [0037] 참조 항체로서 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 이의 항원에 대한 참조 항체의 결합을 50% 이상까지 차단하는 항체를 나타내고, 반대로, 참조 항체는 경쟁 검정에서 이의 항원에 대한 참조 항체의 결합을 50% 이상까지 차단한다. 예시적 경쟁 검정이 본원에 제공된다.
- [0038] 본원에서 "자가면역 질환"은 개체의 고유 조직 또는 기관에 대해 지시되거나 이로부터 유래된, 질환 또는 장애, 또는 이의 공-분리물 또는 징후, 또는 이로부터 생성된 병태이다. 자가면역 질환은 하기일 수 있다: 기관-특이적 질환 (즉, 면역 반응이 하기에 대해 특이적으로 지시됨: 기관계 예컨대 내분비계, 조혈계, 피부, 심폐계, 위장 및 간 계통, 신장 계통, 갑상선, 귀, 신경근계, 중추신경계 등) 또는 다중 기관 계통에 영향을 줄 수 있는 전신성 질환 (예를 들어, 전신 홍반성 루푸스 (SLE), 류마티스 관절염 (RA), 다발성근염 등). 예시적인 자가면역 질환은 비제한적으로 하기를 포함한다: 자가면역 류마티스성 장애 (예를 들어, RA, 쇼그렌 (Sjogren) 증후군, 경피증, SLE 및 루푸스 신염과 같은 루푸스, 다발성근염/피부근염, 한랭글로불린혈증, 항-인지질 항체 증후군, 및 건선성 관절염), 자가면역 위장 및 간 장애 (예를 들어, 염증성 장 질환 (예를 들어, 궤양성 대장염 및 크론병), 자가면역 위염 및 악성 빈혈, 자가면역 간염, 원발성 담즙성 경화증, 원발성 경화성 담관염, 및 셀리악병), 혈관염 (예를 들어, 처그-스트라우스 (Churg-Strauss) 혈관염, 베게너 (Wegener) 육아종증 및 현미경적 다발성혈관염을 포함한 ANCA-음성 혈관염 및 ANCA-관련된 혈관염), 자가면역 신경학적 장애 (예를 들어, 다발성 경화증, 안진전-근간대 증후군, 중증 근무력증, 신경성 척수염, 파킨슨병, 알츠하이머병, 및 자가면역 다발신경병증), 신장 장애 (예를 들어, 사구체신염, 굿파스처 (Goodpasture) 증후군, 및 버거 (Berger)병), 자가면역 피부과적 장애 (예를 들어, 건선, 담마진, 두드러기, 심상성 천포창, 수포성 유천포창, 및 피부 홍반성 루푸스), 혈액학적 장애 (예를 들어, 혈소판감소성 자반병, 혈전성 혈소판감소성 자반병, 수혈-후 자반병, 및 자가면역 용혈성 빈혈), 아테롬성 경화증, 포도막염, 자가면역 청각 질환 (예를 들어, 내이 질환 및 청력 상실), 베체트 (Behcet)병, 레이노드 (Raynaud) 증후군, 기관 이식, 및 가자면역 내분비 장애 (예를 들어, 인슐린-의존

성 진성 당뇨병 (IDDM)과 같은 당뇨병-관련 자가면역 질환, 애디슨 (Addison)병, 및 자가면역 갑상선 질환 (예를 들어, 그레이브스 (Graves)병 및 갑상선염)). 더욱 바람직한 이러한 질환에는 예를 들어, RA, 췌장성 대장염, ANCA-관련된 혈관염, 루푸스, 다발성 경화증, 쇼그렌 증후군, 그레이브스병, IDDM, 악성 빈혈, 갑상선염, 및 사구체신염이 포함된다.

[0039] 본원에 사용된, 어구 “예 기반한”은, 상기 정보가 하나 이상의 바이오마커 (예컨대, PD-L1)가 예를 들어, 치료 측정, 패키지 삽입물 상에 제공된 정보, 또는 마케팅/홍보 안내사항을 알리는데 사용된다는 것을 의미한다.

[0040] “생물학적 샘플”이란 대상체 또는 환자로부터 수득된 유사 세포의 집합체를 의미한다. 생물학적 샘플은 조직 또는 세포 샘플일 수 있다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선, 냉동 및/또는 보존 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡입액에서 유래된 것과 같은 고체 조직; 혈액 또는 모든 혈액 구성성분; 체액, 예컨대 뇌척수액, 양수, 복막액 또는 세포간질액; 대상체의 임신 또는 발달 중 어느 시점에서 유래된 세포일 수 있다. 생물학적 샘플은 또한 *시험관내* 조직 또는 세포 배양물로부터 수득될 수 있다. 상기 조직 샘플은 자연적으로 상기 조직과 혼합되지 않는 화합물, 예컨대 보존제, 항응고제, 완충용액, 고정액, 영양분, 항생제 등을 함유할 수 있다. 본원의 생물학적 샘플의 예에는, 비제한적으로, 종양 생검, 순환하는 종양 세포, 혈청, 또는 혈장, 순환하는 혈장 단백질, 복수액, 종양에서 유도되었거나 또는 종양과 같은 특성을 보이는 1차 세포 배양액 또는 세포주뿐만 아니라, 보존된 종양 샘플, 예컨대 포르말린-고정, 파라핀-포매 종양 샘플 또는 냉동 종양 샘플이 포함된다.

[0041] 용어 “바이오마커”는, 본원에 사용된 바와 같이, 예컨대, 예측성, 진단성, 및/또는 예후성인 표지자를 지칭하며, 이는 예를 들어, PD-L1과 같은 샘플 내에서 검출될 수 있다. 바이오마커는, 분자적, 병리학적, 조직학적 및/또는 임상적 특징에 의하여 특성화된, 질환 또는 장애 (예컨대, 암)의 특정 하위유형의 표지자로서 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커는 유전자이다. 바이오마커는 비제한적으로 하기를 포함한다: 폴리뉴클레오타이드 (예컨대, DNA 및/또는 RNA), 폴리뉴클레오타이드 카피 수 변경 (예컨대, DNA 카피 수), 폴리펩티드, 폴리펩티드 및 폴리뉴클레오타이드 변형 (예컨대, 번역 후 변형), 탄수화물, 및/또는 당지질-계 분자 마커.

[0042] “차단 항체” 또는 “길항제” 항체는 이 항체가 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제하거나 감소시키는 것이다. 바람직한 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제한다.

[0043] 용어들 “암” 및 “암성”은 전형적으로 조절되지 않은 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리적 상태를 나타내거나 설명한다. 암의 예는 암종, 림프종 (예를 들어, 호지킨 및 비-호지킨 림프종), 아세포종, 육종 및 백혈병을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 상기 암의 더욱 특정한 예시는 하기를 포함한다: 비-소세포 폐암 (NSCLC) (폐의 선암종 및 폐의 편평상피 암종을 포함), 편평상피 세포 암, 소-세포 폐암, 복막의 암, 간세포암, 위장관암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병 및 기타 림프종식성 장애, 및 다양한 유형의 두경부암. 특정 구현예에서, 암은 NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 폐의 선암종 또는 폐의 편평상피암종이다. NSCLC는 편평상피 NSCLC 또는 비-편평상피 NSCLC일 수 있다.

[0044] “화학치료제”는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학치료제의 예시는 하기를 포함한다: 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 CYTOXAN® 사이클로포스파마이드; 알킬 설포네이트, 예컨대 부설판, 임프로설판 및 피포설판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아펠라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸롤로멜라민; 아세토게닌(특히 블라타신 및 블라타시논); 델타-9-테트라하이드로칸나비놀(드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파콘; 라파콜; 콜히친; 베툴린산; 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸(HYCANTIN® 포함); CPT-11 (이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(그 아도젤레신, 카르젤레신 및 바이젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토파이신(특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘루테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로르암부실, 클로르나파진, 콜로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 펜에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라신 머스타드; 나이트로스우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제, 예컨대 엔디인 항생제(예를 들면, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 γ II 및 칼리키아마이신 ω II (예를 들어, 참고: Nicolaou et al., *Angew. Chem Int'l. Ed. Engl.*, 33: 183-186(1994); 다이네마이신, 다이네마이신 A 포함; 에스페라마이신뿐만 아니라 네오키르지노스타틴 발색단 및 관련된 색소단백질 엔디인 항

생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, ADRIAMYCIN® 독소루비신(모폴리노-독소루비신, 시아노모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신, 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 아이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질, 예컨대 메토크세이트, 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 데노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메토크세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 디테옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토라톤; 항-부신물질, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스타틴; 엽산 보충물, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코사이드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데메콜린; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘렙티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 켄타닌; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK® 다당류 복합체(JHS Natural Products, Eugene, OR); 라죽산; 라이죽신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아진산; 트리아지쿠온; 2,2',2' -트리클로로트리메틸아민; 트리코테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신(ELDISINE®, FILDESIN®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미도라톨; 피포브로만; 가시토신; 아라마이노사이드("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들면, 탁산 (TAXOL® 파클리탁셀 (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) 포함), ABRAXANE™ 파클리탁셀의 크레모포어-없는, 알부민-가공된 나노입자 제형 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), 및 TAXOTERE® 도세탁셀(Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France); 클로란부실; 겐시타빈 (GEMZAR®); 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토크세이트; 백금 유사체 예컨대 시스플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴 (VELBAN®)), 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미토산트론; 빈크리스틴 (ONCOVIN®); 옥살리플라틴; 류코보빈(leucovorin); 비노렐빈 (NAVELBINE®); 노반트론; 에다트랙세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오미딘 (DMFO); 레티노이드 예컨대 레티노산; 카페시타빈 (XELODA®) 및 임의의 상기의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체뿐만 아니라 상기의 2 이상의 조합, 예컨대 CHOP(사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니솔론의 병용 요법에 대한 약어), 및 FOLFOX(5-FU 및 류코보빈과 조합된 옥살리플라틴(ELOXATIN™)을 이용한 치료 레지멘에 대한 약어). 추가 화학치료제는 하기를 포함한다: 예를 들어, 항체 약물 콘주게이트로 유용한 세포독성제, 예컨대 메이탄시노이드 (예를 들어, DM1) 및 오리스타틴 MMAE 및 MMAF.

[0045]

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

실레이트 (ErbB-2 및 EGFR 이중 티로신 키나제 소분자 억제제 (GW572016로도 공지됨)); 및 상기 중 임의의 것의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체.

[0046] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부는 특정 소스 또는 종으로부터 유도되는 반면 나머지 중쇄 및/또는 경쇄는 상이한 소스 또는 종으로부터 유도되는 항체를 나타낸다.

[0047] 항체의 "부류"는 이의 중쇄가 점유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5개 주요 부류의 항체가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이 있으며, 이들 중 몇몇은 하위부류(이소형), 예를 들면 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가 구분될 수 있다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 로 불린다.

[0048] "상관관계가 있다" 또는 "상관관계가 있는"은 모든 방식으로 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 성과 및/또는 결과를 두 번째 분석 또는 프로토콜의 성과 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 두 번째 프로토콜을 수행할 때 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용하거나 및/또는 두 번째 분석 또는 프로토콜이 수행되어야 하는지 여부를 결정하기 위해 첫 번째 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 폴리펩티드 분석 또는 프로토콜의 구현예와 관련하여, 특정 치료 요법이 수행되어야 하는지 여부를 결정하기 위해 폴리펩티드 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 폴리뉴클레오티드 분석 또는 프로토콜의 구현예와 관련하여, 특정 치료 요법이 수행되어야 하는지 여부를 결정하기 위해 폴리뉴클레오티드 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다.

[0049] 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "세포독성제"는 세포성 작용을 억제 또는 예방하고/하거나 세포사 또는 파괴를 일으키는 물질을 지칭한다. 세포독성제는, 비제한적으로, 방사성 동위원소 (예를 들면, ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학치료제 또는 약물 (예를 들면, 메토트렉세이트, 아드리아마이신, 빈카 알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로르암부실, 다우노루비신 또는 다른 개제 약물); 성장 억제제; 효소 및 그 단편 예컨대 핵산분해 효소; 항생제; 독소 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성 독소, 단편 및/또는 그 변이체 포함; 및 아래 개시된 다양한 항종양 또는 항암제를 포함한다.

[0050] 용어 "검출"은 직접 및 간접 검출을 포함하는, 검출의 임의의 수단을 포함한다.

[0051] 용어 "진단"은, 본원에서 분자적 또는 병리학적 상태, 질환 또는 병태 (예컨대, 암)의 식별 또는 분류를 지칭하는데 사용된다. 예를 들어, "진단"은 암의 특정 유형의 식별을 지칭할 수 있다. "진단"은, 또한, 예를 들어 조직병리학적 기준에 의한, 또는 분자적 특징 (예컨대, 일 바이오마커 또는 이의 조합의 발현로 특징화된 하위유형 (예컨대, 상기 유전자에 의하여 암호화된 특정 유전자 또는 단백질))에 의한 암의 특정 하위유형의 분류를 지칭할 수 있다.

[0052] "장애"는 하기를 비제한적으로 포함하는 치료로부터 이점을 얻을 임의의 병태이다: 포유동물이 문제 장애를 갖기 쉽게 만드는 병리적 상태를 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환.

[0053] "효과기 작용"은 항체의 Fc 영역에 기인할 수 있는 생물학적 활성을 나타내며, 이것은 항체 이소형에 따라 변한다. 항체 작동체 작용의 실례에는 하기가 포함된다: 항체 효과기 작용의 예는 하기를 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개된 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체의 하향 조절 (예를 들면, B 세포 수용체); 및 B 세포 활성화.

[0054] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 적어도 불변 영역의 일부를 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 상기 용어는 원상태 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 일 구현예에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 중쇄의 Cys226 또는 Pro230으로부터 카복실-말단까지 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 라이신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있다. 본원에서 달리 특정되지 않는 경우, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 또한 EU 지수로 불리우는 EU 넘버링 시스템에 따르고 이는 하기 문헌에 기재된 바와 같다: Kabat et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

[0055] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4가지 FR 도메인으로 구성된다: FR1, FR2, FR3, 및 FR4. 따라서 HVR과 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 순서로 출현한다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

- [0056] 용어 "전장 항체", "온전한 항체" 및 "전체 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 본원에 정의된 바와 같은 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 나타내기 위해 상호교환 가능하게 본원에서 사용된다.
- [0057] 일반적으로 용어 "발현의 수준" 또는 "발현 수준"은 상호교환하여 사용가능하고, 일반적으로 생물학적 샘플 내 폴리뉴클레오타이드, mRNA, 또는 아미노산 생성물 또는 단백질의 양을 가리킨다. "발현"은 일반적으로 유전자-암호화된 정보가 상기 세포에 존재하고 작동하는 구조체로 전환되는 과정을 가리킨다. 따라서, 본 발명에 따르면, 유전자 (예컨대, PD-L1 유전자)의 "발현"은 폴리뉴클레오타이드로의 전사, 단백질로의 번역, 또는 상기 단백질의 번역후 변형을 가리킬 수 있다. 상기 전사된 폴리뉴클레오타이드, 번역된 단백질, 또는 번역후 변형된 단백질의 단편들 또한 이들이 대안적 스플라이싱(alternative splicing)에 의해 생성된 전사체 또는 분해된 전사체에서 유래되든지, 또는 예컨대, 단백질 가수분해에 의한 상기 단백질의 번역후 과정에서 유래되든, 발현된 것으로 간주되어야 한다. 일부 구현예에서, "발현 수준"은 비제한적으로 하기를 포함하는, 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된 방법을 사용하여 측정 시, 생물학적 샘플 내의 단백질 (예컨대, PD-L1)의 양을 지칭한다: 면역조직화학 (IHC), 면역블롯팅 (예컨대, 웨스턴블롯팅), 면역형광 (IF), 유동 세포측정, 예를 들어 형광-활성화 세포 분류 (FACS™), 또는 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA).
- [0058] "증가된 발현," "증가된 발현 수준," "증가된 수준," "상승 발현," "상승 발현 수준," 또는 "상승 수준"은, 질환 또는 장애 (예컨대, 암) 또는 내부 대조군 (예컨대, 하우스키핑 바이오마커)을 앓는 개체 또는 개체군과 같은 대조군과 비교하여, 개체에서의 바이오마커의 증가된 발현 또는 증가된 수준을 지칭한다.
- [0059] "감소된 발현," "감소된 발현 수준," "감소된 수준," "저하된 발현," "저하된 발현 수준," 또는 "저하된 수준"은, 질환 또는 장애 (예컨대, 암) 또는 내부 대조군 (예컨대, 하우스키핑 바이오마커)을 앓는 개체 또는 개체군과 같은 대조군과 비교하여, 개체에서의 바이오마커의 감소된 발현 또는 감소된 수준을 지칭한다. 일부 구현예에서, 저하된 발현은 발현이 거의 없거나 아예 없는 것이다.
- [0060] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환 가능하게 사용되며, 외인성 핵산이 도입되는 세포를 이러한 세포의 후손을 포함하여 나타낸다. 숙주 세포는 1차 형질전환된 세포 및 계대 횃수와 상관없이 이로부터 유래된 후손을 포함하는 "변형체" 및 "변형된 세포"를 포함한다. 후손은 핵산 함량에 있어서 친계 세포와 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 함유할 수 있다. 원래 변형된 세포에 대해 스크리닝되거나 선택된 바와 동일한 작용 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 후손이 본원에 포함된다.
- [0061] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되거나 인간 항체 레퍼토리 또는 기타의 인간 항체-암호화 서열을 사용하는 비-인간 공급원로부터 유도되는 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 특이적으로 비인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 배제한다.
- [0062] "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 통상적으로 존재하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위그룹으로부터이다. 일반적으로, 서열의 하위그룹은 하기와 같다: Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*. Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD, Vols. 1-3, 1991. 일 구현예에서, VL에 대해, 하위그룹은 Kabat et al., 상기에서와 같이 하위그룹 카파 I이다. 일 구현예에서, VH에 대해, 하위그룹은 Kabat et al., 상기에서와 같이 하위그룹 III이다.
- [0063] "인간화" 항체는 비인간 HVR로부터 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터 아미노산 잔기를 포함하는 키메라성 항체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기에서 HVR (예를 들면, CDR)의 실질적으로 모두는 비인간 항체의 것에 일치하고, 그리고 FR의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 항체의 것에 일치한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유도된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들면, 비인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화처리되는 항체를 지칭한다.
- [0064] 본원에서 사용되는 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열(상보성 측정 영역 또는 "CDR")에서 초가변이고/이거나 구조적으로 정의된 루프("초가변 루프")를 형성하고/하거나 항원-접촉 잔기("항원 접촉부")를 함유하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 나타낸다. 일반적으로, 항체는 6 개의 HVR: VH에 3 개(H1, H2, H3), 및 VL에 3 개(L1, L2, L3)를 포함한다. 본원에서 예시적인 HVR은 다음을 포함한다:
- [0065] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 및 96-101 (H3)에서 발생하는 초가변 루프 (Chothia et al. *J. Mol. Biol.* 196: 901-917, 1987);

- [0066] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), 및 95-102 (H3)에서 발생하는 CDR (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991);
- [0067] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), 및 93-101 (H3)에서 발생하는 항원 접촉부 (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745, 1996); 및
- [0068] (d) HVR 아미노산 잔기 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3), 및 94-102 (H3)을 포함하는, (a), (b), 및/또는 (c)의 조합. 다르게 명시되지 않으면, 가변 도메인 (예를 들면, FR 잔기)에서 HVR 잔기 및 다른 잔기는 Kabat et al., 상기에 따라 본원에서 번호링된다.
- [0069] “면역 기능이상”은 면역계에 영향을 미치는 장애 또는 병태이고, 이는 예를 들어, 자가면역 질환 및 T-세포 기능이상 장애를 포함한다.
- [0070] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 “면역접합체(immunoadhesin)”는 이중성 단백질 (“접합체”)의 결합 특이성을 면역글로불린 불변 도메인의 효과기 작용과 조합하는 항체-유사 분자를 가리킨다. 구조적으로, 면역접합체는 원하는 결합 특이성을 갖는 아미노산 서열의 융합을 포함하고, 이는 항체의 항원 인식 및 결합 부위 (즉, “이중성”임) 및 면역글로불린 불변 도메인 서열 이외의 것이다. 면역접합체 분자의 접합체 부분은 전형적으로 적어도 수용체 또는 리간드의 결합 부위를 포함하는 인접 아미노산 서열이다. 면역접합체 내의 면역글로불린 불변 도메인 서열은 임의의 면역글로불린, 예컨대 IgG1, IgG2 (IgG2A 및 IgG2B 포함), IgG3, 또는 IgG4 하위유형, IgA (IgA1 및 IgA2 포함), IgE, IgD, 또는 IgM으로부터 취득될 수 있다. Ig 융합은 바람직하게는 하기를 포함한다: 본원에 기술된 폴리펩티드 또는 항체의 도메인의, Ig 분자 내의 적어도 1종의 가변 영역을 대신한 치환. 특히 바람직한 구현예에서, 면역글로불린 융합은 IgG1 분자의, 힌지, CH2 및 CH3, 또는 힌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 면역글로불린 융합의 생산에 관하여는, 또한 하기를 참고한다: 미국 특허 번호 5,428,130. 예를 들어, 본원의 요법에 대해 유용한 약제로서의 유용한 면역접합체는 하기를 포함하는 폴리펩티드를 포함한다: 면역글로불린 서열의 불변 도메인, 예컨대 PD-L1 ECD-Fc, PD-L2 ECD-Fc, 및 PD-1 ECD-Fc, 각각에 융합된, PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 도메인 (ECD) 또는 PD-1-결합 부분, 또는 PD-1의 세포외 또는 PD-L1-또는 PD-L2-결합 부분. 세포 표면 수용체의 Ig Fc 및 ECD의 면역접합체 조합은 종종 가용성 수용체로 불리운다.
- [0071] “융합 단백질” 및 “융합 폴리펩티드”는 함께 공유 결합된 2개 부분을 갖는 폴리펩티드를 지칭하며, 상기 부분의 각각은 상이한 특성을 갖는 폴리펩티드이다. 상기 특성은 생물학적 특성, 예컨대 시험관내 또는 생체내에서의 활성일 수 있다. 상기 특성은 또한 단순한 화학적 또는 물리적 특성, 예컨대 표적 분자로의 결합, 반응의 촉매작용 등일 수 있다. 상기 2개 부분은 단일 펩티드 결합에 의하여 직접, 또는 펩티드 링커를 통하여 연결될 수 있으나, 서로 해독될 내에 존재한다.
- [0072] “면역곤주게이트”는 세포독성제를 포함하지만 이에 제한되지 않는 하나 이상의 이중성 분자(들)에 곤주게이트된 항체이다.
- [0073] “단리된” 항체는 이의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 것이다. 일부 구현예에서, 항체는, 예를 들면, 전기영동(예컨대, SDS-PAGE, 등전점 전기영동 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피(예컨대, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의해 측정되는 바와 같이 95% 또는 99% 이상의 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가를 위한 방법의 검토를 위해, 예를 들면, 문헌[참조: Flatman et al. *J. Chromatogr. B.* 848: 79-87, 2007].
- [0074] “단리된” 핵산은 이의 천연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 원래 함유하는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체외에 또는 이의 자연 염색체 위치와는 다른 염색체 위치에 존재한다.
- [0075] “항-PD-L1 항체를 암호화하는 단리된 핵산”은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 이의 단편)를 암호화하는 하나 이상의 핵산 분자를 이러한 핵산 분자(들)를 단일 벡터 또는 별도의 벡터로 포함하여 나타내며, 이러한 핵산 분자(들)는 숙주 세포의 하나 이상의 위치에 존재한다.
- [0076] 단어 “표지”는, 본원에 사용될 경우, 시약, 예컨대 폴리뉴클레오티드 프로브 또는 항체에 직접 또는 간접적으로 곤주게이트되거나 또는 융합되고, 이것이 곤주게이트되거나 또는 융합되는 상기 시약의 검출을 용이하게 하는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 상기 표지는 그 자체로 검출가능하거나(예컨대, 방사선 동위원소 표지 또는 형광 표지), 또는 효소 표지의 경우, 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매할 수 있다.

상기 용어는 하기를 포괄하는 것으로 의도된다: 검출가능한 물질을 프로브 또는 항체에 커플링 (즉, 물리적으로 연결)함에 의한 프로브 또는 항체의 직접 표지, 뿐만 아니라 직접적으로 표지된 또 다른 시약과의 반응성에 의한 프로브 또는 항체의 간접 표지. 간접 표지의 예시는 형광-표지 2차 항체를 사용한 1차 항체의 검출, 및 비오틴에 의한 DNA 프로브의 말단-표지를 포함하며, 이로써 이는 형광-표지 스트렙타비딘에 의하여 검출될 수 있다.

[0077] 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 균질 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다, 즉, 집단을 포함하는 개별 항체는, 예를 들면, 천연 발생 돌연변이를 함유하거나 또는 단클론성 항체 제제의 생산 동안 발생하는 가능한 변이체 항체 (상기 변이체는 일반적으로 소량으로 존재한다)를 제외하고, 동일하고/하거나 동일한 에피토프를 결합한다. 전형적으로 상이한 측정인자 (에피토프)에 대하여 유도된 상이한 항체를 포함하는 다클론성 항체와 대조로, 단클론성 항체 제제의 각각의 단클론성 항체는 항원에서 단일 측정인자에 대해서 유도된다. 따라서, 수식어 "단클론성"은 항체가 실질적으로 균일한 항체 집단에서 수득된 것이라는 속성을 명시하고, 어떤 특정한 방법에 의한 상기 항체의 생산을 요구하는 것으로 간주되지 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론성 항체는 다양한 기법, 예를 들면 비제한적으로 혼성세포 방법, 재조합 DNA법, 파지-디스플레이법 및 인간 면역글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 형질 전환 동물을 활용하는 방법, 또는 이의 조합에 의해 제조될 수 있다.

[0078] 기준 폴리펩티드 서열에 관한 "아미노산 서열 동일성 퍼센트(%)"는, 서열 동일성의 일부로서 어떠한 보존적 치환도 고려하지 않고서 서열을 정렬하고, 필요에 따라, 갭을 도입하여 최대 서열 동일성 퍼센트를 달성한 후, 기준 폴리펩티드 서열에서의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 측정하기 위한 목적으로의 정렬은, 예를 들면, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 당업계의 재량 내에 있는 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 당업계의 숙련가들은 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대의 정렬을 달성하는데 필요한 알고리즘을 포함하여, 서열을 정렬하기 위한 적합한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에 의해 제작되었으며, 소스 코드는 워싱턴 DC, 20559에 소재하는 미국 저작권청에 사용자 문서로 제출되었으며, 여기서 미국 저작권 등록 번호 TXU510087로 등록되었다. ALIGN-2 프로그램은 캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코에 소재하는 Genentech, Inc.로부터 공개적으로 이용 가능하거나, 또는 소스 코드로부터 편집될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함한 UNIX 운영 체제에서 사용하기 위해 편집되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 바뀌지 않는다.

[0079] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교에 사용되는 상황에서, 소정의 아미노산 서열 A 내지, 및, 또는 소정의 아미노산 서열 B(이것은 소정의 아미노산 서열 B에 대해 특정의 아미노산 서열 동일성 %를 갖거나 포함하는 소정의 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있음)의 아미노산 서열 동일성 %는 다음과 같이 계산된다:

[0080] 분수 X/Y의 100배

[0081] 여기서, X는 A 및 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 동일한 매치로서 스코어되는 아미노산 잔기의 수이고 Y는 B에서 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, A 대 B의 % 아미노산서열 동일성은 B 대 A의 % 아미노산 서열 동일성은 동일하지 않음을 인식할 것이다. 달리 구체적으로 기재하지 않은 경우, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 바로 직전의 문단에 기재된 바와 같이 수득한다.

[0082] 용어 "약제학적 제형"은 그안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적하도록 하기 위한 형태인, 그리고 제형이 투여되는 대상체에 허용불가능하게 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.

[0083] "약제학적으로 허용가능한 담체"는 활성 성분을 제외한, 대상체에 비독성인, 약제학적 제형 중 성분을 가리킨다. 약제학적으로 허용가능한 담체에는 비제한적으로, 완충제, 부형제, 안정제 또는 보존제가 포함된다.

[0084] 용어 "프로그램된 세포 사멸 1 리간드 1," "PD-L1," "프로그램된 사멸-리간드 1," "분화 274의 클러스터," "CD274," 또는 "B7 동족체 1" 는, 본원에 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한, 포유동물 예컨대 영장류 (예컨대, 인간) 및 설치류 (예컨대, 마우스 및 랫트)를 포함하는 임의의 척추동물 공급원 유래의 임의의 천연 PD-L1을 지칭한다. 용어는 "전장" 비가공된 PD-L1 뿐만 아니라 세포에서의 가공으로부터 야기되는 PD-L1의 임의의 형태를 포함한다. PD-L1 은 막 관통 단백질 또는 가용성 단백질로서 존재할 수 있다. 용어는 또한 PD-L1의 자연 발생 변이체, 예컨대, 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. PD-L1 의 기본

구조는 하기의 4개 도메인을 포함한다: 세포외 Ig-유사 V-유형 및 Ig-유사 C2-유형 도메인, 막 관통 도메인, 및 세포질 도메인. 게놈 DNA 서열을 포함하는, 인간 PD-L1 유전자는 NCBI 유전자 ID 번호 29126에서 발견될 수 있다. 게놈 DNA 서열을 포함하는, 마우스 PD-L1 유전자는 NCBI 유전자 ID 번호 60533에서 발견될 수 있다. 예시적인 전장 인간 PD-L1 단백질의 아미노산 서열은 서열 번호: 18에 나타난다. 예시적인 전장 인간 PD-L1 단백질의 아미노산 서열은 하기 하에서 발견될 수 있으며: 예컨대, NCBI 수탁번호 NP_001254653 또는 UniProt 수탁번호 Q9NZQ7, 한편 예시적인 전장 마우스 PD-L1 단백질 서열은 하기 하에서 발견될 수 있다: 예컨대, NCBI 수탁번호 NP_068693 또는 Uniprot 수탁번호 Q9EP73.

[0085] 용어 “PD-1 축 결합 길항제”는, T-세포 작용 (예컨대, 증식, 시토카인 생산, 및/또는 표적 세포 사멸)을 복구하거나 증진하는 결과를 갖는, PD-1 신호전달 축 상의 신호전달로부터 유발된, T-세포 기능이상을 제거하기 위하여, 이의 결합 상대 중 하나 이상과의 PD-1 축 결합 상대의 상호작용을 억제하는 분자를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제, 및 PD-L2 결합 길항제를 포함한다.

[0086] 본원에 사용된 바와 같이, “PD-L1 결합 길항제”는, PD-L1 의, 이의 결합 상대 예컨대 PD-1 및/또는 B7-1 중 하나 이상과의 상호작용으로부터 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 저해하는 분자이다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 이의 결합 상대로의 PD-L1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및/또는 B7-1로의 PD-L1 결합을 억제한다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 하기를 포함한다: PD-L1 의, 이의 결합 상대 예컨대 PD-1 및/또는 B7-1 중 하나 이상과의 상호작용으로부터 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 저해하는, 항-PD-L1 항체 및 이의 항원-결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 올리고펩티드, 소분자 길항제, 폴리뉴클레오티드 길항제, 및 기타 분자. 일 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 기능이상 T-세포에 보다 낮은 기능이상성을 부여하기 위하여, 하기를 감소시킨다: T 림프구 상에 발현된 세포 표면 단백질, 및 기타 세포를 통하여, 또는 이에 의하여 매개된 음성 신호, PD-L1 또는 PD-1 을 통하여 매개된 신호전달. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 YW243.55.S70이다. 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 MDX-1105이다. 또한 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 MPDL3280A (아테졸리주맵)이다. 또한 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 MEDI4736 (두르발루맵)이다. 또한 또 다른 특정 양태에서, 항-PD-L1 항체는 MSB0010718C (아벨루맵)이다. MDX-1105 (또한 BMS-936559로 공지됨)은 W02007/005874 에 기술된 항-PD-L1 항체이다. 항체 YW243.55.S70 는 W0 2010/077634 및 US 8,217,149 에 기술된 항-PD-L1 항체이며, 이의 각각의 전체내용이 본 출원에 참조로서 편입된다.

[0087] 본원에 사용된 바와 같이, “PD-1 결합 길항제”는, PD-1 의, 이의 결합 상대 예컨대 PD-L1 및/또는 PD-L2 중 하나 이상과의 상호작용으로부터 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 저해하는 분자이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 이의 결합 상대로의 PD-1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및/또는 PD-L2로의 PD-1 결합을 억제한다. 예를 들어, PD-1 결합 길항제는 하기를 포함한다: PD-L1 및/또는 PD-L2 와의 PD-1 의 상호작용으로 유발된 신호 형질도입을 감소, 차단, 억제, 폐지 또는 저해하는, 항-PD-1 항체 및 이의 항원-결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 올리고펩티드, 소분자 길항제, 폴리뉴클레오티드 길항제, 및 기타 분자. 일 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 기능이상 T-세포에 보다 낮은 기능이상성을 부여하기 위하여, 하기를 감소시킨다: T 림프구 상에 발현된 세포 표면 단백질, 및 기타 세포를 통하여, 또는 이에 의하여 매개된 음성 신호, PD-1 또는 PD-L1 을 통하여 매개된 신호전달. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체이다. 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 MDX-1106 (니볼루맵)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 MK-3475 (뎀브롤리주맵)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 CT-011 (피딜리주맵)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 MEDI-0680 (AMP-514)이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 PDR001 이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 REGN2810 이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 BGB-108 이다. 또 다른 특정 양태에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224 이다. MDX-1106 (또한 MDX- 1106-04, ONO-4538, BMS-936558, 또는 니볼루맵으로 공지됨)은 W02006/121168 에 기술된 항-PD-1 항체이다. AMP-224 (또한 B7-DCIg 로 공지됨)은 W02010/027827 및 W02011/066342 에 기술된 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0088] “참조 샘플,” “참조 세포,” “참조 조직,” “대조군 샘플,” “대조군 세포,” 또는 “대조군 조직”은, 본원에 사용된 바와 같이, 비교 목적으로 사용되는 샘플, 세포, 조직, 표준, 또는 수준을 지칭한다. 일 구현예에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 동일한 대상체 또는 개체의 신체(예를 들어, 조직 또는 세포)의 건강하고/하거나 비-질환 부분으로부터 획득될 수 있다. 예를 들어, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 질병 세포에 근접한 건강하

고/하거나 비-질병 세포 또는 조직 (예컨대, 종양에 근접한 세포 또는 조직)일 수 있다. 또 다른 구현예에서, 참조 샘플은 동일한 대상체 또는 개체의 신체의 비처리된 조직 및/또는 세포로부터 취득된다. 또한 또 다른 구현예에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 상기 대상체 또는 개체가 아닌 개체의 신체(예를 들어, 조직 또는 세포)의 건강하고/하거나 비-질환 부분으로부터 취득될 수 있다. 추가의 또 다른 구현예에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포, 또는 대조군 조직은, 상기 대상체 또는 개체가 아닌 개체의 신체의 비처리된 조직 및/또는 세포로부터 취득될 수 있다.

[0089] “개체 반응” 또는 “반응”은 상기 개체에 대한 이점을 표지하는 임의의 종료점을 사용하여 평가될 수 있으며, 이는 비제한적으로 하기를 포함한다: (1) 지연 및 완전한 정지를 포함하는, 장애 진행 (예컨대, 암 진행)의, 일정 정도까지의, 억제; (2) 종양 크기의 감소; (3) 인접 말초 기관 및/또는 조직으로 암 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 지연, 또는 완전한 정지); (4) 전이의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (5) 질환 또는 장애 (예컨대, 암)과 연관된 하나 이상의 증상의, 일정 정도까지의, 완화; (6) 전체 생존 및 진행 무생존의 길이 증가 또는 연장; 및/또는 (9) 치료 후 소정의 시간에서 감소된 사망률.

[0090] 약제로의 치료에 환자의 "효과적인 반응" 또는 환자의 "반응성" 및 유사한 문구는 질환 또는 장애 예컨대 암 발병 위험이 있거나 또는 암을 앓는 환자에게 주어진 임상적 또는 치료적 이점을 지칭한다. 일 구현예에서, 상기 이점에는 하기 중 하나 이상이 포함된다: 연장된 생존 (전체 생존 및 무진행 생존 포함); 객관적 반응의 유발 (완전한 반응 또는 부분적 반응 포함); 또는 암의 징후 또는 증상의 개선. 일 구현예에서, 바이오마커 (예컨대, 예를 들어, IHC를 사용하여 측정시, PD-L1 발현)는, 바이오마커를 발현하지 않은 환자와 비교하여, 약제로의 치료 (예컨대, 항암 요법을 포함한 치료)에 반응성일, 증가된 공산을 가질 것으로 예측되는 환자를 식별하는데 사용된다. 일 구현예에서, 바이오마커 (예컨대, 예를 들어, IHC를 사용하여 측정시, PD-L1 발현)는, 바이오마커를 상동한 수준으로 발현하지 않은 환자와 비교하여, 약제로의 치료 (예컨대, 항암 요법)에 반응성일, 증가된 공산을 가질 것으로 예측되는 환자를 식별하는데 사용된다. 일 구현예에서, 바이오마커의 존재는, 바이오마커의 존재를 갖지 않는 환자와 비교하여, 약제로의 치료에 반응성일 보다 큰 가능성을 갖는 환자를 식별하는데 사용된다. 또 다른 구현예에서, 바이오마커의 존재는, 바이오마커의 존재를 갖지 않는 환자와 비교하여, 환자가 약제로의 치료로부터 이점을 얻을 증가된 공산을 가질 것임을 측정하는데 사용된다.

[0091] "객관적 반응"은 측정가능한 반응, 예를 들면 완전한 반응(CR) 또는 부분적 반응(PR)을 가리킨다. 일부 구현예에서, “객관적 반응 속도” (ORR)은 완전 반응 (CR) 속도 및 부분 반응 (PR) 속도의 총합을 지칭한다.

[0092] "완전한 반응" 또는 "CR"이란 치료 반응에서 암의 모든 조직의 사라짐 (예컨대, 모든 표적 병변의 사라짐)이 의도된다. 이것은 암이 치유되었다는 것을 항상 의미하는 것은 아니다.

[0093] “지속된 반응”은, 치료 중지 후 종양 성장 감소에 대한 지속된 효과를 지칭한다. 예를 들어, 종양 크기는, 투여 단계의 개시시점에서의 크기와 비교하여 상동하거나 보다 작게 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 지속된 반응은, 적어도 치료 기간의 적어도 1.5X, 2.0X, 2.5X, 또는 3.0X 길이의 치료 기간 또는 그 이상의 기간과 상동한 기간을 갖는다.

[0094] 본원에 사용된 바와 같이, “암 재발의 감소 또는 억제”는 종양 또는 암 재발 또는 종양 또는 암 진행을 감소시키거나 억제하는 것을 의미한다. 본원에 개시된 바와 같이, 암 재발 및/또는 암 진행은 비제한적으로 암 전이를 포함한다.

[0095] 본원에 사용된 바와 같이, "부분적 반응" 또는 "PR"는 치료에 대한 반응에서 하나 이상의 종양 또는 병변의 크기, 또는 체내에서 암의 길이의 감소를 가리킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, PR 은, 기준선 SLD를 참조로, 표적 병변의 가장 긴 직경 (SLD)의 총합의 적어도 30%의 감소를 지칭한다.

[0096] 본원에 사용된 바와 같이, “안정한 질환” 또는 “SD” 는 치료 개시 이래 가장 SLD를 참조로 고려하여 PD 에 대한 자격이 되도록 충분히 증가하지 않거나 또는 PR 에 대한 자격이 되도록 표적 병변의 충분한 위축이 발생하지 않은 상태를 지칭한다.

[0097] 본원에 사용된 바와 같이, “진행성 질환” 또는 “PD” 는 표적 병변의 SLD의 적어도 20% 증가를 지칭한다 (치료 개시 또는 하나 이상의 신규 병변의 존재 이후 보고된 최소 SLD를 참고로 하여).

[0098] 용어 "생존"은 살아남은 상기 환자를 가리키며, 전체 생존 뿐만 아니라 무진행 생존을 포함한다.

[0099] 본원에 사용된 바와 같이, “무진행 생존” (PFS)은, 질환이 더 나빠지지 않는, 치료된 질환 (예컨대 암)의 치료 동안 및 치료 후의 시간 길이를 지칭한다. 무진행 생존은, 환자가 완전 반응 또는 부분 반응을 경험한 시간

의 양, 뿐만 아니라 환자가 안정적 질환을 경험한 시간의 양을 포함할 수 있다.

- [0100] 본원에 사용된 바와 같이, “전체 생존” (OS) 은 특정 기간 후 생존할 가능성이 큰 군 중 개체의 백분율을 지칭한다.
- [0101] “생존율 연장”이란 미치료 환자 대비(즉, 상기 약제로 치료받지 않은 환자 대비), 또는 지정된 수준으로 또는 바이오마커를 발현하지 않는 환자 대비, 및/또는 승인된 항-종양 제제로 치료 받은 환자 대비, 치료 받은 환자에서 전체 또는 무진행 생존율 증가를 의미한다.
- [0102] 본원에서의 목적을 위해, 조직 샘플의 “단편”은 조직 샘플의 단일부 또는 조각, 예를 들어, 조직 샘플 (예컨대, 종양 샘플)로부터 절단된 조직 또는 세포의 얇은 슬라이스를 의미한다. 하기가 이해될 것이다: 조직 샘플의 다중 절편이 수행 및 분석될 수 있으며, 단, 하기가 이해된다: 조직 샘플의 상동한 절편은 형태학적 수준 및 분자 수준 둘 모두에서 분석될 수 있거나, 또는 폴리펩티드 (예컨대, 면역조직화학에 의하여) 및/또는 폴리뉴클레오티드 (예컨대, 원위치 혼성에 의하여)에 대해 분석될 수 있다.
- [0103] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 “이에 특이적으로 결합하는” 또는 “이에 특이적인”은, 표적 및 항체 간의 결합과 같은 측정가능하고 재생가능한 상호작용을 지칭하며, 이는 생물학적 분자를 포함하는 분자의 이중성 집단의 존재 하에서의 표적의 존재에 대한 측정요인이다. 예를 들면, 표적 (예피토프, 예컨대 인간 PD-L1 (서열 번호: 1)의 아미노산 잔기 279-290 일 수 있음)에 특이적으로 결합하는 항체는 다른 표적에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합능으로, 더욱 쉽게, 및/또는 더 긴 지속시간으로 상기 표적에 결합하는 항체이다. 일 구현예에서, 비관련 표적에 대한 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정법(RIA)으로 측정 시, 약 10% 미만의 항체의 결합이다. 특정 구현예에서, 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항체는 상이한 종으로부터의 단백질 중에서 보존된 단백질의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현예에서, 특이적 결합은 필연적으로 (비록 포함할 수 있어도) 배타적인 결합을 요구하지 않는다.
- [0104] “대상체” 또는 “개체”는 포유동물이다. 포유동물에는 가축 (가령, 소, 양, 고양이, 개, 및 말), 영장류 (가령, 인간과 비-인간 영장류, 예를 들면, 원숭이), 래빗, 그리고 설치류 (가령, 마우스 및 랫트)가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 특정 구현예에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.
- [0105] 본원에 사용되는 용어 “실질적으로 동일한”은 두 개의 수치 값 사이에 충분히 높은 정도의 유사성이 있어서, 당해 기술의 숙련가가 두 값 사이의 차이가 상기 값들에 의해 측정되는 생물학적 특징(예컨대, K_d 값 또는 발현 수준)의 문맥 내에서 생물학적 및/또는 통계학적 유의성이 거의 또는 전혀 없는 것으로 간주하는 것을 의미한다. 상기 두 값의 차이는, 예를 들어, 기준/비교 값의 함수로서 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 및/또는 약 10% 미만이다.
- [0106] 본원에 사용된 어구 “실질적으로 상이한”은 두 개의 수치 값 사이에 충분히 높은 정도의 상이성이 있어서, 당해 기술의 숙련가가 두 값 사이의 차이를 상기 값들(예컨대, K_d 값 또는 발현 수준)에 의해 측정되는 생물학적 특징들이 문맥 내에서 통계학적 유의성이 있다고 간주하는 것을 의미한다. 상기 두 값의 차이는, 예를 들어, 기준/비교 분자에 대한 값의 함수로서 약 10% 초과, 약 20% 초과, 약 30% 초과, 약 40% 초과, 및/또는 약 50% 초과이다.
- [0107] “T 세포 기능이상 장애”는 항원 자극에 대하여 증가되거나 감소된 반응성으로 특징화된 T 세포의 장애 또는 병태이다. 특정 구현예에서, T-세포 기능이상 장애는 특히 PD-1/PD-L1 및/또는 PD-L1/B7.1 를 통한 적절한 증가된 신호전달과 관련된 장애이다. 또 다른 구현예에서, T 세포 기능이상 장애는, T 세포가 시토카인을 분비하고, 세포용해 활성을 증식 또는 실행하는데 있어서 무감작성이거나 감소된 능력을 갖는 것이다. 또 다른 구현예에서, T 세포 고갈은 다수의 만성 감염 및 암 동안 발생하는 지속된 TCR 신호전달로부터 야기된 것이다. 이는, 이것이 불완전하거나 결핍된 신호전달을 통하여 야기되나, 지속된 신호전달로부터 야기된다는 점에서 무감작과 구별된다. 이는 하기에 의하여 정의된다: 불량한 효과기 작용, 억제성 수용체의 지속된 발현, 및 작용성 효과기 또는 기억 T 세포의 것과 구별되는 전사 상태. 고갈은 염증 및 종양의 최적 조절을 방해한다. 고갈은 하기 둘 모두에 의하여 유발될 수 있다: 음성 조절 경로 (예컨대, 면역조절 시토카인), 뿐만 아니라 세포 고유 음성 조절 (공자극) 경로 (PD-1, B7-H3, B7-H4 등). 특정 양태에서, 감소된 반응성은 면역원을 발현하는 병원체 또는 종양의 비효율적 조절을 유발한다. T 세포 기능이상으로 특징화된 T 세포 기능이상 장애의 예시는 미해결 급성 감염, 만성 감염, 및 종양 면역성을 포함한다.
- [0108] 본원에서 사용되는 “치료”(및 “치료하다” 또는 “치료하는”과 같은 이의 문법적 변형)는 치료되는 개체의 자연적

인 과정을 변경하려는 임상적 개입을 나타내며, 예방을 위해 또는 임상 병리학의 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발병 또는 재발 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 차도 또는 개선된 예후를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 항체 (예컨대 항-PD-1 항체 및/또는 항-PD-L1 항체)는 질환의 발병을 지연시키거나 질환의 진행을 서행시키기 위해 사용된다.

- [0109] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "종양"은 악성이든 양성이든, 모든 신생물성 세포 성장 및 증식, 그리고 모든 전-암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성", 및 "종양"은 본원에서 지칭될 경우 상호 배타적인 것이 아니다.
- [0110] 본원에 사용된 바와 같은 "종양-침윤 면역 세포"는 이의 종양 또는 샘플 내 존재하는 임의의 면역 세포를 지칭한다. 종양-침윤 면역 세포는 비제한적으로 하기를 포함한다: 종양내 면역 세포, 종양주변 면역 세포, 기타 종양 간질 세포 (예컨대, 섬유아세포), 또는 이의 임의의 조합. 상기 종양-침윤 면역 세포는, 하기일 수 있다: T 림프구 (예컨대 CD8+ T 림프구 및/또는 CD4+ T 림프구), B 림프구, 또는 기타 골수-계통 세포 (하기를 포함: 과립구 (예컨대, 호중구, 호산구, 및 호염기구), 단핵구, 대식세포, 수지상 세포 (예컨대, 지상감입 수지상 세포), 조직구, 및 자연 살해 세포).
- [0111] "종양 세포"는, 본원에 사용된 바와 같이, 이의 종양 또는 샘플 내에 존재하는 임의의 종양 세포를 지칭한다. 종양 세포는, 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된 방법을 사용하여, 종양 샘플, 예를 들어, 기질 세포 및 종양-침윤 면역 세포에 존재할 수 있는 기타 세포와 구별될 수 있다.
- [0112] "종양 면역성"은 종양이 면역 인식 및 청소술에 대해 회피되는 과정을 지칭한다. 따라서, 치료 개념으로서, 종양 면역성은, 상기 회피가 약화되고, 상기 종양이 면역계에 의하여 인식되고 공격될 경우 "치료된" 것이다. 종양 인식의 예시는 종양 결합, 종양 수축, 및 종양 청소를 포함한다.
- [0113] "치료적 유효량"은 포유동물에서 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하기 위한 치료제의 양을 나타낸다. 암의 경우, 치료제의 치료적 유효량은 암 세포의 갯수를 감소시키고; 원발성 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관 내로의 암 세포 침윤을 억제하고(즉, 얼마간 지연하고 바람직하게는 중지시키고); 종양 전이를 억제하고(즉, 얼마간 지연하고 바람직하게는 중지시키고); 종양 성장을 얼마간 억제하고; 상기 장애와 관련된 하나 이상의 증상을 얼마간 경감시킬 수 있다. 상기 약물이 성장을 예방하거나 및/또는 기존 암 세포를 사멸시킬 정도이면, 상기 약물은 세포증식 억제제 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 요법을 위해, 생체내 효능은, 예를 들면 생존 기간, 질환 진행까지의 시간 (TTP), 반응 속도 (예컨대, CR 및 PR), 반응 기간, 및/또는 삶의 질 평가에 의해 측정될 수 있다.
- [0114] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는데 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 나타낸다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄 (각각 VH 및 VL)의 가변 도메인은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 초가변 영역(HVR)을 포함한다. 참고: 예를 들면, Kindt et al. *Kuby Immunology*. 6th ed., page 91, W.H. Freeman and Co., 2007. 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원 결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 더욱이, 특정 항원을 결합하는 항체는 항원을 결합하여 각각 상보성 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하는 항체로부터 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 참고: 예를 들면, Portolano et al. *J. Immunol.* 150: 880-887, 1993 및 Clarkson et al. *Nature*. 352: 624-628, 1991.
- [0115] 용어 "카밧에서의 가변-도메인 잔기-넘버링" 또는 "카밧에서의 아미노산-위치 넘버링" 및 이들의 변형은 [Kabat et al., 상기]에서 항체 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 사용된 넘버링 시스템을 지칭한다. 상기 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 이것으로의 삽입에 대응하는 더 적거나 더 많은 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들면, 중쇄 가변 도메인에는 H2의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입(카밧에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기(예를 들면, 카밧에 따른 잔기 82a, 82b, 및 82c 등)가 포함될 수 있다. 잔기의 카밧 넘버링은 항체 서열의 상동성 영역에서 "표준" 카밧 넘버링된 서열과의 정렬에 의해 주어진 항체에 대해 측정될 수 있다.
- [0116] Kabat 넘버링 시스템은 가변 도메인 내 잔기(대략 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)에 대해 지칭할 때 일반적으로 사용된다(예를 들면, Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지수"는 일반적으로, 면역글로불린 중쇄 불변 영역 내의 잔기를 지칭할 경우 사용된다 (예컨대, 상기 Kabat et al. 에

보고된 EU 지수). "카밧으로의 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다.

- [0117] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "백터,"는 연결되는 또 다른 핵산을 전파시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 용어는 자가-복제 핵산 구조로서의 백터 뿐만 아니라 이것이 도입되는 숙주 세포의 게놈에 삽입되는 백터를 포함한다. 특정 백터는 이들이 작동가능하게 연결되는 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 상기 백터는 본원에서 "발현 백터"로서 지칭된다.
- [0118] 본원에서 사용될 경우, "성장 억제제"는 시험관내 또는 생체내에서 세포(예를 들면, 성장이 PD-L1 발현에 의존적인 세포)의 성장 및/또는 증식을 억제하는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 따라서, 성장 억제제는 S 상에서 세포의 백분율을 유의미하게 감소시키는 것일 수 있다. 성장 억제제의 예에는 세포 주기 진행을 차단하는 제제(S 상 이외의 지점에서), 예컨대 G1 정지 및 M-상 정지를 유도하는 제제가 포함된다. 전통적 M-상 차단제에는 빈카(빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁산, 및 토포이소머라제 II 억제제, 예컨대 안트라사이클린 항생제 독소루비신((8S-시스)-10-[(3-아미노-2,3,6-트리데옥시- α -L-라이소-헥사피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라하이드로-6,8,11-트리하이드록시-8-(하이드록시아세틸)-1-메톡시-5,12-나프타센디온), 에피루비신, 다우노루비신, 에토포사이드, 및 블레오마이신이 포함된다. G1을 정지시키고, 또한 S-상 정지로 확대되는 제제는 예를 들면, DNA 알킬화제, 예컨대 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로르에타민, 시스플라틴, 메토타렉세이트, 5-플루오로우라실, 및 아라-C이다. 추가 정보는 하기에서 발견될 수 있다: *The Molecular Basis of Cancer,* Mendelsohn and Israel, eds., Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami *et al.* (WB Saunders: Philadelphia, 1995), 특히 p. 13. 탁산(파클리탁셀 및 도세탁셀)은 들다주목(yew tree)에서 유도된 항암 약물이다. 유럽 주목에서 유도된 도세탁셀(TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer)은 파클리탁셀의 반합성 유사체(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb)이다. 파클리탁셀 및 도세탁셀은 튜블린 이량체로부터 미세소관의 어셈블리를 촉진하고, 탈중합 예방에 의해 미세소관을 안정화하여 세포에서 유사분열의 억제를 야기한다.
- [0119] "방사선 요법"은 세포를 정상적으로 작용하도록 하거나 세포를 파괴하는 것을 함께 제한하기 위하여 세포에 충분한 손상을 유도하기 위하여 지시된 감마선 또는 베타선의 사용을 의미한다. 치료의 투여량 또는 기간을 측정하기 위하여 본 분야에서 많은 방법이 있을 것이라는 것이 고려된다. 전형적인 치료를 1회성 투여로 실시하였으며, 전형적인 투여량은 1일 당 10 내지 200 단위 (Grays)의 범위이다.
- [0120] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 상호교환가능하게 사용되며, 예를 들면, 치료가 요구되는 임의의 단일 동물, 더 바람직하게는 포유동물(비-인간 동물, 예를 들면, 개, 고양이, 말, 래빗, 동물원 동물, 소, 돼지, 양, 및 비-인간 영장류 포함)을 지칭한다. 특정 구현예에서, 본원에서 환자는 인간이다.
- [0121] 본원에 사용된 바와 같이, "투여하는"은, 화합물(예컨대, 항암 치료제) 또는 약제학적 조성물(예컨대, 항암 치료제를 포함하는 약제학적 조성물)의 투여량을 대상체(예컨대, 환자)에 제공하는 방법을 의미한다. 투여는 모든 적합한 수단, 예를 들면 비경구, 폐내, 및 비강내로, 그리고 국소 치료가 바람직한 경우, 병변내 투여에 의한 것일 수 있다. 비경구 주입은, 예를 들어, 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 복용은 임의의 적합한 경로, 예컨대 부분적으로 상기 투여가 간단한 것이나 또는 만성적인 것이나에 따라, 주사, 예컨대 정맥내 또는 피하 주사에 의해 수행될 수 있다. 비제한적으로 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼러스 투여 및 펄스 주입을 비롯한 다양한 복용 스케줄이 본원에 고안되었다.
- [0122] 용어 "동시에"는 둘 이상의 치료제의 투여를 가리키기 위해 사용되는데, 적어도 투여의 일부가 시간적으로 겹치는 것을 가리킨다. 따라서, 동시 투여에는 하나 이상의 다른 제제(들)의 투여를 중단한 후 하나 이상의 제제(들)의 투여가 이어질 때의 투여 요법이 포함된다.
- [0123] **II. 조성물 및 방법**
- [0124] 본 발명은 PD-L1에 결합하는 신규한 항체를 제공한다. 본 발명의 항체는, 예를 들어, PD-L1의 존재 또는 PD-L1의 발현 수준(예컨대, 중앙 샘플을 포함하는 생물학적 샘플 내에서의)의 검출에 유용하다.
- [0125] **A. 예시적인 항-PD-L1 항체**
- [0126] 본 발명은 하기를 제공한다: 예컨대, 진단성 적용(예컨대, 면역조직화학(IHC), 면역형광(IF), 및 면역블롯(예컨대, 웨스턴 블롯))에 유용한 항-PD-L1 항체. 일 예시에서, 본 발명은 PD-L1의 아미노산 잔기 279-290(예컨대, 인간 PD-L1 SKQSDTHLEET(서열 번호: 1)의 아미노산 잔기 279-290)를 포함하는 에피토프에 결합하는 항-PD-L1 항체를 제공하며, 이는 인간 PD-L1의 N-말단 세포질 영역의 일부분이다. PD-L1 상의 에피토프는 배좌

-의존적 또는 배좌-독립적인 방식으로 인식될 수 있다.

[0127] 일부 경우에서, PD-L1의 아미노산 잔기 279-290 에 결합하는 항-PD-L1 항체는 하기로부터 선택된 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 HVR을 포함한다: (a) 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (d) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (e) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및, (f) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3. 예를 들어, 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 하기를 포함한다: (a) 서열 번호: 2 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3. 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 하기를 포함한다: (a) 서열 번호: 9 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 10 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 11 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0128] 일부 경우에서, PD-L1 의 아미노산 잔기 279-290 에 결합하는 항-PD-L1 항체는 하기를 포함하며: (a) 서열 번호: 2 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 상기 항-PD-L1 항체는 하기 중쇄 가변 도메인 프레임워크 영역 (FR) 을 추가로 포함한다: (a) QSLSESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1; (b) QSLSESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2; (c) RLTISKPSSTKVDLKITSPTTEDATYFCGR(서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3; 또는 (d) WPGGTLVTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4. 일부 경우에서, PD-L1 의 아미노산 잔기 279-290 에 결합하는 항-PD-L1 항체는 하기를 포함하며: (a) 서열 번호: 2 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 상기 항-PD-L1 항체는 하기 중쇄 가변 도메인 프레임워크 영역 (FR) 을 추가로 포함한다: (a) QSLSESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1; (b) QSLSESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2; (c) RLTISKPSSTKVDLKITSPTTEDATYFCGR(서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3; 및 (d) WPGGTLVTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4.

[0129] 일부 경우에서, 항-PD-L1 항체는 PD-L1 의 아미노산 잔기 279-290 에 결합하고, 상기 항체는 하기를 포함한다: (a) 서열 번호: 2 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) QASESVYSNNYLS (서열 번호: 9)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) LASTLAS (서열 번호: 10)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) IGGKSSSTDGNA (서열 번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3. 일부 경우에서, 상기 항-PD-L1 항체는 하기 FR 을 포함하며: (a) QSLSESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1; (b) QSLSESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2; (c) RLTISKPSSTKVDLKITSPTTEDATYFCGR(서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3; 및 (d) WPGGTLVTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4. 그리고 추가적으로, 그리고 대안적으로 하기를 포함할 수 있다: (e) AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINC (서열 번호: 12)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L1; (f) WFQQKPGQPPKLLIY (서열 번호: 13)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L2; (g) GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYC (서열 번호: 14)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L3; 및 (h) FGGGTEVVVR (서열 번호: 15)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L4.

[0130] 일부 경우에서, PD-L1 의 아미노산 잔기 279-290에 결합하는 항-PD-L1 항체는 또한 하기를 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함할 수 있다: 서열 번호: 16의 아미노산 서열에 대한, 또는 이의, 적어도 80% (예컨대, 적어도 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 또는 89%), 적어도 90% (예컨대, 적어도 91%, 92%, 93%, 또는 94%), 또는 적어도 95% (예컨대, 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99%)의 서열 동일성 또는 서열. 특정 구현예에서, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 VH 서열은, 참조 서열 (서열 번호: 16)과 비교하여, 치환 (예컨대 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체는 PD-L1 에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 구현예에서, 총 1 내지 10개의 아미노산 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산)이 서열 번호: 16에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 구현예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 이외의 영역(즉, FR 에서)에서 발생한다. 임의로, 항-PD-L1 항체는 서열 번호: 16 의 VH 서열을 포함하고, 이는 상기 서열의 번역 후 변형을 포함한다. 특정 구현예에서, VH 는 하기로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 HVR을 포함한다: (a) 서열 번호: 2 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3.

- [0131] 일부 경우에서, PD-L1 의 아미노산 잔기 279-290에 결합하는 항-PD-L1 항체는 또한 하기를 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL) 서열을 포함할 수 있다: 서열 번호: 17의 아미노산 서열에 대한, 또는 이의, 적어도 80% (예컨대, 적어도 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 또는 89%), 적어도 90% (예컨대, 적어도 91%, 92%, 93%, 또는 94%), 또는 적어도 95% (예컨대, 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99%)의 서열 동일성 또는 서열. 특정 구현예에서, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 서열은, 참조 서열 (서열 번호: 17)과 비교하여, 치환 (예컨대 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 상기 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체는 PD-L1 에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 구현예에서, 총 1 내지 10개의 아미노산 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산)이 서열 번호: 17에서 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 특정 구현예에서, 상기 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 이외의 영역 (즉, FR에서) 발생한다. 임의로, 항-PD-L1 항체는 서열 번호: 17 에서의 VL 서열을 포함하고, 이는 상기 서열의 번역 후 변형을 포함한다. 특정 구현예에서, VL 은 하기로부터 선택된 1, 2, 또는 3개 HVR을 포함한다: (a) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 10 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 11 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.
- [0132] 일부 경우에서, PD-L1 의 아미노산 잔기 279-290에 결합하는 항-PD-L1 항체는 또한 하기를 갖는 VH 및 VL 서열 둘 모두를 포함하며: 서열 번호: 16 및 17 각각의 아미노산 서열에 대한, 또는 이의, 적어도 80% (예컨대, 적어도 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 또는 89%), 적어도 90% (예컨대, 적어도 91%, 92%, 93%, 또는 94%), 또는 적어도 95% (예컨대, 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99%)의 서열 동일성 또는 서열, 이는 상기 서열의 번역 후 변형을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.
- [0133] 기타 경우에서, 본 발명은 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 하기를 포함한다: (a) 서열 번호: 2 의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) QASESVYSNNYLS (서열 번호: 9)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) LASTLAS (서열 번호: 10)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) IGGKSSSTDGNA (서열 번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3. 일부 경우에서, 상기 항-PD-L1 항체는 하기 FR 을 포함하며: (a) QSLEESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H1; (b) QSLEESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLS (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H2; (c) RLTIKPSSTKVDLKITSPTTEDTATYFCGR(서열 번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H3; 및 (d) WGPGLTLTVSS (서열 번호: 8)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-H4. 그리고 추가적으로, 그리고 대안적으로 하기를 포함할 수 있다: (e) AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINC (서열 번호: 12)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L1; (f) WFQKPGQPPKLLIY (서열 번호: 13)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L2; (g) GVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYC (서열 번호: 14)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L3; 및 (h) FGGGTEVVVR (서열 번호: 15)의 아미노산 서열을 포함하는 FR-L4. 일부 구현예에서, 예를 들어, 항-PD-L1 항체는 서열 번호: 16 및 17 각각의 아미노산 서열의 서열을 포함하는 VH 및 VL 서열 둘 모두를 포함하며, 이는 번역 후 변형을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.
- [0134] 예를 들어, 본 발명은 하기를 특징으로 한다: 하기 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 갖는, 항-PD-L1 항체, 예컨대 항-PD-L1 항체 SP142.
- [0135] SP142 의 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 하기와 같다:
- [0136] QSLEESGGRLVKPDELTITCTVSGIDLSSSNGLTWVRQAPGEGLEWIGTINKDASAYYASWAKGRLTIKPS
- [0137] HVR-H1 HVR-H2
- [0138] SSTKVDLKITSPTTEDTATYFCGRIAFKTGTISIWGPGLTLTVSS (서열 번호: 16).
- [0139] HVR-H3
- [0140] SP142 의 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 하기와 같다:
- [0141] AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINCQASESVYSNNYLSWFQKPGQPPKLLIYLASTLASGVPSRFKSGSG
- [0142] HVR-L1 HVR-L2
- [0143] TQFTLTISGVQCDDAATYYCIGGKSSSTDGNAFGGGTEVVVR (서열 번호: 17).
- [0144] HVR-L3
- [0145] 일부 경우에서, 본 발명의 항-PD-L1 항체는, PD-L1 으로의 결합에 대해 본원에 기술된 항-PD-L1 항체 중 임의의

하나 이상의 것과 경쟁하는 항체이다. 일부 경우에서, 본 발명의 항-PD-L1 항체는, 상기 기술된 항-PD-L1 항체의 임의의 하나 이상의 것과 상동하거나 실질적으로 상동한 에피토프에 결합하는 항체이다.

[0146] 일부 경우에서, 임의의 상기 구현예에 따른 항-PD-L1 항체는, 키메라성, 인간화, 또는 인간 항체를 포함하는 단클론성 항체일 수 있다. 일 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 항체 단편, 예를 들면, Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 구현예에서, 항체는 전장 항체, 예를 들면, 온전한 IgG 항체 (예를 들면, 온전한 IgG1 항체) 또는 본원에서 정의된 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0147] 본 발명의 항-PD-L1 항체는, 하기 실시예에서 예시된 바와 같이 생물학적 샘플 내에서의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준의 검출에 유용하지만, 또한 치료적 용도로 사용되거나 적용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

[0148] 추가 양태에서, 상기 임의의 구현예에 따른 항-PD-L1 항체는 하기 섹션 1-5에 기재된 바와 같이 단독으로 또는 조합하여 임의의 특징을 편집할 수 있다.

[0149] 1. 항체 친화도

[0150] 특정 구현예에서, 본원에서 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$, 예를 들면, 10^{-8} M 또는 그 미만, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M 의 해리 상수 (Kd)를 갖는다.

[0151] 일 구현예에서, Kd는 하기의 검정에 의해 기재된 바와 같은 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원과 함께 수행된 방사능표지된 항원 결합 검정(RIA)에 의해 측정된다. 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화성은 일련의 적정된 비표지된 항원의 존재하에 최소 농도의 (¹²⁵I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시키고 이어서 결합된 항원을 항-Fab 항체 코팅된 플레이트로 포획함에 의해 측정된다 (예를 들어, 참고: Chen et al. *J. Mol. Biol.* 293: 865-881, 1999). 검정용 조건을 수립하기 위해, MICROTITER® 다중-웰 플레이트 (Thermo Scientific)는 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6)에서 포착 항-Fab 항체 (Cappel Labs)의 5 $\mu\text{g/ml}$ 로 밤새 코팅되고, 그리고 그 뒤에 2 내지 5 시간 동안 실온 (대략 23°C)에서 PBS 내 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비-흡착제 플레이트 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [¹²⁵I]-항원은 관심 Fab의 연속 희석으로 혼합된다 (예를 들면, 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치, Presta et al. *Cancer Res.* 57: 4593-4599, 1997). 그후 관심 Fab를 밤새 항온처리한다; 그러나, 평형에 도달하는 것을 보장하도록 항온처리는 보다 긴 기간 (예컨대, 약 65시간) 동안 지속할 수 있다. 그후, 혼합물을 실온에서 (예컨대, 1시간 동안) 항온처리를 위해 포획 플레이트로 옮긴다. 그후, 용액을 제거하고 플레이트를 PBS 중의 0.1% 폴리소르베이트 20(TWEEN-20™)으로 8회 세척하였다. 플레이트가 건조되어 있을 경우, 150 μl /웰의 발광제(scintillant; MICROSCINT-20™; Packard)를 첨가하고, 플레이트를 10분간 탐카운트 감마(TOPCOUNT™ gamma) 카운터 (Packard) 상에서 카운팅하였다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도가 경쟁 결합 검정에서 사용하기 위해 선택된다.

[0152] 또 다른 구현예에 따라, Kd는 ~10 반응 단위 (RU)에서 고정된 항원 CM5 칩으로 25° C에서 BIACORE®-2000 또는 BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 이용한 표면 플라스몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 간략하게, 카복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩(CM5, BIACORE, Inc.)은 이의 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 하이드로클로라이드 (EDC) 및 N-하이드록시수신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 항원은 pH 4.8, 10 mM 아세트산나트륨으로 5 $\mu\text{g/ml}$ (-0.2 μM) 까지 희석되고, 그 다음 5 μl /분의 유속으로 주입되어 커플링된 단백질의 대략 10 반응 단위 (RU)를 달성한다. 항원 주사 후, 1 M 에탄올아민을 주사하여 미반응된 그룹을 차단시킨다. 역학적 측정을 위해, 2배 연속 희석된 Fab (0.78 nM 내지 500 nM)를 대략 25 $\mu\text{l/min}$ 의 유속으로 25° C 에서 PBS 중에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20™) 계면활성제 (PBST)와 함께 사용한다. 결합 속도 (k_{on}) 및 해리 속도 (k_{off})를 결합 및 해리 센서그램의 동시 피팅(simultaneously fitting)에 의하여 단순한 일 대 일 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (BIACORE® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 산출하였다. 평형 해리 상수(Kd)는 k_{off}/k_{on} 비율로서 산출된다. 참고: 예를 들면, Chen et al. *J. Mol. Biol.* 293: 865-881, 1999. 만일 가역속도(on-rate)가 상기 표면 플라스몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 를 초과하면, 분광기, 예컨대 정지-유동 구비된 분광광도계 (Aviv Instruments) 또는 교반된 큐벳을 갖춘 8000-시리즈 SLM-AMINCO™ 분광광도계 (ThermoSpectronic)에서 측정된 바와 같이 항원의 증가 농도의 존재하에 25 °C에서 pH 7.2, PBS내 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 형광 방출 세기 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역 통과)에서의 증가 또는 감소를 측정하는 형광성 켄칭 기술을 이용함으로써 가역 속도는 측정될 수 있다.

[0153] 2. 항체 단편

[0154] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 및 scFv 단편, 및 하기의 다른 단편을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해, 참고 Hudson et al. *Nat. Med.* 9: 129-134, 2003. scFv 단편의 검토를 위해, 다음 문헌을 참조한다: Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*. Vol. 113, pp. 269-315, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, 1994; 또한 하기를 참고한다: WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458. 구제(salvage) 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 검토를 위해서는, U.S. 특허 제5,869,046호를 참조한다.

[0155] 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들면, 하기를 참조한다: EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al. *Nat. Med.* 9: 129-134, 2003; 및 Hollinger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90: 6444-6448, 1993. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 하기에 기술된다: Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134, 2003.

[0156] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 구현예에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체(Domantis, Inc., Waltham, MA; 예컨대, 미국 특허 제6,248,516호 참조)이다.

[0157] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같이 온전한 항체의 단백질 가수분해 소화 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포(예컨대, *이. 콜라이* 또는 *파지*)에 의한 생산을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 기술들로 제조될 수 있다.

[0158] 3. 키메라성 및 인간화 항체

[0159] 특정 구현예에서, 본원에 제공되는 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라성 항체는, 예를 들면 하기에 기재되어 있다: 미국 특허 번호 4,816,567 및 Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81: 6851-6855, 1984. 일 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역(예컨대, 마우스, 랫트, 햄스터, 래빗, 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이에서 유도된 가변 영역)과 인간 불변영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 친계 항체의 부류로부터 변화된 "부류 스위칭된" 항체이다. 키메라 항체는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0160] 특정 구현예에서, 키메라 항체는 인간화된 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 인간화되어 인간에 대한 면역원성이 감소되어 있고 친계 비-인간 항체의 특이성 및 친화성을 보유한다. 일반적으로, 인간화 항체는, HVR, 예를 들면, CDR, (또는 그 일부)가 비인간 항체로부터 유도되고, FR (또는 그 일부)가 인간 항체 서열로부터 유도되는 하나 이상 가변 도메인을 포함한다. 인간화된 항체는 임의로 또한 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함한다. 일부 구현예에서, 인간화 항체에서 일부 FR 잔기는 비인간 항체 (예를 들면, HVR 잔기가 유도되는 항체)로부터 상응하는 잔기로 치환되어, 예를 들면, 항체 특이성 또는 친화성을 회복 또는 개선한다.

[0161] 인간화 항체 및 이들의 제조방법은, 예를 들면, 하기에 고찰된다: Almagro et al. *Front. Biosci.* 13: 1619-1633 (2008), 추가로, 예를 들어, 하기에 기술된다: Riechmann et al. *Nature.* 332: 323-329, 1988; Queen et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 10029-10033, 1989; 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; Kashmiri et al. *Methods.* 36: 25-34, 2005 (하기를 기술: SDR (a-CDR) 그래프팅); Padlan. *Mol. Immunol.* 28: 489-498, 1991 (하기를 기술: "재표면화"); Dal'Acqua et al. *Methods.* 36: 43-60, 2005 (하기를 기술: "FR 셔플링"); 및 Osbourn et al. *Methods* 36: 61-68, 2005 및 Klimka et al. *Br. J. Cancer.* 83: 252-260, 2000 (하기를 기술: FR 셔플링에 대한 "안내된 선택" 접근).

[0162] 인간화를 위해 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: "베스트-피트" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역 (문헌참조: 예를 들어, Sims et al. *J. Immunol.* 151: 2296, 1993); 특정 하위그룹의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (참고: 예를 들어, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 4285, 1992; 및 Presta et al. *J. Immunol.* 151: 2623, 1993); 인간 성숙한 (체세포적으로 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식선 프레임워크 영역 (참고: 예를 들어, Almagro et al. *Front. Biosci.* 13: 1619-1633, 2008); 및 스크리닝 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역 (참고: 예를 들어, Baca et al. *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684, 1997 및 Rosok et al. *J. Biol. Chem.* 271: 22611-22618, 1996).

[0163] 4. 다중특이적 항체

[0164] 특정 구현예에서, 본원에서 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들면, 이중특이적 항체이다. 다중특이성 항체는 최소한 두 개의 상이한 자리에 대해 결합 특이성을 갖는 단클론성 항체이다. 특정 구현예에서, 결합 특이성들 중 하나는 PD-L1에 대한 것이고 다른 하나는 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 구현예에서, 이중특이적 항체는 PD-L1 의 2개의 상이한 에피토프에 또한 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 PD-L1 를 발현하는 세포에 세포독성제를 국소화하는데 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로 제조될 수 있다.

[0165] 다중특이적 항체를 제조하기 위한 기술은 비제한적으로 하기를 포함한다: 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 동시 발현 (문헌참조: Milstein et al. *Nature*. 305: 537, 1983, WO 93/08829, 및 Traunecker et al. *EMBO J.* 10: 3655, 1991), 및 "크롭-인-홀" 가공 (참고: 예를 들면, 미국 특허 번호 5,731,168). 다중-특이적 항체는 또한 다음과 같이 제조될 수 있다: 항체 Fc-이종이량체 분자를 제조하기 위한 정전기 스티어링 효과를 가공함에 의해 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교 결합시킴에 의해 (참고: 예를 들면, 미국 특허 번호 4,676,980, 및 Brennan et al. *Science*. 229: 81, 1985); 이중특이적 항체를 제조하기 위해 류신 지퍼를 사용함에 의해(참고: 예를 들어, Kostelny et al. *J. Immunol.* 148(5): 1547-1553, 1992); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위해 "디아바디" 기술을 사용함에 의해 (참고: 예를 들어, Hollinger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90: 6444-6448, 1993); 및 단일쇄 Fv(sFv) 이량체를 사용함에 의해 (참고: 예를 들어, Gruber et al. *J. Immunol.* 152: 5368, 1994); 및 다음 문헌에 기재된 바와 같이 3특이적 항체를 재조합에 의해 (참고: 예를 들어, Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60, 1991).

[0166] "옥토퍼스 항체"를 포함하는, 3개 이상의 작용성 항원 결합 부위를 갖는 가공된 항체는 또한 본원에 포함된다 (문헌참조: 예를 들어 US 2006/0025576A1).

[0167] 본원에서 항체 또는 단편은 또한 PD-L1 및 또 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이원 작용 FAB" 또는 "DAF"를 포함한다(문헌참조: 예를 들어 US 2008/0069820).

[0168] 5. 항체 변이체

[0169] 특정 구현예에서, 본원에 제공되는 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 상기 항체의 결합 친화도 및/또는 기타 생물학적 특성들을 향상시키는 것이 바람직한 일일 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열로 적당한 변형을 도입하거나 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 상기 변형은 예를 들어, 항체의 아미노산 서열내 잔기들로부터의 결실 및/또는 이들로의 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 결실, 삽입, 및 치환의 임의의 조합이 만들어져서 최종 작제물에 도달할 수 있다, 단, 최종 작제물은 원하는 특성, 예를 들면, 항원-결합을 보유한다.

[0170] a) 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0171] 특정 구현예에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환적 돌연변이 유발을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 "바람직한 치환."의 제목하에 표 1에서 보여준다. 보다 실질적 변화는 "예시적 치환"의 표제하에 표 1에 제공되고, 추가로 아미노산 측쇄 부류를 참조로 하기에 기재된 바와 같다. 아미노산 치환은 목적하는 활성, 예컨대, 보유된/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 개선된 ADCC 또는 CDC를 위해 스크리닝된 제품 및 관심 항체에 도입될 수 있다.

표 1

[0172] 예시적이고 바람직한 아미노산 치환

본래 잔기	예시적 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu

Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

- [0173] 아미노산은 통상의 측쇄 성질에 따라 분류될 수 있다:
- [0174] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- [0175] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- [0176] (3) 산성: Asp, Glu;
- [0177] (4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0178] (5) 쇠 배향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;
- [0179] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0180] 비-보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류의 구성원으로 교환시킬 필요가 있다.
- [0181] 치환 변이체의 일 유형은 친계 항체 (예컨대, 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 초가변 영역 잔기를 치환함을 포함한다. 일반적으로, 추가의 연구를 위해 선택되는 생성된 변이체(들)는 친계 항체에 비해 특정 생물학적 특성(예컨대, 증가된 친화도, 감소된 면역원성)에 있어서 변형(예컨대, 개선)을 갖고/갖거나 친계 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 보유할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화도 성숙 항체이며, 이것은, 예를 들면, 본원에 기재된 바와 같은 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기술을 사용하여 통상적으로 생성될 수 있다. 간략하게, 하나 이상의 HVR 잔기를 성숙시키고, 변이체 항체를 파지 상에 디스플레이시키고, 특정 생물학적 활성(예컨대, 결합 친화도)에 대해 스크리닝한다.
- [0182] 변형(예컨대, 치환)은 HVR에서, 예컨대, 항체 친화도를 개선시키기 위해 이루어질 수 있다. 이러한 변형은 HVR "핫스팟(hotspot)", 즉, 체세포 성숙 공정 동안 고주파에서 성숙을 겪는 코돈에 의해 암호화된 잔기(예컨대, 참고: Chowdhury. *Methods Mol. Biol.* 207: 179-196, 2008), 및/또는 SDR (a-CDR)에서 수행될 수 있고, 수득한 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화성에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터 작제하고 재선택함에 의한 친화성 성숙화가 하기에 기술되었다: 예를 들어, Hoogenboom et al. *Methods in Molecular Biology*. 178: 1-37, O' Brien et al. eds., Human Press, Totowa, NJ, 2001. 친화성 성숙화의 일부 구현예에서, 다양성이 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류 발생 경향 PCR, 쇠 셔플링 또는 올리고뉴클레오타이드 지시된 돌연변이유발)에 의한 성숙화를 위해 선택되는 가변 유전자에 도입된다. 이후 2차 라이브러리가 형성된다. 이후 라이브러리를 스크리닝하여 목적하는 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 식별한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지시된 접근법을 포함하며, 여기서 몇몇 HVR 잔기(예컨대, 한번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관련된 HVR 잔기는 특히, 예컨대, 알라닌 주사 돌연변이유발(alanine scanning mutagenesis) 또는 모델링을 사용하여 식별할 수 있다. 특히, HVR-H3 및 HVR-L3이 흔히 표적화된다.
- [0183] 특정 구현예에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 이러한 변형이 항체가 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한 하나 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들면, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변형(예컨대, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)은 HVR에서 이루어질 수 있다. 상기 변형은 HVR "핫스팟" 또는 SDR의 외부에 있을 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 구현예에서, 각각의 HVR는 변형되지 않거나, 또는 1개 이하, 2개 이하, 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.
- [0184] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 식별에 유용한 방법을 "알라닌 주사 돌연변이유발"이라고 한다 (하기에 기재된 바와 같음: Cunningham et al. *Science*. 244: 1081-1085, 1989). 이 방법에서는, 표적 잔기들(예컨대, Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu 와 같은 하전된 잔기)의 잔기 또는 그룹을 식별하고 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예컨대, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체하여 항체와 항원의 상호작용이 영

항을 받는지를 측정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 작용적 민감성을 입증하는 아미노산 위치에서 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 항체와 항원 간의 접촉 지점을 식별하기 위한 항원-항체 복합체의 측정 구조. 상기 접촉 잔기 및 인접 잔기가 치환을 위한 후보물질로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 이들이 목적하는 특성을 함유하는지 측정하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0185] 아미노산 서열 삽입은 1 잔기 내지 100 이상 잔기를 함유하는 폴리펩티드 길이 범위의 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열간 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 또 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드 또는 효소(예컨대, ADEPT에 대한)에 대한 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.

[0186] b) 글리코실화 변이체

[0187] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변형된다. 항체에 대한 당화 부위의 부가 또는 결실은 아미노산 서열을 변경시킴으로써 편리하게 달성될 수 있어서 하나 이상 글리코실화 부위는 제조 또는 제거된다.

[0188] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 여기에 부착된 탄수화물은 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 원상 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 대한 N-연결부에 의해 일반적으로 부착되는 분지형, 2분지 올리고당을 포함한다. 예를 들면, 참고: Wright et al. *TIBTECH.* 15: 26-32, 1997). 올리고당은 다양한 탄수화물, 예컨대, 만노스, N-아세틸 글루코사민(GlcNAc), 갈락토오스, 시알산, 뿐만 아니라 2분지 올리고당 구조의 "줄기(stem)"에서 GlcNAc에 부착된 푸코오스를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체에서 올리고당의 변형은 특정 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 제조하기 위해 실시될 수 있다.

[0189] 한 구현예에서, Fc 영역에 (직접적으로 또는 간접적으로) 부착된 푸코오스가 부족한 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들면, 이러한 항체 중의 푸코오스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코오스의 양은, 예를 들면, WO 2008/077546에 기재된 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분광분석법에 의해 측정된 바와 같은 Asn297 (예를 들면, 복합체, 혼성체 및 높은 만노스 구조)에 부착된 모든 당구조의 합에 비해, Asn297에서 당 쇄내에 푸코오스의 평균 양을 산출함으로써 측정된다. Asn297는 Fc 영역의 대략 위치 297에 위치한 아스파라긴 잔기를 나타낸다(Fc 영역 잔기의 EU 넘버링); 그러나, Asn297은 또한, 항체의 미량 서열 변형으로 인해, 위치 297의 대략 ± 3 아미노산 업스트림 또는 다운스트림에, 즉, 위치 294 내지 300 사이에 위치할 수 있다. 상기 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 작용을 가질 수 있다. 참고: 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 US 2003/0157108 및 US 2004/0093621. "탈푸코실화된" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공보의 예는 다음을 포함한다: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336: 1239-1249, 2004; 및 Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614, 2004. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 하기를 포함한다: 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249: 533-545, 1986; US 2003/0157108; 및 WO 2004/056312, 특히 실시예 11), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실전달효소 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (참고, 예를 들면, Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614, 2004; Kanda et al. *Biotechnol. Bioeng.* 94(4): 680-688, 2006; 및 WO2003/085107).

[0190] 예를 들면, 항체의 Fc 영역에 부착된 2분지 올리고당이 GlcNAc에 의해 양분되어 있는, 이등분된 올리고당을 갖는 항체 변이체가 추가로 제공된다. 상기 항체 변이체는 푸코실화를 감소시킬 수 있고/있거나 ADCC 작용을 개선시킬 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예는, 예를 들면, 하기에 기술된다: WO 2003/011878; US 특허 번호 6,602,684; 및 US 2005/0123546. Fc 영역에 부착된 올리고당에 적어도 하나의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 상기 항체 변이체는 CDC 작용을 개선시킬 수 있다. 상기 항체 변이체는, 예를 들면, 하기에 기술된다: WO 1997/30087; WO 1998/58964; 및 WO 1999/22764.

[0191] c) Fc 영역 변이체

[0192] 특정 구현예에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)의 Fc 영역에 도입될 수 있으며, 이에 의해 Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간WO Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄ Fc 영역)을 포함할 수 있다.

- [0193] 특정 구현예에서, 본 발명은 모든 효과기 작용은 아니지만 일부 효과기 작용을 지니는 항체 변이체를 고려하며, 이 작용은 상기 항체 변이체를 생체내 항체 반감기가 중요하지만 특정 효과기 작용(예컨대 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 해로운 용도에 바람직한 후보로 만든다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정은 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/감손을 식별하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들면, Fc 수용체(FcR) 결합 검정은 항체가 FcγR 결합은 결핍되지만(따라서 ADCC 활성이 결핍될 것 같음), FcRn 결합 능력을 보유하도록 보장하기 위해 수행될 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 일차 세포, NK 세포는 FcγRIII 만을 발현하는 반면 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII 을 발현한다. 조혈 세포상의 FcR 발현은 다음 문헌의 464 페이지 상의 표 3에 요약되어 있다: Ravetch et al. *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-492, 1991). 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 검정의 비-제한적인 예는 하기에 기재된다: 미국 특허 번호 5,500,362 및 5,821,337; Hellstrom et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83: 7059-7063, 1986; Hellstrom et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 1499-1502, 1985; 및 Bruggemann et al. *J. Exp. Med.* 166: 1351-1361, 1987). 대안적으로, 하기와 같은 비-방사성 검정 방법이 사용될 수 있다: 예를 들어, 유동 세포측정을 위한 ACTI™ 비-방사성 세포독성 검정 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); 및 CytoTox 96® 비 방사성 세포독성 검정 (Promega, Madison, WI). 그와 같은 검정을 위해 유용한 효과기 세포에는 말초 혈액 단핵구(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포가 포함된다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 하기와 같이 생체내 평가될 수 있다: 예를 들면, 하기에 기술된 바와 같은 동물 모델: Clynes et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95:652-656, 1998. C1q 결합 검정은 또한, 항체가 C1q을 결합할 수 없고 이에 따라 CDC 활성이 결핍됨을 식별하기 위해 수행될 수 있다. 참고: 예를 들면, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서의 C1q 및 C3c 결합 ELISA. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 검정이 수행될 수 있다(참고: 예를 들어, Gazzano-Santoro et al. *J. Immunol. Methods.* 202: 163, 1996; Cragg et al. *Blood.* 101:1045-1052, 2003; 및 Cragg et al. *Blood* 103: 2738-2743, 2004). FcRn 결합 및 생체내 청소율/반감기 측정은 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다 (참고: 예를 들어, Petkova, S.B. *Intl. Immunol.* 18(12): 1759-1769, 2006).
- [0194] 감소된 효과기 작용을 가진 항체는 하나 이상의 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329의 치환을 갖는 것들을 포함한다 (미국 특허 제6,737,056호). 상기 Fc 돌연변이체는, 알라닌에 대해 잔기 265 및 297의 치환을 갖는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하여, 2 또는 그 초과인 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581).
- [0195] FcR로의 개선되거나 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 참고: 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 Shields et al. *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604, 2001).
- [0196] 특정 구현예에서, 항체 변이체는 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 치환, 예컨대, Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334에서의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다 (잔기의 EU 넘버링).
- [0197] 일부 구현예에서, 변형은 예를 들어 하기에 기술된 바와 같이, 변경된 (즉, 개선되거나 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존적 세포독성 (CDC)을 유발하는 Fc 영역 내에서 제조된다: 미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642, 및 Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184, 2000).
- [0198] 증가된 반감기 및 친계 IgG의 태아로의 전달에 관여하는 신생태아 Fc 수용체(FcRn)에 대해 개선된 결합을 갖는 항체 (Guyer et al. *J. Immunol.* 117: 587,1976 및 Kim et al. *J. Immunol.* 24: 249, 1994)는 미국 특허 출원 번호 2005/0014934에 기술된다. 이러한 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 하나 이상의 치환을 그 안에 갖는 Fc 영역을 포함한다. 상기 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434의 하나 이상에서 치환, 예를 들면, Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826). 또한, 참고: Duncan et al. *Nature.* 322:738-740, 1988; U.S. Patent Nos. 5,648,260 및 5,624,821; 및 WO 94/29351 (Fc 영역 변이체의 또 다른 예에 관함).
- [0199] d) 시스템인 가공된 항체 변이체
- [0200] 특정 구현예에서, 시스템인이 가공된 항체, 예컨대, "thioMAbs"(항체의 하나 이상의 잔기가 시스템인 잔기로 치환된 것임)를 형성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정 구현예에서, 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 발생한다. 상기 잔기를 시스템인으로 치환시킴으로써, 반응성 티올기는 그렇게 함으로써 항체의 접근가능한 부위에 배치되고, 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 항체를 접합하는데 사용되어, 본원에서 추가로 기재된 바와 같이, 면역공제제를 제조할 수 있다. 특정 구현예에서, 하기의 잔기들 중 임

의의 하나 이상은 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (카밧 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스테인 조직된 항체는, 예를 들면, U.S. 특허 제7,521,541호에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.

e) 항체 유도체

특정 구현예에서, 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)는 당업계에 공지되어 있고 쉽게 이용 가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화를 위해 적합한 모이어티는 수용성 폴리머를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 수용성 중합체의 비제한적인 예는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산(단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올(예컨대, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 수중 안정성으로 인해 제조시 이점을 가질 수 있다. 폴리머는 임의의 분자량일 수 있고, 그리고 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 상기 항체에 부착된 폴리머 개수는 다양할 수 있는데, 1 초과와 폴리머가 부착되는 경우, 이들은 동일하거나 또는 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선시키고자 하는 항체의 특별한 특성이나 작용, 항체 유도체가 정의된 조건하에서 치료법에서 사용될 것인지 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 고려사항들에 기초하여 측정될 수 있다.

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

B. 제조합 방법 및 조성물

항체는, 예를 들면, 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 바와 같이 제조합 방법 및 조성물을 사용하여 제조할 수 있다. 한 구현예에서, 본원에서 기재된 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열(예컨대, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)를 암호화할 수 있다. 추가 구현예에서, 상기 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터 (예를 들면, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 구현예에서, 상기 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 한 상기 구현예에서, 숙주 세포는 하기를 포함한다 (예를 들면, 하기로 변형된다): (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제2 벡터. 일 구현예에서, 숙주 세포는 진핵 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 림프양 세포(예컨대, Y0, NS0, Sp20 세포)이다. 일 구현예에서, 항-PD-L1 항체의 제조 방법이 제공되고, 여기서 상기 방법은, 항체의 발현에 적합한 조건 하에서, 상기 제공된 바와 같이, 항체를 암호화하는 핵산을 포함하는 숙주 세포 배양, 및 임의로 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항체 회수를 포함한다.

항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)의 제조합 생산을 위해, 예를 들면, 상기에서 기재된 바와 같이, 항체를 암호화하는 핵산은 숙주 세포에서 추가 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상 벡터에 단리 및 삽입된다. 이러한 핵산은 통상의 과정들(예컨대, 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써)을 사용하여 쉽게 단리하고 서열분석할 수 있다.

항체-암호화 벡터의 클로닝 및 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 세포 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들면, 항체는, 특히 글리코실화 및 Fc 효과기 작용이 필요하지 않은 경우, 박테리아에서 생산될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해, 참고, 예를 들면, 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199, 및 5,840,523. 또한 참고: Charlton. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 248, pp. 245-254, B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003, (이. 콜라이에서의 항체 단편의 발현을 기술). 발현 후, 상기 항체는 가용성 분획에서 세균 세포 페이스트로부터 단리되고 추가로 정제될 수 있다.

발현 후, 항체를 가용성 단편의 박테리아 세포 페이스트로부터 단리할 수 있고 추가로 정제할 수 있다. 원핵생물 이외에, 글리코실화 경로가 "인간화"되어 일부 또는 전부 인간 글리코실화된 패턴을 갖는 항체를 생성할 수

있는 진균 및 효모 균주를 포함한 사상균 또는 효모균과 같은 진핵 미생물이 항체-암호화 벡터를 위한 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 참고: Gerngross. *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414, 2004 및 Li et al. *Nat. Biotech.* 24: 210-215, 2006).

[0209] 글리코실화 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 생물(무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 곤충 세포와 함께, 특히 *스포도프테라 프루기페르다* (*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염에 사용될 수 있는 수많은 바큐로바이러스 균주가 식별되었다.

[0210] 식물 세포 배양물이 또한 숙주로서 이용될 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제5,959,177호, 제6,040,498호, 제6,420,548호, 제7,125,978호, 및 제6,417,429호 (형질전환 식물에서 항체를 생산하기 위한 PLANTIBODIES™ 기술을 기재함)를 참조한다.

[0211] 척추동물 세포는 또한 숙주로서 사용될 수 있다. 예를 들면, 현탁제에서 성장하도록 적응되는 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 기타 예시는 하기이다: SV40 (COS-7)에 의하여 변형된 원숭이 신장 CV1 세포주; 인간 배아 신장 세포주 (예를 들면 하기에 기술된 바와 같은 293 또는 293 세포: Graham et al. *J. Gen Virol.* 36:59, 1977); 베이비 햄스터 신장 세포 (BHK); 마우스 세르톨리 세포 (예를 들면 하기에 기술된 바와 같은 TM4 세포: Mather. *Biol. Reprod.* 23:243-251, 1980); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 그린 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 자궁암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 버팔로 랫트 간 세포 (BRL 3 A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); 다음 문헌에 기재된 바와 같은 TRI 세포: 예를 들면, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68, 1982; MRC 5 세포; 및 FS4 세포. 기타 유용한 포유동물 숙주 세포주는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포를 포함하고, 이는 하기를 포함한다: DHFR™ CHO 세포 (Urlaub et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77: 4216, 1980); 및 YO, NSO 및 Sp2/0와 같은 골수종 세포주. 항체 생산을 위해 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 다음 문헌을 참조한다: 예를 들어, Yazaki et al. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 248, pp. 255-268, B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003.

[0212] C. 검정

[0213] 본원에서 제공된 항-PD-L1 항체는 당해기술에서 공지된 다양한 검정에 의해 그 물리적/화학 특성 및/또는 생물학적 활성으로 식별, 스크리닝, 또는 특징화될 수 있다.

[0214] 1. 결합 검정 및 기타 검정

[0215] 일 양태에서, 본 발명의 항체는, 예를 들면, 하기와 같은 공지된 방법에 의해 이의 항원 결합 활성에 대해 시험된다: 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA) 검정, 면역블롯팅 (예컨대, 웨스턴 블롯팅), 유동 세포측정 (예컨대, FACSTM), 면역조직화학, 면역형광 등.

[0216] 또 다른 양태에서, 경쟁 검정은 PD-L1 (예컨대, 항-PD-L1 항체 SP142)로의 결합을 위해 본 발명의 임의의 항체와 경쟁하는 항체를 식별하는데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 경쟁 항체는 본 발명의 임의의 항체 (예컨대, 항-PD-L1 항체 SP142)에 의해 결합된 동일한 에피토프 (예를 들어, 선형 또는 형태적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하기 위한 세부적인 예시적 방법은 다음 문헌에 제공되어 있다: Morris "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* Vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ, 1996).

[0217] 예시적인 경쟁 검정에서, 고정화된 PD-L1은, PD-L1 (예를 들면, 항-PD-L1 항체 SP142)에 결합하는 제1 표지된 항체 및 PD-L1으로의 결합을 위해 제1 항체와 경쟁하는 그 능력에 대해 시험되는 제2 비표지된 항체를 포함하는 용액에서 항온처리된다. 제2 항체는 혼성세포 상청액 중에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정화된 PD-L1은 제2 비표지된 항체가 아닌 제1 표지된 항체를 포함하는 용액에서 항온처리된다. PD-L1로의 제1 항체의 결합에 허용된 조건 하에서 항온처리 이후, 과잉의 미결합된 항체는 제거되고, 고정된 PD-L1에 관련된 표지의 양이 측정된다. 만일 고정된 PD-L1에 관련된 표지의 양이 대조군 샘플에 비하여 시험 샘플에서 실질적으로 감소되면, 그러면 그것은 제2 항체가 PD-L1에 결합을 위해 제1 항체와 경쟁하는 것을 나타낸다. 예를 들어, 참고: Harlow et al. *Antibodies: A Laboratory Manual*. Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1988).

[0218] 2. 검출 검정

[0219] 일 양태에서, PD-L1의 존재를 검출하는데 유용한 항-PD-L1 항체를 식별하기 위한 검정, 예컨대, 면역조직화학

(IHC), 면역형광 (IF), 면역블롯팅 (예컨대, 웨스턴 블롯팅), 유동 세포측정 (예컨대, FACS™), 또는 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA) 검정이 제공된다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 상기 활성화에 대해 시험된다.

[0220] D. 면역콘주게이트

[0221] 본 발명은 또한, 하나 이상의 표지 및/또는 제제, 예컨대 방사성 동위원소에 콘주게이트된 본원의 항-PD-L1 항체를 포함하는 면역콘주게이트를 제공한다.

[0222] 일 구현예에서, 면역콘주게이트는 방사콘주게이트를 형성하기 위해 방사성 원자에 콘주게이트된, 본원에 기재된 항체를 포함한다. 각종 방사성 동위원소가 방사콘주게이트의 생산을 위해 이용 가능하다. 예시는 하기를 포함한다: ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위원소. 방사콘주게이트가 검출을 위해 사용되는 경우, 이것은 신티그래프 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들면 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 또는 ^{123}I , 또는 핵자기 공명(NMR) 영상화(자기 공명 영상화, MRI 로도 공지됨)를 위한 스핀 표지, 예를 들면, 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 붐소-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망간 또는 철을 포함할 수 있다.

[0223] 항-PD-L1 항체의 콘주게이트 및 표지 또는 제제는 다양한 이작용성 단백질 커플링제, 예를 들면, N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트(SPDP), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이작용성 유도체(예를 들면, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성화 에스테르(예를 들면, 디석신이미딜 수베레이트), 알데히드(예를 들면, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물(예를 들면, 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체(예를 들면, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트(예를 들면, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 붐소 화합물(예를 들면, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트벤젠-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산(MX-DTPA)이 항체와의 방사성 뉴클레오티드의 콘주게이션을 위한 예시적인 킬레이트제이다. 참고: W094/11026. 링커는 표지 또는 제제의 방출을 촉진시키는 "절단가능 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정 링커, 펩티다아제-민감성 링커, 광불안정성 링커, 디메틸 링커 또는 이황화물-함유 링커 (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131 (1992); 미국 특허 제5,208,020호)가 사용될 수 있다.

[0224] 본원의 면역콘주게이트가 명백히 고려되지만, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 설폰-EMCS, 설폰-GMBS, 설폰-KMUS, 설폰-MBS, 설폰-SIAB, 설폰-SMCC, 및 설폰-SMPB를 포함하지만 이에 제한되지 않는 가교결합제 시약, 및 (예컨대, U.S.A 일리노이주 록퍼드에 소재하는 Pierce Biotechnology, Inc.로부터) 상업적으로 이용 가능한 SVSB(석신이미딜-(4-비닐설폰)벤조에이트)로 제조된 이러한 콘주게이트에 제한되지 않는다.

[0225] E. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물

[0226] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항-PD-L1 항체 (예컨대, 기술된 SP142 또는 임의의 기타 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 상기 섹션 A 내에서, "예시적 항-PD-L1 항체")는 생물학적 샘플 내 PD-L1의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원에서 사용되는 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다.

[0227] 일 경우에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)가 제공된다. 또 다른 경우에서, 본 발명은 진단 또는 검출의 방법에서의 사용을 위한 시약의 제조에서의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)의 용도를 제공한다.

[0228] 일 경우에서, 예를 들어, 하기에 기술된 생물학적 샘플 내 PD-L1의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 항-PD-L1 항체의 PD-L1로의 결합을 허용하는 조건하에서 상기 생물학적 샘플을 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 접촉시키고 복합체가 항-PD-L1 항체와 PD-L1 간에 형성되는지를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)가 예를 들면, 하기를 포함하는 면역검정에서 사용될 수 있다: 예를 들어, 면역조직화학 (IHC), 면역형광 (IF), 면역블롯팅 (예컨대, 웨스턴 블롯팅), 유동 세포측정 (예컨대, FACS™), 및 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA). 일 구현예에서, 예를 들면, PD-L1이 환자의 선택용 바이오마커인 경우, 항-PD-L1 항체가 항-PD-L1 항체를 이용한 방법에 자격있는 대상체를 선택하는데 사용된다. 본 발명은 추가로, 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체를 진단하는 방법에서의 항-PD-L1 항체의 용도를 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계.

- [0229] 예를 들어, 본 발명은 암을 앓는 대상체를 진단하는 방법에서의 항-PD-L1 항체의 용도를 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계. 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0230] 또 다른 경우에서, 본 발명은 또한 추가로, 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체를 진단하는 방법에서 사용되기 위한 시약의 제조에서의 항-PD-L1 항체의 용도를 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시키는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내의 PD-L1의 존재 또는 발현 수준은 상기 대상체가 치료에 반응할 가능성이 크다는 것을 표지함).
- [0231] 예를 들어, 본 발명은 암을 앓는 대상체를 진단하는 방법에서 사용되기 위한 시약의 제조에서의 항-PD-L1 항체의 용도를 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1의 존재 또는 발현 수준은 상기 대상체가 항암 요법에 의한 치료에 반응할 가능성이 크다는 것을 표지함). 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0232] 추가의 또 다른 경우에서, 본 발명은 치료에 반응할 가능성이 큰, 장애(예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체를 식별하기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 치료에 대해 반응성일 가능성이 높은지를 표지함).
- [0233] 예를 들어, 본 발명은 항암 요법에 의한 치료에 반응할 가능성이 큰, 암을 앓는 대상체를 식별하기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 치료에 대해 반응성일 가능성이 높은지를 표지함). 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0234] 또한 추가의 경우에서, 본 발명은 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 개체의 치료에 대한 반응성을 예측하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 치료에 대해 반응성일 가능성이 보다 높은지를 표지함).
- [0235] 예를 들어, 본 발명은 암을 앓는 개체의 항암 요법에 의한 치료에 대한 반응성을 예측하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 항암 요법에 의한 치료에 대해 반응성일 가능성이 보다 높은지를 표지함). 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0236] 또한 추가의 경우에서, 본 발명은 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체가 치료로 이점을 얻을 공산을 측정하기 위한 방법을 제공하며, 이는 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 치료에 의하여 상기 치료로부터 이점을 얻는 것으로 나타나는 공산을 표지함).

- [0237] 예를 들어, 본 발명은 암을 앓는 대상체가 항암 요법에 의한 치료로부터 이점을 얻을 공산을 측정하기 위한 방법을 제공하며, 이는 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계 (여기서 샘플 내 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준은 대상체가 항암 요법에 의한 치료로부터 이점을 얻는 것으로 나타나는 공산을 표지함). 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0238] 또 다른 경우에서, 본 발명은 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체에 대한 요법을 선택하기 위한 방법을 제공하며, 이는 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계; 및 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준에 기반하여 대상체에 대한 항암 요법을 선택하는 단계.
- [0239] 예를 들어, 본 발명은 암을 앓는 대상체에 대한 요법을 선택하기 위한 방법을 제공하며, 이는 하기 단계를 포함한다: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, SP142)와 샘플을 접촉시킴으로써 대상체로부터 수득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계, 및 결합된 항체의 존재를 검출하는 단계; 및 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준에 기반하여 대상체에 대한 항암 요법을 선택하는 단계. 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 종양 샘플이다. 일부 경우에서, 종양 샘플은 종양-침윤 면역 세포, 종양 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0240] 선행 방법 중 임의의 것에서, 종양 샘플은 하기를 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내의 PD-L1 의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 이상 (예컨대, 약 1% 이상, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)의 종양 샘플 (예를 들어, 영역). 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플은 하기를 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내의 PD-L1 의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 95% 미만, 약 1% 내지 약 90% 미만, 약 1% 내지 약 85% 미만, 약 1% 내지 약 80% 미만, 약 1% 내지 약 75% 미만, 약 1% 내지 약 70% 미만, 약 1% 내지 약 65% 미만, 약 1% 내지 약 60% 미만, 약 1% 내지 약 55% 미만, 약 1% 내지 약 50% 미만, 약 1% 내지 약 40% 미만, 약 1% 내지 약 35% 미만, 약 1% 내지 약 30% 미만, 약 1% 내지 약 25% 미만, 약 1% 내지 약 20% 미만, 약 1% 내지 약 15% 미만, 약 1% 내지 약 10% 미만, 약 1% 내지 약 5% 미만, 약 5% 내지 약 95% 미만, 약 5% 내지 약 90% 미만, 약 5% 내지 약 85% 미만, 약 5% 내지 약 80% 미만, 약 5% 내지 약 75% 미만, 약 5% 내지 약 70% 미만, 약 5% 내지 약 65% 미만, 약 5% 내지 약 60% 미만, 약 5% 내지 약 55% 미만, 약 5% 내지 약 50% 미만, 약 5% 내지 약 40% 미만, 약 5% 내지 약 35% 미만, 약 5% 내지 약 30% 미만, 약 5% 내지 약 25% 미만, 약 5% 내지 약 20% 미만, 약 5% 내지 약 15% 미만, 약 5% 내지 약 10% 미만, 약 10% 내지 약 95% 미만, 약 10% 내지 약 90% 미만, 약 10% 내지 약 85% 미만, 약 10% 내지 약 80% 미만, 약 10% 내지 약 75% 미만, 약 10% 내지 약 70% 미만, 약 10% 내지 약 65% 미만, 약 10% 내지 약 60% 미만, 약 10% 내지 약 55% 미만, 약 10% 내지 약 50% 미만, 약 10% 내지 약 40% 미만, 약 10% 내지 약 35% 미만, 약 10% 내지 약 30% 미만, 약 10% 내지 약 25% 미만, 약 10% 내지 약 20% 미만, 약 10% 내지 약 15% 미만)의 종양 샘플 (예를 들어, 영역). 예를 들어, 일부 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 1% 이상 내지 5% 미만을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 5% 이상 내지 10% 미만을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 10% 이상을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다.
- [0241] 선행 방법 중 임의의 것에서, 종양 샘플은 하기로 PD-L1 의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 이상 (예컨대, 약 1% 이상, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)의 종양 샘플 내의 종양 세포. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플은 하기로 PD-L1 의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 95% 미만, 약 1% 내지 약 90% 미만, 약 1% 내지 약 85% 미만, 약 1% 내지 약 80% 미만, 약 1% 내지 약 75% 미만, 약 1% 내지 약 70% 미만, 약 1% 내지 약 65% 미만, 약 1% 내지 약 60% 미만, 약 1% 내지 약 55% 미만, 약 1% 내지 약 50% 미만, 약 1% 내지 약 40% 미만, 약 1% 내지 약 35% 미만, 약 1% 내지 약 30% 미만, 약 1% 내지 약 25% 미만, 약 1% 내지 약 20% 미만, 약 1% 내지 약 15% 미만, 약 1% 내지 약 10% 미만, 약 1% 내지 약 5% 미만, 약 5% 내지 약 95% 미만, 약 5% 내지 약 90% 미만, 약 5% 내지 약 85% 미만, 약 5% 내지 약 80% 미만, 약 5% 내지 약 75% 미만, 약 5% 내지 약 70% 미만, 약 5% 내지 약 65% 미만, 약 5% 내지 약 60% 미만, 약 5% 내지 약 55% 미만, 약 5% 내지 약 50% 미만, 약 5% 내지 약 40% 미만, 약 5% 내지 약 35% 미만, 약 5% 내지 약 30% 미만, 약 5% 내지 약 25% 미만, 약 5% 내지 약 20% 미만, 약 5% 내지 약 15% 미만, 약 5% 내지 약 10% 미만, 약 10% 내지 약 95% 미만, 약 10% 내지 약 90% 미만, 약 10% 내지 약 85% 미만, 약 10% 내지 약 80% 미만, 약 10% 내지 약 75% 미만, 약 10% 내지 약 70% 미만, 약 10% 내지 약 65% 미만, 약 10% 내지 약 60% 미만, 약 10% 내지 약 55% 미만, 약 10% 내지 약 50% 미만, 약 10% 내지 약 40% 미만, 약 10% 내지 약 35% 미만, 약 10% 내지 약 30% 미만, 약 10% 내지 약 25% 미만, 약 10% 내지 약 20% 미만, 약 10% 내지 약 15% 미만)의 종양 샘플 (예를 들어, 영역). 예를 들어, 일부 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 1% 이상 내지 5% 미만을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 5% 이상 내지 10% 미만을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 10% 이상을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다.

약 60% 미만, 약 1% 내지 약 55% 미만, 약 1% 내지 약 50% 미만, 약 1% 내지 약 40% 미만, 약 1% 내지 약 35% 미만, 약 1% 내지 약 30% 미만, 약 1% 내지 약 25% 미만, 약 1% 내지 약 20% 미만, 약 1% 내지 약 15% 미만, 약 1% 내지 약 10% 미만, 약 1% 내지 약 5% 미만, 약 5% 내지 약 95% 미만, 약 5% 내지 약 90% 미만, 약 5% 내지 약 85% 미만, 약 5% 내지 약 80% 미만, 약 5% 내지 약 75% 미만, 약 5% 내지 약 70% 미만, 약 5% 내지 약 65% 미만, 약 5% 내지 약 60% 미만, 약 5% 내지 약 55% 미만, 약 5% 내지 약 50% 미만, 약 5% 내지 약 40% 미만, 약 5% 내지 약 35% 미만, 약 5% 내지 약 30% 미만, 약 5% 내지 약 25% 미만, 약 5% 내지 약 20% 미만, 약 5% 내지 약 15% 미만, 약 5% 내지 약 10% 미만, 약 10% 내지 약 95% 미만, 약 10% 내지 약 90% 미만, 약 10% 내지 약 85% 미만, 약 10% 내지 약 80% 미만, 약 10% 내지 약 75% 미만, 약 10% 내지 약 70% 미만, 약 10% 내지 약 65% 미만, 약 10% 내지 약 60% 미만, 약 10% 내지 약 55% 미만, 약 10% 내지 약 50% 미만, 약 10% 내지 약 40% 미만, 약 10% 내지 약 35% 미만, 약 10% 내지 약 30% 미만, 약 10% 내지 약 25% 미만, 약 10% 내지 약 20% 미만, 약 10% 내지 약 15% 미만)의 종양 샘플 내의 종양 세포. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 1% 이상 내지 약 5% 미만으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 5% 이상 내지 약 10% 미만으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 10% 이상으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다.

[0242] 선행 방법 중 임의의 것에서, 암은 하기일 수 있다: 비-소세포 폐암 (NSCLC), 편평상피 세포 암 (폐의 선암종 및 폐의 편평상피 암종을 포함), 소-세포 폐암, 복막의 암, 간세포암, 위장관암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병, 및 두경부암. 일부 경우에서, 암은 NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 폐의 선암종 또는 폐의 편평상피암종이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 편평상피 NSCLC 또는 비-편평상피 NSCLC이다.

[0243] 선행 방법 중 임의의 것의 이점 및/또는 반응은 본 분야에서 공지되거나 본원에 기술된 임의의 것일 수 있으며, 예를 들어, 하기이다: (1) 지연 및 완전한 정지를 포함하는, 장애 진행 (예컨대, 암 진행)의, 일정 정도까지의, 억제; (2) 종양 크기의 감소; (3) 인접 말초 기관 및/또는 조직으로 암 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 지연, 또는 완전한 정지); (4) 전이의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (5) 질환 또는 장애 (예컨대, 암)와 연관된 하나 이상의 증상의, 일정 정도까지의, 완화; (6) 전체 생존 및 진행 무생존의 길이 증가 또는 연장; 및/또는 (9) 치료 후 소정의 시간에서 감소된 사망률. 일부 경우에서, 상기 이점에는 하기 중 하나 이상이 포함된다: 연장된 생존 (전체 생존 및 무진행 생존 포함); 객관적 반응의 유발 (완전한 반응 또는 부분적 반응 포함); 또는 암의 징후 또는 증상의 개선.

[0244] 선행 방법 중 임의의 것은 하기를 추가로 포함할 수 있다: 샘플에서 PD-L1의 존재 또는 발현 수준에 기반하여 상기 대상체에 치료적 유효량의 항암 요법을 투여하는 단계. 일부 경우에서, 항암 요법은 PD-1 축 결합 길항제를 포함한다. PD-1 축 결합 길항제는 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된 임의의 PD-1 축 결합 길항제일 수 있다.

[0245] 예를 들어, 일부 경우에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제, 및 PD-L2 결합 길항제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대의 하나 이상으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 모두으로의 PD-L1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 로 구성된 군으로부터 선택된다: YW243.55.S70, MPDL3280A (아테졸리주맵), MDX-1105, MEDI4736 (두르발루맵), 및 MSB0010718C (아벨루맵).

[0246] 일부 경우에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 예를 들어, 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대의 하나 이상으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L2으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 추가 기타 경우에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 모두으로의 PD-1의 결합을 억제한다. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 일부 경우에서, 항체는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다: MDX 1106 (니볼루맵), MK-3475 (헵브롤리주맵), CT-011 (피달리주맵), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 및 BGB-108. 일부 경우에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 예를 들어, 일부 경우에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224

이다.

- [0247] 일부 경우에서, 상기 방법은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제, 및 이들의 조합.
- [0248] 선행 구현예 중 임의의 것에서 사용된 샘플은 하기 섹션 F “생물학적 샘플”에서 기술된 바와 같을 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 샘플은 종양 세포, 종양-침윤 면역 세포, 간질 세포, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 선행 구현예 중 임의의 것에서, 종양 샘플은 포르말린-고정 및 파라핀-포매(FFPE) 종양 샘플, 보관 종양 샘플, 신선한 종양 샘플, 또는 동결된 종양 샘플일 수 있다.
- [0249] 특정 구현예에서, 샘플에서의 PD-L1의 존재 및/또는 발현 수준은 IHC 및 염색 프로토콜을 사용하여 측정될 수 있다. 조직 절편의 IHC 염색이 샘플에서 단백질의 존재를 측정하거나 검출하는 신뢰할 만한 방법임이 밝혀진 바 있다. 일 구현예에서, PD-L1의 발현 수준은 하기 단계를 포함하는 방법을 사용하여 측정된다: (a) 샘플 (예컨대, 대상체로부터 수득된 종양 샘플)의 IHC 분석을 본 발명의 항-PD-L1 항체, 예컨대 SP142로 수행하는 단계; 및 (b) 샘플 내 PD-L1의 존재 및/또는 발현 수준을 측정하는 단계. 일부 구현예에서, IHC 염색 강도는 참조와 비교하여 측정된다. 일부 구현예에서, 참조는 참조 값이다. 일부 구현예에서, 참조는 참조 샘플 (예컨대, 대조군 세포주 염색 샘플, 비-암성 환자 유래의 조직 샘플, PD-L1 발현의 소정의 수준 (예컨대, 정의된 IC% 또는 TC%를 갖는 참조 샘플)을 갖는 것으로 공지된 참조 샘플, 또는 PD-L1-음성 종양 샘플)이다.
- [0250] IHC는 추가의 기술, 예컨대 형태학적 염색 및/또는 원위치 혼성화 (예컨대, FISH)와 조합하여 수행될 수 있다. IHC의 2개의 일반적인 방법이 이용가능하며; 이는 직접 검정 및 간접 검정이다. 제1 검정에 따라서, 항체의 표적 항원으로의 결합이 직접적으로 측정된다. 이와 같은 직접적인 분석법은 표지된 시약, 예컨대 형광 태그 또는 효소로 표지된 1차 항체(추가적인 항체 상호작용 없이 가시화될 수 있음)를 사용한다. 전형적인 간접적 분석법에서, 비콘주게이트된 1차 항체는 상기 항원에 결합하고, 이어서 표지된 2차 항체가 상기 1차 항체에 결합한다. 상기 2차 항체가 효소 표지에 콘주게이트된 경우, 발색성 또는 형광원성 기질이 첨가되어 항원의 가시화를 제공한다. 신호 증폭은 여러 2차 항체가 상기 1차 항체 상의 상이한 에피토프와 반응할 수 있기 때문에 발생한다.
- [0251] IHC를 위해 사용되는 상기 1차 및/또는 2차 항체는 전형적으로 검출가능한 모이어티로 표지될 것이다. 일반적으로 하기 범주로 그룹화될 수 있는 수많은 표지가 사용가능하다: (a) 방사선 동위원소, 예컨대 ^{35}S , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , 및 ^{131}I ; (b) 콜로이드성 금 입자; (c) 형광 표지, 예컨대 비제한적으로, 희토류 킬레이트(유로퓸 킬레이트), 텍사스 레드, 로다민, 플루오레세인, 단실, 리스사민, 엠벨리페론, 파이코크리테린, 파이코시아닌 또는 상업적으로 사용가능한 형광단, 예컨대 SPECTRUM ORANGE7 및 SPECTRUM GREEN7 및/또는 상기의 것들 중 하나 이상의 유도체; (d) 다양한 효소-기질 표지가 이용가능하며, 미국 특허 번호 4,275,149는 이들 중 일부의 고찰을 제공한다. 효소 표지의 예에는 루시페라아제(예컨대, 반딧불이 루시페라아제 및 세균성 루시페라아제; 참고: 예컨대 미국 특허 제4,737,456호), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 말레이트 데히드로게나아제, 우레아제, 과산화효소, 예컨대 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP), 알칼리성 인산가수 분해효소, β -갈락토시다아제, 글루코아미라아제, 라이소자임, 사카라이드 옥시다아제(예컨대, 글루코오스 옥시다아제, 갈락토오스 옥시다아제 및 글루코오스-6-포스페이트 데히드로게나아제), 헤테로사이클릭 옥시다아제(예컨대 유리카아제 및 잔틴 옥시다아제), 락토퍼록시다아제, 마이크로퍼록시다아제 등이 포함된다.
- [0252] 효소-기질 조합의 예시는 하기를 포함한다: 예를 들어, 수소 퍼옥시다제를 기질로서 갖는 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP); 발색성 기질로서 니트로페닐 포스페이트를 갖는 알칼리성 인산가수분해효소(AP); 발색성 기질 (예컨대, p-니트로페닐- β -D-갈락토시다아제) 또는 형광원성 기질 (예컨대, 4-메틸엠벨리페릴- β -D-갈락토시다아제)를 갖는 β -D-갈락토시다아제(β -D-Gal). 이들의 일반적인 고찰을 위하여, 예를 들면, 미국 특허 4,275,149 및 4,318,980를 참고한다.
- [0253] 시료는, 예를 들어, 매뉴얼대로, 또는 자동화된 염색 기기 (예컨대, Ventana BenchMark XT 또는 Benchmark ULTRA 기기)를 사용하여 제조될 수 있다. 이렇게 제조된 시료는 장착되어 유리덮개로 덮일 수 있다. 슬라이드 평가가 이후 측정되며, 예를 들어, 본 분야에서 일상적으로 사용되는, 현미경 및 염색 강도 기준을 사용하는 것이 이용될 수 있다. 일 구현예에서, 하기가 이해될 것이다: 종양 유래의 세포 및/또는 조직이 IHC 염색을 사용하여 측정될 경우, 염색은 일반적으로 종양 세포(들) 및/또는 조직에서 측정 또는 평가된다 (샘플 내 존재할 수 있는 간질성 또는 주변 조직과 비교하여). 일부 구현예에서, 하기가 이해될 것이다: 종양 유래의 세포 및/또는 조직이 IHC 염색을 사용하여 측정될 경우, 염색은 종양내 또는 종양주변 면역 세포를 포함하는, 종양-침윤 면역

세포 내에서 측정 또는 평가하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, PD-L1 존재는 하기로 IHC에 의하여 검출된다: 샘플의 0% 초과로, 샘플의 적어도 0%, 샘플의 적어도 1%, 샘플의 적어도 5%, 샘플의 적어도 10%, 샘플의 적어도 15%, 샘플의 적어도 15%, 샘플의 적어도 20%, 샘플의 적어도 25%, 샘플의 적어도 30%, 샘플의 적어도 35%, 샘플의 적어도 40%, 샘플의 적어도 45%, 샘플의 적어도 50%, 샘플의 적어도 55%, 샘플의 적어도 60%, 샘플의 적어도 65%, 샘플의 적어도 70%, 샘플의 적어도 75%, 샘플의 적어도 80%, 샘플의 적어도 85%, 샘플의 적어도 90%, 샘플의 적어도 95%, 또는 그 이상으로. 샘플은, 예를 들어, 병리학자에 의하여, 또는 자동화 이미지 분석을 사용하여, 본원에 기술된 임의의 기준을 사용하여 스코어링될 수 있다.

[0254] 선행 방법 중 임의의 것의 일부 구현예에서, PD-L1의 발현 수준은 종양 세포, 종양-침윤 면역 세포, 간질 세포, 또는 이들의 임의의 조합에서, 예를 들어 IHC를 사용하여 검출된다. 종양-침윤 면역 세포는 비제한적으로 하기를 포함한다: 종양내 면역 세포, 종양주변 면역 세포 또는 이의 임의의 조합, 및 기타 종양 간질 세포 (예컨대, 섬유아세포). 상기 종양-침윤 면역 세포는, 하기일 수 있다: T 림프구 (예컨대 CD8+ T 림프구 및/또는 CD4+ T 림프구), B 림프구, 또는 기타 골수-계통 세포 (하기를 포함: 과립구 (호중구, 호산구, 호염기구), 단핵구, 대식세포, 수지상 세포 (예컨대, 지상감입 수지상 세포), 조직구, 및 자연 살해 세포). 일부 구현예에서, PD-L1에 대한 염색은 막 염색, 세포질 염색 및 이의 조합으로서 검출된다. 기타 구현예에서, PD-L1의 부재는 샘플 내 염색의 부재 또는 없음으로서 검출된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같이, PD-L1의 검출 가능한 양을 발현하는 종양-침윤 면역 세포에 의하여 망라된 종양 영역의 백분율을 측정하는 단계를 포함한다 (참고: 예를 들어, 실시예 5에 기술된 바와 같은 IC%). 일부 구현예에서, 상기 방법은, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같이, PD-L1의 검출 가능한 양을 발현하는 종양 샘플 내 종양 세포의 백분율을 측정하는 단계를 포함한다 (참고: 예를 들어, 실시예 5).

[0255] 특정 경우에서, 표지된 항-PD-L1 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티(예를 들면, 형광성, 발색성, 전자-밀도, 화학발광성, 및 방사성 표지), 뿐만 아니라 예를 들면, 효소 반응 또는 분자 상호작용을 통해 간접적으로 검출되는 모이어티, 예를 들면, 효소 또는 리간드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 표지는, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 방사성동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , 및 ^{131}I , 형광단 예컨대 희토류 킬레이트 또는 플루오레신 및 그 유도체, 로다민 및 그 유도체, 단일, 엠벨리페론, 루세리페라제, 예를 들면, 개똥벌레 루시페라아제 및 박테리아 루시페라아제 (미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디하이드로프탈라진디온, 호스래디쉬 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다아제, 글루코아미라아제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제, 예를 들면, 글루코오스 옥시다제, 갈락토오스 옥시다제, 및 글루코오스6-포스페이트 탈수소효소, 염료 전극 예컨대 HRP를 산화하기 위해 과산화수소를 사용하는 효소로 커플링된, 헤테로사이클릭 옥시다제 예컨대 우리카제 및 잔틴 옥시다제, 락토페록시다아제, 또는 마이크로페록시다아제, 바이오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파아지 표지, 안정한 유리 라디칼, 등.

[0256] 진단 및/또는 검출을 위한 상기 방법 중 임의의 것이 비콘주게이트된 항-PD-L1 항체 대신 또는 그 이외에 상기 기술된 본 발명의 면역콘주게이트를 사용하여 수행될 수 있음이 또한 이해된다.

[0257] F. 생물학적 샘플

[0258] 특정 구현예에서, 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대, 기술된 SP142 또는 임의의 기타 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 상기 섹션 A 내에서, “예시적 항-PD-L1 항체”)는 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된 방법을 사용하여 생물학적 샘플 내 PD-L1의 존재를 검출하는데 사용할 수 있다.

[0259] 일부 경우에서, 생물학적 샘플은 조직 또는 세포 샘플을 포함한다. 예를 들어, 생물학적 샘플 하기를 포함할 수 있다: 정상 또는 암 환자 유래의 세포 또는 조직, 예컨대, 예를 들어, 유방, 결장, 폐, 신장, 뼈, 뇌, 근육, 위, 췌장, 방광, 난소, 자궁, 뿐만 아니라 심장, 배아, 및 태반 조직의 정상 또는 암성 조직.

[0260] 특정 경우에서, 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선, 냉동 및/또는 보존 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡입액에서 유래된 것과 같은 고체 조직; 혈액 또는 모든 혈액 구성성분; 체액, 예컨대 뇌척수액, 양수, 복막액 또는 세포간질액; 대상체의 임신 또는 발달 중 어느 시점에서 유래된 세포일 수 있다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 또한 시험관내 조직 또는 세포 배양물로부터 수득된다. 본원의 생물학적 샘플의 예에는, 비제한적으로, 종양 생검, 순환하는 종양 세포, 혈청, 또는 혈장, 순환하는 혈장 단백질, 복수액, 종양에서 유도되었거나 또는 종양과 같은 특성을 보이는 1차 세포 배양액 또는 세포주뿐만 아니라, 보존된 종양 샘플, 예컨대 포르말린-고정, 파라핀-포매 (FFPE) 종양 샘플 또는 냉동 종양 샘플이 포함된다.

[0261] 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 자연적으로 상기 조직과 혼합되지 않는 화합물, 예컨대 보존제, 항응고제,

완충용액, 영양분, 항생제 등을 함유한다. 특정 구현예에서, 생물학적 샘플은 하나 이상의 고정제에 노출되었고/되었거나 이를 함유한다. 본 발명의 방법 및 조성물과 함께 사용될 수 있는 고정제는 하기를 포함한다: 포르말린, 글루타르알데하이드, 오스뮴테트라옥사이드, 아세트산, 에탄올, 아세톤, 피크르산, 클로로포름, 칼륨 디크로메이트 및 염화제이수은 및/또는 마이크로웨이브 가열 또는 냉각에 의한 안정화.

[0262] 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 면역 기능이상 소인을 갖거나, 또는 이에 대해 시험된 대상체로부터 유래한다. 특정 구현예에서, 면역 기능이상은 T-세포 기능이상 장애이다. 일부 구현예에서, T-세포 기능이상 장애는 미해결 급성 감염, 만성 감염, 또는 중앙 면역성(tumor immunity)이다. 특정 구현예에서, 면역 기능이상은 자가면역 질환이다. 일부 구현예에서, 자가면역 질환은 비제한적으로 하기이다: 자가면역 류마티스성 장애 (하기를 포함: 류마티스 관절염, 쇼그렌 (Sjogren) 증후군, 경피증, SLE 및 루푸스 신염과 같은 루푸스, 다발성근염/피부근염, 한랭글로불린혈증, 항-인지질 항체 증후군, 및 건선성 관절염), 자가면역 위장 및 간 장애 (하기를 포함: 염증성 장 질환 (하기를 포함: 궤양성 대장염 및 크론병), 자가면역 위염 및 악성 빈혈, 자가면역 간염, 원발성 담즙성 경화증, 원발성 경화성 담관염, 및 셀리악병), 혈관염 (하기를 포함: 처그-스트라우스 (Churg-Strauss) 혈관염, 베게너 (Wegener) 육아종증 및 현미경적 다발성혈관염을 포함한 ANCA-음성 혈관염 및 ANCA-관련된 혈관염), 자가면역 신경학적 장애 (하기를 포함: 다발성 경화증, 안진전-근간대 증후군, 중증 근무력증, 신경성 척수염, 파킨슨병, 알츠하이머병, 및 자가면역 다발신경병증), 신장 장애 (하기를 포함: 사구체신염, 굿파스처 (Goodpasture) 증후군, 및 버거 (Berger)병), 자가면역 피부과적 장애 (하기를 포함: 건선, 담마진, 두드러기, 심상성 천포창, 수포성 유천포창, 및 피부 홍반성 루푸스), 혈액학적 장애 (하기를 포함: 혈소판감소성 자반병, 혈전성 혈소판감소성 자반병, 수혈-후 자반병, 및 가자면역 용혈성 빈혈), 아테롬성 경화증, 포도막염, 자가면역 청각 질환 (하기를 포함: 내이 질환 및 청력 상실), 베체트 (Behcet)병, 레이노드 (Raynaud) 증후군, 기관 이식, 및 가자면역 내분비 장애 (하기를 포함: 인슐린-의존성 진성 당뇨병 (IDDM)과 같은 당뇨병-관련 자가면역 질환, 애디슨 (Addison)병, 및 자가면역 갑상선 질환 (하기를 포함: 그레이브스 (Graves)병 및 갑상선염)).

[0263] 기타 구현예에서, 생물학적 샘플은 암의 소인을 갖거나, 또는 이에 대해 시험된 대상체로부터 유래한다. 특정 구현예에서, 암은 하기이다: 비-소세포 폐암 (NSCLC) (폐의 선암종 및 폐의 편평상피 암종을 포함), 암종, 림프종 (하기를 포함: 호지킨 및 비-호지킨 림프종), 아세포종, 육종, 백혈병, 편평상피 세포 암, 소-세포 폐암, 복막의 암, 간세포암, 위장관암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병 및 기타 림프종식성 장애, 또는 다양한 유형의 두경부암. 특정 구현예에서, 암은 NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC 는 폐의 선암종 또는 폐의 편평상피암종이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 비-편평상피 NSCLC 또는 편평상피 NSCLC 이다.

[0264] G. PD-L1 존재 및/또는 발현 수준에 기반한 치료 방법

[0265] 본 발명은, 본 발명의 항-PD-L1 항체를 사용하여 측정 시, 대상체로부터 획득된 샘플 중 PD-L1의 존재 및/또는 발현 수준을 기반으로 한, 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 경우에서, 상기 방법은, 본 발명의 항-PD-L1 항체를 사용하여 측정 시, 대상체로부터 획득된 샘플 중 PD-L1의 존재 및/또는 발현 수준을 기반으로 한, 치료 (예컨대, 항암 요법)의 투여를 포함한다. 일부 경우에서, 상기 치료 방법은, 본 발명의 항-PD-L1 항체를 사용하여 측정 시, PD-L1의 존재 및/또는 발현 수준을, 예를 들어 대상체의 본원에 기술된 항암 요법에 반응하거나 이점을 얻을 공산과 연관시키는 것을 포함한다.

[0266] 상기 방법은, 장애 (예컨대, 암 또는 면역 기능이상)를 앓는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: 하기에 의하여 대상체로부터 획득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대 SP142)를 상기 샘플과 접촉시킴에 의하여, 그리고 결합된 항체의 존재를 검출함에 의하여; 및 상기 대상체에 요법의 치료적 유효량을 투여하는 단계.

[0267] 예를 들어, 상기 방법은, 암을 앓는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: 하기에 의하여 대상체로부터 획득된 샘플 내의 PD-L1 의 존재 또는 발현 수준을 측정하는 단계: 본 발명의 항-PD-L1 항체 (예컨대 SP142)를 상기 샘플과 접촉시킴에 의하여, 그리고 결합된 항체의 존재를 검출함에 의하여; 및 상기 대상체에 항암 요법의 치료적 유효량을 투여하는 단계. 일부 경우에서, 샘플은 조직 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플 및 혈장 샘플로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 경우에서, 조직 샘플은 중앙 샘플이다. 일부 경우에서, 중앙 샘플은 중앙-침윤 면역 세포, 중앙 세포, 간질 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다. 선행 방법 중 임의의 것에서, 중앙 샘플은 하기를 포함하는 중앙-침윤 면역 세포 내의 PD-L1 의 검출가능한 발현 수준을

가질 수 있다: 약 1% 이상 (예컨대, 약 1% 이상, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)의 종양 샘플 (예를 들어, 영역). 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플은 하기를 포함하는 종양-침윤 면역 세포 내의 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 95% 미만, 약 1% 내지 약 90% 미만, 약 1% 내지 약 85% 미만, 약 1% 내지 약 80% 미만, 약 1% 내지 약 75% 미만, 약 1% 내지 약 70% 미만, 약 1% 내지 약 65% 미만, 약 1% 내지 약 60% 미만, 약 1% 내지 약 55% 미만, 약 1% 내지 약 50% 미만, 약 1% 내지 약 40% 미만, 약 1% 내지 약 35% 미만, 약 1% 내지 약 30% 미만, 약 1% 내지 약 25% 미만, 약 1% 내지 약 20% 미만, 약 1% 내지 약 15% 미만, 약 1% 내지 약 10% 미만, 약 1% 내지 약 5% 미만, 약 5% 내지 약 95% 미만, 약 5% 내지 약 90% 미만, 약 5% 내지 약 85% 미만, 약 5% 내지 약 80% 미만, 약 5% 내지 약 75% 미만, 약 5% 내지 약 70% 미만, 약 5% 내지 약 65% 미만, 약 5% 내지 약 60% 미만, 약 5% 내지 약 55% 미만, 약 5% 내지 약 50% 미만, 약 5% 내지 약 40% 미만, 약 5% 내지 약 35% 미만, 약 5% 내지 약 30% 미만, 약 5% 내지 약 25% 미만, 약 5% 내지 약 20% 미만, 약 5% 내지 약 15% 미만, 약 5% 내지 약 10% 미만, 약 10% 내지 약 95% 미만, 약 10% 내지 약 90% 미만, 약 10% 내지 약 85% 미만, 약 10% 내지 약 80% 미만, 약 10% 내지 약 75% 미만, 약 10% 내지 약 70% 미만, 약 10% 내지 약 65% 미만, 약 10% 내지 약 60% 미만, 약 10% 내지 약 55% 미만, 약 10% 내지 약 50% 미만, 약 10% 내지 약 40% 미만, 약 10% 내지 약 35% 미만, 약 10% 내지 약 30% 미만, 약 10% 내지 약 25% 미만, 약 10% 내지 약 20% 미만, 약 10% 내지 약 15% 미만)의 종양 샘플 (예를 들어, 영역). 예를 들어, 일부 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 1% 이상 내지 5% 미만을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 5% 이상 내지 10% 미만을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 종양 샘플의 약 10% 이상을 포함 (예를 들어, 영역)하는 종양-침윤 면역 세포에서 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다.

[0268]

선행 방법 중 임의의 것에서, 종양 샘플은 하기로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 이상 (예컨대, 약 1% 이상, 약 2% 이상, 약 3% 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 또는 약 99% 이상)의 종양 샘플 내의 종양 세포. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플은 하기로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다: 약 1% 내지 약 99% (예컨대, 약 1% 내지 약 95% 미만, 약 1% 내지 약 90% 미만, 약 1% 내지 약 85% 미만, 약 1% 내지 약 80% 미만, 약 1% 내지 약 75% 미만, 약 1% 내지 약 70% 미만, 약 1% 내지 약 65% 미만, 약 1% 내지 약 60% 미만, 약 1% 내지 약 55% 미만, 약 1% 내지 약 50% 미만, 약 1% 내지 약 40% 미만, 약 1% 내지 약 35% 미만, 약 1% 내지 약 30% 미만, 약 1% 내지 약 25% 미만, 약 1% 내지 약 20% 미만, 약 1% 내지 약 15% 미만, 약 1% 내지 약 10% 미만, 약 1% 내지 약 5% 미만, 약 5% 내지 약 95% 미만, 약 5% 내지 약 90% 미만, 약 5% 내지 약 85% 미만, 약 5% 내지 약 80% 미만, 약 5% 내지 약 75% 미만, 약 5% 내지 약 70% 미만, 약 5% 내지 약 65% 미만, 약 5% 내지 약 60% 미만, 약 5% 내지 약 55% 미만, 약 5% 내지 약 50% 미만, 약 5% 내지 약 40% 미만, 약 5% 내지 약 35% 미만, 약 5% 내지 약 30% 미만, 약 5% 내지 약 25% 미만, 약 5% 내지 약 20% 미만, 약 5% 내지 약 15% 미만, 약 5% 내지 약 10% 미만, 약 10% 내지 약 95% 미만, 약 10% 내지 약 90% 미만, 약 10% 내지 약 85% 미만, 약 10% 내지 약 80% 미만, 약 10% 내지 약 75% 미만, 약 10% 내지 약 70% 미만, 약 10% 내지 약 65% 미만, 약 10% 내지 약 60% 미만, 약 10% 내지 약 55% 미만, 약 10% 내지 약 50% 미만, 약 10% 내지 약 40% 미만, 약 10% 내지 약 35% 미만, 약 10% 내지 약 30% 미만, 약 10% 내지 약 25% 미만, 약 10% 내지 약 20% 미만, 약 10% 내지 약 15% 미만)의 종양 샘플 내의 종양 세포. 예를 들어, 일부 경우에서, 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 1% 이상 내지 약 5% 미만으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 5% 이상 내지 약 10% 미만으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다. 기타 경우에서, 종양은 상기 종양 샘플에서 상기 종양 세포의 약 10% 이상으로 PD-L1의 검출가능한 발현 수준을 가질 수 있다.

[0269]

선행 방법 중 임의의 것에서, 암은 하기일 수 있다: 비-소세포 폐암 (NSCLC) (폐의 선암종 및 폐의 편평상피 암종을 포함), , 편평상피 세포 암, 소-세포 폐암, 복막의 암, 간세포암, 위장관암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병, 및 두경부암. 일부 경우에서, 암은 NSCLC이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 폐의 선암종 또는 폐의 편평상피암종이다. 일부 구현예에서, NSCLC는 비-편평상피 NSCLC 또는 편평상피 NSCLC이다.

- [0270] 선행 방법 중 임의의 것에서, 항암 요법은 PD-1 축 결합 길항제를 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 상기 방법은 하기를 포함할 수 있다: 종양 샘플 중 종양 세포 및/또는 종양-침윤 면역 세포 내 PD-L1 의 발현 수준에 기반하여, PD-1 축 결합 길항제의 치료적 유효량을 상기 환자에게 투여하는 단계. PD-1 축 결합 길항제는 본원에 기술되거나 본 분야에 공지된 임의의 PD-1 축 결합 길항제일 수 있다.
- [0271] 예를 들어, 일부 경우에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제, 및 PD-L2 결합 길항제를 포함한다. PD-1 (프로그램된 사멸 1) 은 또한 본 분야에서 “프로그램된 세포 사멸 1,” “PDCD1,” “CD279,” 및 “SLEB2” 로 지칭된다. 예시적 인간 PD-1는 하기에 나타난다: UniProtKB/Swiss-Prot 수탁번호 Q15116. PD-L1 (프로그램된 사멸 리간드 1) 은 또한 본 분야에서 “프로그램된 세포 사멸 1 리간드 1,” “PDCD1LG1,” “CD274,” “B7-H,” 및 “PDL1” 로 지칭된다. 예시적 인간 PD-L1는 하기에 나타난다: UniProtKB/Swiss-Prot 수탁번호 Q9NZQ7.1. PD-L2 (프로그램된 사멸 리간드 2) 은 또한 본 분야에서 “프로그램된 세포 사멸 1 리간드 2,” “PDCD1LG2,” “CD273,” “B7-DC,” “Btdc,” 및 “PDL2” 로 지칭된다. 예시적 인간 PD-L2는 하기에 나타난다: UniProtKB/Swiss-Prot 수탁번호 Q9BQ51. 일부 구현예에서, PD-1, PD-L1, 및 PD-L2 는 인간 PD-1, PD-L1 및 PD-L2 이다.
- [0272] 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대로의 PD-1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-1 리간드 결합 상대는 PD-L1 및/또는 PD-L2이다. 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 이의 결합 리간드로의 PD-L1 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-L1 결합 상대는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 구현예에서, PD-L2 결합 길항제는 이의 리간드 결합 상대로의 PD-L2 결합을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-L2 결합 리간드 상대는 PD-1 이다. 길항제는 하기일 수 있다: 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩티드.
- [0273] 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 예를 들어, 하기에 기술된, 항-PD-1 항체 (예컨대, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다: MDX-1106 (니볼루맵), MK-3475 (켄트롤리주맵), CT-011 (피딜리주맵). MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, 및 BGB-108. MDX-1106 (또한 MDX- 1106-04, ONO-4538, BMS-936558, 또는 니볼루맵으로 공지됨)은 WO2006/121168 에 기술된 항-PD-1 항체이다. MK-3475 (또한 켄트롤리주맵 또는 람브롤리주맵으로 공지됨)은 WO 2009/114335 에 기술된 항-PD-1 항체이다. CT-011 (또한 hBAT, hBAT-1 또는 피딜리주맵으로 공지됨)은 WO 2009/101611 에 기술된 항-PD-1 항체이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는, 면역접합체 (예컨대, 불변 영역 (예컨대, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 또는 PD-1 결합부를 포함하는 면역접합체)이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. AMP-224 (또한 B7-DCIg 로 공지됨)은 WO 2010/027827 및 WO 2011/066342 에 기술된 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다.
- [0274] 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 MDX-1106이다. “MDX-1106” 에 대한 대안적 명칭은 하기를 포함한다: MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558, 및 니볼루맵. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 하기이다: 니볼루맵 (CAS 등록 번호: 946414-94-4).
- [0275] 일부 구현예에서, PD-1 축 결합 길항제는 PD-L2 결합 길항제이다. 일부 구현예에서, PD-L2 결합 길항제는 항-PD-L2 항체 (예컨대, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 구현예에서, PD-L2 결합 길항제는 면역접합체이다.
- [0276] 일부 구현예에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 PD-L1 및 PD-1 사이의 및/또는 PD-L1 및 B7-1 사이의 결합을 억제할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 단클론성 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 Fab, Fab' -SH, Fv, scFv, 및 (Fab')₂ 단편으로 구성된 군으로부터 선택된 항체 단편이다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 인간화 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다: YW243.55.S70, MPDL3280A (아테졸리주맵), MDX-1105, MEDI4736 (두르발루맵), 및 MSB0010718C (아벨루맵). 항체 YW243.55.S70 는 하기에 기술된 항-PD-L1 이다: WO 2010/077634 및 미국 특허 번호 8,217,149 (이의 각각의 전체내용이 본 출원에 참조로서 편입됨). MDX-1105 (또한 BMS-936559로 공지됨)은 WO 2007/005874 에 기술된 항-PD-L1 항체이다. MEDI4736 는 하기에 기술된 항-PD-L1 단클론성 항체이다: WO 2011/066389 및 US 2013/034559. 본 발명의 방법에 유용한 항-PD-L1 항체 및 이를 제조하기 위한 방법의 예시는 하기에 기술된다: PCT 특허 출원 WO 2010/077634, WO 2007/005874, WO 2011/066389, 미국 특허 번호 8,217,149, 및 US 2013/034559 (이의 각각의 전체내용이 본 출원에 참조로서 편입됨).

- [0277] 선행 구현에 중 임의의 것에서, 상기 단리된 항-PD-L1 항체는 인간 PD-L1, 하기에 나타난 바와 같은 인간 PD-L1 또는 이의 변이체에 결합할 수 있다: UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q9NZQ7.1.
- [0278] 또한 추가의 구현예에서, 본원에 기술된 항체 중 임의의 것을 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구현예에서, 핵산은 추가로 하기를 포함한다: 이전에 기술된 항-PD-L1 항체 중 임의의 것을 암호화하는 핵산의 발현에 적절한 벡터. 또 다른 추가 특정 양태에서, 벡터는 핵산의 발현에 적절한 숙주 세포 내에 존재한다. 또 다른 추가 특정 양태에서, 숙주 세포는 진핵생물 세포 또는 원핵생물 세포이다. 또 다른 추가 특정 양태에서, 진핵생물 세포는 포유동물 세포, 예컨대 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포이다.
- [0279] 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 예를 들면, 하기 단계를 포함하는 공정에 의하여 본 분야에 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있다: 상기 항체 또는 단편을 생산하기에 적절한 조건 하에서 발현에 적절한 형태의, 이전에 기술된 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편 중 임의의 것을 암호화하는 핵산을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 항체 또는 단편을 회수하는 단계.
- [0280] 하기가 명백하게 고려된다: 상기 구현예 중 임의의 것에서 사용하기 위한, 본원에 기술된 PD-1 축 결합 길항제 항체 (예컨대, 항-PD-L1 항체, 항-PD-1 항체, 및 항-PD-L2 항체), 또는 기타 항체 (예컨대, PD-L1 발현 수준의 검출을 위한 항-PD-L1 항체)는 문헌 [섹션 A의 하위섹션 1-5, "Exemplary Anti-PD-L1 Antibodies."]에 기술된 특징 중 임의의 것을 단독으로, 또는 조합하여 가질 수 있다.
- [0281] 일부 경우에서, 선행 방법 중 임의의 것은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 경우에서, 제2 치료제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 세포독성제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제, 및 이들의 조합.
- [0282] 본 명세서에서 기재된 방법 (예를 들면, 항암 치료제)에서 이용된 조성물은 하기를 포함하는 임의의 적합한 방법에 의하여 투여될 수 있다: 예를 들면, 정맥내로, 근육내로, 피하로, 진피내로, 피부를 통하게, 동맥내로, 복강내로, 병소내로, 두개내로, 관절내로, 전립선내로, 늑막내로, 기관내로, 척추강내로, 비강내로, 질내로, 직장내로, 국소로, 종양내로, 복막으로, 결막하로, 방광내로, 점막으로, 심막내로, 탯줄내로, 안구내로, 안와내로, 경구로, 국소로, 경피로, 초자체내로 (예를 들면, 초자체내 주사에 의하여), 점안액에 의하여, 흡입으로, 주사로, 이식에 의하여, 주입에 의하여, 연속 주입에 의하여, 표적 세포를 직접적으로 국지화 관류 욕 (localized perfusion bathing)함으로써, 카테터에 의하여, 세척에 의하여, 크림 제형으로, 또는 지질 조성물로. 본 명세서에서 기재된 방법에서 이용된 조성물은 또한 전신으로 또는 국소로 투여될 수 있다. 투여 방법은 다양한 인자 (예를 들면, 투여될 화합물 또는 조성물 및 치료될 병태, 질환, 또는 장애의 중증도)에 따라 가변될 수 있다. 일부 구현예에서, 항암 요법 (예를 들면, PD-1 축 결합 길항제)은 하기로 투여된다: 정맥내로, 근육내로, 피하로, 국소로, 경구로, 경피로, 복강내로, 안와내로, 이식에 의하여, 흡입으로, 척추강내로, 심실내로, 또는 비강내로. 복용은 임의의 적합한 경로, 예컨대 부분적으로 상기 투여가 간단한 것이나 또는 만성적인 것이나에 따라, 주사, 예컨대 정맥내 또는 피하 주사에 의해 수행될 수 있다. 비제한적으로 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼러스 투여 및 펄스 주입을 비롯한 다양한 복용 스케줄이 본원에 고안되었다.
- [0283] 본원에 기술된 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제 (예컨대, 항체, 결합 폴리펩티드, 및/또는 소분자))는 양호한 의학적 실시와 일치하는 방식으로 제형화, 복용, 및 투여될 수 있다. 이러한 맥락에서 고려 인자는 치료되는 특정 장애, 치료되는 특정 포유동물, 개체 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여방법, 투여 스케줄, 및 의사에게 공지된 기타의 인자들을 포함한다. 꼭 그런 것은 아니지만, 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)는 문제의 장애를 예방 또는 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 제제와 임의로 제형화 및/또는 투여된다. 유효량의 상기 기타 제제는 제형에 존재하는 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 위에서 논의된 다른 요인에 의존한다. 이들은 일반적으로 본원에 기재된 바와 같은 투여 경로로 동일한 투여량으로 사용되거나, 본원에 기재된 투여량의 약 1 내지 99%, 또는 적당한 것으로 실험적/임상적으로 측정된 임의의 투여량 및 경로로 사용된다.
- [0284] 본원에 기술된 암 (예컨대, 비-소세포 폐암)의 예방 또는 치료를 위해, (단독으로 또는 하나 이상 다른 추가 치료제와 병용하여 사용될 때), 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)의 적절한 투여량은 치료받는 질환의 유형, 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)의 유형, 중증도 및 질환의 추이, 항체 또는 면역접합체가 예방적 또는 치료적 목적으로 투여되는지 여부, 이전의 요법, 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)에 대한 환자의 임상 이력 및 반응, 및 주치의의 재량에 의존할 것이다. 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)는 환자에게 1회에 또는 일련의 치료에 걸쳐 적합하게 투여된다. 한 가지 전형적인 일일 용량은 전술한 인자에 따라, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 또는 그 이상의 범위에서 변할 수 있다. 수 일 또는 그 이상에 걸친 반복된 투여의 경우, 병태에 따

라, 치료는 일반적으로 질환 증상의 목적하는 억제에 일어날 때까지 지속될 것이다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들면, (예를 들면, 환자가 약 2 내지 약 20회, 또는 예를 들면, 약 6회 용량의 치료제 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제)를 제공받도록) 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다. 초기 보다 높은 부하량에 이르는 하나 이상의 보다 낮은 용량이 투여될 수 있다. 그러나, 다른 투여 레지멘이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 전통적인 기술과 검정에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0285] 예를 들어, 일반적인 경우에서, 인간에게 투여된 길항제 항체 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제 항체)의 치료적 유효량은, 1회 이상의 투여에 의해 환자 체중당 약 0.01 내지 약 50 mg/kg의 범위일 것이다. 일부 구현예에서, 사용된 항체는, 예를 들어, 하기로 매일, 매주, 매 2주마다, 매 3주마다, 또는 매월 투여된다: 약 0.01 mg/kg 내지 약 45 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 35 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 25 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 또는 약 0.01 mg/kg 내지 약 1 mg/kg. 일부 구현예에서, 항체는 15 mg/kg 로 투여된다. 그러나, 다른 투여 레지멘이 유용할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 길항제 항체 (예컨대, PD-1 축 결합 길항제 항체)는 하기의 용량으로 21-일 주기 중 제1일 (매 3주, q3w)에 인간에게 투여된다: 약 100 mg, 약 200 mg, 약 300 mg, 약 400 mg, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 또는 약 1800 mg. 용량은 단회 용량 또는 다중 용량(예를 들면, 2 또는 3 개 용량)으로, 예컨대 주입(infusion)으로 투여될 수 있다. 병용 치료 중 투여된 항체의 투여는, 단일 치료와 비교하여, 감소될 수 있다. 이 치료법의 과정은 통상적인 기술에 의해 용이하게 관찰된다.

[0286] 일부 구현예에서, 상기 방법은 제2 치료제의 유효량을 환자에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 세포독성제, 화학치료제, 성장-억제제, 방사선 치료제, 항-혈관형성제, 및 이들의 조합. 일부 구현예에서, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)는 화학요법 또는 화학치료제와 결합되어 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)는 방사선 요법 제제와 결합되어 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)는 표적화된 요법 또는 표적화된 치료제와 결합되어 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)는 면역요법 또는 면역치료제, 예를 들어 단클론성 항체와 결합되어 투여될 수 있다.

[0287] 상기 주지된 이러한 병용 요법은 병용 투여(둘 이상의 치료제가 동일한 또는 별도의 제형에 포함되어 있는 경우), 및 별도의 투여를 포함하며, 이 경우, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)의 투여는 추가의 치료제 또는 치료제들의 투여 전, 투여와 동시에 및/또는 투여 후에 일어날 수 있다. 일 구현예에서, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)의 투여 및 추가 치료제의 투여는 약 1달 내, 또는 약 1주, 2주 또는 3주 내, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6일 내에 발생한다.

[0288] 본 발명에 따라 사용된, 치료제(예컨대, PD-1 축 결합 길항제)의 치료적 제형은 동결건조된 제형 또는 수용액 형태로 원하는 정도의 순도를 갖는 길항제를 선택적인 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제와 혼합하여 보관을 위해 제조된다. 제형에 관한 일반적인 정보에 대해서는, 예를 들어, 하기를 참고한다: Gilman et al. (eds.) *The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8th Ed., Pergamon Press, 1990; A. Gennaro (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, Mack Publishing Co., Pennsylvania, 1990; Avis et al. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications* Dekker, New York, 1993; Lieberman et al. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* Dekker, New York, 1990; Lieberman et al. (eds.), *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems* Dekker, New York, 1990; 및 Walters (ed.) *Dermatological and Transdermal Formulations* (Drugs and the Pharmaceutical Sciences), Vol 119, Marcel Dekker, 2002.

[0289] 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 투여량 및 농도에서 수령체에 비독성이며, 버퍼, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실 디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 주기로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 폴리머, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당류, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 짝이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물(예를 들면, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대

TWEEN™, PLURONICS™, 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이 포함된다.

[0290] 본원에서 제형은 또한 1 초과와 활성 화합물, 바람직하게는 서로 부정적으로 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 그와 같은 약제의 유형 및 유효량은, 예를 들면 제형에 존재하는 길항제의 양 및 유형, 그리고 대상체의 임상 파라미터에 의존한다.

[0291] 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들면, 리포솜, 알부민 마이크로구형체, 마이크로에멀전, 나노-입자 및 나노 캡슐)에서 또는 매크로에멀전에서 활성 성분, 예를 들면, 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐, 각각은, 예를 들면, 코아세르베이션 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐에 또한 포착될 수 있다. 상기 기술은 하기에서 개시되어 있다: *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

[0292] 지속-방출 제제는 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적당한 예에는 길항제를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반-투과성 매트릭스가 포함되며, 이 매트릭스는 형상화된 물품, 예를 들면, 필름, 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 하기를 포함한다: 폴리에스테르, 하이드로겔 (예를 들면, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락타이드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산과 γ 에틸-L-글루타메이트와의 코폴리머, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락탄-글라이콜산 코폴리머 예컨대 LUPRON DEPOT™ (락탄-글라이콜산 코폴리머 및 류프롤라이드 아세테이트로 구성된 주사가능 마이크로구형체), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산.

[0293] 생체내 투여를 위해 사용될 제형은 멸균되어야 한다. 이는 멸균된 여과 막을 통한 여과에 의하여 용이하게 달성될 수 있다.

[0294] 하기가 이해된다: 상기 제조 물품 중 임의의 것은 항체, 예를 들어 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체 대신에 또는 이에 추가로 본원에 기술된 면역조절제이트를 포함할 수 있다.

[0295] III. 실시예

[0296] 하기는 본 발명의 방법 및 조성물의 실시예이다. 상기 제공된 일반적 기재가 제공되면, 다양한 기타 구현예가 실시될 수 있음이 이해된다.

[0297] 실시예 1. 항-PD-L1 항체의 발생

[0298] 항-PD-L1 래빗 단클론성 항체를 도 1에서 도식적으로 묘사된 바와 같이 생성하였다. 간단히, 인간 PD-L1 (SKKQSDTHLEET; 서열 번호: 1)의 N-말단 세포질 영역 (아미노산 잔기 279-290)의 펩티드 단편을 합성하였다. 을 합성하였다. 항체 생산을 통해 실질적인 면역 반응 자극을 위하여 광범위하게 사용된 담체 단백질인, 키홀 림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin) (KLH)에 면역화를 위한 12-아미노산 단편을 콘주게이트시켰다. 서열의 자연 발생 N-말단에 2 아미노산 (Cys-Gly) 첨부는 담체 단백질 KLH에 콘주게이션을 허용하였다. 뉴질랜드 백색 래빗을 완전 프로인트 보조제로 유화된 KLH 콘주게이트된 PD-L1 항원 그 다음 불완전 프로인트 보조제로 유화된 일련의 PD-L1 항원 부스터로 면역화시켰다. PD-L1 항원을 이용한 효소-결합 면역흡착 검정법 (ELISA)에 의해 항체-발현 세포를 스크리닝하였다. 전체 ELISA 양성 클론을 면역조직화학 (IHC)에 의해 추가로 스크리닝하였고, 그리고 최고 특이성을 갖는 항체를 생산하는 클론을 선택하였다. 항-PD-L1 항체의 재조합성 생산을 위하여, 항체의 중쇄 및 경쇄 서열을 암호화하는 cDNA를 클로닝하였고, 공-형질감염에 의해 발현하였고, 그리고 IHC에 의해 PD-L1 (서열 번호: 1)에 결합을 위하여 스크리닝하였다. IHC에 의해 항-PD-L1 단클론성 항체 (SP142)를 상기 방법을 이용하여 생산하였고 그 뒤에 단백질 A 친화 크로마토그래피에 의해 정제하였다. SP142 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열은 하기와 같다:

[0299] 중쇄 가변 영역:

[0300] QSLSESGRLVKPDETLTITCTVSGIDLSSNGLTWVRQAPGEGLEWIGTINKDASAYYASWAKGRLTISKP

[0301] HVR-H1 HVR-H2

[0302] SSTKVDLKITSPTTDTATYFCGR~~I~~AFKGTGTS~~I~~WGPGLTVTVSS (서열 번호: 16)

[0303] HVR-H3

[0304] 경쇄 가변 영역:

[0305] AIVMTQTPSPVSAVGGTVTINCQASESVYSNNYLSWFQKPGQPPKLLIYLASTLASGVPSRFGKSGSG

- [0306] HVR-L1 HVR-L2
- [0307] TQFTLTISGVQCDDAATYYCIGGKSSSTDGNAFGGGTEVVVR (서열 번호: 17)
- [0308] HVR-L3
- [0309] **실시예 2. 항-PD-L1 항체의 진단적 용도**
- [0310] SP142 항-PD-L1 항체를 추가로 IHC 및 웨스턴 블롯 분석에서 사용하였다. IHC 분석을 위하여, 조직 절편을 16 분 동안 SP142로 배양 그 다음 표준 세정 및 염소 항-래빗 비오티닐화된 항체로 2차 검출하였다. SP142의 특이성은 상이한 PD-L1 발현 수준을 갖는 포르말린-고정, 파라핀-포매 (FFPE) 세포 (대조군 (음성)으로서 앰프티 벡터, 뿐만 아니라 DOR-13 (저 내지 중 발현)으로 형질감염된 인간 배아 신장 HEK-293 세포, 결장 암종 RKO 세포 (중 발현), 및 PD-L1 형질감염된 293 세포 (고 발현); 참조 도 2A-2D)상에서 또는 상이한 조직 유형 (대반 조직, 편도 조직, 및 호지킨 (HK) 림프종; 참조 도 3A-3C)으로부터 평가되었다. SP142의 특이성을 추가로 측정하기 위해, 상이한 PD-L1 발현 수준을 갖는 세포주 (NIH H820 폐 선암종 세포주 (고 발현), 카르파스 299 T 세포 림프종 세포주 (중간 발현), 및 Calu-3 폐 선암종 세포주 (음성 대조군); 참조 도 4)로부터 세포 용해물 상에서 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다.
- [0311] **실시예 3. SP142 항-PD-L1 항체 대 E1L3N 항-PD-L1 항체의 비교**
- [0312] 비-소 세포 폐 암종 (NSCLC) 환자로부터 조직을 포함하여, 정상 및 종양 조직 절편의 IHC 분석에서 SP142 항-PD-L1 항체를 항-PD-L1 항체 E1L3N (세포 신호 전달 기술(Cell Signaling Technology))와 비교하였다. 간단한 IHC 실험을 위하여, 양쪽 SP142 및 E1L3N 항-PD-L1 항체를 일련해서 희석시켰다 (0.11 - 28 μ g/ml). 자일렌 대안 및 등급화된 알코올을 이용하여 조직 절편용 슬라이드를 탈파라핀화하였다. 10 분 동안 EDTA 버퍼 (pH 8.0)에서 조직 절편을 비등시킨 다음 20 분 동안 실온에서 냉각시킴으로써 항원 회수를 달성하였다. 조직 절편을 10 분 동안 한쪽 SP142 또는 E1L3N으로 배양 그 다음 표준 세정 및 15 분 동안 염소 항-래빗 항체로 2차 검출하였다. 리포터 분자 3,3'-디아미노벤지딘 (DAB)으로 최종 항온처리를 10 분 동안 수행하였다. 민감성을 평가하기 위해, 상이한 농도의 E1L3N 및 SP142를 대반 조직의 FFPE 조직 절편 상에서 비교하였다 (참조 도 5A-5J). 정상 및 종양 조직 유형 (위 상피 조직, 신경 조직, 신장 조직, 방광 이행 세포 암종 (TCC), 유선 암종 (Ca), 및 폐 편평상피 세포 암종 (폐 SCCa); 참조 도 6A-6T 및 도 7A-7J)를 이용하여 E1L3N 및 SP142의 특이성을 측정하였다. 한쪽 E1L3N 또는 SP142 (편도 조직, 경부 편평상피 세포 암종 (SCC), 호지킨 림프종 (HK 림프종), 췌장 선암종, 전립선 선암종, 및 피부 SCC; 참조 도 8A-8L)로 염색된 상이한 FFPE 조직 유형의 절편 상에서 IHC 분석을 또한 수행하였다.
- [0313] NSCLC 환자로부터 FFPE 조직 절편에서 E1L3N 및 SP142로 PD-L1 발현의 검출을 그 다음 비교하였다. E1L3N은 PD-L1 상태에 대하여 미리 미측정된 119 NSCLC 샘플로부터 50 PD-L1-양성 사례를 검출하였고, 그리고 SP142는 58 PD-L1-양성 사례를 검출하였고, 여기에서 양성 염색된 종양 세포의 5% 이상은 PD-L1-양성 사례의 지표로 고려되었다. 상기 항체로 PD-L1의 검출을 추가로 평가하기 위해, NSCLC 환자로부터 FFPE 조직 절편을 양쪽 E1L3N 및 SP142로 순차적으로 염색시켰다 (도 9A-9J). 막 면역반응성의 정도 (즉, H 점수)를 그 다음 E1L3N 또는 SP142로 염색된 119 NSCLC 환자 조직 절편에 대하여 계산하였다. PD-L1에 대하여 H 점수를 하기 식으로 계산하였고: H 점수 = 3(강 염색 막의 백분율) + 2(중 염색 막의 백분율) + 1(약 염색 막의 백분율), 이에 의해 0 내지 300의 H 점수 범위를 제공하였다. 상기 119 NSCLC 사례로부터 평균 H 점수는 SP142 (100 $\pm$ 11)에 대하여 보다 E1L3N (56 $\pm$ 8)에 대하여 유의미하게 낮았다. 상기 수집 데이터는 SP142가 E1L3N보다 더욱 민감하고 특이적임을 증명하였다.
- [0314] **실시예 4. IHC 분석에서 항-PD-L1 항체 SP142의 이용은 면역 세포 (IC) 및 종양 세포 (TC)에서 PD-L1 염색을 증명한다**
- [0315] 항-PD-L1 항체 SP142는, 비제한적으로 비-소 세포 폐암 (NSCLC), 경부 편평상피 세포 암종, HK 림프종, 췌장 선암종, 전립선 선암종, 및 피부 편평상피 세포 암종을 포함하여, 시험된 모든 암 유형 (대략 28-30 유형)으로부터 대표적 사례로 종양-침윤 면역 세포 (IC) 및 종양 세포에서 PD-L1 발현을 검출하였다 (참조, 예를 들어, 도 8A-8L, 9A-9J, 10, 11, 15A-15B, 16A-16H, 및 18A-18F).
- [0316] **면역 세포 (IC)**
- [0317] 면역 세포 (IC)는, 림프구, 대식세포, 수지상 세포, 및 그물 형태의 세포를 포함하여, 형태적으로 이질적 집단인 세포 유형을 포함하는 종양내 및 인접한 종양주변 간질에 존재하는 종양-침윤 면역 세포이다. 종양 조직 절

편의 IHC 분석을 SP142 항체를 이용하여 수행하였다. 종양 조직 절편에서, PD-L1-양성 IC는 종종 림프구에 관련하여 암갈색 반점 또는 불연속 막 염색을 보여주었다 (도 10). PD-L1-양성 IC는 전형적으로 종양내 및 종양주변 간질에서 응집물로서 및/또는 단일 세포 또는 종양 세포 그룹 (종양 절편에서 위치에 기반된 종양 세포의 그룹화 중에서 발산 확산물로서 관찰되었다. PD-L1-양성 IC 염색은 또한 종양-간질 계면에서, 그리고 3차 림프 구조에서 그물 염색으로서 관찰되었다.

[0318] 종양 세포 (TC)

[0319] 상기 기재된 PD-L1-양성 IC에 더하여, PD-L1-양성 종양 세포 (TC)는 SP142 항체를 이용하는 IHC 분석에서 종양 샘플에 존재하는 것으로 또한 측정되었다. PD-L1-양성 TC는 전형적으로 막 염색을 특징으로 하고 (도 11), 이는 때때로 세포질 염색에 관련되었다.

[0320] 결과는 PD-L1 발현의 IHC 분석에서 사용되는 경우 종양 조직 절편의 민감성 및 특이적 PD-L1 염색을 수득하기 위해 SP-142 항체가 사용될 수 있음을 증명하였고, 그리고 추가로 PD-L1-양성 IC 뿐만 아니라 종양 조직 절편에서 PD-L1-양성 TC의 존재를 드러내었다.

[0321] 물질 및 방법

[0322] FFPE 조직 절편을 탈파라핀화시키고 EDTA 항원 회수 버퍼에서 가열시킨 다음 래빗 항-인간 PD-L1 (SP142) 단클론성 항체를 조직 절편에 부가하였다. IHC를 자동 염색 시스템 (BenchMark ULTRA, Roche) 또는 반-자동 염색 시스템 (Autostainer, Thermo Scientific)으로 처리하였다. 표 2는 BenchMark ULTRA 시스템에 사용된 프로토콜을 보여주었다.

표 2

[0323] SP142를 이용한 BenchMark ULTRA 시스템에 대한 IHC 프로토콜

프로토콜 선택	BenchMark ULTRA
소프트웨어 툴	NexES v10.6
염색 과정	U OptiView DAB IHC v4
탈파라핀화	선택됨
세포 조건화	48 분 CC1
사전 1차 퍼옥시다아제	선택됨
1차 항온처리	16 분, 36℃
옵티뷰 HQ 링커	8 분
옵티뷰 HRP 멀티머	8 분
옵티뷰 증폭	선택됨
증폭기 및 증폭 H202	8 분
증폭 멀티머	8 분
헤마토자일린 II	4 분
칭색 시약	4 분

[0324] 실시예 5. IC, TC, 및 이들의 조합에서 PD-L1-양성성의 측정

[0325] 항-PD-L1 항체 (예를 들어, 본 발명의 임의의 항-PD-L1 항체, 예를 들어, SP142)로 염색된 조직은 상이한 컷오프 (예를 들어, 1%, 5%, 10%, 등)를 이용하여 PD-L1-양성 IC, TC, 또는 IC 및 TC의 조합의 존재에 대하여 스코어링될 수 있다. 상기 상이한 컷오프는 환자 계층화에, 예를 들어, 특정한 항암 요법 (예를 들어, PD-1 축 결합 길항제를 포함하는 항암 요법)에 반응할 것 같은 환자의 선택에 사용될 수 있다.

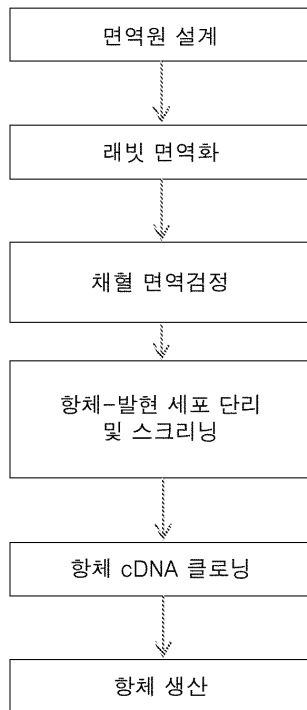
[0326] 면역 세포 스코어링 방법

[0327] IC는 ("IC"로서 본원에서 지칭되는) 임의의 세기의 PD-L1-양성 IC로 망라되는 종양 영역의 백분율에 기반된 PD-L1 발현에 대하여 스코어링될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이 종양 영역은 종양 세포 뿐만 아니라 이들의 관련 종양내 및 인접 종양주변 간질에 의해 점유되는 영역 (예를 들어, 종양 절편의 영역)을 지칭한다 (도 12A-12C). IC가 간질 내에 존재하고 뿐만 아니라 일부 경우에서 단일 세포로서 또는 종양 세포내에 발산 확산물과 함께 또한 존재하기 때문에 종양 영역은 이 스코어링 접근에서 분모로서 선택되었다. 아래 기재된 바와 같이, 일부 경우에서 IC는 종양 절편내에 응집물로서 관찰되었고, 반면에 기타 경우에서 IC는 종양 절편을 거쳐 확산되었던 하나 또는 몇몇 세포의 중심으로서 관찰되었다.

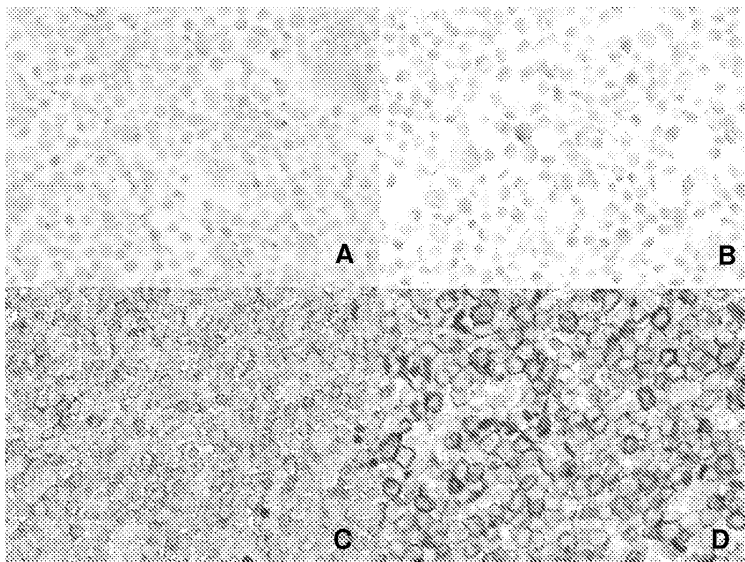
- [0328] 종양 샘플의 IC% 측정을 위한 예시적 작업흐름은 도 13에서 보여진다. 일부 경우에서, 종양 샘플의 일련의 절편을, 상기 기재된 바와 같이, 한쪽 H&E 또는 항-PD-L1 항체 (예를 들어, SP142)로 염색하였다. 작업흐름에서 제1 단계는 종양, 괴사, 및/또는 IC의 존재를 측정하기 위해 H&E 염색된 슬라이드를 검토하는 것이었다. 그 다음, 예를 들어, 현미경을 이용하여, 저 배율 (예를 들어, 2x 또는 4x 대물렌즈; 20x-40x 총 확대)에서 상응하는 PD-L1-염색된 슬라이드를 조사하였고, 그리고 전체 PD-L1 염색 패턴을 평가한다. 예를 들어, 종양 조직 절편이 IC, TC, 양쪽 IC 및 TC에서 PD-L1 염색을 나타내는지, 또는 종양 조직 절편이 실질적인 PD-L1 염색을 나타내지 않는지를 측정할 수 있다. 그 다음, PD-L1-염색된 슬라이드를 고 배율 (예를 들어, 10x 또는 20x 대물렌즈, 100x-200x 확대)로 조사하여 IC 염색에 대하여 간질 및 종양 세포 그룹을 조사하였다. 고 배율의 이용은 약-염색 IC의 식별, 뿐만 아니라 강 TC 염색의 중간에서 IC 식별을 가능하게 하였다. 마지막으로, PD-L1-양성 IC 백분율 (임의의 세기의 PD-L1-양성 IC로 망라되는 종양 영역의 백분율)을 측정 또는 추정하기 위해 PD-L1-염색된 슬라이드를 저 배율 (예를 들어, 2x 또는 4x 대물렌즈; 20-40x 총 확대)로 조사하였다.
- [0329] PD-L1 염색의 임의의 세기를 갖는 PD-L1-양성 IC로 망라되는 종양 영역의 백분율은, 예를 들어, 도 14에서 보이는 바와 같이, 저 배율 (예를 들어, 2x 또는 4x 대물렌즈; 20-40x 총 확대)로 측정된 다음 고 확대로 염색을 검토 및 식별할 수 있다. IC 염색 패턴이 단일 세포 확산을 특징으로 하는 경우에서, IC 염색 (예를 들어, 1%, 5%, 10%)의 특정 범위에 대하여 참조 이미지는 PD-L1 염색의 임의의 세기를 갖는 PD-L1-양성 IC로 망라되는 종양 영역의 백분율을 추정 또는 측정하기 위한 비교 목적으로 이용될 수 있다 (참조 도 15A 및 15B 및 16A-16H, 예를 들어).
- [0330] 종양 세포 스코어링 방법
- [0331] 종양 세포 (TC)는 (또한 "TC%"로서 본원에서 지칭되는) 임의의 세기의 임의의 인식가능한 막 PD-L1 염색을 보여주는 종양 세포의 총 수의 백분율에 기반된 PD-L1 발현에 대하여 스코어링될 수 있다. TC는 H&E 및 IHC-염색된 슬라이드에서 세포 형태에 기반된 IC로부터 용이하게 구별가능하다. 참조, 예를 들어, 도 17a-17c. 막 염색은 심지어 과립 품질과 관련되어도 선형 염색 (즉, 세포 막의 개괄선에 따른 도열)로서 가시적이어야 한다. 도 18A-18F는 TC PD-L1 염색의 특정 범위 (즉, <5%, ≥5 내지 <50%, 또는 ≥50%의 TC%)를 나타내었던 PD-L1-염색된 NSCLC 종양 조직 절편의 예를 보여준다.
- [0332] 기타 구현예
- [0333] 비록 상기 발명이 이해의 명확성을 목적으로 예시 및 실시예로서 일부 상세히 기재되어 있어도, 상세한 설명 및 실시예는 본 발명의 범위 제한으로서 해석되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 특허 및 과학적 문헌의 개시 내용은 명확히 그 전체가 참고로 편입된다.

도면

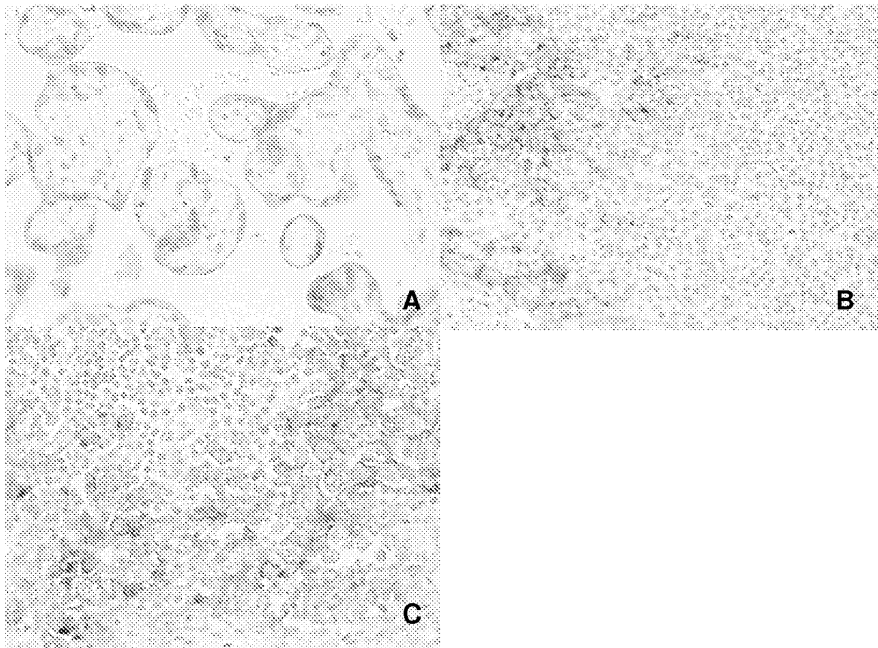
도면1



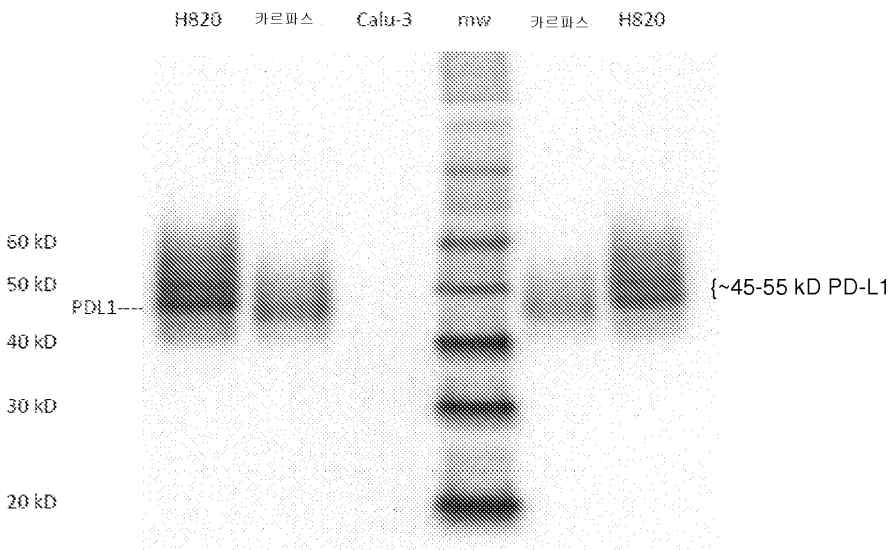
도면2



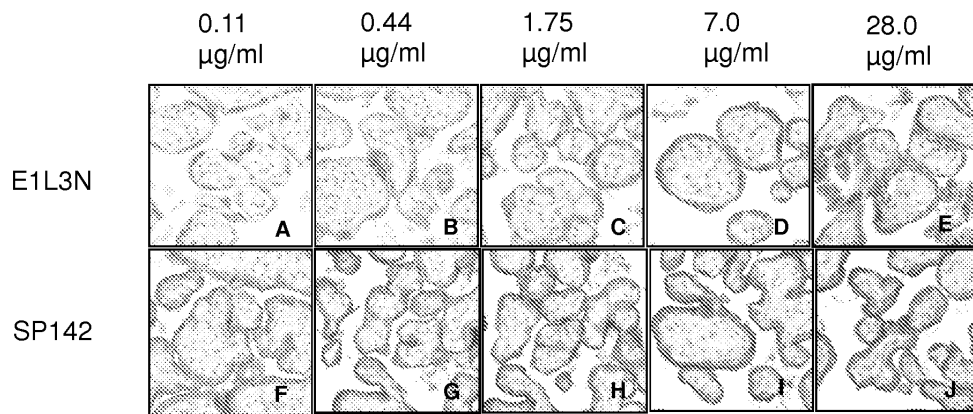
도면3



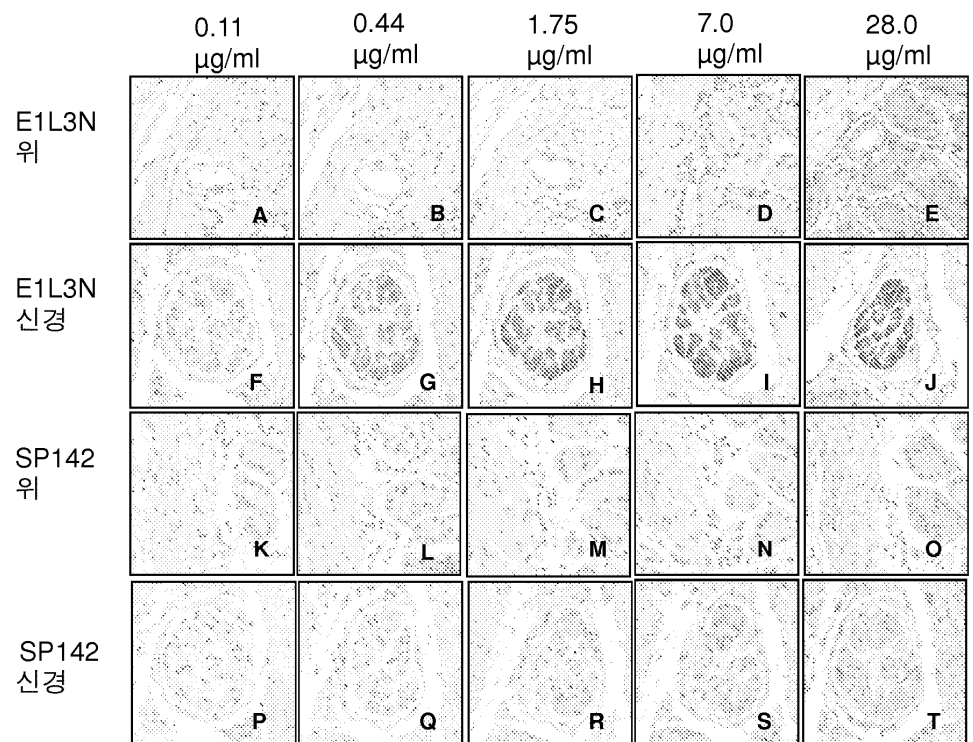
도면4



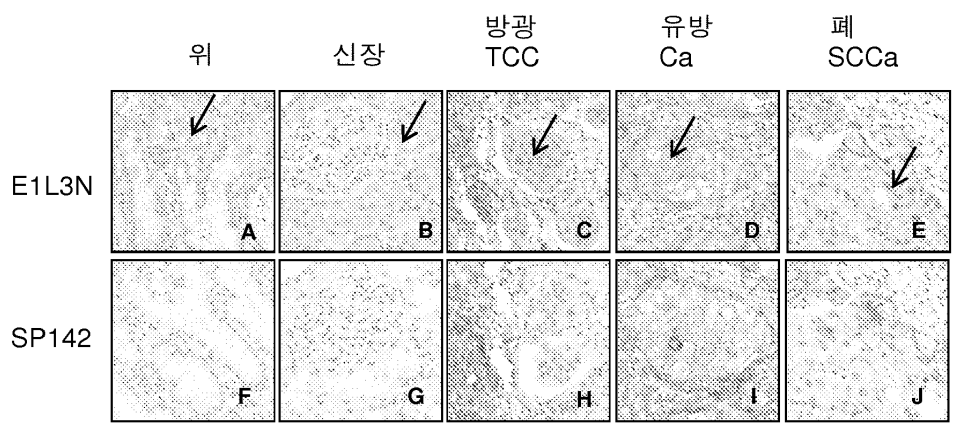
도면5



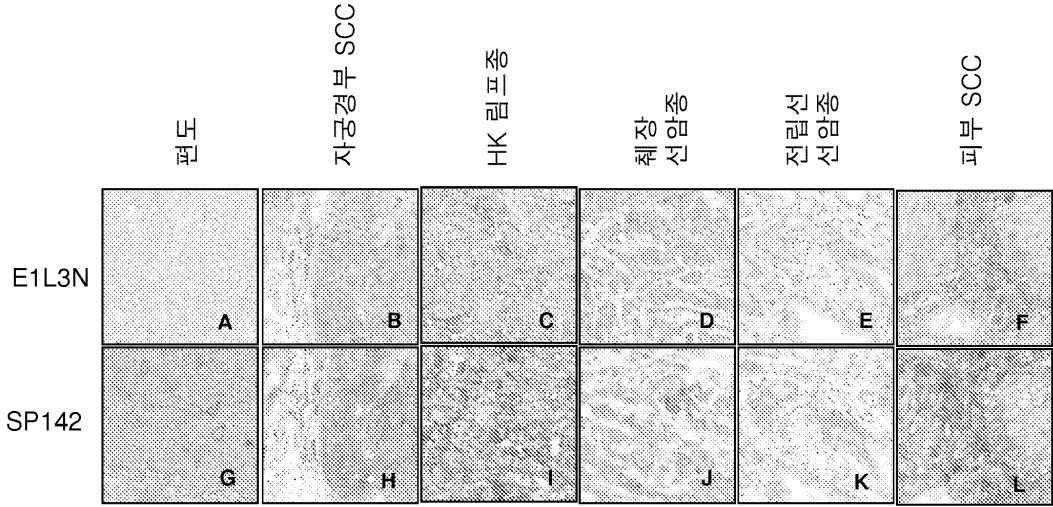
도면6



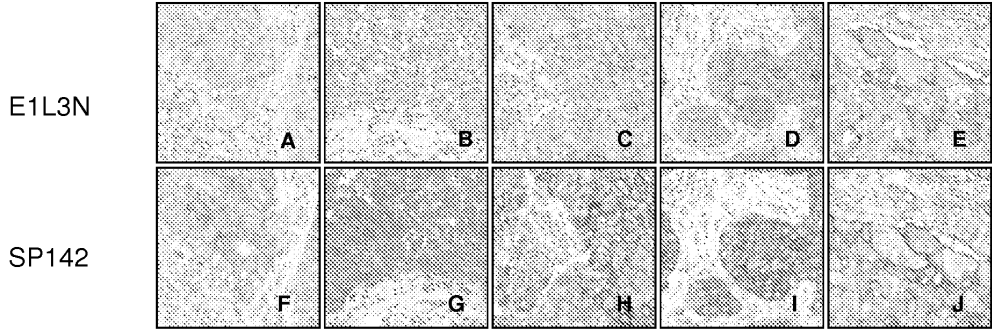
도면7



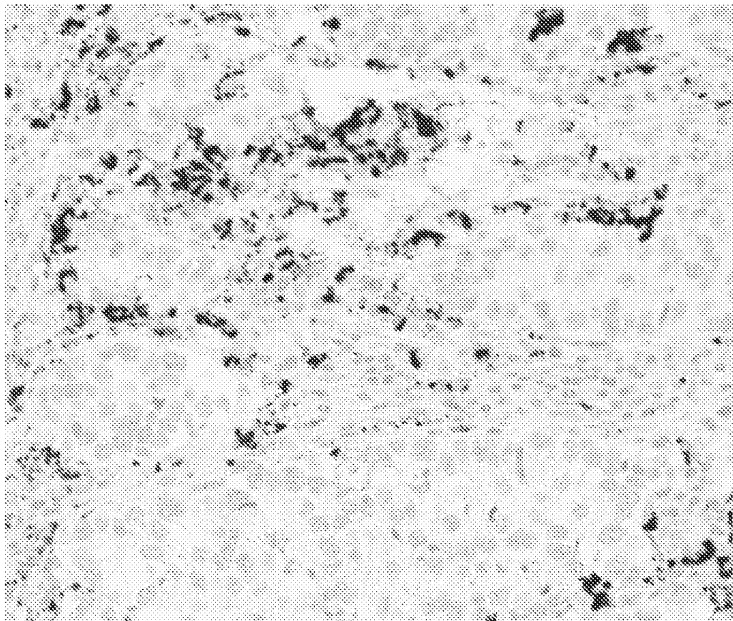
도면8



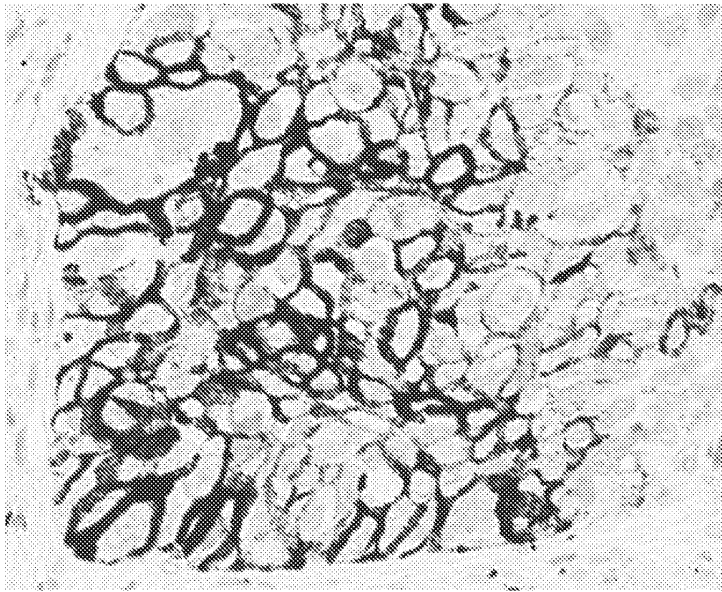
도면9



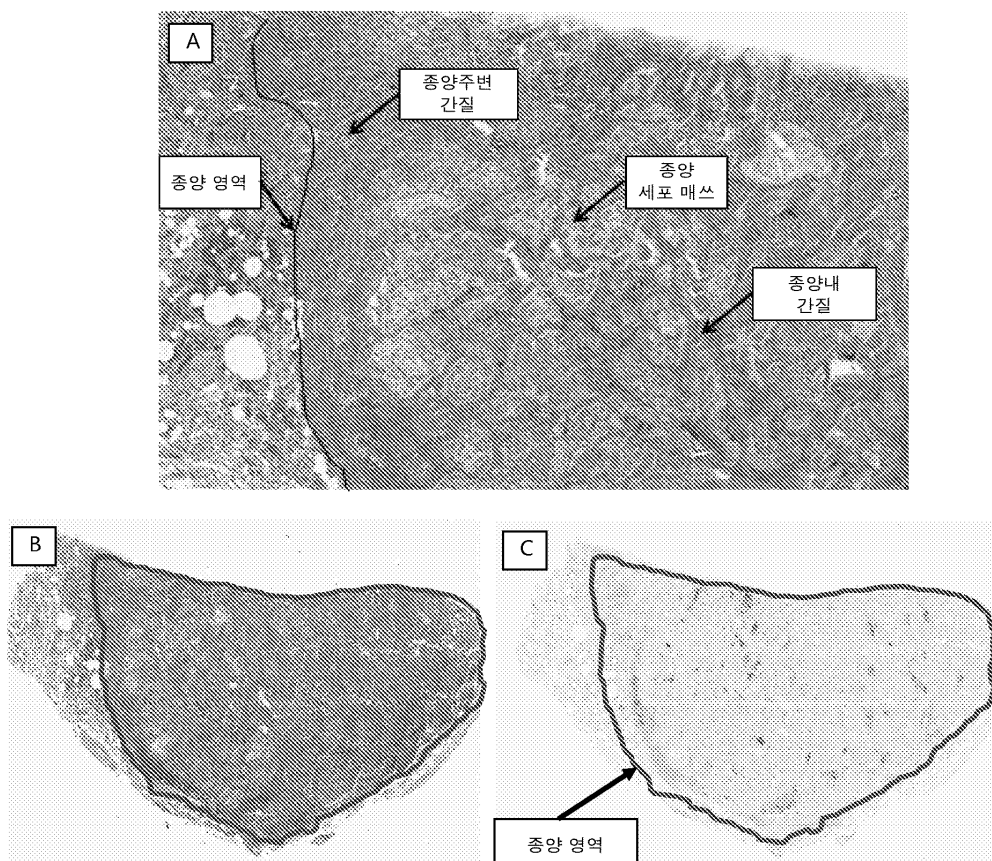
도면10



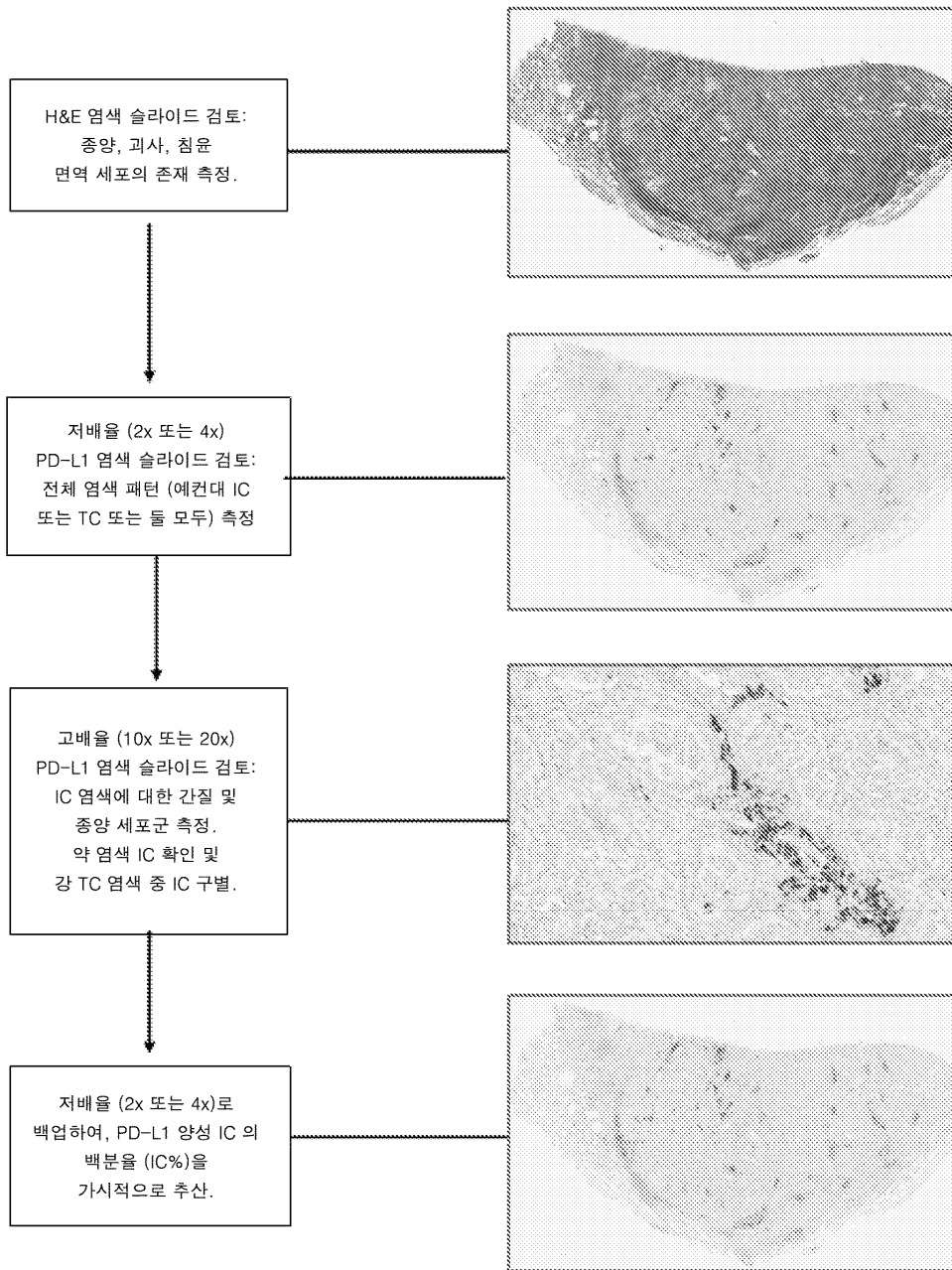
도면11



도면12

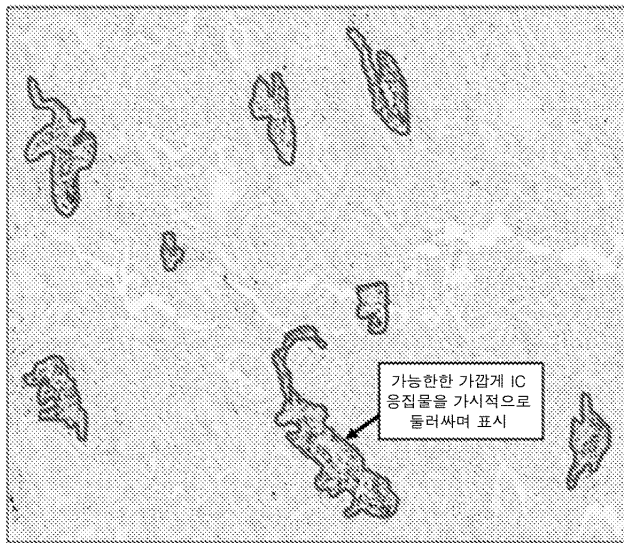


도면13

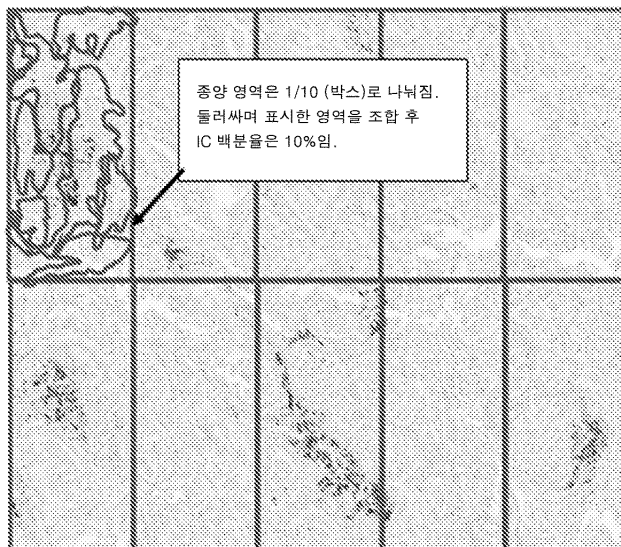


도면14

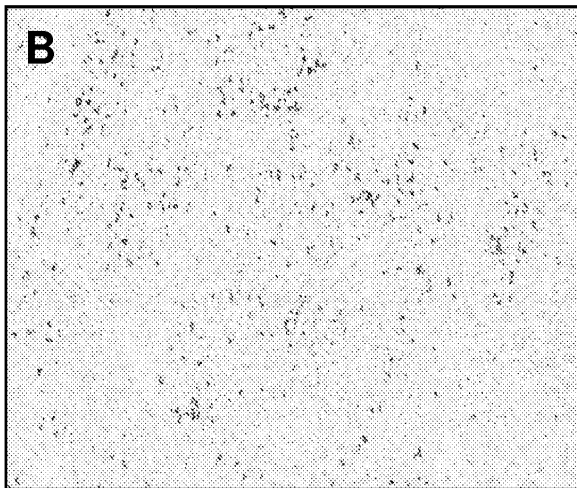
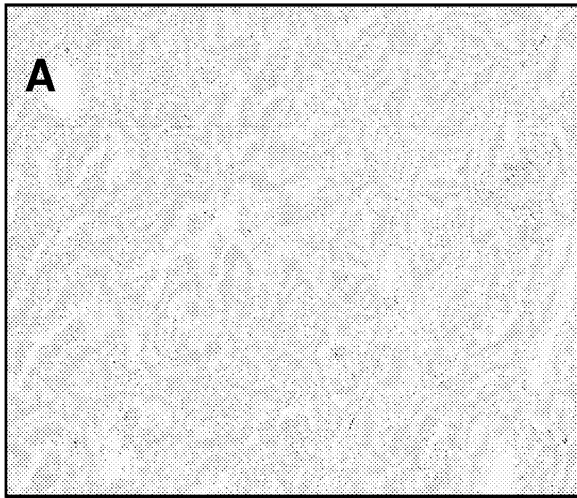
A.



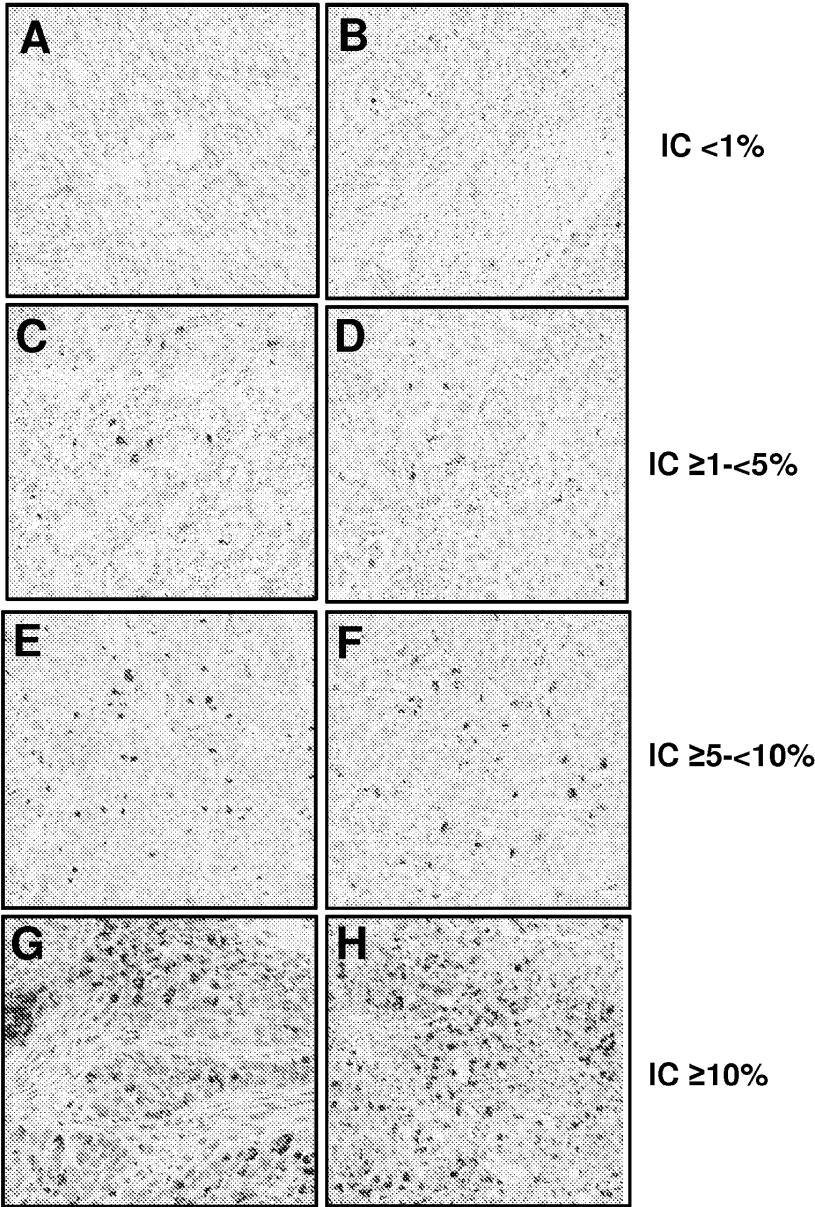
B.



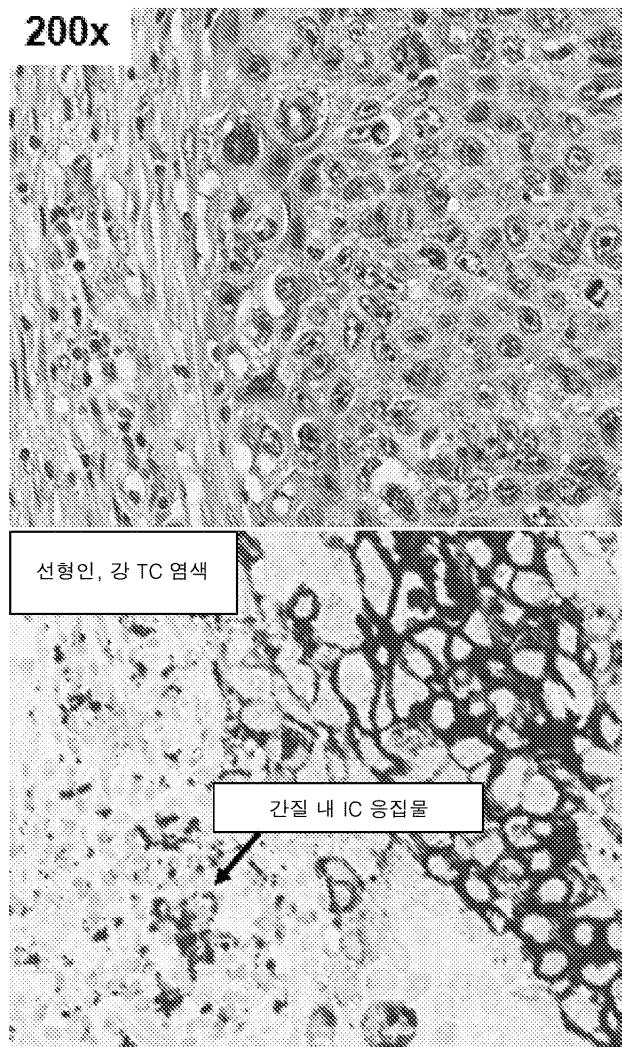
도면15



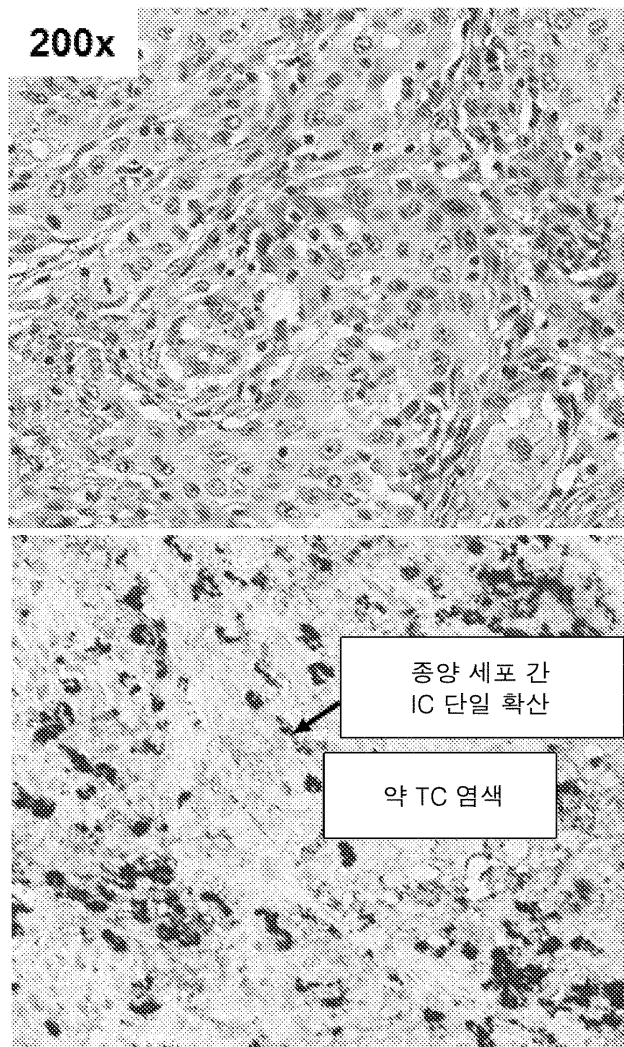
도면16



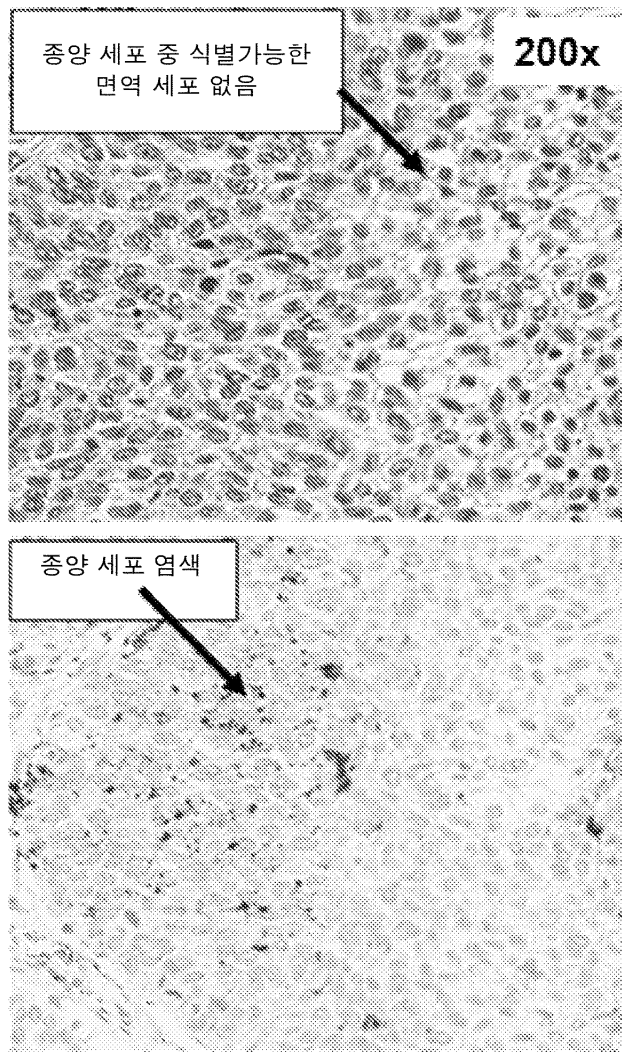
도면17a



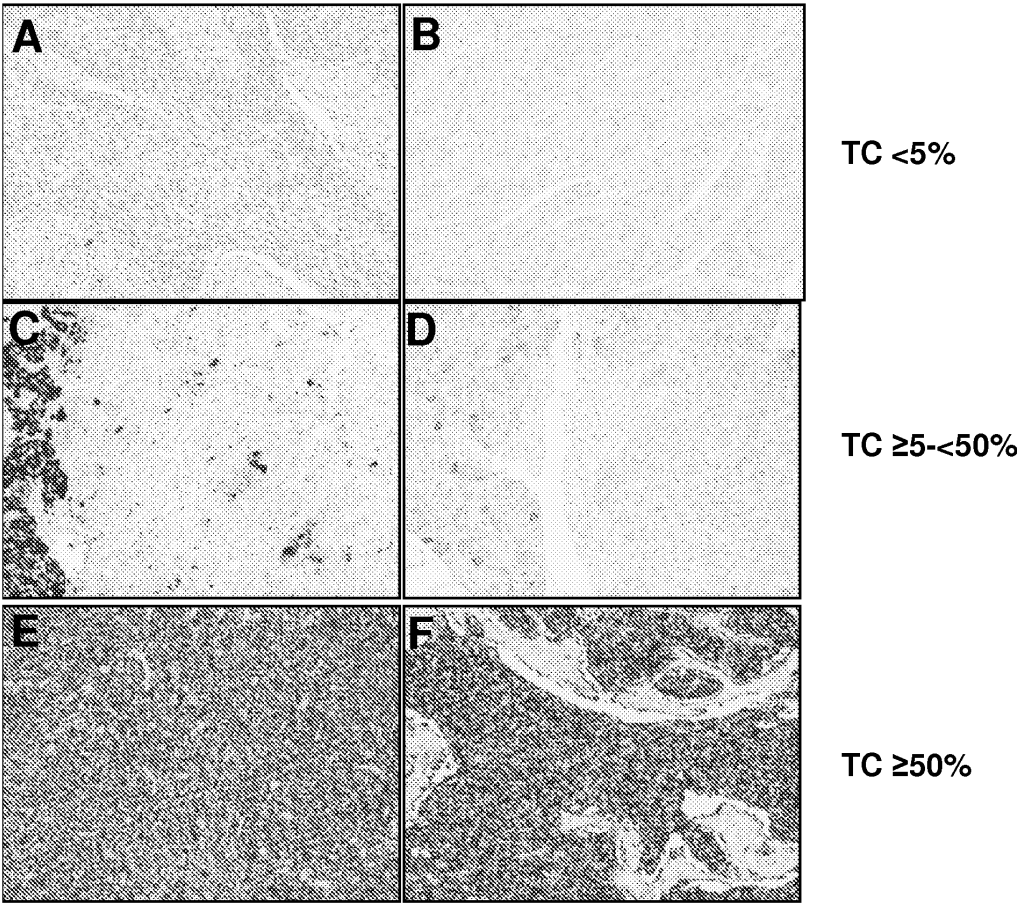
도면17b



도면17c



도면18



서 열 목 록

- <110> Genentech, Inc. et al.
- <120> ANTI-PD-L1 ANTIBODIES AND DIAGNOSTIC USES THEREOF
- <130> 50474-093W02
- <150> US 62/023,741
- <151> 2014-07-11
- <160> 18
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Synthetic Construct
- <400> 1

Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr
1 5 10

<210> 2
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct

<400> 2
 Ser Asn Gly Leu Thr

1 5

<210> 3
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct

<400> 3
 Thr Ile Asn Lys Asp Ala Ser Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 4
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct

<400> 4
 Ile Ala Phe Lys Thr Gly Thr Ser Ile

1 5

<210> 5

<211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct

<400> 5
 Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Asp Glu Thr

1 5 10 15

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

20 25

<210> 6

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 6

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

1 5 10

<210> 7

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 7

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Pro Ser Ser Thr Lys Val Asp Leu Lys Ile

1 5 10 15

Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg

20 25 30

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 9

Gln Ala Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 10

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 11

Ile Gly Gly Lys Ser Ser Ser Thr Asp Gly Asn Ala

1 5 10

<210> 12

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 12

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys

20

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 13

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

1 5 10 15

<210> 14

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 14

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 15

Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Arg

1 5 10

<210> 16

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 16

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Asp Glu Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly

35 40 45

Thr Ile Asn Lys Asp Ala Ser Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Pro Ser Ser Thr Lys Val Asp Leu Lys Ile
65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Phe Lys Thr Gly Thr Ser Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 17

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 17

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

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn

20 25 30

Asn Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45

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

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ile Gly Gly Lys Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Asp Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Arg
100 105 110

<210> 18

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu

35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn

85 90 95

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

100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val

115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr

145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser

165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn

180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr

195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu

210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His

[illegible]