



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0015408  
(43) 공개일자 2019년02월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C07K 16/2818 (2013.01)  
A61P 35/00 (2018.01)  
(21) 출원번호 10-2018-7038120  
(22) 출원일자(국제) 2017년06월02일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2018년12월28일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/035798  
(87) 국제공개번호 WO 2017/210624  
국제공개일자 2017년12월07일  
(30) 우선권주장  
62/345,658 2016년06월03일 미국(US)

(71) 출원인  
브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니  
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000  
(72) 발명자  
에드워즈, 로빈  
미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드  
창, 한  
미국 08534 뉴저지주 페닝턴 페닝턴-록키 힐 로드 311  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **종양을 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-PD-1 항체**

(57) 요약

본 개시내용은 종양을 앓는 대상체에게 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 종양은 비소세포 폐암 (NSCLC)으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 종양은 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1), 세린/트레오닌 키나제 11 (STK11), 또는 PD-L1 및 STK11 둘 다를 발현한다.

(52) CPC특허분류

**G01N 33/57423** (2019.01)

**G01N 33/57484** (2013.01)

**A61K 2039/505** (2013.01)

**A61K 2039/545** (2013.01)

**C07K 2317/33** (2013.01)

**G01N 2333/70578** (2013.01)

(72) 발명자

**클리어리, 미셸**

미국 18929 펜실베이니아주 제이미슨 카멜 드라이  
브 2046

**스자보, 피터 엠.**

미국 08534 뉴저지주 페닝턴 페닝턴-록키 힐 로드  
311

---

**주스타코브스키, 조지프 디.**

미국 08534 뉴저지주 페닝턴 페닝턴-록키 힐 로드  
311

**비타즈카, 패트릭**

미국 08534 뉴저지주 페닝턴 페닝턴-록키 힐 로드  
311

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(i) 종양에서 PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우, 종양이 PD-L1 발현의 종양 기질 계면 패턴을 나타내는 경우, 및/또는 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분 ("항-PD-1 항체")을 투여하는 것을 포함하는 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-PD-1 항체.

#### 청구항 2

종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우, 종양이 PD-L1 발현의 종양 기질 계면 패턴을 나타내는 경우, 및/또는 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-PD-1 항체.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 방법이, 환자가 항-PD-1 항체의 투여 전에 STK11을 발현하는 종양 ("STK11 양성 종양")을 갖는 것으로 확인하는 것을 추가로 포함하는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 4

종양을 앓는 대상체에게 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 종양은 STK11 양성 종양인, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-PD-1 항체.

#### 청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, STK11이 야생형 STK11인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 종양이 폐암, 임의로 소세포 폐암 (SCLC) 또는 비소세포 폐암 (NSCLC)으로부터 유래된 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, (i) PD-L1 발현의 미만성 패턴이 약 60 내지 약 500, 약 80 내지 약 480, 약 100 내지 약 460, 약 120 내지 약 440, 약 140 내지 약 420, 약 160 내지 약 400, 약 180 내지 약 380, 약 200 내지 약 360, 약 200 내지 약 340, 약 200 내지 약 320, 또는 약 200 내지 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하거나; (ii) PD-L1 발현의 미만성 패턴이 적어도 약 60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 적어도 약 100, 적어도 약 110, 적어도 약 120, 적어도 약 130, 적어도 약 140, 적어도 약 150, 적어도 약 160, 적어도 약 170, 적어도 약 180, 적어도 약 190, 적어도 약 200, 적어도 약 225, 적어도 약 250, 적어도 약 275, 또는 적어도 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하거나; (iii) PD-L1 발현의 불균질 패턴이 약 1 내지 약 50, 약 5 내지 약 45, 약 10 내지 약 40, 또는 약 15 내지 약 35의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하고, 여기서 PD-L1 발현이 종양의 1개 이상의 특유의 부분에 제한되거나; 또는 (iv) PD-L1 발현의 불균질 패턴이 적어도 약 5, 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 적어도 약 30, 적어도 약 35, 또는 적어도 약 40의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 종양이 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 PD-L1 발

현 종양 세포를 갖는 것을 특징으로 하는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, STK11-양성 종양이 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 STK11 발현 종양 세포를 갖는 것을 특징으로 하는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 종양이 높은 염증을 나타내는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, (i) 항-PD-1 항체가 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맙과 교차-경쟁하거나, (ii) 항-PD-1 항체가 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합하거나, (iii) 항-PD-1 항체가 니볼루맙이거나, 또는 (iv) 항-PD-1 항체가 니볼루맙인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, (i) 항-PD-1 항체가 약 1, 2 또는 3주마다 1회 적어도 약 0.1 mg/kg 내지 적어도 약 10.0 mg/kg 체중 범위의 용량으로 투여되거나 또는 (ii) 항-PD-1 항체가 약 2주마다 1회 적어도 약 3 mg/kg 체중의 용량으로 투여되는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 항체가 1, 2, 3 또는 4주마다 약 1회, 임의로 적어도 약 200 mg, 적어도 약 220 mg, 적어도 약 240 mg, 적어도 약 260 mg, 적어도 약 280 mg, 적어도 약 300 mg, 적어도 약 320 mg, 적어도 약 340 mg, 적어도 약 360 mg, 적어도 약 380 mg, 적어도 약 400 mg, 적어도 약 420 mg, 적어도 약 440 mg, 적어도 약 460 mg, 적어도 약 480 mg, 적어도 약 500 mg, 또는 적어도 약 550 mg의 균일 용량으로 투여되는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, (i) 투여가 투여 전 종양 크기와 비교하여, 임의로 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50%만큼 종양의 크기를 감소시키거나; (ii) 투여가 초기 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존을 제공하거나; (iii) 투여가 투여 후 안정 질환을 유발하거나; (iv) 투여가 투여 후 부분 반응을 유발하거나; 또는 (v) 투여가 투여 후 완전 반응을 유발하는 것인 항-PD-1 항체.

#### 청구항 15

(a) 약 4 mg 내지 약 500 mg 범위의 투여량의, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분 ("항-PD-1 항체"); 및

(b) 제1항 내지 제14항 어느 한 항에 따라 항-PD-1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는 키트.

### 발명의 설명

### 기술 분야

본 발명은 대상체에게 항-프로그래밍된 사멸-1 (PD-1) 항체를 투여하는 것을 포함하는, PD-L1 및/또는 야생형 STK11을 발현하는 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0001]

## 배경 기술

- [0002] 인간 암은 수많은 유전적 및 후성적 변형을 보유하여, 면역계에 의해 잠재적으로 인식가능한 신생항원을 생성시킨다 (Sjoberg et al., (2006) Science 314:268-74). T 및 B 림프구로 구성된 적응 면역계는 다양한 종양 항원에 반응하는 광범위한 능력 및 정교한 특이성과 함께, 강력한 항암 잠재력을 갖는다. 추가로, 면역계는 상당한 가소성 및 기억 성분을 나타낸다. 모든 이들 적응 면역계 속성의 성공적인 활용은 면역요법을 모든 암 치료 양식 중에서 특별한 것으로 만들 것이다.
- [0003] PD-1은 활성화된 T 및 B 세포에 의해 발현되는 주요 면역 체크포인트 수용체이고 면역억제를 매개한다. PD-1은 CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1 및 BTLA를 포함하는 CD28 패밀리의 수용체의 구성원이다. 항원-제시 세포 뿐만 아니라 많은 인간 암에서 발현되는 PD-1에 대한 2종의 세포 표면 당단백질 리간드인 프로그램화된 사멸 리간드-1 (PD-L1) 및 프로그램화된 사멸 리간드-2 (PD-L2)가 확인되었으며, 이는 PD-1에 결합 시 T 세포 활성화 및 시토카인 분비를 하향-조절하는 것으로 밝혀졌다.
- [0004] 니볼루맵 (이전에 5C4, BMS-936558, MDX-1106 또는 ONO-4538로 명명됨)은 PD-1 리간드 (PD-L1 및 PD-L2)와의 상호작용을 선택적으로 방지함으로써 항종양 T-세포 기능의 하향-조절을 차단하는 완전 인간 IgG4 (S228P) PD-1 면역 체크포인트 억제제 항체이다 (미국 특허 번호 8,008,449; 문헌 [Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56]).
- [0005] NSCLC는 미국 및 전세계에서 암 사망의 주요 원인이다 (NCCN 가이드라인즈(NCCN GUIDELINES)® 버전 3.2014 - 비소세포 폐암, [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/nscl.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf) (마지막 접근 2014년 5월 14일)에서 이용가능함). NSCLC는 화학요법에 대해 비교적 비감수성이지만, 양호한 수행 상태 (PS)를 갖는 IV기 질환을 갖는 환자는 백금 작용제 (예를 들어, 시스플라틴, 카르보플라틴), 타산 작용제 (예를 들어, 파클리탁셀, 알부민-결합된 파클리탁셀, 도세탁셀), 비노렐빈, 빈블라스틴, 에토포시드, 페메트렉세드 및 겐시타빈을 포함한 화학요법 약물, 및 이들 약물의 다양한 조합을 사용한 치료로부터 이익을 얻는다.

## 발명의 내용

- [0006] 본 개시내용은 (i) 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분 ("항-PD-1 항체")을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 종양-기질 계면 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자가 투여 전에 STK11을 발현하는 종양을 갖는 것으로 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0007] 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) STK11-양성 종양을 갖는 대상체를 확인하고, (ii) 그 대상체에게 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 특정 측면에서, 본 개시내용은 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 환자는 투여 전에 STK11-양성 종양을 갖는 것으로 확인되는 것인, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 (i) 종양에 의한 STK11 발현을 측정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 STK11-양성인 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, STK11은 야생형 STK11이다.
- [0008] 일부 실시양태에서, 종양은 폐암으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 종양은 소세포 폐암 (SCLC) 또는 비소세포 폐암 (NSCLC)으로부터 유래된다. 한 실시양태에서, 종양은 NSCLC로부터 유래된다.
- [0009] 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 약 60 내지 약 500, 약 80 내지 약 480, 약 100 내지 약 460,

약 120 내지 약 440, 약 140 내지 약 420, 약 160 내지 약 400, 약 180 내지 약 380, 약 200 내지 약 360, 약 200 내지 약 340, 약 200 내지 약 320, 또는 약 200 내지 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 적어도 약 200의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다.

- [0010] 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 약 1 내지 약 50, 약 5 내지 약 45, 약 10 내지 약 40, 또는 약 15 내지 약 35의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하고, 여기서 PD-L1 발현은 종양의 1개 이상의 특유의 부분에 제한된다. 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 적어도 약 15의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다.
- [0011] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵과 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체 또는 그의 부분이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵이다.
- [0012] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 약 1, 2 또는 3주마다 1회 적어도 약 0.1 mg/kg 내지 적어도 약 10.0 mg/kg 체중 범위의 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 약 2주마다 1회 적어도 약 3 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 1, 2, 3 또는 4주마다 약 1회 균일 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 균일 용량 또는 약 240 mg으로 투여된다.
- [0013] 다른 측면에서, 본 개시내용은 (a) 약 4 mg 내지 약 500 mg 범위의 투여량의 항-PD-1 항체; 및 (b) 본원에 기재된 임의의 방법에서 항-PD-1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하기 위한 키트를 제공한다. 인간 환자를 치료하기 위한 특정 실시양태에서, 키트는 본원에 개시된 항-인간 PD-1 항체, 예를 들어 니볼루맵 또는 캄브롤리주맵을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 항-PD-L1 항체 및/또는 항-STK11 항체를 추가로 포함한다.
- [0014] 실시양태
- [0015] E1. (i) 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분 ("항-PD-1 항체")을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법.
- [0016] E2. (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법.
- [0017] E3. (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 종양-기질 계면 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법.
- [0018] E4. (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법.
- [0019] E5. (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법.
- [0020] E6. 실시양태 E1 내지 E5 중 어느 하나에 있어서, 환자가 투여 전에 STK11을 발현하는 종양을 갖는 것으로 확인하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0021] E7. (i) STK11-양성 종양을 갖는 대상체를 확인하고, (ii) 그 대상체에게 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법.
- [0022] E8. 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 환자는 투여 전에 STK11-양성 종양을 갖는 것으로 확인되는 것인, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법.
- [0023] E9. (i) 종양에 의한 STK11 발현을 측정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 STK11-양성인 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법.
- [0024] E10. 실시양태 E6 내지 E9 중 어느 하나에 있어서, STK11이 야생형 STK11인 방법.

- [0025] E11. 실시양태 E6 내지 E10 중 어느 하나에 있어서, 환자가 투여 전에 PD-L1을 발현하는 종양을 갖는 것으로 확인하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0026] E12. 실시양태 E1 내지 E11 중 어느 하나에 있어서, 종양이 폐암으로부터 유래된 것인 방법.
- [0027] E13. 실시양태 E12에 있어서, 종양이 소세포 폐암 (SCLC) 또는 비소세포 폐암 (NSCLC)으로부터 유래된 것인 방법.
- [0028] E14. 실시양태 E13에 있어서, 종양이 NSCLC로부터 유래된 것인 방법.
- [0029] E15. 실시양태 E1 및 E12 내지 E14 중 어느 하나에 있어서, PD-L1 발현의 미만성 패턴이 약 60 내지 약 500, 약 80 내지 약 480, 약 100 내지 약 460, 약 120 내지 약 440, 약 140 내지 약 420, 약 160 내지 약 400, 약 180 내지 약 380, 약 200 내지 약 360, 약 200 내지 약 340, 약 200 내지 약 320, 또는 약 200 내지 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하는 것인 방법.
- [0030] E16. 실시양태 E1 및 E12 내지 E15 중 어느 하나에 있어서, PD-L1 발현의 미만성 패턴이 적어도 약 60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 적어도 약 100, 적어도 약 110, 적어도 약 120, 적어도 약 130, 적어도 약 140, 적어도 약 150, 적어도 약 160, 적어도 약 170, 적어도 약 180, 적어도 약 190, 적어도 약 200, 적어도 약 225, 적어도 약 250, 적어도 약 275, 또는 적어도 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하는 것인 방법.
- [0031] E17. 실시양태 15에 있어서, PD-L1 발현의 미만성 패턴이 적어도 약 200의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하는 것인 방법.
- [0032] E18. 실시양태 E1 및 E12 내지 E14 중 어느 하나에 있어서, PD-L1 발현의 불균질 패턴이 약 1 내지 약 50, 약 5 내지 약 45, 약 10 내지 약 40, 또는 약 15 내지 약 35의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하고, 여기서 PD-L1 발현이 종양의 1개 이상의 특유의 부분에 제한되는 것인 방법.
- [0033] E19. 실시양태 E18에 있어서, PD-L1 발현의 불균질 패턴이 적어도 약 5, 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 적어도 약 30, 적어도 약 35, 또는 적어도 약 40의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하는 것인 방법.
- [0034] E20. 실시양태 E19에 있어서, PD-L1 발현의 불균질 패턴이 적어도 약 15의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하는 것인 방법.
- [0035] E21. 실시양태 E1 내지 E5 및 E12 내지 E20 중 어느 하나에 있어서, PD-L1의 발현 패턴이 면역조직화학 (IHC) 검정을 사용하여 결정되는 것인 방법.
- [0036] E22. 실시양태 E21에 있어서, IHC 검정이 자동화 IHC 검정인 방법.
- [0037] E23. 실시양태 E21 또는 E22에 있어서, IHC 검정이 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항-PD-L1 모노클로날 항체를 사용하여 수행되고, 여기서 항-PD-L1 모노클로날 항체가 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.
- [0038] E24. 실시양태 E6 내지 E14 중 어느 하나에 있어서, STK11의 발현이 STK11 mRNA의 존재, STK11 단백질의 존재, 또는 둘 다를 검출함으로써 결정되는 것인 방법.
- [0039] E25. 실시양태 E24에 있어서, STK11 mRNA의 존재가 리버스 트랜스크립타제 PCR을 사용하여 결정되는 것인 방법.
- [0040] E26. 실시양태 E24에 있어서, STK11 단백질의 존재가 IHC 검정을 사용하여 결정되는 것인 방법.
- [0041] E27. 실시양태 E26에 있어서, IHC 검정이 자동화 IHC 검정인 방법.
- [0042] E28. 실시양태 E26 또는 E27에 있어서, IHC 검정이 STK11에 특이적으로 결합하는 항-STK11 모노클로날 항체를 사용하여 수행되는 것인 방법.
- [0043] E29. 실시양태 E1 내지 E6 및 E11 내지 E23 중 어느 하나에 있어서, 종양이 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 PD-L1 발현 종양 세포를 갖는 것을 특징으로 하는 것인 방법.



- [0044] E30. 실시양태 E7 내지 E14, E24 내지 E28 및 E30 중 어느 하나에 있어서, STK11-양성 종양이 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 STK11 발현 종양 세포를 갖는 것을 특징으로 하는 것인 방법.
- [0045] E31. 실시양태 E1 내지 E30 중 어느 하나에 있어서, 종양이 높은 염증을 나타내는 것인 방법.
- [0046] E32. 실시양태 E31에 있어서, 염증이 STK11의 발현에 따라 측정되는 것인 방법.
- [0047] E33. 실시양태 E1 내지 E32 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차-경쟁하는 것인 방법.
- [0048] E34. 실시양태 E1 내지 E33 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 니볼루맵과 동일한 에피토프에 결합하는 것인 방법.
- [0049] E35. 실시양태 E1 내지 E34 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체 또는 그의 부분인 방법.
- [0050] E36. 실시양태 E1 내지 E35 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 인간 IgG1 또는 IgG4 이소형의 중쇄 불변 영역을 포함하는 것인 방법.
- [0051] E37. 실시양태 E1 내지 E36 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 니볼루맵인 방법.
- [0052] E38. 실시양태 E1 내지 E37 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 펙트폴리주맵인 방법.
- [0053] E39. 실시양태 E1 내지 E38 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 약 1, 2 또는 3주마다 1회 적어도 약 0.1 mg/kg 내지 적어도 약 10.0 mg/kg 체중 범위의 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0054] E40. 실시양태 E39에 있어서, 항-PD-1 항체가 약 2주마다 1회 적어도 약 3 mg/kg 체중의 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0055] E41. 실시양태 E1 내지 E38 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분이 균일 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0056] E42. 실시양태 E1 내지 E38 및 E41 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분이 적어도 약 200, 적어도 약 220, 적어도 약 240, 적어도 약 260, 적어도 약 280, 적어도 약 300, 적어도 약 320, 적어도 약 340, 적어도 약 360, 적어도 약 380, 적어도 약 400, 적어도 약 420, 적어도 약 440, 적어도 약 460, 적어도 약 480, 적어도 약 500 또는 적어도 약 550 mg의 균일 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0057] E43. 실시양태 E1 내지 E38, E41 및 E42 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분이 균일 용량 또는 약 240 mg으로 투여되는 것인 방법.
- [0058] E44. 실시양태 E1 내지 E38, E41 및 E42 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분이 1, 2, 3 또는 4주마다 약 1회 균일 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0059] E45. 실시양태 E1 내지 E44 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 임상 이익이 관찰되는 한 또는 다루기 힘든 독성 또는 질환 진행이 발생할 때까지 투여되는 것인 방법.
- [0060] E46. 실시양태 E1 내지 E45 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 정맥내 투여를 위해 제제화되는 것인 방법.
- [0061] E47. 실시양태 E1 내지 E46 중 어느 하나에 있어서, 항-PD-1 항체가 치료량 미만의 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0062] E48. 실시양태 E1 내지 E47 중 어느 하나에 있어서, 투여가 종양을 치료하는 것인 방법.
- [0063] E49. 실시양태 E1 내지 E48 중 어느 하나에 있어서, 투여가 종양의 크기를 감소시키는 것인 방법.
- [0064] E50. 실시양태 E49에 있어서, 종양의 크기가 투여 전 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50%만큼 감소되는 것인 방법.
- [0065] E51. 실시양태 E1 내지 E50 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 초기 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약



2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존을 나타내는 것인 방법.

[0066] E52. 실시양태 E1 내지 E51 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 투여 후 안정 질환을 나타내는 것인 방법.

[0067] E53. 실시양태 E1 내지 E51 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 투여 후 부분 반응을 나타내는 것인 방법.

[0068] E54. 실시양태 E1 내지 E51 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 투여 후 완전 반응을 나타내는 것인 방법.

[0069] E55. (a) 약 4 mg 내지 약 500 mg 범위의 투여량의 항-PD-1 항체; 및

[0070] (b) 실시양태 E1 내지 E54 중 어느 것의 방법에서 항-PD-1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하기 위한 키트.

[0072] E56. 실시양태 E55에 있어서, 항-PD-L1 항체를 추가로 포함하는 키트.

[0073] E57. 실시양태 E55 또는 E56에 있어서, 항-STK11 항체를 추가로 포함하는 키트.

### 도면의 간단한 설명

[0074] 도 1A-1D는 NSCLC 상염색체 종양에서 PD-L1 발현의 특유의 패턴을 보여주는 4종의 면역조직화학 (IHC) 영상을 제공한다. PD-L1 발현의 패턴은 미만성 (도 1A), 불균질 (도 1B), 종양-기질 계면 (도 1C) 및 음성 (도 1D)으로 지정된다.

도 2A 및 2B는 도 1A-1D에 제시된 각각의 PD-L1 패턴, 즉, 미만성 (D), 불균질 (H), 음성 (N) 및 종양-기질 계면 (T)에서의 PD-L1 H-점수의 분포 (도 2A), 및 2종의 NSCLC 하위유형, 즉 선암종 및 편평 세포 암종에서의 PD-L1 H-점수의 분포 (도 2B)를 보여준다.

도 3A-3C는 니볼루맵 단독요법으로 치료된 환자로부터의 시험 생검에 상응하는 미만성 (도 3A), 종양-기질 계면 (도 3B) 및 음성 (도 3C) PD-L1 발현 패턴에 상응하는 IHC 영상을 보여준다.

도 4는 니볼루맵 단독요법을 받는, 종양 등급에 의해 카테고리화된 환자의 PD-L1 H-점수를 보여준다. 대다수의 완전 반응자 (CR) 및 부분 반응자 (PR)에서의 우세 PD-L1 패턴은 미만성 패턴이다. TS-IF = 종양-기질 계면, SD = 안정 질환, PD = 진행성 질환, BOR = 최상의 전체 반응.

도 5A 및 5B는 PD-L1 종양 우세 패턴에 따른 전체 CI 점수 (도 5A) 및 PD-L1 CI 점수 (도 5B)를 보여준다. TS-IF = 종양-기질 계면.

도 6은 PD-L1, CD68 및 CD3에 대해 염색된 멀티플렉스화 IHC 영상을 제시한다.

도 7A 및 7B는 RNA 서열분석을 사용하여 측정된 바와 같은 PD-L1 발현 패턴에 따른 NSCLC 종양 내 PD-L1 발현 (도 7A), 및 엑솜 서열분석을 사용하여 측정된 바와 같은 PD-L1 발현 패턴에 따른 NSCLC 종양 내 돌연변이 부하 (도 7B)를 보여준다.

도 8A 및 8B는 CI 점수에 의해 측정된 바와 같은 NSCLC 종양 내 미스센스 돌연변이의 수 대 전체 염증 사이의 관계 (도 8A), 및 PDLP1pos CI 점수에 의해 측정된 바와 같은 NSCLC 종양 내 미스센스 돌연변이의 수 대 PD-L1+ 염증 사이의 관계 (도 8B)를 보여준다.

도 9A 및 9B는 도 9A에서 관찰된 PD-L1 발현 패턴에 대한 상이한 바이오마커 (TP53, STK11, KEAP1, KRAS, EGFR 및 MET)에서의 돌연변이의 빈도를 보여준다. D = 미만성, H = 불균질, I = 종양-기질 계면, N = 음성. 도 9B는 STK11 돌연변이의 존재 ("y") 또는 부재 ("n")에 대한 RNA 서열분석 (RNAseq)에 의해 측정된 PD-L1 발현을 보여준다.

도 10A-10C는 STK11 돌연변이의 존재 ("y") 또는 부재 ("n")와 PD-L1+ CI 점수 사이의 관계를 보여준다 (도 10A). 도 10A에 제시된 정보에 상응하는 수치 데이터는 도 10B에 제시된다. 도 10C는 STK11 돌연변이의 존재 ("STK11-MUT") 또는 부재 ("STK11-WT")에 따른 NSCLC 종양에서의 전체 염증 점수에 상응하는 수치 데이터를 보여준다.

도 11은 스몰-네 (24)개의 NSCLC 종양 샘플의 이뮤노프린트 분석을 보여주며, 여기서 FOLR2, VSIG4, CD163, CLEC4D, CSF1R, CD86, MS4A1, CD79B, CD19, KIR2DS4, KIR2DL4, CD3E, CCR4, CCR8 및 CD8A의 수준을 분석하여

염증 패턴에 따라 샘플을 분류하였다 (sigClass). 샘플을 낮은 ("sigClass low"), 중간 ("sigClass med") 또는 높은 ("sigClass hi") 염증으로 분류하였다. 샘플을 또한 STK11 돌연변이의 존재 ("STK11 mut") 또는 부재 ("STK11 wt")에 따라 분류하였다. 추가로, 샘플을 PD-L1 발현 패턴에 따라 음성 ("PDL1\_패턴 2 음성"), 미만성 ("PDL1\_패턴 2 미만성"), 불균질 ("PDL1\_패턴 2 불균질") 또는 종양-기질 계면 ("PDL1\_패턴 2 TS")으로 분류하였다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0075] 본 발명은 (i) 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분 ("항-PD-1 항체")을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 다른 측면에서, 본 발명은 (i) STK11-양성 종양을 갖는 대상체를 확인하고, (ii) 그 대상체에게 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 종양은 NSCLC로부터 유래된다.
- [0076] 용어
- [0077] 본 개시내용이 보다 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 용어가 먼저 정의된다. 본 출원에 사용된 바와 같이, 본원에 달리 명백하게 제공된 경우를 제외하고는, 각각의 하기 용어는 하기 제시된 의미를 가질 것이다. 추가의 정의가 본 출원 전반에 걸쳐 제시된다.
- [0078] "투여하는"은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 어느 것을 사용하여 치료제를 포함하는 조성물을 대상체에게 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 항-PD-1 항체에 대한 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 투여를 포함한다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 다른 투여 방식을 의미하고, 비제한적으로, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막의 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기전공을 포함한다. 일부 실시양태에서, 조합은 비-비경구 경로를 통해 투여되고, 일부 실시양태에서는 경구로 투여된다. 다른 비-비경구 경로는 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어 비강내, 질, 직장, 설하 또는 국소 투여 경로를 포함한다. 투여는 또한, 예를 들어 1회, 복수회, 및/또는 1회 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.
- [0079] 본원에 사용된 "유해 사건" (AE)은 의학적 치료의 사용과 연관된, 임의의 바람직하지 않고 일반적으로 의도되지 않거나 원하지 않는 징후 (비정상적 실험실 발견 포함), 증상, 또는 질환이다. 예를 들어, 유해 사건은 치료에 대한 반응으로 일어나는 면역계의 활성화 또는 면역계 세포 (예를 들어, T 세포)의 확장과 연관될 수 있다. 의학적 치료는 1건 이상의 연관된 AE를 가질 수 있고 각각의 AE는 동일하거나 상이한 수준의 중증도를 가질 수 있다. "유해 사건을 변경할" 수 있는 방법에 대한 언급은 상이한 치료 요법의 사용과 연관된 1건 이상의 AE의 발생률 및/또는 중증도를 감소시키는 치료 요법을 의미한다.
- [0080] "항체" (Ab)는 비제한적으로, 항원에 특이적으로 결합하고 디설피드 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질 이뮤노글로불린, 또는 그의 항원-결합 부분을 포함할 것이다. 각각의 H쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서  $V_H$ 로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 불변 도메인,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  및  $C_{H3}$ 을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서  $V_L$ 로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 1개의 불변 도메인,  $C_L$ 를 포함한다.  $V_H$  및  $V_L$  영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 명명되는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 명명되는 추가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의  $V_H$  및  $V_L$ 은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다.
- [0081] 이뮤노글로불린은 IgA, 분비형 IgA, IgG 및 IgM을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 임의의 통상적으로 공지된 이소형으로부터 유래될 수 있다. IgG 하위부류는 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자

에 의해 코딩되는 항체 부류 또는 하위부류 (예를 들어, IgM 또는 IgG1)를 지칭한다. 용어 "항체"는, 예로서, 자연 발생 및 비-자연 발생 항체 둘 다; 모노클로날 및 폴리클로날 항체; 키메라 및 인간화 항체; 인간 또는 비-인간 항체; 완전 합성 항체; 및 단일쇄 항체를 포함한다. 비-인간 항체는 인간에서 그의 면역원성이 감소하도록 재조합 방법에 의해 인간화될 수 있다. 명백하게 언급되지 않는 경우, 및 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 용어 "항체"는 또한 상기 언급된 이뮤노글로불린 중 어느 것의 항원-결합 단편 또는 항원-결합 부분을 포함하고, 1가 및 2가 단편 또는 부분, 및 단일쇄 항체를 포함한다.

[0082] "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다 (예를 들어, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 PD-1 이외의 다른 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 상이한 종으로부터의 PD-1 분자와 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화합물이 실질적으로 없을 수 있다.

[0083] 용어 "모노클로날 항체" (mAb)는 단일 분자 조성의 항체 분자, 즉, 1차 서열이 본질적으로 동일하고 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타내는 항체 분자의 비-자연 발생 체제를 지칭한다. 모노클로날 항체는 단리된 항체의 예이다. 모노클로날 항체는 하이브리도마, 재조합, 트랜스제닉, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 기술에 의해 생산될 수 있다.

[0084] "인간 항체" (HuMAb)는 FR 및 CDR 둘 다가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 것인 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 추가로, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우에, 불변 영역도 또한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된다. 본 발명의 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그래프팅된 것인 항체를 포함하는 것으로 의도되지는 않는다. 용어 "인간 항체" 및 "완전 인간 항체"는 동의어로 사용된다.

[0085] "인간화 항체"는 비-인간 항체의 CDR 밖의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두가 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 상응하는 아미노산으로 대체된 것인 항체를 지칭한다. 인간화 형태의 항체의 한 실시양태에서, CDR 밖의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두는 인간 이뮤노글로불린으로부터의 아미노산으로 대체된 반면에 1개 이상의 CDR 내의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 변화되지 않는다. 특정한 항원에 결합하는 항체의 능력을 제거하지 않는 한, 아미노산의 적은 부가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형은 허용가능하다. "인간화 항체"는 원래 항체의 경우와 유사한 항원 특이성을 유지한다.

[0086] "키메라 항체"는 가변 영역은 한 종으로부터 유래되고 불변 영역은 또 다른 종으로부터 유래된 것인 항체, 예컨대 가변 영역은 마우스 항체로부터 유래되고 불변 영역은 인간 항체로부터 유래된 것인 항체를 지칭한다.

[0087] "항-항원 항체"는 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 항-PD-1 항체는 PD-1에 특이적으로 결합한다.

[0088] 항체의 "항원-결합 부분" (또한 "항원-결합 단편"으로 불림)은 전체 항체에 의해 결합되는 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다.

[0089] "암"은 신체 내 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 군을 지칭한다. 비조절된 세포 분열 및 성장은 분열 및 성장으로 인해 이웃 조직을 침습하는 악성 종양의 형성을 일으키고 또한 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이할 수 있다. 일부 실시양태에서, 암은 본원에 개시된 임의의 암이다. 실시양태에서, 암은 폐암이다. 특정 실시양태에서, 폐암은 비소세포 폐암 (NSCLC)이다. 실시양태에서, NSCLC는 편평 조직학 (편평 NSCLC)을 갖는다. 다른 실시양태에서, NSCLC는 비-편평 조직학 (비-편평 NSCLC)을 갖는다. "암"은 종양을 포함할 수 있다. "종양"은 신생물성 세포 성장 및 증식 (악성이든지 또는 양성이든지 간에), 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다.

[0090] "세린/트레오닌 키나제 11" 또는 "STK11" (또한 "분극-관련 단백질 LKB1", "신암종 항원 NY-REN-19", "간 키나제 B1", "EC 2.7.11.1" 및 "HLKB1"로 공지됨)은 세포 극성을 조절하고 종양 억제자로서 기능하는 세린/트레오닌 키나제 패밀리의 구성원을 지칭한다. STK11은 AMP-활성과 단백질 키나제 (AMPK) 패밀리의 구성원의 활성을 제어하여, 이에 의해 다양한 과정, 예컨대 세포 대사, 세포 극성, 아포토시스 및 DNA 손상 반응에서 소정의 역할을 한다. STK11은 편제적으로 발현되며, 고환 및 태아 간에서 가장 강하게 발현된다. STK11은 NSCLC, 특히 KRAS 돌연변이를 보유하는 종양에서 통상적으로 불활성화된다. 본원에 기재된 바와 같이, 돌연변이된 STK11, 예를 들어 STK11의 야생형 발현 상실은 SCLC로부터 유래된 종양에서의 감소된 또는 이상 PD-L1 발현과 상관관계가 있

다. 일부 실시양태에서, 돌연변이된 STK11, 예를 들어 STK11의 야생형 발현 상실은 SCLC로부터 유래된 종양에서 발생하며, 여기서 종양은 야생형 KRAS를 발현하거나 또는 발현하지 않는다 (예를 들어, 종양은 KRAS 돌연변이를 갖고 있거나 또는 갖지 않는다). 일부 실시양태에서, STK11 돌연변이체는, 예를 들어 이전에 문헌 [Koyama et al., Cancer Res. 76(5):999-1008 (2016), 및/또는 Skoulidis et al., Cancer Discov. 5(8):860-77 (2015)] (이들 둘 다 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 STK11 돌연변이체이다.

[0091] 용어 "면역요법"은 면역 반응을 유도하거나, 증진시키거나, 억제하거나 또는 달리 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의해, 질환을 앓거나, 질환에 걸릴 위험이 있거나 또는 질환의 재발을 앓고 있는 대상체를 치료하는 것을 지칭한다. 대상체의 "치료" 또는 "요법"은 질환과 연관된 증상, 합병증, 상태 또는 생화학적 징후의 발병, 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전시키거나, 완화시키거나, 호전시키거나, 억제하거나, 저속화하거나 또는 방지하는 것을 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 시술 또는 과정, 또는 그에 대한 활성제의 투여를 지칭한다.

[0092] 본원에 사용된 "PD-L1 양성"은 "적어도 약 1%의 PD-L1 발현"과 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, PD-L1 발현은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 사용될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, PD-L1 발현은 자동화 IHC에 의해 측정된다. PD-L1 양성 종양은 따라서 자동화 IHC에 의해 측정된 바와 같이 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 PD-L1 발현 종양 세포를 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, "PD-L1 양성"은 세포의 표면 상에 PD-L1을 발현하는 적어도 100개의 세포가 존재한다는 것을 의미한다.

[0093] "프로그램화된 사멸-1" (PD-1)은 CD28 패밀리에 속하는 면역억제 수용체를 지칭한다. PD-1은 생체내 이전에 활성화된 T 세포 상에서 우세하게 발현되고, 2종의 리간드, PD-L1 및 PD-L2에 결합한다. 본원에 사용된 용어 "PD-1"은 인간 PD-1 (hPD-1), hPD-1의 변이체, 이소형 및 중 상동체, 및 hPD-1과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전한 hPD-1 서열은 진뱅크 수탁 번호 U64863 하에 찾아볼 수 있다.

[0094] "프로그램화된 사멸 리간드-1 (PD-L1)"은 PD-1에 대한 결합 시 T 세포 활성화 및 시토카인 분비를 하향조절하는, PD-1에 대한 2종의 세포 표면 당단백질 리간드 중 하나이다 (다른 것은 PD-L2임). 본원에 사용된 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1의 변이체, 이소형 및 중 상동체, 및 hPD-L1과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전한 hPD-L1 서열은 진뱅크 수탁번호 Q9NZQ7 하에 찾아볼 수 있다.

[0095] "대상체"는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다. 용어 "비-인간 동물"은 척추동물, 예컨대 비-인간 영장류, 양, 개, 및 설치류, 예컨대 마우스, 래트, 및 기니 피그를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0096] 약물 또는 치료제의 "치료 유효량" 또는 "치료 유효 투여량"은, 단독으로 사용되거나 또는 또 다른 치료제와 조합되어 사용되는 경우에, 질환의 발병에 대해 대상체를 보호하거나, 또는 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 앓고 있는 질환으로 인한 손상 또는 장애의 방지에 의해 입증되는 질환 퇴행을 촉진하는 약물의 임의의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하는 치료제의 능력은 숙련된 진료의에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 작용제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0097] 본원에 사용된 "치료량 미만의 용량"은 과다증식성 질환 (예를 들어, 암)의 치료를 위해 단독으로 투여되는 경우 치료 화합물 (예를 들어, 항체)의 통상적 또는 전형적 용량보다 더 낮은 치료 화합물의 용량을 의미한다.

[0098] 예로서, "항암제"는 대상체에서 암 퇴행을 촉진하거나 또는 추가의 종양 성장을 방지한다. 특정 실시양태에서, 치료 유효량의 약물은 암을 제거하는 지점까지 암 퇴행을 촉진한다. "암 퇴행을 촉진하는"은 치료 유효량의 약물을 단독으로 또는 항신생물제와 조합하여 투여하여 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양의 괴사, 적어도 1종의 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 앓고 있는 질환으로 인한 손상 또는 장애의 방지를 유발하는 것을 의미한다. 추가로, 치료와 관련한 용어 "유효한" 및 "유효성"은 약리학적 유효성 및 생리학적 안전성 둘 다를 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진하는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 유발되는 세포, 기관 및/또는 유기체 수준에서의 독성의 수준 또는 다른 유해 생리학적 효과 (유해 효과)를 지칭한다.

[0099] 종양의 치료에 대한 예로서, 치료 유효량의 항암제는 비치료 대상체에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적



어도 약 40%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100%만큼 세포 성장 또는 종양 성장을 억제할 수 있다. 본 발명의 다른 실시양태에서, 종양 퇴행은 적어도 약 20일, 적어도 약 30일, 적어도 약 40일, 적어도 약 50일, 또는 적어도 약 60일의 기간 동안 관찰되고 계속될 수 있다. 이들 치료 유효성의 최고의 측정에도 불구하고, 면역요법 약물의 평가는 또한 "면역-관련 반응 패턴"을 감안해야 한다.

[0100] "면역-관련 반응 패턴"은 암-특이적 면역 반응을 유도함으로써 또는 천연 면역 과정을 변형시킴으로써 항종양 효과를 생성하는 면역요법제로 치료된 암 환자에서 종종 관찰되는 임상 반응 패턴을 지칭한다. 이 반응 패턴은, 전통적인 화학요법제의 평가에서는 질한 진행으로 분류되고 약물 실패와 동의어인 종양 부담의 초기 증가 또는 새로운 병변의 출현에 이어지는 유익한 치료 효과를 특징으로 한다. 따라서, 면역요법제의 적절한 평가는 표적 질환에 대한 이들 작용제의 효과의 장기간 모니터링을 요구할 수 있다. 약물의 치료 유효량은 "예방 유효량"을 포함하며, 이는 암이 발생할 위험이 있는 대상체 (예를 들어, 전-악성 상태를 갖는 대상체) 또는 암의 재발을 앓을 위험이 있는 대상체에게 단독으로 또는 항신생물제와 조합되어 투여되는 경우에, 암의 발생 또는 재발을 억제하는 약물의 임의의 양이다. 특정 실시양태에서, 예방 유효량은 암의 발생 또는 재발을 전적으로 방지한다. 암의 발생 또는 재발을 "억제하는"은 암의 발생 또는 재발 가능성을 경감시키거나, 또는 암의 발생 또는 재발을 전적으로 방지하는 것을 의미한다.

[0101] 대안적 사용 (예를 들어, "또는")은 대안 중 하나, 둘 다, 또는 그의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 사용된 단수 형태는 임의의 언급되거나 열거된 성분 중 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다.

[0102] 용어 "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 바와 같은 특정한 값 또는 조성에 대한 허용 오차 범위 내의 값 또는 조성을 지칭하며, 이는 부분적으로 값 또는 조성이 측정 또는 결정되는 방법, 즉 측정 시스템의 한계에 좌우될 것이다. 예를 들어, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 관련 기술분야에서의 실시예에 따라 1 또는 1 초과의 표준 편차 내에 있음을 의미할 수 있다. 대안적으로, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 최대 10% 또는 20%의 범위 (즉,  $\pm 10\%$  또는  $\pm 20\%$ )를 의미할 수 있다. 예를 들어, 약 3 mg은 2.7 mg 내지 3.3 mg (10% 경우) 또는 2.4 mg 내지 3.6 mg (20% 경우)의 임의의 수를 포함할 수 있다. 추가로, 특히 생물학적 시스템 또는 과정과 관련하여, 그 용어는 값의 최대 한 자릿수 배수 또는 최대 5-배를 의미할 수 있다. 특정한 값 또는 조성이 본 출원 및 청구범위에서 제공되는 경우에, 달리 언급되지 않는 한, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"의 의미는 그러한 특정한 값 또는 조성에 대한 허용 오차 범위 내에 있는 것으로 가정되어야 한다.

[0103] 본원에 사용된 용어 "약 매주 1회", "약 2주마다 1회", 또는 임의의 다른 유사한 투여 간격 용어는 대략적인 횟수를 의미한다. "약 매주 1회"는 7일  $\pm$  1일마다, 즉, 6일마다 내지 8일마다를 포함할 수 있다. "약 2주마다 1회"는 14일  $\pm$  3일마다, 즉, 11일마다 내지 17일마다를 포함할 수 있다. 유사한 근사법이, 예를 들어 약 3주마다 1회, 약 4주마다 1회, 약 5주마다 1회, 약 6주마다 1회, 및 약 12주마다 1회에 대해 적용된다. 일부 실시양태에서, 약 6주마다 1회 또는 약 12주마다 1회의 투여 간격은, 제1 용량이 제1주 중 임의의 날에 투여될 수 있고, 이어서 다음 용량이 각각 제6주 또는 제12주 중 임의의 날에 투여될 수 있다는 것을 의미한다. 다른 실시양태에서, 약 6주마다 1회 또는 약 12주마다 1회의 투여 간격은, 제1 용량이 제1주의 특정한 날 (예를 들어, 월요일)에 투여되고, 이어서 다음 용량이 각각 제6주 또는 제12주의 동일한 날 (즉, 월요일)에 투여된다는 것을 의미한다.

[0104] 본원에 지칭된 용어 "중량-기준 용량"은 환자에게 투여되는 용량이 환자의 중량을 기준으로 하여 계산된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 60 kg 체중을 갖는 환자가 3 mg/kg의 항-PD-1 항체를 요구하는 경우에, 투여를 위해 항-PD-1 항체의 적절한 양 (즉, 180 mg)을 계산하고 사용할 수 있다.

[0105] 본 발명의 방법과 관련하여 용어 "고정 용량"의 사용은 단일 조성물 중에 2종 이상의 상이한 항체 (예를 들어, 항-PD-1 항체 및 제2 항체)가 서로 특정한 (고정) 비로 조성물 중에 존재한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 고정 용량은 항체의 중량 (예를 들어, mg)을 기준으로 한다. 특정 실시양태에서, 고정 용량은 항체의 농도 (예를 들어, mg/ml)를 기준으로 한다. 일부 실시양태에서, 제1 항체 (예를 들어, 항-PD-1 항체) (mg) 대 제2 항체 (mg)의 비는 적어도 약 1:1, 약 1:2, 약 1:3, 약 1:4, 약 1:5, 약 1:6, 약 1:7, 약 1:8, 약 1:9, 약 1:10, 약 1:15, 약 1:20, 약 1:30, 약 1:40, 약 1:50, 약 1:60, 약 1:70, 약 1:80, 약 1:90, 약 1:100, 약 1:120, 약 1:140, 약 1:160, 약 1:180, 약 1:200, 약 200:1, 약 180:1, 약 160:1, 약 140:1, 약 120:1, 약 100:1, 약 90:1, 약 80:1, 약 70:1, 약 60:1, 약 50:1, 약 40:1, 약 30:1, 약 20:1, 약 15:1, 약 10:1, 약

9:1, 약 8:1, 약 7:1, 약 6:1, 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 또는 약 2:1이다. 예를 들어, 항-PD-1 항체 및 제2 항체의 3:1 비는 바이알이 약 240 mg의 항-PD-1 항체 및 80 mg의 제2 항체 또는 약 3 mg/ml의 항-PD-1 항체 및 1 mg/ml의 제2 항체를 함유할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0106] 본 발명의 방법 및 투여량과 관련하여 용어 "균일 용량"의 사용은 환자의 중량 또는 체표면적 (BSA)과 무관하게 환자에게 투여되는 용량을 의미한다. 따라서 균일 용량은 mg/kg 용량으로 제공되는 것이 아니라, 오히려 작용제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)의 절대량으로서 제공된다. 예를 들어, 60 kg 사람 및 100 kg 사람은 동일한 용량의 항체 (예를 들어, 240 mg의 항-PD-1 항체)를 받을 것이다.

[0107] 본원에 기재된 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위 또는 정수 범위는 달리 나타내지 않는 한, 언급된 범위 내의 임의의 정수 값, 및 적절한 경우에, 그의 분율 (예컨대 정수의 1/10 및 1/100)을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0108] 본 발명의 다양한 측면이 하기 서브섹션에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0109] 본 발명의 방법

[0110] 본 개시내용은 (i) 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는 그의 항원-결합 부분 ("항-PD-1 항체")을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 종양-기질 계면 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 미만성 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) PD-L1의 발현 패턴을 결정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 PD-L1 발현의 불균질 패턴을 나타내는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자가 투여 전에 STK11을 발현하는 종양을 갖는 것으로 확인하는 것을 추가로 포함한다

[0111] 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) STK11-양성 종양 (예를 들어, STK11 야생형)을 갖는 대상체를 확인하고, (ii) 그 대상체에게 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 특정 측면에서, 본 개시내용은 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 환자는 투여 전에 STK11-양성 종양을 갖는 것으로 확인되는 것인, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 (i) 종양에 의한 STK11 발현을 측정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합한 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 STK11-양성인 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, STK11은 야생형 STK11이다.

[0112] 다른 측면에서, 본 개시내용은 (i) STK11-음성 종양을 갖는 대상체를 확인하고; (ii) 그 대상체에게 항-PD-1 항체를 투여하지 않거나 또는 항-PD-1 항체 요법을 종결시키거나 중대시키는 것을 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 측면은 (i) 종양에 의한 STK11 발현을 측정하고, (ii) 항-PD-1 항체 치료에 적합하지 않은 종양을 앓는 대상체에게, 종양이 STK11-음성인 경우 또는 종양이 불활성 STK11 돌연변이체를 발현하는 경우에, 항-PD-1 항체를 투여하지 않거나 또는 항-PD-1 항체 요법을 종결시키거나 중대시키는 것을 포함하는, 상기 대상체를 확인하는 방법에 관한 것이다.

[0113] 특정 실시양태에서, 종양은 NSCLC로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간 환자이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 화학요법-나이프 환자 (예를 들어, 이전에 어떠한 화학요법도 받지 않은 환자)이다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 조합 요법에 대한 대상체는 또 다른 암 요법 (예를 들어, 화학요법)을 받았으나, 이러한 또 다른 암 요법에 대해 내성 또는 불응성이다. 특정의 구체적 실시양태에서, 본 발명의 요법에 대한 대상체는 EGFR, KRAS 및/또는 STK11 유전자의 돌연변이된 형태를 발현하는 종양 세포를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 요법에 대한 대상체는 야생형 STK11 및 돌연변이된 STK11 둘 다를 발현하는 종양 세포를 갖는다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 요법에 대한 대상체는 단지 STK11의 야생형 형태만을 발현하는 종양 세포를 갖는다. 일부 실시양태에서, 종양은 TP53, KEAP1, KRAS, EGFR, MET 및 그의 1종 이상의 돌연변이 변이체로부터 선택된 1



중 이상의 유전자를 발현한다. 일부 실시양태에서, 종양은 STK11, 및 TP53, KEAP1, KRAS, EGFR, MET 및 그의 1종 이상의 돌연변이 변이체로부터 선택된 1종 이상의 유전자를 발현한다.

[0114] 특정 실시양태에서, 대상체는 PD-L1 양성인 종양 세포 (PD-L1+)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 대상체는 PD-L1 음성인 암 세포 (PD-L1-)를 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 비흡연자이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 이전 흡연자이다. 한 실시양태에서, 대상체는 현재 흡연자이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 편평 암 세포를 갖는다. 특정 실시양태에서, 대상체는 비-편평 암 세포를 갖는다.

[0115] 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 약 60 내지 약 500, 약 70 내지 약 490, 약 80 내지 약 480, 약 90 내지 약 470, 약 100 내지 약 460, 약 110 내지 약 450, 약 120 내지 약 440, 약 130 내지 약 430, 약 140 내지 약 420, 약 150 내지 약 410, 약 160 내지 약 400, 약 170 내지 약 390, 약 180 내지 약 380, 약 190 내지 약 370, 약 200 내지 약 360, 약 20 내지 약 350, 약 200 내지 약 340, 약 200 내지 약 330, 약 200 내지 약 320, 약 200 내지 약 310, 또는 약 200 내지 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 적어도 약 60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 적어도 약 100, 적어도 약 110, 적어도 약 120, 적어도 약 130, 적어도 약 140, 적어도 약 150, 적어도 약 160, 적어도 약 170, 적어도 약 180, 적어도 약 190, 적어도 약 200, 적어도 약 210, 적어도 약 220, 적어도 약 225, 적어도 약 230, 적어도 약 240, 적어도 약 250, 적어도 약 260, 적어도 약 270, 적어도 약 275, 적어도 약 280, 적어도 약 290, 또는 적어도 약 300의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 적어도 약 200의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 다른 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 적어도 약 240의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, PD-L1 발현의 미만성 패턴은 적어도 약 260의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다.

[0116] 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 약 1 내지 약 50, 약 5 내지 약 45, 약 10 내지 약 40, 또는 약 15 내지 약 35의 PD-L1 H-점수를 특징으로 하고, 여기서 PD-L1 발현은 종양의 1개 이상의 특유의 부분에 제한된다. 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 적어도 약 5, 적어도 약 10, 적어도 약 15, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 적어도 약 30, 적어도 약 35, 또는 적어도 약 40의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 한 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 적어도 약 15의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 또 다른 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 적어도 약 20의 PD-L1 H-점수를 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, PD-L1 발현의 불균질 패턴은 PD-L1을 발현하는 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 또는 100, 적어도 120, 또는 적어도 150개를 포함하는 종양의 부분을 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, 종양의 부분 내 세포의 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%는 PD-L1을 발현한다.

[0117] 일부 실시양태에서, 종양-기질 계면 PD-L1 발현은 기질의 인접한 (예를 들어, 약 1개 세포 직경, 약 2개 세포 직경, 약 3개 세포 직경, 약 4개 세포 직경, 약 5개 세포 직경, 약 6개 세포 직경, 약 7개 세포 직경, 약 8개 세포 직경, 약 9개 세포 직경, 또는 약 10개 세포 직경 내의) 종양 세포에 의한 PD-L1 발현을 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, 종양-기질 계면 PD-L1 발현은 종양의 표면 상의 PD-L1 발현을 특징으로 한다.

[0118] 특정 실시양태에서, 본 발명 (예를 들어, 항-PD-1 항체의 투여)의 요법은 대상체의 생존 기간을 효과적으로 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-PD-1 항체 요법은 대상체의 무진행 생존을 증가시킨다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-PD-1 항체 요법은 표준 관리 요법과 비교하여 대상체의 무진행 생존을 증가시킨다. 항-PD-1 항체 요법의 투여 후에, 종양을 갖는 대상체는 투여 후 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 13개월, 적어도 약 14개월, 적어도 약 15개월, 적어도 약 16개월, 적어도 약 17개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 19개월, 적어도 약 20개월, 적어도 약 21개월, 적어도 약 22개월, 적어도 약 23개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년의 전체 생존을 나타낼 수 있다.

[0119] 다른 실시양태에서, 대상체의 생존 기간 또는 전체 생존은 단지 표준 관리 요법 (예를 들어, 도세탁셀)만으로도 또는 요법의 상이한 투여 스케줄로 치료된 또 다른 대상체와 비교하였을 때 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 6개월, 또는 적어도 약 1년만큼 증가된다. 예를 들어, 본원에 개시된 항-PD-1 항체로 치료된 대상체의 생존 기간 또는 전체 생존은 단지 표준 관리 요법 (예를 들어, 도세탁셀)만으로도 또는 조합 요법의 상이한 투여 스케줄로 치료된 또 다른 대상체와 비교하였을 때 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50% 또는 적어도 약 75%만큼 증가된다.

[0120] 특정 실시양태에서, 본 발명의 요법은 대상체의 무진행 생존 기간을 효과적으로 증가시킨다. 일부 실시양태에

서, 대상체는 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존을 나타낸다.

[0121] 대상체에서 종양의 PD-L1 또는 STK11 상태는 본원에 개시된 임의의 조성물을 투여하거나 또는 본원에 개시된 임의의 방법을 이용하기 전에 측정된다. 한 실시양태에서, 종양의 PD-L1 또는 STK11 발현 수준은 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 11%, 적어도 약 12%, 적어도 약 13%, 적어도 약 14%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%이다. 또 다른 실시양태에서, 종양의 PD-L1 또는 STK11 상태는 적어도 약 1%이다. 다른 실시양태에서, 대상체의 PD-L1 또는 STK11 상태는 적어도 약 5%이다. 특정 실시양태에서, 종양의 PD-L1 또는 STK11 상태는 적어도 약 10%이다. 한 실시양태에서, 종양의 PD-L1 또는 STK11 상태는 적어도 약 25%이다. 특정한 실시양태에서, 종양의 PD-L1 상태는 적어도 약 50%이다.

[0122] 특정 실시양태에서, 종양은 높은 수준의 염증을 나타낼 수 있다. 증가된 염증은 미만성 PD-L1 발현 패턴의 지표일 수 있다. 따라서, 높은 종양 염증은 항-PD-1 항체 요법에 대한 반응성의 지표일 수 있다. 특정 실시양태에서, 염증은 STK11, PD-L1, TP53, KEAP1, KRAS, EGFR 및/또는 MET의 발현에 따라 측정될 수 있다.

[0123] 일부 실시양태에서,  $\geq 1\%$  PD-L1 발현을 갖는 종양을 갖는 대상체의 중앙 무진행 생존은  $< 1\%$  PD-L1 발현을 갖는 종양을 갖는 대상체의 중앙 무진행 생존보다 적어도 약 1주, 적어도 약 2주, 적어도 약 3주, 적어도 약 4주, 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 또는 적어도 약 1년 더 길다. 일부 실시양태에서,  $\geq 1\%$  PD-L1 발현을 갖는 종양을 갖는 대상체의 무진행 생존은 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년이다.

[0124] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체의 투여는 종양을 치료한다. 특정 실시양태에서, 투여는 종양의 크기를 감소시킨다. 한 실시양태에서, 종양의 크기는 투여 전 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50%만큼 감소된다. 다른 실시양태에서, 대상체는 초기 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 대상체는 투여 후에 안정 질환을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 대상체는 투여 후에 부분 반응을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 대상체는 투여 후에 완전 반응을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 대상체는 표준 관리 치료로 치료된 대상체와 비교하여 투여 후에 개선된 객관적 반응률 (ORR)을 나타낸다.

[0125] PD-L1 발현 및/또는 STK11 발현을 평가하기 위해, 한 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 요법을 필요로 하는 환자로부터 취득될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 발현의 평가는 시험 조직 샘플을 취득하지 않고 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 적합한 환자를 선택하는 것은 (i) 임의로 시험 조직의 암을 갖는 환자로부터 취득된 시험 조직 샘플 (시험 조직 샘플은 종양 세포 및/또는 종양-침윤 염증 세포를 포함함)을 제공하는 것; 및 (ii) 시험 조직 샘플에서 세포 표면 상에 PD-L1을 발현하는 세포의 비율이 미리 결정된 역치 수준보다 더 높다는 평가에 기초하여 시험 조직 샘플에서 세포의 표면 상에 PD-L1을 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.

[0126] 그러나, 시험 조직 샘플에서 PD-L1 및/또는 STK11 발현을 측정하는 것을 포함하는 임의의 방법에서, 환자로부터 취득된 시험 조직 샘플을 제공하는 것을 포함하는 단계는 임의적인 단계인 것으로 이해되어야 한다. 또한, 특정 실시양태에서 시험 조직 샘플에서 PD-L1 및/또는 STK11을 발현하는 (예를 들어, 세포 표면 상의 PD-L1 발현) 세포를 확인하거나 또는 그의 수 또는 비율을 결정하기 위한 "측정" 또는 "평가" 단계는 PD-L1 및/또는 STK11 발현에 대한 변형적 검정 방법에 의해, 예를 들어 리버스 트랜스크립타제-폴리머라제 연쇄 반응 (RT-PCR) 검정 또는 IHC 검정을 수행함으로써 수행되는 것으로 이해되어야 한다. 특정의 다른 실시양태에서, 어떠한 변형적 단계도 수반되지 않고, PD-L1 및/또는 STK11 발현은, 예를 들어 실험실로부터의 시험 결과 보고를 검토함으로써

평가된다. 특정 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 발현의 평가까지의 및 이를 포함한 방법 단계는 중간 결과를 제공하며, 이는 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체 요법에 대해 적합한 후보를 선택하는데 사용하기 위해 의사 또는 다른 건강관리 제공자에게 제공될 수 있다. 특정 실시양태에서, 중간 결과를 제공하는 단계는 의료 진료의 또는 의료 진료의 지시 하에 활동하는 사람에 의해 수행된다. 다른 실시양태에서, 이들 단계는 독립적인 실험실에 의해 수행되거나 또는 독립적인 사람, 예컨대 실험실 기술자에 의해 수행된다.

[0127] 임의의 본 방법의 특정 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11을 발현하는 세포의 비율은 PD-L1 및/또는 STK11 RNA의 존재를 결정하기 위한 검정을 수행함으로써 평가된다. 추가 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 RNA의 존재는 RT-PCR, 계내 혼성화 또는 RNase 보호에 의해 결정된다. 다른 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11을 발현하는 세포의 비율은 PD-L1 및/또는 STK11 폴리펩티드의 존재를 결정하는 검정을 수행함으로써 평가된다. 추가 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 폴리펩티드의 존재는 면역조직화학 (IHC), 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA), 생체내 영상화, 또는 유동 세포측정법에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 발현은 IHC에 의해 검정된다. 모든 이들 방법의 다른 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11의 세포 표면 발현은, 예를 들어 IHC 또는 생체내 영상화를 사용하여 검정된다.

[0128] 영상화 기술은 암 연구 및 치료에 있어서 중요한 도구를 제공하였다. 양전자 방출 단층촬영 (PET), 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영 (SPECT), 형광 반사 영상화 (FRI), 형광-매개 단층촬영 (FMT), 생물발광 영상화 (BLI), 레이저-스캐닝 공초점 현미경검사 (LSCM) 및 다광자 현미경검사 (MPM)를 포함한, 분자 영상화 시스템에 있어서의 최근의 발전은, 이들 기술이 암 연구에 훨씬 더 많이 사용될 가능성이 있음을 예고할 것이다. 이들 분자 영상화 시스템 중 일부는, 임상이가 종양이 신체 내 어디에 위치하는지를 보도록 할 뿐만 아니라 종양 거동 및/또는 치료 약물에 대한 반응성에 영향을 미치는 특정 분자, 세포 및 생물학적 과정의 발현 및 활성을 가시화하도록 한다 (Condeelis and Weissleder, "In vivo imaging in cancer," Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(12):a003848 (2010)). PET의 감도 및 분해능과 커플링된 항체 특이성은 이뮤노PET 영상화가 조직 샘플 내 항원의 발현을 모니터링 및 검정하는데 특히 매력적이며 한다 (McCabe and Wu, "Positive progress in immunoPET-not just a coincidence," Cancer Biother. Radiopharm. 25(3):253-61 (2010); Olafsen et al., "ImmunoPET imaging of B-cell lymphoma using 124I-anti-CD20 scFv dimers (diabodies)," Protein Eng. Des. Sel. 23(4):243-9 (2010)). 임의의 본 방법의 특정 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 발현은 이뮤노PET 영상화에 의해 검정된다. 임의의 본 방법의 특정 실시양태에서, 시험 조직 샘플에서 PD-L1 및/또는 STK11을 발현하는 세포의 비율은 시험 조직 샘플에서 세포 표면 상의 PD-L1 및/또는 STK11 폴리펩티드의 존재를 결정하는 검정을 수행함으로써 평가된다. 특정 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 FFPE 조직 샘플이다. 다른 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 폴리펩티드의 존재는 IHC 검정에 의해 결정된다. 추가 실시양태에서, IHC 검정은 자동화 과정을 사용하여 수행된다. 일부 실시양태에서, IHC 검정은 PD-L1 폴리펩티드에 결합하는 항-PD-L1 모노클로날 항체를 사용하여 수행된다. 다른 실시양태에서, IHC 검정은 STK11 폴리펩티드에 결합하는 항-STK11 모노클로날 항체를 사용하여 수행된다.

[0129] 본 방법의 한 실시양태에서, 자동화 IHC 방법은 FFPE 조직 시편에서 세포 표면 상의 PD-L1 및/또는 STK11의 발현을 검정하는데 사용된다. 본 개시내용은 시험 샘플 및 음성 대조군 샘플을, 인간 PD-L1 및/또는 STK11에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체 또는 그의 부분과 인간 PD-L1 및/또는 STK11 사이의 복합체의 형성을 가능하게 하는 조건 하에서 상기 항체와 접촉시키는 것을 포함하는, 시험 조직 샘플 내 인간 PD-L1 및/또는 STK11 항원의 존재를 검출하거나, 또는 인간 PD-L1 및/또는 STK11 항원의 수준 또는 샘플 내 상기 항원을 발현하는 세포의 비율을 정량화하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 시험 및 대조군 조직 샘플은 FFPE 샘플이다. 이어서 복합체의 형성이 검출되며, 여기서 시험 샘플과 음성 대조군 샘플 사이의 복합체 형성에서의 차이는 샘플 내 인간 PD-L1 및/또는 STK11 항원의 존재를 나타낸다. 다양한 방법이 PD-L1 및/또는 STK11 발현을 정량화하는데 사용된다.

[0130] 특정한 실시양태에서, 자동화 IHC 방법은 다음을 포함한다: (a) 자동염색기에서 탑재된 조직 절편을 탈파라핀화 및 재수화하고; (b) 10분 동안 110°C로 가열된, 탈클로킹 챔버 및 pH 6 완충제를 사용하여 항원을 회수하고; (c) 시약을 자동염색기 상에 세팅하고; (d) 조직 시편에서 내인성 퍼옥시다제를 중화시키는 단계; 슬라이드 상의 비-특이적 단백질-결합 부위를 차단하는 단계; 슬라이드를 1차 항체와 함께 인큐베이션하는 단계; 1차후 차단제와 함께 인큐베이션하는 단계; 노보링크 중합체와 함께 인큐베이션하는 단계; 발색원 기질을 첨가하고 현상하는 단계; 및 헤마톡실린으로 대조염색하는 단계를 포함하는 자동염색기를 실행하는 것.

[0131] 종양 조직 샘플에서 PD-L1 및/또는 STK11 발현을 평가하기 위해, 병리학자는 현미경 하에서 각각의 필드 내 막 PD-L1+ 및/또는 STK11+ 종양 세포의 수를 조사하고, 양성인 세포의 백분율을 속으로 추정된 다음, 이를 평균내

어 최종 백분율에 이르게 한다. 상이한 염색 강도는 0/음성, 1+/약함, 2+/중간, 및 3+/강함으로 정의된다. 전형적으로, 백분율 값은 먼저, 0 및 3+ 버킷에 할당된 다음, 중간 1+ 및 2+ 강도가 고려된다. 고도로 불균질한 조직에 대해서는, 시편이 여러 구역으로 분할되고, 각각의 구역이 개별적으로 점수화된 다음, 백분율 값의 단일 세트에 합해진다. 상이한 염색 강도에 대한 음성 및 양성 세포의 백분율이 각각의 영역으로부터 결정되고, 각각의 구역에 대한 중앙 값이 제공된다. 최종 백분율 값이 다음 각각의 염색 강도 카테고리에 대해 조직에 제공된다: 음성, 1+, 2+ 및 3+. 모든 염색 강도의 합은 100%여야 한다. 한 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 양성이어야 하는 세포의 역치 수는 적어도 약 100개, 적어도 약 125개, 적어도 약 150개, 적어도 약 175개, 또는 적어도 약 200개 세포이다. 특정 실시양태에서, PD-L1 및/또는 STK11 양성이어야 하는 세포의 역치 수는 적어도 약 100개 세포이다.

[0132] 염색은 또한 종양-침윤 염증 세포, 예컨대 대식세포 및 림프구에서 평가된다. 대부분의 경우에, 염색이 많은 비율의 대식세포에서 관찰되기 때문에 대식세포가 내부 양성 대조군으로서의 역할을 한다. 3+ 강도로 염색되도록 요구되지는 않지만, 임의의 기술적 실패를 배제하기 위해서는 대식세포의 염색의 부재가 고려되어야 한다. 대식세포 및 림프구는 형질 막 염색에 대해 평가되고, 모든 샘플에 관해 각각의 세포 카테고리에 대해 양성 또는 음성인 것으로서만 기록된다. 염색은 또한, 외부/내부 종양 면역 세포 지정에 따라 특징화된다. "내부"는 면역 세포가 종양 세포들 사이에 물리적으로 삽입되어 있지 않으면서, 종양 조직 내에 및/또는 종양 영역의 경계 상에 있는 것을 의미한다. "외부"는 면역 세포가 결합 조직과 회합된 주변부 또는 임의의 회합된 인접 조직에서 발견되면서, 종양과 어떠한 물리적 회합도 없는 것을 의미한다.

[0133] 이들 점수화 방법의 특정 실시양태에서, 샘플은 독립적으로 작업하는 2명의 병리학자에 의해 점수화되고, 점수는 후속적으로 통합된다. 특정의 다른 실시양태에서, 양성 및 음성 세포의 확인은 적절한 소프트웨어를 사용하여 점수화된다.

[0134] 히스토스코어 (또한 H-점수로 기재됨)는 IHC 데이터의 보다 정량적인 척도로서 사용된다. 히스토스코어는 하기와 같이 계산된다:

$$\begin{aligned} \text{[0135]} \quad \text{히스토스코어} &= [(\% \text{ 종양} \times 1 (\text{낮은 강도})) + (\% \text{ 종양} \times 2 (\text{중간 강도})) \\ \text{[0136]} \quad &+ (\% \text{ 종양} \times 3 (\text{높은 강도}))] \end{aligned}$$

[0137] 히스토스코어를 결정하기 위해, 병리학자는 시편 내에서 각각의 강도 카테고리에 있는 염색된 세포의 백분율을 추정한다. 대부분의 바이오마커의 발현이 불균질하기 때문에, 히스토스코어는 전체 발현의 보다 참된 표현이다. 최종 히스토스코어 범위는 0 (발현 부재) 내지 300 (최대 발현)이다.

[0138] 시험 조직 샘플에서 PD-L1 및/또는 STK11 발현을 정량화하는 대안적 수단 IHC는 염증 밀도에 종양-침윤 염증 세포에 의한 퍼센트 PD-L1 및/또는 STK11 발현을 곱한 것으로서 정의되는 점수인 조정된 염증 점수 (AIS)를 결정하는 것이다 (Taube et al., "Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape," Sci. Transl. Med. 4(127):127ra37 (2012)).

[0139] 본 방법은 임의의 병기의 종양을 치료할 수 있다. 특정 실시양태에서, 종양은 임의의 병기의 NSCLC로부터 유래된다. NSCLC에는 다음 적어도 7개의 병기가 사용된다: 잠재기 (숨은), 0기 (상피내 암종), I기, II기, IIIA기, IIIB기, 및 IV기. 잠재기에서, 암은 영상화 또는 기관지경검사에 의해 관찰될 수 없다. 0기에서, 암 세포는 기도의 내층에서 발견된다.

[0140] 한 실시양태에서, 본 방법은 I기 비-편평 NSCLC를 치료한다. I기 NSCLC는 IA기 및 IB기로 나뉘어진다. IA기에서, 종양은 단지 폐 내에만 존재하고, 3 센티미터 이하이다. IB기에서, 암은 림프절로 퍼지지 않았고, 하기 중 1개 이상이 사실이다: 1) 종양이 3 센티미터 초과 5 센티미터 이하임; 2) 암이 주기관지로 퍼졌고, 기관이 기관지와 연결되는 곳 아래 적어도 2 센티미터에 존재함; 3) 암이 폐를 덮는 막의 최내각 층으로 퍼졌음; 또는 4) 폐의 일부가 허탈상태가 되었거나 또는 기관이 기관지와 연결되는 영역에 폐장염 (폐의 염증)이 발생하였음.

[0141] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 II기 비-편평 NSCLC를 치료한다. II기 NSCLC는 IIA기 및 IIB기로 나뉘어진다. IIA기에서, 암은 림프절로 퍼졌거나 또는 퍼지지 않았다. 암이 림프절로 퍼진 경우에, 암은 단지 종양과 동일한 흉부 측 상의 림프절로만 퍼질 수 있으며, 암을 갖는 림프절은 폐 내 또는 기관지 근처에 있고 하기 중 1개 이상이 사실이다: 1) 종양은 5 센티미터 이하임; 2) 종양은 주기관지로 퍼졌고, 기관이 기관지와 연결되는 곳 아래 적어도 2 센티미터에 존재함; 3) 암이 폐를 덮는 막의 최내각 층으로 퍼졌음; 또는 4) 폐의 일부가 허탈상태가 되었거나 또는 기관이 기관지와 연결되는 영역에 폐장염 (폐의 염증)이 발생하였음. 종양은



또한 암이 림프절로 퍼지지 않았고 하기 중 1개 이상이 사실인 경우에 IIA기로 간주된다: 1) 종양이 5 센티미터 초과 7 센티미터 이하임; 2) 암이 주기관지로 퍼졌고, 기관이 기관지와 연결되는 곳 아래 적어도 2 센티미터에 존재함; 3) 암이 폐를 덮는 막의 최내각 층으로 퍼졌음; 또는 4) 폐의 일부가 허탈상태가 되었거나 또는 기관이 기관지와 연결되는 영역에 폐장염 (폐의 염증)이 발생하였음. IIB기에서, 암은 림프절로 퍼졌거나 또는 퍼지지 않았다. 암이 림프절로 퍼진 경우에, 암은 단지 종양과 동일한 흉부 측 상의 림프절로만 퍼질 수 있으며, 암을 갖는 림프절은 폐 내 또는 기관지 근처에 있고 하기 중 1개 이상이 사실이다: 1) 종양이 5 센티미터 초과 7 센티미터 이하임; 2) 암이 주기관지로 퍼졌고, 기관이 기관지와 연결되는 곳 아래 적어도 2 센티미터에 존재함; 3) 암이 폐를 덮는 막의 최내각 층으로 퍼졌음; 또는 4) 폐의 일부가 허탈상태가 되었거나 또는 기관이 기관지와 연결되는 영역에 폐장염 (폐의 염증)이 발생하였음. 종양은 또한 암이 림프절로 퍼지지 않았고 하기 중 1개 이상이 사실인 경우에 IIB기로 간주된다: 1) 종양이 7 센티미터 초과임; 2) 암이 주기관지 (기관이 기관지와 연결되는 곳 아래 적어도 2 센티미터에 존재함), 흉벽, 횡경막, 또는 횡경막을 제어하는 신경으로 퍼졌음; 3) 암이 심장 주위의 막 또는 흉벽의 내층으로 퍼졌음; 4) 전체 폐가 허탈상태가 되었거나 또는 폐장염 (폐의 염증)이 발생하였음; 또는 5) 동일한 폐엽에 1개 이상의 별개의 종양이 존재함.

[0142]

다른 실시양태에서, 본 발명의 임의의 방법은 III기 비-편평 NSCLC를 치료한다. IIIA기는 3개의 섹션으로 나뉘어진다. 이들 3개의 섹션은 1) 종양의 크기; 2) 종양이 발견되는 곳 및 3) 어느 림프절 (존재하는 경우)이 암을 갖는지에 기초한다. IIIA기 NSCLC의 제1 유형에서, 암은 종양과 동일한 흉부 측 상의 림프절로 퍼졌고, 암을 갖는 림프절은 흉골 근처 또는 기관지가 폐로 들어가는 곳에 존재한다. 추가적으로: 1) 종양이 임의의 크기일 수 있음; 2) 폐의 일부 (기관이 기관지와 연결되는 곳) 또는 전체 폐가 허탈상태가 되거나 또는 폐장염 (폐의 염증)이 발생할 수 있음; 3) 동일한 폐엽에 1개 이상의 별개의 종양이 존재할 수 있음; 및 4) 암이 하기 중 어느 것으로 퍼질 수 있음: a) 주기관지, 그러나 기관이 기관지와 연결되는 영역은 아님, b) 흉벽, c) 횡경막 및 그것을 제어하는 신경, d) 폐 주위의 막 또는 흉벽의 내층, e) 심장 주위의 막. IIIA기 NSCLC의 제2 유형에서, 암은 종양과 동일한 흉부 측 상의 림프절로 퍼졌고, 암을 갖는 림프절은 폐 내 또는 기관지 근처에 존재한다. 추가적으로: 1) 종양이 임의의 크기일 수 있음; 2) 전체 폐가 허탈상태가 되거나 또는 폐장염 (폐의 염증)이 발생할 수 있음; 3) 암을 갖는 임의의 폐엽에 1개 이상의 별개의 종양이 존재할 수 있음; 및 4) 암이 하기 중 어느 것으로 퍼질 수 있음: a) 주기관지, 그러나 기관이 기관지와 연결되는 영역은 아님, b) 흉벽, c) 횡경막 및 그것을 제어하는 신경, d) 폐 주위의 막 또는 흉벽의 내층, e) 심장 또는 그것 주위의 막, f) 심장으로 이어지는 또는 그로부터의 주요 혈관, g) 기관, h) 식도, i) 후두 (보이스 박스)를 제어하는 신경, j) 흉골 (흉부 골) 또는 백본, 또는 k) 용골 (기관이 기관지와 연결되는 곳). IIIB기는 1) 종양의 크기; 2) 종양이 발견되는 곳 및 3) 어느 림프절이 암을 갖는지에 기초하여 2개의 섹션으로 나뉘어진다. IIIB기 NSCLC의 제1 유형에서, 암은 종양과 대향하는 흉부 측 상의 림프절로 퍼졌다. 추가적으로, 1) 종양이 임의의 크기일 수 있음; 2) 폐의 일부 (기관이 기관지와 연결되는 곳) 또는 전체 폐가 허탈상태가 되거나 또는 폐장염 (폐의 염증)이 발생할 수 있음; 3) 암을 갖는 임의의 폐엽에 1개 이상의 별개의 종양이 존재할 수 있음; 및 4) 암이 하기 중 어느 것으로 퍼질 수 있음: a) 주기관지, b) 흉벽, c) 횡경막 및 그것을 제어하는 신경, d) 폐 주위의 막 또는 흉벽의 내층, e) 심장 또는 그것 주위의 막, f) 심장으로 이어지는 또는 그로부터의 주요 혈관, g) 기관, h) 식도, i) 후두 (보이스 박스)를 제어하는 신경, j) 흉골 (흉부 골) 또는 백본, 또는 k) 용골 (기관이 기관지와 연결되는 곳). IIIB기 NSCLC의 제2 유형에서, 암은 종양과 동일한 흉부 측 상의 림프절로 퍼졌다. 암을 갖는 림프절은 흉골 (흉부 골) 근처 또는 기관지가 폐로 들어가는 곳에 존재한다. 추가적으로, 1) 종양이 임의의 크기일 수 있음; 2) 동일한 폐의 상이한 엽에 별개의 종양이 존재할 수 있음; 및 3) 암이 하기 중 어느 것으로 퍼질 수 있음: a) 심장, b) 심장으로 이어지는 또는 그로부터의 주요 혈관, c) 기관, d) 식도, e) 후두 (보이스 박스)를 제어하는 신경, f) 흉골 (흉부 골) 또는 백본, 또는 g) 용골 (기관이 기관지와 연결되는 곳).

[0143]

일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 IV기 비-편평 NSCLC를 치료한다. IV기 NSCLC에서, 종양은 임의의 크기일 수 있고, 암은 림프절로 퍼질 수 있다. 하기 중 1개 이상은 IV기 NSCLC에서 사실이다: 1) 둘 다의 폐에 1개 이상의 종양이 존재함; 2) 암이 폐 또는 심장 주위의 유체에서 발견됨; 및 3) 암이 신체의 다른 부분, 예컨대 뇌, 간, 부신, 신장 또는 골로 퍼졌음.

[0144]

특정 실시양태에서 본 방법, 항-PD-1 항체의 니볼루맙이다. 다른 실시양태에서, 그것은 펌브롤리주맙이다. 전형적으로, 항-PD-1 항체는 정맥내 투여를 위해 제제화된다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 60분의 기간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여된다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 제약상 허용되는 제제로서 투여된다.

특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 치료량 미만의 용량으로 투여된다.

[0145] 본 발명에 유용한 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체

[0146] 고친화도로 PD-1에 특이적으로 결합하는 인간 모노클로날 항체는 미국 특허 번호 8,008,449에 개시되었다. 다른 항-PD-1 모노클로날 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 및 8,354,509 및 PCT 공개 번호 WO 2012/145493에 기재되었다. 미국 특허 번호 8,008,449에 개시된 각각의 항-PD-1 인간 모노클로날 항체는 하기 특징 중 1개 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) 비아코어 바이오센서 시스템을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정된 바와 같이,  $1 \times 10^{-7}$  M 이하의  $K_D$ 로 인간 PD-1에 결합함; (b) 인간 CD28, CTLA-4 또는 ICOS에 실질적으로 결합하지 않음; (c) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식을 증가시킴; (d) MLR 검정에서 인터페론- $\gamma$  생산을 증가시킴; (e) MLR 검정에서 IL-2 분비를 증가시킴; (f) 인간 PD-1 및 시노몰구스 원숭이 PD-1에 결합함; (g) PD-L1 및/또는 PD-L2의 PD-1에의 결합을 억제함; (h) 항원-특이적 기억 반응을 자극함; (i) 항체 반응을 자극함; 및 (j) 생체내 종양 세포 성장을 억제함. 본 발명에서 사용가능한 항-PD-1 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 상기 특징 중 적어도 1개, 일부 실시양태에서는 적어도 5개를 나타내는 모노클로날 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙이다.

[0147] 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 니볼루맙 (또한 "옵디보(OPDIVO)®"로 공지됨; 이전에 5C4, BMS-936558, MDX-1106, 또는 ONO-4538로 명명됨)은 PD-1 리간드 (PD-L1 및 PD-L2)와의 상호작용을 선택적으로 방지함으로써 항종양 T-세포 기능의 하향-조절을 차단하는 완전 인간 IgG4 (S228P) PD-1 면역 체크포인트 억제제 항체이다 (미국 특허 번호 8,008,449; 문헌 [Wang et al., In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates, Cancer Imm Res, 2(9):846-56 (2014)]). 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 니볼루맙과 교차-경쟁한다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙과 동일한 CDR을 갖는다.

[0148] 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 펌브롤리주맙과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙과 동일한 CDR을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펌브롤리주맙이다. 펌브롤리주맙 (또한 "키트루다(KEYTRUDA)®", 람브롤리주맙, 및 MK-3475로 공지됨)은 인간 세포 표면 수용체 PD-1 (프로그램화된 사멸-1 또는 프로그램화된 세포 사멸-1)에 대해 지시된 인간화 모노클로날 IgG4 항체이다. 펌브롤리주맙은, 예를 들어 미국 특허 번호 8,354,509 및 8,900,587에 기재되어 있으며; 또한 [www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789](http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789) (마지막 접근: 2014년 12월 14일)를 참조한다. 펌브롤리주맙은 재발성 또는 불응성 흑색종의 치료를 위한 것으로 FDA에 의해 승인되었다.

[0149] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 MEDI0680과 교차-경쟁한다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 MEDI0680과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 MEDI0680과 동일한 CDR을 갖는다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 모노클로날 항체인 MEDI0680 (이전에 AMP-514)이다. MEDI0680은, 예를 들어 미국 특허 번호 8,609,089B2에 기재되어 있다.

[0150] 특정 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 B7-DC Fc 융합 단백질인 AMP-224이다. AMP-224는 미국 공개 번호 2013/0017199 또는 [www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595](http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595) (마지막 접근 2015년 7월 8일)에 논의되어 있다.

[0151] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 BGB-A317과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 BGB-A317과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 BGB-A317과 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간화 모노클로날 항체인 BGB-A317이다. BGB-A317은 미국 공개 번호 2015/0079109에 기재되어 있다.

[0152] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 INC5HR1210 (SHR-1210)과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 INC5HR1210 (SHR-1210)과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 INC5HR1210 (SHR-1210)과 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간 모노클로날 항체인 INC5HR1210 (SHR-1210)이다. INC5HR1210 (SHR-1210)은 WO2015/085847에 기재되어 있다.

[0153] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 REGN-2810과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에



서, 항-PD-1 항체는 REGN-2810과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 REGN-2810과 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간 모노클로날 항체인 REGN-2810이다. REGN-2810은 WO2015/112800에 기재되어 있다.

[0154] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 PDR001과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 PDR001과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 PDR001과 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간화 모노클로날 항체인 PDR001이다. PDR001은 WO2015/112900에 기재되어 있다.

[0155] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 TSR-042 (ANB011)와 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 TSR-042 (ANB011)와 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 TSR-042 (ANB011)와 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간화 모노클로날 항체인 TSR-042 (ANB011)이다. TSR-042 (ANB011)는 WO2014/179664에 기재되어 있다.

[0156] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 그의 항원-결합 부분)는 STI-1110과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 STI-1110과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 STI-1110과 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간 모노클로날 항체인 STI-1110이다. STI-1110은 WO2014/194302에 기재되어 있다.

[0157] 개시된 방법에서 사용가능한 항-PD-1 항체는 또한, 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고, 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차-경쟁하는 단리된 항체를 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 8,008,449 및 8,779,105; WO 2013/173223 참조). 항체가 항원에의 결합에 대해 교차-경쟁하는 능력은 이들 항체가 항원의 동일한 에피토프 영역에 결합하고 그러한 특정한 에피토프 영역에 대한 다른 교차-경쟁 항체의 결합을 입체적으로 방해한다는 것을 나타낸다. 이들 교차-경쟁 항체는 그가 PD-1의 동일한 에피토프 영역에 결합하는데 있어서 니볼루맵의 경우와 매우 유사한 기능적 특성을 갖는 것으로 예상된다. 교차-경쟁 항체는 표준 PD-1 결합 검정, 예컨대 비아코어 분석, ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 니볼루맵과 교차-경쟁하는 그의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다 (예를 들어, WO 2013/173223 참조).

[0158] 특정 실시양태에서, 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 인간 PD-1 항체의 에피토프 영역에 결합하는 항체는 모노클로날 항체이다. 인간 대상체에 대한 투여의 경우, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체이거나, 또는 인간화 항체이거나, 또는 인간 항체이다. 이러한 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다.

[0159] 개시된 발명의 방법에서 사용가능한 항-PD-1 항체는 또한 상기 항체의 항원-결합 부분을 포함한다. 항체의 항원-결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것은 충분히 입증되었다. 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 포괄된 결합 단편의 예는 (i)  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  및  $C_{H1}$  도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인  $F(ab')_2$  단편; (iii)  $V_H$  및  $C_{H1}$  도메인으로 이루어진 Fd 단편; 및 (iv) 항체의 단일 아암의  $V_L$  및  $V_H$  도메인으로 이루어진 Fv 단편, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0160] 개시된 방법 또는 조성물에서 사용하기에 적합한 항-PD-1 항체는, PD-1에 높은 특이성 및 친화도로 결합하고, PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 차단하고, PD-1 신호전달 경로의 면역억제 효과를 억제하는 항체이다. 본원에 개시된 임의의 조성물 또는 방법에서, 항-PD-1 "항체"는 PD-1 수용체에 결합하며, 리간드 결합을 억제하고 면역계를 상향-조절하는데 있어서 전체 항체의 경우와 유사한 기능적 특성을 나타내는 항원-결합 부분 또는 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차-경쟁한다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체 또는 그의 부분이다. 특정 실시양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 다른 실시양태에서, 항체는 인간 항체이다. IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형의 항체가 사용될 수 있다.

[0161] 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 인간 IgG1 또는 IgG4 이소형의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정의 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분의 IgG4 중쇄 불변 영역의 서열은 힌지 영역 내의 세린 잔기를, IgG1 이소형 항체 내의 상응하는 위치에서 통상적으로 발견되는 프롤린 잔기로 대체한 S228P 돌연변이를 함유한다. 니볼루맵에 존재하는 이 돌연변이는 내인성 IgG4 항체와의 Fab 아암 교환을 방지하는 반면에, 야생형 IgG4 항체와 연관된 Fc 수용체를 활성화시키는데 있어서 낮은 친화도를 유지한다 (Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56). 또 다른 실시양태에서, 항체는 인간 카파 또는 람다

불변 영역인 경쇄 불변 영역을 포함한다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 모노클로날 항체 또는 그의 항원-결합 부분이다.

- [0162] 항-PD-1 항체의 투여를 포함하는 본원에 기재된 임의의 치료 방법의 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펄스볼리주맙이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 미국 특허 번호 8,008,449에 기재된 인간 항체 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 및 5F4로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 MEDI0680 (이전에 AMP-514), AMP-224, 또는 BGB-A317이다.
- [0163] 특정 실시양태에서, 방법에 사용된 항-PD-1 항체는 또 다른 항-PD-1 또는 항-PD-L1 길항제로 대체될 수 있다. 예를 들어, 항-PD-L1 항체가 PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용을 방지함으로써, PD-1의 신호전달 경로에 유사한 효과를 발휘하기 때문에, 항-PD-L1 항체는 본원에 개시된 방법에서 항-PD-1 항체의 사용을 대체할 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 종양을 앓는 대상체에게 치료 유효량의 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 방법에 유용한 항-PD-L1 항체는 BMS-936559 (이전에 12A4 또는 MDX-1105) (예를 들어 미국 특허 번호 7,943,743; WO 2013/173223 참조)이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MPDL3280A (또한 RG7446 또는 아테졸리주맙으로 공지됨) (예를 들어, 문헌 [Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000. Abstract]; 미국 특허 번호 8,217,149 참조), MEDI4736 (또한 두르발루맙으로 불림; 문헌 [Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802], 미국 특허 번호 8,779,108 또는 2014년 5월 6일 출원된 US 2014/0356353 참조), 또는 MSB0010718C (또한 아벨루맙으로 불림; US 2014/0341917 참조)이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 CX-072 (또한 시토크스로 불림; WO2016/149201 참조)이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 모노클로날 항체는 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 인간 PD-L1에의 결합에 대해 상기-참조 PD-L1 항체와 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 인간 PD-L1의 에피토프 영역에 결합하는 항체는 모노클로날 항체이다. 인간 대상체에 대한 투여의 경우, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체일 수 있다. 이러한 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다.
- [0164] 폐암에 대한 표준 관리 요법
- [0165] 상이한 유형의 암에 대한 표준 관리 요법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 내 21개 주요 암 센터의 연합인 국립 종합 암 네트워크 (NCCN)는 광범위한 암에 대한 표준 관리 치료에 관한 상세한 최신 정보를 제공하는 NCCN 종양학 임상 관리기준 가이드라인 (NCCN 가이드라인즈®)을 공개한다 (NCCN 가이드라인즈® (2014) 참조, [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp) (마지막 접근 2014년 5월 14일)에서 이용가능함).
- [0166] NSCLC는 미국 및 전세계에서 암 사망의 주요 원인이며, 이는 유방암, 결장암 및 전립선암을 합한 것을 초과한다. 미국에서는, 228,190건의 새로운 폐 및 기관지 사례가 미국에서 진단될 것으로 추정되고, 이 질환 때문에 일부 159,480명이 사망할 것이다 (Siegel et al. (2014) CA Cancer J Clin 64(1):9-29). 대다수의 환자 (대략 78%)는 진행성/재발성 또는 전이성 질환으로 진단된다. 폐암에서 부신으로의 전이는 흔히 일어나며, 환자의 약 33%가 이러한 전이를 갖는다. NSCLC 요법은 점진적으로 OS를 개선시켜 왔지만, 그 이익은 정체기에 도달하였다 (후기 환자에 대한 중앙 OS는 단지 1년임). 1L 요법 후 진행은 거의 모든 이들 대상체에서 일어났고, 5-년 생존율은 불응성 세팅에서 단지 3.6%이다. 2005년에서 2009년까지, 미국에서 폐암에 대한 전체 5-년 상대 생존율은 15.9%였다 (NCCN 가이드라인즈®, 버전 3.2014 - 비소세포 폐암, [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/nscl.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf) (마지막 접근 2014년 5월 14일)에서 이용가능함).
- [0167] 수술, 방사선 요법 (RT) 및 화학요법은 NSCLC 환자를 치료하기 위해 통상적으로 사용되는 3가지 양식이다. 한 부류로서, NSCLC는 소세포 암종과 비교하여 화학요법 및 RT에 대해 비교적 비감수성이다. 일반적으로, I기 또는 II기 질환을 갖는 환자의 경우, 외과적 절제가 최상의 치유 기회를 제공하며, 수술-전 및 수술-후 둘 다에 화학요법이 점점 사용되고 있다. RT는 또한, 절제가능한 NSCLC를 갖는 환자에 대한 보조 요법, 1차 국부 치료로서, 또는 치유불가능한 NSCLC를 갖는 환자에 대한 완화적 요법으로서 사용될 수 있다.
- [0168] 양호한 수행 상태 (PS)를 갖는 IV기 질환을 갖는 환자는 화학요법으로부터 이익을 얻는다. 백금 작용제 (예를 들어, 시스플라틴, 카르보플라틴), 탁산 작용제 (예를 들어, 파클리탁셀, 알부민-결합된 파클리탁셀, 도세탁셀), 비노렐빈, 빈블라스틴, 에토포시드, 페메트렉세드 및 겐시타빈을 포함한 많은 약물이 IV기 NSCLC에 유용하다. 많은 이들 약물을 사용하는 조합은 30% 내지 40%의 1-년 생존율을 가져오고, 이는 단일 작용제에 비해 우

수하다. 특이적 표적화 요법이 또한 진행성 폐암의 치료를 위해 개발되었다. 예를 들어, 베바시주맵 (아바스틴(AVASTIN)®)은 혈관 내피 성장 인자 A (VEGF-A)를 차단하는 모노클로날 항체이다. 에를로티닙 (타르세바(TARCEVA)®)은 표피 성장 인자 수용체 (EGFR)의 소분자 TKI이다. 크리조티닙 (잘코리(XALKORI)®)은 ALK 및 MET를 표적화하는 소분자 TKI이고, 돌연변이된 ALK 융합 유전자를 보유하는 환자에서 NSCLC를 치료하기 위해 사용된다. 세툽시맵 (에르비투스(ERBITUX)®)은 EGFR을 표적화하는 모노클로날 항체이다.

[0169] 편평 세포 NSCLC (모든 NSCLC 중 최대 25%에 해당함)를 갖는 환자 중에는 1차 (1L) 요법 후에 치료 옵션이 거의 없기 때문에 특정한 미충족 필요가 존재한다. 단일-작용제 화학요법은 백금-기반 이중 화학요법 (Pt-이중요법)을 사용한 진행 후 표준 관리이며, 이는 대략 7개월의 중앙 OS를 유발한다. 도세탁셀이 이러한 차수의 요법에서 여전히 벤치마크 치료이며, 에를로티닙이 또한 더 적은 빈도로 사용될 수 있다. 페메트렉세드가 또한, 진행성 NSCLC를 갖는 환자의 2차 (2L) 치료에서 도세탁셀과 비교하여 유의하게 더 적은 부작용을 수반하면서도 임상적으로 등가의 효능 결과를 가져오는 것으로 밝혀졌다 (Hanna et al. (2004) J Clin Oncol 22:1589-97). 3차 (3L) 세팅 이후 폐암에 사용하도록 현재 승인된 요법은 존재하지 않는다. 페메트렉세드 및 베바시주맵은 편평 NSCLC에 승인되어 있지 않고, 분자적으로 표적화된 요법은 제한된 적용을 갖는다. 진행성 폐암에서의 미충족 필요는 최근에 온코티레온 및 머크 카게아아의 스티무박스(STIMUVAX)®가 3상 시험에서 OS를 개선시키는데 실패하고, 아르클레 및 다이이치 산쿄의 c-Met 키나제 억제제인 티반티닙이 생존 중점을 충족시킬 수 없고, 로슈의 아바스틴(AVASTIN)®과 조합되는 일라이 릴리의 알림타(ALIMTA)®가 후기 연구에서 OS를 개선시키는데 실패하고, 암젠 및 다케다 파마슈티칼스가 후기 시험에서 소분자 VEGF-R 길항제인 모테사닙을 사용하여 임상 중점을 충족시키는데 실패함으로써 악화되어 왔다.

[0170] 폐암의 면역요법

[0171] 다중 차수의 표적화 요법을 진행한 환자에 대한 유효 작용제, 뿐만 아니라 현행 표준 치료 이후 생존을 보다 장기 연장시키는 요법에 대한 분명한 필요가 존재한다. 면역요법, 특히 CTLA-4, PD-1, 및 PD-L1 억제 경로를 포함한 면역 체크포인트의 차단을 수반하는 보다 새로운 접근법이 최근에 유망성을 나타내고 있다 (Creelan et al. (2014) Cancer Control 21(1):80-89). 그러나, 면역요법에 보다 많이 반응할 수 있는 환자를 확인할, 특히 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 요법에 반응할 가능성이 보다 많은 환자를 확인할 필요가 남아있다.

[0172] 제약 조성물 및 투여량

[0173] 본 발명의 치료제는 조성물, 예를 들어 1종 이상의 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물 중에 구성될 수 있다. 본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체"는 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체를 함유하는 조성물에 대한 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)에 적합하다. 본 발명의 제약 조성물은 1종 이상의 제약상 허용되는 염, 항산화제, 수성 및 비수성 담체, 및/또는 아조반트, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 포함할 수 있다.

[0174] 본 개시내용은 목적하는 반응, 예를 들어 최대의 치료 반응 및/또는 최소의 유해 효과를 제공할 수 있는 투여 요법을 제공한다. 항-PD-1 항체의 투여의 경우, 투여량은 약 0.01 내지 약 10 mg/kg, 약 1 내지 약 9 mg/kg, 약 2 내지 약 8 mg/kg, 약 3 내지 약 7 mg/kg, 약 3 내지 약 6 mg/kg, 0.01 내지 약 5 mg/kg, 또는 약 1 내지 약 3 mg/kg 대상체 체중 범위일 수 있다. 예를 들어, 투여량은 약 0.1, 약 0.3, 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10 mg/kg 체중일 수 있다. 투여 스케줄은 전형적으로 항체의 전형적인 약동학적 특성에 기초하여 지속적인 수용체 점유율 (RO)을 유발하는 노출을 달성하도록 설계된다. 예시적인 치료 요법은 약 1주에 1회, 약 2주마다 1회, 약 3주마다 1회, 약 4주마다 1회, 약 매달 1회, 약 3-6개월 또는 더 긴 기간마다 1회 투여를 수반한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체, 예컨대 니볼루맵은 대상체에게 약 2주마다 1회 투여된다. 항-PD-1 항체는 적어도 2회 용량으로 투여될 수 있으며, 2회 용량 사이에 2주마다의 투여 간격으로 각각의 용량은 약 0.01 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 예를 들어 3 mg/kg의 양이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 적어도 3, 4, 5, 6 또는 7회 용량 (즉, 다중 용량)으로 투여되며, 2회의 인접해서 주어지는 용량 사이에 2주마다의 투여 간격으로 각각의 용량은 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 예를 들어 1 mg/kg, 3 mg/kg, 또는 6 mg/kg의 양이다. 투여량 및 스케줄은 치료 과정 동안 변경될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-PD-1 항체에 대한 투여 요법은 정맥내 투여를 통한 약 0.1 내지 약 5 mg/kg 체중, 약 1 내지 약 5 mg/kg 체중, 또는 약 1 내지 약 3 mg/kg 체중을 포함하며, 여기서 항체는 완전 반응까지 또는 진행성 질환이 확인될 때까지 최대 약 6-주 또는 약 12-주 주기로 약 14-21일마다 주어진다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항체 치료, 또는 임의의 조합 치료는 적어도 약 1개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 9개월,

적어도 약 1년, 적어도 약 18개월, 적어도 약 24개월, 적어도 약 3년, 적어도 약 5년, 또는 적어도 약 10년 동안 계속된다.

[0175] 다른 요법 (예를 들어, 다른 면역요법)과 조합되어 사용되는 경우에, 항-PD-1 항체의 투여량은 단독요법 용량과 비교하여 낮아질 수 있다. 전형적인 3 mg/kg 미만, 그러나 0.001 mg/kg 이상인 니볼루맙의 투여량이 치료량 미만의 투여량이다. 본원의 방법에 사용되는 항-PD-1 항체의 치료량 미만의 용량은 0.001 mg/kg 초과 및 3mg/kg 미만이다. 일부 실시양태에서, 치료량 미만의 용량은 약 0.001 mg/kg-약 1 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 1 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 1 mg/kg, 또는 약 0.001 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg 체중이다. 일부 실시양태에서, 치료량 미만의 용량은 적어도 약 0.001 mg/kg, 적어도 약 0.005 mg/kg, 적어도 약 0.01 mg/kg, 적어도 약 0.05 mg/kg, 적어도 약 0.1 mg/kg, 적어도 약 0.5 mg/kg, 또는 적어도 약 1.0 mg/kg 체중이다. 0.3 mg/kg 내지 10 mg/kg의 니볼루맙 투여를 받은 15명의 대상체로부터의 수용체-점유율 데이터는, 이 용량 범위에서 PD-1 점유율이 용량-비의존성인 것으로 보인다는 것을 나타낸다. 모든 용량에 걸쳐, 평균 점유율은 85% (범위, 70% 내지 97%)이고, 이때 평균 플래토 점유율은 72% (범위, 59% 내지 81%)였다 (Brahmer et al., (2010) J Clin Oncol 28:3167-75). 따라서, 0.3 mg/kg 투여는 최대 생물학적 활성에 이르기에는 충분한 노출을 가능하게 할 수 있다.

[0176] 본 발명의 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 3 mg/kg의 용량으로 투여된다. 본 발명의 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 1 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0177] 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 (또는 항-PD-L1 항체)의 용량은 제약 조성물에서 고정 용량이다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 균일 용량 (환자 체중과 무관하게 환자에게 주어지는 용량)으로 사용될 수 있다. 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 균일 용량은 적어도 약 100 mg, 120 mg, 140 mg, 160 mg, 180 mg, 200 mg, 220 mg, 240 mg, 260 mg, 280 mg, 300 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 또는 600 mg이다. 예를 들어, 니볼루맙의 균일 용량은 약 240 mg일 수 있다. 예를 들어, 펌브롤리주맙의 균일 용량은 약 200 mg일 수 있다. 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 약 240 mg의 용량으로 투여된다. 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 약 360 mg의 용량으로 투여된다. 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 약 480 mg의 용량으로 투여된다. 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 균일 용량은 약 매주, 2주마다, 3주마다, 4주마다, 5주마다, 또는 6주마다 1회 투여된다. 한 실시양태에서, 360 mg의 항-PD-1 항체 또는 항원 결합 단편은 3주마다 1회 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 480 mg의 항-PD-1 항체 또는 항원 결합 단편은 4주마다 1회 투여된다.

[0178] 투여량 및 빈도는 대상체에서의 항체의 반감기에 따라 달라진다. 일반적으로, 인간 항체가 가장 긴 반감기를 제시하고, 이어서 인간화 항체, 키메라 항체, 및 비-인간 항체이다. 투여량 및 투여 빈도는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부에 따라 달라질 수 있다. 예방적 적용에서는, 비교적 낮은 투여량이 전형적으로 장기간에 걸쳐 비교적 덜 빈번한 간격으로 투여된다. 일부 환자는 그의 여생 동안 계속 치료를 받는다. 치료적 적용에서는, 질환의 진행이 감소 또는 종결될 때까지, 또는 환자가 질환의 증상의 부분적인 또는 완전한 호전을 보일 때까지, 비교적 짧은 간격으로의 비교적 높은 투여량이 때때로 요구된다. 그 후, 환자는 예방 요법이 투여될 수 있다.

[0179] 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 과도하게 독성이지 않으면서, 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 발명의 특정한 조성물의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용되는 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 기술분야에 널리 공지되어 있는 기타 인자를 포함한 다양한 약동학적 인자에 좌우될 것이다. 본 발명의 조성물은 관련 기술분야에 널리 공지된 다양한 방법 중 1종 이상을 사용하여 1종 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 통상의 기술자에 의해 인지될 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 것이다.

[0180] 키트

[0181] 또한 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체 포함하는 키트가 본 발명의 범주 내에 있다. 키트는 전형적으로, 키트의 내용물의 의도된 사용을 나타내는 라벨 및 사용에 대한 지침서를 포함한다. 용어 라벨은 키트 상에 또는 키트와 함께 공급되거나, 또는 달리 키트에 동반되는 임의의 문서 또는 기록물을 포함한다. 따라서, 본 개시내용은 (a) 약 4 mg 내지 약 500 mg 범위의 투여량의 항-PD-1 항체; 및 (b) 본원에 기재된 임의의 방법에서 항-PD-1



항체를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 종양을 앓는 대상체를 치료하기 위한 키트를 제공한다. 인간 환자를 치료하기 위한 특정 실시양태에서, 키트는 본원에 개시된 항-인간 PD-1 항체, 예를 들어 니볼루맵 또는 펌브롤리주맵을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 항-PD-L1 항체 및/또는 항-STK11 항체를 추가로 포함한다. 다른 실시양태에서, 키트는 종양 샘플에서 PD-L1 및/또는 STK11의 발현을 검출하는 것에 대한 지침서를 추가로 포함한다.

- [0182] 본 발명은 추가의 제한으로 해석되어서는 안되는 하기 실시예에 의해 추가로 예시된다. 본 출원 전반에 걸쳐 인용된 모든 참고문헌의 내용은 명백히 본원에 참조로 포함된다.
- [0183] 실시예 1
- [0184] 니볼루맵 반응에 대한 바이오마커로서의 STK11 돌연변이
- [0185] PD-L1은 NSCLC 종양, 예를 들어 상업적 NSCLC 종양에서 상이한 발현 패턴에 따라 발현된다 (도 1A-1D). 이들 패턴은 미만성, 불균질, 종양-기질 계면 및 음성으로 지정되었다. PD-L1 발현 패턴은 기계론적 가설과 연관될 수 있다. 예를 들어, 미만성 패턴을 갖는 종양에서, PD-L1의 발현은 돌연변이에 의해 구동되는 대신에 종양원성 신호전달 경로에서의 9p24 증폭에 의해 구동된다. 종양-기질 계면 패턴을 갖는 종양에서, 상피에서 중간엽으로의 전이 (EMT)에 대신에 적응 내성이 존재한다.
- [0186] NSCLC 상업적 종양 내 PD-L1 발현의 패턴은 도 2A-2B에 제시된 바와 같이 PD-L1 H-점수와 상관관계가 있다. 각각의 패턴에 따른 PD-L1 발현의 수준에 있어서 상당한 차이가 존재한다. 예를 들어, 매우 높은 H-점수가 미만성 패턴 샘플에서 관찰되었으며, 이는 PD-L1 억제에 대한 이들 종양의 잠재적 의존성을 시사하였다.
- [0187] NSCLC 상업적 종양에서 관찰된 PD-L1 발현 패턴은 또한 생검에서도 관찰되었다. 도 3A-3C는 니볼루맵 단독요법으로 치료된 환자에 상응하는 시험 생검에서의 PD-L1 발현 패턴을 보여주며, 이는 NSCLC 상업적 종양에서 관찰된 것과 동일한 패턴에 상응한다.
- [0188] 가음성 PD-L1에 대한 잠재력은 패턴 카테고리, 분석전 변수 및 생검의 크기에 의해 영향을 받는다. 예를 들어, 종양-기질 계면 패턴은 불균질하고, 특히 가음성 결과에 영향받기 쉽다. 따라서, NSCLC 종양의 분류를 용이하게 할 수 있는 바이오마커에 대한 필요가 존재하며, 이는 차례로 특정 치료제에 대한 종양 반응을 예측하는데 사용될 수 있다.
- [0189] PD-L1 발현의 패턴과 니볼루맵 효능 사이의 상관관계가 관찰되었다 (도 4). 등급 3 종양에서의 대부분의 완전 반응자는 PD-L1 발현의 미만성 패턴 및 높은 PD-L1 H-점수를 가졌다. 따라서, 미만성 PD-L1 발현 패턴에 특이적인 바이오마커의 확인은 그 바이오마커의 존재/부재에 기초하여 니볼루맵에 대한 치료에 적합한 환자를 확인하는데 사용될 수 있다.
- [0190] 면역 침윤물은 미만성 발현 패턴을 갖는 NSCLC 종양에 특이적인 바이오마커로서 잠재적으로 사용될 수 있으며 (도 5A-5B), 이는 도 5에 제시된 데이터를 생성하는데 사용된 상업적 NSCLC 종양에서, 미만성 또는 불균질 PD-L1 패턴을 갖는 것들이 보다 풍부한 면역 침윤물 (보다 높은 PD-L1 H-점수)과 연관되었기 때문이다.
- [0191] 멀티플렉스 IHC 실험은 종양 세포와 면역 세포 하위세트 사이의 규정된 특별한 관계를 제시하였다. PD-L1 표지는 종양 내 미만성 PD-L1 발현을 나타냈다. CD68 검출은 종양-기질 계면에 있는 대식세포의 층이 "장벽" 활성화된 T-세포의 형성에 기여한다는 것을 나타냈고, 반면에 CD3 검출은 T-세포가 중간 정도로 풍부하지만 주로 기질에 국한된다는 것을 나타냈다 (도 6).
- [0192] PD-L1 발현 패턴은 계층 데이터와 상관관계가 있다 (도 7A-7B). 도 7A는 PD-L1 발현의 수준이 RNA 서열분석 데이터와 상관관계가 있지만, RNA 서열분석 데이터 단독은 IHC를 통해 관찰된 PD-L1 발현 패턴에 대한 지리적 콘텍스트를 제공하지 않는다는 것을 보여준다. 엑스 서열분석 데이터를 제시하는 도 7B는 PD-L1 미만성 발현 패턴이 보다 높은 돌연변이 부하와 상관관계가 있다는 것을 보여준다.
- [0193] 보다 높은 돌연변이 부하는 또한 염증발생 종양과 연관되었다 (도 8A-8B). 도 8A는 만성 염증 침윤물의 강도 점수인 "CI 점수"를 사용하여 측정된 전체 염증을 보여준다. 도 8B는 PD-L1+ 면역 침윤물의 상대 비율의 강도 점수인 "PD-L1+ CI 점수"를 사용하여 측정된 PD-L1+ 염증을 보여준다. NSCLC 종양 내 미스센스 돌연변이의 수와 전체 염증 사이의 관계가 존재한다.
- [0194] 관찰된 PD-L1 발현 패턴에 대한 상이한 바이오마커 (TP53, STK11, KEAP1, KRAS, EGFR 및 MET)에서의 돌연변이의 빈도를 평가하였으며 (도 9A-9B), 결과는 음성 PD-L1 종양 세포 발현 및 보다 낮은 PD-L1 mRNA 발현이 SKT11

돌연변이의 존재와 연관된다는 것을 나타낸다. 돌연변이 STK11의 존재는 "N" (PD-L1 음성) 발현 패턴의 존재 (도 10A) 및 염증 (도 10B-10C)과 상관관계가 있었다. 돌연변이 STK11의 존재는 니볼루맙 요법에 대한 대부분의 반응자에서 관찰된 패턴인 "D" (미만성) 패턴의 존재와 상관관계가 없었다. 따라서, STK11의 돌연변이 형태의 존재는 니볼루맙을 사용한 NSCLC 종양의 치료에 대한 음성 바이오마커로서 사용될 수 있다 (즉, 그의 존재는 니볼루맙에 대한 반응의 결여 또는 불량한 반응을 예측해줄 것임). 반대로, STK11의 야생형 형태의 존재 (또는 돌연변이 형태의 부재)는 니볼루맙을 사용한 치료에 대한 양성 선택 바이오마커로서 사용될 수 있다.

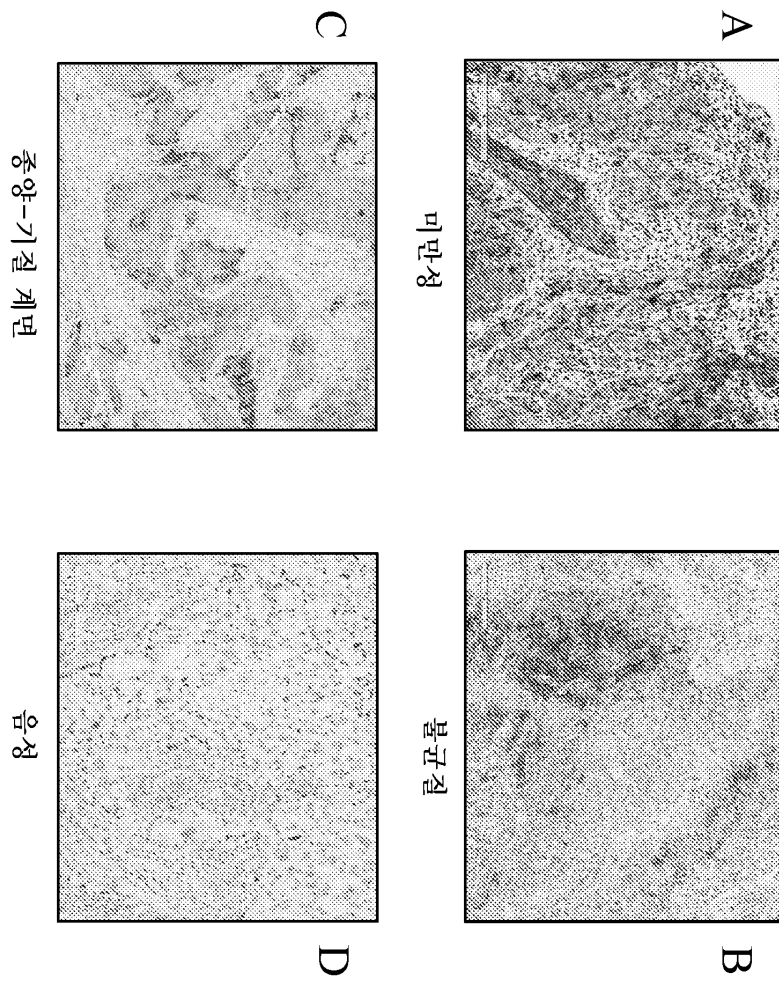
[0195] 돌연변이로 인한 STK11 상실은 mTOR 신호전달을 증가시키는 것으로 예측된다. KRAS 및 STK11 돌연변이를 갖는 폐 선암종 (마우스 모델 및 인간 종양 둘 다)은 PD-L1의 감소된 발현 및 감소된 T-세포 침윤물을 보여준다. SKT11에서의 돌연변이에 의해 매개된 면역 억제의 제안된 메커니즘은 증가된 락테이트 생산을 갖는 당분해 대사로의 전환, 및 항염증 전사 프로그램으로 이어지는 KEF1의 빈번한 공-돌연변이를 포함할 것이다.

[0196] FOLR2, VSIG4, CD163, CLEC4D, CSF1R, CD86, MS4A1, CD79B, CD19, KIR2DS4, CD3E, CCR4, CCR8 및 CD8A의 수준이 분석된 24개의 NSCLC 종양 샘플에서의 이뮤노프린트 분석을 사용하여 염증 패턴에 따라 샘플을 분류하였다 (sigClass). 도 11 참조. 샘플을 낮은 ("sigClass low"), 중간 ("sigClass med") 및 높은 ("sigClass hi") 염증으로 분류하였다. 샘플을 또한 STK11 돌연변이의 존재 ("STK11 mut") 또는 부재 ("STK11 wt")에 따라 분류하였다. 추가로, 샘플을 PD-L1 발현 패턴에 따라 음성 ("PDL1\_패턴 2 음성"), 미만성 ("PDL1\_패턴 2 미만성"), 불균질 ("PDL1\_패턴 2 불균질") 및 종양-기질 계면 ("PDL1\_패턴 2 TS")으로 분류하였다. 미만성 PD-L1 발현 패턴을 갖는 종양은 고도로 염증발생인 것으로 나타났고, STK11의 야생형 형태가 존재하였다. PD-L1 음성 종양은 다음 2개의 군으로 클러스터링된다: 중간 염증 및 낮은 염증. STK11 돌연변이 상태에 의한 PD-L1 음성 종양의 염증의 수준에 있어서의 명확한 구별은 존재하지 않았다. 돌연변이 STK11을 갖는 모든 종양은 또한 PD-L1에 대해 음성이었다.

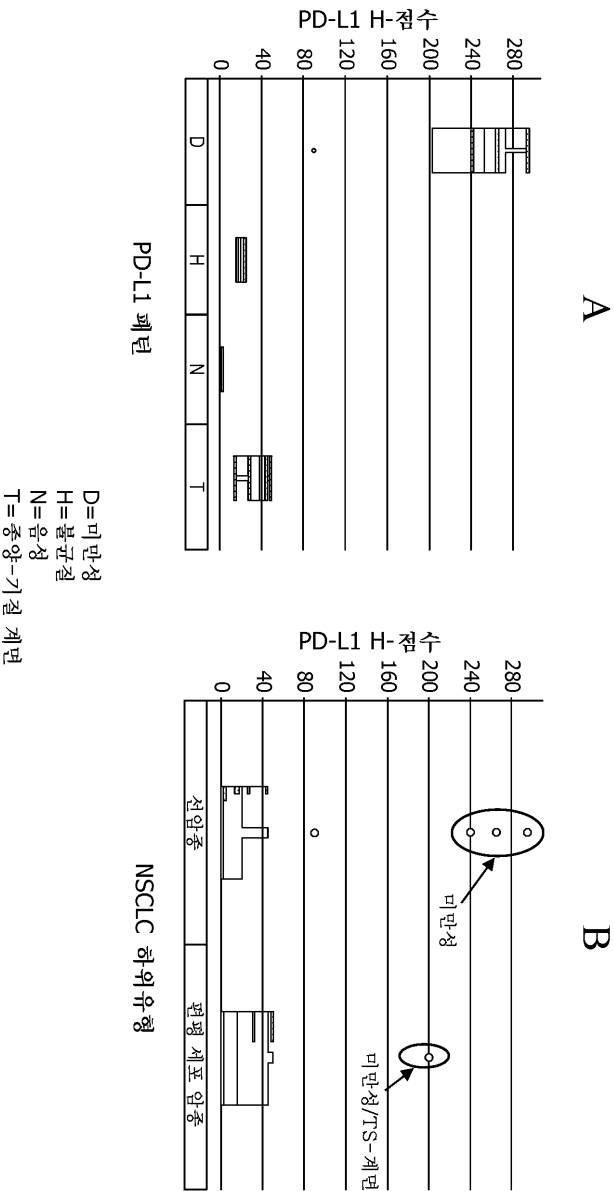
[0197] 이 데이터는 PD-L1 발현 패턴이 고유한 표현형 및 유전적 배경과 연관된다는 것을 나타낸다. 미만성 PD-L1 발현은 염증발생 TME 및 보다 높은 돌연변이 부하와 상관관계가 있다. 추가로, STK11 돌연변이의 존재는 PD-L1 음성 종양의 하위세트를 확인시켜 준다. 이들 발견은 PD-L1 음성 종양의 하위세트를 확인하기 위한 바이오마커로서의 STK11의 적합성, 및 면역요법에 대한 다양한 반응 가능성을 갖는 NSCLC 하위세트를 정의하는 특색을 확인하기 위해 조직병리학적 및 게놈 데이터를 통합하는 가능성을 확립한다.



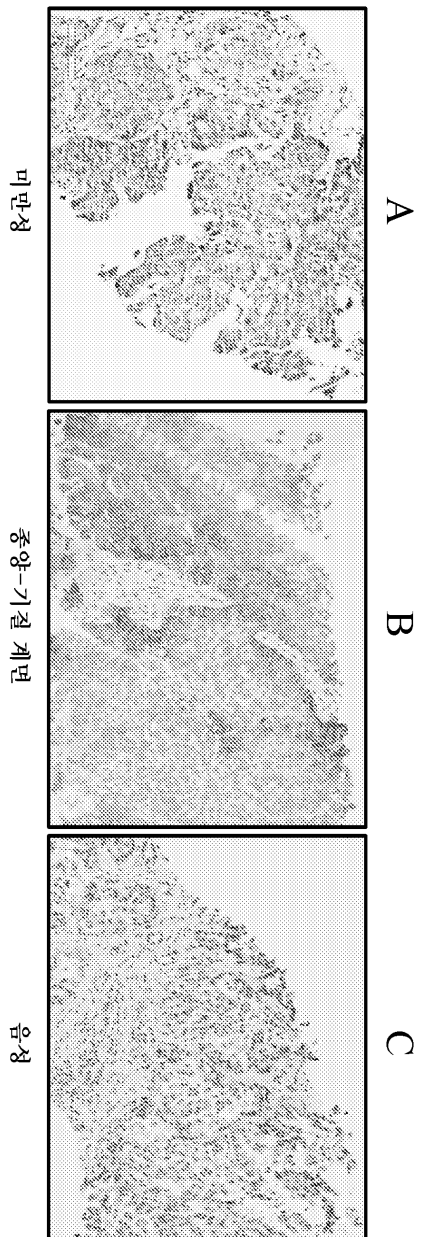
도면  
도면1



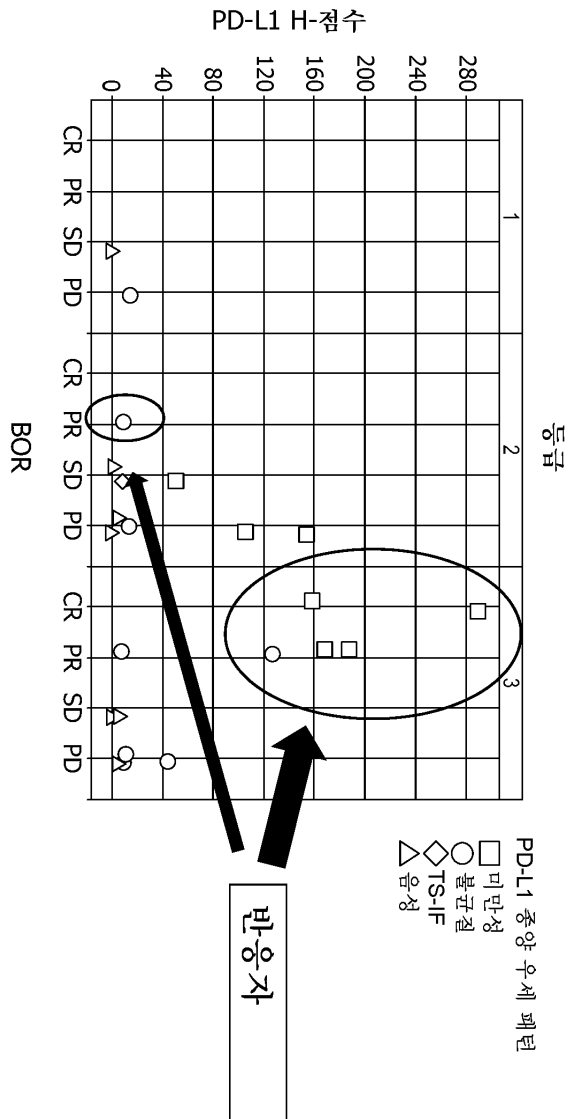
도면2



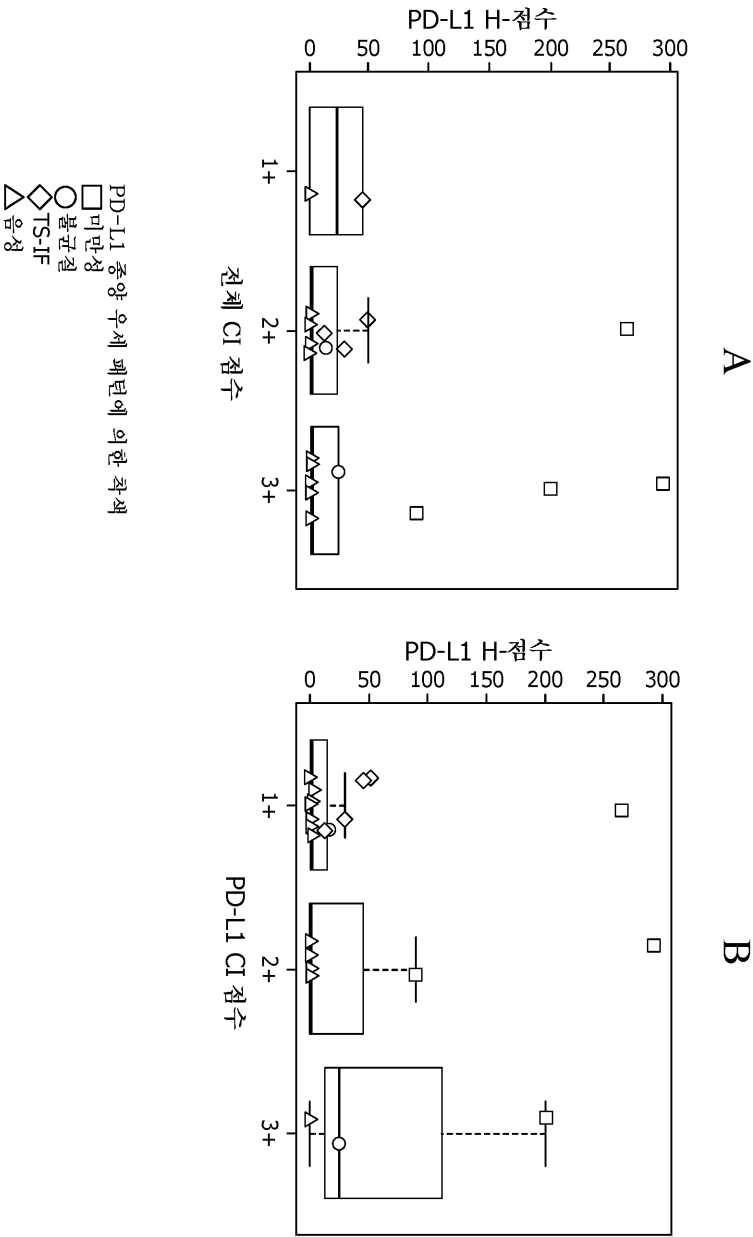
도면3



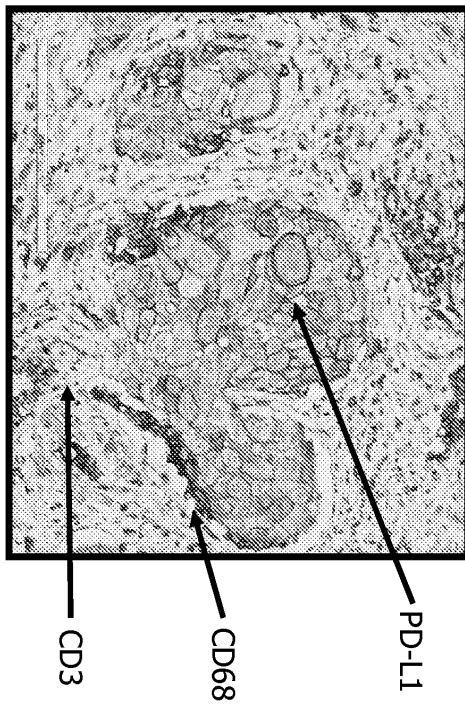
도면4



도면5

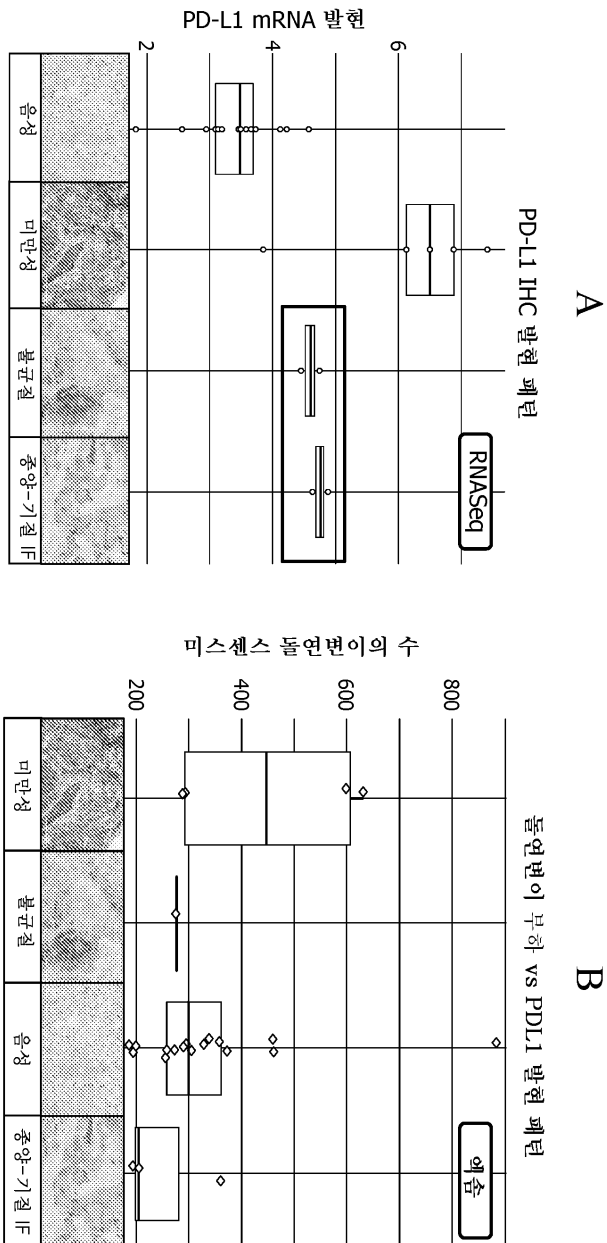


도면6

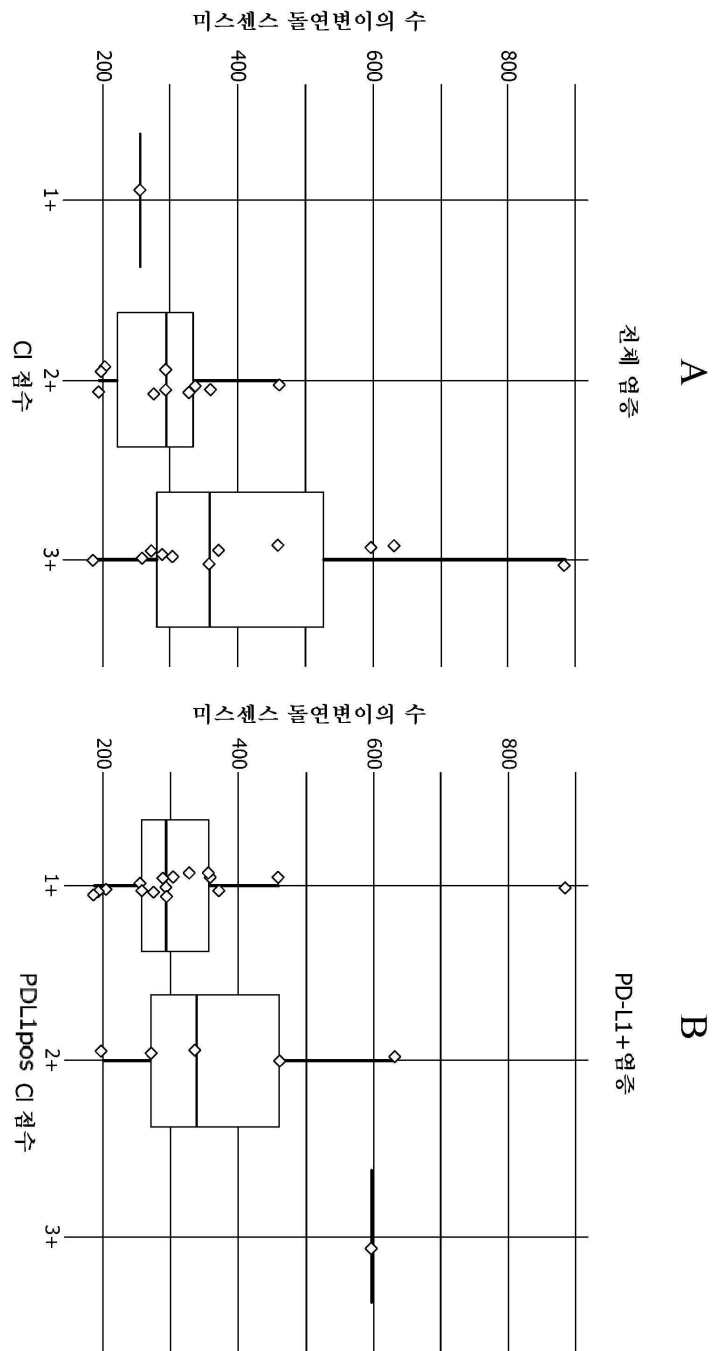




도면7



도면8

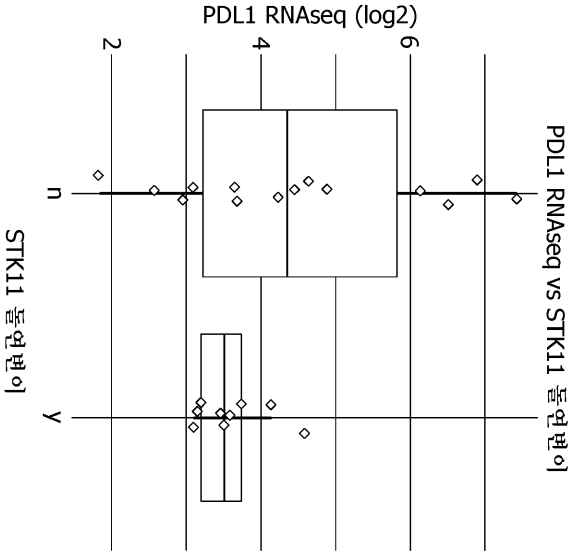


A

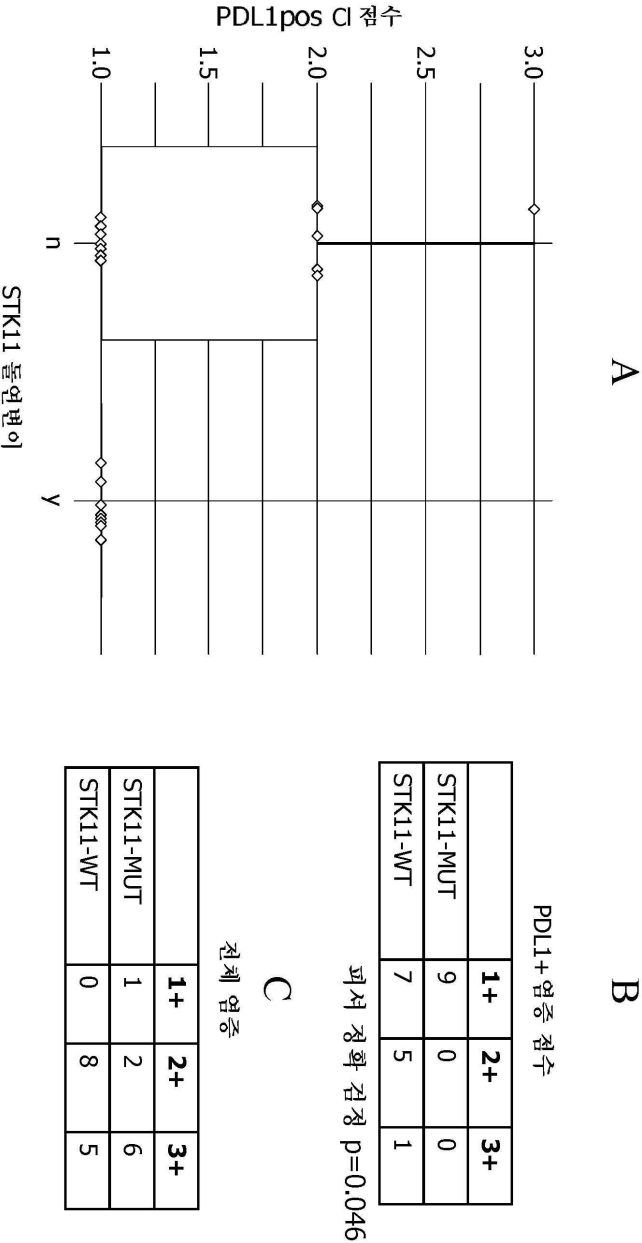
유전자	WT	MUT	돌연변이 빈도	돌연변이 vs. 패턴
TP53	13	11	46%	D,H,I,N
STK11	15	9	37.5%	N
KEAP1	16	8	33%	D,N
KRAS	17	7	29%	D,I,N
EGFR	19	5	21%	D,I,N
MET	22	2	8%	D,H

STK11 vs. PDL1 IHC 패턴  
퍼셔 정확 검정 p=0.077

B



도면10



도면11

