(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0086570
(43) 공개일자 2022년06월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C07K 16/28* (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
*A61P 35/00* (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C07K 16/2869* (2013.01)
*A61K 47/6849* (2017.08)
(21) 출원번호 10-2022-7012792
(22) 출원일자(국제) 2020년10월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년04월15일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/079934
(87) 국제공개번호 WO 2021/078959
국제공개일자 2021년04월29일
(30) 우선권주장
19306377.3 2019년10월23일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
**가마맵스 파마**
프랑스 31106 툴루즈 상뜨르 피에르 포띠에 1 쁠라스 피에르 포띠에 옹코뽈 앙뜨레 비
(72) 발명자
**프로스뜨 장-프랑수아**
프랑스 78000 베르사유 아브뉘 빌뇌브 레땅 21
**뒤브뢰유 올리비에**
프랑스 31190 모르삭 뤼 데 마로니에르 1
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**특허법인코리아나**

전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 **AMH-경쟁적 길항제 항체**

## (57) 요 약

본 발명은 AMHR-II에 특이적으로 결합하는 경쟁적 길항제 항체에 관한 것으로서, 상기 항체는 (a) 가변 도메인이 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1; SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3을 포함하는 것인 중쇄; 및 (b) 가변 도메인이 적어도 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1, SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄를 포함한다. 상기 항체를 코딩하는 핵산 서열, 핵산 서열을 포함하는 벡터, 상기 핵산 서열 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포, 상기 항체를 포함하는 면역접합체, 상기 항체 또는 면역접합체를 포함하는 약학 조성물, 및 상기 항체, 세포 또는 조성물의 약물로서의 용도가 또한 본 발명에서 고려된다.

(52) CPC특허분류
***A61P 35/00*** (2018.01)
***A61P 43/00*** (2018.01)
*A61K 2039/505* (2013.01)
*C07K 2317/73* (2013.01)
*C07K 2317/76* (2013.01)
*C07K 2317/92* (2013.01)
(72) 발명자
**바레 장-마르끄**
프랑스 81100 까스뜨르 뤼 뒤 뜨레조 5
**드고브 스테빤**
프랑스 93500 팡땡 뤼 쥘 오프레 21

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

AMHR-II의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 길항제 항체 또는 이의 단편으로서, 특히 AMHR-II의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 경쟁적 길항제 항체.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체는

(a) 가변 도메인이

- SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1;

- SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및

- SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3을 포함하는 것인 중쇄;

및

(b) 가변 도메인이 적어도

- SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1;

- SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및

- SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄

를 포함하는 것인, 항체 또는 이의 단편.

### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체는 비-면역원성이고, 특히 Fc 수용체에 결합할 수 없는 것인 항체 또는 이의 단편.

### 청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 항체는 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함하고,

- H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 항체의 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

### 청구항 6

제2항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항체는 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

- L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 7**

제6항에 있어서, 상기 항체의 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 8**

제2항 내지 제7항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항체는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 중쇄를 포함하고,

- H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 상기 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 10**

제2항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항체는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 경쇄를 포함하고,

- L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

- L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 상기 항체의 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 갖는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항체는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 갖는 중쇄 및 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열을 갖는 경쇄를 포함하는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 13**

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 단편은 제1항 내지 제12항 중 어느 하나의 항에 정의된 항체와 AMHR-II의 세포외 도메인에 대한 결합에서 경쟁하는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 14**

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 단편은 AMH와 AMHR-II의 세포외 도메인에 대한 결합에서 경쟁하는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항체의 단편은 Fv, Fab, F(ab')2, Fab', dsFv, scFv, sc(Fv)2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 항체 또는 이의 단편.

**청구항 16**

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은, 항체 또는 이의 단편을 코딩하는 핵산 서열.

**청구항 17**

제16항에 따른 핵산 서열을 포함하는 벡터.

**청구항 18**

제16항에 따른 핵산 서열 또는 제17항에 따른 벡터를 포함하는 숙주 세포.

**청구항 19**

치료제에 연결된 제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 따른 항체 또는 이의 단편을 포함하는 면역접합체.

**청구항 20**

약학적으로 허용가능한 매질에, 적어도 하나의 제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은 항체 또는 이의 단편, 또는 적어도 하나의 제19항에 정의된 바와 같은 면역접합체를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 21**

약물로서 사용을 위한, 특히 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로 발생되는 질환의 예방 및/또는 치료에서 사용을 위한, 제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 정의된 바와 같은 항체 또는 이의 단편, 제18항에 정의된 바와 같은 숙주 세포, 제19항에 정의된 바와 같은 면역접합체 또는 제20항에 정의된 바와 같은 약학 조성물.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 질환은

- 다낭성 난소 증후군 (PCOS);

- 자궁내막증;

- 조기 폐경; 및

- 특히 부인과 암; 결장암; 폐암; 간세포 암종; 고환암; 췌장암; 신장암; 유방암; 갑상선암; 위암; 부신암; 방광암 및 전립선암으로부터 선택되는, AMHR-II의 발현과 연관된 암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 항체 또는 이의 단편, 숙주 세포, 면역접합체 또는 약학 조성물.

**청구항 23**

제21항 또는 제22항에 있어서, 다른 치료, 특히 다른 항암 치료와 병용되는 것인 항체 또는 이의 단편, 숙주 세포, 면역접합체 또는 약학 조성물.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 경쟁제 및 길항제인, 인간 항-뮐러관 호르몬 II형 수용체 (AMHR-II)에 대한 신규 항체, 및 치료 방법에서 이의 용도에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 형질전환 성장 인자-베타 (TGF-베타) 수퍼패밀리의 구성원은 다양한 생리학적 과정의 핵심 조절인자이다. 항-뮐러관 호르몬 (AMH)은 140 Kda 당단백질이고, TGF-베타 수퍼패밀리의 구성원이며, 특히 남성의 성적 분화 동안 이의 역할에 대해 충분히 알려져 있다 (Josso N *et al.* Pediatr Endocrinol. Rev. 2006;3(4):347-358). 여성에서, AMH는 과립막 세포 (GC)에 의해 산후 기간 동안에 낮은 수준으로 최초로 분비되고 나서, 사춘기 동안 AMH 수준이 급등된 이후에 폐경기까지 생식 생활 전반에서 점진적으로 감소된다 (Visser *et al.* Reproduction 2006;131(1)1-9). 초기 난포에서 개시되어, AMH 발현은 전동 난포 및 소형 동난포에서 가장 강력하고 이후에 배란기까지 감소된다. AMH는 황체 및 폐쇄 난포에서 더 이상 검출되지 않는다.

[0003] 이의 효과를 발휘하기 위해서, AMH는 성장 난포의 GC에서 AMH와 공발현되는, AMHR-II라고 하는 특이적 II형 수용체에 결합한다 (Baarends *et al.* Endocrinology. 1995;136(11):4951-4962). 난포생성 동안, AMH는 원시 난포의 초기 동원을 억제하고 FSH에 대한 성장 난포의 감수성을 감소시킨다. AMH는 실제로 본질적으로 원시

난포의 고갈 속도 및 성숙 난포의 선택, AMHR-II 및 I형 수용체를 통한 BMP-유사 신호전달 경로의 이용, Smad 1/5/8 활성화를 위한 문지기로서 기능한다. 또한, AMH는 이제 난소 여포 풀의 크기의 중요한 임상적 마커로서 그리고 제어된 난소 과자극에 대한 난소 반응의 예측자로서 인식된다 (Dewailly D *et al.* Hum Reprod Update. 2014;20(3)370-385). 난포액 중 AMH 농도는 과립막 세포 증식과 역으로 상관있지만, 정상 생리는 나이가 들면서 그리고 다낭성 난소 증후군 (PCOS)에서 파괴된다.

[0004] 루프 AMH/AMHR-II는 실제로 난소에서 난포생성에 대한 이의 직접 조절 작용에 의해서 뿐만 아니라, 또한 GnRH 뉴런 LH 박동성 및 분비의 활성화에 관여하는 시상하부 내 간접 경로를 통해서 PCOS의 생리병리학에서 강력한 역할을 하는 것으로서 설명되었다 (Pigny P *et al.*, J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(12): 5957-5962, Catteau-Jonard S *et al.*, J Clin Endocrinol Metab 2008; 93 (11): 4456-4461, Dumont A *et al.*, Reprod Biol Endocrinol 2015; 13: 137-146). 증가된 LH 박동성은 PCOS의 많은 사례에서 중요한 특성이다 (Cimino I *et al.*, Nat. Commun. 2016; 7: 10055-10066).

[0005] PCOS는 전세계적으로 가임기 여성의 10% 내지 18%에서 발병되는 가장 흔한 여성 생식 장애이다 (Dewailly D. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2016;37:5-11). 증후군은 특히 과도한 난소 및/또는 부신 안드로겐 분비에 의해 뒷받침된다. PCOS를 갖는 비-임신 여성에서, AMH의 혈청 수준은 다낭성 난소 (PCO)가 없는 여성에 비해서 2배 내지 3배 더 높고 생식 기능이상의 중증도는 AMH 수준과 양성적으로 상관있어서 (Dewailly D *et al.* Hum Reprod. 2011;26(11):3123-3129); Piouka *et al.* (Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009;296(2):E238-E243), AMH가 잠재적으로 FSH에 대한 과립막 세포 감수성을 감소시켜 PCOS를 갖는 여성에서 관찰되는 난포 정지에 관여한다는 가설을 뒷받침한다 (Pellat L *et al.*, Fertil Steril 2011; 92(1): 240-245).

[0006] 다른 부인과 장애에서, AMH/AMHR-II의 이중 발현은 예컨대 자궁내막증 (Signorile PG *et al.*, J Exp Clin Cancer Res 2014; 33(1): 46-54) 및 자궁의 근종 및 선근종 (Kim SY, *et al.* Obstet Gynecol Sci 2018; 61(1): 127-134)에서 기술되었다.

[0007] 암 분야에서, AMHRII 신호전달의 연루는 보다 복잡하다. 상기 언급된 바와 같이, AMHRII는 TGFb 수용체 수퍼패밀리에 속한다.

[0008] TGFb는 일반적으로 정상 및 암 세포에서 항-증식성 반응을 유도한다. 실제로, TGFbR2 및 SMAD4 불활성화 돌연변이 및 결실이 다양한 종양에서 확인되어서 초기 단계에서 다단계 종양발생의 기폭제 중 하나로서 여겨진다 (Vogelstein *et al.*, Science 2013;339(6127):1545-1558; Levy *et al.*, Molec Cell biol 2005; 25(18) 8108-8125).

[0009] 다른 한편으로, TGFb1은 그 주변의 정상 세포와 비교하여 종양 세포에서 고도로 발현된다. 이러한 발현은 후기 단계에서 종양 세포의 이동, 침윤 및 생존의 증강을 비롯하여 미세환경에서 면역억제 신호의 전달을 통해서 종양 진행과 상관된다 (Morikawa *et al.*, Cold Spring Harb. Perspect. 2016;8(5): a021873; Luo *et al.*, Transl. Oncol. 2019 12(3): 475-484; Furler *et al.*; Cancers 2018; 10(6), E199).

[0010] AMHRII는 이의 일부에 대해서 몇가지 유형의 부인과 암 예컨대 장액성, 투명 세포, 자궁내막양, 점액성 상피암, 이상배아종, 자궁내막암, 평활근육종 및 자궁내막 육종 (Bakkum-Gamez JN *et al.*, Gynecol. Oncol. 2008; 108(1): 141-148; Kim SM *et al.*, Oncol Letter 2019; 17(1):532-538) 및 자궁 경부 암 (Taximaimaita R *et al.*, Medicine 2018; 97(22): e10793)에서 보고된다.

[0011] AMH 및 AMHR-II는 세포 주기의 억제에 연루되고 암에서 아폽토시스를 유도한다고 설명된다. 따라서, AMH는 암 분야에서 암으로부터 유기체를 보호하는 인자로서 알려져 있다 (M. Gowkielewicz *et al.*; Int. J. Mol. Sci. 2019;20(6):1325). 이와 같이, 대부분의 현행 연구는 암에서 AMH의 효과, 및 따라서 이의 수용체와의 상호작용을 촉진하거나, 증가시키거나 또는 개선시키는 것을 지향하는데, 이러한 상호작용이 관심 신호전달 경로를 촉발시키는 것으로 알려져 있기 때문이다.

[0012] 게다가, AMH 및/또는 AMHRII 발현은 부인과 이외의 다른 고형 종양에서 최근에 보고되었다.

[0013] 실제로, AMH 발현은 많은 고형 종양, 예컨대 신경교종, 폐암, 직결장암, 두경부암, 위암, 췌장암, 신장암, 요로상피암, 전립선암, 고환암, 유방암 및 흑색종 (Human Protein Atlas)에서 기술되었다.

[0014] AMHR-II는 또한 특히 결장암, 폐암, 간세포 암종, 고환암, 췌장암, 신장암, 유방암, 갑상선암, 위암, 부신암, 방광암 및 전립선암을 포함하는, 다양한 인간 암 세포의 표면에서 발현된다는 것이 입증되었다 (Barret *et al.*,

Proc Amer Soc Clin Oncol, 37, Abst 774, 2018).

[0015] 본 발명자는 현재 알려지고 예상되는 것과 반대로, AMH와 이의 수용체 AMHR-II의 상호작용의 억제가 AMHR-II 발현 세포의 생존능의 감소를 야기시키고, AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로 발생된 질환에 대한 새로운 치료의 길을 열어 준다는 것을 확인하였다.

[0016] 또한, (다른 선택안 중에서 항체를 사용한) AMHRII 경로의 길항을 AMHR-II를 발현하는 질환 세포에 대한 흥미롭고 유리한 전략으로서, 특히 항-PCOS; 항-자궁내막증; 항-조기 폐경; 및 항-암, 특히 항-비부인과 종양의 치료 전략으로서 최초로 입증한다.

[0017] 따라서, 상기 언급된 질환의 요법을 위한 추가 도구가 당분야에서 요구된다. 보다 특히, AMHR-II를 발현하는 세포, 특히 AMHR-II를 발현하는 질환 세포를 특이적으로 표적화할 수 있게 하는 새로운 도구에 대한 요구가 존재한다. 특히 AMH 및 AMHR-II 간 상호작용에 의해 촉발되는 신호전달 경로를 특이적으로 예방하고/하거나 중단시킬 수 있는 새로운 도구에 대한 요구가 존재한다. 보다 더 특히, AMH 및 AMHR-II 간 상호작용을 특이적으로 예방하고/하거나 중단시킬 수 있는 새로운 도구에 대한 요구가 존재한다. 특히 AMH 및/또는 AMHR-II 발현 암, 특히 AMHR-II 발현 암, 보다 특히 AMHR-II 발현 비-부인과 암의 요법을 위한 새로운 도구에 대한 요구가 존재한다. 본 발명은 이들 요구에 대응할 수 있는 새로운 도구를 제공한다.

## *발명의 내용*

[0018] 본 발명의 제1 목적은 AMHR-II의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 길항제 항체 또는 이의 단편, 특히 AMHR-II의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 경쟁적 길항제 항체에 관한 것이다.

[0019] 본 발명자는 실제로 AMHR-II가 다양한 병상, 특히 상기 언급된 것들, 예컨대 PCOS 및 암에서의 관심 표적이라는 것을 확인하였고 입증하였다. 상기 언급된 바와 같이, 본 발명자는 특히 AMHR-II의 활성화로부터 출발하는 신호전달 경로의 촉발을 방지하는 것이 많은 병상에서 매우 흥미롭다는 것을 확인하였다.

[0020] 특히, 길항제 항체 또는 이의 단편, 보다 특히 경쟁적 길항제 항체 또는 이의 단편은

[0021] (a) 가변 도메인이

[0022] - SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1;

[0023] - SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및

[0024] - SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3을 포함하는 것인 중쇄;

[0025] 및

[0026] (b) 가변 도메인이 적어도

[0027] - SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1,

[0028] - SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및

[0029] - SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3

[0030] 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄를 포함한다.

[0031] 일 구현예에서, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편은 비-면역원성이고, 특히 Fc 수용체에 결합할 수 없다 (FcKO 항체).

[0032] 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함하고,

[0033] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0034] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0035] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0036] 이러한 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 항체의 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과, 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 가질 수 있고,

[0037] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0038] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0039] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0040] 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

[0041] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0042] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0043] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0044] 이러한 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 항체의 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 가질 수 있고:

[0045] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0046] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0047] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0048] 추가 구현예에서, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 중쇄를 포함하고,

[0049] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0050] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0051] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0052] 특히, 본 발명에 따른 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 가질 수 있고,

[0053] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0054] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0055] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0056] 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖는 경쇄를 포함하고,

[0057] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0058] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0059] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0060] 특히, 본 발명에 따른 항체의 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 90%, 특히 적어도 95% 동일성을 가질 수 있고,

[0061] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0062] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0063] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0064] 보다 특히, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 갖는 중쇄 및 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열을 갖는 경쇄를 포함할 수 있다.

[0065] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 갖는 중쇄 및 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열을 갖는 경쇄를 포함하는 항체일 수 있고, 비-면역원성이고, 특히 Fc 수용체에 결합할 수 없도록 더욱 수정될 수 있다 (FcKO 항체).

[0066] 특히, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 AMHR-II의 세포외 도메인과의 결합에 대해서,

[0067] (a) 가변 도메인이

[0068] - SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1;

[0069] - SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및

[0070] - SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3을 포함하는 것인 중쇄;

[0071] 및

[0072] (b) 가변 도메인이 적어도

[0073] - SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1,

[0074] - SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및

[0075] - SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄

[0076] 를 포함하는 항체 또는 이의 단편과, 특히 상기 언급된 서열을 기반으로 정의된 항체와 경쟁하는 것인 항체일 수 있다.

[0077] 추가 구현예에서, 본 발명에 따른 항체의 항체 단편은 Fv, Fab, F(ab')2, Fab', dsFv, scFv, sc(Fv)2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0078] 본 발명의 다른 목적은 본 발명의 항체 또는 이의 단편을 코딩하는 핵산 서열에 관한 것이다.

[0079] 본 발명의 추가 목적은 본 발명에 따른 핵산 서열을 포함하는 벡터이다.

[0080] 본 발명의 다른 목적은 본 발명의 핵산 서열 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포이다.

[0081] 본 발명은 또한 치료제에 연결된 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편을 포함하는 면역접합체에 관한 것이다.

[0082] 본 발명의 다른 목적은 약학적으로 허용가능한 매질에, 본 발명의 적어도 하나의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 적어도 하나의 면역접합체를 포함하는 약학 조성물이다.

[0083] 본 발명은 또한 약물로서 이의 사용을 위한 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 본 발명의 세포, 본 발명의 면역접합체, 또는 본 발명의 조성물에 관한 것이다.

[0084] 특히, 본 발명은 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로부터 발생된 질환의 예방 및/또는 치료에서 이의 사용을 위한 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 본 발명의 세포, 본 발명의 면역접합체, 또는 본 발명의 조성물에 관한 것이다.

[0085] 일 구현예에서, AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로부터 발생되는 질환은

[0086] - 다낭성 난소 증후군 (PCOS);

[0087] - 자궁내막증;

[0088] - 조기 폐경; 및

[0089] - 특히 부인과 암; 결장암; 폐암; 간세포 암종; 고환암; 췌장암; 신장암; 유방암; 갑상선암; 위암; 부신암; 방광암 및 전립선암으로부터 선택되는, AMHR-II의 발현과 연관된 암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0090] 상기 질환은 특히 다낭성 난소 증후군 (PCOS)일 수 있다. 질환은 특히 AMHR-II의 발현과 연관된 암일 수 있다.

[0091] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 세포, 면역접합체 또는 조성물은 다른 치료, 특히 다른 항-암 치료와 병용하여 사용된다.

## 도면의 간단한 설명

[0092] **도 1** 은 인간 AMHR-II 수용체, 래트 AMHR-II 수용체 및 인간 ALK3 수용체의 세포외 도메인에 대한 항-AMHR-II 항체의 특이적 결합을 예시한다.

세로 좌표: 450 nm에서의 광학 밀도; 가로 좌표: 항체 4A3의 분량 (㎍/mL).

**도 2** 는 COV434-WT (A) 및 COV434-AMHR-II 형질감염 세포주 (B)의 표면 막에서 발현된 AMHR-II 수용체에 대한 4A3 항체의 결합을 예시한다. BD Accuri™ C6 유세포측정기 (BD Bioscience) (FL2-A 설정)를 사용해 수행되었다. 결합 특이성은 10 ㎍/mL의 농도에서 FACS 분석으로 결정하였다. (C) 상이한 농도에서 4A3 항체의 결합 곡선. 세로 좌표: 평균 형광 강도 (MFI). 가로 좌표: 본 발명의 항체 4A3의 농도 (M).

**도 3** 은 COV434 세포주에 대한 Smad 경로를 검증한다. BMP2는 COV434-WT 및 COV434-AMHR-II 형질감염 세포주 둘 모두에서 Smad1 인산화를 유도한다. A) COV434-WT 세포주에서 AMH에 의한 Smad1 인산화의 자극 없음. B) COV434-AMHR-II 형질감염 세포주에서 AMH에 의한 Smad1 인산화의 자극. 세로 좌표: HTRF 비 (665/620*10000). 가로 좌표: 좌측에서 우측으로: 25 ng/mL의 BMP2; 블랭크 (시약없이 처치된 세포없음); C- (음성 대조군: 시약 존재의 세포 없음); NT (미처치); 1 ng/mL로 사용된 AMH (AMH_1 ng/mL); 10 ng/mL로 사용된 AMH (AMH_10 ng/mL); 100 ng/mL로 사용된 AMH (AMH_100 ng/mL); 300 ng/mL로 사용된 AMH (AMH_300 ng/mL).

**도 4** 는 100 ng/mL의 AMH로 유도된 Samd1 인산화에 대한 100 ㎍/mL로 사용된 (본 발명에 따른) 항체 4A3 및 (본 발명 이외의) GM102의 길항제/억제제 효과를 예시한다. 세로 좌표: Smad1 인산화 백분율 (%). 가로 좌표: 좌측에서 우측으로: Ab 부재 (항체 없음) + AMH 100 ng/mL; 4A3 (본 발명의 항체) + AMH 100 ng/mL; GM102 (본 발명 이외의 항체) + AMH 100 ng/mL.

**도 5** 는 AMH에 의해 유도된 Smad1 인산화에 대한 항체 4A3의 길항제/억제제 효과를 예시한다. **A)** 1 ng/mL, 10 ng/mL 및 100 ng/mL의 AMH로 수득된 HTRF 비 및 각 AMH 농도에서 1 ㎍/mL, 10 ㎍/mL 및 100 ㎍/mL 농도의 항체 4A3의 경쟁적 효과. **B), C), D)** 는 4A3 길항제 항체의 농도 및 사용된 AMH의 농도에 의존한 Smad1 인산화의 백분율 (%)을 나타낸다. AMH는 100 ng/mL - AMH 100 (B); 10 ng/mL - AMH 10 (C) 또는 1 ng/mL - AMH 1 (D)로 사용되었다. 4A3은 1 ng/mL (4A3 1), 10 ng/mL (4A3 10) 또는 100 ng/mL (4A3 100)로 사용되었다. Ab 없음: 음성 대조군.

**도 6** 은 A) AMH의 부재, 또는 B) 50 ng/mL의 AMH 존재 하에서, 상이한 농도 (1, 3, 10, 30 또는 90 ㎍/mL)의 항체 4A에 48시간 동안 노출되었을 때, 그들 표면 상에서 AMHR-II를 천연적으로 발현하는, SW620 암 세포 (듀크 C형, 직결장 선암종)의 생존능 백분율 (%)을 예시한다. 음성 대조군 (Ctrl - 항체 없음)이 또한 표시된다.

**도 7** 은 길항제 4A3 항체 또는 중화 3C23K 항체의 상이한 농도 (5, 10, 20, 40, 70 또는 150 ㎍/mL)에 96시간 동안 노출되었을 때, 그들 표면 상에서 AMHR-II를 천연적으로 발현하는 LS411N 암 세포 (듀크 B형, 직결장 암종)의 생존능 (%)을 도시한다.

**도 8-10** 은 직결장 선암종의 3개 FFPE 블록 상에서 수용체 AMHR-II (도 8A, 9A, 10A) 및 리간드 AMH (도s 8B, 9B, 10B)의 면역조직학적 검출을 표시한다. 도 8C-D, 9C-D, 10C-D는 각각 AMHR-II 및 AMH의 IHC 검출에 연관된 이소타입 대조군에 상응한다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0093] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명자는 지금까지 알려진 바와 대조적으로, 질환 세포에서, AMHR-II의 활성화에 의해 촉발되는 신호전달 경로를 방지하기 위해서 AMHR-II를 표적화하는 것이 많은 질환에서 매우 흥미롭다는 것을 예상치않게 결정하였다.

[0094] 본 발명자는 또한 AMH에 경쟁적인 길항제 항-AMHR-II 항체를 확인하였다. 이러한 항체는 특히 인간 AMHR-II에 특이적이다.

[0095] 따라서, 본 명세서에서 용어 "AMHR-II"는 항-뮐러관 호르몬 II형 수용체, 특히 인간 항-뮐러관 호르몬 II형 수용체를 의미한다. AMH 수용체 (AMHR 또는 AMHR-II)는 TGF-베타-관련 단백질에 대한 II형 수용체의 패밀리에 속하는 단일 경막 도메인을 갖는 세린/트레오틴 키나제이다. II형 수용체는 그들 자신의 리간드에 결합하지만 신호 전달을 위한 I형 수용체의 존재를 요구한다. Imbeaud 등 (1995, Nature Genet, Vol. 11: 382-388,)은 인간 AMH II형 수용체 유전자를 클로닝하였다. 인간 AMHR-II의 서열은 본 명세서에서 SEQ ID NO: 11로서 표시된다 (신호 펩티드 MLGSLGLWALLPTAVEA (SEQ ID NO: 12) 결여).

[0096] SEQ ID NO: 11은 하기 아미노산 서열에 상응한다:

PPNRRTCVFFEAPGVRGSTKTLGELLDTGTELPRAIRCLYSRCCFGIWNLTQDRAQVE
MQGCRDSDEPGCESLHCDPSPRAHPSPGSTLFTCSCGTDFCNANYSHLPPPGSPGTPG
SQGPQAAPGESIWMALVLLGLFLLLLLLLGSIILALLQRKNYRVRGEPVPEPRPDSGR
DWSVELQELPELCFSQVIREGGHAVVWAGQLQGKLVAIKAFPPRSVAQFQAERALYE
LPGLQHDHIVRFITASRGGPGRLLSGPLLVLELHPKGSLCHYLTQYTSDWGSSLRMAL

[0097]

[0098] SLAQGLAFLHEERWQNGQYKPGIAHRDLSSQNVLIREDGSCAIGDLGLALVLPGLTQ
PPAWTPTQPQGPAAIMEAGTQRYMAPELLDKTLDLQDWGMALRRADIYSLALLLWE
ILSRCPDLRPDSSPPPFQLAYEAELGNTPTSDELWALAVQERRRPYIPSTWRCFATDPD
GLRELLEDCWDADPEARLTAECVQQRLAALAHPQESHPFPESCPRGCPPLCPEDCTSI
PAPTILPCRPQRSACHFSVQQGPCSRNPQPACTLSPV

[0099] 용어 "항-AMHR-II 항체"는 AMHR-II, 특히 AMHR-II의 세포외 도메인에 대한 항체를 의미한다. 특히, 용어 "항-인간-AMHR-II 항체"는 인간 AMHR-II, 특히 인간 AMHR-II의 세포외 도메인에 대한 항체를 의미한다.

[0100] 본 발명에 따라서, "항체" 또는 "면역글로불린"은 동일한 의미를 갖고 본 명세서에서 동등하게 사용될 것이다.
본 명세서에서 사용되는 용어 "항체"는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 의미한다. 이와 같이, 용어 항체는 전체 항체 분자뿐만 아니라, 항체의 변이체 (유도체 포함)를 포괄한다. 천연 항체에서, 2개 중쇄는 디술피드 결합을 통해서 서로 연결되며 각각의 중쇄는 디술피드 결합을 통해서 경쇄에 연결된다. 2개 유형의 경쇄, 람다 (l) 및 카파 (k)가 존재한다. 항체 분자의 기능적 활성을 결정하는 5종의 주요한 중쇄 부류 (또는 이소타입)가 존재한다: IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE. 각각의 사슬은 별개의 서열 도메인을 함유한다. 경쇄는 2개 도메인, 가변 도메인 (VL) 및 불변 도메인 (CL)을 포함한다. 중쇄는 4개 도메인, 가변 도메인 (VH) 및 3개 불변 도메인 (집합적으로 CH라고 하는, CH1, CH2 및 CH3)을 포함한다. 경쇄 (VL) 및 중쇄 (VH)의 가변 영역은 항원에 대한 결합 인식 및 특이성을 결정한다. 경쇄 (CL) 및 중쇄 (CH) 사슬의 불변 영역 도메인은 중요한 생물학적 성질 예컨대 항체 사슬 회합, 분비, 태반관통 이동성, 보체 결합, 및 Fc 수용체 (FcR)와의 결합을 부여한다. Fv 단편은 면역글로불린의 Fab 단편의 N-말단 부분이고 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄의 가변 부분으로 이루어진다. 항체의 특이성은 항체 결합 부위 및 항원성 결정부 간 구조적 상보성에 의한다.
항체 결합 부위는 주로 초가변성 또는 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기로 구성된다. 때때로, 비초가변성 또는 프레임워크 영역 (FR)의 잔기가 전체 도메인 구조, 및 그에 따라 결합 부위에 영향을 미친다.
상보성 결정 영역 또는 CDR은 천연 면역글로불린 결합 부위의 천연 Fv 영역의 결합 친화성 및 특이성을 함께 한정하는 아미노산 서열을 의미한다. 면역글로불린의 경쇄 및 중쇄는 각각이 3개 CDR을 갖고, 각각은 L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3 및 H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3으로서 각각 표시된다. 그러므로, 항원-결합 부위는 중쇄 및 경쇄 V 영역 각각으로부터의 CDR 세트를 포함하는, 6개 CDR을 포함한다. 프레임워크 영역 (FR)은 CDR 사이에 개재된 아미노산 서열을 의미한다.

[0101] 따라서, 본 명세서에서, 용어 "항체"는 광역의 의미로 사용되며, 완전하게 조립된 항체, 단일클론 항체, 다클론 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), AMHR-II에 결합할 수 있는 항체 단편, 및 그들이 바람직한 생물학적 활성을 갖는 한 전술한 것을 포함한 재조합 펩티드를 포함한다.

[0102] 본 발명에 따른 항체 단편은 특히 Fv, Fab, F(ab')2, Fab', dsFv, scFv, sc(Fv)2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 그들은 재조합 DNA 기술을 통해서 또는 당업자에게 충분히 공지된 방법에 따라 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단을 통해서 생산될 수 있다.

[0103] 그들의 작은 크기 덕분에, 이들 항체 단편은 예를 들어 PCOS 생리병리학의 주요 성분인 GnRH 뉴런 상에서 시상하부 수준에서 AMHR-II 수용체에 대한 그들 결합을 통해서 특히 흥미로울 수 있다.

[0104] "단쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하고, 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 사슬로 존재한다. 일반적으로, Fv 폴리펩티드는 VH 및 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 더 포함하여, scFv가 항원 결합을 위한 바람직한 구조를 형성할 수 있게 한다. scFv의 고찰을 위해, 문헌 [Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol 113, Rosenburg and Moore eds. Springer- Verlag, New York,

pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.

[0105] 용어 "디아바디"는 2개 항원-결합 부위를 갖는 소형 항체 단편으로서, 단편은 동일한 폴리펩티드 사슬 (VH 및 VL) 내에서 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함한다. 너무 짧아서 동일한 사슬 상의 2개 도메인 간에 쌍 형성을 허용할 수 없는 링커를 사용하여, 도메인들이 다른 사슬의 상보성 도메인과 쌍을 형성하도록 강제하여 2개 항원-결합 부위를 생성시킨다. 디아바디는 보다 상세하게, 예를 들어, 하기 문헌들에 기술되어 있다: EP 404,097; WO 93/11161; 및 Hollinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993).

[0106] 디아바디 또는 이중특이적 항체는 대체로 2개 범주로 분류될 수 있다: 면역글로불린 G (IgG)-유사 분자 및 비-IgG-유사 분자. IgG-유사 bsAb는 Fc-매개 이펙터 기능 예컨대 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC), 보체-의존적 세포독성 (CDC), 및 항체-의존적 세포의 식세포 작용 (ADCP)을 보유한다 (Spiess *et al.*, 2015, Mol Immunol., Vol. 67(2) : 95-106.). bsAb의 Fc 영역은 정제를 용이하게 하고 가용성 및 안정성을 개선시킨다. IgG-유사 형태의 이중특이적 항체는 일반적으로 그들의 보다 긴 크기 및 FcRn-매개 리사이클링 덕분에 보다 긴 혈청 반감기를 갖는다 (Kontermann *et al.*, 2015, Bispecific antibodies. Drug Discov Today Vol. 20(7) : 838-47). 비-IgG-유사 bsAb는 크기가 더 작아서, 증강된 조직 투과를 야기한다 (Kontermann *et al.*, 2015, Bispecific antibodies. Drug Discov Today Vol. 20(7): 838-47).

[0107] 본 발명에 따른 단일클론 항체는 특히, 키메라, 인간화, 또는 인간 항체일 수 있다.

[0108] 본 명세서에 명시된 단일클론 항체는 특히 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정 종으로부터 유래하거나 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성인 한편 사슬(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래하거나 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성인 "키메라" 항-AMHR-II 항체 (면역글로불린)를 비롯하여, 그들이 바람직한 생물학적 활성을 나타내는 한 이러한 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 제4,816,567호; 및 Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 :6851-6855 (1984)).

[0109] 본 명세서에 명시된 단일클론 항체는 인간화 항-AMHR-II 항체를 포괄한다. 비-인간 (예를 들어, 쥣과동물) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 부분 경우에, 인간화 항체는 수령체의 초가변 영역으로부터의 잔기가 바람직한 특이성, 친화성 및 수용능을 갖는 비-인간 종 (도너 항체) 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 초가변 영역으로부터의 잔기로 치환된 인간 면역글로불린 (수령체 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 치환된다. 더 나아가서, 인간화 항체는 수령체 항체 또는 도너 항체에 존재하지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 더욱 세밀화하기 위해 만들어진다.
일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 및 전형적으로 2개, 가변 도메인의 실질적으로 전부를 포함하게 되며, 여기서 초가변 루프의 전부 또는 실질적으로 전부는 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고 FR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 임의로 또한 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함하게 된다. 보다 상세하게 하기 문헌을 참조한다: Jones *et al.*, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992). 인간화 항체는 CDR 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 수득하고 당분야에 공지된 기술에 따라 인간화 항체를 구축하여 제조될 수 있다. 통상의 재조합 DNA 및 유전자 형질감염 기술을 기반으로 인간화 항체를 제조하기 위한 방법은 당분야에 충분히 공지되어 있다 (참조: 예를 들어, Riechmann L. *et al.* 1988; Neuberger M S. *et al.* 1985). 항체는 예를 들어, CDR-그라프팅 (EP 239,400; PCT 공개 번호 WO91/09967; 미국 특허 제5,225,539호; 제5,530,101호; 및 제5,585,089호), 베니어링 또는 재표면화 (EP 592,106; EP 519,596; Padlan E A (1991); Studnicka G M *et al.* (1994); Roguska M A. *et al.* (1994)), 및 사슬 셔플링 (미국 특허 제5,565,332호)을 포함한, 당분야에 공지된 다양한 기술을 사용해 인간화될 수 있다. 이러한 항체의 제조를 위한 일반 재조합 DNA 기술이 또한 공지되어 있다 (유럽 특허 출원 번호 EP 125023 및 국제 특허 출원 공개 번호 WO 96/02576 참조).

[0110] 본 명세서에 명시되는 단일클론 항-AMHR-II 항체는 항-AMHR-II 인간 항체를 더 포괄한다. "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 보유하고/하거나 본 명세서에 개시된 인간 항체를 제조하기 위한 임의 기술을 사용해 만들어진 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 특히 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 배제한다. 인간 항체는 당분야에 공지된 다양한 기술을 사용해 제조될 수 있다. 일 구현예에서, 인간 항체는 파지 라이브러리로부터 선택되며, 그러한 파지 라이브러리는 인간 항체를

발현한다 (Vaughan *et al.* Nature Biotechnology 14:309-314 (1996): Sheets *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. 95:6157-6162 (1998)); Hoogenboom and Winter, J. MoI. Biol, 227:381 (1991); Marks *et al.*, J. MoI. Biol, 222:581 (1991)). 인간 항체는 또한 유전자이식 동물, 예를 들어 내생성 면역글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화된 마우스에게 인간 면역글로불린 유전자좌를 도입하여 만들어질 수 있다. 챌린지 시에, 유전자 재배열, 조립, 및 항체 레파토리를 포함한, 모든 측면에서, 인간에서 보이는 것과 밀접하게 닮은 인간 항체 생산이 관찰된다. 이러한 접근법은 예를 들어, 미국 특허 제5,545,807호; 제5,545,806호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,661,016호, 및 하기 과학 출판물을 참조한다: Marks *et al.*, Bio/Technology 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, Nature 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature 368:812-13 (1994); Fishwild *et al.*, Nature Biotechnology 14: 845-51 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology 14: 826 (1996); Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995). 대안적으로, 인간 항체는 표적 항원에 대한 항체를 생산하는 인간 B 림프구의 불멸화를 통해 제조될 수 있다 (이러한 B 림프구는 개체로부터 회수될 수 있거나 또는 시험관내에서 면역화될 수 있음) (참조: 예를 들어, Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, J. Immunol, 147 (1):86-95 (1991); 및 미국 특허 제5,750,373호).

[0111] 본 명세서에서 사용되는 용어 "단일클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 개체군으로부터 수득된 항체, 즉 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 발생 돌연변이 또는 대안적인 번역 후 변형을 제외하고 동일한 개체군을 포함하는 개별 항체를 의미한다. 단일클론 항체는 고도로 특이적이고, 전형적으로 상이한 결정부 (에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 포함하는 통상의 (다클론) 항체 조제물과 대조적으로, 각각의 단일클론 항체는 항원 상의 단일 결정부에 대해 유도된다. 그들 특이성 이외에도, 단일클론 항체는 그들이 상이한 특이성 및 특징을 갖는 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않은, 균질한 배양에 의해 합성된다는 점에서 유리하다. 예를 들어, 본 발명에 따른 단일클론 항체는 [Kohler *et al.*, Nature 256:495 (1975)]가 최초로 기술한 하이브리도마 방법으로 만들어질 수 있거나 또는 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호)에 의해 만들어질 수 있다. "단일클론 항체"는 또한 예를 들어, 하기 문헌에 기술된 기술을 사용해 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다: Clackson *et al.*, Nature 352:624-628 (1991) 또는 Marks *et al.*, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991).

[0112] 본 명세서에서 사용되는 "항체 돌연변이체" 또는 "항체 변이체"는 종-의존적 항체의 아미노산 서열 변이체를 의미하고 여기서 종-의존적 항체의 아미노산 잔기 중 하나 이상은 변형된 것이다. 이러한 돌연변이체는 하기를 포함하는 본 발명의 항체의 경우에서, 반드시 종-의존적 항체와 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 갖지만 본 발명에 따른 항체의 CDR과 100% 서열 동일성을 갖는 CDR을 유지한다:

[0113] (a) 가변 도메인이

[0114] - SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1;

[0115] - SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및

[0116] - SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3을 포함하는 중쇄;

[0117] 및

[0118] (b) 가변 도메인이 적어도

[0119] - SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1;

[0120] - SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및

[0121] - SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄를 포함하는 항체.

[0122] 이들 서열은 하기에 표시된다:

SEQ ID NO: 3 (H-CDR1): GFTFSNNAMN

SEQ ID NO: 4 (H-CDR2): YISGSSRYIS

SEQ ID NO: 5 (H-CDR3): SSDDYFGGGMDV

SEQ ID NO: 8 (L-CDR1): AGTSSDVGGDNDVS

SEQ ID NO: 9 (L-CDR2): YDSYRPS

[0123] SEQ ID NO: 10 (L-CDR3): SSSTYYSTRV

[0124] 본 명세서에서 언급되는 바와 같은 서열에 대한 동일성 또는 유사성은 서열을 정렬하고 필요하면, 최대 백분율의 서열 동일성을 획득하기 위해 갭을 도입시킨 이후에, 종-의존적 항체 잔기와 동일 (즉, 같은 잔기)하거나 또는 유사 (즉, 공통 측쇄 성질을 기반으로 동일한 군으로부터의 아미노산 잔기, 하기 참조)한 후보 서열 내 아미노산 잔기의 백분율로서 본 명세서에서 정의된다. 가변 도메인 밖의 항체 서열에 N-말단, C-말단, 또는 내부 확장, 결실, 또는 삽입이 서열 동일성 또는 유사성에 영향을 미치는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0125] 본 발명에 따른 경쟁적 항체는 항-뮐러관 호르몬 (AMH)과 동일한 에피토프 상에서 AMHR-II에 대한 결합에서 경쟁하는 항체를 의미한다.

[0126] "길항제 항체"는 AMHR-II의 활성화를 억제할 수 있고, 특히 AMHR-II에 대한 AMH의 상호작용에 의해 활성화되는 신호 경로(들)의 촉발을 억제할 수 있는 항체 분자를 의미한다.

[0127] 본 명세서에서 사용되는 "항체 중쇄"는 그들의 천연 발생 입체 배열에서 모든 항체 분자에 존재하는 폴리펩티드 사슬의 2개 유형 중 더 큰 것을 의미한다.

[0128] 본 명세서에서 사용되는 "항체 경쇄"는 그들의 천연 발생 입체 배열에서 모든 항체 분자에 존재하는 폴리펩티드 사슬의 2개 유형 중 더 작은 것을 의미하고, κ 및 λ 경쇄는 2종의 주요한 항체 경쇄 이소타입을 의미한다.

[0129] 본 명세서에서 사용되는 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 특정 항원을 인식하고 결합하는 항체의 2개 가변 사슬 (중쇄 및 경쇄)의 일부를 의미한다. CDR은 가변 사슬의 가장 가변적인 부분이고 항체에 이의 특이성을 제공한다. 각각의 가변 중쇄 (VH) 및 가변 경쇄 (VL) 상에 3개의 CDR이 존재하고 따라서 항체 분자 당 총 6개 CDR이 존재한다. CDR은 항원의 에피토프에 대한 결합을 주로 담당한다. 각 사슬의 CDR은 전형적으로 N-말단으로부터 출발하여 순차적으로 번호매겨진, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 의미하고, 또한 전형적으로 특정 CDR이 위치된 사슬에 의해 식별된다. 따라서, VHCDR3은 이것이 발견된 항체의 중쇄의 가변 도메인에 위치되는 반면, VLCDR1은 이것이 발견된 항체의 경쇄의 가변 도메인으로부터의 CDR1이다. LHR에 결합하는 항체는 특이적 VH 영역 및 VL 영역 서열, 및 따라서 특이적 CDR 서열을 가질 것이다. 상이한 특이성 (즉, 상이한 항원에 대한 상이한 결합 부위)을 갖는 항체는 상이한 CDR을 갖는다. 비록 CDR이 항체마다 다양하지만, CDR 내 오직 제한된 개수의 아미노산 위치만이 항원 결합에 직접적으로 관여된다. CDR 내 이러한 위치를 특이성 결정 잔기 (SDR)라고 한다.

[0130] "프레임워크 영역" (이하 FR)은 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 FR1, FR2, FR3 및 FR4로서 식별되는 4개 FR을 갖는다.

[0131] 용어 "치료" 또는 "요법"은 본 발명에 따른 질환, 병태의 증상을 치료, 치유, 완화, 경감, 변경, 호전, 개량, 개선시키거나, 또는 영향을 미치거나, 또는 증상의 개시, 합병증, 질환의 생화학적 지표를 예방 또는 지연시키거나, 또는 달리 통계적으로 유의한 방식으로 질환, 병태, 또는 장애의 추가 발생을 정지 또는 억제시키기 위한 목적으로 본 발명에 따른 항체, 세포, 또는 조성물을 투여하는 것을 의미한다.

[0132] 본 발명에 따라서, 용어 "환자" 또는 "이를 필요로 하는 환자"는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 질환, 특히 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로 발생된 질환이 발병되거나 또는 발병될 수 있는 인간 또는 비-인간 포유동물을 의도한다.

[0133] 본 명세서에서 "예방하는"은 현상의 발현 위험성을 감소시키는 것을 의미한다.

[0134] 본 발명에 따른 항체는 특히 치료적 유효량으로 사용된다. 본 발명의 항체의 "*치료적 유효량*"이란 임의의 의료적 처치에 적용가능한 타당한 이득/위험 비로, 고려된 질환을 치료하기 위한 항체의 충분량을 의미한다.
본 발명에 따른 조성물 및/또는 세포에도 준용하여 동일하게 적용된다. 그러나, 본 발명의 항체, 세포 및 조성물의 총 일일 용법은 건전한 의료적 판단의 범주 내에서 참관의가 판단하게 된다는 것을 이해할 것이다.
임의의 특정 환자에 대한 특이적 치료적 유효 용량 수준은 치료되는 장애 및 장애의 중증도; 적용되는 특이적 항체의 활성; 적용되는 특이적 조성물; 적용되는 특이적 세포; 환자의 연령, 체중, 일반 건강, 성별 및 식이; 투여 시기, 투여 경로, 및 적용되는 특이적 항체의 배설률; 치료 지속기간; 적용되는 특이적 항체와 병용되거나 동시발생적으로 사용되는 약물을 포함한 다양한 인자들; 및 의학 분야에서 충분히 공지된 유사 인자들에 의존할 것이다. 예를 들어, 바람직한 치료 효과를 획득하는데 요구되는 것 미만의 수준에서 화합물의 용량을 출발하고 바람직한 효과를 획득할 때까지 용량을 점차적으로 증가시키는 것은 당업자에게 충분히 공지되어 있다.

[0135] 본 명세서에서 사용되는 2개 아미노산 서열 간 백분율 동일성은 PAM120 가중 잔기 표, 12의 갭 길이 패널티 및 4의 갭 패널티를 사용하여, ALIGN 프로그램 (2.0 버전)에 통합된 E. Meyers 및 W. Miller의 알고리즘 (Comput. Appl. Biosci., 4:1 1-17, 1988)을 사용해 결정될 수 있다. 또한, 2개 아미노산 서열 간 백분율 동일성은 Blossom 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중치를 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지 (http://www.gcg.com에서 이용가능)의 GAP 프로그램에 통합된 Needleman 및 Wunsch (J. MoI, Biol. 48:444-453, 1970) 알고리즘을 사용해 결정할 수 있다.

[0136] 본 발명에 따른 "비-면역원성"은 본 발명에 따른 항체가 특정 구현예에서, 기능적 면역계를 갖는 동물에서, 체액성 또는 세포성 면역 반응, 및 바람직하게 둘 모두를 유발시킬 수 없다는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명에 따른 항체는 Fc 수용체에 결합할 수 없다. 이러한 항체는 "Fcɣ 절제 변이체" 또는 "Fc 녹아웃" (FcKO 또는 KO) 변이체라고 할 수 있다. 실제로, 이러한 변이체는 Fcɣ 수용체 (예를 들어, FcɣR1, FcɣRIIa, FcɣRIIb, FcɣRIIIa 등) 중 하나 이상 또는 전부에 대한 Fc 도메인의 정상 결합을 제거하기 위해서 수정된다.
이러한 항체 변이체를 수득하는 방법은 예컨대, 예를 들어 Yamane-Ohnuki *et al.* (Biotechnol Bioeng 2004; 87(5): 614-622) 및 Satoh *et al.* (Expert Opin Biol Ther 2006; 6(11): 1161-1173)에 예시된 바와 같이 당분야에 충분히 공지되어 있다.

[0137] 대신, 유리한 구현예에서, 오로지 AMHR-II에 결합하고, 보다 더욱 AMHR-II에 대한 결합에서 AMH와 경쟁하고, AMHR-II에 대한 AMH의 결합에 의해 활성화되는 세포 신호전달 경로를 길항하는 본 발명의 항체의 능력이 요구된다.

[0138] 본 명세서에서 사용되는 "부인과" 암은 특히 난소암, 자궁경부암, 자궁내막암, 임신성 융모성 질환 암 (융모막암), 자궁 육종, 질암, 외음부암 및 나팔관 암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0139] AMHR-II는 고려되는 암/질환 유형에 따라 가변적인 빈도로, 부인과 및 비부인과 암 조직의 세포 표면을 비롯하여 본 명세서에서 언급된 바와 같은 상이한 비-암 질환의 조직의 세포 막에서 발현된다. 예시적으로, AMHR-II는 두경부 암을 앓는 환자로부터 기원하는 종양 조직으로부터 유래된 암 세포에 의한 것에 비해서 직결장암을 앓는 환자로부터 기원하는 종양 조직으로부터 유래하는 암 세포에 의해 보다 빈번하게 발현된다. 이는 이들 2개 유형의 암이 AMHR-II를 표적화하는 항-암 치료에 적격하지만, 이러한 항-암 치료가 두경부암을 앓는 환자를 치료하기 위해 덜 빈번하게 관련될 것임을 의미한다.

[0140] 본 명세서에서 언급되는 임의 질환은 본 발명에 따른 AMHR-II-결합 항체 또는 이의 단편으로 치료될 수 있지만, 단 상기 질환으로부터의 질환 세포가 그들 막에서 AMHR-II를 발현하는 것을 조건으로 하고, 따라서, 질환 세포 막에서 AMHR-II 단백질의 존재는 당분야에 충분히 공지된 임의 방법에 따라서 검출될 수 있거나 또는 결정될 수 있는 것을 조건으로 한다.

[0141] 따라서, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편을 비롯하여, 본 발명에 따른 세포 및/또는 조성물은 다수의 별개 종류의 질환, 특히 상이한 유형의 종양을 치료하는데 유효하지만, 단 AMHR-II 표적 단백질이 질환 세포 막에서 발현되는 것을 조건으로 한다.

[0142] 덧붙여서, 특히 표적-결합 분자, 예를 들어 표적-결합 항체로 이루어진 항-암 활성 성분의 분야에서, 동일한 활성 성분이 다수의 별개 암을 치료하는데 유효한 상황은 전례가 없지 않다. 예시적으로, 펨브롤리주맙이라고 하는 항-PD1 항체는 다양한 별도 종류의 암의 치료에서 유용한 활성 성분으로서 미국 식약청 (FDA)에 의해 승인되었는데, 단 상기 암은 동일한 생리적 특성을 공유한다. 암이 아닌 본 발명에 따른 질환의 관점에도 동일하게 적용된다.

[0143] 따라서, 질환을 앓는 개체는 상기 개체로부터 이전에 수집된 질환 세포에 의한 AMHR-II 막 발현이 검출되거나 또는 달리 적절한 방법으로 결정될 때 본 명세서에 기술된 AMHR-II-결합제로 상기 질환에 대해 치료될 수 있다.

[0144] 일부 구현예에서, 질환 세포의 세포 막에서 AMHR-II의 발현은 상기 질환 세포가 AMHR-II를 소정의 정량가능한 수준으로 또는 상기 정량가능한 수준에 비해 더 높은 수준으로 발현하는 것을 포괄한다.

[0145] 따라서, 일부 구현예에 따라서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편에 의한 치료에 대한 본 발명에 따른 질환을 앓는 개체의 반응도는 상기 개체로부터 이전에 수집된 샘플로부터의 질환 세포가 그들 막에서 AMHR-II를 발현하는지 여부를 결정하여 평가될 수 있다.

[0146] 일부 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명에 따른 세포 또는 조성물에 의한 치료에 대한 본 발명에 따른 질환을 앓는 개체의 반응도는 상기 개체로부터 이전에 수집된 샘플로부터의 질환 세포가 결정된 한계값 이상으로 그들 막에서 AMHR-II를 발현하는지 여부를 결정하여 평가될 수 있다.

[0147] 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명에 따른 세포 또는 조성물에 의한 치료에 대한 본 발명에 따른 질환을 앓는 환자의 반응도를 결정하기 위해 일부 구현예에서 사용할 수 있는 AMHR-II 막 발현 수준은 (i) AMHR-II를 그들 막에서 발현하는 질환 샘플에 함유된 질환 세포의 백분율, (ii) 질환 세포 막에서 AMHR-II 단백질의 평균수, 및 (iii) 시험된 질환 세포 샘플에 함유된 질환 세포의 FACS AMHR-II 신호 프로파일을 포함한, 다양한 기술을 사용해 평가될 수 있다.

[0148] 일부 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 질환을 앓는 개체에 대해 이전에 수집된 종양 샘플에 포함된 질환 세포는 막성 AMHR-II가 상기 질환 샘플에 포함된 질환 세포의 5% 이상에서 검출될 때 막성 AMHR-II를 발현하는 것으로 평가될 수 있다.

[0149] 따라서, 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 질환을 앓는 개체는 상기 개체로부터 이전에 수집된 질환 샘플에 포함된 질환 세포의 5% 이상이 그들 막에서 AMHR-II를 발현할 때, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 반응성인 것으로 결정된다.

[0150] 막 AMHR-II 단백질을 발현하는 질환 세포, 특히 암 세포의 빈도 (예를 들어, 백분율)을 결정하는 방법은 당분야에 충분히 공지되어 있다 (예를 들어, WO2018189379 참조).

[0151] 일부 구현예에 따라서, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 질환 치료에 대한 본 발명에 따른 질환을 앓는 환자의 반응도는 상기 환자로부터 이전에 수집된 질환 샘플에 함유된 질환 세포의 막에 존재하는 AMHR-II 단백질의 평균수를 결정하여 평가될 수 있다.

[0152] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 질환을 앓는 환자는 상기 환자로부터 이전에 수집된 질환 샘플에 함유된 질환 세포에 의해 발현되는 막 AMHR-II 단백질의 평균 수가 10 000 AMHR-II 단백질 이상일 때 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 반응성인 것으로 분류될 수 있다.

[0153] 질환 세포 막에서 발현된 AMHR-II 단백질의 수의 평가는 (a) 환자로부터 이전에 수집된 질환 조직 샘플로부터의 세포를 함유하는 샘플을 AMHR-II 단백질에 특이적으로 결합하는 검출가능 화합물, 예컨대 형광 표지된 항-AMHR-II 항체와 인큐베이션시키는 단계, 및 추가로 (b) 상기 샘플로부터의 각각의 시험된 세포에 결합된, 상기 검출가능 화합물의 수, 예를 들어, 형광 표지된 항-AMHR-II 항체의 수를 결정하는 단계를 포함하는 통상의 방법을 사용해 수행될 수 있다. 질환 세포막에서 발현되는 AMHR-II 단백질 수의 평가는 예를 들어 본 명세서의 실시예에 표시된 바와 같이, 충분히 공지된 형광 활성화 세포 분류법 (FACS)을 사용해 수행될 수 있다.

[0154] 역시 다른 구현예에서, 질환을 앓는 환자는 상기 환자로부터 이전에 수집된 질환 샘플에 함유된 질환 세포의 AMHR-II FACS 프로파일의 분석을 통해서 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 반응성으로 분류될 수 있다.

[0155] 이들 여전히 다른 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 질환을 앓는 환자는 형광 활성화 세포 분류법 (FACS)의 방법에서, (i) 항-AMHR-II 형광 표지된 항체와 인큐베이션된 질환 세포의 평균 형광 강도 대 (ii) 이소타입의 형광 표지된 항체와 인큐베이션된 질환 세포로부터 수득된 평균 형광 강도 (MFI) 값의 비가 1.5 이상일 때, 본 발명의 항체 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 반응성으로 분류될 수 있다.

[0156] 상기 평균 형광 강도 비를 결정하기 위해서, 이소타입 항체 및 항-AMHR-II 항체 둘 모두는 동일한 형광제, 예컨대 WO2018189379에 표시된 바와 같은, ThermoFisher Scientific사에서 판매하는 Alexa Fluor 488 염료로 표지된다.

[0157] 일부 추가 구현에에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 대한 질환 개체의 반응도는 (i) AMHR-II-결합제로 치료될 수 있는 질환으로부터 유래된 막 AMHR-II-발현 질환 세포 및 (ii) AMHR-II-결합제로 치료될 수 없는 질환으로부터 유래된 막 AMHR-II-발현 질환 세포를 구별할 수 있는 AMHR-II 발현 점수를 계산하여 결정될 수 있다.

[0158] 따라서, 발명자는 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 질환 치료에 특히 적격한, 본 명세서의 질환을 앓는 환자를 결정하였고, 파괴하려는 관련 세포 표적으로 이루어지기 위해서 충분히 높은 수준으로 세포 막에서 AMHR-II를 발현하는 질환을 갖는 이들을 포괄한다.

[0159] 다음으로, 이들 추가 구현예에 따라서, 본 발명자는 질환 환자로부터의 질환 세포에서 측정된 최소 AMHR-II 발현이 상기 환자가 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 반응성임을 확인할 수 있다는 것을 결정하였고, 따라서 상기 환자는 본 명세서에 기술된 항체, 세포 또는 조성물에 의해 치료될 수 있다.

[0160] 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 대한 질환을 앓는 개체의 반응도는 따라서 (i) 막성 AMHR-II를 발현하는 질환 세포의 빈도, 예를 들어 그들 막에서 AMHR-II를 발현하는 종양 세포의 백분율, 및 (ii) 상기 질환 세포에 의한 AMHR-II 막 발현의 수준 예를 들어 세포 당 막성 AMHR-II 단백질의 평균 수를 결정하여 상기 개체로부터 이전에 수득된 샘플에 포함된 질환 세포에 의한 AMHR-II 발현 수준을 평가했을 때 결정될 수 있다.

[0161] 따라서, 이들 추가 구현예의 일부에서, 상기 환자로부터 이전에 수집된 질환 세포의 샘플 중에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 대한 본 발명에 따른 질환을 앓는 환자의 반응도는 (i) 상기 샘플에 함유된 질환 세포가 그들 막에서 인간 AMHR-II 단백질의 최소 평균 수를 나타내고, (ii) 그들 막에서 인간 AMHR-II를 발현하는 세포의 빈도, 예를 들어, 그들 막에서 인간 AMHR-II를 발현하는 세포의 백분율이 적어도 한계값인 것을 결정하여 평가할 수 있다.

[0162] 따라서, (i) 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 질환 치료에 적격하지 않은 질환 환자, 즉 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 질환 치료에 반응성이 아닌 질환 환자, 및 (ii) 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 질환 치료에 적격한 질환 환자, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 질환 치료에 반응성인 질환 환자를 구별할 수 있는 특이적 AMHR-II 발현 점수 값을 결정하기 위해 역시 사용될 수 있는 추가 방법이 또한 본 명세서에서 기술된다.

[0163] 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의한 치료에 대해 본 발명에 따른 질환을 앓는 개체의 반응도를 결정하는 상기 구현예에 따라서, 막성 AMHR-II 발현 점수는 본 발명의 소정 질환 세포 샘플에 대해서, (i) 상기 질환 세포 샘플 중 AMHR-II를 발현하는 세포의 빈도 및 (ii) 상기 AMHR-II-발현 세포에 의한 AMHR-II 발현의 수준을 고려하여 결정할 수 있다. 전형적으로, 소정 질환 세포 샘플의 AMHR-II 발현 점수는 하기 식 (I)에 의해 결정될 수 있다:

[0164] E-SCORE=FREQ x AMHR-II_LEVEL

[0165] 식에서,

[0166] - E-SCORE는 소정 질환 세포 샘플에 대한 AMHR-II 발현 점수 값을 의미하고,

[0167] - FREQ는 막 AMHR-II 발현이 검출된 상기 질환 세포 샘플에 함유된 세포의 빈도를 의미하고,

[0168] - AMHR-II_LEVEL은 상기 소정 질환 세포 샘플 중 함유된 AMHR-II-발현 세포에 의한 AMHR-II의 발현 수준을 의미한다.

[0169] 예시적으로, 1.0의 E-SCORE는 본 발명의 세포 샘플에 따라서 소정 질환에 대해 결정되며 여기서 (i) 세포의 50%는 AMHR-II를 발현하고 (0.5의 FREQ 값) (ii) AMHR-II 발현 수준 (AMHR-II_LEVEL)은 2이다.

[0170] 특정 구현예에서, AMHR-II 발현 점수 (또는 E-SCORE)는 면역조직학 방법으로 결정된다. 이들 구현예에 따라서, AMHR-II 막 발현은 AMHR-II에 특이적인 검출가능한 항체를 사용하고 (i) 이에 결합된 상기 항-AMHR-II 항체를 갖는 세포의 빈도를 결정하는 단계 및 (ii) 막-발현된 AMHR-II와 이의 결합 이후에 상기 검출가능한 항-AMHR-II 항체에 의해 생성된 신호의 강도를 결정하는 단계에 의해 평가된다. 이러한 방법에서, AMHR-II에 특이적인 상기 항체는 예를 들어 본 발명에 따른 항체일 수 있다.

[0171] 따라서, 상기 방법의 구현에에 따라서, 본 명세서에 기술된 질환을 앓고 본 발명의 항체 또는 본 발명의 세포 또는 조성물에 의해 질환을 치료할 수 있는 환자는 바람직하게 AMHR-II 발현 점수가 1.0 이상으로 결정된 이들일 수 있고, AMHR-II 발현 점수가 1.5 이상으로 결정된 이들을 포함한다.

[0172] 분명한 빈도이지만, 1.5 이상의 AMHR-II 발현 점수를 갖는 AMHR-II-발현 질환 세포가 다양한 질환, 특히 다양한 암에 대해 결정되었다. 예시적으로, 본 발명자는 결장 종양으로부터 유래된 암 세포는 두경부 암으로부터 유래된 암 세포에 비해서 더 높은 빈도로 AMHR-II 양성 (즉, 1.5 이상의 AMHR-II 점수를 가짐)으로서 분류된다는 것을 본 명세서에서 보여주었다.

[0173] AMHR-II 막 발현 수준을 결정하기 위해서, 세포 막에서 AMHR-II의 수준은 AMHR-II에 대한 높은 친화성 및 높은 특이성을 갖는 항-AMHR-II 단일클론 항체를 사용하여 가장 바람직하게 수행될 것이다.

[0174] 또한, AMHR-II 점수 결정 관점에서 면역-조직화학 방법에 의한 AMHR-II 발현의 결정은 가장 바람직하게 적절한 검출 시약 (예를 들어, AMHR-II와의 결합에 대해서 55.3 pM의 Kd 값을 갖는, 단일클론 3C23K 항체같은 고 친화성 항-AMHR-II 단일클론 항체)과 접촉시키는 단계 이전에 조직 샘플의 신중한 전처리를 포함한다. 샘플 전처리는 세포 표면에서 발현된 AMHR-II 분자의 검출 시약에 대한 이용가능성을 증가시킬 수 있을 것이다. 예시적으로, 염색 방법은 특별한 단계의 적절한 조합, 예컨대 (i) 마이크로파 공급원에 노출에 의한 고온 탈왁스 단계, 및 (ii) AMHR-II-결합 시약, 예컨대 이후에 스트렙타비딘-접합된 검출가능한 시약과 복합체를 형성할 수 있는 바이오틴화된 항-AMHR-II 항체를 포함할 수 있다. 전처리 탈왁스 단계는 조직 고정 단계로 인해 검출 신호 소광 효과를 반전시키는데 중요한 것으로 나타났다. 본 발명자는 AMHR-II 검출성은 조직 고정 단계에 사용된 포르말린의 작용에 특히 민감하다는 것을 보여주었다.

[0175] 본 발명의 문맥에서, 이것은 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물이 두경부암을 앓는 환자의 치료에 비해서 결장암을 앓는 환자의 치료에 대해 더 높은 빈도로 유용한 치료제일 것임을 의미한다. 이것은 또한 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물이 두경부암을 앓는 환자를 치료하기 위한 관련 치료제일 수 있지만, 특별한 환자가 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 세포 또는 조성물이 투여될 수 있는가를 판단하기 위해서 종양-유래 암 세포의 AMHR-II 발현에 대해 사전에 검사하는 것이 바람직할 것임을 의미한다.

[0176] 따라서, 본 발명자는 AMHR-II를 표적화하고 또한, 길항제 효과를 가질뿐만 아니라, AMHR-II에 대한 결합에서 AMH와 경쟁하는 본 발명의 항체가 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로 발생되는 질환, 특히 본 명세서에 언급된 질환을 예방 또는 치료하기 위한 신규 치료 도구로서 유용하다는 것을 본 명세서에서 보여주었다.

[0177] 본 발명의 AMHR-II 결합 항체

[0178] 앞서 언급된 바와 같이, 본 발명의 제1 목적은 AMHR-II의 세포외 도메인에 특이적으로 결합하는 길항제 항체 또는 이의 단편이다.

[0179] 특히, 상기 길항제 항체 또는 이의 단편은 경쟁적 길항제 항체이다.

[0180] 보다 특히, 본 발명의 경쟁적 길항제 항체는

[0181] (a) 가변 도메인이

[0182] - SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1;

[0183] - SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및

[0184] - SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3

[0185] 을 포함하는 것인 중쇄; 및

[0186] (b) 가변 도메인이 적어도

[0187] - SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1;

[0188] - SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및

[0189] - SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄를 포함한다.

[0190] 본 발명에 따른 항체의 중쇄 가변 영역은 특히 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 갖고,

[0191] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0192] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0193] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0194] SEQ ID NO: 2는 하기 아미노산 서열에 상응한다:

[0195] EVQLVESGGSLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNNAMNWVRQAPGKGLEWISYISGSSRYI
SYADFVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRSSDDYFGGGMDVWGR
GTLVTVSS

[0196] 보다 특히 본 발명에 따른 항체의 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과 적어도 90% 동일성을 가질 수 있고,

[0197] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0198] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0199] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0200] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 가질 수 있고,

[0201] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0202] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0203] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0204] 보다 특정한 구현예에서, 본 발명에 따른 항체의 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 갖는다.

[0205] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 가지고,

[0206] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0207] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0208] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0209] SEQ ID NO: 1은 하기 아미노산 서열에 상응한다:

[0210] EVQLVESGGSLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNNAMNWVRQAPGKGLEWISYISGSSRYI
SYADFVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRSSDDYFGGGMDVWGR
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA

[0211] KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0212] 보다 특히, 본 발명에 따른 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 90% 동일성을 가지고,

[0213] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0214] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0215] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0216] 보다 특히, 본 발명에 따른 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 가지고,

[0217] - H-CDR1은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0218] - H-CDR2는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0219] - H-CDR3은 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0220] 보다 특정한 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 갖는다.

[0221] 본 발명에 따른 항체의 경쇄 가변 영역릉 특히 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 가지고,

[0222] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0223] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0224] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0225] SEQ ID NO: 7은 하기 아미노산 서열에 상응한다:

[0226] QSVLTQPASVSGSPGQSITISCAGTSSDVGGDNDVSWYQQHPGKAPKLMIYYDSYRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSSTYYSTRVFGGGTKLTVL

[0227] 보다 특히, 본 발명에 따른 항체의 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 90% 동일성을 가질 수 있고,

[0228] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0229] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0230] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0231] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 항체의 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 가질 수 있고,

[0232] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0233] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0234] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0235] 보다 특정한 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 항체의 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열을 갖는다.

[0236] 특정 구현예에서, 본 발명에 따른 항체의 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 85% 동일성을 가지고,

[0237] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0238] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0239] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0240] SEQ ID NO: 6은 하기 아미노산 서열에 상응한다:

[0241] QSVLTQPASVSGSPGQSITISCAGTSSDVGGDNDVSWYQQHPGKAPKLMIYYDSYRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSSTYYSTRVFGGGTKLTVLGQPKA
APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0242] 보다 특히, 본 발명에 따른 항체의 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 90% 동일성을 가지고,

[0243] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0244] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0245] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0246] 보다 특히, 본 발명에 따른 항체의 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 가지고,

[0247] - L-CDR1은 SEQ ID NO: 8에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0248] - L-CDR2는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖고;

[0249] - L-CDR3은 SEQ ID NO: 10에 기재된 서열과 100% 동일성을 갖는다.

[0250] 보다 특정한 구현예에 따라서, 본 발명에 따른 항체의 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열을 갖는다.

[0251] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명에 따른 항체의 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 갖고, 항체의 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열을 갖는다.

[0252] 특히, 본 발명에 따른 항체는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 갖는 중쇄 및 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열을 갖는 경쇄를 포함한 것일 수 있다.

[0253] 일 구현예에서, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편은 비-면역원성이다. 특히, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편은 Fc 수용체에 결합할 수 없다.

[0254] 이전에 언급된 바와 같이, 본 발명에 따른 항체 단편은 특히 Fv, Fab, F(ab')2, Fab', dsFv, scFv, sc(Fv)2 및 디아바디로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0255] 본 발명에 따른 항체는 당분야에 공지된 임의 기술, 예컨대, 제한없이, 임의의 화학적, 생물학적, 유전학적 또는 효소 기술을 단독으로 또는 조합하여 생산될 수 있다.

[0256] 바람직한 서열의 아미노산 서열을 알고 있으면, 당업자는 표준 폴리펩티드 제조 기술을 통해서 상기 항체를 쉽게 생산할 수 있다. 예를 들어, 그들은 바람직하게 제조사의 설명서에 따라서 상업적으로 입수가능한 펩티드 합성 장비 (예컨대 Applied Biosystems (Foster City, California)에서 제조)를 사용하여 충분히 공지된 고체상 방법을 사용해 합성될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항체는 당분야에 충분히 공지된 재조합 DNA 기술을 통해서 합성될 수 있다. 예를 들어, 항체는 발현 벡터에 항체를 코딩하는 DNA 서열을 도입시키고 이러한 벡터를 바람직한 항체를 발현하게 되는 적합한 진핵생물 또는 원핵생물에 도입시킨 후에 DNA 발현 생성물로서 수득될 수 있고, 이후에 충분히 공지된 방법을 사용해 그들을 단리할 수 있다.

[0257] 본 발명에 따른 항체, 또는 이의 단편은 또한 AMHR-II의 세포외 도메인과의 결합에 대해서

[0258] (a) 가변 도메인이

[0259] - SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는 H-CDR1;

[0260] - SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는 H-CDR2; 및

[0261] - SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는 H-CDR3을 포함하는 것인 중쇄;

[0262] 및

[0263] (b) 가변 도메인이 적어도

[0264] - SEQ ID NO: 8에 기재된 서열을 갖는 L-CDR1;

[0265] - SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 L-CDR2; 및

[0266] - SEQ ID NO: 10에 기재된 서열을 갖는 L-CDR3로 이루어진 군으로부터 선택되는 CDR을 포함하는 것인 경쇄를 포함하는 것으로 정의된 항체, 특히 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 갖고 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO: 7에 기재된 서열을 갖는 것인 항체, 및 보다 특히 중쇄는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 갖고 경쇄는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열을 갖는 것인 항체와 경쟁하는, 항체 또는 이의 단편일 수 있다.

[0267] 핵산 서열

[0268] 따라서, 본 발명의 추가 목적은 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편을 코딩하는 핵산 서열에 관한 것이다. 용어 "핵산" 및 "핵산 서열"은 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다.

[0269] 전형적으로, 상기 핵산은 임의의 적합한 벡터, 예컨대 플라스미드, 코스미드, 에피솜, 인공 염색체, 파지 또는

바이러스 벡터에 포함될 수 있는, DNA 또는 RNA 분자이다.

[0270] 벡터

[0271] 용어 "벡터", "클로닝 벡터", 및 "발현 벡터"는 숙주 세포를 형질전환시키고 도입된 서열의 발현 (예를 들어, 전사 및 번역)을 촉진하기 위해서 숙주 세포에 DNA 또는 RNA 서열 (예를 들어, 외래 유전자)을 도입시킬 수 있는 비히클을 의미한다.

[0272] 그래서, 본 발명의 추가 목적은 본 발명의 핵산을 포함하는 벡터에 관한 것이다.

[0273] 이러한 벡터는 대상체에게 투여 시 상기 항체의 발현을 야기 또는 유도하도록, 조절 구성요소, 예컨대 프로모터, 인핸서, 종결자 등을 포함할 수 있다. 동물 세포용 발현 벡터에서 사용되는 프로모터 및 인핸서의 예는 SV40의 초기 프로모터 및 인핸서 (Mizukami T. *et al.* 1987), 몰로니 마우스 백혈병 바이러스의 LTR 프로모터 및 인핸서 (Kuwana Y *et al.* 1987), 및 면역글로불린 H 사슬의 프로모터 (Mason JO *et al.* 1985) 및 인핸서 (Gillies SD *et al.* 1983) 등을 포함한다.

[0274] 인간 항체 C 영역을 코딩하는 유전자를 삽입시켜서 발현시킬 수 있으면, 동물 세포용 임의 발현 벡터가 사용될 수 있다. 적합한 벡터의 예는 pAGE107 (Miyaji H *et al.* 1990), pAGE103 (Mizukami T *et al.* 1987), pHSG274 (Brady G *et al.* 1984), pKCR (O'Hare K *et al.* 1981), pSG1 베타 d2-4-(Miyaji H *et al.* 1990) 등을 포함한다.

[0275] 플라스미드의 다른 예는 복제 기원을 포함하는 복제 플라스미드, 또는 통합 플라스미드, 예컨대 pUC, pcDNA, pBR 등을 포함한다.

[0276] 바이러스 벡터의 다른 예는 아데노바이러스, 레트로바이러스, 헤르페스 바이러스 및 AAV 벡터를 포함한다. 이러한 재조합 바이러스는 당분야에 공지된 기술, 예컨대 패키징 세포를 형질감염시키거나 또는 헬퍼 플라스미드 또는 바이러스로 일시적으로 형질감염시켜서 제조될 수 있다. 바이러스 패키징 세포의 전형적인 예는 PA317 세포, PsiCRIP 세포, GPenv+ 세포, 293 세포 등을 포함한다. 이러한 복제-결함 재조합 바이러스를 제조하기 위한 상세한 프로토콜은 예를 들어, WO 95/14785, WO 96/22378, US 5,882,877, US 6,013,516, US 4,861,719, US 5,278,056 및 WO 94/19478에서 확인할 수 있다.

[0277] 숙주 세포

[0278] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 핵산 및/또는 벡터에 의해 형질감염, 감염 또는 형질전환된 숙주 세포에 관한 것이다. 따라서, 본 발명의 추가 목적은 본 발명의 핵산 서열 또는 본 발명의 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0279] 용어 "형질전환"은 "외래" (즉, 외인성 또는 세포외) 유전자, DNA 또는 RNA 서열의 숙주 세포로의 도입을 의미하고, 그리하여 숙주 세포는 도입된 유전자 또는 서열을 발현시켜서 바람직한 물질, 전형적으로 도입된 유전자 또는 서열에 의해 코딩되는 단백질 또는 효소, 특히 항체 또는 이의 단편을 제조하게 된다. 도입된 DNA 또는 RNA를 받고 발현하는 숙주 세포는 "형질전환"된 것이다.

[0280] 본 발명의 핵산은 적합한 발현 시스템에서 본 발명의 항체 또는 이의 단편을 생산하도록 사용될 수 있다. 용어 "발현 시스템"은 예를 들어 벡터에 의해 운반되고 숙주 세포로 도입된 외래 DNA에 의해 코딩되는 단백질의 발현을 위한, 적합한 조건 하에서 숙주 세포 및 상용성 벡터를 의미한다.

[0281] 일반적인 발현 시스템은 이. 콜라이 숙주 세포 및 플라스미드 벡터, 곤충 숙주 세포 및 배큘로바이러스 벡터, 및 포유동물 숙주 세포 및 벡터를 포함한다. 숙주 세포의 다른 예는 제한없이 원핵생물 세포 (예컨대 박테리아) 및 진핵생물 세포 (예컨대 효모 세포, 포유동물 세포, 곤충 세포, 식물 세포 등)를 포함한다. 특별한 예는 이. 콜라이 (*E.coli*), 클루이베로마이세스 (*Kluyveromyces*) 또는 사카로마이세스 (*Saccharomyces*) 효모, 포유동물 세포주 (예를 들어, Vero 세포, CHO 세포, 3T3 세포, COS 세포 등)를 비롯하여, 초대 또는 확립 포유동물 세포 배양물 (예를 들어, 골수아세포, 섬유아세포, 배아 세포, 상피 세포, 신경 세포, 지방세포 등으로부터 생산)을 포함한다. 예에는 또한 마우스 SP2/0-Ag14 세포 (ATCC CRL1581), 마우스 P3X63-Ag8.653 세포 (ATCC CRL1580), 디히드로폴레이트 리덕타제 유전자 (이하 "DHFR 유전자")가 결핍된 CHO 세포 (Urlaub G *et al.*; 1980), 래트 YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 세포 (ATCC CRL1662, 이하 "YB2/0 세포"라고 함) 등을 포함한다.

[0282] 면역접합체

[0283] 본 발명의 다른 목적은 치료제에 연결된 본 발명의 항체 또는 이의 단편을 포함하는 면역접합체에 관한 것이다.

[0284] 본 발명에 따른 항체는 세포독성제 예컨대 화학요법제, 독소 (예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소, 또는 이의 단편), 또는 방사성 동위원소 (즉, 방사성 접합체)에 접합될 수 있다. 이러한 항체 접합체는 PCT 출원 공개 번호 WO 2017/025458에 기술된 것들을 포괄한다.

[0285] 세포독성제는 효소적 활성 독소를 포괄한다. 사용될 수 있는 효소적 활성 독소 및 이의 단편은 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 사슬 (슈도모나스 애루지노사 (*Pseudomonas aeruginosa*) 유래), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사크신, 알류리테스 포르디이 (*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 파이토라카 아메리카나 (*Phytolaca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 (*momordica charantia*) 억제제, 커신, 크로틴, 사파오나리 오피시날리스 (*sapaonaria officinalis*) 억제제, 젤로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리오코테센을 포함한다.

[0286] 다양한 방사성핵종이 방사성접합체 항체의 제조에 이용가능하다.

[0287] 항체 및 세포독성제의 접합체는 PCT 출원 번호 WO 2017/025458에 개시된 것과 같은 다양한 이중기능성 단백질 커플링제를 사용해 제조될 수 있다.

[0288] 본 발명에 따른 면역접합체는 특히 항체-약물 접합체 (ADC)일 수 있다.

[0289] 항체-약물 접합체 (ADC)

[0290] 다른 양태에서, 본 발명은 항-AMHR-II 항체-약물 접합체, 특히 항-인간-AMHR-II 항체-약물-접합체, 및 보다 특히 항-인간-AMHR-II 단일클론 항체 약물-접합체를 제공한다.

[0291] 본 발명에 따른 항-AMHR-II 항체-약물 접합체는 암의 치료에서, 특히 본 명세서에 언급된 암의 치료에서 사용하고자 한다.

[0292] 본 명세서에서 사용되는 "항-AMHR-II 항체-약물 접합체"는 치료제에 접합된 본 발명에 따른 항-AMHR-II 항체 또는 이의 단편을 의미한다.

[0293] 이러한 항-인간-AMHR-II 항체-약물 접합체 (ADC)는 전형적으로 단독으로뿐만 아니라 다른 치료제와 병용하여 투여했을 때, 대상체, 특히 AMHR-II-발현 암을 갖는 대상체에게 투여되는 경우에 AMHR-II-발현 세포에 대한 임상적으로 유리한 효과를 생성시킨다.

[0294] 전형적인 구현예에서, 본 발명의 항체는 세포독성제에 접합될 수 있어서, 최종 항체-약물 접합체 (ADC)는 세포에 의해 흡수 또는 내재화될 때 AMHR-II-발현 암 세포에 대한 세포독성 또는 세포증식 억제 효과를 발휘한다.

항체에 접합에 특히 적합한 모이어티 (치료제)는 화학요법제, 프로드러그 전환 효소, 방사성 동위원소 또는 화합물, 또는 독소이다. 예를 들어, 항-AMHR-II 항체 또는 이의 단편은 세포독성제 예컨대 화학요법제 또는 독소 (예를 들어, 세포증식억제 또는 세포파괴제 예컨대, 예를 들어, 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소 또는 디프테리아 독소)에 접합될 수 있다.

[0295] 유용한 부류의 세포독성제는 예를 들어 항튜불린제, 아우리스타틴, DNA 마이너 그루브 결합제, DNA 복제 억제제, 알킬화제 (예를 들어, 플래티늄 착체 예컨대 시스플라틴, 모노(플래티늄), 비스(플래티늄) 및 삼중-핵 플래티늄 착체 및 카르보플라틴), 안트라사이클린, 항생제, 항-폴레이트제, 항대사산물제, 화학요법제 감작제, 두오카르마이신, 에토포시드, 불소화 피리미딘, 아이오노포어, 렉시트롭신, 니트로소우레아, 플라티놀, 사전형성 화합물, 푸린 항대사산물제, 푸로마이신, 방사선 감작제, 스테로이드, 탁산, 토포이소머라제 억제제, 빈카 알칼로이드 등을 포함한다.

[0296] 개별 세포독성제는 예를 들어, 안드로겐, 안트라마이신 (AMC), 아스파라기나제, 5-아자시티딘, 아자티오프린, 블레오마이신, 부설판, 부티오닌 술폭시민, 캄프토테신, 카르보플라틴, 카르무스틴 (BSNU), CC-1065 (Li *et al.*, Cancer Res. 42:999-1004, 1982), 클로람부실, 시스플라틴, 콜키신, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 시티딘 아라비노시드, 시토칼라신 B, 다카바진, 닥티노마이신 (이전 악티노마이신), 다우노루비신, 데카바진, 도데탁셀, 독소루비신, 에스트로겐, 5-플루오로데옥시우리딘, 에톱시드 포스페이트 (VP-16), 5-플루오로우라실, 그라미시딘 D, 히드록시우레아, 이다루비신, 이포스파미드, 이리노테칸, 로무스틴 (CCNU), 메클로레타민, 멜팔란, 6-머캅토푸린, 메토트렉세이트, 미트라마이신, 미토마이신 C, 미톡산트론, 니트로이미다졸, 파클리탁셀, 플리카마이신, 프로카비진, 스트렙토조토신, 테노포시드 (VM-26), 6-티오구아닌, 티오TEPA, 토포테칸, 빈블라스틴, 빈크리스틴 및 비노렐빈을 포함한다.

[0297] 특히 적합한 세포독성제는 예를 들어, 돌라스타틴 (예를 들어, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE), DNA 마이너 그루브 결합제 (예를 들어, 에네디인 및 렉시트롭신), 두오카마이신, 탁산 (예를 들어, 파클리탁셀 및 도세탁셀), 푸로마이신, 빈카 알칼로이드, CC-1065, SN-38 (7-에틸-10-히드록시-캄프토테인), 토포테칸, 모르폴리노-독소루비신, 리족신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 에키노마이신, 콤브레타스타틴, 네트롭신, 에포틸론 A 및 B, 에스트라무스틴, 크립토피신, 세마도틴, 마이탄시노이드, 디스코더몰리드, 엘류테로빈, 및 미톡산트론을 포함한다.

[0298] 일정 구현예에서, 세포독성제는 통상의 화학요법제 예컨대, 예를 들어, 독소루비신, 파클리탁셀, 멜팔란, 빈카 알칼로이드, 메토트렉세이트, 미토마이신 C 또는 에토포시드이다. 또한 강력한 작용제 예컨대 CC-1065 유사체, 칼리케아미신, 마이탄신, 돌라스타틴 10의 유사체, 리족신, 및 팔리톡신이 항-HER3-발현 항체에 연결될 수 있다.

[0299] 특정 변동에서, 세포독성제 또는 세포증식 억제제는 아우리스타틴 D (당분야에서 돌라스타틴-10이라고도 알려짐) 또는 이의 유사체이다. 전형적으로, 아우리스타틴 E 유사체는 예를 들어, 아우리스타틴 E 및 케토산 간에 형성된 에스테르이다. 예를 들어, 아우리스타틴 E는 각각 AEB 및 AEVB를 생산하도록 파라아세틸 벤조산 또는 벤조일발레산과 반응될 수 있다. 다른 전형적인 아우리스타틴 유사체는 AFP (디메틸발린-발린-돌라이소류신-돌라프로인-페닐알라닌-p-페닐렌디아민), MMAF (도발린-발린-돌라이소류신-돌라프로인-페닐알라닌), 및 MAE (모노메틸 아우리스타틴 E)를 포함한다. 아우리스타틴 E 및 이의 유사체의 합성 및 구조는 미국 특허 출원 공개 번호 20030083263; 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2002/088172 및 WO 2004/010957; 및 미국 특허 제6,884,869호; 제6,323,315호; 제6,239,104호; 제6,034,065호; 제5,780,588호; 제5,665,860호; 제5,663,149호; 제5,635,483호; 제5,599,902호; 제5,554,725호; 제5,530,097호; 제5,521,284호; 제5,504,191호; 제5,410,024호; 제5,138,036호; 제5,076,973호; 제4,986,988호; 제4,978,744호; 제4,879,278호; 제4,816,444호; 및 제4,486,414호에 기술되어 있다.

[0300] 다른 변동에서, 세포독성제는 DNA 마이너 그루브 결합제 (예를 들어, 미국 특허 제6,130,237호 참조)이다. 예를 들어, 일정 구현에에서, 마이너 그루브 결합제는 CBI 화합물이다. 다른 구현예에서, 마이너 그루브 결합제는 에네디인 (예를 들어, 칼리케아미신)이다.

[0301] 일정 구현예에서, 항체-약물 접합체 (ADC)는 항-튜불린제를 포함한다. 항-튜불린제의 예는 예를 들어, 탁산 (예를 들어, Taxol® (파클리탁셀), Taxotere® (도세탁셀)), T67 (툴라릭), 빈카 알칼로이드 (예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신, 및 비노렐빈), 및 돌라스타틴 (예를 들어, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE, AEB, AEVB)을 포함한다. 다른 항튜불린제는 예를 들어, 바카틴 유도체, 탁산 유사체 (예를 들어, 에포틸론 A 및 B), 노코다졸, 콜키신 및 콜시미드, 에스트라무스틴, 크립토피신, 세마도틴, 마이탄시노이드, 콤브레타스타틴, 디스코더몰리드 및 엘류테로빈을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포독성제는 마이탄시노이드, 항-튜불린제의 다른 그룹이다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 마이탄시노이드는 마이탄신 또는 DM-1 (ImmunoGen, Inc.; 또한 [Chari *et al.*, Cancer Res. 52:127-131, 1992] 참조)이다.

[0302] 다른 구현에에서, 세포독성제는 항대사산물이다. 항대사산물은 예를 들어, 푸린 길항제 (예를 들어, 아조티오프린 또는 마이코페놀레이트 모페틸), 디히드로폴레이트 리덕타제 억제제 (예를 들어, 메토트렉세이트), 아시클로비어, 간시클로비어, 지도부딘, 비다라빈, 리바바린, 아지도티미딘, 시티딘 아라비노시드, 아만탄딘, 디데옥시우리딘, 아이오도데옥시우리딘, 포스카르넷, 또는 트리플루리딘을 포함한다.

[0303] 다른 구현예에서, 항-AMHR-II 항체 또는 이의 단편은 프로드러그 전환 효소에 접합된다. 프로드러그 전환 효소는 공지된 방법을 사용해 항체에 재조합적으로 융합될 수 있거나 또는 화학적으로 접합될 수 있다. 예시적인 프로드러그 전환 효소는 카르복시펩티다제 G2, β-글루쿠로니다제, 페니실린-V-아미다제, 페니실린-G-아미다제, β-락타마제, β-글루코시다제, 니트로리덕타제, 및 카르복시펩티다제 A이다.

[0304] 단백질, 특히 항체 또는 이의 단편에 치료제를 접합시키기 위한 기술은 충분히 공지되어 있다 (참조: 예를 들어, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy (Reisfeld *et al.* eds., Alan R. Liss, Inc., 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery," in Controlled Drug Delivery (Robinson *et al.* eds., Marcel Deiker, Inc., 2nd ed. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications (Pinchera *et al.* eds., 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy (Baldwin *et al.* eds., Academic Press, 1985); 및 Thorpe *et*

*al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58. 또한, 예를 들어, PCT 공보 WO 89/12624 참조.).

[0305] 링커

[0306] 전형적으로, 항체-약물 접합체 화합물은 약물 유닛 및 항체 유닛 (즉, 이의 단편의 항체) 사이에 링커 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 세포내 조건 하에서 절단가능하여서, 링커의 절단은 세포내 환경 중에서, 항체 또는 이의 단편으로부터 약물 유닛을 방출시킨다. 또 다른 구현예에서, 링커 유닛은 절단불가하고 약물은 예를 들어, 항체 분해에 의해 방출된다.

[0307] 일부 구현예에서, 링커는 세포내 환경 (예를 들어, 리소솜 또는 엔도솜 또는 카베올레아 내)에 존재하는 절단제에 의해 절단가능하다. 링커는 예를 들어, 제한없이, 리소솜 또는 엔도솜 프로테아제를 포함한, 세포내 펩티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 펩티딜 링커일 수 있다. 일부 구현예에서, 펩티딜 링커는 적어도 2개 아미노산 길이 또는 적어도 3개 아미노산 길이이다. 절단제는 카텝신 B 및 D 및 플라스민을 포함할 수 있고, 이들 전부는 디펩티드 약물 유도체를 가수분해하여 그 결과로 표적 세포 내부에서 활성 약물의 방출을 일으키는 것으로 알려져 있다 (참조: 예를 들어, Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123).

[0308] 가장 전형적으로 191P4D12-발현 세포에 존재하는 효소에 의해 절단가능한 펩티딜 링커가 있다. 이러한 링커의 예는 모든 목적을 위해서 참조로 본 명세서에 편입되는, 예를 들어, 미국 특허 제6,214,345호에 기술된다.

특정 구현예에서, 세포내 프로테아제에 의해 절단가능한 펩티딜 링커는 Val-Cit 링커 또는 Phe-Lys 링커이다 (예를 들어, Val-Cit 링커와 독소루비신의 합성을 기술하는 미국 특허 제6,214,345호를 참조). 치료제의 세포내 단백질가수분해 방출을 사용하는 장점은 그 작용제가 접합될 때 전형적으로 약독화되고 접합체의 혈청 안정성이 전형적으로 높다는 것이다.

[0309] 다른 구현예에서, 절단가능한 링커는, pH-감수성, 즉, 일정 pH 값에서 가수분해에 민감하다.

[0310] 전형적으로, pH-감수성 링커는 산성 조건 하에서 가수분해가능하다. 예를 들어, 리소솜 내에서 가수분해 가능한 산-불안정성 링커 (예를 들어, 히드라존, 세미카르바존, 티오세미카르바존, 시스-아코니트산 아미드, 오르쏘에스테르, 아세탈, 케탈 등)가 사용될 수 있다 (참조; 예를 들어, 미국 특허 제5,122,368호; 제5,824,805호; 제5,622,929호; Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville *et al.*, 1989, Biol. Chem. 264:14653-14661). 이러한 링커는 중성 pH 조건, 예컨대 혈액 중에서는 비교적 안정하지만, 리소솜의 pH에 근사한 pH 5.5 또는 5.0 이하에서는 불안정하다. 일정 구현예에서, 가수분해가능한 링커는 티오에테르 링커 (예컨대, 예를 들어 아실히드라존 결합을 통해 치료제에 부착된 티오에테르 (예를 들어, 미국 특허 제5,622,929호 참조))이다.

[0311] 또 다른 구현예에서, 링커는 환원 조건 하에서 절단가능하다 (예를 들어, 디술피드 링커). 예를 들어, SATA (N-숙신이미딜-S-아세틸티오아세테이트), SPDP (N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트), SPDB (N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)부티레이트) 및 SMPT (N-숙신이미딜-옥시카르보닐-알파-메틸-알파-(2-피리딜디티오)톨루엔), SPDB 및 SMPT를 사용해 형성될 수 있는 것들을 포함하여, 다양한 디술피드 링커가 당분야에 공지되어 있다 (참조: 예를 들어, Thorpe *et al.*, 1987, Cancer Res. 47:5924-5931; Wawrzynczak *et al.*, In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. 또한 미국 특허 제4,880,935호 참조).

[0312] 또 다른 특별한 구현예에서, 링커는 말로네이트 링커 (Johnson *et al.*, 1995, Anticancer Res. 15:1387-93), 말레이미도벤조일 링커 (Lau *et al.*, 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1299-1304), 또는 3'-N-아미드 유사체 (Lau *et al.*, 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1305-12)이다.

[0313] 또 다른 구현예에서, 링커 유닛은 절단불가하고 약물은 항체 분해에 의해 방출된다.

[0314] 전형적으로, 링커는 세포외 환경에 실질적으로 감수성이 아니다. 본 명세서에서 사용되는, 링커의 문맥에서, "세포외 환경에 실질적으로 감수성이 아닌"은 항체-약물 접합체 화합물의 샘플 중 링커의 약 15% 이하, 전형적으로 약 10% 이하, 및 보다 더 전형적으로 약 5% 이하, 약 3% 이하, 또는 약 1% 이하는 항체-약물 접합체 화합물이 세포외 환경 (예를 들어, 혈장) 중에 존재할 때 절단된다는 것을 의미한다. 링커가 세포외 환경에 실질적으로 감수성이 아닌지 여부는 예를 들어, 혈장과 항체-약물 접합체 화합물을 사전결정된 시간 기간 (예를 들어, 2시간, 4시간, 8시간, 16시간, 또는 24시간) 동안 인큐베이션시킨 다음에 혈장 중에 존재하는 유리 약물의 양을 정량하여 결정할 수 있다.

[0315] 약학 조성물

[0316] 본 발명의 다른 목적은 약학적으로 허용가능한 매질 중에, 본 발명의 적어도 하나의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 적어도 하나의 면역접합체를 포함하는 약학 조성물이다.

[0317] 실제로, 이의 투여를 위해서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 또는 본 발명의 면역접합체는 바람직하게 약학 조성물로서 제제화된다.

[0318] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유용한 조성물을 제조하기 위한 공지 방법에 따라 제제화될 수 있는데, 그에 의해서 치료 분자는 약학적으로 허용가능한 매질과 혼합물로 배합된다.

[0319] "약학적으로 허용가능한 매질"은 생물학적 시스템 예컨대 세포, 세포 배양물, 조직 또는 유기체와 상용성인 무독성 재료를 의미한다. 특히, 약학 조성물은 이의 투여가 수령 환자에 의해서 내약성일 수 있으면 "약학적으로 허용가능한 매질"을 포함한다고 한다. 멸균 포스페이트-완충 염수는 약학적으로 허용가능한 담체의 일례이다. 다른 적합한 담체는 당분야에 충분히 공지되어 있다 (참조: 예를 들어, Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, 19th ed. 1995)). 제제는 바이알 표면상에서 단백질 손실 등을 방지하도록 하나 이상의 부형제, 보존제, 가용화제, 완충제, 알부민 등을 더 포함할 수 있다.

[0320] 본 발명의 약학 조성물의 형태, 투여 경로, 용량 및 용법은 일반적으로 치료하려는 병태, 질병의 중증도, 환자의 연령, 체중 및 성별 등에 의존한다.

[0321] 본 발명의 약학 조성물은 국소, 경구, 비경구, 비내, 정맥내, 근육내, 피하, 또는 안내 투여 등을 위해 제제화될 수 있다.

[0322] 바람직하게, 약학 조성물은 주사될 수 있는 제제에 약학적으로 허용가능한 비히클을 함유할 수 있다. 이들은 특히 등장성, 멸균, 염수 용액 (모노소듐 또는 디소듐 포스페이트, 소듐, 포타슘, 칼슘 또는 마그네슘 클로라이드 등 또는 이러한 염의 혼합물), 또는 경우에 따라서, 멸균수 또는 생리적 염수의 첨가 시에, 주사용 용액의 구성을 허용하는 건조, 특히, 냉동-건조 조성물일 수 있다.

[0323] 투여에 사용되는 용량은 다양한 매개변수의 함수에 따라서, 특히 사용되는 투여 방식, 관련 병상, 대안적으로 바람직한 치료 지속 기간의 함수에 따라서 적합화될 수 있다.

[0324] 약학 조성물을 제조하기 위해서, 항체 또는 면역접합체의 유효량을 약학적으로 허용가능한 담체 또는 수성 매질 중에 용해 또는 분산시킬 수 있다.

[0325] 주사용으로 사용에 적합한 약학 형태는 멸균 수성 용액 또는 분산액; 참깨유, 땅콩유 또는 수성 프로필렌 글리콜을 포함하는 제제; 및 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 모든 경우에서, 형태는 멸균되어야 하고 용이한 시린지이용성이 존재하는 정도까지 유동성이어야 한다. 제조 및 저장 조건 하에서 안정해야 하고 박테리아 및 진균같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다.

[0326] 유리 염기 또는 약학적으로 허용가능한 염으로서 활성 화합물의 용액은 계면활성제, 예컨대 히드록시프로필셀룰로스와 적합하게 혼합하여 물에서 제조될 수 있다. 분산액은 또한 글리세롤, 액상 폴리에틸렌 글리콜, 및 이의 혼합물 및 오일 중에서 제조될 수 있다. 통상의 저장 및 사용 조건 하에서, 이들 조제물은 미생물의 성장을 방지하도록 보존제를 함유한다.

[0327] 담체

[0328] 본 발명의 항체, 이의 단편, 또는 면역접합체는 중성 또는 염 형태로 조성물에 제제화될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염은 산 부가 염 (단백질의 유리 아미노산 기와 형성)을 포함하고, 이것은 무기산 예컨대, 예를 들어, 염산 또는 인산, 또는 유기산 예컨대 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 만델산 등과 형성되는 것이다. 유리 카르복실 기와 형성된 염은 또한 무기 염기 예컨대, 예를 들어, 소듐, 포타슘, 암모늄, 칼슘, 또는 철 히드록시드, 및 이소프로필아민, 트리메틸아민, 히스티딘, 프로카인 등과 같은 유기 염기로부터 유도될 수 있다.

[0329] 담체는 또한 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액상 폴리에틸렌 글리콜 등), 이의 적합한 혼합물, 및 식물성 오일을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적합한 유동성은 예를 들어 코팅제, 예컨대 레시틴의 사용에 의해서, 분산물의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해서, 그리고 계면활성제의 사용에 의해서 유지될 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 솔브산, 티머로살 등에 의해 야기될 수 있다. 많은 경우에, 등장

화제, 예컨대 당 또는 소듐 클로라이드를 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사 조성물의 장기간 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물에서 사용하여 야기시킬 수 있다.

[0330] 멸균 주사 용액은 상기 열거된 다양한 다른 성분과 적절한 용매 중에 필요량으로 활성 화합물을 도입시키고, 필요하면, 이후 여과 멸균하여 제조된다. 일반적으로, 분산물은 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것들로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 중에 다양한 멸균 활성 성분을 도입시켜서 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성 성분과 이의 이전에 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가적인 바람직한 성분의 분말을 생성시키는 진공-건조법 및 동결-건조법이다.

[0331] 직접 주사를 위해 보다, 또는 고도로 농축된 용액의 제조가 또한 고려되고, 극도로 빠른 침투를 일으켜서, 작은 종양 면적에 고농도의 활성제를 전달하게 되는 용매로서 DMSO의 사용이 고려된다.

[0332] 제제화시에, 용액은 치료적으로 유효한 양으로 용량 제제와 상용성인 방식으로 투여될 것이다. 제제는 다양한 제형, 예컨대 상기 기술된 유형의 주사 용액으로 용이하게 투여되지만, 약물 방출 캡슐 등이 또한 적용될 수 있다.

[0333] 수성 용액 중 비경구 투여를 위해서, 예를 들어, 용액은 필요하면 적합하게 완충되어야 하고 액상 희석제는 먼저 충분한 염수 또는 포도당과 등장성이 되게 해야 한다. 이들 특정 수성 용액은 정맥내, 근육내, 피하, 및 복강내 투여에 특히 적합하다. 이와 관련하여, 적용할 수 있는 멸균 수성 매질은 본 개시의 관점에서 당업자에게 공지될 것이다. 예를 들어, 하나의 용량은 1 mL의 등장성 NaCl 용액에 용해될 수 있고 1000 mL의 대량피하주사 유체에 첨가되거나 또는 제안된 주입 부위에 주사될 수 있다 (참조: 예를 들어, "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, 페이지 1035-1038 및 1570-1580). 용량의 일부 변동은 치료되는 대상체의 상태에 의존하여 반드시 일어날 것이다. 투여 담당자는 임의 상황에서, 개별 대상체에 적절한 용량을 결정할 것이다.

[0334] 본 발명의 항체 또는 면역접합체는 용량 당 약 0.0001 내지 1.0 밀리그램, 또는 약 0.001 내지 0.1 밀리그램, 또는 약 0.1 내지 1.0 또는 심지어 약 50 밀리그램 등을 포함하도록 치료 혼합물 내에 제제화될 수 있다. 다수 용량이 또한 투여될 수 있다.

[0335] 비경구 투여, 예컨대 정맥내 또는 근육내 주사를 위해 제제된 화합물이외에도, 다른 약학적으로 허용가능한 형태는 예를 들어, 정제 또는 경구 투여용 다른 고체; 시간 방출 캡슐; 및 현재 사용되는 임의의 다른 형태를 포함한다.

[0336] 일정 구현예에서, 리포솜 및/또는 나노입자의 사용이 숙주 세포에 항체의 도입을 위해 고려된다. 리포솜 및/또는 나노입자의 형성 및 사용은 당업자에게 공지되어 있다.

[0337] 나노캡슐은 일반적으로 안정하고 재현가능한 방식으로 화합물을 포획할 수 있다. 세포내 중합체 과부하로 인한 부작용을 피하기 위해서, 이러한 초미세 입자 (대략 0.1 ㎛ 크기)는 일반적으로 생체내에서 분해될 수 있는 중합체를 사용해 디자인된다. 이들 요건을 충족하는 생분해성 폴리알킬-시아노아크릴레이트가 본 발명에서 사용에 고려되고, 이러한 입자는 쉽게 만들 수 있다.

[0338] 리포솜은 수성 매질에 분산되어서 다층 동심원 이중층 소포체 (다층 소포체 (MLV)라고도 함)를 자발적으로 형성하는 인지질로부터 형성된다. MLV는 일반적으로 25 nm 내지 4 ㎛의 직경을 갖는다. MLV의 초음파 처리는 코어부에 수성 용액을 함유하는 200 내지 500 Å 범위의 직경을 갖는 소형 단층 소포체 (SUV)의 형성을 야기시킨다. 소포체의 물리적 특징은 pH, 이온 강도, 및 2가 양이온의 존재에 의존한다.

[0339] 치료적 응용

[0340] 본 발명의 다른 목적은 약물로서 이의 사용을 위한 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 본 발명의 세포 또는 본 발명의 조성물에 관한 것이다.

[0341] 특히, 본 발명의 목적은 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로 발생되는 질환의 예방 및/또는 치료에서 이의 사용을 위한 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 본 발명의 세포 또는 본 발명의 조성물에 관한 것이다.

[0342] 본 명세서의 다른 곳에 이미 개시된 바와 같이, 본 발명의 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포, 및 조성물은 본 명세서에서 다음과 같이 입증되었으므로, AMHR-II 및 AMH 간 상호작용으로 발생된 임의 질환을 예방 또는 치료

하는데 사용될 수 있다:

[0343] - AMHR-II 및 AMH 간 상호작용으로 촉발되는 신호전달 경로(들)는 본 명세서에서 고려되는 병상에서 질환-후 효과를 가지며, 특히 그들 표면 상에서 AMHR-II를 발현하는 암에서 종양발생-후 효과를 가지고;

[0344] - 본 발명에 따른 항체 또는 이의 단편은 (i) AMHR-II를 특이적으로 인식하고, (ii) AMH의 관점에서 경쟁적 성질을 가지며, (iii) 상기 정의된 바와 같은 길항제 성질을 갖는다.

[0345] 특히, AMHR-II 및 AMH 간 상호작용으로 발생되는 상기 질환은 다낭성 난소 증후군 (PCOS)일 수 있다 (Pierre A *et al.*, J Clin Endocrin Metab 2017; 102(11): 3970-3978).

[0346] 상기 질환은 또한 자궁내막증 (Signorile *et al.*, J Exp Clin Cancer 2014; 33:46:1-9) 또는 조기 폐경 (Victoria *et al.*, J Gynecol Hum Reprod 2019; 48:19-24)일 수 있다.

[0347] 또한 상기 질환은 AMHR-II의 발현과 연관된 암 (즉, 그의 암 세포가 그들 표면 상에서 AMHR-II를 발현하는 암)으로부터 선택될 수 있다.

[0348] 이러한 암은 부인과 암 또는 비-부인과 암일 수 있다.

[0349] AMHR-II의 발현과 연관된 상기 암은 특히 부인과 암; 결장암; 폐암; 간세포 암종; 고환암; 췌장암; 신장암; 유방암; 갑상선암; 위암; 부신암; 방광암 및 전립선암으로부터 선택될 수 있다 (Barret *et al.*, Proc AACR Annual Meeting, 2018, Abst 774).

[0350] 특정 구현예에서, 상기 언급된 AMHR-II의 발현과 연관된 암은 특히 결장암; 폐암; 간세포 암종; 고환암; 췌장암; 신장암; 유방암; 갑상선암; 위암; 부신암; 방광암 및 전립선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 비-부인과 암이다.

[0351] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 환자는 본 발명에 따른 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포 또는 조성물에 의한 치료를 수행하기 전에, 그들 질환 세포, 특히 그들 암 세포가 그들 표면 상에서 AMHR-II를 발현하는지 여부를 결정하기 위해 검사된다.

[0352] 일반적으로 사용되는 질환 세포는 상기 환자로부터 이전에 수집된 생검 조직 샘플로부터 기원된다.

[0353] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포 또는 조성물은 표적 질환에 대한 단독 활성 성분으로서, 예컨대, 예를 들어 단독 항-암 활성 성분으로서 사용된다.

[0354] 일부 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 상기 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포 또는 조성물에 의한 칠환의 치료는 또한 상기 개체에 대해서 관심 질환에 대한 하나 이상의 추가 치료(들), 예컨대, 예를 들어 하나 이상의 추가 항-암 치료(들) 또는 항-암제(들)를 가하는 것을 포함한다.

[0355] "항암 치료"는 예를 들어 방사선요법 치료를 포함할 수 있다.

[0356] "항암제"는 거대분자 (DNA, RNA, 단백질 등)의 생합성을 방해할 수 있거나 또는 세포 증식을 억제할 수 있거나, 또는 예를 들어 아폽토시스 또는 세포독성에 의한 세포 사멸을 초래할 수 있는 임의 분자로서 정의된다. 항암제 중에서, 알킬화제, 토포이소머라제 억제제 및 인터컬레이팅제, 항-대사산물제, 절단제, 튜불린 방해제, 단일클론 항체를 언급할 수 있다.

[0357] 본 발명에 따른 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포, 또는 조성물과 병용하여 사용할 수 있는 다른 항-암제는 파클리탁셀 또는 플래티늄 염 예컨대 옥살리플라틴, 시스플라틴 및 카르보플라틴을 포괄한다.

[0358] 항암제는 또한 플래티늄 염 이외의 화학요법제, 소형 분자, 단일클론 항체 또는 그외 항-혈관생성 펩티도바디로부터 선택될 수 있고, 이들 작용제는 상기에 상술된 본 발명의 목적과 상이하다.

[0359] 플래티늄 염 이외의 화학요법제는 인터컬레이팅제 (DNA 복제 및 전사 차단), 예컨대 안트라사이클린 (독소루비신, PEG화 리포솜 독소루비신), 토포이소머라제 억제제 (캄프토테신 및 유도체: 카레니테신, 토포테칸, 이리노테칸), 또는 그외 SJG-136, 히스톤 데아세틸라제의 억제제 (보리노스타트, 벨리노스타트, 발프로산), 알킬화제 (벤다무스틴, 글루포스파미드, 테모졸로미드), 항-유사분열 식물 알칼로이드, 예컨대 탁산 (도세탁셀, 파클리탁셀), 빈카 알칼로이드 (비노렐빈), 에포틸론 (ZK-에포틸론, 익사베필론), 항-대사산물 (젬시타빈, 엘라시타라빈, 카페시타빈), 키네신 스핀들 단백질 (KSP) 억제제 (이스피네십), 트라벡테딘 또는 그외 옴브라불린 (콤브레타스타틴 A-4 유도체)을 포함한다.

[0360] 소형 분자 중에는 폴리(ADP-리보스)중합효소 (PARP) 억제제: 올라파립, 이니파립, 벨리파립, 루카파립, CEP-9722, MK-4827, BMN-673, 키나제 억제제, 예컨대 티로신 키나제 억제제 (TKI)가 존재하고 이중에서 언급할 수 있는 것은 항-VEGFR 분자 (소라페닙, 수니티닙, 세디라닙, 반데타닙, 파조파닙, BIBF 1120, 세막사닙, 카보잔티닙, 모테사닙), 항-HER2/EGFR 분자 (엘로티닙, 제피티닙, 라파티닙), 항-PDGFR 분자 (이마티닙, BIBF 1120), 항-FGFR 분자 (BIBF 1120), 오로라 키나제/티로신 키나제 억제제 (ENMD-2076), Src/Abl 키나제 억제제 (사라카티닙), 또는 또한 페리포신, 템시롤리무스 (mTOR 억제제), 알보시딥 (사이클린-의존적 키나제 억제제), 볼라세르팁 (PLK1 (polo-like kinase 1) 단백질의 억제제), LY2606368 (체크포인트 키나제 1 (chk 1)의 억제제), GDC-0449 (헤지호그 경로 억제제), 지보텐탄 (ETA-수용체의 길항제), 보르테조밉, 칼필조밉 (프로테아솜 억제제), 사이토카인 예컨대 IL-12, IL-18, IL-21, INF-알파, INF-감마가 있다.

[0361] 항체 중에서 언급할 수 있는 것들에는, 항-VEGF: 베바시주맙, 항-VEGFR: 라무시루맙, 항-HER2/EGFR: 트라스투주맙, 퍼투주맙, 세툭시맙, 파니투무맙, MGAH22, 마투주맙, 항-PDGFR 알파: IMC-3G3, 항-폴레이트 수용체: 파레투주맙, 항-CD27: CDX-1127, 항-CD56: BB-10901, 항-CD105: TRC105, 항-CD276: MGA271, 항-AGS-8: AGS-8M4, 항-DRS: TRA-8, 항-HB-EGF: KHK2866, 항-메소테린: 아마툭시맙, BAY 94-9343 (면역독소), 카투막소맙 (EpCAM/CD3 이중결합 항체), 항-IL2R: 다클리주맙, 항-IGF-1R: 가니투맙, 항-CTLA-4: 이필리무맙, 항-PD1: 니볼루맙 및 펨브롤리주맙, 항-CD47: 와이즈만 B6H12 및 Hu5F9, 노비뮨 5A3M3, INHIBRX 2A1, 프라지어 VxP037-01LC1 항체, 항-루이스 Y: Hu3S193, SGN-15 (면역독소), 항-CA125: 오레고보맙, 항-HGF: 릴로투무맙, 항-IL6: 실툭시맙, 항-TR2: 티가투주맙, 항-알파5 베타1 인테그린: 볼로식시맙, 항-HB-EGF: KHK2866이 있다. 항-혈관생성 펩티바디는 AMG 386 및 CVX-241로부터 선택된다.

[0362] 본 발명에 따른 항체, 면역접합체, 세포 또는 조성물 및 표적 질환에 대한 추가 치료는 하나 및 동일한 약학 조성물 내에서 조합될 수 있거나, 또는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있는 별개 약학 조성물의 형태로 사용될 수 있다. 특히, 생성물은 별도로, 즉 동시발생적으로, 또는 독립적으로, 예를 들어, 시간 갭들 두고 투여될 수 있다.

[0363] 본 발명은 또한 상기 정의된 바와 같이 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로부터 발생된 질환을 예방 또는 치료하기 위한 약물의 제조를 위한 본 발명에 다른 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포 또는 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0364] 본 발명은 또한 상기 정의된 바와 같은 AMHR-II 및 항-뮐러관 호르몬 (AMH) 간 상호작용으로부터 발생되는 질환의 예방 또는 치료를 위한 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 본 발명에 따른 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포 또는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0365] 키트

[0366] 마지막으로, 본 발명은 또한 본 발명의 적어도 하나의 항체, 이의 단편, 면역접합체, 세포 또는 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 이들 목적 중 적어도 하나를 함유하는 키트는 예를 들어 AMHR-II 발현의 검출, 또는 치료 또는 진단 어세이에서 용도를 찾을 수 있다. 본 발명의 키트는 고형 지지체, 예를 들어 조직 배양 플레이트 또는 비드 (예를 들어, 세파로스 비드)에 커플링된 항체를 함유할 수 있다. 키트는 예를 들어 ELISA 또는 웨스턴 블롯으로, 시험관 내에서 AMHR-II의 검출 및 정량을 위한 항체를 함유하는 것이 제공될 수 있다. 검출에 유용한 항체는 형광 또는 방사성표지같은 표지가 제공될 수 있다.

[0367] 본 발명은 임의 방식으로 제한하지 않고, 하기 실시예를 통해서 더욱 예시한다.

[0368] **실시예**

[0369] **실시예 1: AMHR-II의 세포외 도메인 수용체에 대한 항-AMHR-II 항체의 결합**

[0370] 항-AMHR-II 4A3 항체의 결합 능력은 ELISA를 통해서 평가하였다. ELISA 플레이트 (96웰, Maxisorp, Nunc)는 밤새 +4℃에서 웰 당 100 ng의 인간 AMHR-II-ECD-Fc, 래트 AMHR-II-ECD-Fc 또는 인간 ALK3-ECD-Fc (R&D Systems)로 코팅하였다.

[0371] 코팅된 플레이트는 PBS-BSA 2%로 1시간 동안 37℃에서 차단시켰고 3회 PBS-Tween20 0.05%로 세척하였다. 항-AMHR-II 4A3 항체를 PBST-BSA1% 중에 연속 희석하였고 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 결합된 항-AMHR-II 4A3은 1:10000으로 희석된 HRP-접합된 F(ab')2 염소 항-인간 F(ab')2 단편 특이적 항체 (Interchim)를 첨가하고 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션하여 검출하였다. TMB (Sigma)로 발색시켰고 반응은 $H_2SO_4$ 1N (v:v)을 첨가하여 중단시켰다. 흡광도를 450 nm에서 측정하였고 결합 데이터 곡선은 GraphPad

Prism 8 소프트웨어를 사용해 분석하였다.

[0372] 도 1은 4A3 항체의 결합 곡선의 예를 도시한다.

[0373] 래트 AMHR-II-ECD-Fc 및 인간 ALK3-ECD-Fc (음성 대조군)에 대해서 교차-반응성은 검출되지 않았다. 인간 AMHR-II에 대한 4A3의 EC50은 6 nM (+/-2)이었다.

[0374] **실시예 2: 형질감염 세포주의 표면에서 AMHR-II 수용체에 대한 항-AMHR-II 항체의 결합**

[0375] COV434 AMHR-II 형질감염 및 COV434 WT 세포주는 10% FBS, 페니실린 100 U/mL 및 스트렙토마이신 100 ㎍/mL이 보충된 DMEM/GlutaMax (Gibco)에 유지시켰다. 666 ㎍/mL의 제네티신을 COV434 AMHR-II 형질감염 세포주의 경우에 첨가하였다.

[0376] 형광-활성화 세포 분류법 (FACS) 분석을 위해서, 3 x $10^5$ 세포를 1시간 동안 4℃에서 10 ㎍/mL의 4A3 항체 (도 2A) 또는 일정 범위 농도의 4A3 (67 nM 내지 0.2 pM, 도 2B)와 인큐베이션시켰다. 세척 후에, 파이코에리쓰린-접합된 항-인간 IgG 항체 (1:200, Interchim)를 1시간 동안 4℃에서 첨가하였다. 재현탁된 세포의 FACS 분석은 BD Accuri™ C6 유세포측정기 (BD Bioscience)에서 수행하였다. 결합 친화성은 "1-부위 특이적 결합" 적합 방정식과 GraphPad Prism 8을 사용해 결정하였다.

[0377] 도 2A는 COV434 AMHR-II 형질감염 세포주에 대한 4A3 항체의 특이적 결합을 도시한다. COV434 WT에서는 비특이적 결합이 검출되지 않았다.

[0378] 도 2B는 일정 범위의 4A3 농도에 대한 결합 곡선의 예를 도시한다. 겉보기 Kd는 2.1 ± 0.5 nM이었다.

[0379] **실시예 3: 항체 4A3은 COV434-AMHR-II 세포주에서 AMH에 의해 유도된 SMAD1 인산화의 억제를 매개한다**

[0380] Smad1 인산화 수준은 HTRF (Homogeneous Time Resolved Fluorescence) 방법 세포 어세이를 사용해 평가하였다. provided by CisBio가 제공하는 인산화-Smad1 Ser463/465 키트 (카탈로그 번호 63ADK063PEG)를 사용하여 COV434 세포주에서 Smad1의 인산화 수준을 정량하였다.

[0381] 간략하게, 25.000 세포를 삼중으로 96웰 플레이트에 플레이팅하였다. 플레이트에 세포가 부착된 이후에, 배지는 0.2%의 혈청 (SVF)이 보충된 페놀 레드가 없는 DMEM 배지로 교체하였다. 밤새 인큐베이션 이후에, 페놀 레드가 없는 무혈청 배지에서 어세이 절차를 수행하였다. 다음으로 세포는 상이한 성분 AMH (Cter AMH, R&D Systems), BMP2 (R&D Systems) 또는 AMH/항체 4A3의 혼합물을 상이한 농도로 함유하거나, 또는 함유하지 않는 100 ㎕/웰의 총 부피의 배지 중에서 인큐베이션시켰다. 세포는 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션되었고 그 다음에 진탕하면서 실온에서 45분 동안 50 ㎕/웰의 보충된 용해 완충액 중에서 용해시켰다. 각 용해물의 16 ㎕ 부피를 96웰 저 부피 백색 플레이트로 옮겨서 2 ㎕의 항-Smad1 d2 항체 및 2 ㎕의 항-인산화-Smad1 유로퓸/터븀 크립테이트 항체 혼합물과 20 ㎕/웰의 최종 부피로 검출 완충액 중에 제조하였다. 미-처치 세포 용해물, 음성 대조군, 대조군 용해물 및 블랭크는 제조사의 설명서에 따라 제조하였다. 다음으로 플레이트는 시간-분해 형광 방식으로 판독하였고, 균질 시간-분해 형광 (HTRF) 신호 비는 식 HTRF 비 = 10.000 × (Em665nm/Em620nm)에 따라서 결정하였다. 데이터는 GraphPad Prism 8 소프트웨어를 사용해 분석하였고 통계 p 값은 통상의 일원 ANOVA 검정을 사용해 결정하였다.

[0382] 도 3A는 AMHR-II 수용체의 발현 부재 (또는 계대배양 수에 의존하여 매우 낮음)와 일관되게 COV434-WT에서 Smad1 인산화의 자극이 일어나지 않았다는 것을 보여준다. COV434 세포주는 Samd 경로와 커플링된 BMPR2 수용체를 발현한다. BMPR2 수용체에 대한 리간드인 BMP2를 양성 대조군으로 사용하여 COV434 세포주에서 Smad 경로의 기능성을 검증하였다.

[0383] 도 3B는 인간 AMHR-II 수용체를 발현하는 COV34 형질감염 세포주에 대한 AMH의 특이적 효과를 도시한다. 도 3A와 대조적으로, Smad1 인산화의 용량 반응이 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL 및 300 ng/mL의 AMH 농도 증가에 따라 획득되었다. 100 ng/mL이 최대 Smad1 인산화를 제공하는 농도였다.

[0384] 도 4는 100 ng/mL에서 AMH로 수득된 Smad1 인산화의 백분율 및 100 ㎍/mL의 항체 4A3 및 GM102의 경쟁적 효과를 도시한다. GM102는 Smad1 인산화에 대한 억제 효과를 갖지 않았다.

[0385] 도 5는 AHM에 의해 유도된 Smad1 인산화에 대한 본 발명에 따른 항체, 4A3의 존재의 효과를 도시한다. AMH가 1 ng/mL, 10 ng/mL 또는 100 ng/mL의 농도이건 간에, 4A3의 용량 반응 효과가 상기 인산화에 대해서 관찰된다. 도 5A는 1 ng/mL, 10 ng/mL 및 100 ng/mL의 AMH에서 수득된 HTRF 비 및 각 AMH 농도에서 1 ㎍/mL, 10 ㎍/mL 및 100 ㎍/mL 농도의 항체 4A3의 경쟁적 효과를 도시한다. 도 5B, 5C, 5D는 AMH의 농도 및 사용된

4A3 길항제 항체의 농도에 의존한 Smad1 인산화의 상응하는 백분율을 도시한다.

[0386] 이들 결과는 본 발명의 항체가 AMHR-II와 결합할 때 경쟁적 능력뿐만 아니라, 길항제 성질도 갖는다는 사실을 예시한다.

[0387] **실시예 4: 항체 4A3은 종양 세포의 생존을 용량-의존적 방식으로 억제한다**

[0388] 세포 생존능 어세이는 제조사의 권고에 따라서 표준 MTT 어세이를 사용해 평가하였다.

[0389] SW620 직결장 암 세포주는 웰 당 15000 세포로 96웰 플레이트에 플레이팅하였다. 5% $CO_2$ 하에 37℃에서 24 시간 이후에, 세포는 50 ng/mL의 AMH (R&D Systems) 존재 또는 부재 하에서 사중으로 연속 희석된 4A3 항체 농도와 인큐베이션되었다. 플레이트는 37℃에서 5% $CO_2$ 하에 추가 48시간 동안 인큐베이션되었다. 물질대사 활성의 측정을 통해 생존 세포의 정량을 가능하게 하는 MTT 시약을 첨가하였고 플레이트는 590 nm에서 광학 밀도를 판독하였다. 데이터는 GraphPad Prism 8 소프트웨어를 사용해 분석하였고 통계 p 값은 통상의 일원 ANOVA 검정을 사용해 결정하였다.

[0390] 도 6A 및 B는 50 ng/mL의 AMH의 존재 하에서 4A3 항체에 의한 SW620 세포 생존능의 용량-의존적 억제를 도시한다.

[0391] 이들 도면은 본 발명의 항체로부터 종양 세포의 생존의 용량-의존적 억제를 도시한다.

[0392] **실시예 5: LS411N 직결장 암 세포의 생존에 대한 길항제 4A3 항체 및 중화 3C23K 항체의 비교**

[0393] LS411 직결장암 세포주는 웰 당 6000 세포로 96웰 플레이트 상에 플레이팅하였다. 37℃에서 5% $CO_2$ 하에 24 시간 이후에, 세포는 100 ng/mL의 AMH (R&D Systems)와 삼중으로 연속 희석된 4A3 항체 농도와 인큐베이션되었다. 플레이트는 37℃에 5% $CO_2$ 하에 추가 96시간 동안 인큐베이션되었다. 세포 생존능 어세이는 제조사의 프로토콜에 따라서 Cell Titer Blue 어세이 (Promega)를 사용해 평가되었다. 물질대사 활성의 측정에 의해 생존 세포의 정량을 가능하게 하는 CellTiter Blue 시약을 첨가하였고 플레이트는 각각 544 nm 및 590 nm의 여기 및 방출 파장에서 최대 2시간 이후에 형광계를 사용해 판독하였다. 데이터는 GraphPad Prism 8 소프트웨어를 사용해 분석하였고 통계 p 값은 통상의 일원 ANOVA 검정을 사용해 결정하였다. 비교 데이터는 4A3 항체 대신에 3C23K 항체 (예를 들어 WO2011141653에 정의된 바와 같이, 당분야에 공지됨)를 사용하여 유사하게 수득하였다.

[0394] 도 7은 약 75 μg/mL의 AMH의 존재 하에 4A3 항체에 의해 LS411N 세포 생존능이 용량-의존적으로 억제되는 한편 3C23K 항체는 세포 생존능에 임의 효과를 갖지 않았음을 도시한다.

[0395] **실시예 6: 환자 유래 직결장 인간 암 조직의 면역조직화학적 연구**

[0396] 환자로부터의 직결장 선암종의 조직 절편을 AMHR-II 수용체 및 리간드 AMH 발현에 대해 분석하였다.

[0397] AMHR-II 수용체 발현은 mAb r3C23K (토끼 키메라 3C23K 항체) 및 Dako/Agilent Autostainer Link 48을 사용하여 검출하였다. 음성 대조군은 미관련 토끼 IgG1 항체와 인큐베이션된 슬라이드로 이루어졌다. 조직 절편은 탈-파라핀화하였고 표적 회수는 pH9.0에 90℃에서 15분 동안 수행하였다. 다음으로 슬라이드는 하기 단계로 Autostainer 상에서 면역조직화학을 위해 처리되었다: 희석된 토끼 항-AMHR-II 1차 항체 (2.5μg/mL)와 60분 동안 실온 (RT)에서 인큐베이션시키는 단계, rabbitLinker와 15분 동안 RT에서 인큐베이션시키는 단계, 및 EnvisionFlex 검출 키트로 20분 동안 RT에서 검출하는 단계.

[0398] 리간드 AMH 발현은 항-AMH mAb 클론 5/6 (GeneTex,GTX42794) 및 LEICA Bond III Automaton을 사용해 검출하였다. 음성 대조군은 미관련 마우스 IgG1 항체와 인큐베이션된 슬라이드로 이루어졌다. 조직 절편은 탈파라핀화시켰고 표적 회수는 pH6.0에 100℃에서 20분 동안 수행하였다. 다음으로 슬라이드는 하기 단계로 LEICA Bond III Automaton 상에서 면역조직화학을 위해 처리되었다: 희석된 토끼 항-AMH 1차 항체 (1/50 희석)와 30분 동안 RT에서 인큐베이션시키는 단계, 1차 후 항체 및 중합체 완충액과 인큐베이션시키는 단계 (RT에서 각 8분), 및 Bond Polymer Refine 검출로 검출하는 단계.

[0399] 반-정량 평가는 독립 병리학자가 수행하였고, 염색 강도 (0, 1+, 2+, 3+) 및 염색된 종양 세포의 백분율을 보고하였다.

[0400] 도 8-10은 3종의 직결장 선암종 상에서 AMHR-II 및 AMH 염색의 대표도를 도시한다. AMHR-II 및 AMH 어세이

에 대한 음성 대조군은 종양 세포 상에서 반응성이 없었다. 이들 3종 직결장암 경우에, AMHR-II 및 이의 리간드 AMH의 발현은 염색 강도로 검출되었고 표지된 종양 세포의 %는 표 아래에 표시되었다.

| 샘플 ID | 조직학 | AMHRII 발현 | AMH 발현 | 도면 N° |
|---|---|---|---|---|
| CRC-17A17897 | 대장 샘암종 | **90% 2/3+** | **25% 2+** | 8 |
| CRC-17A19702 | 대장 샘암종 | **60% 2/3+** | **40% 2+** | 9 |
| CRC-18A02837 | 대장 샘암종 | **100% 1/2+** | **15% 2+** | 10 |

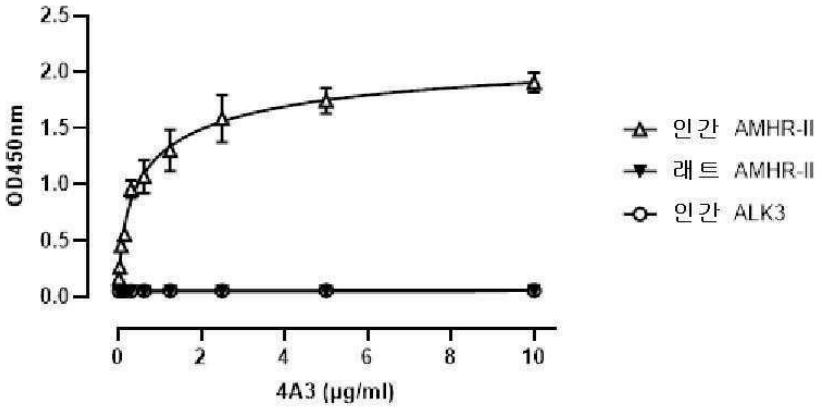
[0401]

[0402] 흥미롭게도, AMHR-II 발현이 양성인 이들 3종의 직결장 암 샘플에서, 리간드 AMH의 존재가 충분히 검출되었다. 게다가, 고강도 AMHR-II 염색의 2종 CRC 샘플 - 표시된 종양 세포의 90% 및 60% 경우에서 2/3+인 CRC17A17897 및 CRC17A19702 -의 경우에 AMH 리간드가 또한 2+ 염색 강도의 유의한 수준에서 검출되었고 종양 세포의 25% 및 40%가 각각 표지되었다. CRC18A02837 경우에, AMHR-II 강도 염색은 낮았고 (1/2+) AMH 리간드는 종양 세포의 오직 15%에서만 검출되었다.

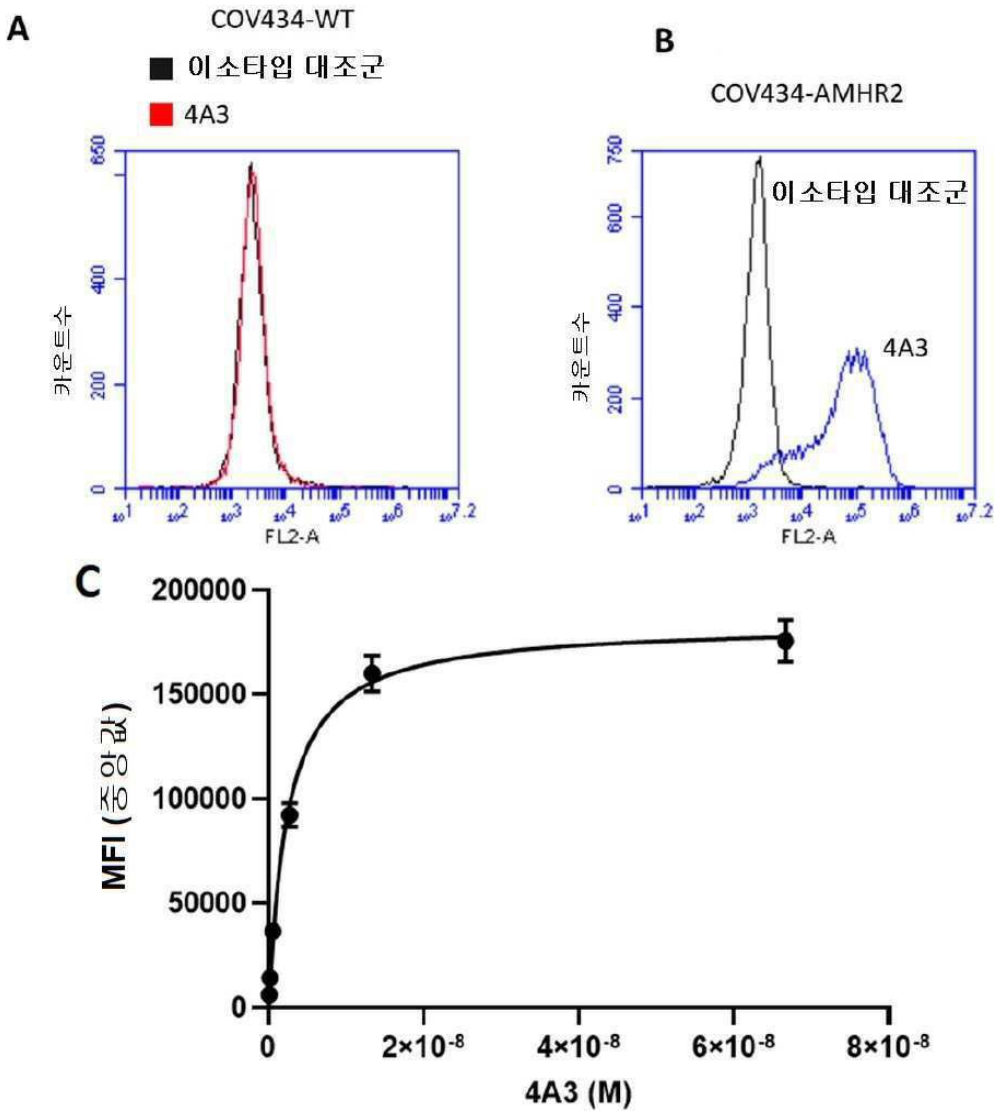
[0403] 이들 전례없는 결과들은 AMHR2 및 AMH 간 자가분비 루프가 직결장 암의 병리생리학에 관여하여, 이의 수용체에 대한 AMH의 효과를 길항할 수 있는 암에서의 항-AMHR2 항체를 개발하기 위한 혁신적인 근거를 제공한다는 것을 강력하게 시사한다.

## 도면

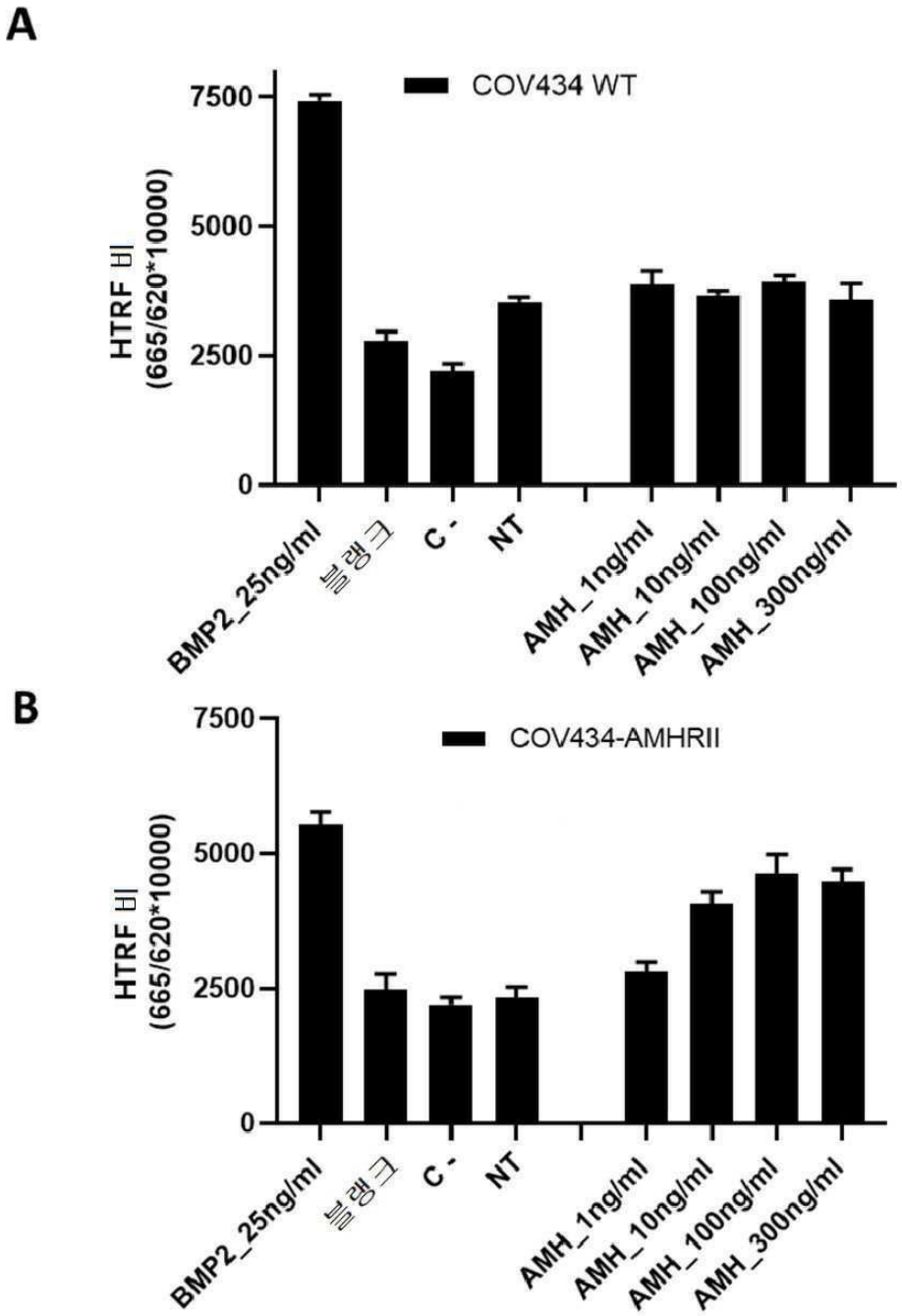
### 도면1



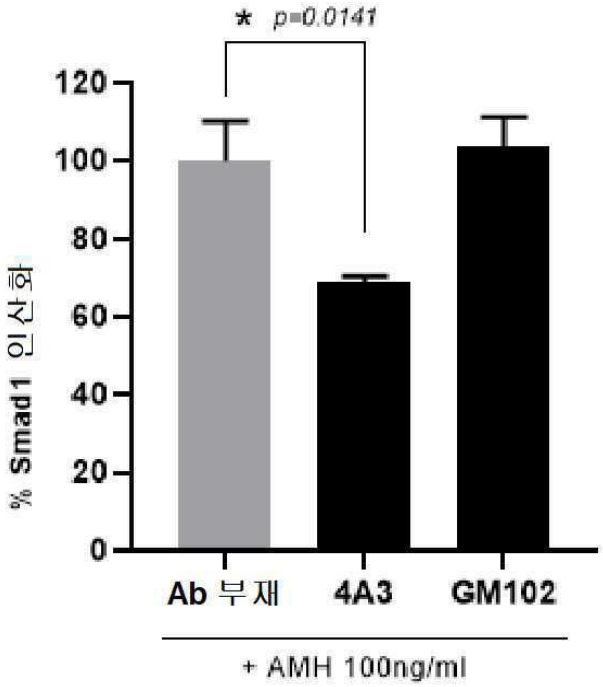
도면2


A
COV434-WT
이소타입 대조군
4A3
카운트수
FL2-A
B
COV434-AMHR2
이소타입 대조군
4A3
카운트수
FL2-A
C
MFI (중앙값)
200000
150000
100000
50000
0
0
2×10-8
4×10-8
6×10-8
8×10-8
4A3 (M)

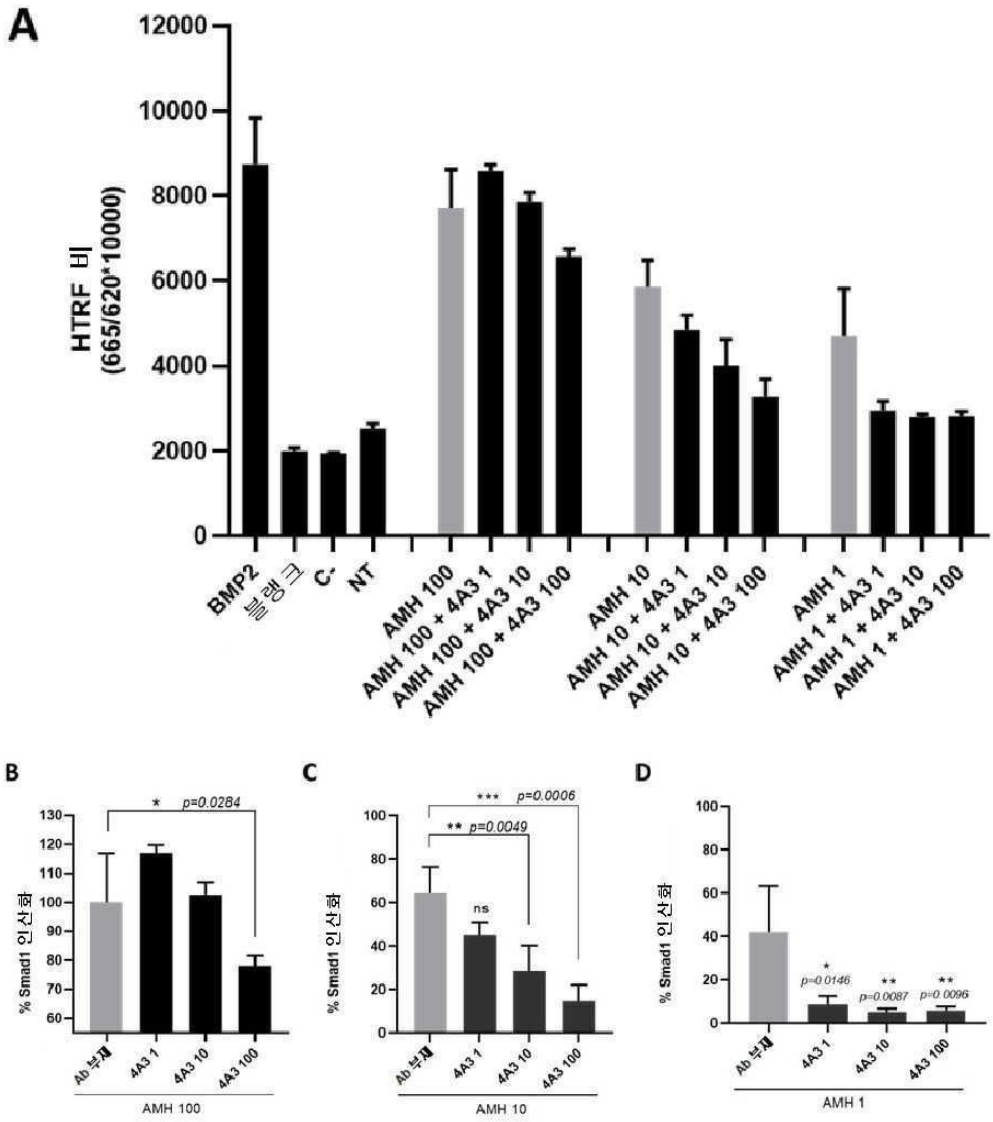
도면3


A
COV434 WT
HTRF 비
(665/620*10000)
7500
5000
2500
0
BMP2_25ng/ml
블랭크
C-
NT
AMH_1ng/ml
AMH_10ng/ml
AMH_100ng/ml
AMH_300ng/ml
B
COV434-AMHRII
HTRF 비
(665/620*10000)
7500
5000
2500
0
BMP2_25ng/ml
블랭크
C-
NT
AMH_1ng/ml
AMH_10ng/ml
AMH_100ng/ml
AMH_300ng/ml

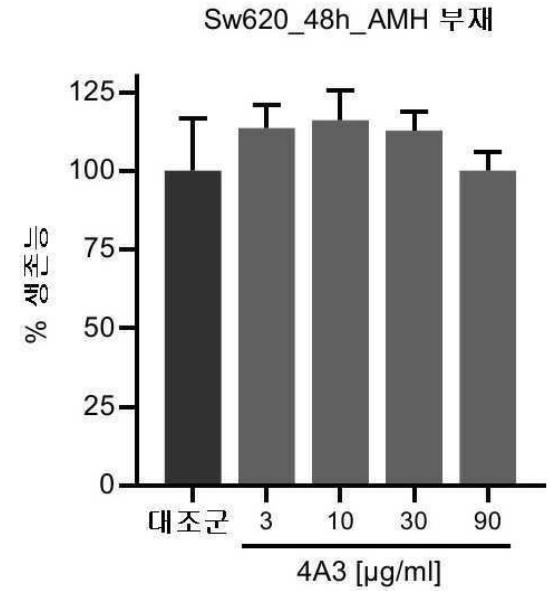
도면4

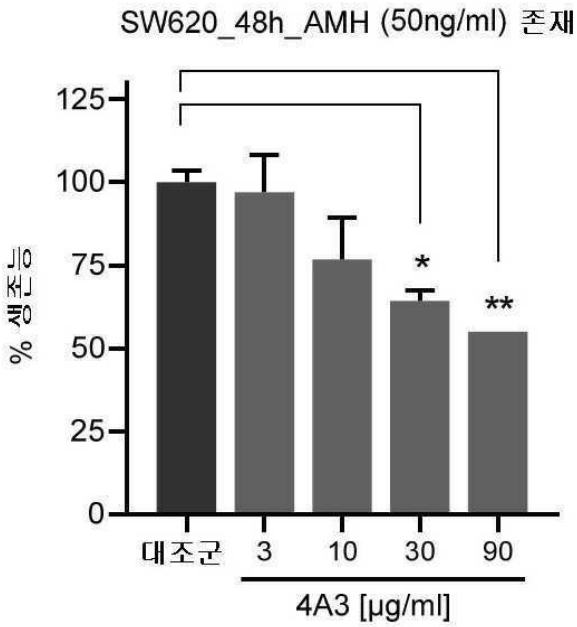

* p=0.0141
120
100
80
60
40
20
0
% Smad1 인산화
Ab 부재
4A3
GM102
+ AMH 100ng/ml

도면5

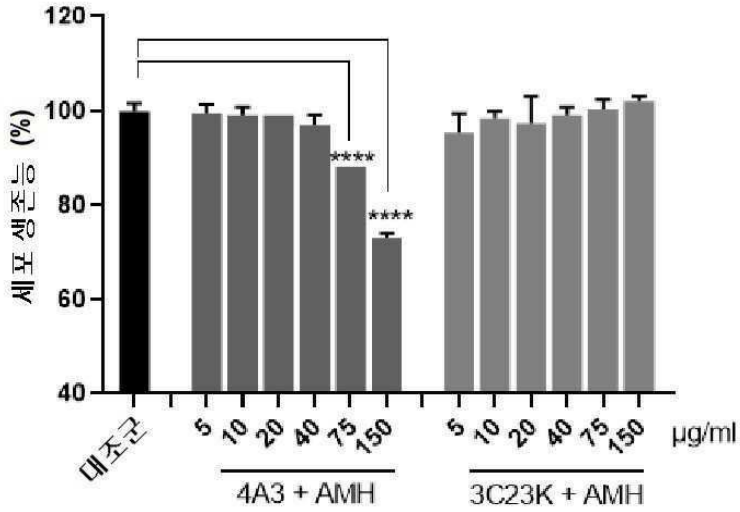

A
HTRF 비
(665/620*10000)
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
BMP2
블랭크
C-
NT
AMH 100
AMH 100 + 4A3 1
AMH 100 + 4A3 10
AMH 100 + 4A3 100
AMH 10
AMH 10 + 4A3 1
AMH 10 + 4A3 10
AMH 10 + 4A3 100
AMH 1
AMH 1 + 4A3 1
AMH 1 + 4A3 10
AMH 1 + 4A3 100
B
% Smad1 인산화
* p=0.0284
Ab 뉴트
4A3 1
4A3 10
4A3 100
AMH 100
C
% Smad1 인산화
*** p=0.0006
** p=0.0049
ns
AMH 10
D
% Smad1 인산화
* p=0.0146
** p=0.0087
** p=0.0096
AMH 1

도면6

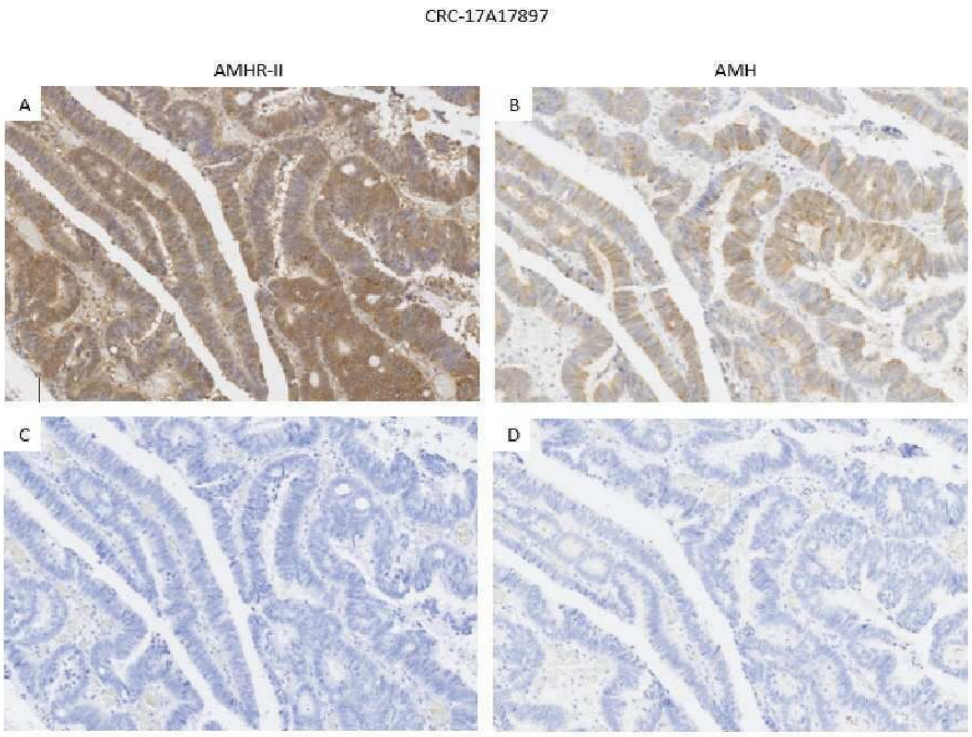

Sw620_48h_AMH 부재
% 생존능
125
100
75
50
25
0
대조군
3
10
30
90
4A3 [μg/ml]


SW620_48h_AMH (50ng/ml) 존재
% 생존능
125
100
75
50
25
0
*
**
대조군
3
10
30
90
4A3 [μg/ml]

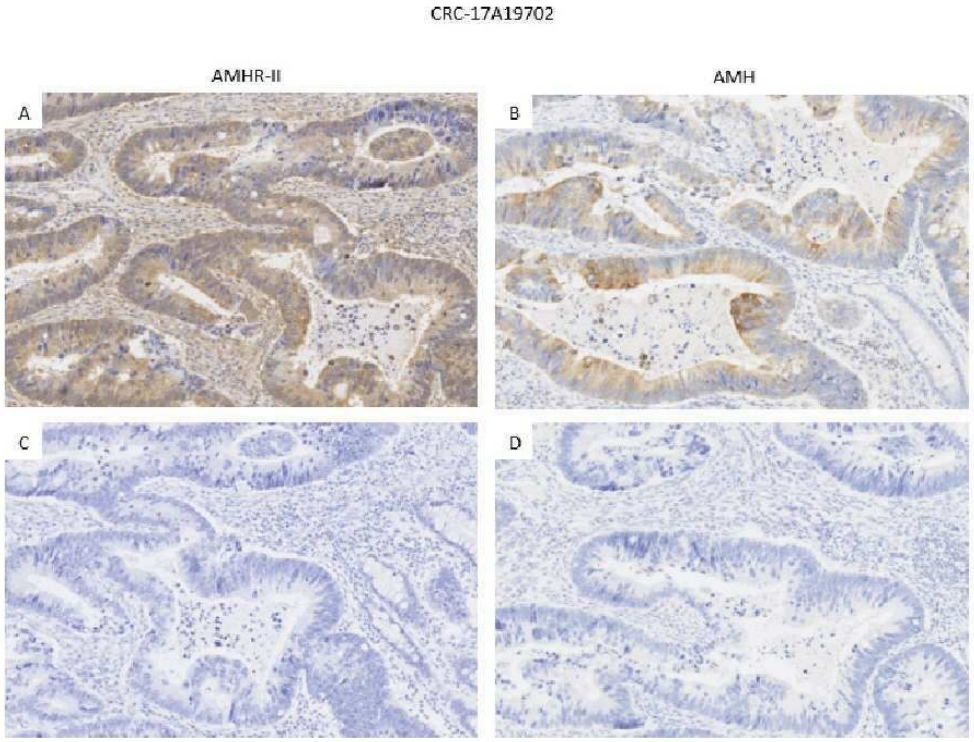
도면7


120
100
80
60
40
세포 생존율 (%)
****
****
대조군
5
10
20
40
75
150
5
10
20
40
75
150
μg/ml
4A3 + AMH
3C23K + AMH

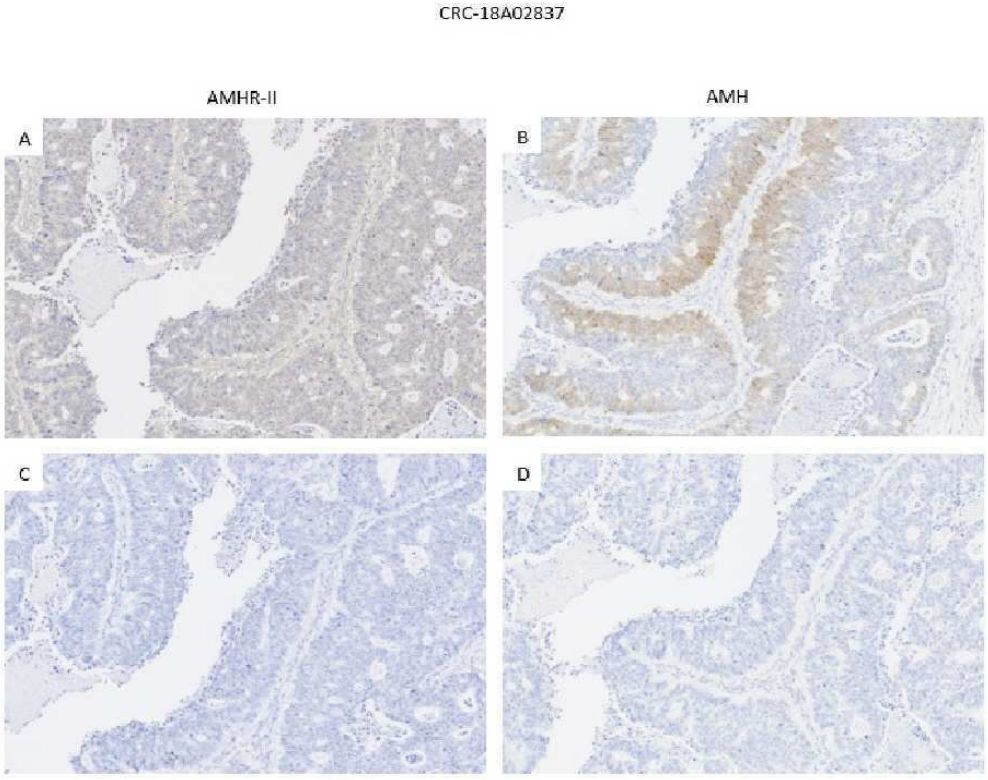
도면8


CRC-17A17897
AMHR-II
AMH
A
B
C
D

도면9




도면10




서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> GAMAMABS PHARMA

<120> AMH-COMPETITIVE ANTAGONIST ANTIBODY

<130> PR83978

<160> 12

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> amino acid sequence of heavy chain

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ser Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Asn
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Gly Ser Ser Arg Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Phe Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Ser Ser Asp Asp Tyr Phe Gly Gly Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 2
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> amino acid sequence of heavy chain variable region
<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ser Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Ser Asp Asp Tyr Phe Gly Gly Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H-CDR1

<400> 3

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Asn Ala Met Asn

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H-CDR2

<400> 4

Tyr Ile Ser Gly Ser Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> H-CDR3

<400> 5

Ser Ser Asp Asp Tyr Phe Gly Gly Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 6

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> amino acid sequence of the light chain

<400> 6

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ala Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Asp

20 25 30

Asn Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Tyr Asp Ser Tyr Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> amino acid sequence of the light chain variable region

<400> 7

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ala Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Asp
20 25 30

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

Ser Thr Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 8
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> L-CDR1
<400> 8
Ala Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Asp Asn Asp Val Ser
1 5 10

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> L-CDR2
<400> 9
Tyr Asp Ser Tyr Arg Pro Ser
1 5

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> L-CDR3

<400> 10

Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr Ser Thr Arg Val
1 5 10

<210> 11

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human AMHR-II amino acid sequence devoid of its signal peptide

<400> 11

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

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

Asp Phe Cys Asn Ala Asn Tyr Ser His Leu Pro Pro Pro Gly Ser Pro
100 105 110
Gly Thr Pro Gly Ser Gln Gly Pro Gln Ala Ala Pro Gly Glu Ser Ile
115 120 125
Trp Met Ala Leu Val Leu Leu Gly Leu Phe Leu Leu Leu Leu Leu Leu

130 135 140

Leu Gly Ser Ile Ile Leu Ala Leu Leu Gln Arg Lys Asn Tyr Arg Val
145 150 155 160

Arg Gly Glu Pro Val Pro Glu Pro Arg Pro Asp Ser Gly Arg Asp Trp
165 170 175

Ser Val Glu Leu Gln Glu Leu Pro Glu Leu Cys Phe Ser Gln Val Ile
180 185 190

Arg Glu Gly Gly His Ala Val Val Trp Ala Gly Gln Leu Gln Gly Lys
195 200 205

Leu Val Ala Ile Lys Ala Phe Pro Pro Arg Ser Val Ala Gln Phe Gln
210 215 220

Ala Glu Arg Ala Leu Tyr Glu Leu Pro Gly Leu Gln His Asp His Ile
225 230 235 240

Val Arg Phe Ile Thr Ala Ser Arg Gly Gly Pro Gly Arg Leu Leu Ser
245 250 255

Gly Pro Leu Leu Val Leu Glu Leu His Pro Lys Gly Ser Leu Cys His
260 265 270

Tyr Leu Thr Gln Tyr Thr Ser Asp Trp Gly Ser Ser Leu Arg Met Ala
275 280 285

Leu Ser Leu Ala Gln Gly Leu Ala Phe Leu His Glu Glu Arg Trp Gln
290 295 300

Asn Gly Gln Tyr Lys Pro Gly Ile Ala His Arg Asp Leu Ser Ser Gln
305 310 315 320

Asn Val Leu Ile Arg Glu Asp Gly Ser Cys Ala Ile Gly Asp Leu Gly
325 330 335

Leu Ala Leu Val Leu Pro Gly Leu Thr Gln Pro Pro Ala Trp Thr Pro
340 345 350

Thr Gln Pro Gln Gly Pro Ala Ala Ile Met Glu Ala Gly Thr Gln Arg
355 360 365

Tyr Met Ala Pro Glu Leu Leu Asp Lys Thr Leu Asp Leu Gln Asp Trp
370 375 380

Gly Met Ala Leu Arg Arg Ala Asp Ile Tyr Ser Leu Ala Leu Leu Leu
385 390 395 400
Trp Glu Ile Leu Ser Arg Cys Pro Asp Leu Arg Pro Asp Ser Ser Pro
405 410 415

Pro Pro Phe Gln Leu Ala Tyr Glu Ala Glu Leu Gly Asn Thr Pro Thr
420 425 430
Ser Asp Glu Leu Trp Ala Leu Ala Val Gln Glu Arg Arg Arg Pro Tyr
435 440 445
Ile Pro Ser Thr Trp Arg Cys Phe Ala Thr Asp Pro Asp Gly Leu Arg
450 455 460
Glu Leu Leu Glu Asp Cys Trp Asp Ala Asp Pro Glu Ala Arg Leu Thr
465 470 475 480

Ala Glu Cys Val Gln Gln Arg Leu Ala Ala Leu Ala His Pro Gln Glu
485 490 495
Ser His Pro Phe Pro Glu Ser Cys Pro Arg Gly Cys Pro Pro Leu Cys
500 505 510
Pro Glu Asp Cys Thr Ser Ile Pro Ala Pro Thr Ile Leu Pro Cys Arg
515 520 525
Pro Gln Arg Ser Ala Cys His Phe Ser Val Gln Gln Gly Pro Cys Ser
530 535 540

Arg Asn Pro Gln Pro Ala Cys Thr Leu Ser Pro Val
545 550 555

<210> 12
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> amino acid of the signal peptide of the human AMHR-II
<400> 12
Met Leu Gly Ser Leu Gly Leu Trp Ala Leu Leu Pro Thr Ala Val Glu
1 5 10 15
Ala