(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0009507
(43) 공개일자 2023년01월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/574 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/57484 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7043808
(22) 출원일자(국제) 2021년05월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년12월14일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/062778
(87) 국제공개번호 WO 2021/229032
국제공개일자 2021년11월18일
(30) 우선권주장
2007099.1 2020년05월14일 영국(GB)

(71) 출원인
키맵 리미티드
영국 씨비22 3에이티 캠브릿지 바브라함 리서치 캠퍼스 더 베넷 빌딩 (비930)
(72) 발명자
세종, 리처드, 찰스, 알프레드
영국 씨비22 3에이티 캠브리지 캠브리지셔 바브라함 리서치 캠퍼스 더 베넷 빌딩 (비930)
디안토니오, 세실리아
영국 씨비22 3에이티 캠브리지 캠브리지셔 바브라함 리서치 캠퍼스 더 베넷 빌딩 (비930)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

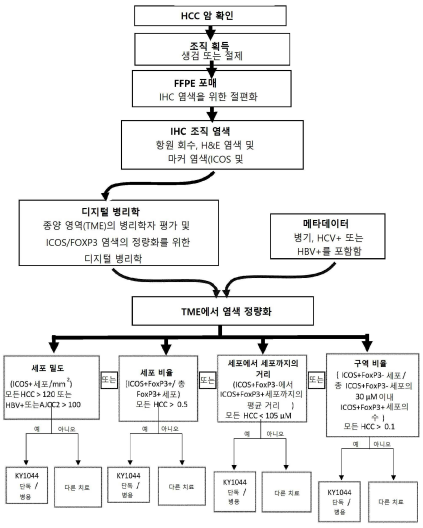
전체 청구항 수 : 총 57 항

(54) 발명의 명칭 **면역요법을 위한 종양 바이오마커**

(57) 요 약

간세포 암종 및 다른 암에서 종양의 예후에 대한 바이오마커. ICOS+ 조절 T 세포(TReg)에 대해 표적화된 항암 면역요법의 처방을 위한 바이오마커 측정, 예를 들어, 항-ICOS 항체를 이용한 치료를 위한 환자 선택. (i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율, (ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리, (iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및 (iv) ICOS 양성 세포의 밀도를 포함하는 바이오마커.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
G01N 2800/52 (2021.08)
(72) 발명자
쑤, 치-훙
대만 타이페이 씨티 100 중정 디스트릭트 쑤저우 로드 넘버 2 5에프
루, 리-춘
대만 타이페이 씨티 100 중정 디스트릭트 쑤저우 로드 넘버 2 5에프
쉐리, 로르캔, 아드리안
영국 엠엘1 5유에이치 머더웰 노쓰 래넉셔 보네스 로드 오라클바이오 바이오시티 스코틀랜드

명 세 서

청구범위

청구항 1

환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계,

상기 샘플에서

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계, 및

상기 하나 이상의 바이오마커를 기반으로 하여 환자에 대한 예후를 제공하는 단계

를 포함하는, 환자에서의 암성 고형 종양의 예후를 위한 방법으로서, 여기서 더 짧은 환자 생존 기간, 무재발 생존 기간(RFS), 무진행 생존 기간(PFS) 또는 종양 진행 시간(TTP)은

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 더 큰 비율,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 더 짧은 평균 거리,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 더 큰 비율, 및/또는

ICOS 양성 세포의 더 큰 밀도

에 의해 나타나는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율을 결정하는 단계, 및

상기 비율을 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 더 큰 비율은 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 0.1의 비율인, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리를 결정하는 단계, 및

상기 거리를 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 짧은 거리는 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 105 μm의 평균 거리인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율을 결정하는 단계, 및

상기 비율을 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 큰 비율은 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 FOXP3 양성 세포의 절반이 ICOS 양성인, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, ICOS 양성 세포의 밀도를 결정하는 단계, 및

상기 밀도를 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 큰 밀도는 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 mm^2당 120개의 ICOS 양성 세포의 밀도인, 방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 종양은 B형 간염 바이러스 감염과 연관된 간세포 암종이거나 2기 이상의 간세포 암종이고, 참조 값은 mm^2당 100개의 ICOS 양성 세포의 밀도인, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자가 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는지를 상기 하나 이상의 바이오마커로부터 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율을 결정하는 단계,

상기 비율을 참조 값과 비교하되, 참조 값보다 더 큰 비율은 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는 단계,

상기 비율이 참조 값보다 더 큰지를 결정하는 단계, 및

더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 제공하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자가 더 긴 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 가지는지를 상기 하나 이상의 바이오마커로부터 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율을 결정하는 단계,

상기 비율을 참조 값과 비교하되, 참조 값보다 더 큰 비율은 더 짧은 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 나타내는 단계,

상기 비율이 참조 값보다 더 작은지를 결정하는 단계, 및

더 긴 생존 기간, RFS, PFS 또는 TTP의 예후를 제공하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 15

환자에서 암성 고형 종양의 예후에 대한 바이오마커의 용도로서, 상기 바이오마커는 환자 유래의 종양 코어 조직에서 결정될 때 다음 중 하나 이상인, 용도:

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도.

청구항 16

환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계, 및

상기 샘플에서

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계

를 포함하는, 환자에서 암성 고형 종양이 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 반응할 가능성을 결정하는 방법으로서,

여기서 환자가 면역치료제에 반응할 가능성이 더 큰 것은

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 더 큰 비율,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 더 짧은 평균 거리,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 더 큰 비율, 및/또는

ICOS 양성 세포의 더 큰 밀도

에 의해 나타나는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율을 결정하는 단계, 및

상기 비율을 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 더 큰 비율은 면역치료제에 반응할 가능성의 증가를 나타내는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 0.1의 비율인, 방법.

청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리를 결정하는 단계, 및

상기 거리를 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 짧은 거리는 면역치료제에 반응할 가능성의 증가를 나타내는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 105 μm의 평균 거리인, 방법.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율을 결정하는 단계, 및

상기 비율을 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 큰 비율은 면역치료제에 반응할 가능성의 증가를 나타내는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 FOXP3 양성 세포의 절반이 ICOS 양성인, 방법.

청구항 23

제16항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, ICOS 양성 세포의 밀도를 결정하는 단계, 및

상기 밀도를 참조 값과 비교하는 단계

를 포함하며, 여기서

참조 값보다 큰 밀도는 면역치료제에 반응할 가능성의 증가를 나타내는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 참조 값은 mm^2당 120개의 ICOS 양성 세포의 밀도인, 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 종양은 B형 간염 바이러스 감염과 연관된 간세포 암종이거나 2기 이상의 간세포 암종이고, 참조 값은 mm^2당 100개의 ICOS 양성 세포의 밀도인, 방법.

청구항 26

제16항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자를 면역치료제에 반응할 가능성이 증가된 것으로 식별하고 선택적으로 이에 의해 상기 환자의 치료를 위해 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 선택하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율을 결정하는 단계,

상기 비율을 참조 값과 비교하되, 참조 값보다 더 큰 비율은 면역치료제에 반응할 가능성의 증가를 나타내는 단계,

상기 비율이 참조 값보다 더 큰지를 결정하는 단계, 및

이에 의해 환자가 면역치료제에 반응할 가능성의 증가를 가지는지 식별하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 29

환자에서 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 암성 종양이 반응할 가능성을 결정하기 위한 바이오마커의 용도로서, 상기 바이오마커는 환자 유래의 종양 코어 조직에서 결정될 때 다음 중 하나 이상인, 용도:

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도.

청구항 30

환자에서 암성 고형 종양을 치료하는 방법으로서, 상기 종양은

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율로서, 상기 비율은 참조 값보다 더 큰, 비율,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리로서, 상기 거리는 참조 값보다 짧은, 거리,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율로서, 상기 비율은 참조 값보다 큰, 비율, 및

ICOS 양성 세포의 밀도로서, 상기 밀도는 참조 값보다 큰, 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 포함하는 것으로 결정되고,

상기 방법은 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법

청구항 31

환자에서 암성 고형 종양을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제로서, 상기 종양은

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율로서, 상기 비율은 참조 값보다 더 큰, 비율,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리로서, 상기 거리는 참조 값보다 짧은, 거리,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율로서, 상기 비율은 참조 값보다 큰, 비율, 및

ICOS 양성 세포의 밀도로서, 상기 밀도는 참조 값보다 큰, 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 포함하는 것으로 결정된, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제.

청구항 32

제30항에 따른 방법, 또는 제31항에 따른 사용을 위한 면역치료제에 있어서, 상기 종양은 간세포 암종이고 종양은

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율로서, 상기 비율은 0.1보다 더 큰, 비율,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리로서, 상기 거리는 105 μm보다 짧은, 거리,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율로서, 상기 비율은 절반보다 큰, 비율, 및

ICOS 양성 세포의 밀도로서, 상기 밀도는 mm^2당 120개 세포보다 큰, 밀도

와 같은 바이오마커를 포함하는 것으로 결정된, 방법, 또는 면역치료제.

청구항 33

제30항에 따른 방법, 또는 제31항에 따른 사용을 위한 면역치료제에 있어서, 상기 종양은 B형 간염 바이러스 감염과 연관된 간세포 암종이거나 2기 이상의 간세포 암종이고, 종양은

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율로서, 상기 비율은 0.1보다 더 큰, 비율,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리로서, 상기 거리는 105 μm보다 짧은, 거리,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율로서, 상기 비율은 절반보다 큰, 비율, 및

ICOS 양성 세포의 밀도로서, 상기 밀도는 mm^2당 100개 세포보다 큰, 밀도

와 같은 바이오마커를 포함하는 것으로 결정된, 방법, 또는 면역치료제.

청구항 34

환자에서 암성 고형 종양을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제로서, 상기 방법은

제26항에 정의된 바와 같이 환자의 치료를 위해 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 선택하는 단계, 및

항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 상기 환자에게 투여하는 단계

를 포함하는, 면역치료제.

청구항 35

암성 고형 종양에 있어서 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 환자의 반응을 모니터링하는 방법으로서,

항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제의 투여 후 환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계,

상기 샘플에서

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계,

상기 테스트 샘플에서의 상기 하나 이상의 바이오마커를 상기 면역치료제의 투여 전 환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플에서의 동일한 하나 이상의 바이오마커와 비교하는 단계, 및

상기 하나 이상의 바이오마커에서 변화가 발생했는지 여부를 결정하고 이에 의해 환자가 면역치료제에 반응하는지 여부를 평가하는 단계

를 포함하며, 여기서 반응은 상기 면역치료제를 투여하기 전 샘플로부터

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율의 감소,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리의 증가,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율의 감소, 및

ICOS 양성 세포의 밀도의 감소

와 같은 변화 중 하나 이상에 의해 나타나는, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서,

치료 전과 비교하여 ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율의 감소를 측정하는 단계, 및

환자에게 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 지속적인 치료를 처방하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 37

제35항 또는 제36항에 있어서,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리의 증가를 측정하는 단계, 및

환자에게 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 지속적인 치료를 처방하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 38

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율의 감소를 측정하는 단계, 및

환자에게 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 지속적인 치료를 처방하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 39

제35항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

ICOS 양성 세포의 밀도의 감소를 측정하는 단계, 및

환자에게 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 지속적인 치료를 처방하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 40

암성 고형 종양에 있어서 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 환자의 반응을 모니터링하기 위한 바이오마커의 용도로서,

상기 바이오마커는 환자 유래의 종양 코어 조직에서 결정될 때

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상이고

면역치료제에 대한 반응은 상기 면역치료제의 투여 전 얻은 종양 코어 조직의 샘플과 비교하여

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율의 감소,

각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리의 증가,

ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율의 감소, 및

ICOS 양성 세포의 밀도의 감소

와 같은 변화 중 하나 이상에 의해 나타나는, 용도.

청구항 41

항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 예측된 예후 또는 예측된 반응에 따라 암성 고형 종양 환자를 분류하기 위한 참조 값을 식별하는 방법으로서,

질환 결과가 알려져 있거나 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 반응이 알려져 있는 동일한 유형의 암성 고형 종양을 가진 환자 집단 각각으로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계,

각각의 상기 샘플에서

(i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

(ii) 각각의 ICOS 단일 양성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

(iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

(iv) ICOS 양성 세포의 밀도

와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계,

각각의 환자에서 질환 결과 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 반응에 대한 데이터와 상기 하나 이상의 바이오마커 각각에 대한 데이터의 쌍을 형성하는 단계, 및

질환 결과 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 반응에 대한 통계적으로 유의한 데이터의 두 그룹을 정의하는 수치 컷오프를 식별하기 위해 상기 하나 이상의 바이오마커 각각에 대한 데이터를 그룹화하는 단계

를 포함하고,

여기서 상기 컷오프는 예측된 예후 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 예측된 반응에 따라 동일한 유형의 암성 고형 종양을 가진 환자를 분류하기 위한 참조 값을 나타내는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 샘플은 간암, 신세포암, 두경부암, 흑색종, 비소세포 폐암, 방광암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 췌장암, 유방암(삼중 음성 유방암을 포함함), 암종, 평활근육종, 항문암, 편평 세포 암 및 식도암 환자의 집단으로부터 얻은, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 샘플은 간세포 암종 환자의 집단으로부터 얻은, 방법.

청구항 44

제16항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역치료제는 항-ICOS 항체인, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 45

제16항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역치료제는 TReg를 선택적으로 고갈시키거나 억제하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 46

제16항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역치료제는 TReg에 결합하고 세포 이펙터 기능을 매개하는 항체인, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 항체는 세포 이펙터 기능을 매개하는 Fc 영역을 포함하는 IgG인, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 48

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역치료제는 ICOS, CD25, CCR8, CTLA-4, GITR 또는 MHC에 표시된 FOXP3의 에피토프에 결합하는 항체인, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 항체는 ICOS에 결합하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 50

제44항 또는 제49항에 있어서, 상기 하나 이상의 바이오마커는 ICOS 양성 세포의 밀도를 포함하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서, 상기 항체는 KY1044의 CDR을 포함하는 ICOS 결합 부위를 포함하며, 여기서

HCDR1은 서열번호 1이고

HCDR2는 서열번호 2이며

HCDR3은 서열번호 3이고

LCDR1은 서열번호 8이며

LCDR2는 서열번호 9이고

LCDR3은 서열번호 10인, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 52

제49항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열번호 5의 KY1044 VH 도메인과 적어도 90% 동일한 VH 도메인 아미노산 서열 및 서열번호 12의 KY1044 VL 도메인과 적어도 90% 동일한 VL 도메인 아미노산 서열을 포함하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 53

제52항에 있어서, 항체는 서열번호 5의 KY1044 VH 도메인 및 서열번호 12의 KY1044 VL 도메인을 포함하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 항체는 서열번호 7의 KY1044 중쇄 및 서열번호 14의 KY1044 경쇄를 포함하는 인간 IgG1κ인, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 55

제48항에 있어서, 상기 항체는 CD25, CCR8, CTLA-4, GITR 또는 MHC에 표시된 FOXP3의 에피토프에 결합하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 하나 이상의 바이오마커는 ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율, 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리, 및/또는 ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율을 포함하는, 방법, 용도 또는 사용을 위한 면역치료제.

청구항 57

질환 예후 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 치료에 대한 반응에 대한 바이오마커로서 TME에서 ICOS 및/또는 FOXP3를 발현하는 면역 세포의 공간 배열의 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항-ICOS 항체 및 ICOS+ 조절 T 세포(TReg)를 억제하거나 사멸시키는 다른 치료제를 포함하는, T 세포 표면 수용체 ICOS(유도성 T 세포 공동 자극제)를 발현하는 조절 T 세포에 대해 표적화된 항암 면역요법에 관한 것이다. 본 발명은 이러한 면역요법에 대한 종양의 감수성을 나타내고 면역요법에 대한 환자의 반응의 조기 표시를 제공하는 바이오마커에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 환자 자신의 면역계가 질환과 싸우기 위해 조절되는 면역요법은 많은 유형의 암에 대한 최전선 치료법이 되었다. T 세포 활성화를 억제하는 신호는 표적 약물("면역 관문 차단")을 사용하여 하향 조절되어, T 세포가 효과적인 항종양 반응을 시작할 수 있도록 한다[1]. 면역요법에 반응하는 환자에서, 항종양 결과는 극적이고 생명을 구할 수 있어, 이 분야에 대한 관심을 불러일으킬 수 있다. 세포 예정사 단백질 1(programmed cell death protein 1; PD-1), 예정사 리간드-1(programmed death ligand; PD-L1), 및 세포독성 T-림프구-연관 항원 4(cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4; CTLA-4)를 표적화하는 모노클로날 항체와 같은 면역 관문 억제제를 이용한 면역요법은 다수의 암에 대한 중요한 치료법이 되었다. 신약 및 신약 조합을 테스트하기 위해 현재 수백건의 임상 시험이 면역 관문 억제제로 진행 중이다.

[0003] PD-1 및 CTLA-4와 같은 면역 관문 공동 억제 수용체에 추가적으로, 공동 자극 수용체는 T 세포의 기능 상태에 영향을 미치며 암 면역 감시에 중요하다. 리간드가 공동 자극 수용체에 결합하면, 하류 신호가 활성화되어, T 세포 기능, 생존 및/또는 증식을 유도한다. ICOS는 T 세포에서만 발견되는 공동 자극 수용체이며 환자의 항종양 T 세포 반응을 활성화시키기 위한 면역요법에 대한 표적인 것으로 식별되었다. 예를 들어, WO2019/122884 및 이의 참조문헌을 참조한다.

[0004] 종양뿐만 아니라 면역 성분과 관련된 다른 질환 및 병태에서, 항원-특이적 T 세포 면역 반응을 발휘하는 이펙터 T 세포(TEff, 예컨대 CD8+ 세포독성 T 림프구(CTL))와, TEff를 하향조절함으로써 면역 반응을 억제하는 조절 T 세포(TReg) 사이에 균형이 존재한다. 종양에서 TReg의 상승된 수준은 간세포 암종(HCC)을 포함하여 적어도 일부 유형의 암에 대한 불량한 예후와 관련이 있다[2, 3]. Tu외 다수(2016)는 TReg, 특히 ICOS+FOXP3+ TReg가 HCC 종양에서 면역억제에 기여하고 환자 생존율 감소와 관련이 있다고 보고하였다[3]. ICOS는 TEff에 대한 중요한 공동 자극 수용체이지만, 또한 TReg에 대한 높은 발현으로 인해 종양 성장을 촉진시킨다. 시험관 내 연구는 ICOS-발현(ICOS+) TReg가 ICOS-음성 TReg보다 더 면역억제적이라는 것을 나타내었다[4, 5]. 항-ICOS 항체 면역요법은 TEff 수와 활성을 지지하여 TEff/TReg 균형을 조절하는 것을 목표로 한다. (예를 들어, 항체 의존성 세포 독성(ADCC)과 같은 Fc-매개 이펙터 기능을 통해) ICOS 양성 TReg의 고갈을 촉발하는 항체는 TEff의 억제를

완화하고 TEff/TReg 비율을 개선시킬 것이며, 따라서 TEff 항종양 반응을 촉진시키는 순 효과를 나타낼 것이다. 항-ICOS 항체는 또한 TEff에 의한 사이토카인 생성을 직접 자극하기 위해 ICOS 수용체 수준에서 작용 활성을 발휘할 수 있다. 이러한 2가지 TEff 부스팅 효과의 조합은 ICOS가 TEff보다 TReg에서 상당히 더 높은 수준으로 제시되기 때문에 항-ICOS 항체로 가능하며; 예를 들어, 인간 IgG1 항-ICOS 항체는 ICOSLow Teffs를 자극하고 ICOSHigh TRegs를 고갈시킴으로써 항종양 면역성을 증강시킬 수 있다[6; 7]. 따라서 항-ICOS 항체는 TEff 면역반응이 동원되는 종양 면역요법을 위한 잠재적으로 가치 있는 치료제 부류를 나타낸다. 다수의 항-ICOS 항체가 설명되었고 T 세포 집단/활성에 영향을 미치는 것으로 나타났다[8; WO2016/120789; WO2016/154177; WO2018/029474; WO2018/187613; WO2019/122884]. 몇 가지 항-ICOS 항체가 암 환자에 대한 임상 시험 진행 중에 있다: JTX-2011[25], GSK-3359609[9], MEDI-570, BMS-986226[WO2018/187613; NCT03251924] 및 KY1044[7].

[0005] 지금까지 면역종양학의 발전이 인상적이었지만, 면역치료법은 여전히 구하는 환자보다 실패하는 환자가 더 많다. 30% 이하의 반응률은 다양한 종양 유형에 걸친 면역 요법의 표준이다. 흑색종에 대한 항 PD-1 항체인 니볼루맙의 반응률은 약 30%이다. 진행성 HCC에 대한 I/II상 연구에서, 상기 항체의 반응률은 15 내지 20%이었다[10]. 또 다른 항 PD-1 항체인 펨브롤리주맙은 이전에 소라페닙으로 치료받은 적이 있는 HCC 환자에 대한 II상 연구에서 니볼루맙과 유사한 반응률을 달성하였다[11]. 니볼루맙과 펨브롤리주맙은 각각 2017년과 2018년에 미국 식품의약국(US Food and Drug Administration; FDA)에 의해 HCC 치료에 대한 가속 승인을 받았다. 그러나 1차 및 2차 설정에서 니볼루맙과 펨브롤리주맙을 테스트하는 진행성 HCC에 대한 후속 III상 시험은 긍정적인 결과를 얻지 못했다[12, 13]. 요로상피 암종에 대한 항-PD-L1 항체인 아테졸리주맙의 II상 임상 연구에서, 반응률은 PD-L1+ 종양 환자에서 약 26%이고, (종양에서 PD-L1 발현에 관계없이 환자에서) 전체적으로 15%이었으며, PD-L1 음성 종양 환자에서는 10%이었다. 후자의 예는 (비록 여전히 26%이지만) 면역요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 더 높은 암 환자 그룹에 면역요법을 일치시키기 위한 바이오마커의 가치를 설명한다. Calderaro외 다수는 또한 HCC에서 PD-L1 발현과 병리학적 특징 사이의 관계를 보고하였다[14].

[0006] HCC 및 기타 암에서 면역 관문 억제제의 효능을 개선시키는 방법으로 병용 요법이 조사되었다. 니볼루맙과 항-CTLA-4 항체인 이필리무맙을 조합한 시험 코호트에서 최근 객관적 반응률이 약 30%로 보고되었으며[15], 이에 따라 미국 FDA는 이전에 소라페닙으로 치료받은 적이 있는 HCC 환자에 대한 니볼루맙/이필리무맙 조합에 대해 가속 승인을 부여하였다. 또 다른 최근 시험은 진행성 HCC 환자에 대한 1차 요법으로서 항 PD-L1 항체인 아테졸리주맙과 항-VEGF 항체 베바시주맙의 조합을 소라페닙과 비교하여 테스트하였으며, 이 시험은 아테졸리주맙과 베바시주맙의 조합으로 긍정적인 결과를 보고하였으며, 상기 결과는 ORR을 약 30%로 증가시켰다[16].

[0007] 일반적으로 일부 환자는 면역요법에 반응하는 반면 다른 환자는 반응하지 않는 이유는 명확하지 않다. 반응의 극적인 차이는 표면상 유사한 환자들에게서 나타나는데, 여기서 한 환자는 완전히 반응하는 반면 다른 환자는 동일한 치료에서 임상적 이익을 거의 또는 전혀 경험하지 않는다. 이는 기준선 종양 미세환경(TME)의 차이에 기인할 수 있지만, 상세한 내용은 아직 이해되지 않고 있다. 일부 예측 바이오마커가 식별되었지만(예를 들어, 상기에서 언급한 아테졸리주맙 연구에서 종양 및 면역 세포에 대한 PD-L1 발현), 면역요법으로 치료받은 많은 환자가 치료로부터 이익을 받지 못하는 경우가 여전히 남아 있다. 효과가 가장 큰 치료법에 환자를 맞추는 것이 발전하면 임상 효능이 크게 개선되고 결실 없는 의료 개입을 견디는 환자의 수가 제한될 것이다.

[0008] 암 유형 및 하위 유형의 전통적인 진단, 예를 들어 폐암, 췌장암 등은 해부학 및 조직-기반 분류를 기반으로 한다. 그러나 이와 같은 종양 범주 내에서 그리고 이와 같은 종양 범주에 걸쳐 면역요법에 대한 낮은 반응률을 고려하면, 이러한 정의는 특정 치료로 이익을 받을 환자 그룹을 식별하는 데 부분적인 도움이 될 뿐이다. 따라서 임상의와 규제 기관은 이제 "조직-불문(tissue-agnostic)" 접근법의 가치를 인식하고 있으며, 이에 따라 치료는 종양이 발생한 조직 또는 세포 유형과 분리된(그러나 상관 관계가 있을 수 있는) 종양 및/또는 환자의 바이오마커를 기반으로 한다. 예를 들어, 미국 FDA는 항-PD-1 항체인 펨브롤리주맙을 절제 불가능하거나 전이성, 고빈도 현미부수체 불안정성(microsatellite instability high) 또는 불일치 복구 결함(mismatch repair deficient) 고형 종양 환자의 치료용으로 승인하였다. 조직-유형 및 조직-불문 종양 분류의 조합도 또한 가능하다.

[0009] 종양의 돌연변이 상태는 미세환경에 영향을 미친다. 종양 세포 집단은 면역 검출로부터 세포를 보호하고 종양의 성장을 지원하기 위해 국소 조직에 영향을 미침으로써 친종양 환경을 구축하는 표현형을 생성하도록 진화할 수 있다. 이와 같은 종양은 면역 세포에 의해 제대로 침윤되지 않을 수 있으며, 면역학적으로 "차가운" 것으로 지칭된다. 다른 상황에서, 종양 세포의 높은 돌연변이율(예를 들어, DNA 불일치 복구의 결함으로 인함)은 풍부한 네오에피토프를 생성하여, 세포독성 T 림프구(CTL)의 높은 침윤 및 면역학적으로 "뜨거운" 종양을 야기한다. 종양 유전자형과 표현형 사이의 연결의 특성과 범위, 그리고 시간 경과에 따른 이들의 공동 진행은 광범위하고 신속한 발견의 주제이다. 반응성 종양과 비-반응성 종양 사이의 차이를 해결함으로써 궁극적으로 특정 면역요법

과정이 확실하게 치유되는 많은 환자 하위 부류를 식별할 수 있게 되기를 희망한다. 전이성 종양 환자의 대다수는 수많은 상이한 게놈 변형을 가지고 있는 것으로 보고되기 때문에, 성공적인 치료는 치료와 암 프로파일 사이의 밀접한 일치를 달성하기 위해 여러 치료제의 맞춤형 조합을 필요로 할 수 있다[17].

[0010] 면역 침윤 및 국소 염증 반응을 포함하는 TME의 특성화를 기반으로 다양한 진단 시스템이 개발되었다[18; 19; 20; 21]. 항-CTLA-4 및 항-PD-1과 같은 면역 관문 차단제로 치료받은 환자 집단에 대한 후향적 분석은 치료에 반응하는 능력과 관련된 종양의 면역 맥락에서 차이를 나타내었다[21]. "종양 돌연변이 부하" 및 "T 세포-염증 유전자 발현 프로파일"은 항-PD-1 항체인 펨브롤리주맙에 의한 긍정적인 치료 결과와 연관이 있는 것으로 보고되었다[22]. CTL 침윤 및 환자 생존과 상관 관계가 있는 (전처리 RNA-Seq 또는 NanoString 프로파일로부터의) 유전자 서명을 기반으로 하여 종양에 의한 CTL 회피를 모델링하는 계산 모델 "TIDE"(종양 면역 기능 장애 및 배제)는 PD-L1 발현 및 돌연변이 부하와 같은 다른 바이오마커보다 1차 항-PD-1 또는 항-CTLA-4로 치료받은 흑색종 환자의 결과를 더 정확하게 예측하는 것으로 보고되었다[23]. 항-CTLA-4 항체인 이필리무맙의 작용 방식은 FcɣRIIIA-발현 비-고전적 단핵구를 포함하는 것으로 보고되었으며, 이는 무반응 환자와 비교하여 반응 환자에서 더 높은 기준선 말초 빈도에서 발견되었다[24].

[0011] 연구는 항-ICOS 항체는 ICOS 및/또는 FOXP3(TRegs의 마커)의 발현에 대해 양성인 종양에 대해 특정 치료 가치를 제공할 수 있음을 나타낸다[6; WO2018/029474; WO2019/122884]. 항-ICOS 항체 JTX2011을 이용한 ICONIC 시험 NCT02904226의 데이터를 기반으로, 종양에서 ICOS 발현이 높은 환자에서 질환 조절 및 종양 감소율이 더 높은 것으로 보고되었다[25]. 그럼에도 불구하고, ICOS 및/또는 FOXP3 발현은 항-ICOS 항체 요법이 주어진 환자에게 효과가 있는지 여부에 대한 "대략적인" 지표만을 제공한다.

[0012] WO2014/009535는 CCR2, CD3D, CD3E, CD3G, CD8A, CXCL10, CXCL11, GZMA, GZMB, GZMK, GZMM, IL15, IRF1, PRF1, STAT1, CD69, ICOS, CXCR3, STAT4, CCL2, 및 TBX21로부터 선택되는 유전자 세트의 발현 수준에 대해 환자로부터의 종양 샘플을 분석하는 것을 포함하는, 고형암을 앓고 있는 환자가 치료(화학요법, 방사선요법 또는 면역요법)에 반응할 것인지 여부를 결정하는 방법을 기재하였다. 이 세트의 유전자 발현 수준도 또한 암 예후와 관련이 있는 것으로 보고되었다.

[0013] WO2014/023706은 정의된 유전자 세트의 발현 수준에 대해 환자로부터의 종양 샘플을 분석하는 것을 포함하여, 암 환자가 양호하거나 불량한 적응 면역 반응 및 양호하거나 불량한 면역억제 반응을 가졌는지 여부를 결정하는 방법을 기재하였다.

[0014] WO15/103037은 면역 관문 조절제를 이용한 치료에 대한 후보자인 환자를 식별하기 위해 체세포 돌연변이에 대해 암 샘플을 분석하는 방법을 기재하였다.

[0015] WO16/109546은 환자로부터 얻은 생물학적 샘플의 "면역 세포 유전자 서명"을 기반으로 하는 면역요법으로 치료하기 위한 환자의 선택을 기재하였으며, 면역 세포 서명은 정의된 유전자 세트로부터의 유전자 중 하나 이상의 발현 수준을 포함한다.

[0016] WO2017/070423은 항-ICOS 항체로 치료할 환자를 식별하기 위해 정의된 유전자 세트로부터의 mRNA 수준에 대해 환자 샘플을 분석하는 방법을 기재하였다.

[0017] WO2018/225062 및 WO2018/225063은 사이토카인, 케모카인, 성장 인자, 효소 또는 가용성 수용체와 같은 "숙주 유도" 바이오마커를 분석하는 것을 포함하는, 적어도 면역 관문 억제제를 이용한 치료에 대한 암 환자의 반응을 예측하는 방법을 기재하였다.

[0018] WO2020/245155는 암에 걸린 환자에서 화학요법제를 이용한 치료 요법을 결정하는 방법을 기재하였으며, 방법은 환자의 종양 샘플에서 CD8 및 CD3을 정량화하는 것을 포함한다. 종양 및 종양의 침습 경계면에서 CD8+ 및 CD3+ 세포의 밀도를 정량화하는 방법이 기재되었다.

[0019] 개별 환자에 대한 적절한 치료 및 치료 조합의 처방을 가능하게 하는 적합한 바이오마커를 식별할 뿐만 아니라 치료 초기 단계에 있는 환자에 대한 예후 바이오마커를 식별하는 데 유용하다. 면역요법 치료 요법은 장기간 지속되며, 적어도 몇 개월, 종종 몇 년 동안 지속된다. 이는 세포 살해/종양 수축이 거의 즉각적으로 일어나는 화학 요법 치료와 다르다. 면역요법에 대한 반응은 3단계 과정, 즉 약물이 면역계의 세포를 활성화시키는 세포 반응; 면역 세포가 종양을 공격하는 항-종양 반응; 및 항-종양 효과가 종양 부담을 감소시키고 환자에 대한 결과를 개선시키는 치료 반응으로 간주될 수 있다. 치료 첫 몇 주 이내에 환자에게서 검출될 수 있고 장기 예후를 나타내는 바이오마커와 같이 궁극적인 치료 반응과 상관 관계가 있는 초기 마커를 식별할 수 있다면, 이는 양성 바이오마커를 나타내는 환자에 대해 지속적인 치료의 확신을 제공할 것인 반면, 상기 바이오마커가 없는 환자는

대체 요법으로 전환될 수 있다.

[0020] Feng외 다수[26]는 구강 편평 세포암 환자에 대한 예후 정보가 종양 조직 절편의 T 세포 빈도에서 유래될 수 있음을 보고하였다. 침습 경계면에서 많은 수의 CD8+ T 세포는 전체 생존 기간과 양의 상관 관계가 있는 반면, CD8+ T 세포의 30 um 내에 있는 FOXP3+ 세포의 수는 전체 생존 기간과 음의 상관 관계가 있었다. 저자는 이러한 측정 및 기타 측정을 전체 생존 기간과 상관 관계가 있는 "누적 억제 지수"로 통합하였다.

[0021] WO2019/222188은 ICOS 및 T-bet의 상승된 수준이 항-ICOS 항체에 대한 환자 반응과 관련되어 있음을 식별하였다.

[0022] 최근 Kagamu외 다수[27]는 환자의 말초 혈액 내 CD4+ T 세포의 상태가 니볼루맙(항-PD-1)을 이용한 치료 후 초기 질환 진행을 나타낸 비소세포 폐암 환자를 식별하는 데 사용될 수 있으며, 이는 비-반응자 또는 반응자로 환자를 분류할 수 있게 함을 보고하였다. 반응자는 PD-1 차단 전에 이펙터, $CD62L^{low}$ CD4+ T 세포의 백분율이 유의하게($p < 0.0001$) 더 높은 것으로 확인되었다. 반대로, CD25+ FOXP3+ CD4+ T 세포의 백분율은 비-반응자에서 유의하게($p = 0.034$) 더 높았다. 유전자 발현 분석으로 CCL19, CLEC-2A, IFNA, IL7, TGFBR3, CXCR3, 및 HDAC9가 반응자로부터 유래된 $CD62L^{low}$ CD4+ T 세포에서 우선적으로 발현됨이 밝혀졌다. 특히, 무진행 생존 기간이 500일 초과인 장기 반응자는 PD-1 차단 요법 전에 유의하게 더 많은 $CD62L^{low}$ CD4+ T 세포 수를 나타내었다. 치료 후 감소된 $CD62L^{low}$ CD4+ T-세포 백분율은 후천적 내성을 초래하였으며, 장기 생존자는 높은 $CD62L^{low}$ CD4+ T-세포 백분율을 유지하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0023] 본 발명자들은 종양 미세환경(TME) 내의 세포 구성, 면역 구조 및 세포의 특정 공간 배열의 특징이 환자의 임상 진행 가능성과 면역요법을 이용한 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 있는지 여부에 대하여 알릴 수 있음을 발견하였다. 본 발명자들은 환자 생존 기간 및 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 치료를 포함하는 면역요법에 대한 반응 가능성과 상관 관계가 있는 TME의 바이오마커를 식별하였다. 이러한 바이오마커는 암 환자의 질환 예후를 돕고, 환자를 프로파일링하여 면역요법으로부터 이익을 얻을 가능성을 식별할 수 있도록 하며, 치료 전후에 모니터링할 때 환자가 치료법에 반응하는지 여부에 대한 귀중한 초기 지표를 제공한다.

[0024] 이들 바이오마커는, 예를 들어 절제된 종양 또는 생검 샘플의 분석을 통해, 환자의 종양으로부터 식별될 수 있는 TME의 다음 특징을 포함한다:

[0025] (i) **ICOS+ 밀도:** ICOS 단백질을 발현하는 세포, 즉 ICOS 양성(ICOS+) 세포의 밀도 또는 농도,

[0026] (ii) **ICOS+ TReg 비율:** ICOS 양성인 TReg의 비율을 나타내는, ICOS+인 FOXP3+ 세포의 비율,

[0027] (iii) **세포간 근접성:** ICOS+ FOXP3+ : ICOS+ FOXP3- 세포간 근접성, 각각의 ICOS 단일 양성(즉, ICOS 양성 FOXP3 음성) 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리이며, 이는 ICOS 양성 TReg와 다른 ICOS 양성 세포(ICOS+ TEff를 포함함) 사이의 근접성을 나타냄, 및

[0028] (iv) **구역 영향 비율**: ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 정의된 영역("영향 반경") 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수의 비율, 여기서 영향 반경은 ICOS FOXP3 이중 양성 세포와 ICOS 단일 양성 세포 사이에서 세포-세포 및/또는 사이토카인-의존성 통신이 발생할 수 있는 거리(예를 들어, 30 μm)를 나타냄.

[0029] 이들 바이오마커 각각은 환자가 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법으로부터 이익을 얻을 것이라는 기대와 양의 상관 관계가 있다. 일반적으로, 바이오마커가 높을수록(밀도, 비율, 근접성 또는 구역 영향이 클수록), 치료의 부재시 환자의 예후는 더 좋지 않지만, 환자가 항-ICOS 및/또는 또는 항-TReg 개입에 반응을 할 가능성이 더 크다. 따라서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 바이오마커의 측정은 치료를 위한 적절한 환자 선택을 용이하게 하여 유익한 항-종양 반응을 생성할 가능성이 가장 높은 환자에게 면역요법을 선택적으로 투여할 수 있게 한다.

[0030] 이러한 바이오마커의 세부 사항은 첨부된 표 B에 요약되어 있으며 하기에 기재되어 있다. 바이오마커 (ii), (iii) 및 (iv)는 면역억제성 TME의 지표이다.

[0031] FOXP3은 TReg의 알려진 마커이고, ICOS 및 FOXP3 둘 다 발현하는 세포는 TReg의 면역억제성이 높은 하위그룹으로 식별 가능하다. 본 발명자들은 본 명세서에 TReg에 대한 식별 마커로서 FOXP3의 사용을 기재하지만, TReg를 선택적으로 식별하기 위해 대체 마커를 쉽게 사용할 수 있음을 이해할 것이다. 본 발명자들이 본 명세서에 개시한 바와 같이, ICOS+ 세포의 더 큰 밀도, ICOS+인 TReg의 더 큰 비율, 및 ICOS+ TReg와 다른 ICOS+ T 세포(FOXP3-) 사이의 더 가까운 근접성은 모두 환자에 대한 더 나쁜 예후와 연관되며, 예를 들어 동일한 종양 유형을 가지는 다른 환자에 비해 감소된 생존 기간 또는 감소된 무재발 생존 기간(RFS), 무진행 생존 기간(PFS) 또는 종양 진행 시간(TTP)으로 나타낸다. 그러나 긍정적으로 생각해보면, 이러한 환자는 특히 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법에 반응할 가능성이 있는 하위그룹을 나타낸다.

[0032] 본 명세서에 기재된 KY1044 항체와 같은 Fc 이펙터 양성 항-ICOS 항체와 같은 항-TReg 치료제를 이용한 치료는 TReg의 수를 감소시키고, TME에서 TEff/TReg 사이의 비율을 개선시키며, 이에 의해 종양에 대한 환자의 면역 반응을 증진시켜, 종양 성장 감소 및 바람직하게는 환자에서 종양 또는 종양들의 크기 감소 및 궁극적인 근절을 야기할 수 있다. 다른 비 TReg-고갈 항-ICOS 항체는 TEff에 의한 사이토카인 생산을 향상시켜 TEff 활성을 증진시킴으로써 항-종양 면역 반응을 유사하게 개선시킬 것이다.

[0033] 본 발명자들은 정의된 바이오마커가 개별 종양 샘플 및 환자 그룹에서 어떻게 측정되고 정량화될 수 있는지 본 명세서에 기재하여, 환자를 반응자 대 비-반응자 그룹으로 유용하게 분류하는 컷오프 값을 제공한다. 종양 생물학의 복잡한 특성과 환자의 다양성을 고려하면, 이러한 바이오마커를 사용하여 만든 예측은 100% 정확할 수 없지만, 여전히 확률을 기반으로 한 유용한 가이드를 제공할 것이다. 따라서, 본 발명은 환자가 이익을 얻을 치료법에 환자를 적합하게 일치시킬 가능성을 증가시킨다. 따라서 암 환자는 치료법에 대한 반응의 상대적 가능성의 표시를 제공하기 위해 본 발명에 따른 바이오마커를 사용하여 스크리닝될 수 있으며, 이 정보는 본 발명에 따른 면역요법 과정을 시작할지 여부를 결정하는 데 있어서 및/또는 채택할 면역요법 과정(예를 들어, 어떠한 면역요법 또는 어떠한 약제 조합)을 결정하는 데 있어서 임상의와 환자 둘다에게 가치가 있다.

[0034] 본 발명의 구현예는 간세포암(HCC)과 관련하여 개시되며, 이는 연구된 환자 코호트에 대한 TME 기반의 다음 정량적 측정으로 예시된다:

[0035] - mm^2당 120개 초과의 세포로 측정된, ICOS+ 세포의 고밀도;

[0036] - HCC가 B형 간염 바이러스(HBV) 감염과 연관이 있는 것으로 알려지거나 미국 암 연합 위원회(American Joint Committee on Cancer; AJCC)의 기준에 따라 2기 이상의 HCC인 경우 mm^2당 100개 초과의 세포로 측정된, ICOS+ 세포의 고밀도[28];

[0037] - FOXP3+ 세포의 절반 초과가 ICOS+인 것으로 측정된, ICOS+인 FOXP3+ 세포의 높은 비율;

[0038] - 평균 세포간 거리가 105 μm 미만인 것으로 측정된, ICOS+ FOXP3- 음성(ICOS 단일 양성) 세포와 가장 가까운 이웃 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포 사이의 인접성;

[0039] - 모든 ICOS 단일 양성 세포에 대한 ICOS 단일 양성 세포의 영향 반경 30 μm 내에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 높은 비율.

[0040] 이러한 기준 중 하나 이상(바람직하게는 모두)을 충족하는 HCC 환자는 본 명세서에 기재된 바와 같이 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법을 이용한 치료에 대해 선택될 수 있다.

[0041] 참조 값은 일반적으로 특정 임상 특성(예컨대, 암 하위 유형)을 가진 환자와 관련하여 결정될 것이며 비교 가능한 환자의 예후에 가장 잘 사용된다. 상기는 본 명세서에 예시된 HCC 환자 그룹에 대한 예시적인 구현예이고, 다른 적합한 컷오프 값은 다른 종양 유형 및/또는 환자 집단을 참조하여 결정될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 예시된 참조 값이 HCC 이외의 다른 암 환자의 예후에 선택적으로 적용될 수 있지만, 가능한 경우 표적 암 유형 또는 분자 하위 유형(조직 불문)을 가진 환자로부터의 데이터 평가에 의해 이러한 더 넓은 맥락에서의 사용이 먼저 확인되어야 한다. 본 발명자들은 예측된 암 예후 및 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법으로부터 이익을 얻을 가능성에 따라 환자를 구별하기 위한 적합한 참조 값 및 공식을 결정하는 방법을 기재한다. HCC에 대한 참조 값의 결정 및 사용은 실시예에 설명되어 있으며 동등한 방법을 사용하여 다른 암에 대한 참조 값을 결정하고 효율적으로 사용할 수 있다.

[0042] 본 발명은,

[0043] 예를 들어 생존 기간, 무재발 생존 기간(RFS), 무진행 생존 기간(PFS) 및/또는 종양 진행 시간(TTP)일 수 있는 생존을 예측하기 위해, 환자의 암 예후에서;

[0044] 적절한 치료에 대한 환자의 매칭에서, 예를 들어 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법으로 치료할 환자를 선택하고 이익을 받을 가능성이 더 많을 것으로 식별된 환자에 대해 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법을 처방함에 있어서;

[0045] 환자가 치료에 반응하는지 여부의 초기 지표로서 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법에 대한 세포 반응을 모니터링함에 있어서;

[0046] 환자로부터의 바이오마커 데이터가 질환 이력 및/또는 치료법에 대한 반응에 대해 맵핑되어 향후 환자에 대한 임상 평가 및 치료를 개선시킬 수 있는 모델을 제공하거나 개선시키는 의료 연구에서

[0047] 와 같은 양태를 포함하여, 의학적 맥락에서 바이오마커의 적용에 관한 것이다.

[0048] 하나 이상의 바이오마커는, 환자로부터의 종양 코어 조직에서 결정된 다음과 같은 바이오마커 중 하나 이상을 포함하여, 환자에서 암성 고형 종양의 예후에 사용될 수 있다:

[0049] (i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

[0050] (ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

[0051] (iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

[0052] (iv) ICOS 양성 세포의 밀도.

[0053] 따라서, 제1 양태에서, 본 발명은

[0054] 환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계,

[0055] 상기 샘플에서

[0056] (i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

[0057] (ii) 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

[0058] (iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

[0059] (iv) ICOS 양성 세포의 밀도

[0060] 와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계, 및

[0061] 상기 하나 이상의 바이오마커를 기반으로 하여 환자에 대한 예후를 제공하는 단계

[0062] 를 포함하는, 환자에서의 암성 고형 종양의 예후를 위한 방법을 제공하며, 여기서 더 짧은 생존은

[0063] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 더 큰 비율,

[0064] 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포 사이의 더 짧은 평균 거리,

[0065] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 더 큰 비율, 및/또는

[0066] ICOS 양성 세포의 더 큰 밀도

[0067] 에 의해 나타난다.

[0068] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율이 결정되고 참조 값과 비교될 수 있다. 참조 값보다 높은 수치는 생존 기간이 더 짧다는 예후를 나타내고 참조 값보다 낮은 수치는 생존 기간이 더 길다는 예후를 나타낸다. 예를 들어, HCC에서 본 발명자들은 영향 반경이 30 μm(30 마이크로미터)인 경우 환자 분류에 대한 참조 값이 0.1인 것으로 결정하였다. 따라서,

ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 비율이 0.1 초과인 것으로 결정되는 경우, 이는 생존 기간이 더 짧다는 것을 나타낸다.

[0069] 유사하게, 각각의 ICOS+ FOXP3-(ICOS 단일 양성) 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+(ICOS FOXP3 이중 양성) 세포 사이의 평균 거리가 결정되고 참조 값과 비교될 수 있다. 참조 값 미만의 거리는 생존 기간이 더 짧다는 예후를 나타내는 반면, 참조 값 초과의 거리는 생존 기간이 더 길다는 예후를 나타낸다. 예를 들어, 종양이 HCC인 경우, 105 μm의 참조 값이 사용될 수 있다. 따라서, 각각의 ICOS 단일 양성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포 사이의 평균 거리가 105 μm 미만인 것은 HCC에서 생존 기간이 더 짧다는 것을 나타내는 반면, 각각의 ICOS 단일 양성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포 사이의 평균이 105 μm 초과인 것은 HCC에서 생존 기간이 더 길다는 것을 나타낸다.

[0070] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율이 결정되고 참조 값과 비교될 수 있다. 비율이 참조 값보다 크면 생존 기간이 더 짧다는 예후를 나타내는 반면, 비율이 참조 값보다 작으면 생존 기간이 더 길다는 예후를 나타낸다. 예를 들어, 종양이 HCC인 경우, 0.5의 참조 값이 사용될 수 있다. 따라서, FOXP3 양성 세포의 절반 초과가 ICOS 양성이면 이는 생존 기간이 더 짧다는 것을 나타내는 반면, FOXP3 양성 세포의 절반 미만이 ICOS 양성이면 이는 생존 기간이 더 길다는 것을 나타낸다.

[0071] ICOS 양성 세포의 밀도가 결정되고 참조 값과 비교될 수 있다. 참조 값 초과의 밀도는 생존 기간이 더 짧다는 예후를 나타내는 반면, 참조 값 미만의 밀도는 생존 기간이 더 길다는 예후를 나타낸다. 예를 들어, 종양이 HCC인 경우, mm^2당 120개 ICOS 양성 세포의 참조 값이 사용될 수 있다. 따라서, mm^2당 120개 초과인 ICOS+ 세포의 밀도는 생존 기간이 더 짧다는 것을 나타내는 반면, mm^2당 120개 미만인 밀도는 생존 기간이 더 길다는 것을 나타낸다. 종양이 B형 간염 바이러스 감염과 연관된 HCC이거나 2기 이상의 HCC인 경우, mm^2당 100개 ICOS 양성 세포의 참조 값이 사용될 수 있다. 따라서 이러한 하위 유형의 HCC를 나타내는 환자에 대한 예후는 이러한 더 낮은 참조 값을 사용할 수 있는 반면, 다른 유형의 HCC 또는 HBV와 연관되거나 2기 이상의 HCC인 것으로 식별되지 않은 HCC를 나타내는 환자에 대한 예후는 HCC는 mm^2당 120개 세포인 더 높은 참조 값을 사용할 수 있다. 후자는 1기 HCC로 진단된 환자를 포함한다.

[0072] 첨부된 실시예에서 설명되는 바와 같이, 참조 값은 통계적 모델링으로부터 유래된 것인 한편, 참조 값은 유래된 모델의 데이터에 대해 "최적합"을 나타낼 수 있지만, 환자 분류 및 예후에 대한 대략적인 가이드의 역할만 할 수 있으므로 절대적으로 결정적인 것으로 간주되어서는 안 된다. "30 μm 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 0.1", "각각의 ICOS+ FOXP3- 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 세포 사이의 평균 거리 105 μm", "ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포 50%", "mm^2당 120개 ICOS+ 세포" 또는 "mm^2당 100개 ICOS+ 세포"와 같은 본 명세서에 제공된 정확한 값은 단지 예시적인 구현예를 나타내며, 본 발명은 여전히 예측 값을 유지하면서 이들 정확한 값의 변형을 사용하여 실시될 수 있음이 이해될 것이다. 예를 들어, 영향 반경을 25 μm로 정의하고 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 임계 수를 0.2로 정의한다면, 환자가 상대적으로 긴 생존이 예상될 수 있는 환자인지 여부 및 이러한 환자가 항-ICOS 및/또는 항-TReg 치료제를 이용한 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 어 많거나 적을 것인지 여부를 유용하게 추정할 수 있을 것으로 예상될 것이다.

[0073] 생존은 다양한 방식으로 정의되고 측정될 수 있다. 가장 간단하게 생존은 전체 생존 기간(OS), 즉 환자가 사망할 때까지의 시간 길이로 정의될 수 있다. 다른 생존-관련 임상 평가변수는 무재발 생존 기간(RFS), 무진행 생존 기간(PFS) 및 종양 진행 시간(TTP)을 포함하는 것과 같이, 측정된 생존 시간에 걸쳐 환자의 질환 상태 측정을 포함한다. 간단히 말해서, RFS는 치료된 암이 재발할 때까지의 시간 길이이고, PFS는 암이 악화(진행)할 때까지의 시간 길이이며, TTP는 PFS와 유사하지만 암과 관련되지 않은 원인으로 사망한 환자를 계산하지 않는다. 본 발명의 바이오마커는 환자의 질환 생존 능력을 예측하므로, 따라서 OS, RFS, PFS 및 TTP 각각의 기간과 상관관계가 있을 것으로 예상된다. 이러한 맥락에서, 예측되는 생존 기간은 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 치료의 부재시 생존이며, 즉 예후는 환자가 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같이 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법을 받을 방법 또는 이를 받을 것인지 여부에 상관없이 이루어진다.

[0074] 따라서 예후를 제공하는 것은 환자가 다른 비슷한 환자에 비해 더 긴 생존을 향유할 것인지 여부를 예측하는 것을 포함할 수 있다. 예후를 제공하는 것은, 예를 들어 추정된 개월 수 또는 년 수로서, OS, RFS, PFS 및 TTP의 지속 기간을 예측하는 것과 같은 생존 시간을 예측하는 것을 포함할 수 있다. 환자의 예측된 생존 기간(예를 들어, OS)은 선택적으로 조직 샘플을 채취한 날짜로부터 개월 수로 추정된다. 생존 기간은 바이오마커(들)가 이들

의 상응하는 참조 값(들) 초과 또는 미만에 속하는지 여부에 따라 범위, 예를 들어 x개월 미만 또는 x개월 초과로 추정될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 HCC 환자 집단에서, OS 중앙값은 100.3개월이었다. HCC를 나타내는 추가 환자의 경우, 구역 영향, 세포간 근접성, ICOS+ TReg 비율 및/또는 ICOS+ 세포 밀도에 대한 바이오마커 판독값이 결정되고 이 집단에 대해 정의된 참조 값과 비교되어 생존 예후가 100.3 개월 초과 또는 미만임을 제공할 것이다.

[0075] 따라서 하나 이상의 이러한 바이오마커에 의해 예측된 바와 같이 상대적으로 불량한 예후를 가지는 것으로 식별된 환자는 예후가 더 낙관적인 환자보다 본 발명에 따른 면역요법에 반응할 확률이 더 높을 수 있다. 즉, 환자의 생존 기간이 상대적으로 짧을 것으로 예측되지만, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 치료에 의해 환자의 생존 기간이 연장될 가능성이 더 높다.

[0076] 따라서, 본 발명의 제2 양태는 다른 환자보다 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 치료에 반응할 가능성이 더 높은 환자를 식별하는 것에 관한 것이다. 본 발명의 이러한 양태는 환자 하위그룹(예를 들어, HCC 환자의 하위그룹)의 식별을 제공하며, 여기서 하위그룹은 바이오마커 또는 바이오마커 조합의 존재 또는 값에 의해 정의되고, 상기 하위그룹 내의 환자는 하위그룹 외부의 환자보다(즉, 정의된 바이오마커(들)를 나타내지 않는 환자와 비교하여) 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법에 더 반응할 것으로 예측된다.

[0077] 이러한 제2 양태에서, 본 발명은

[0078] 환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계, 및

[0079] 상기 샘플에서

[0080] (i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

[0081] (ii) 각각의 ICOS+ FOXP3- 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 세포 사이의 평균 거리,

[0082] (iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

[0083] (iv) ICOS 양성 세포의 밀도

[0084] 와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계

[0085] 를 포함하는, 환자에서 암성 고형 종양이 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 반응할 가능성을 결정하는 방법을 제공하며,

[0086] 여기서 환자가 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 반응할 가능성이 더 큰 것은

[0087] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 더 큰 비율,

[0088] 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 양성 세포 사이의 더 짧은 평균 거리,

[0089] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 더 큰 비율, 및/또는

[0090] ICOS 양성 세포의 더 큰 밀도

[0091] 에 의해 나타난다.

[0092] 따라서 상기 바이오마커 중 하나 이상은 환자에서 암성 종양이 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 반응할 가능성을 결정하는 데 사용된다. 환자가 다른 환자에 비해 치료에 반응할 가능성이 증가 또는 감소하는지 여부가 결정될 수 있고/있거나 반응 가능성이 수치적으로 추정될 수 있다.

[0093] 선택적으로, 방법은 본 발명의 제1 양태에 대해 기재되고 본 명세서의 다른 곳에 예시된 바와 동일한 방식으로 하나 이상의 바이오마커를 상응하는 참조 값과 비교하는 단계를 포함한다. 참조 값은 환자의 참조 집단에 대해 계산되며, 예를 들어 HCC 환자에 대해 결정된 바이오마커는 HCC 환자 집단의 참조 값과 비교될 수 있다. 따라서 치료에 대한 반응 가능성의 증가 또는 감소는 참조 집단에서 치료에 대한 반응의 기대와 관련하여 결정된다.

[0094] 방법은 면역요법에 반응할 가능성이 증가된 환자를 식별함으로써 상기 환자의 치료를 위한 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 선택하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 따라서 상기 바이오마커 중 하나 이상은 환자가 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 더 높은 것으로 식별하고, 선택적으로 이에 따

라 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용하여 치료할 환자를 선택하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 정의된 참조 값을 초과하여 TME에서 ICOS+ 세포 수의 증가를 나타내는 HCC 환자는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용하여 치료하기에 적합한 것으로 식별될 수 있다. 그 다음 선택적으로, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제는 환자에게 처방 및/또는 투여된다.

[0095] 바이오마커 판독값이 환자가 면역요법에 반응할 가능성이 더 낮은 것으로 나타나는 경우(비-반응자), 이 환자에게 상이한 치료가 권장될 수 있다. 대안적으로, 이러한 바이오마커 판독값은 환자가 하나 이상의 다른 치료와 조합하여 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제로 치료되어야 하며, 조합으로 반응이 달성될 가능성이 더 높다는 것을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 일부 치료는 본 명세서에 기재된 바이오마커에 영향을 미칠 수 있고, 바이오마커가 면역요법에 대한 증가된 역할을 나타내는 방향으로 변화하게 할 수 있다. 면역요법은 이러한 추가 치료와 함께 투여될 수 있으며, 다수의 치료는 임의의 순서로 함께(동시에) 또는 순차적으로 투여된다. 도 1.

[0096] 제3 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 바이오마커에 의해 식별되는 암 환자를 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법으로 치료하는 것, 및 본 명세서에 기재된 바이오마커에 의해 식별된 환자를 치료하는 데 사용하기 위한 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 관한 것이다. 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 포함하는 약제학적 조성물은 이러한 환자에서 사용하기 위해 제공될 수 있다. 또한, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제는 이러한 환자에서 암성 고형 조양을 치료하기 위한 약제의 제조에 사용될 수 있다. 치료는 환자의 생존을 연장하는 것을 포함한다.

[0097] 본 발명의 제3 양태에 따른 방법은 환자에서 암성 고형 종양을 치료하는 단계를 포함하며, 여기서 방법은

[0098] 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 반응할 가능성이 증가된 환자를 식별하는 단계, 및

[0099] 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 환자에게 투여하는 단계

[0100] 를 포함하며, 여기서 상기 환자는 본 발명의 제2 양태에 기재된 것과 같이 식별되거나 식별되었다. 따라서 예를 들어, 환자는 종양으로부터

[0101] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율(여기서, 상기 비율은 참조 값보다 큼),

[0102] 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS 양성 FOXP3 양성 세포 사이의 평균 거리(여기서, 상기 거리는 참조 값 미만임),

[0103] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율(여기서, 상기 비율은 참조 값보다 큼), 및

[0104] ICOS 양성 세포의 밀도(여기서, 상기 밀도는 참조 값보다 큼)

[0105] 와 같은 바이오마커 판독값 중 하나 이상에 의해 식별될 수 있다.

[0106] 따라서 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제는 환자에서 암성 고형 종양을 치료하는 데 사용되며, 여기서 종양은 하나 이상의 정의된 바이오마커를 포함하는 것으로 결정되었다. 따라서, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용하여 치료하기 전에, 환자로부터 이전에 얻은 종양 코어 조직의 샘플에서 하나 이상의 바이오마커는 본 명세서에 기재된 바와 같은 바이오마커에 대한 참조 값과 비교함으로써 치료법의 적합성을 나타내는 것으로 결정되었을 수 있다. 예로서 HCC의 경우, 종양은

[0107] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율(여기서, 상기 비율은 0.1보다 큼),

[0108] 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS 양성 FOXP3 양성 세포 사이의 평균 거리(여기서, 상기 거리는 105 μm 미만임),

[0109] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율(여기서, 상기 비율은 절반보다 큼), 및

[0110] ICOS 양성 세포의 밀도(여기서, 상기 밀도는 mm^2당 120개 세포보다 큼)

[0111] 와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 포함하는 것으로 결정되었을 수 있다.

[0112] HBV와 연관된 HCC, 또는 2기 이상의 HCC의 경우, 종양은

[0113] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성

세포 수의 비율(여기서, 상기 비율은 0.1보다 큼),

[0114] 각각의 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS 양성 FOXP3 음성 세포 사이의 평균 거리(여기서, 상기 거리는 105 μm 미만임),

[0115] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율(여기서, 상기 비율은 절반보다 큼), 및

[0116] ICOS 양성 세포의 밀도(여기서, 상기 밀도는 mm^2당 100개 세포보다 큼)

[0117] 와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 포함하는 것으로 결정되었을 수 있다.

[0118] 본 발명의 제4 양태는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 바이오마커의 변화를 검출함으로써 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법에 대한 암 환자의 반응을 측정하는 것에 관한 것이다. 이러한 변화는 반응의 특징을 나타낼 수 있으며, 외부에서 볼 수 있는 임상 징후보다 훨씬 더 일찍 검출가능하여서, 치료가 질환의 진행을 억제할 생물학적 효과를 달성하고 있는지 여부에 대한 유용한 지표를 제공할 수 있다.

[0119] 암성 고형 종양을 치료하기 위해 투여된 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 환자의 반응을 모니터링하는 방법은

[0120] 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제의 투여 후 환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 테스트 샘플을 제공하는 단계,

[0121] 상기 샘플에서

[0122] (i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

[0123] (ii) 각각의 ICOS+ FOXP3- 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 세포 사이의 평균 거리,

[0124] (iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

[0125] (iv) ICOS 양성 세포의 밀도

[0126] 와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계,

[0127] 상기 테스트 샘플에서의 상기 하나 이상의 바이오마커를 환자로부터 얻은 종양 코어 조직의 이전 샘플에서의 동일한 하나 이상의 바이오마커와 비교하는 단계, 및

[0128] 상기 하나 이상의 바이오마커에서 변화가 발생했는지 여부를 결정하는 단계

[0129] 를 포함할 수 있다.

[0130] 테스트 샘플은 면역치료제를 투여한 후, 면역치료제가 효과를 나타내도록 일정 시간 동안 허용한 후에 얻어진다. 예를 들어, 테스트 샘플은 상기 면역치료제의 투여 후 적어도 3일 후에 채취될 수 있다. 테스트 샘플은 바람직하게는 상기 투여 2, 4, 6 또는 8주 이내에 채취된다.

[0131] 이전 샘플은 테스트 샘플을 얻기 전, 바람직하게는 상기 면역치료제의 투여 전에 환자 치료의 더 이른 시점에 환자로부터 얻어진다. 이전 샘플은 테스트 샘플을 얻기 전, 바람직하게는 상기 면역치료제의 투여 전에 환자 치료의 더 이른 시점에 환자로부터 얻어진다. 이전 샘플은 상기 면역치료제의 투여 전(선택적으로 직전, 예를 들어 최대 14일 전), 투여 시점에(예를 들어, 동일한 날에), 또는 투여 직후(예를 들어, 다음 날)에 얻어질 수 있다. 이전 샘플은 면역치료제를 이용한 치료 과정을 시작하기 전 또는 시작 시(예를 들어, 최대 14일 전), 면역치료제의 초기 투여 시점에(예를 들어, 동일한 날에), 또는 투여 직후(예를 들어, 다음 날) 얻은 초기 샘플일 수 있다.

[0132] 테스트 샘플은 통상적으로 비교되는 이전 샘플의 적어도 2주 후에 얻어진다.

[0133] 이에 의해 환자가 면역치료제에 반응하는지 여부가 평가될 수 있으며, 여기서 반응은 이전 샘플로부터

[0134] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율의 감소,

[0135] 각각의 ICOS+ FOXP3- 세포와 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+ 세포 사이의 평균 거리의 증가,

[0136] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율의 감소, 및

[0137] ICOS 양성 세포의 밀도의 감소

[0138] 와 같은 변화 중 하나 이상에 의해 나타난다.

[0139] 실제로, 이전 샘플은 하나 이상의 바이오마커에 대한 참조 값을 제공하는 데 사용되며, 그 다음 테스트 샘플로부터의 하나 이상의 바이오마커가 이전 샘플과 비교된다.

[0140] 방법은 이전 샘플과 비교하여 테스트 샘플에서 상기 바이오마커 중 하나 이상의 변화를 관찰하는 단계를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 변화는 환자가 면역요법에 반응하고 있음을 나타낸다.

[0141] 본 발명의 이러한 제4 양태의 방법은 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법을 받고 있는 환자의 지속적인 평가 또는 모니터링에 사용될 수 있고, 따라서 선택적으로 치료법 과정 동안 주기적으로 반복되며, 여기서 하나 또는 더 많은 바이오마커에 대한 판독값을 이전 판독값과 비교하여, 시간 경과에 따른 하나 이상의 바이오마커의 변화를 차트로 표시한다. 바람직하게는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 환자에게 처음 투여하기 전에 얻은 초기 샘플에 추가적으로, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제의 매 투여 후, 또는 특정 투여 후에만(예를 들어, 첫 번째 투여 후 및 다시 대략 1개월, 2개월 또는 3개월 간격으로, 여기서 조직 샘플링은 선택적으로 치료를 위해 환자가 진료소를 방문하는 것과 일치하도록 시기가 조정됨) 바이오마커의 측정을 위해 샘플이 선택적으로 채취될 수 있다. 따라서 연장된 기간에 걸쳐 바이오마커의 변화를 모니터링하기 위해 테스트 샘플의 판독값을 여러 이전 샘플의 판독값과 비교할 수 있다. 따라서 방법은 이전 샘플과 비교하여 테스트 샘플에서의 하나 이상의 바이오마커의 변화를 검출하되, 상기 변화는 선택적으로 일련의 다수 샘플에서 검출(테스트 샘플을 디수의 이전 샘플, 예를 들어 몇 주 또는 몇 개월의 연장된 기간에 걸친 샘플과 비교)하는 것인 단계, 및 반응 특징(바람직하게는, 다수의 이전 샘플과 비교하여 테스트 샘플에서 관찰되는 지속적인 반응 특징)을 검출하되, 반응 특징은 환자가 치료에 반응하고 있음을 나타내는 것인 단계를 포함할 수 있다.

[0142] 바이오마커 판독값은 환자의 추가 치료에 관한 임상 결정을 알리는 데 사용될 수 있다. 양성 신호가 검출되는 경우(하나 이상의 바이오마커가 환자가 치료에 반응하고 있음을 나타냄), 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법을 계속할 수 있다. 그렇지 않은 경우, 또는 장기 치료 중에 더 이상 해당되지 않는 경우, 면역 요법을 종료하고 환자는 선택적으로 대체 치료로 전환될 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 추가적인 치료로 면역 요법을 보완하는 것이 지시될 수 있다. 선택적으로, 이러한 대체 치료의 선택은 샘플에서 결정된 바이오마커에 의해 안내된다. 물론, 이러한 임의의 치료 결정은 또한 질환의 임의의 다른 증상 또는 징후 또는 환자의 임상 반응을 고려할 것이지만, 바이오마커 판독값은 치료의 약력학에 대한 가치 있고 초기 통찰력을 제시하므로 환자의 예후를 검토 및 업데이트하고 의사에 의한 의사 결정을 안내하는 데 중요한 신호를 제공한다.

[0143] 일반적으로, 하나의 바이오마커가 변화에 대한 반응을 강하게 나타내고 다른 바이오마커가 그 반대를 나타내기보다는, 다중 바이오마커의 변화가 서로 동일한 방향의 경향(예를 들어, 모든 변화가 치료에 대한 반응을 나타냄)을 나타낼 것으로 예상된다. 더 큰 정확도와 더 큰 예측 값은 공식에 따라 다중 바이오마커 판독값의 출력을 통합하여 얻을 수 있으며, 여기서 공식의 출력값은 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같이, 샘플 간에 및/또는 참조 값과 비교된다.

[0144] 반응 특징이 관찰될 수 있으며, 여기서 하나 이상의 바이오마커 판독값 또는 이로부터 계산된 공식은 치료에 대한 반응을 나타내며, 반응 특징은

[0145] ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율 감소의 측정,

[0146] 각각의 ICOS 단일 양성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리 증가의 측정,

[0147] ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율 감소의 측정, 및

[0148] ICOS 양성 세포의 밀도 감소의 측정

[0149] 에 의해 식별된다.

[0150] 변화는 치료법 전과 후의 바이오마커 판독값을 비교함으로써 식별될 수 있다.

[0151] 테스트 샘플에서 반응 특징의 존재를 관찰하면, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 지속적인 치료가 환자에게 처방될 수 있다.

[0152] 바이오마커의 변화 정도는 치료법의 투약 및/또는 일정을 알리는 데 사용될 수 있다. 치료는 바이오마커의 양성 변화, 즉 치료에 대한 반응을 나타내는 변화를 최대화하도록 반복적으로 조정될 수 있으며, 투여되는 치료제의 양 및/또는 시기는 가장 최근의 바이오마커 데이터에 기초하여 조정된다.

[0153] 바이오마커에 양성 변화가 없는 경우, 즉 바이오마커가 환자가 치료에 반응하고 있음을 나타내지 않는 경우, 특히 반복 샘플링에 의한 장기간 모니터링에 걸쳐 양성 변화가 관찰되지 않는 경우, 그러면 항-ICOS 및/또는 항-TReg 암 면역요법 치료는 상기 환자에 대해 중단될 수 있거나 치료 요법이, 예를 들어 단일요법 치료에서 병용 치료로 변경될 수 있다.

[0154] 반응의 특징은 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제가 환자가 면역 관문 차단제와 같은 다른 치료에 반응하도록 만든 것을 나타낼 수 있다. 이는 병용 요법에 대한 맞춤형 접근을 가능하게 하여, 반응 특징이 검출된 환자의 치료를 위해 추가 치료제가 선택적으로 처방된다. 하나 이상의 바이오마커의 변화는, 예를 들어 종양이 추가 치료제의 투여와 같은 (기존의 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법 외의) 다른 치료에 대한 증가된 감수성을 가짐을 나타낼 수 있고, 바이오마커는 이러한 다른 치료를 위한 적절한 투여 시기를 결정하기 위해 모니터링될 수 있다. 이러한 다른 치료의 예는 상이한 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제, 면역 관문 차단제, 화학치료제, 표적 치료법(예컨대, 항-혈관신생 및 티로신 키나제 억제제), 또는 방사선 치료(또는 이러한 여러 다른 치료이 조합)의 투여를 포함한다. 면역학적 세포 사멸을 유도하는 작용제가 사용될 수 있다. 이러한 임의의 다른 치료는 이전의 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제와 함께 환자에게 투여될 수 있거나(즉, 이전 치료가 중단되지 않음) 이를 대체할 수 있다(즉, 이전 치료가 중단됨, 환자는 다른 치료로 전환됨).

[0155] 제5 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 바이오마커를 환자 예후 또는 치료에 대한 반응의 상관관계를 입증하고, 환자를 종양 예후 또는 치료에 대한 반응에 대해 구별될 수 있게 하는 바이오마커에 대한 정량적 값을 식별하는 것을 포함하여, 새로운 환자 하위그룹에서 바이오마커를 사용하기 위한 파라미터를 결정하는 것에 관한 것이다. 이렇게 결정된 참조 값은 본 발명의 다른 양태에서, 예컨대 질환 예후 및 치료에 대한 환자의 선택에 이용될 수 있다.

[0156] 본 발명의 이러한 제5 양태는

[0157] 질환 결과가 알려져 있거나 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 반응이 알려져 있는 동일한 종양 유형(동일한 조직학적 및/또는 분자적 유형의 암성 고형 종양(선택적으로 조직학 불문))을 가진 환자 집단(통계학적으로 의미 있는 숫자, 예를 들어 적어도 20, 적어도 100) 각각으로부터 얻은 종양 코어 조직의 샘플을 제공하는 단계,

[0158] 각각의 상기 샘플에서

[0159] (i) ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율,

[0160] (ii) 각각의 ICOS 단일 양성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리,

[0161] (iii) ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율, 및

[0162] (iv) ICOS 양성 세포의 밀도

[0163] 와 같은 바이오마커 중 하나 이상을 결정하는 단계,

[0164] 각각의 환자에서 질환 결과 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 반응에 대한 데이터와 상기 하나 이상의 바이오마커 각각에 대한 데이터의 쌍을 형성하는 단계, 및

[0165] 질환 결과 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 반응에 대한 통계적으로 유의한 데이터의 두 그룹을 정의하는 수치 컷오프를 식별하기 위해 상기 하나 이상의 바이오마커 각각에 대한 데이터를 그룹화하는 단계

[0166] 를 포함하는, 항-ICOS 및/또는 항-Treg 면역치료제에 대한 예측된 예후 또는 예측된 반응에 따라 암성 고형 종양 환자를 분류하기 위한 참조 값을 식별하는 방법을 제공하며,

[0167] 여기서 상기 컷오프는 예측된 예후 또는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제에 대한 예측된 반응에 따라 동일한 유형의 암성 고형 종양을 가진 환자를 분류하기 위한 참조 값을 나타낸다.

[0168] 본 명세서에 기재된 각각의 바이오마커는 개별적으로 또는 하나 이상의 다른 바이오마커와 함께 사용될 수 있다. 암의 병인 및 진행은 다인자적이며, 바이오마커의 조합을 사용하여 더 큰 예측 값을 얻을 수 있다. 로지

스틱 회귀와 같은 통계적 모델링 방법을 사용하여 어떤 바이오마커 및 바이오마커 조합이 최상의 예측 값을 제공하는지 결정할 수 있다. 다수의 바이오마커에 대한 참조 값을 조합하여 예후 및/또는 치료에 대한 반응 가능성에 따라 환자를 분류할 수 있는 공식을 제공할 수 있다. 이러한 공식은 환자가 항-ICOS 및/또는 항-TReg 요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 있는지 여부를 결정하고 따라서 항-ICOS 및/또는 항-TReg 치료제를 이용하여 치료할 환자를 식별하는 데 적용될 수 있으며, 여기서 공식에 따라 계산된 참조 값을 충족하거나 초과하는 환자는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 치료제를 이용한 치료를 받는다.

[0169] 본 발명의 구현예는 이제 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 기재될 것이다. 당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 첨부된 청구범위의 보호 범주 내에 있고자 한다.

도면의 간단한 설명

[0170] **도 1**은 본 발명에 따른 항-ICOS 암 면역요법을 이용하여 치료할 환자를 선택하는 데 바이오마커가 사용되는 방법의 흐름도로서, HCC의 진단이 확인된 환자에서 암 면역 구조를 평가하고 항-ICOS 치료에 대한 적격성 및 필요성을 예측하기 위한 데이터 수집 과정의 구현예를 나타낸다. 바이오마커 판독값이 양성인 환자("예" 아암)는 선택적으로 다른 치료와 함께 항-ICOS 항체인 KY1044를 투여받는다. 바이오마커 판독값이 음성인 환자("아니오" 아암) 환자는 항-ICOS 요법을 처방받지 않거나 하나 이상의 다른 치료(예를 들어, 바이오마커에 영향을 미치고 "예/아니오" 임계값을 가로지르는 효과를 나타낼 다른 작용제의 투여)와 함께 항-ICOS 요법을 받는다.

도 2는 TME 대 정상 인접 조직(종양 주변)에서 ICOS FOXP3 이중 양성 TReg 밀도의 현저한 증가를 나타내는 막대 그래프이다.

도 3은 TME 대 정상 인접 조직(종양 주변)에서 ICOS FOXP3 이중 양성 TReg 대 총 TReg(모든 FOXP3+) 세포 비율의 현저한 증가를 나타내는 막대 그래프이다.

도 4는 HCC 종양 생검(n=142명 환자)의 TME에서 ICOS 양성 세포의 밀도에 따라 분리된, 시간 경과에 따른 전체 생존율의 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 곡선을 나타낸다. 대만 NTU 코호트로부터의 142개 HCC 샘플을 mm^2당 ICOS 세포 밀도의 최고 사분위수(점선) 대 하위 3개 사분위수(실선)에 따라 계층화하였으며, 이는 mm^2당 120개 세포의 컷오프 밀도를 나타낸다. 로그 순위(맨*-콕스(Mantel-Cox)) 테스트 $p<0.05$.

도 5는 HCC 종양 생검(n=142명 환자)의 TME에서 ICOS+FOXP3+ 대 총 FOXP3+ 세포 비율에 따라 분리된, 시간 경과에 따른 전체 생존율의 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 0.5의 컷오프 비율을 사용하여 높은(점선) 대 낮은(실선) 비율 집단을 분리하였다. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트 $p = 0.0451$.

도 6은 HBV 감염 HCC 종양 생검(n=87명 환자)의 TME에서 ICOS 양성 세포의 밀도에 따라 분리된, 시간 경과에 따른 전체 생존율의 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 대만 NTU 코호트로부터의 87개 HCC 샘플을 mm^2당 ICOS 세포 밀도의 최고 사분위수(점선) 대 하위 3개 사분위수(실선)에 따라 계층화하였으며, 이는 mm^2당 100개 세포의 컷오프를 나타낸다. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트 $p<0.05$.

도 7은 AJCC 2기 HCC 종양 샘플(n=41명 환자)의 TME에서 ICOS 양성 세포의 밀도에 따라 분리된, 시간 경과에 따른 전체 생존율의 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 대만 NTU 코호트로부터의 41개 AJCC 2기 HCC 샘플을 mm^2당 ICOS 세포 밀도의 최고 사분위수(점선) 대 하위 3개 사분위수(실선)에 따라 계층화하였으며, 이는 mm^2당 100개 세포의 컷오프를 나타낸다. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트 $p<0.01$.

도 8은 AJCC 2기 HCC 종양 생검(n=41명 환자)의 TME에서 ICOS 양성 세포의 총 밀도에 따라 분리된, 무재발 생존율(RFS%)의 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 대만 NTU 코호트로부터의 41개 AJCC 2기 HCC 샘플을 mm^2당 ICOS 세포 밀도의 최고 사분위수(점선) 대 하위 3개 사분위수(실선)에 따라 계층화하였으며, 이는 mm^2당 100개 세포의 컷오프를 나타낸다. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트 $p<0.05$.

도 9는 TME에서 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 ICOS 단일 양성 세포의 평균 거리에 따라 분리된, 시간 경과에 따른 전체 생존율의 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 대만 NTU 코호트로부터의 142개 HCC 샘플을 중앙 평균 거리에 따라 계층화하였다: 짧은 거리(실선의 경우 105 μm 미만) 대 긴 거리(점선의 경우 105 μm 이상). 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트 $p<0.05$.

도 10은 HCC의 TME에서 ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율에 따라 분리된, 시간 경과에 따른 전체 생존율의 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 대만 NTU 코호트로부터의 142개 HCC 샘플을 ICOS 단일 양성 세포의 30㎛ 내에서 평균 0.1개보다 많거나 적은 이중 양성 세포의 값에 따라 계층화하였다. 낮은 발생률(실선의 경우 0.1 미만) 대 높은 발생률(점선의 경우 0.1 이상). $p<0.05$ 로그 순위(맨텔-콕스).

도 11은 항-ICOS 모노클로날 항체인 KY1044의 투여 전후 인간 환자에서 총 FOXP3 양성 세포에 대한 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 비율(모든 TReg 내에서 ICOS+ TReg 비율을 나타냄) 감소를 나타낸다. A) 평활근육종이 있는 코호트 1(0.8 mg 균일 용량, Q3W) 환자; B) 알려지지 않은 원발성 암종(원), 신장 세포 암종(삼각형) 및 췌장암(사각형)이 있는 코호트 2(2.4 mg 균일 용량 Q3W) 환자; C) 전이성 전립선암이 있는 코호트 3(8 mg 균일 용량 Q3W) 환자; D) 췌장(원) 및 식도(삼각형) 암이 있는 코호트 4(24 mg 균일 용량 Q3W) 환자 및 E) 결장 선암종(원), 췌장(삼각형) 및 중피종(사각형)이 있는 코호트 5(80 mg 균일 용량 Q3W) 환자.

도 12 (A)는 조직 절편의 절반 초과를 포함하는 대략 2 cm x 1 cm의 영역을 정의하는 종양 코어를 정의하는 경계가 그려진 조직 절편 이미지이다. 비-종양 특징은 종양 핵심 영역에서 제외되도록 표시되어 있다. 표시된 경계 내에 있는 종양 조직만 TME로 평가하기 위해 포함된다.

(B)는 (A)의 영역을 확대한 것이다. IHC 염색은 모든 세포 핵을 염색하는 헤마톡실린 염료, 및 ICOS 및 FOXP3 각각에 대한 2가지 별개의 발색*의 더 어두운 염색을 포함하여 가시적이다.

(C)는 (B)와 동일한 도면이며, 추가적으로 ICOS FOXP3 이중 양성 세포(이중 염색으로 식별됨)를 나타내는 사각형 박스 및 ICOS 단일 양성 세포(ICOS-특이적 염색으로만 식별됨, FOXP3 음성)를 나타내는 원을 나타낸다. "가장 가까운 이웃" 선은 각각의 ICOS 단일 양성 세포를 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포에 연결한다. 모든 ICOS FOXP3 이중 양성 세포가 연결되어 있지는 않은데, 이는 조직 내의 일부 ICOS FOXP3 이중 양성 세포가 임의의 ICOS 단일 양성 세포에 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포가 아니기 때문이다.

(D)는 (C)의 영역을 확대한 것이다. TME에서 모든 ICOS 단일 양성 세포와 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 거리를 측정한다. 각각의 ICOS 단일 양성 세포에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 최단 거리(즉, 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 거리)는 연결선으로 표시된다. ICOS 단일 양성 세포의 하위집합에서 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 개별 거리 측정값이 각각 50.7, 36.6, 45.4 및 39.5 ㎛인 것으로 나타나 있으며, 이러한 측정값은 모든 ICOS 단일 양성 세포에 대해 기록된다. 이 거리는 Halo® 소프트웨어 패키지를 사용하여 측정된다.

도 13 (A)는 기저 조직 이미지 없이 ICOS 단일 양성(검은색) 및 ICOS FOXP3 이중 양성(회색) 세포가 표시된 도 12 (A)의 경계에 의해 정의된 종양 코어 영역의 Halo® 플롯이다.

(B)는 (A)의 영역을 확대한 것이다.

(C)는 (B)의 영역을 확대한 것이며 도 12 (C)에 나타낸 영역의 Halo® 플롯이다. 가장 가까운 이웃 선은 각각의 ICOS 단일 양성 세포(원)에서 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포(사각형)까지 나타나 있다.

도 14 (A)는 도 12 (A)에 도시된 조직 절편의 영역을 확대한 것이며, 이 영역은 도 12 (B)에 나타낸 영역과 중첩된다.

(B)는 (A)와 동일한 도면이며, 추가적으로 ICOS 단일 양성 세포(ICOS-특이적 염색으로만 식별됨, FOXP3 음성)를 나타내는 원 및 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 30 ㎛ 이내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포(이중 염색으로 식별됨)를 나타내는 사각형 박스를 나타낸다. 선은 각각의 ICOS 단일 양성 세포를 30 ㎛ 이내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포에 연결한다. 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 30 ㎛ 이내에 있지 않은 ICOS FOXP3 이중 양성 세포는 표시되어 있지 않다. 임의의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 30 ㎛ 이내에 있지 않은 ICOS 단일 양성 세포는 표시되어 있지 않다.

(C)는 (B)의 영역을 확대한 것이다. ICOS 단일 양성 세포와 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 거리 측정 예는 30 ㎛ 이내로 나타나 있다. 이 거리는 각각 7.4 ㎛, 7.6 ㎛ 및 15.6 ㎛이다. 이러한 거리는 전체 TME에 걸쳐 모든 ICOS 단일 양성 세포에서 30 ㎛ 이내의 모든 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지 측정된다. 이 거리는 Halo® 소프트웨어 패키지를 사용하여 측정된다.

(D)는 기저 조직 이미지가 없고 모든 검출된 ICOS 단일 양성 세포(원) 및 ICOS FOXP3 이중 양성 세포(사각형)가 표시된 (B)에 해당하는 영역의 약간 확대된 Halo® 플롯이다. 선은 각각의 ICOS 단일 양성 세포를 30 μm 이내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포에 연결한다.

도 15 (A)는 조직 절편의 대부분을 포함하는 대략 2 cm × 2 cm의 영역을 정의하는 종양 코어를 정의하는 경계가 그려진 조직 절편 이미지이다. 비-종양 특징은 종양 핵심 영역에서 제외되도록 표시되어 있다. 표시된 경계 내에 있는 종양 조직만 TME로 평가하기 위해 포함된다.

(B)는 기저 조직 이미지 없이 ICOS FOXP3 이중 양성 세포(회색 원) 및 FOXP3 단일 양성 세포(검은색 삼각형)가 표시된 (A)의 경계에 의해 정의된 종양 코어 영역의 Halo® 플롯이다.

(C)는 (B)의 영역을 확대한 것이다.

(D) 및 (E)는 각각 (C) 내의 영역에 대한 스캔 이미지 및 Halo® 플롯이다. TME 영역에서 제외된 조직 특징은 고리로 표시된다. IHC 염색은 모든 세포 핵을 염색하는 헤마톡실린 염료, 및 ICOS 및 FOXP3 각각에 대한 2가지 별개의 크로마겐의 더 어두운 염색을 포함하여 (D)에서 볼 수 있다. (E)는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 회색 원으로 표시하고 FOXP3 단일 양성 세포를 검은색 삼각형으로 표시하며, 기저 조직 이미지는 나타내지 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0171] 종양 샘플 제공

[0172] TME 내의 세포 구성, 면역 구조 및 특정 공간 배열을 평가하기 위해, 종양 조직 샘플을 시험관 내에서 제공한다. 샘플은 근치 수술(종양을 절제하기 위한 수술) 후 절제된 종양에서 또는 생체 내에 남아 있는 종양에서 얻은 생검 샘플에서 얻을 수 있다. 일반적으로 이용가능한 조직의 부피가 더 크다는 점에서 분석의 용이성을 위해 절제된 조직이 선호되지만, 생검 물질(예를 들어, 코어 바늘 생검에서 얻은 것)도 동일하게 사용될 수 있다. 세침 생검이 대안이 될 수 있지만, 샘플이 분석을 대표할 수 있도록 충분한 종양 코어 조직을 포함하여야 하므로 더 큰 샘플링(예를 들어, 개방 생검) 방법이 선호된다. 대안적으로, 생체 내 이미징 시스템이 TME 내 제자리에서 직접 바이오마커의 평가를 허용하는 경우, 외과적 샘플링 단계가 생략될 수 있다. 그러나, 일반적으로 본 발명의 방법은 일반적으로 시험관 내 샘플에서 수행된다.

[0173] TME는 종양 코어의 대부분을 구성하는 암성 세포에 추가적으로, 다양한 하위 유형의 T 림프구, 단핵구, 호중구, 수지상 세포 및 대식세포와 같은 다양한 면역 세포를 포함한다.

[0174] 임상 생검에서 단백질 발현의 평가는 종양 특성 및 암시적 예후 마커의 발현을 평가하기 위해 포르말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 슬라이드에서 자주 수행된다. 이들은 주어진 환자에 대한 올바른 치료를 맞춤화하는 데 도움이 되거나 새로운 바이오마커의 식별을 통해 주어진 치료법에 대한 반응자 환자와 비-반응자 환자를 후향적으로 구별하는 데 사용될 수 있다.

[0175] (예를 들어, 절제된 조직 또는 생검 표본에서) 조직 샘플을 얻으면, 조직 샘플은 보통 무결성을 보존하고 테스트를 위해 준비하기 위해 처리될 것이다. 조직은 10% 포르말린으로 고정한 다음 파라핀으로 포매할 수 있으며, 이 때 표준 블록 모양은 0.5 × 1 × 1 cm이다. 이 과정의 대안은 조직을 최적 절단 온도(OCT) 화합물에서 포매시키고 드라이아이스에서 급속 냉동한 후 장기 보관을 위해 액체 질소로 옮기는 신선 냉동 절차이다. FFPE 공정은 실온에서 장기 보관할 수 있는 이익이 있는 반면, 신선 냉동은 조직을 보관하고 항원을 원래 형식으로 유지하는 더 신속한 공정이지만 준비 및 배송을 위한 드라이아이스와 장기 보관을 위한 액체 질소에 대한 접근을 필요로 한다.

[0176] 조직 샘플의 2차원 절편이 테스트를 위해 제공될 수 있다. 환자당 또는 종양당 최소 하나의 절편이 준비된다. 선택적으로, 동일한 조직 샘플 또는 다수의 샘플로부터, 예를 들어 하나의 종양의 상이한 영역 또는 다수의 종양으로부터, 다수의 절편을 제조할 수 있다. FFPE 샘플의 경우, 블록을 마이크로톰에 로딩하여 직경이 4 내지 5 미크론인 절편으로 절단하고 염색에 적합한 유리 슬라이드(보통 25 mm × 75 mm의 표준 크기)에 장착한다. 신선 냉동 블록을 본질적으로 냉동고의 마이크로톰인 저온 유지 장치를 통해 유사한 방식으로 절단 및 장착하여 공정 중에 절편이 냉동된 상태를 유지할 수 있게 한다. 그 다음, 예를 들어 면역조직화학(IHC) 및 디지털 이미지 분석에 의해 바이오마커 판독값을 결정하기 위한 테스트를 위해 조직 절편을 제공한다.

[0177] 평가를 위해 조직 절편의 종양 코어 영역을 정의할 수 있다. 절제된 조직은 종종 종양 조직에 추가적으로 비-종

양 조직을 포함할 것이다. 생검 샘플이 단순히 종양 코어 조직으로 이루어질 수 있지만, 이는 생검된 조직의 경우에도 또한 해당될 수 있다. 종양의 범위는 통상적으로 조직 샘플에서 종양의 경계를 정의할 수 있는 병리학자에 의해 결정된다. 종양 내의 영역(경계 안쪽으로 500 μm 초과)은 종양 코어라고 지칭되며 종양 미세환경은 이 영역을 지칭한다. TME는 종양 경계에서 바깥쪽으로 500 μm 초과의 조직으로 정의되고 일반적으로 정상, 비-암성 조직을 포함하는 종양 주변 기질과 대조될 수 있으며, 이는 종양이 유래된 것과 동일한 조직-유형 또는 기관일 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다. 종양 경계를 나타내는 경계는 물리적 IHC 슬라이드 바로 위에(예를 들어, 유리에 수동으로) 또는 바람직하게는 조직 절편의 디지털 이미지에 시각적 오버레이로 전자적으로 그려질 수 있다. 종양 경계는 통상적으로 자유형 모양이며 조직 절편의 2차원에서 단일 루프로 표시될 수 있거나, 예를 들어 종양/비-종양 조직의 여러 패치가 절편에 나타나는 경우 여러 루프를 포함할 수 있다. 조직 절편의 주석은 또한 인공물 또는 조직 주름과 같이 TME에서 제외될 하나 이상의 영역 주변의 경계를 정의할 수 있다. 도 12.

[0178] ICOS의 검출

[0179] 인간, 마우스 및 사이노몰구스 ICOS의 서열은 NCBI로부터 인간 NCBI ID: NP_036224.1, 마우스 NCBI ID: NP_059508.2 및 사이노몰구스 GenBank ID: EHH55098.1로서 이용가능하다. 본 발명의 환자는 바람직하게는 인간 환자이므로, 본 명세서에서 ICOS에 대한 언급은 문맥이 달리 지시하지 않는 한 인간 ICOS를 지칭하거나 포함한다.

[0180] ICOS는 활성화된 T 세포의 마커이다. ICOS 양성 세포는 세포 표면 상의 ICOS 수용체를 검출함으로써 식별될 수 있다. 항체, 예를 들어 항-ICOS 클론인 D1K2T와 같은 ICOS-결합제는 존재하는 경우 작용제와 ICOS 사이의 결합을 허용하는 조건 하에서 조직 절편과 접촉하게 된다. 작용제는 그 자체로 검출가능하거나(예를 들어, 검출가능한 표지를 보유함) 표지된 2차 작용제를 항-ICOS 작용제(예를 들어, 검출가능한 표지를 보유하는 2차 항체)에 특이적으로 결합시킴으로써 간접적으로 검출가능하다. 예를 들어, IHC를 사용하여 항-ICOS 항체(예를 들어, 토끼 IgG인 D1K2T)는 ICOS 양성 세포에 결합되고 검출가능한 표지를 보유하는 2차 항체(예를 들어, 토끼 IgG Fc에 대한 항체)에 의해 검출된다. 과량의 결합되지 않은 작용제는 세척에 의해 제거되고, 그 다음 검출가능한 표지는 조직에서 ICOS를 위치시키기 위해 검출되며, 이에 의해 ICOS 양성 세포의 존재 및 위치를 식별한다.

[0181] ICOS 양성(ICOS+) 세포는 본 명세서에 개괄된 바와 같은 방법을 사용하여 검출가능한 ICOS를 발현하는 세포이다. ICOS 양성 세포는 ICOS에 추가적으로, FOXP3과 같은 다른 마커를 발현할 수 있다. ICOS 양성 세포는 FOXP3에 대해 음성일 수 있으며, 이 경우 ICOS 양성 세포는 또한 ICOS 단일 양성 세포(특히 ICOS가 염색된 복수의 항원 중에서 검출된 유일한 항원인 경우), 또는 ICOS+ FOXP3-(ICOS 양성 FOXP3 음성) 세포로 지칭될 수 있다. ICOS 양성 세포는 FOXP3에 대해 양성일 수 있으며, 이 경우 ICOS 양성 세포는 또한 ICOS FOXP3 이중 양성 세포, 또는 ICOS+ FOXP3+ 세포로 지칭될 수 있다. 역으로, ICOS 음성(ICOS -) 세포는 ICOS가 본 명세서에 개괄된 바와 같은 방법을 사용하여 검출할 수 없는 세포이다(예를 들어, 세포는 IHC에서 배경보다 상당히 높은 ICOS 수준을 나타내지 않음).

[0182] FOXP3의 검출

[0183] FOXP3는 TReg의 마커이다. FOXP3 양성 세포는 세포 내에서 FOXP3를 검출함으로써 식별될 수 있다. FOXP3는 세포 내 분자이므로, 조직 샘플은 예를 들어 세제와 함께 인큐베이션함으로써, 항원을 노출하도록 처리되어야 한다. 항체, 예를 들어 항-FOXP3 클론인 236A/E7과 같은 FOXP3-결합제는 작용제와 FOXP3(존재하는 경우) 사이의 결합을 허용하는 조건 하에서 조직 절편과 접촉하게 된다. 작용제는 그 자체로 검출가능하거나(예를 들어, 검출가능한 표지를 보유함) 표지된 2차 작용제를 항-FOXP3 작용제(예를 들어, 검출가능한 표지를 보유하는 2차 항체)에 특이적으로 결합시킴으로써 간접적으로 검출가능하다. 예를 들어, IHC를 사용하여 항-FOXP3 항체(예를 들어, 클론 236A/E7)는 ICOS 양성 세포에 결합되고 검출가능한 표지를 보유하는 2차 항체에 의해 검출된다. 과량의 결합되지 않은 작용제는 세척에 의해 제거되고, 그 다음 검출가능한 표지는 조직에서 FOXP3를 위치시키기 위해 검출되며, 이에 의해 FOXP3 양성 세포의 존재 및 위치를 식별한다.

[0184] FOXP3 양성(FOXP3+) 세포는 본 명세서에 개괄된 바와 같은 방법을 사용하여 검출가능한 FOXP3를 발현하는 세포이다. FOXP3 양성 세포는 FOXP3에 추가적으로, ICOS와 같은 다른 마커를 발현할 수 있다. FOXP3 양성 세포는 ICOS에 대해 음성일 수 있으며, 이 경우 FOXP3 양성 세포는 또한 FOXP3 단일 양성 세포(특히 FOXP3이 염색된 복수의 항원 중에서 검출된 유일한 항원인 경우), 또는 ICOS- FOXP3+(ICOS 음성 FOXP3 양성) 세포로 지칭될 수 있다. FOXP3 양성 세포는 ICOS에 대해 양성일 수 있으며, 이 경우 FOXP3 양성 세포는 또한 ICOS FOXP3 이중 양성 세포, 또는 ICOS+ FOXP3+ 세포로 지칭될 수 있다. 역으로, FOXP3 음성(FOXP3-) 세포는 FOXP3이 본 명세서에 개괄된 바와 같은 방법을 사용하여 검출할 수 없는 세포이다(예를 들어, 세포는 IHC에서 배경보다 상당히 높은

FOXP3 수준을 나타내지 않음).

[0185] 면역조직화학

[0186] 조직 절편은 IHC를 사용하여 항원을 시각화하기 위해 염색될 수 있다. 요약하면, IHC는 조직 절편을 항원-특이적 작용제(예를 들어, 항체)와 함께 인큐베이션하여 작용제가 동족 항원에 결합하도록 하고, 과량의 결합하지 않은 작용제를 세척한 다음, 결합 작용제의 존재를 검출하여, 조직에서 항원의 존재와 위치를 시각화하는 것을 포함한다. IHC는 직접적으로 연결된 리포터 항체를 사용하여 직접적으로 수행되거나 1차 항체에 이어 연결 또는 접합된 2차 항체의 항원 결합을 통해 간접적으로 수행될 수 있다. 전자는 더 시간 효율적일 수 있지만, 후자는 신호 증폭의 이익과 함께 더 유연한 접근법을 제공할 수 있다. IHC는 상이한 항원에 대해 상이한 신호/리포터/표지를 사용하여 다수의 상이한 항원을 검출하고 위치를 찾기 위해 다수의 상이한 항원-특이적 작용제를 이용하여 동일한 조직 절편에서 다중으로 수행될 수 있다(예를 들어, 형광 또는 효소 다중체 IHC)[29; 30; 31; 32; 33].

[0187] IHC는 일반적으로 FFPE 및 신선 냉동 조직의 절편에 사용된다. FFPE 슬라이드에서 IHC 공정을 시작하기 위해, 먼저 자일렌, 에탄올 및 물에서 일련의 일큐베이션을 통해 조직의 파라핀을 제거한다. 고정액에 의한 항원 에피토프의 피복으로 인해, FFPE 슬라이드는 보통, 고정 메틸렌 가교를 분해하여 관심이 있는 항원을 "노출"시켜 항체가 결합할 수 있도록 하는 과정인 항원 회수라는 과정을 거치는 것이 요구된다. 이는 열-유도 에피토프 회수(HIER)와 프로테아제-유도 에피토프 회수(PIER)의 두 가지 주요 방법에 의해 달성될 수 있다[34; 35]. HIER에서는, 조직이 장착된 슬라이드를 몇 분 동안 끓인 후 세척하고 보통 압력솥, 전자레인지, 또는 야채 찜기를 사용하여 수행되는 반면, PIER은 트립신이나 프로테이나제 K와 같은 특정 효소와 함께 37℃에서 몇 분 동안 인큐베이션한 후 세척하는 과정이다. 사용된 기법과 최적의 회수 및 조직 손상 방지를 위해 회수되는 항원에 따라 각각의 공정의 정확한 시간을 최적화하여야 함에 유의한다. 대조적으로, 신선 냉동 슬라이드는 항원 회수 단계가 필요하지 않지만 FOXP3와 같은 세포내 표적에 대한 염색의 경우 짧은 고정 단계를 필요로 할 것이다. 이는 보통 파라포름알데하이드와 달리 항원 에피토프를 마스킹하지 않는 알코올로 수행된다.

[0188] FOXP3와 같은 세포내 표적의 염색을 위해, FFPE 및 고정된 신선 냉동 슬라이드는 PBS 중 0.25% Triton-X 100과 같은 세제에서 실온에서 15 내지 30분 동안 인큐베이션된 후, 세척된다. 그 다음 실온에서 1시간 동안 차단 완충액과 함께 인큐베이션함으로써 조직을 차단하여 1차 항체의 비-특이적 결합을 방지한다. 조직 내 내인성 알칼리성 포스파타제(AP)는 또한 냉동 조직으로부터 준비된 슬라이드에서도 널리 퍼질 수 있으며 이 단계에서 레바미솔로 차단할 것을 필요로 한다. 일단 조직 샘플이 차단되면, 관심이 있는 항원을 1차 항원-특이적 항체(항-ICOS 및 항-FOXP3)로 염색할 수 있다. 항원 특이적 항체는 상기 개괄된 공정에 따라 표적에 결합해야 하므로 IHC 염색에 사용하기 위해 확인하여야 함에 유의한다. 1차 항체는 관심이 있는 표적의 주어진 에피토프에 대해 특이적이어야 하며 배경 염색 또는 위양성 염색을 피하기 위해 다른 관련 없는 표적에 결합하지 않아야 한다. 항체 특이성에 대한 가장 확실한 증거는 녹아웃 조직 또는 세포에서 당해 항원에 대한 결합이 부족하다는 것이다. 과량의 결합되지 않은 항체는 세척에 의해 제거된다. 발색성 IHC의 경우, 슬라이드는 다음으로 메탄올 중 과산화수소에서 인큐베이션함으로써 과산화효소 활성을 차단하여야 한다. 1차 항체가 직접 표지되지 않으면, 리포터가 접합된 2차 항체를 인큐베이션하고 최종 세척 단계 후 리포터를 검출한다.

[0189] 상이한 리포터의 사용은 상이한 장점과 단점을 제공할 수 있다. 발색성 IHC는 기질을 불용성 유색 침전물로 전환시키는 촉매 작용을 하는 효소 연결 모이어티를 사용하며, 이는 주어진 항원의 시각화를 가능하게 한다[29; 30]. 염색은 시간에 따라 저하되는 것과 달리 영구적이며, 헤마톡실린 및 에오신과 같은 조직학적 염료와 병행하여 사용될 수 있다. 그러나 시중에서 입수가능한 효소 및 효소 기질의 수가 적기 때문에 적은 수의 항원만 평가할 수 있다. 면역형광(IF) IHC는 형광 모이어티에 연결된 항원 특이적 항체를 사용하며, 이는 증가된 수의 염색 마커가 병행하여 사용될 수 있게 한다. 이 방법의 단점은 시간 경과에 따른 신호 저하와 여러 항원을 평가할 때 형광단 사이의 스펙트럼 중첩을 포함한다[31; 33]. 본 발명의 목적을 위해, IHC의 두 가지 형태는 ICOS 및 FOXP3에 대한 염색에 보다 더 적당하다. 발색성 IHC를 사용한 염색 공정의 예로서, 조직은 상이한 종의 2가지 1차 항체, 예를 들어 마우스 및 양 IgG를 사용하고 이어서 2가지 별개의 1차 항체 종을 표적화하는 2가지 2차 항체, 즉 호스 래디쉬 퍼옥시다제(HRP) 또는 알칼리 포스파타제(AP)에 접합된 항-마우스 및 항-양 항체를 사용하여 ICOS 및 FOXP3 둘 다에 대해 염색되어야 한다. 그 다음 ICOS 및 FOXP3의 발현은 HRP 또는 AP와 반응하는 2가지 상이한 염료, 예를 들어 DAB 및 BCIP/NBT를 적용하여 조직을 각각 갈색 및 청색/흑색으로 염색함으로써 드러날 수 있다.

[0190] 칩 세포분석(chipcytometry)과 같은 연속 염색 면역형광은 FFPE 또는 신선 냉동 조직의 형광 모이어티에 연결된

항원 특이적 항체를 이용한 염색을 통해 여러 항원을 정량적으로 분석할 수 있는 공정이다. 형광은 절편에서 세포 유형의 분석을 생성하기 위해 인공 지능 소프트웨어와 결합된 높은 동적 범위 이미징으로 평가될 수 있다[36]. 앞에서 설명한 바와 같이, 신선 냉동 절편은 항원 회수를 필요하지 않으므로, 이 방법을 사용하여 FFPE 조직보다 더 나은 품질의 결과를 생성한다. 그러나, 이 분석에 필요한 항원을 노출시키는 것과 유사한 항원 회수 단계가 추가되어 FFPE 슬라이드에서 칩 세포분석 기법이 여전히 가능하다. 이 후, FFPE 및 신선 유래 조직 둘 다의 조직은 다음에 표준 공정에 의해 세포분석 칩으로 재고정될 수 있다. 그 다음 조직은 5가지의 직접 표지된 1차 항체를 사용하여 표준 IHC에 대해 상기 기재된 것과 유사한 과정에서 최대 5가지 개별 항원에 대해 염색될 수 있다. 예를 들어, ICOS 및 FOXP3을 표적화하는 2가지 1차 항체는 2가지 별개의 형광단, 예를 들어 APC 및 GFP에 직접 접합되어 분석 시 조직에서 ICOS 및 FOXP3 항원 발현으 구별을 가능하게 할 것이다. 그 다음 조직의 공간적 배열을 평가할 수 있으며, 바람직하게는 소프트웨어의 도움을 받는다. 이 기법과 표준 IHC 사이의 주요 차이점 중 하나는 고정 공정이 조직을 안정화시켜 실온에서 최대 2년 동안 보관할 수 있게 한다는 것이다. 추가적으로, 이는 손상을 입지 않으면서 형광 항체를 소광하기 위해 조직을 표백할 수 있게 하여, 조직이 추가적인 5가지 항원에 대해 다시 염색될 수 있도록 한다. 염색과 탈색을 반복하는 공정을 통해, 동일한 슬라이드에서 거의 무제한에 가까운 단백질 바이오마커를 고화질 및 낮은 배경 형광으로 염색할 수 있다.

[0191] 질량 세포분석 영상화(Mass Cytometry Imaging; MCI)는 상기 기재된 표준 효소 또는 형광 IHC 방법의 대안이다. 영상 질량 세포분석(Imaging Mass Cytometry; IMC) 및 다중화 이온빔 영상화(Multiplexed Ion Beam Imaging; MIBI)는 주어진 영역에서 FFPE 및 신선 냉동 샘플 둘 다로부터 다수 항원의 매우 상세한 표현을 제공할 수 있는 신규 질량 세포분석 영상화의 2가지 형태이다[37; 38]. IMC에서 조직은 금속으로 태깅된 항원-특이적 1차 항체로 염색되며, 그 다음 각각의 항원의 발현은 집중 레이저 빔으로 조직의 매우 작은 영역(예를 들어, 1 μM^2)을 연속적으로 제거하고 세포분석 비행시간(Cytometry Time-Of-Flight; CyTOF)을 사용하여 특정 질량의 검출을 통해 특정 금속 이온의 비율을 분석함으로써 평가될 수 있다. 대안적으로, MIBI를 사용하면, 산소 듀오플라즈마트론 1차 이온빔을 사용하여 조직을 래스터화하고, 연속적으로 얇은 층을 제거하고 금속 동위원소를 이온으로 방출시키는 것을 제외하고 공정이 매우 유사하다[39; 40; 41; 42; 43]. 두 가지 방법 모두에서, 금속 태그의 특정 질량을 1 Da의 해상도까지 정량화하여 각각의 절편에서 항원 특이적 항체의 양을 평가할 수 있으며, 그 다음 전체 조직의 매우 상세한 디지털 이미지는 획득한 정보를 사용하여 재구성된다. 예로서, 표준 IHC에 대해 개괄된 것과 유사한 염색 공정을 따르고 필요한 경우 항원 회수를 사용하여, 조직을 ^{102}Pd 및 ^{209}Bi(많은 다른 중금속 이소타입이 가능함)과 같은 희토류, 중금속 이소타입에 연결된 항-ICOS 및 항-FOXP3 1차 항체로 염색한다[44]. 그 다음 조직에서 ICOS 및 FOXP3의 발현은 상기 개괄된 공정을 사용하여 점진적으로 분석된다. 이 기법의 해상도로 인해, 본 명세서에 기재된 임의의 조직 매개변수 및 바이오마커를 평가하는 데 사용될 수 있다. 1 Da까지 이소타입을 구별할 수 있는 능력으로 MCI가 스펙트럼 중첩 문제를 피하면서 최대 40개의 마커를 동시에 분석할 수 있다. 따라서, 동일한 슬라이드에서 여러 세포 유형을 동시에 평가할 수 있다. 추가적으로, 이 기법은 신호 붕괴 또는 배경 형광에 의해 제한되지 않는다.

[0192] 디지털 이미지 분석

[0193] 절편으로 제공되는 조직 샘플은 현미경으로 볼 수 있다. 명시야 조명은 IHC의 대조 염료를 시각화하는 데 적합하다. 조직 샘플은 조직의 디지털 이미지(예를 들어, 확대된 명시야 이미지)를 제공하기 위해 스캔될 수 있다. 이미지 확대, 예를 들어 20× 또는 40×는 분석을 용이하게 한다. 기재된 바와 같이, 종양 코어의 영역을 정의하기 위해 이미지에 주석을 달 수 있다. 본 명세서에 기재된 연구에서, 본 발명자들은 명시야 모드에서 Hamamatsu Nanozoomer 디지털 스캐너를 사용하여 20× 배율로 5 μm IHC 염색된 조직 슬라이드를 스캔하였다.

[0194] 종양 코어의 정의된 영역에서 바이오마커 판독값을 얻기 위해 세포를 계수하고 세포간 거리를 측정할 수 있다. 바람직하게는, 세포 계수 및 거리 측정은 디지털 이미지의 소프트웨어 분석을 사용하여 자동화된다. 본 발명자들은 HALO® 플랫폼(Indica Labs)을 사용하여 디지털 이미지 분석을 수행하였다. 간단히 말해서, 공정은 각각 ICOS 및 FOXP3에 대한 IHC 발색체와 핵 대비염색을 구분하기 위한 3-발색체 색상 디콘볼루션을 수반하였다. 세포 객체는 개별 발색체에 대한 가중 광학 밀도 값을 적용하여 형성되었다. 그 다음 정의된 크기, 모양 및 세포하 구획 염색 매개변수를 사용하여 각각의 양성 세포 유형을 식별하였다. 세포 표지화와 일치하지 않는 배경 염색을 식별한 다음 차감하여, ICOS 또는 FOXP3의 존재가 배경 초과 수준의 염색으로 표시되도록 하였다. 분석을 위해 관심이 있는 조직 영역을 자동으로 분할하기 위해 분류기를 개발하여 알고리즘에 통합하였다. 완성된 알고리즘은 상세한 세포별 데이터를 생성하기 위해 자동화되고 객관적인 방식으로 연구의 모든 조직 단면 이미지에 적용되었다.

[0195] 세포 밀도

[0196] TME에서 세포 유형의 밀도는 해당 세포의 총 수를 TME의 면적으로 나눈 값이며, 통상적으로 mm^2당 세포 수로 표현된다. 관심이 있는 세포 유형은 본 명세서의 다른 곳에 상술된 바와 같이 ICOS 및 FOXP3과 같은 마커의 검출을 통해 조직 절편(또는 이의 이미지)에서 식별되어 세포를 계수할 수 있다. 기재된 바와 같이, 계수는 소프트웨어를 사용하여 자동화되어 정의된 기준을 충족하는 특정 시야의 모든 객체를 계수할 수 있으므로, 소프트웨어에 종양 코어의 모든 ICOS 양성 세포를 계수하도록 지시할 수 있다. ICOS 이외의 다른 세포 마커가 검출되는 경우, 이 세포 수는 다수의 별개 집단, 예를 들어 ICOS 단일 양성 세포 및 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 포함할 수 있다. ICOS 양성 세포의 총 수는 ICOS가 배경을 초과하는 수준에서 검출되는 모든 세포이며, 따라서 ICOS 단일 양성 세포뿐만 아니라 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 포함하는 다른 검출된 마커에 추가적으로 ICOS가 존재하는 세포를 포함한다. 종양 코어의 영역(TME)은 또한 자동화된 소프트웨어를 사용하여 결정될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 바와 같이 종양 코어 주변에 경계를 그림으로써 소프트웨어를 안내한다. TME에서 ICOS 양성 세포의 수는 상기 TME의 면적으로 나누어 밀도를 제공한다.

[0197] TME에서 ICOS 양성 세포의 증가된 밀도는 항-ICOS 항체인 KY1044와 같은, 또한 TReg를 고갈시키거나 억제할 수 있는 항-ICOS 면역치료제에 대한 반응에 대한 바이오마커이다. 실시예 2, 3, 4 및 8은 이러한 바이오마커의 결정 및 사용을 설명한다.

[0198] (ICOS+FOXP3+)/총 FOXP3+ 비율

[0199] 이 비율 또는 비는 TME에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수를 결정하고, TME에서 FOXP3 양성 세포의 수를 결정한 다음, 전자를 후자로 나눔으로써 계산된다. 관심이 있는 세포 유형은 본 명세서의 다른 곳에 상술된 바와 같이 마커(ICOS, FOXP3)의 검출을 통해 조직 절편(또는 이의 이미지)에서 식별되어 세포를 계수할 수 있다. 기재된 바와 같이, 계수는 소프트웨어를 사용하여 자동화되어 정의된 기준을 충족하는 특정 시야의 모든 객체를 계수할 수 있으므로, 소프트웨어에 종양 코어의 모든 FOXP3 양성 세포를 계수하도록 지시할 수 있다. FOXP3 이외의 다른 세포 마커가 검출되는 경우, 이 세포 수는 다수의 별개 집단, 예를 들어 FOXP3 단일 양성 세포 및 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 포함할 수 있다. FOXP3 양성 세포의 총 수는 FOXP3가 배경을 초과하는 수준에서 검출되는 모든 세포이며, 따라서 FOXP3 단일 양성 세포뿐만 아니라 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 포함하는 다른 검출된 마커에 추가적으로 FOXP3가 존재하는 세포를 포함한다. 종양 코어의 영역(TME)은 또한 자동화된 소프트웨어를 사용하여 결정될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 바와 같이 종양 코어 주변에 경계를 그림으로써 소프트웨어를 안내한다. TME에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수는 TME에서 FOXP3 양성 세포의 수로 나누어 비율을 제공한다.

[0200] FOXP3는 TReg의 마커이므로, 이 비율은 ICOS+ TReg 비율로 지칭될 수 있다. ICOS+인 TReg의 높은 비율은 면역억제된 TME를 나타내는 바이오마커이다. 이 바이오마커의 존재는 면역치료제가 환자에게 이익일 될 수 있음을 나타낸다. 일 구현예에서, 50%의 컷오프(비율 0.5)가 환자를 분류하는 데 사용된다. 따라서, 예를 들어, 환자 유래 종양 샘플의 테스트가 TME 내 FOXP3+(TReg) 세포의 50% 초과가 ICOS+임을 나타내는 경우 HCC 환자는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 치료를 위해 선택된다. 실시예 1, 2, 8 및 9는 이 바이오마커의 결정 및 사용을 설명한다.

[0201] 세포간 근접성

[0202] 기재된 바와 같이 마커의 검출에 의해 세포 유형의 위치를 식별하면, 해당 세포 사이의 거리를 측정할 수 있다. 핵 중심에서 핵 중심까지 측정하여야 하며, 핵 중심은 일반적으로 TME에서 콤팩트한 둥근 모양을 가지는 T 세포에서 세포 중간을 나타낸다.

[0203] 각각의 ICOS 단일 양성 세포와 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 사이의 평균 거리는 ICOS 단일 양성 세포로부터 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 최단 거리를 측정하고, 모든 ICOS 단일 양성 세포에 대해 이를 반복한 다음, 이들 최단 거리의 합을 ICOS 단일 양성 세포의 수로 나눔으로써 결정된다. 본 명세서에 기재된 다른 바이오마커와 같이, 측정은 조직 샘플의 종양 코어(TME) 영역에서(예를 들어, 조직 절편의 디지털 이미지 상에서) 이루어진다.

[0204] ICOS FOXP3 이중 양성 세포와 ICOS 단일 양성 세포 사이의 근접성은 TEff에 대한 강력한 면역억제 세포의 근접성을 나타낸다. 인접성(단거리)는 면역억제 TME를 나타내는 바이오마커이다. 이러한 바이오마커의 존재는 면역치료제가 환자에게 이익이 될 수 있음을 나타낸다. 실시예 5 및 8은 이러한 바이오마커의 결정 및 사용을 설명

한다.

[0205] 구역 영향

[0206] 본 발명자들은 구역 영향 비율을 ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 ICOS 단일 양성 세포 주위의 정의된 영향 반경 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율인 것으로 정의한다.

[0207] 비율은 TME에서 모든 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 식별하고, TME에서 모든 ICOS 단일 양성(즉, ICOS+ FOXP3-) 세포를 식별한 다음, TME에서 임의의 (하나 이상의) ICOS 단일 양성 세포의 정의된 반경 내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 하위집합을 선택하고, 이 하위집합의 수를 ICOS 단일 양성 세포의 수로 나눔으로써 확인할 수 있다.

[0208] ICOS FOXP3 이중 양성 세포는 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 정의된 반경 내에 있는 경우 계수된다. 이는 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 정의된 반경 내에 있지 않는 경우 계수된지 않는다. 다수의 ICOS 단일 양성 세포의 정의된 반경 내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포는 한 번만 계수된다. 따라서 계수된 세포의 이러한 하위집합은 TME에서 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 정의된 영향 반경 내에 있는 모든 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 포함한다.

[0209] 그 다음 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 계수된 수를 TME 내의 ICOS 단일 양성 세포의 수로 나눈다. ICOS 단일 양성 세포의 계수는 이들 세포가 정의된 반경 내에 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 가지는지 여부에 관계없이, TME 내의 모든 ICOS 단일 양성 세포를 포함하는 총 계수이다.

[0210] 이 계산은 구역 영향 비율을 제공한다. 반경 30 μm가 바람직하다. 림프구 세포 크기는 직경 7 내지 15 μm 사이에서 다양하다. 즉각적인 세포외 환경은 세포에 영향을 미치며, 2개의 세포가 대략 30 μm 내에 있는 경우 가용성 세포간 매개체를 통한 통신과 잠재적으로 직접적인 세포:세포 접촉을 통해 통신을 기대할 수 있다. ICOS FOXP3 이중 양성 세포와 같은 면역억제성 TReg는 직접적인 상호작용을 통해 또는 IL10 및 TGFβ와 같은 면역억제성 사이토카인의 방출을 통해 FOXP3 음성 림프구를 억제할 수 있다. 따라서, 서로 영향을 미치는 영역 내에 있는 세포를 식별하기 위해, 본 발명자들은 관심이 있는 세포(이 경우, ICOS+ FOXP3- 세포) 주위에 30 μm의 반경을 정의한다. 본 발명은 이 반경의 정확한 거리에 의해 제한되지 않으며, 예를 들어 제안된 30 μm 값의 대략 50%(15 내지 45μm) 또는 20%(24 내지 30 μm) 내에서 더 넓거나(예를 들어, 50 μm) 더 좁은(예를 들어, 20 μm) 구역을 그릴 수 있다. 실시예 6 및 8은 구역 영향 바이오마커의 결정 및 사용을 설명한다.

[0211] 암성 고형 종양

[0212] 암은 통상적으로 암이 발생한 조직의 유형(조직학적 유형) 또는 암이 처음 발생한 신체의 위치인 원발 부위에 따라 분류된다. 암 분류는, 본 명세서에 참조에 의해 포함되는, 세계보건기구[45]에서 생성한 국제 표준 ICD-O-3의 주제이다. 형태학 축은 M-8000/0에서 M-9989/3까지 범위의 5자리 코드를 제공한다. 처음 네 자리 숫자는 특정 조직학적 용어를 나타낸다. 슬래시(/) 뒤의 다섯 번째 숫자는 종양이 악성인지, 양성인지, 제자리인지, 또는 불확실한지(양성인지 악성인지)를 나타내는 행동 코드이다. 조직학적 등급(분화)을 위한 별도의 한 자리 코드도 또한 제공된다.

[0213] 환자의 코호트와 이로부터 계산된 바이오마커의 참조 값을 고려할 때, 참조 값은 동일한 유형의 종양을 가진 환자로부터 계산되는 것이 바람직하다. 종양은 동일한 생리학적 범주(예를 들어, 모든 암종, 모든 육종 또는 모든 골수종, 선택적으로 하나 초과의 범주에 걸친 혼합형 종양을 포함함), 바람직하게는 동일한 조직 유형, 선택적으로 ICD-O-3(예를 들어, HCC M-8170/3)에 의해 분류된 형태적 유형의 것일 수 있다. 종양 유형은, 예를 들어 간암, 예를 들어 HCC(예를 들어, ICD-O-3 M-8170/3, M-8171/3, M-8172/3, M-8173/3, M-8174/3 또는 M-8175/3), 신세포암(선택적으로 신세포 암종, 예를 들어, 투명 세포 신세포 암종), 두경부암, 흑색종(선택적으로 악성 흑색종), 비소세포 폐암(예를 들어, 선암종), 방광암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 췌장암, 유방암 또는 고환 생식세포 암종(열거된 것과 같은 임의의 고형 종양의 전이를 포함함)일 수 있다.

[0214] 환자의 종양이 간으로 전이된 경우 환자는 전신 항-PD-1 면역요법에 반응할 가능성이 더 낮은 것으로 밝혀졌다. 간 전이가 있는 환자는 종종 임상 시험에서 제외된다. Lee외 다수[46]는 항원-특이적 TReg가 간에서 활성화되고 그 다음 이러한 "간-훈련된" TReg가 환자의 더 광범위한 항-종양 면역 반응을 억제한다고 제안하였다. 전임상 연구는, 간 전이 환자의 경우 TReg를 고갈시킴으로써 항-PD-1과 같은 면역 관문 억제제에 대한 종양의 민감도가 개선될 수 있음을 나타내었다.

[0215] 이러한 논리적 근거는 뼈 및 폐와 같은 다른 신체 조직으로 전이되는 HCC로 확장될 수 있다. 여기서 원발성 종

양은 간에 있고 전이는 원격이지만, Lee외 다수에 의해 설명된 효과가 발생할 수 있으며, 즉 종양 항원-특이적 TReg는 간에서 활성화되고 면역 관문 억제제를 이용한 치료에 대한 다른 조직의 종양 민감도를 감소시키는 면역 억제 효과를 전파한다.

[0216] 따라서 본 발명의 구현예에서, 종양은 다음과 같을 수 있다:

[0217] - 간의 원발성 종양(예를 들어, HCC);

[0218] - 간 전이, 즉 신체의 다른 곳에서 발생하여 간으로 전이된 비-간 기원의 종양; 또는

[0219] - 환자가 간에도 또한 종양 전이를 가지는, 간 이외의 부위의 종양.

[0220] 본 발명의 구현예에서, 환자는 간에 종양이 있는 환자이며, 이는 선택적으로 간의 원발성 종양(예를 들어, HCC)이거나 간 전이이다.

[0221] 본 발명은 이러한 종양을 가지는 환자를 항-TReg 면역요법으로 치료하기에 적합한 것으로 식별하는 것을 수반할 수 있으며, 여기서 이러한 치료는 또한 면역 관문 억제제(예를 들어, 항-PD-1 또는 항-PD-L1)의 투여를 포함한다.

[0222] 간세포암(HCC)

[0223] 원발성 간암은 현재 전 세계적으로 암 사망률의 네 번째로 큰 원인이며, 대부분의 간암 사례는 HCC이다. HCC의 발암은 주로 B형 간염 바이러스(HBV) 또는 C형 간염 바이러스(HCV)에 의한 감염 또는 간경변증으로부터 간의 만성 염증에 기인한다.

[0224] 혈액 내 알파-태아단백질(AFP)의 수준 상승은 원발성 간암 또는 생식 세포 종양의 존재를 나타내는 알려진 지표이다. 이 단백질은 일반적으로 태아에 의해 생성되며 건강한 성인 남성과 임신하지 않은 건강한 여성의 혈액에서는 검출되지 않는다. AFP 수준은 HCC 환자의 생존과 음의 상관관계가 있는 것으로 밝혀졌다.

[0225] HCC에 대해 선택된 현재 치료법은 일반적으로 질환 병기에 의해 영향을 받는다. AJCC 병기 체계는 암 환자의 질환 진행 정도를 설명하기 위해 미국 암 연합 위원회가 개발한 분류 체계이다[28]. 초기 단계의 국소 HCC 환자의 경우, 근치적 치료 방식이 절제, 제거, 및 간 이식을 포함하는 반면, 중기 단계의 국소 HCC 환자의 경우 경동맥 화학색전술과 같은 영상으로 유도되는 카테터를 통한 종양 요법이 생존 이익을 얻었다. 그러나, HCC 환자의 대다수는 신규(de novo) 국소 진행성 또는 전이성 질환으로 진행하거나 발병하여 전신 요법을 필요로 한다[47].

[0226] 멀티키나제 억제제인 소라페닙은 HCC에 대해 승인된 최초의 전신 요법이었다[48, 49]. 2016년부터, 3개의 멀티키나제 억제제와 1개의 항혈관 내피 성장 인자 수용체(VEGFR) 모노클로날 항체를 포함한 4개의 다른 표적 작용제가 진행성 HCC 환자에게 생존 이익을 제공하는 III상 임상 시험에서 입증되었다[50, 51, 52, 53]. 이에 따라, 여러 국가의 규제 기관은 렌바티닙을 HCC에 대한 1차 전신 요법으로 승인하였으며, 이전에 소라페닙으로 치료받은 HCC 환자의 치료를 위해 레고라페닙, 카보잔티닙, 및 라무시루맙(α-태아단백질이 400 ng/mL 초과인 환자로 제한됨)을 승인하였다. 항-PD-1 항체는 또한 진행성 HCC의 2차 치료제로서 사용되었다.

[0227] 본 발명에 따른 환자는 HBV 및/또는 HCV 감염과 연관되거나, HBV 및/또는 HCV 감염과 연관되지 않은 HCC를 가질 수 있다. HCC는 임의의 병기(AJCC 병기 매뉴얼, 제8판에 따라 결정됨), 예를 들어 1기, 2기 또는 3기일 수 있다. 환자는 남성 또는 여성, 성인 또는 소아(18세 미만)일 수 있다. 환자는 종양에 대한 간절제술을 받았거나 받을 예정일 수 있다. 환자는 이전에 HCC에 대한 치료, 예를 들어 소라페닙 및/또는 상기 언급한 다른 작용제를 이용한 치료를 받았을 수 있다. 환자는 이전에 면역요법으로 암 치료를 받았을 수도 있고 받지 않았을 수도 있다.

[0228] 예후

[0229] 전체 생존 기간(OS)은 암과 같은 질환에 대한 진단 날짜 또는 치료 시작으로부터 사망까지의 시간 길이로 정의된다. (개별 환자가 아닌) 질환으로 진단된 환자 집단을 설명하는 데 사용되는 경우, OS는 통상적으로 중앙값으로 표현되며, 이는 진단 날짜 또는 치료 시작으로부터 그룹 내 환자의 절반이 아직 생존하는 시간 길이를 나타낸다. 본 명세서에 기재된 HCC 환자 코호트에서, OS는 간절제술 날짜로부터 환자의 사망 날짜 또는 이들의 최종 추적일까지 계산되었다.

[0230] 암의 무재발 생존 기간(RFS)은 암에 대한 1차 치료가 끝난 후 환자가 해당 암의 징후나 증상 없이 생존하는 시간 길이를 지칭한다. 또한 무병 생존 기간(DFS), 무재발 생존 기간이라고도 한다.

[0231] 무진행 생존 기간(PFS)은 환자가 질환이 있는 상태로 살지만 악화되지 않는 치료 중 및 치료 후의 시간 길이를 지칭한다.

[0232] 종양 진행 시간(TTP)은 진단 날짜 또는 치료 시작으로부터 질환이 악화되거나 신체의 다른 부위로 퍼지기 시작할 때까지의 시간 길이를 지칭한다.

[0233] 일반적으로, 동일한 하나 이상의 생존 측정에 대한 데이터는 동일한 하나 이상의 측정에 의한 생존 예후에 대한 데이터를 제공하기 위해, 코호트(예를 들어, 참조 값이 생성된 환자 집단) 내의 모든 환자에 대해 얻어진다.

[0234] 면역치료제

[0235] 본 발명에 따른 면역치료제(면역요법에 사용되는 작용제)는 항-ICOS 작용제일 수 있고/거나 항-TReg 면역치료제일 수 있다. 항-ICOS 작용제는 ICOS, 바람직하게는 ICOS 세포외 도메인에 결합하는 작용제이다. 항-TReg 면역치료제는 바람직하게는 선택적으로, 즉 TEff와 같은 다른 T 세포를 고갈시키거나 억제하지 않고 TReg를 고갈시키거나 억제하거나 이러한 다른 T 세포에 대한 효과가 TReg에 대한 효과보다 적은 것이다. ICOS에 결합하고 또한 TReg를 고갈시키거나 억제하는 작용제는 항-ICOS 및 항-TReg 면역치료제이다. 예는 항-ICOS 항체인 KY1044 및 Fc 이펙터 기능을 가지는 다른 항-ICOS 항체(예를 들어, 항-ICOS 인간 IgG1)를 포함한다.

[0236] 항-TReg 면역요법은 항체, 기타 생물학적 작용제, 소분자 및 세포 요법을 포함한다. 항-TReg 면역치료제는 TReg에 결합하고 (예를 들어, 이펙터 양성 Fc 영역을 통해) 세포 효과기 기능을 매개하여 TReg를 고갈시키거나 억제하는 항체일 수 있다. 항-TReg 면역치료제는 TReg, 예를 들어 TReg 세포 표면에서 선택적으로 또는 차등적으로 발현되는 TReg의 마커에 결합할 수 있다. 이러한 표면 마커의 예는 ICOS, CD25, CCR8, CTLA-4 및 글루코코르티코이드-유도 TNF-관련 단백질(GITR)을 포함한다. MHC에 표시된 에피토프는 또한 이러한 마커를 나타낼 수 있으며 세포외 부분을 포함하지 않는 FOXP3과 같은 세포내 단백질을 통해 TReg를 표적화할 기회를 제공할 수 있다. FOXP3의 소화된 펩타이드 및 기타 세포내 마커는 MHC 클래스 I의 TReg 표면에 제시되며, 이 때 이들은 MHC 그루브에 표시된 에피토프에 특이적으로 결합하는 작용제에 의해 인식될 수 있다. Dao외 다수는 세포내 FOXP3의 에피토프에 결합하는 TCR 모방 항체를 기재하였다[54]. Dao외 다수에 의해 요약된 바와 같이, 기재된 다른 TReg 면역치료제는 CD25에 대한 표적화제(예를 들어, 항-CD25 항체인 다클리주맙), IL-2 수용체에 대한 작용제(예를 들어, IL-2와 디프테리아 독소의 융합 단백질인 데닐류킨 디피톡스와 같은 IL-2 독소 융합체), TReg를 고갈시키는 항-GITR 항체, TReg 기능을 억제하는 항-CTLA-4 항체 및 TReg에 의한 종양 귀소를 방해하고/거나 T 세포 가소성을 조절하는 작용제를 포함한다.

[0237] 케모카인 수용체-4(CCR4)에 대한 항체는 더 높은 수준의 FOXP3을 발현하는 TReg를 선택적으로 고갈시키는 것으로 나타났으며, 이는 NY-ESO-1 펩타이드에 특이적인 CD8+ T 세포 반응의 증가를 초래하였다. CCR4는 활성화된 T 세포, T 헬퍼 2, NK 세포, 대식세포, 및 수지상 세포에서 발현되므로, 선택적 효과를 혼란시킨다. 푸코실화 제거된 인간화 항-CCR4 mAb인 모가물리주맙은 다양한 암에서 임상 시험을 진행하고 있다. 케모카인 수용체-8(CCR8)은 유방암 환자의 TReg에서 우선적으로 발현되며 불량한 예후와 연관이 있다. CCR8은 또한 조직-상주 기억 CD8 + T 세포 및 NK-T 세포에서 발현되며, 따라서 이 분자를 표적으로 하는 치료 가능성은 여전히 조사되어야 한다. 추가적으로, TReg 기능에 중요한 사이토카인인 전환 성장 인자(TGF)-베타를 조절하는 것도 또한 시도되었다. 사이클로포스파미드는 TReg를 억제하는 것으로 나타났다.

[0238] 최근에, 항-CD36 및/또는 PPAR베타 억제제를 포함하는 항-TReg 요법이 WO2020053833에 기재되었다. 이는, 예를 들어 CD36 억제제를 투여하는 것을 포함하여 대상체에서 종양내 TReg(예를 들어, CD4+ 세포)의 수를 감소시키는 방법을 개시하였다. 일부 구현예에서, 방법은 PPAR베타 억제제를 투여하는 것을 포함하였다.

[0239] 항체

[0240] 바람직한 면역치료제는 전체 면역글로불린 또는 면역글로불린 도메인을 포함하는 이의 항원-결합 단편일 수 있는 항체이며, 이는 천연이든 부분적으로 또는 전체적으로 합성으로 생성된 것이든 상관없다. 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE 분자 또는 이의 항원-특이적 항체 단편(Fab, F(ab')2, Fv, 이황화 연결 Fv, scFv, 단일 도메인 항체, 폐쇄 형태 다중특이성 항체, 이황화-연결 scfv, 디아바디를 포함하지만 이에 제한되지 않음)일 수 있으며, 이는 자연적으로 항체를 생산하는 임의의 종에서 유래되었거나, 재조합 DNA 기술로 생성되었는지 여부; 혈청, B-세포, 하이브리도마, 트랜스펙토마, 효모 또는 박테리아로부터 분리되었는지 여부는 상관없다. 일상적인 기술을 사용하여 항체를 인간화할 수 있다.

[0241] 항체는 표적 항원의 에피토프에 결합하고 이에 상보적인 항체 항원-결합 부위(파라토프)를 포함한다. 용어 "에

피토프"는 항체에 의해 결합되는 항원의 영역을 지칭한다. 에피토프는 구조적 또는 기능적으로 정의될 수 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프의 하위집합이며 상호 작용의 친화성에 직접적으로 기여하는 잔기를 가지고 있다. 에피토프는 또한 형태적일 수 있으며, 즉 비-선형 아미노산으로 구성된다. 특정 구현예에서, 에피토프는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기, 또는 설포닐기와 같은 분자의 화학적 활성 표면 기인 결정인자를 포함할 수 있고, 특정 구현예에서 특정한 3차원 구조적 특성, 및/또는 특정 전하 특성을 가질 수 있다.

[0242] 항원 단편의 예는 다음을 포함한다:

[0243] (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')2 단편;

[0244] (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편;

[0245] (iv) 항체 단일 암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편,

[0246] (v) VH 또는 VL 도메인으로 이루어진 dAb 단편(문헌[Ward et al., (1989) Nature 341:544-546]; 본 명세서에 전문이 참조에 의해 포함됨); 및

[0247] (vi) 특정 항원-결합 기능을 유지하는 분리된 상보성 결정 영역(CDR).

[0248] 항체의 추가 예는 중쇄의 이량체(5'-VH-(선택적인 힌지)-CH2-CH3-3')를 포함하고 경쇄가 없는 H2 항체이다.

[0249] 단일-사슬 항체(예를 들어, scFv)는 일반적으로 사용되는 단편이다. 다중특이성 항체는 항체 단편으로부터 형성될 수 있다. 본 발명의 항체는 적절한 경우 임의의 이러한 형식을 이용할 수 있다.

[0250] 효소 파파인으로 전체 면역글로불린을 소화시키면, 또한 "Fab" 단편으로도 알려진 2개의 동일한 항원-결합 단편과, 항원-결합 활성은 없지만 결정화 능력을 가지는 "Fc" 단편이 생성된다. 본 명세서에서 사용될 때 "Fab"는 각각의 중쇄 및 경쇄의 하나의 불변 도메인 및 하나의 가변 도메인을 포함하는 항체의 단편을 지칭한다. 본 명세서에서 용어 "Fc 영역"은 천연-서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는, 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. "Fc 단편"은 이황화물에 의해 함께 유지되는 2개 H 사슬의 카르복시-말단 부분을 지칭한다. 항체의 이펙터 기능은 또한 특정 유형의 세포에서 발견되는 Fc 수용체(FcR)에 의해 인식되는 영역인 Fc 영역의 서열에 의해 결정된다. 효소 펩신으로 항체를 소화시키면, 항체 분자의 2개 팔이 연결된 상태로 남아 있고 2개의 항원 결합 부위를 포함하는 F(ab')2 단편이 생성된다. F(ab')2 단편은 항원을 가교시키는 능력을 가진다.

[0251] mAb^2는 "Fcab"로 알려진 항원-결합 부위를 형성하도록 조작된 변형된 불변 영역에 융합된 온전한 항체 유래의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. Fcab/mAb2 형식 이면의 기술은 WO2008/003103에 더 자세히 기재되어 있으며, mAb^2 형식에 대한 기재는 본 명세서에 참조에 의해 포함된다. 이 형식에 대한 추가 설명은 WO2006/072620, WO2008/003116, WO2009/000006 및 WO2009/0132876에서 찾을 수 있다.

[0252] 본 명세서에서 사용될 때 "Fv"는 항원-인식 및 항원-결합 부위 둘 다를 보유하는 항체의 최소 단편을 지칭한다. 이 영역은 하나의 중쇄 가변 도메인과 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 단단한 비-공유 또는 공유 회합으로 이루어진다. 각각의 가변 도메인의 3개의 CDR이 상호작용하여 VH-VL 이량체의 표면에 항원-결합 부위를 정의하는 것은 이러한 구성이다. 총체적으로, 6개의 CDR은 항체에 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인(또는 항원에 특이적인 3개의 CDR만 포함하는 Fv의 절반)조차도 전체 결합 부위보다 친화성이 낮지만 항원을 인식하고 결합하는 능력을 가진다.

[0253] Fab에서 항체 항원-결합 부위는 하나 이상의 항체 가변 도메인에 의해 제공될 수 있다. 예에서, 항체 결합 부위는 단일 가변 도메인, 예를 들어 중쇄 가변 도메인(VH 도메인) 또는 경쇄 가변 도메인(VL 도메인)에 의해 제공된다. 또 다른 예에서, 결합 부위는 VH/VL 쌍 또는 이러한 쌍 중 2개 이상을 포함한다. 따라서, 항체 항원-결합 부위는 VH 및 VL을 포함할 수 있다.

[0254] 선택적으로, 항체 면역글로불린 도메인은 추가적인 폴리펩타이드 서열 및/또는 표지, 태그, 독소 또는 다른 분자에 융합되거나 접합될 수 있다. 항체 면역글로불린 도메인은 하나 이상의 상이한 항원 결합 영역에 융합 또는 접합되어 제2 항원에 결합할 수 있는 분자를 제공할 수 있다. 본 발명의 항체는 (i) ICOS에 대한 항체 항원 결합 부위 및 (ii) 다른 항원을 인식하는 추가 항원 결합 부위(선택적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 항원 결합 부위)를 포함하는 다중특이성 항체, 예를 들어 이중특이성 항체일 수 있다.

[0255] 항체 가변 도메인은 상보성 결정 영역(CDR; 즉, CDR1, CDR2, 및 CDR3), 및 프레임워크 영역(FR)의 아미노산 서열을 포함한다. 따라서, 각각의 VH 및 VL 도메인 내에는 CDR 및 FR이 있다. 용어 "초가변 영역", "CDR 영역" 또는 "CDR"은 서열이 초가변이고/거나 구조적으로 한정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로 항체의 항원 결합 부위는 6개의 초가변 영역, 즉 VH에 3개(HCDR1, HCDR2, HCDR3), 및 VL에 3개(LCDR1, LCDR2, LCDR3)를 포함한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 이러한 영역은 항체에 대한 항원-결합 특이성을 부여한다. VH 도메인은 HCDR 세트를 포함하고, VL 도메인은 LCDR 세트를 포함한다. VH는 중쇄의 가변 도메인을 지칭한다. VL은 경쇄의 가변 도메인을 지칭한다. 각각의 VH 및 VL은 통상적으로 아미노 말단에서 카르복시 말단으로, FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다. 항체는 VH CDR1, CDR2 및 CDR3 및 프레임워크를 포함하는 항체 VH 도메인을 포함할 수 있다. 이는 대안적으로 또는 또한 VL CDR1, CDR2 및 CDR3 및 프레임워크를 포함하는 항체 VL 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 항체 VH 및 VL 도메인 및 CDR의 예는 첨부된 서열 목록 및 본 개시내용의 일부를 형성하는 표에 열거된 바와 같다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, "CDR 세트"는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 따라서, HCDR 세트는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 지칭하고, LCDR 세트는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 지칭한다. 달리 언급되지 않는 한, "CDR 세트"는 HCDR 및 LCDR을 포함한다.

[0256] CDR은 Kabat 시스템[55], Chothia 시스템[56] 또는 IMGT 시스템[57, 58]에 따라 정의될 수 있다. 기본적으로 IMGT가 사용되므로, 달리 언급되지 않는 한 본 명세서의 CDR 및 가변 도메인 번호 지정은 IMGT를 따른다.

[0257] 본 발명에 따른 항체 및 기타 생물학적 작용제는 분리된 형태 또는 정제된 형태로 제공될 수 있다. 분리된 항체 또는 단백질은 생산 환경(예를 들어, 천연 또는 재조합)의 구성 요소에서 식별, 분리 및/또는 회수된 항체 또는 단백질이다. 예를 들어, 항체 또는 단백질은 항체가 유래된 세포 또는 조직 공급원으로부터의 세포 물질 또는 기타 오염 단백질이 실질적으로 없거나 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 기타 화학 물질이 실질적으로 없다. "세포 물질이 실질적으로 없는"이라는 표현은 항체가 분리되거나 재조합적으로 생성되는 세포의 세포 구성 요소로부터 항체가 분리되는 항체 제제를 포함한다. 따라서, 세포 물질이 실질적으로 없는 항체는 약 30%, 20%, 10%, 또는 5%(건조 중량 기준) 미만의 이종 단백질(또한 본 명세서에서 "오염 단백질"로도 지칭됨)을 가지는 항체 제제를 포함한다. 항체가 재조합적으로 생산되는 경우, 또한 바람직하게는 배양 배지가 실질적으로 없으며, 즉 배양 배지는 단백질 제제 부피의 약 20%, 10% 또는 5% 미만을 나타낸다. 항체가 화학적 합성에 의해 생성되는 경우, 바람직하게는 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없으며, 즉 단백질 합성에 관여하는 화학적 전구체 또는 다른 화학물질로부터 분리된다. 따라서 이러한 항체 제제는 약 30%, 20%, 10%, 5%(건조 중량 기준) 미만의 화학 전구체 또는 관심이 있는 항체 이외의 화합물을 가진다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체는 분리되거나 정제된다.

[0258] 항체는 본 명세서에 기재되고/거나 첨부된 서열목록에 나타낸 임의의 항체의 VH 도메인과 적어도 60, 70, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 가지는 VH 도메인을 포함할 수 있고/거나, 이들 항체 중 임의의 것의 VL 도메인과 적어도 60, 70, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 가지는 VL 도메인을 포함할 수 있다. 2개의 아미노산 서열의 동일성%를 계산하는 데 사용될 수 있는 알고리즘은, 예를 들어 기본 매개변수를 사용하는, 예를 들어 BLAST, FASTA, 또는 Smith-Waterman 알고리즘을 포함한다. 특정 변이체는 하나 이상의 아미노산 서열 변경(아미노산 잔기의 추가, 결실, 치환 및/또는 삽입)을 포함할 수 있다.

[0259] 변경은 하나 이상의 프레임워크 영역 및/또는 하나 이상의 CDR에서 만들어질 수 있다. 변이체는 선택적으로 CDR 돌연변이 유발에 의해 제공된다. 변경은 일반적으로 기능 손실을 초래하지 않으므로, 이렇게 변경된 아미노산 서열을 포함하는 항체는 항원(예를 들어, ICOS)에 결합하는 능력을 유지할 수 있다. 이는, 예를 들어 본 명세서에 기재된 분석에서 측정될 때, 변경이 이루어지지 않은 항체와 동일한 정량적 결합 능력을 유지할 수 있다. 이렇게 변경된 아미노산 서열을 포함하는 항체는 개선된 항원 결합 능력을 가질 수 있다.

[0260] 변경은 하나 이상의 아미노산 잔기를 비-자연 발생 또는 비-표준 아미노산으로 대체하는 것, 하나 이상의 아미노산 잔기를 비-자연 발생 또는 비-표준 형태로 변형시키는 것, 또는 하나 이상의 비-자연 발생 또는 비-표준 아미노산을 서열에 삽입하는 것을 포함할 수 있다. 본 발명의 서열에서 변경의 수 및 위치의 예는 본 명세서의 다른 곳에 기재되어 있다. 자연 발생 아미노산은 표준 단일-문자 코드에 의해 G, A, V, L, I, M, P, F, W, S, T, N, Q, Y, C, K, R, H, D, E로 식별되는 20개의 "표준" L-아미노산을 포함한다. 비-표준 아미노산은 폴리펩타이드 백본으로 통합되거나 기존 아미노산 잔기의 변형으로부터 생성될 수 있는 임의의 다른 잔기를 포함한다. 비-표준 아미노산은 자연 발생 또는 비-자연 발생일 수 있다.

[0261] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "변이체"는 하나 이상의 아미노산 또는 핵산 결실, 치환 또는 첨가에

의해 모 폴리펩타이드 또는 핵산과 상이하지만, 모 분자의 하나 이상의 특정 기능 또는 생물학적 활성을 유지하는 펩타이드 또는 핵산을 지칭한다. 아미노산 치환은 아미노산이 다른 자연-발생 아미노산 잔기로 대체되는 변경을 포함한다. 이러한 치환은 "보존적"으로 분류될 수 있으며, 이 경우 폴리펩타이드에 함유된 아미노산 잔기가 극성, 측쇄 기능 또는 크기와 관련하여 유사한 특성의 또 다른 천연 발생 아미노산으로 대체된다. 이러한 보존적 치환은 당업계에 잘 알려져 있다. 본 발명에 포함되는 치환은 또한 "비-보존적"일 수 있으며, 여기서 펩타이드에 존재하는 아미노산 잔기는 상이한 특성을 가지는 아미노산, 예컨대 상이한 그룹으로부터의 천연-발생 아미노산으로 치환(예를 들어, 하전된 또는 소수성 아미노산을 알라닌으로 치환함)되거나, 또는 대안적으로 천연-발생 아미노산은 비-통상적인 아미노산으로 치환된다. 일부 구현예에서 아미노산 치환은 보존적이다. 또한 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 관련하여 사용될 때 용어 변이체 내에 또한 포함되는 것은 각각 참조 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 비교하여(예를 들어, 야생형 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 비교하여), 1차, 2차, 또는 3차 구조가 다를 수 있는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드를 지칭한다.

[0262] 일부 양태에서, 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 분리되거나 생성된 "합성 변이체", "재조합 변이체", 또는 "화학적으로 변형된" 폴리뉴클레오타이드 변이체 또는 폴리펩타이드 변이체를 사용할 수 있다. "변형된 변이체"는 하기 기재된 바와 같이 보존적 또는 비-보존적 아미노산 변화를 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 변화는 참조 서열에 의해 암호화된 폴리펩타이드에서 아미노산 치환, 첨가, 결실, 융합 및 절단을 초래할 수 있다. 사용의 일부 양태는 변이체의 기본이 되는 펩타이드 서열에서 일반적으로 발생하지 않는 아미노산 및 다른 분자의 삽입 및 치환을 포함하여 삽입 변이체, 결실 변이체 또는 아미노산 치환이 있는 치환된 변이체를 포함하며, 예를 들어 인간 단백질에서 일반적으로 발생하지 않는 오르니틴의 삽입이 있으나 이에 제한되지 않는다. 용어 "보존적 치환"은 폴리펩타이드를 기재할 때 폴리펩티드의 활성을 실질적으로 변경하지 않는 폴리펩타이드의 아미노산 조성의 변화를 지칭한다. 예를 들어, 보존적 치환은 아미노산 잔기를 유사한 화학적 특성(예를 들어, 산성, 염기성, 양전하 또는 음전하, 극성 또는 비극성 등)을 가지는 상이한 아미노산 잔기로 치환하는 것을 지칭한다. 보존적 아미노산 치환은 류신을 이소류신 또는 발린으로, 아스파테이트를 글루타메이트로, 또는 트레오닌을 세린으로 대체하는 것을 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 다음 6개 그룹은 각각 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 포함한다: 1) 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 리신(K); 5) 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 및 6) 페닐알라닌(F), 타이로신(Y), 트립토판(W)[59]. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 또는 적은 백분율의 아미노산을 변경, 첨가 또는 결실시키는 개별 치환, 결실 또는 첨가는 또한 변화가 펩타이드의 활성을 감소시키지 않는다면 "보존적 치환"으로 간주될 수 있다. 삽입 또는 결실은 통상적으로 약 1 내지 5개 아미노산의 범위이다. 보존적 아미노산의 선택은, 예를 들어 아미노산이 펩타이드 외부에 있고 용매에 노출되거나, 또는 내부에 있고 용매에 노출되지 않는 경우, 펩타이드에서 치환될 아미노산의 위치를 기반으로 하여 선택될 수 있다.

[0263] 용매에 대한 노출(즉, 아미노산이 용매에 노출되지 않는 내부적으로 국소화된 아미노산과 비교하여 용매에 노출되거나 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 외부 표면에 존재하는 경우)을 포함하여 기존 아미노산의 위치를 기반으로 하여 기존 아미노산을 치환할 아미노산을 선택할 수 있다. 이러한 보존적 아미노산 치환의 선택은 당업계에 잘 알려져 있다[60, 61, 62]. 따라서, 단백질 또는 펩타이드의 외부에 있는 아미노산(즉, 용매에 노출된 아미노산)에 적합한 보존적 아미노산 치환을 선택할 수 있으며, 예를 들어 다음 치환이 사용될 수 있지만 이에 제한되지 않는다: Y를 F, T를 S 또는 K, P를 A, E를 D 또는 Q, N을 D 또는 G, R을 K, G를 N 또는 A, T를 S 또는 K, D를 N 또는 E, I를 L 또는 V, F를 Y, S를 T 또는 A, R를 K, G를 N 또는 A, K를 R, A를 S, K 또는 P로 치환.

[0264] 대안적 구현예에서, 단백질 또는 펩타이드의 내부에 있는 아미노산에 적합한 것으로 포함된 보존적 아미노산 치환을 선택할 수 있으며, 예를 들어 단백질 또는 펩타이드의 내부에 있는 아미노산에 적합한 보존적 치환을 사용할 수 있고(즉, 아미노산은 용매에 노출되지 않음), 예를 들어 다음과 같은 보존적 치환을 사용할 수 있지만 이에 제한되지 않는다: Y가 F, T가 A 또는 S, I가 L 또는 V, W가 Y, M이 L, N이 D, G가 A, T가 A 또는 S, D가 N, I가 L 또는 V, F가 Y 또는 L, S가 A 또는 T 및 A가 S, G, T 또는 V로 치환되는 경우. 일부 구현예에서, 비-보존적 아미노산 치환은 또한 변이체라는 용어에 포함된다.

[0265] 본 명세서에 개시된 항체는, 예를 들어 하나 이상의 항체 불변 영역의 서열 조작 및/또는 다른 분자에 대한 융합, 예를 들어 PEG화 또는 알부민에의 결합에 의해, 예를 들어 알부민 결합 단일 도메인 항체(dAb)를 통합함으로써, 혈청 반감기를 증가 또는 감소시키도록 변형될 수 있다. 다양한 반감기 연장 융합이 기재된 바 있다[63].

[0266] 본 발명의 항체는 인간 항체 또는 인간 가변 영역 및 비-인간(예를 들어, 마우스) 불변 영역을 포함하는 키메라 항체일 수 있다. 본 발명의 항체는, 예를 들어 인간 가변 영역을 가지고, 선택적으로 또한 인간 불변 영역을 가

진다.

[0267] 따라서, 항체는 선택적으로 불변 영역 또는 이의 일부, 예를 들어 인간 항체 불변 영역 또는 이의 일부를 포함한다. 예를 들어, VL 도메인은 C-말단에서 항체 경쇄 카파 또는 람다 불변 도메인에 부착될 수 있다. 유사하게, 항체 VH 도메인은 이의 C-말단에서 임의의 항체 이소타입, 예를 들어 IgG, IgA, IgE 및 IgM 및 임의의 이소타입 하위 부류, 예컨대 IgG1 또는 IgG4로부터 유래된 면역글로불린 중쇄 불면 영역의 전부 또는 일부(예를 들어, CH1 도메인 또는 Fc 영역)에 부착될 수 있다. 인간 항체 불변 도메인의 예는 표 C에 나타나 있다.

[0268] 본 발명의 항체의 불변 영역은 대안적으로 비-인간 불변 영역일 수 있다. 예를 들어, 유전자이식 동물에서 항체가 생성되는 경우(이의 예는 본 명세서의 다른 곳에 기재됨), 인간 가변 영역 및 비-인간(숙주 동물) 불변 영역을 포함하는 키메라 항체가 생성될 수 있다. 일부 유전자이식 동물은 완전한 인간 항체를 생성한다. 다른 것들은 키메라 중쇄 및 완전 인간 경쇄를 포함하는 항체를 생성하도록 조작되었다. 항체가 하나 이상의 비-인간 불변 영역을 포함하는 경우, 이들은 인간 불변 영역으로 대체되어, 면역원성이 감소되므로 치료 조성물로서 인간에게 투여하기에 더 적합한 항체를 제공할 수 있다.

[0269] Fc 이펙터 기능, ADCC, ADCP 및 CDC

[0270] 상기 논의된 바와 같이, 항체는 다양한 이소타입 및 상이한 불변 영역으로 제공될 수 있다. 인간 IgG 항체 중쇄 불변 영역 서열의 예는 표 C에 나타나 있다. 항체의 Fc 영역은 주로 Fc 결합, 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 활성, 보체 의존성 세포독성(CDC) 활성 및 항체-의존성 세포 식세포작용(ADCP) 활성의 측면에서 이펙터 기능을 결정한다. 이펙터 T 세포 기능과 구별되는 이러한 "세포 이펙터 기능"은 Fc 수용체를 보유하는 세포를 표적 세포 부위로 동원하여 항체-결합 세포의 살해를 초래하는 것을 포함한다. ADCC 및 CDC에 추가적으로, ADCP 메커니즘[64]은 항체-결합 T 세포를 고갈시키는 수단을 나타내며, 따라서 결실을 위해 높은 ICOS 발현 TReg를 표적화한다.

[0271] 세포 이펙터 기능 ADCC, ADCP 및/또는 CDC는 또한 Fc 영역이 결여된 항체에 의해 나타날 수 있다. 항체는 다수의 상이한 항원-결합 부위를 포함할 수 있는데, 하나는 ICOS에 대한 것이고 다른 하나는 해당 표적 분자의 맞물림이 ADCC, ADCP 및/또는 CDC를 유도하는 표적 분자에 대한 것이며, 예를 들어 항체는 링커에 의해 연결된 2개의 scFv 영역을 포함하고, 여기서 하나의 scFv는 이펙터 세포와 결합할 수 있다.

[0272] 본 발명에 따른 항체는 ADCC, ADCP 및/또는 CDC를 나타내는 것일 수 있다. 대안적으로, 본 발명에 따른 항체는 ADCC, ADCP 및/또는 CDC 활성이 결여될 수 있다. 어느 경우든, 본 발명에 따른 항체는 하나 이상 유형의 Fc 수용체에 결합하는 Fc 영역을 포함할 수 있거나, 선택적으로 결여될 수 있다. 상이한 항체 형식의 사용, 및 FcR 결합 및 세포 이펙터 기능의 존재 또는 부재는 본 명세서의 다른 곳에서 논의된 바와 같이 특정 치료 목적에 사용하기 위해 항체를 맞춤화할 수 있게 한다.

[0273] 일부 치료 적용에 적합한 항체 형식은 야생형 인간 IgG1 불변 영역을 이용한다. 불변 영역은 선택적으로 ADCC 및/또는 CDC 및/또는 ADCP 활성을 가지는 이펙터-활성화 IgG1 불변 영역일 수 있다. 적합한 야생형 인간 IgG1 불변 영역 서열은 IGHG1*01이다. 인간 IgG1 불변 영역의 추가 예가 본 명세서에 제시되어 있다.

[0274] 향상된 ADCC 및/또는 CDC 및/또는 ADCP를 위해 불변 영역이 조작될 수 있다. Fc-매개 효과의 효능은 다양한 확립된 기법으로 Fc 도메인을 조작함으로써 향상될 수 있다. 이러한 방법은 특정 Fc-수용체에 대한 친화성을 증가시켜 잠재적인 다양한 활성화 향상 프로파일을 생성한다. 이는 하나 또는 여러 아미노산 잔기의 변형에 의해 달성될 수 있다[65]. 특정 돌연변이 또는 잔기 Asn297에서의 변경된 글리코실화(예를 들어, N297Q, EU 인덱스 넘버링)를 포함하는 인간 IgG1 불변 영역은 Fc 수용체에 대한 결합을 향상시키는 것으로 나타났다. 돌연변이의 예는 인간 IgG1 불변 영역(또는 다른 IgG 이소타입의 동등한 위치)에 대해 239, 332 및 330으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기이다. 따라서 항체는 N297Q, S239D, I332E 및 A330L(EU 인덱스 넘버링)로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 돌연변이를 가지는 인간 IgG1 불변 영역을 포함할 수 있다. 삼중 돌연변이(M252Y/S254T/T256E)는 FcRn에 대한 결합을 향상시키는 데 사용될 수 있으며, FcRn 결합에 영향을 미치는 다른 돌연변이는 [66]의 표 2에서 논의되며, 이들 중 임의의 것이 본 발명에서 이용될 수 있다.

[0275] Fc 수용체에 대한 증가된 친화성은 또한 예를 들어 푸코실화 또는 탈푸코실화된 변이체를 생성함으로써 Fc 도메인의 천연 글리코실화 프로파일을 변경함으로써 달성될 수 있다[67]. 비-푸코실화 항체는 푸코스 잔기가 없는 Fc의 복합형 N-글리칸의 트리-만노실 코어 구조를 보유한다. Fc N-글리칸의 코어 푸코스 잔기가 결여된 이러한 글리코조작된 항체는 FcγRIIIa 결합 능력의 향상으로 인해 푸코실화된 등가물보다 더 강력한 ADCC를 나타낼 수 있다. 본 발명에 따른 항체는 푸코실화, 어푸코실화, 탈푸코실화 또는 푸코실화 하에 있을 수 있다.

[0276] ADCC를 증가시키기 위해, 힌지 영역의 잔기를 변경하여 Fc-감마 RIII에 대한 결합을 증가시킬 수 있다[68]. 따라서, 항체는 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체인 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있으며, 여기서 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역이 인간 Fc 수용체에 결합하는 것보다 더 높은 친화성으로 FcyRIIB 및 FcyRIIA로 이루어진 군으로부터 선택되는 인간 Fc 수용체에 결합한다. 항체는 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역의 변이체인 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있으며, 여기서 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG 중쇄 불변 영역이 인간 FcɣRIIB에 결합하는 것보다 더 높은 친화성으로 인간 FcɣRIIB에 결합한다. 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 변이체 인간 IgG1, 변이체 인간 IgG2, 또는 변이체 인간 IgG4 중쇄 불변 영역일 수 있다. 일 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 G236D, P238D, S239D, S267E, L328F, 및 L328E(EU 인덱스 넘버링 시스템)로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 다른 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 S267E 및 L328F; P238D 및 L328E; P238D, 및 E233D, G237D, H268D, P271G, 및 A330R로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환; P238D, E233D, G237D, H268D, P271G, 및 A330R; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; V262E, S267E, 및 L328F; 및 V264E, S267E, 및 L328F(EU 인덱스 넘버링 시스템)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 돌연변이 세트를 포함한다. CDC의 향상은 고전적인 보체 활성화 캐스케이드의 첫 번째 구성 요소인 C1q에 대한 친화성을 증가시키는 아미노산 변화에 의해 달성될 수 있다[69]. 또 다른 접근법은 C1q에 대한 IgG3의 더 높은 친화성을 활용하는 인간 IgG1 및 인간 IgG3 절편으로부터 생성된 키메라 Fc 도메인을 생성하는 것이다[70]. 본 발명의 항체는 잔기 329, 331 및/또는 322에서 돌연변이된 아미노산을 포함하여 C1q 결합 및/또는 감소되거나 제거된 CDC 활성을 변경시킬 수 있다. 또 다른 구현예에서, 본 명세서에 개시된 항체 또는 항체 단편은 잔기 231 및 239에서 변형된 Fc 영역을 포함할 수 있으며, 이에 의해 아미노산이 대체되어 보체를 고정하는 항체의 능력을 변경시킨다. 일 구현예에서, 항체 또는 단편은 E345K, E430G, R344D 및 D356R로부터 선택되는 하나 이상의 돌연변이, 특히 R344D 및 D356R을 포함하는 이중 돌연변이(EU 인덱스 넘버링 시스템)를 포함하는 불변 영역을 가진다.

[0277] WO2008/137915는 향상된 이펙터 기능을 가지는 변형된 Fc 영역이 있는 항-ICOS 항체를 기재하였다. 항체는 VH 및 VK 도메인 및 야생형 Fc 영역을 포함하는 모 항체에 의해 매개되는 ADCC 활성의 수준과 비교하여 향상된 ADCC 활성을 매개하는 것으로 보고되었다. 본 발명에 따른 항체는 거기에 기재된 바와 같은 이펙터 기능을 가지는 이러한 변이체 Fc 영역을 이용할 수 있다.

[0278] 항체의 ADCC 활성은 본 명세서에 기재된 바와 같은 분석에서 결정될 수 있다. 항-ICOS 항체의 ADCC 활성은 본 명세서에 기재된 바와 같은 ICOS 양성 T 세포주를 사용하여 시험관 내에서 결정될 수 있다. 더 일반적으로, 항체의 ADCC 활성은 항체에 의해 인식되는 항원의 세포 표면 디스플레이를 나타내는 세포를 사용하는 ADCC 분석에서 시험관 내에서 결정될 수 있다.

[0279] 일부 환자의 경우 Fc 이펙터 기능이 없는 항체를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 항체는 불변 영역 없이 또는 Fc 영역 없이 제공될 수 있으며, 이러한 항체 형식의 예는 본 명세서의 다른 곳에 기재되어 있다. 대안적으로, 항체는 이펙터가 없는 불변 영역을 가질 수 있다. 항체는 Fcɣ 수용체에 결합하지 않는 중쇄 불변 영역을 가질 수 있으며, 예를 들어 불변 영역은 Leu235Glu 돌연변이(즉, 야생형 류신 잔기가 글루탐산 잔기로 돌연변이된 경우)를 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역에 대한 또 다른 선택적인 돌연변이는 안정성을 증가시키는 Ser228Pro이다. 중쇄 불변 영역은 Leu235Glu 돌연변이 및 Ser228Pro 돌연변이 둘 다를 포함하는 IgG4일 수 있다. 이 "IgG4-PE" 중쇄 불변 영역은 이펙터 기능이 없다.

[0280] 대안적인 이펙터 기능이 없는 인간 불변 영역은 비활성화된 IgG1이다. 비활성화된 IgG1 중쇄 불변 영역은 위치 235 및/또는 237(EU 인덱스 넘버링)에 알라닌을 포함할 수 있고, 예를 들어 L235A 및/또는 G237A 돌연변이("LAGA")를 포함하는 IgG1*01 서열일 수 있다.

[0281] 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 인간 FcɣRIIIA, 인간 FcɣRIIA 또는 인간 FcɣRI에 대한 IgG의 친화성을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, FcɣRIIB는 대식세포, 단핵구, B-세포, 수지상 세포, 내피 세포, 및 활성화된 T-세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포에서 발현된다. 일 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 G236A, S239D, F243L, T256A, K290A, R292P, S298A, Y300L, V305I, A330L, I332E, E333A, K334A, A339T, 및 P396L(EU 인덱스 넘버링 시스템)의 아미노산 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다. 일 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 S239D; T256A; K290A; S298A; I332E; E333A; K334A; A339T; S239D 및 I332E; S239D, A330L, 및 I332E; S298A, E333A, 및 K334A; G236A, S239D, 및 I332E; 및 F243L, R292P, Y300L, V305I, 및 P396L(EU 인덱스 넘버링 시스템)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 돌연변이의 세트를 포함한다. 일 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 S239D, A330L, 또는 I332E 아미노산 돌연변이(EU 인덱스 넘버링 시스템)를 포함한다. 일 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영

역은 S239D 및 I332E 아미노산 돌연변이(EU 인덱스 넘버링 시스템)를 포함한다. 일 구현예에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 S239D 및 I332E 아미노산 돌연변이(EU 인덱스 넘버링 시스템)를 포함하는 변이체 인간 IgG1 중쇄 불변 영역이다.

[0282] 항체는 하나 이상의 유형의 Fc 수용체에 결합하지만 세포 이펙터 기능을 유도하지 않는, 즉 ADCC, CDC 또는 ADCP 활성을 매개하지 않는 중쇄 불변 영역을 가질 수 있다. 이러한 불변 영역은 ADCC, CDC 또는 ADCP 활성을 촉발시키는 것을 담당하는 특정 Fc 수용체(들)에 결합할 수 없을 수 있다.

[0283] 항-ICOS 항체

[0284] 항-ICOS 작용제는 ICOS 세포외 도메인에 결합하여 ICOS를 발현하는 T 세포를 표적화하는 ICOS에 대한 항체일 수 있다.

[0285] 항-ICOS 항체는 ICOS+ T 세포 결합으로 인한 항종양 효과를 가지는 것으로 보고되었다. 항-ICOS 항체는 다양한 메커니즘에 의해 면역치료 효과를 제공할 수 있다. 예를 들어, 항-ICOS 항체는 IFNγ 발현 및 분비를 증가시키는 능력에 의해 나타나는 바와 같이, ICOS에 대한 효현제 효과를 가질 수 있고, 따라서 TEff 세포의 기능을 향상시킬 수 있다. 항-ICOS 항체는 선택적으로 이들이 결합하는 세포를 고갈시키도록 조작될 수 있으며, 이는 ICOS+ TReg를 우선적으로 하향조절하는 효과를 가지고, 이펙터 T 세포 반응에 대한 이들 세포의 억제 효과를 해제하여 이펙터 T 세포 반응을 전반적으로 촉진시켜야 한다. 항-ICOS 항체인 KY1044는 본 발명에서 면역치료제로 사용하기에 이상적인 기능적 프로파일을 가지지만, 다른 항-ICOS 작용제가 대안적으로 사용될 수 있다.

[0286] 항-ICOS 항체는 하기 항체 중 임의의 것일 수 있거나, 하기 항체 중 임의의 것의 VH 및 VL 도메인을 포함할 수 있거나 하기 항체 중 임의의 것의 HCDR 및/또는 LCDR을 포함할 수 있다:

[0287] (a) KY1044

[0288] (b) PCT/GB2017/052352, WO2018/029474 또는 US9957323(이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 포함됨)에 기재된 항-ICOS 항체(예를 들어, STIM001, STIM002, STIM002B, STIM003, STIM004, STIM005, STIM006, STIM007, STIM008 또는 STIM009)

[0289] (c) PCT/GB2018/053701, WO2019/122884(이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 포함됨)에 기재된 항-ICOS 항체(예를 들어, STIM017, STIM020, STIM021, STIM022, STIM023, STIM039, STIM040, STIM041, STIM042, STIM043, STIM044, STIM050, STIM051, STIM052, STIM053, STIM054, STIM055, STIM056, STIM057, STIM058, STIM059, STIM060, STIM061, STIM062, STIM063, STIM064, STIM065 또는 STIM066)

[0290] (d) PCT/GB2018/053698, WO2019/122882에 기재된 항-ICOS/PD-L1 mAb^2 이중특이성 항체

[0291] (e) 보프라테리맙

[0292] (f) WO2016/154177 또는 US2016/0304610에 기재된 항-ICOS 항체(예를 들어, 37A10S713, 7F12, 37A10, 35A9, 36E10, 16G10, 37A10S714, 37A10S715, 37A10S716, 37A10S717, 37A10S718, 16G10S71, 16G10S72, 16G10S73, 16G10S83, 35A9S79, 35A9S710 또는 35A9S89)

[0293] (g) WO2016/120789 또는 US2016/0215059에 기재된 항-ICOS 항체(예를 들어, 422.2 H2L5)

[0294] (h) WO2018/187613 또는 US2018/0289790에 기재된 이의 인간화되 항체, 예를 들어 ICOS.33 IgG1f S267E, ICOS.4, ICOS34 G1f, ICOS35 G1f, 17C4, 9D5, 3E8, 1D7a, 1D7b 또는 2644(서열에 대해서는 WO2018187613 표 35 참조), 예를 들어 NCT03251924의 항체 BMS-986226

[0295] (i) 항체 JMAb 136, "136", 또는 WO2010/056804에 기재된 임의의 다른 항체

[0296] (j) 항체 314-8, 하이브리도마 CNCM I-4180으로부터 생성된 항체, 또는 WO2012/131004, WO2014/033327 또는 US2015/0239978에 기재된 임의의 다른 항-ICOS 항체

[0297] (k) 항체 Icos145-1, 하이브리도마 CNCM I-4179에 의해 생성된 항체, 또는 WO2012/131004, US9,376,493 또는 US2016/0264666에 기재된 임의의 다른 항체

[0298] (l) 항체 MIC-944(하이브리도마 DSMZ 2645 유래), 9F3(DSMZ 2646) 또는 WO99/15553, US7,259,247, US7,132,099, US7,125,551, US7,306,800, US7,722,872, WO05/103086, US8,318.905 또는 US8,916,155에 기재된 임의의 다른 항-ICOS 항체

[0299] (m) WO98/3821, US7,932,358B2, US2002/156242, US7,030,225, US7,045,615, US7,279,560, US7,226,909, US7,196,175, US7,932,358, US8,389,690, WO02/070010, US7,438,905, US7,438,905, WO01/87981, US6,803,039, US7,166,283, US7,988,965, WO01/15732, US7,465,445 또는 US7,998,478에 기재된 항-ICOS 항체(예를 들어, JMAb-124, JMAb-126, JMAb-127, JMAb-128, JMAb-135, JMAb-136, JMAb-137, JMAb-138, JMAb-139, JMAb-140 or JMAb-141, 예를 들어 JMAb136)

[0300] (n) WO2014/08911에 기재된 항-ICOS 항체

[0301] (o) WO2012/174338에 기재된 항-ICOS 항체

[0302] (p) US2016/0145344에 기재된 항-ICOS 항체

[0303] (q) WO2011/020024, US2016/002336, US2016/024211 또는 US8,840,889에 기재된 항-ICOS 항체

[0304] (r) US8,497,244에 기재된 항-ICOS 항체

[0305] (s) 항체 클론 ISA-3(eBioscience), 클론 SP98(Novus Biologicals), 클론 1 G1, 클론 3G4(Abnova Corporation), 클론 669222(R&D Systems), 클론 TQ09(Creative Diagnostics), 클론 2C7(Deng et al. Hybridoma Hybridomics 2004), 클론 ISA-3(eBioscience) 또는 클론 17G9(McAdam et al. J Immunol 2000).

[0306] KY1044는 인간 항-ICOS 하위 부류 G1 카파 모노클로날 항체이다. 이는 이중 작용 메커니즘, 즉 TReg의 고갈과 TEff 세포의 공동 자극(효능 작용)을 가지도록 개발되었다[7]. 항체 KY1044의 서열은 본 명세서의 표 K에 나타나 있다.

[0307] 항-ICOS 항체는 KY1044의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는 항체(예를 들어, 인간 IgG1, 또는 scFv)와 인간 ICOS에 대한 결합에 대해 경쟁하는 것일 수 있다. 항-ICOS 항체는 KY1044와 적어도 동일한 친화성으로, 또는 KY1044 친화성의 50% 이내, 25% 이내 또는 10% 이내의 친화성으로 ICOS에 결합할 수 있다(예를 들어, 칩-결합 항원 또는 칩-결합 IgG 항-ICOS 항체를 이용하는 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정됨).

[0308] 본 발명에서 항-ICOS 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 KY1044의 하나 이상의 CDR(예를 들어, 모든 6개의 CDR, 또는 HCDR 및/또는 LCDR 세트) 또는 이의 변이체를 포함할 수 있다.

[0309] 항체는 CDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 항체 VH 도메인 및 CDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 항체 VL 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 HCDR3은 KY1044 HCDR3이거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 해당 HCDR3을 포함한다. HCDR2는 KY1044의 HCDR2일 수 있거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 해당 HCDR2를 포함할 수 있다. HCDR1은 KY1044의 HCDR1일 수 있거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 해당 HCDR1을 포함할 수 있다.

[0310] 항체는 CDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 항체 VL 도메인 및 CDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 항체 VL 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 LCDR3은 KY1044의 LCDR3이거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 해당 LCDR3을 포함한다. LCDR2는 KY1044 LCDR2일 수 있거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 해당 LCDR2를 포함할 수 있다. LCDR1은 KY1044 LCDR1일 수 있거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 해당 LCDR1을 포함할 수 있다.

[0311] 항체는

[0312] HCDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 항체 VH 도메인, 및

[0313] LCDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 항체 VL 도메인

[0314] 을 포함할 수 있으며,

[0315] 여기서 HCDR은 KY1044의 HCDR이거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 KY1044 HCDR을 포함하고/거나;

[0316] LCDR은 항체 KY1044의 LCDR이거나 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 변경이 있는 KY1044 LCDR을 포함한다.

[0317] 항체는 HCDR HCDR1, HCDR2 및 HCDR3의 세트를 포함하는 VH 도메인을 포함하되, 여기서

[0318] HCDR1은 서열번호 1의 KY1044 HCDR1이고,

[0319] HCDR2는 서열번호 2의 KY1044의 HCDR2이며,

[0320] HCDR3은 서열번호 3의 KY1044의 HCDR3이거나,

[0321] 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 변경이 있는 HCDR 세트를 포함하는 VH 도메인을 포함할 수 있다.

[0322] 항체는 LCDR LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 세트를 포함하는 VL 도메인을 포함하되, 여기서

[0323] LCDR1은 서열번호 8의 KY1044 LCDR1이고,

[0324] LCDR2는 서열번호 9의 KY1044 LCDR2이며,

[0325] LCDR3은 서열번호 10의 KY1044의 LCDR3이거나,

[0326] 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 변경이 있는 LCDR 세트를 포함하는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

[0327] 아미노산 변경(예를 들어, 치환)은 CDR의 임의의 잔기 위치에 있을 수 있다.

[0328] 바람직하게는, 항체는 KY1044의 6개 CDR의 전체 세트를 포함하는 ICOS 결합 부위를 포함한다.

[0329] 본 발명에 따른 항-ICOS 항체는 서열번호 5의 KY1044 VH 도메인이거나 KY1044 항체 VH 도메인 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 가지는 항체 VH 도메인을 포함할 수 있다. 아미노산 서열 동일성은 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%일 수 있다.

[0330] 본 발명에 따른 항-ICOS 항체는 서열번호 12의 KY1044 VL 도메인이거나 KY1044 항체 VL 도메인 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 가지는 항체 VL 도메인을 포함할 수 있다. 아미노산 서열 동일성은 적어도 95%일 수 있다.

[0331] 바람직하게는 항체는 KY1044 VH 및 VL 도메인을 포함한다.

[0332] 본 명세서의 다른 곳에 상술된 바와 같이, 항체는 불변 영역, 선택적으로 인간 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 예시적인 이소타입은 IgG, 예를 들어 인간 IgG1이다. 항-ICOS 항체는 서열번호 7의 KY1044 중쇄 및/또는 서열번호 14의 KY1044 경쇄를 포함할 수 있다. KY1044는 각각 454개의 아미노산 잔기의 2개의 중쇄 및 각각 215개의 아미노산 잔기의 2개의 경쇄로 재조합적으로 생성될 수 있으며, IgG1 항체의 특유한 사슬간 및 사슬내 이황화 결합을 가지고 있다.

[0333] 면역요법

[0334] 면역요법은 항-ICOS 작용제 및/또는 항-TReg 작용제일 수 있는 면역요법제를 이용한 치료를 포함한다. 예를 들어, 정맥내 또는 피하 주사에 의해 약제학적 제형으로서 환자에게 투여될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법은 KY1044와 같은 항-ICOS 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0335] 환자는 또한 선택적으로 수술을 포함하여 암에 대한 표준 치료에 따를 치료를 동시에, 이전에 또는 이후에 받을 수 있다. 멀티키나제 억제제인 소라페닙은 HCC에 대해 승인된 최초의 전신 요법이었다. 2016년부터, 3개의 멀티키나제 억제제와 1개의 항혈관 내피 성장 인자 수용체(VEGFR) 모노클로날 항체를 포함한 4개의 다른 표적 작용제가 진행성 HCC 환자에게 생존 이익을 제공하는 III상 임상 시험에서 입증되었다[71, 72, 73, 74]. 여러 국가의 규제 기관은 렌바티닙을 HCC에 대한 1차 전신 요법으로 승인하였으며, 이전에 소라페닙으로 치료받은 HCC 환자의 치료를 위해 레고라페닙, 카보잔티닙, 및 라무시루맙(α-태아단백질이 400 ng/mL 초과인 환자로 제한됨)을 승인하였다. 항-PD-1 항체는 또한 진행성 HCC의 2차 치료제로서 사용되었다.

[0336] 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법과 조합되거나 이를 대체할 수 있는 치료는 세포에서 ATP 및 HMGB1의 방출 및 원형질막에 칼레티쿨린의 노출을 특징으로 하는 면역학적 세포 사멸을 유도하는 치료를 포함한다[75, 76]. 면역학적 세포 사멸을 유도하는 치료법은 방사선(예를 들어, UVC 광선 또는 감마선을 사용한 세포의 이온화 조사), 화학요법제(예를 들어, 옥살리플라틴, 안트라사이클린(예컨대, 독소루비신, 이다루비신 또는 미톡산트론), BK 채널 효현제(예컨대, 플로레틴 또는 피마르산), 보르테조밉, 강심 배당체, 사이클로포스파미드, 미토마이신이 포함된 GADD34/PP1 억제제, 하이퍼리신이 포함된 PDT, 폴리이노신-폴리시티딜산, 5-플루오로우라실, 젬시타빈, 게피트닙, 엘로티닙, 또는 시스플라틴이 포함된 탑시가르긴) 및 종양-연관 항원에 대한 항체를 포함한다. 종양-연관 항원은 동일한 조직의 비-종양 세포에 비해 종양 세포에 의해 과발현되는 임의의 항원, 예를 들어 HER2, CD20, EGFR일 수 있다. 적합한 항체는 허셉틴(항-HER2), 리툭시맙(항-CD20), 또는 세툭시맙(항-EGFR)을 포함한다.

[0337] 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법과 병용될 수 있는 다른 치료, 및 항-ICOS 치료 및/또는 병용 요법을 투여하

는 방법은 WO2018/029474에 기재되어 있으며, 이는 본 명세서에 전문이 본원에 참조에 의해 포함된다.

[0338] 바이오마커를 결정하는 방법 및 하나 이상의 바이오마커의 변화를 포함하는 반응의 특징에 대해 환자 샘플을 모니터링하는 방법을 포함하는 본 발명의 방법은 이들 또는 다른 치료의 처방을 알리는 데 사용될 수 있다.

[0339] 종양을 제거하거나 감소시키기 위해 수술을 받는 환자는 수술 전 및/또는 후에 면역요법을 받을 수 있다. 수술 후 면역요법은 남아있는 종양 조직 및/또는 기타 남아있는 원발성 종양 또는 전이를 치료할 수 있다.

[0340] 통계적 방법 및 모델링

[0341] 카플란-마이어 곡선 및 로그 순위 테스트는 단변량 분석의 예이다. 이는 조사 중인 선택된 요인에 따라서만 생존을 설명한다. 대안적인 방법은 양적 예측 변수와 범주형 변수 둘 다에 대해 작동하는 콕스 비례 위험(COX-PH) 회귀 분석이다. 또한 콕스 회귀 모델은 생존 분석 방법을 확장하여 여러 위험 요인이 생존 시간에 미치는 영향을 동시에 평가한다.

[0342] 첨부된 실시예에서 입증된 바와 같이, 참조(컷오프) 값은 환자가 임상 척도(예를 들어, OS)에 대해 통계적 유의성으로 구별될 수 있는 값으로 결정될 수 있다. 컷오프 값은 통계적 유의성을 제공하는 값(예를 들어, 로그 순위 테스트에 의해 $p<0.05$), 바람직하게는 가장 높은 통계적 유의성을 가지는 값을 식별하기 위해 일련의 컷오프 값을 테스트함으로써 경험적으로 결정될 수 있다. 바람직하게는 컷오프 값은 ROC 분석에 의해 데이터로부터 결정되며, 본 명세서에 참조에 의해 포함된 [77]을 참조한다. 선택적으로 컷오프 값은 바이오마커의 중간 판독값, 바이오마커의 상위 사분위수 판독값 또는 바이오마커의 하위 사분위수 판독값이다.

[0343] 참조 값을 계산할 때, 원하는 크기로 값을 표현하기 위해 곱셈 또는 나눗셈 인수를 포함하는 것이 편리할 수 있다. 예를 들어 컷오프 값이 0.001인 것으로 결정되면, 곱셈 인수 1000을 포함하여 편리하게 1로 표현될 수 있다. 그 다음 참조 값과 비교하기 위해, 테스트 샘플의 바이오마커 판독값에 동일한 인수를 곱한다. 유사하게, 참조 번호 및 바이오마커는 임의의 원하는 척도(숫자, 시각적(예를 들어, 컬러 차트), 청각 또는 기타)에서 다른 값을 생성하도록 변환될 수 있으며, 바이오마커 판독값은 동일한 변환이 일관되게 수행된다면 상기 참조 값과 여전히 유효하게 비교될 수 있다. 따라서, 본 발명은 바이오마커 데이터가 제시되는 방식에 의해 제한될 필요가 없다. 오히려, 본 발명에 사용된 판독값 및 참조 값은 기저 데이터를 나타내는 것이 될 것이며, 따라서 (예를 들어) mm^2 종양 코어당 100개 ICOS 양성 세포의 밀도를 나타내는 바이오마커 참조 값은 "mm^2당 100개 세포" 또는 "0"으로 표현될 수 있다. 후자의 경우에는 100을 뺀 다음 mm^2당 110개 세포의 밀도가 계산된 종양 샘플을 0의 참조 값과 비교하기 위해 10으로 변환한다.

[0344] 환자의 예후와 치료를 안내하는 데 사용될 수 있는 바이오마커 변수를 식별하기 위해 로지스틱 회귀 분석을 사용하는 예는 Kagamu외 다수의 연구[27]에서 찾을 수 있다. 그 연구는 니볼루맙 치료 후 초기 질환 진행을 나타내는 환자를 식별할 수 있는 바이오마커로서 환자의 말초 혈액에서 CD4+ T 세포의 상태를 식별하여 환자를 비-반응자 또는 반응자로 분류할 수 있게 한다. 저자는 비-반응자를 예측하기 위해 비소세포폐암 환자의 말초 혈액에서 $CD62L^{low}$ CD4+ T 세포 및 CD25+ FOXP3+ 세포의 백분율을 기반으로 한 공식을 기재한다. 예측 공식은 로지스틱 회귀 모델과 함께 발견 코호트 데이터를 사용하여 개발되었다. 독립적인 검증 코호트 데이터를 사용하여 예측 공식의 성능을 평가하였다. 카플란-마이어 방법을 사용하여 생존 곡선을 추정하였다. 모든 P 값은 양측이었고 $p < 0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다. 두 모집단 사이의 차이에 대한 테스트는 Student t 테스트를 사용하여 수행되었다. 다중 그룹 비교는 터키(Tukey) 사후 분석과 함께 일원 ANOVA를 사용하여 수행되었다.

[0345] 이러한 유형의 모델링은, 예를 들어 예측된 생존 및/또는 치료에 대한 반응 가능성에 따라 환자의 의미 있는 분류를 허용하는 바이오마커 및 바이오마커 조합을 식별하기 위해 암 환자의 임상 데이터에 일반적으로 적용될 수 있다. SAS 9.4(SAS Institute Inc.) 및 Prism 8(GraphPad)을 포함하여 다양한 소프트웨어 패키지기 통계 분석 및 모델링을 실행하는 데 이용가능하다.

[0346] **실시예**

[0347] 종양 조직 절편에서 많은 정보를 읽을 수 있으며, 서로 관련하여 다양한 상이한 세포 유형의 분포, 퍼짐, 클러스터링 및 근접성을 포함하여 세포의 공간적 배열을 관찰함으로써 TME의 특성에 대한 통찰력이 얻어진다. 이전에는 흑색종 세포의 20 μm 이내의 면역 세포 밀도가 면역 관문 차단제에 대한 반응과 연관이 있는 것으로 보고되었다(Gide et al 2020). 본 발명에서, 본 발명자들은 TME에서 ICOS 및/또는 FOXP3을 발현하는 면역 세포의 공간적 배열이 질환 예후 및 면역요법에 대한 반응을 위한 바이오마커임을 밝힌다. 하기 실시예에서 본 발명자들

은 HCC 샘플의 TME에서 ICOS 양성, FOXP3 양성 및 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 분석을 기재하고, 이들 세포의 밀도, 비율, 세포간 거리 및 수에 관하여 TME를 특성화한다. 본 발명자들은 ICOS 및 FOXP3에 대해 공동 염색하고 mm^2당 ICOS 단일 양성, FOXP3 단일 양성 및 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 밀도, 상이한 염색된 세포의 비율(예를 들어, ICOS FOXP3 이중 양성 세포에 대한 FOXP3 단일 양성 세포의 비율), 상이한 염색된 세포 사이의 거리(예를 들어, ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 ICOS 단일 양성 세포까지의 평균 거리) 및 ICOS 단일 양성 세포 주위의 영향 영역(반경 30 μM로 정의됨) 내의 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수를 측정하였다.

[0348] 본 발명자들은 이러한 TME 측정과 임상 결과 또는 임상 메타데이터 사이의 연관성을 찾았다. 본 발명자들은 이러한 측정이 질환 예후(전체 생존 기간을 포함함) 및 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법에 대한 반응에 대한 바이오마커를 나타내는 방법을 기재한다.

[0349] ICOS FOXP3 이중 양성 세포는 면역억제성 TME의 특성인 활성 TReg로 식별된다. HCC 종양은 높은 비율의 ICOS+ TReg를 포함하는 것으로 밝혀졌으며, 이는 강력한 면역억제 환경을 암시한다. ICOS+ 세포의 밀도가 높을수록, 총 FOXP3+ 세포에 대한 ICOS+ FOXP3+ 이중 양성 세포의 비율이 높을수록, ICOS+ TReg와 다른 ICOS+ 세포 사이의 근접성이 더 가까울수록, 영향을 받는 영역에서 ICOS+ TReg의 수가 많을수록 모두 전체 생존 기간의 저하와 연관되었다.

[0350] 본 발명자들은 이제 항-TReg 항-ICOS 및/또는 면역요법이 TME에서 이러한 바이오마커를 나타내는 환자에서 연장된 생존을 포함하여 임상적 이익을 제공할 수 있는 방법을 기재한다. 항-ICOS 항체인 KY1044는 ICOS 양성 세포를 표적화하고 ICOS 발현이 높은 세포를 선택적으로 고갈시켜, 고도의 면역억제성 TReg를 제거하고 항-종양 면역 반응을 증진시키는 능력 때문에 이상적인 치료제 후보이다.

[0351] 실시예 1. TME 대 종양 주변에서 ICOS 양성 TReg의 증가된 수 및 비율

[0352] 이전에 20명의 HCC 환자 코호트에서 인접한 정상 조직과 비교하여 TME에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포가 증가한 것으로 보고되었다[3]. 현재 연구에서 본 발명자들은 대규모 환자 집단의 데이터를 평가하여, 이전 연구 결과를 확인하고 확장하였다. 본 발명자들은 HCC 샘플에서 종양 주변 조직과 비교하여 TME에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 상당한 증가를 발견하였다. 본 발명자들은 또한 종양 코어 대 종양 주변에서 총 TReg(FOXP3 양성 세포)($p<0.001$)에 대한 ICOS 양성 TReg(ICOS FOXP3 이중 양성 세포)의 비율에서 상당한 증가를 관찰하였다. 높은 밀도의 종양-침윤성 TReg는 HCC의 바람직하지 않은 예후 지표인 것으로 생각된다. ICOS+ FOXP3+ 세포가 TGF-β와 IL-10 둘 다의 생산을 통해 고도의 면역억제 효과가 있는 것으로 보고되었다는 사실과 함께[78], 본 발명자들의 발견은 HCC 종양이 ICOS FOXP3 이중 양성 세포를 고갈시키는 것을 목표로 하는 전략으로부터 강력하게 이익을 받아야 함을 나타낸다. ICOS FOXP3 이중 양성 세포 대 ICOS 음성 FOXP3 양성 세포의 비율이 더 높은 종양이 가장 큰 이익을 혜택을 받아야 한다.

[0353] *종양 샘플*

[0354] 종양 조직은 원래 대만 타이페이 국립 대만 대학 병원에서 간절제술을 받은 HCC 환자에게서 수집되었다. 보관된 조직에서 본 연구를 위해 포르말린 고정, 파라핀 포매 조직 절편(두께 5 μm)을 회수하였다.

[0355] *환자 데이터*

[0356] 총 142명의 환자(남성:여성 = 112:30, 평균 연령 61.0세)가 연구 코호트에 등록되었다. 그 중 87명(61.3%)은 만성 B형 간염 바이러스(HBV) 감염이 있었고, 33명(23.2%)은 만성 C형 간염(HCV) 감염이 있었으며 22명(15.5%)은 HBV/HCV 감염이 없었다. HBV 및 HCV에 대해 이중 양성을 보인 환자는 없었다. AFP <20 ng/mL 또는 초기 단계의 질환을 가진 환자는 전체 생존 기간(OS) 중앙값이 크게 개선되었다. OS는 간절제술 날짜로부터 환자의 사망 날짜 또는 최종 추적일까지로 계산되었다. OS 중앙값은 코호트 환자의 절반이 여전히 연구 중에 있는 진단 후 시간 길이로 계산되었다. 이 코호트에서, OS 중앙값은 100.3개월이었다. 연령, 성별 및 바이러스 병인은 OS의 변화와 유의하게 연관되지 않았다.

[0357] *면역조직화학*

[0358] ICOS 및 FOXP3 발현 세포를 5 ㎛ 조직 절편에서 다음과 같이 검출하기 위해 순차적 이중 다중 IHC 분석을 수행하였다. 조직 슬라이드에서 파라핀을 제거한 다음, 재수화시키고, 항원 회수를 위해 디클로킹(decloaking) 챔버를 사용하여 시트레이트 완충액(pH 6.0)에서 10분 동안 오토클레이브한 후, 과산화수소로 차단한 다음 카제인-포함 차단 시약(Background Sniper, BioCare Medical)으로 차단하여 비-특이적 배경 염색을 감소시켰다. 그 다음 슬라이드를 항-ICOS 항체(희석 1:800; 클론 D1K2T; Cell Signaling)와 함께 4℃에서 밤새

인큐베이션하였다. D1K2T를 검출하기 위한 2차 항체를 포함하는 MACH1 Universal HRP-Polymer 검출 키트(BioCare Medical)를 적용하였으며, 제조업체의 권장 사항에 따라 자동 DAB 검출을 수행하였다. DAB(3,3'-디아미노벤지딘)는 벤젠의 유도체이며 갈색 염색을 제공한다.

[0359] 차단 단계를 반복한 다음 슬라이드를 항-FOXP3 항체(희석 1:800; 클론 236A/E7; Abcam)와 함께 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 검출을 위한 2차 항체를 포함하는 MACH1 Universal HRP-Polymer 검출 키트를 적용하였으며, 제조업체의 권장 사항에 따라 Vina Green Chromogen Kit(BioCare Medical)를 수행하였다. Vina Green Chromagen은 여기에서 FOXP3에 대한 2차 염색으로 사용되는 녹색 염색을 제공한다. 슬라이드를 헤마톡실린과 핵 내 헤마톡실린의 초기 가용성 적색을 불용성 청색으로 전환시키는 청색화 시약으로 대비염색하였다. 청색화 용액의 알칼리성 pH는 또한 매염 염료-레이크가 조직에서 재형성되어 보다 영구적이 되도록 한다. 결과는 모든 세포 핵의 염색이며, 이는 조직의 전반적인 구조를 나타내고 2개의 IHC 크로마겐을 볼 수 있는 상황별 배경을 제공하여 병리학자 또는 컴퓨터에 의한 후속 분석을 용이하게 한다. 마지막으로, 모든 슬라이드를 기기에서 제거하고, 세척한 다음, 탈수하고, 표준 IHC 절차에 따라 영구 장착 매체에 장착하였다.

[0360] *디지털 병리학*

[0361] 5 μm의 IHC 염색된 조직 슬라이드를 명시야 모드에서 Hamamatsu Nanozoomer 디지털 스캐너를 사용하여 20× 배율로 스캔하였다. 전체 슬라이드 이미지의 이중 IHC 분석을 Indica Labs HALO® 플랫폼으로 수행하였다. 간단히 말해서, 공정은 IHC 발색체(×2)와 대비염색을 분리하기 위한 3-발색체 색상 디콘볼루션을 수반하였다. 세포 객체는 개별 발색체에 대한 가중 광학 밀도 값을 적용하여 형성되었다. 그 다음 정의된 크기, 모양 및 세포하 구획 염색 매개변수를 사용하여 각각의 양성 세포 유형을 식별하였다. 분석을 위해 관심이 있는 조직 영역을 자동으로 분할하기 위해 분류기를 개발하여 알고리즘에 통합하였다. 완성된 알고리즘은 상세한 세포별 데이터를 생성하기 위해 자동화되고 객관적인 방식으로 연구의 모든 조직 단면 이미지에 적용되었다. 모든 스캔 이미지를 검토하고 다음 영역을 정의한 다음 수동으로 주석을 달았다:

[0362] · 침습 경계면: 병리학자가 정의한 종양의 가장자리

[0363] · 코어(TME): 종양 중심 > 침습 경계면에서 안쪽으로 500 μm

[0364] · 종양 주변 기질: 종양 주위의 조직 > 침습 경계면에서 바깥쪽으로 500 μm.

[0365] 조직 접힘 및/또는 염색 인공물은 수동 배제에 의해 분석에서 제외되었다.

[0366] *결과 및 결론*

[0367] ICOS+ FOXP3+ 세포의 밀도는 종양 주변 영역보다 TME(종양 코어)에서 유의하게 더 높았다(대응표본 T 검정(paired T test)에 의해 $p<0.001$). 도 2.

[0368] 총 FOXP3 세포에 대한 ICOS 양성 TRegs(ICOS FOXP3 이중 양성 세포)의 비율도 또한 종양 주변 영역보다 TME(종양 코어)에서 유의하게 더 높았다(대응표본 T 검정에 의해 $p<0.001$). 도 3.

[0369] 이러한 결과는 ICOS+ TRegs가 종양 주변 영역보다 TME에서 더 널리 퍼진 HCC의 초기 연구와 일치한다[3].

[0370] HCC에서 ICOS를 발현하는 TReg의 높은 수와 비율은 이러한 종양에서 강력한 면역억제 환경을 암시한다. 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법은 이러한 특성을 가지는 HCC에서 이익이 있을 수 있다.

[0371] 이러한 효과는 바이러스-관련 암에서 더 뚜렷하였으며, 이는 결과가 본 연구에서 통계적 유의성에 도달하지 않았지만, 바이러스-연관 암 또는 바이러스 유발 암(예를 들어, HBV 양성 HCC, HCV 양성 HCC)이 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역요법에 반응할 가능성이 더 높을 수 있음을 시사한다.

[0372] 실시예 2. ICOS는 질환 예후를 위한 바이오마커이다

[0373] 실시예 1에서와 동일한 HCC 환자 코호트를 사용하여, 본 발명자들은 환자 생존과 ICOS+ 세포의 밀도 및 종양 샘플에서 ICOS+ TReg의 비율 사이의 연관성을 밝혀내었다. ICOS 양성 세포의 더 높은 밀도는 더 짧은 OS와 관련이 있었다. ICOS 양성 TReg의 높은 비율은 또한 더 짧은 OS와 관련이 있었다.

[0374] *샘플 처리*

[0375] 종양 샘플을 처리하고 IHC 및 디지털 병리학 작업을 실시예 1에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0376] *데이터 분석*

[0377] 세포 측정과 생존 간의 연관성을 상이한 세포 측정에 따라 나누어진 환자 집단에 대한 카플란-마이어 곡선을 구축하여 분석하였다. 환자 집단 사이의 생존 차이를 로그 순위 테스트로 비교하였다. 카플란-마이어 로그 순위 분석은 Graphpad Prism 8.3.1을 사용하여 수행하였다.

[0378] SAS 통계 소프트웨어(버전 9.4, SAS Institute Inc., 미국 노스캐롤라이나주 캐리 소재)를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 0.05 미만인 양측 p 값은 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다. 카플란-마이어 방법을 사용하여 상이한 하위 그룹에서 환자의 OS 및 RFS를 추정하고 로그 순위 테스트를 사용하여 비교하였다. 독립표본 T 검정(unpaired T test)을 세포 밀도의 차이를 비교하는 데 사용하였다.

[0379] 95% 신뢰 구간(CI)의 위험비(HR, Mantel-Haenszel)를 또한 총 TReg에 대한 ICOS+ TReg의 비율과 HCC 암의 예후 사이의 연관성 정도를 추정하는 데 사용하였다.

[0380] *결과 및 결론*

[0381] ICOS+ TReg 비율과 ICOS+ 세포 밀도 및 HCC 예후에 미치는 영향을 각각 카플란-마이어 곡선을 구축하여 조사하고, OS의 차이를 로그 순위 테스트로 비교하였다. ICOS+FOXP3+/총 FOXP3+ 세포의 비율이 높거나($p=0.074$) TME에서 ICOS+ 세포 밀도가 높은 환자는 더 짧은 OS와 연관이 있었다($p<0.05$).

[0382] 결과는 높은 ICOS 세포 밀도와 나쁜 예후(나쁜 생존) 사이의 유의한 상관관계를 입증하였으며, 이는 TME에서 ICOS+ 세포의 낮은 밀도로 나타나는 낮은 ICOS 발현이 HCC 환자의 더 나은 생존을 위한 예측 인자임을 시사한다. 본 발명자들은 TME에서 mm^2당 ICOS 양성 세포가 120개 이상인 환자의 경우, OS 중앙값이 다른 환자와 비교하여 절반 초과로 감소했음을 발견하였다. 밀도가 낮은(mm^2당 120개 세포 미만) 환자의 생존 기간 중앙값은 147.3개월인 반면, 밀도가 높은(mm^2당 120개 세포 이상) 환자의 생존 기간 중앙값은 68.9개월이었다. 도 4. 120개 세포의 컷오프는 반올림된 값이다. 다른 유사한 컷오프 수치, 예를 들어 mm^2당 123개 세포에서 통계적 유의성이 관찰되었다. ICOS+ 세포의 밀도와 HCC 암의 예후 사이의 연관성에 대한 95% 신뢰 구간(CI)의 위험비(HR, Mantel-Haenszel)는 CI 0.3346 내지 0.9963에서 0.5774로 계산되었다; $p< 0.05$.

[0383] 전체 생존 기간(OS)이 아닌 무재발 생존 기간(RFS)에 대한 수치로 분석을 수행한 경우, 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트는 최고 사분위수(mm^2당 120개 세포 이하) 대 하위 3개 사분위수(mm^2당 120개 세포 미만)에 따라 계층화된 환자 집단에 대하여 RFS%의 차이에 있어서 통계적 유의성을 나타내지 않았다.

[0384] TReg 집단에서 ICOS 양성 TRegs의 높은 비율은 또한 생존에 대한 더 나쁜 예후와 연관이 있었다. 본 발명자들은 TReg의 50% 이상이 ICOS 양성인 환자는 다른 환자와 비교하여 OS 중앙값이 절반으로 감소하였다. 비율이 낮은(<0.5) 환자의 생존 기간 중앙값은 147.3개월인 반면 비율이 높은(>=0.5)의 환자의 생존 기간 중앙값은 61.6개월이었다. 도 5. 연관성의 위험비는 신뢰 구간(CI) 0.3486 내지 0.9885에서 0.5870이었다; $p= 0.0451$.

[0385] 이 집단에서 컷오프 비율 0.5는 환자가 생존 시간과 관련하여 통계적으로 유의하게 구별될 수 있는 비율로 경험적으로 결정되었다. 중앙값 비율(0.33)을 사용하여 코호트를 분할하면 유사하게 환자를 생존 기간이 더 긴 환자와 더 짧은 환자로 나누었고, 비율이 더 높은 환자는 더 오래 생존했지만 통계적 유의성을 충족하지는 못하였다. 비율의 상위 사분위수 대 하위 사분위수를 가지는 환자로 코호트를 분할할 때에도 동일하게 적용되었으며, 즉 차이가 관찰되었지만 통계적 유의성을 충족하지 못하였다.

[0386] RFS(OS가 아닌)에 대한 효과를 평가하여 0.5의 컷오프 비율로 코호트를 분리한 경우, 본 발명자들은 데이터가 명확하게 분리되며 비율이 0.50 미만인 환자에서 % RFS가 더 높다는 것을 알았다. 이는 OS에서 관찰된 것과 동일한 경향을 반영하지만, RFS의 차이는 로그 순위(만텍-콕스) 테스트에 따라 통계적으로 유의하지 않았다.

[0387] 결론적으로, ICOS+ 세포의 밀도가 더 높고/거나 TME에서 총 TReg에 대한 ICOS+ TReg의 비율이 더 높은 환자는 생존율이 더 낮고, 항-TReg 치료제를 이용한 치료는 생존을 개선시키기 위해 ICOS+ TReg의 수 및 항-종양 반응에 영향을 미침으로써 이의 적어도 하나의 원인을 해결하여야 한다.

[0388] 실시예 3. ICOS는 HBV 양성 HCC에서 예후 바이오마커이다

[0389] B형 간염 바이러스(HBV)의 만성 감염은 HCC의 병인과 관련이 있다. 실시예 2로부터의 데이터의 추가 분석을 통해, 본 발명자들은 HBV 양성 종양의 TME에서 mm^2당 ICOS 양성 세포의 고밀도가 불량한 예후와 연관이 있음을 발견하였다. HBV 양성 HCC 종양에 초점을 맞추었을 때, 결과는 높은 ICOS 세포 밀도와 나쁜 예후 사이의 유의한

상관관계를 입증하였으며, 이는 TME에서 ICOS+ 세포의 낮은 밀도로 나타나는 낮은 ICOS 발현이 HBV 감염과 연관된 HCC 환자의 더 나은 생존을 위한 예측 인자임을 시사한다.

[0390] mm^2당 120개 세포의 컷오프 값이 HBV 불문 HCC(실시예 2)에 대한 환자 집단을 구별하는 데 사용된 반면, mm^2당 100개 세포의 더 낮은 컷오프 값이 HBV 양성 HCC에 대해 결정되었다. TME(상위 사분위수)에서 mm^2당 ICOS 양성 세포가 100개 이상인 환자는 OS 중앙값이 26.1개월인 반면, OS는 mm^2당 ICOS 세포가 100개 미만인 환자(하위 3개 사분위수)에 대해 정의되지 않았거나 도달하지 못하였다. 도 6. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트에 의한 통계적 유의성은 $p<0.05$이었다. OS가 아닌 RFS에 대한 동일한 분석은 통계적 유의성을 충족하지 못하였다.

[0391] 95% 신뢰 구간(CI)의 위험비(HR, Mantel-Haenszel)를 또한 ICOS 양성 세포의 밀도와 HCC 암(OS)의 예후 사이의 연관성 정도를 추정하는 데 사용하였다. HR은 0.4345이고 CI는 0.2131 내지 0.8861이며 p= 0.0219이었다.

[0392] 실시예 4. ICOS는 AJCC 2기 HCC에서 예후 바이오마커이다

[0393] 실시예 2로부터의 데이터의 추가 분석을 통해, 본 발명자들은 AJCC 2기 HCC 종양의 TME에서 mm^2당 ICOS 양성 세포의 고밀도가 불량한 예후와 연관이 있음을 발견하였다. 실시예 3과 유사하게, 본 발명자들은, AJCC2 HCC 종양에 초점을 맞추었을 때, 결과는 높은 ICOS 세포 밀도와 나쁜 예후 사이의 유의한 상관관계를 입증하였으며, 이는 TME에서 ICOS+ 세포의 낮은 밀도로 나타나는 낮은 ICOS 발현이 AJCC2 HCC 환자의 더 나은 생존을 위한 예측 인자임을 시사한다는 것을 발견하였다.

[0394] mm^2당 120개 세포의 컷오프 값이 HBV 불문 HCC(실시예 2)에 대한 환자 집단을 구별하는 데 사용된 반면, mm^2당 100개 세포의 더 낮은 컷오프 값이 AJCC 2기 HCC에 대해 결정되었다. TME(상위 사분위수)에서 mm^2당 ICOS 양성 세포가 100개 이상인 환자는 mm^2당 ICOS 세포가 100개 미만인 환자와 비교하여 더 낮은 OS 중앙값을 나타내었다. 도 7. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트에 의한 통계적 유의성은 $p<0.01$이었다.

[0395] TME(상위 사분위수)에서 mm^2당 ICOS 양성 세포가 100개 이상인 환자는 또한 mm^2당 ICOS 세포가 100개 미만인 환자와 비교하여 더 낮은 RFS%를 나타내었다. 도 8. 로그 순위(맨텔-콕스) 테스트에 의한 통계적 유의성은 $p<0.05$이었다.

[0396] 본 발명자들은 mm^2당 100개 세포인 더 낮은 컷오프 값이 또한 더 진행된 단계의 HCC, 예를 들어 3기 HCC에 대해서도 적절할 것이라고 여긴다. 이는 현재 코호트에서 3기 AJCC인 18명의 환자에 대한 샘플 및 생존 데이터의 분석에 의해 확인될 수 있다.

[0397] 실시예 5. 세포간 거리는 예후에 대한 바이오마커이다

[0398] 서로 상대적인 면역 세포의 분포는 환자의 항-종양 면역 상태뿐만 아니라 환자의 생존에도 영향을 미칠 수 있다. 이전 실시예와 동일한 HCC 환자 코호트로부터의 종양 샘플을 사용하여, 본 발명자들은 ICOS FOXP3 이중 양성 세포와 ICOS 단일 양성(ICOS 양성 FOXP3 음성) 세포 사이의 거리를 측정하였다. ICOS FOXP3 이중 양성 세포는 CD8+ 세포독성 T 세포 및 CD4+ T 헬퍼 세포에 대한 면역억제성이 높은 활성 TReg를 나타낸다. ICOS 단일 양성 세포는 활성화된 CD8+ 세포독성 T 세포 및 CD4+ T 헬퍼 세포와 같은 비-TReg 림프구로 간주된다. 따라서 이 연구에서 본 발명자들은 항-종양 면역 반응을 매개할 수 있는 이펙터 T 세포와, 해당 반응을 억제할 수 있는 활성 TReg 사이의 간격을 조사하였다. 여기에서 죽은 조직에서 세포간 거리가 연구되었지만, 조직을 샘플링하고 보존하는 데 사용되는 방법과, 사용되는 IHC 및 디지털 병리학 기법은 세포 간 거리가 샘플링 직전에 생체 내 종양의 거리를 대표하도록 조직의 완결성을 보존하는 것으로 여겨진다.

[0399] 본 발명자들은 ICOS 단일 양성 세포에서 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 평균 거리가 전체 생존 기간과 상관관계가 있음을 발견하였다. 더 짧은 세포 사이의 거리는 더 짧은 생존 기간과 연관이 있었다.

[0400] *세포:세포 근접성 측정*

[0401] ICOS 또는 FOXP3 단일 발현 세포와 ICOS/FOXP3 이중 발현 세포 사이의 세포 밀도 및 거리를 종양 코어, 경계면, 및 종양 주변 영역에서 다음과 같이 디지털 병리학으로 정량화하였다.

[0402] 정의된 영역 내에서 다수 발색 마커에 대해 양성인 세포의 정량화를 수행하였다. 다수 발색 마커가 공동 위치하는 세포의 정량화를 수행하였다.

[0403] 식별된 상이한 세포 집단의 공간적 관계를 조사하였다. Random Forest 접근법을 사용하여 분류 알고리즘을 개발하고 각각의 영역(경계면/코어/종양 주변) 내에서 생존 가능한 조직을 식별하기 위해 각각의 전체 슬라이드 이미지에 적용하였다. FOXP3 및 ICOS 단일 및 이중 ICOS/FOXP3 IHC 양성 염색 세포를 정량화하기 위해 별도의 맞춤형 멀티플렉스 IHC 알고리즘을 개발하였다. 구체적으로, 헤마톡실린 및 IHC 발색체 염색은 영역 내의 세포를 분할하고 정확한 세포 수를 확립하기 위해 차등적으로 가중치를 부여하였다. FOXP3 단독(청록색 핵 발색체), ICOS 단독(3,3'-디아미노벤지딘(DAB) 갈색 발색체) 및 이중 FOXP3/ICOS에 대해 양성인 세포를 결정하기 위해 각각의 발색체에 대한 역치 값을 조정하였다. 각각의 전체 슬라이드 이미지에 대해 영역당 조직의 mm^2당 양성인 세포의 수를 얻기 위해 각각의 영역에 대한 생존 가능한 조직 영역에 걸쳐 FOXP3 및 ICOS 단일 및 이중 세포 수를 정규화하였다.

[0404] 세포-기반 분석 데이터는 종양 코어 내에서 검출된 세포 표현형의 공간적 위치를 플롯팅하기 위해 추가로 이용되었다. 이 플롯은 후속적으로 Halo 플랫폼 내에 내장된 공간 분석 모듈을 사용하여 ICOS 단일 및 이중 FOXP3/ICOS 세포에 대한 근접성 및 상대 공간 분포 데이터를 생성하는 데 사용되었다. 암 유형당 절편의 각각의 세트에 대해, 전체 슬라이드 이미지당 종양 코어 내의 가장 가까운 이중 FOXP3/ICOS 양성 세포에 대한 모든 ICOS 단일 양성 세포에 대한 평균 거리 데이터를 초기에 생성하였다. 이어서 전체 슬라이드 이미지당 종양 코어 내의 모든 ICOS 단일 양성 세포의 30 μm 내의 이중 FOXP3/ICOS 양성 세포의 수를 측정하였다. 그 다음 ICOS 단일 양성 세포의 30 μm 이내의 이중 FOXP3/ICOS 양성 세포에 대해 근접성 분석을 수행하여 가장 가까운 ICOS 단일 양성 세포로부터 이들 세포의 평균 거리를 생성하였다.

[0405] *데이터 분석*

[0406] 데이터 분석은 일반적으로 실시예 2에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0407] *결과 및 결론*

[0408] 본 발명자들은 대만 NTU 코호트로부터의 142개 HCC 샘플 각각에서 ICOS 단일 양성 세포에서 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 평균 거리를 계산하였다. 이 코호트의 평균 거리 중앙값은 105 μm이었다. 코호트를 계층화하기 위해 이 중앙값을 컷오프 값으로 사용하여, 본 발명자들은 평균 거리가 105 μm 미만인 환자는 평균 거리가 105 μm 이상인 환자보다 전체 생존 기간이 유의하게 더 낮았음을 발견하였다. 도 9. 이 계층화는 RFS와는 통계적으로 유의한 연관성을 나타내지 않았다. 95% 신뢰 구간(CI)의 위험비(HR, Mantel-Haenszel)를 ICOS+ 단일 양성 세포에서 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 거리와 HCC 암의 전체 생존 기간 사이의 연관성 정도를 추정하는 데 사용하였다. 본 발명자들은 HR이 1.692(긴 거리 대 짧은 거리)이고 CI가 1.063 내지 2.694이며; p=0.0266인 것으로 계산하였다.

[0409] 따라서, ICOS+FOXP3+ 세포와 ICOS+FOXP3- 세포 사이의 거리가 짧을수록 OS가 더 짧은 것과 유의하게 연관이 있었으며($p<0.05$), 이는 HCC의 TME에서 ICOS+ TReg가 ICOS+ TEff를 능동적으로 면역억제하고 있음을 시사한다.

[0410] <u>실시예 6. TEff 반경에서 면역억제성 TReg의 구역 영향</u>

[0411] 이전 실시예에 이어, 본 발명자들은 ICOS+ FOXP3+ 및 ICOS+ 단일 양성 세포의 공간 분포를 추가로 연구하여 ICOS+ 단일 양성 세포(잠재적으로 이펙터 세포)다음으로 고도의 면역억제성 ICOS+FOXP3+ 이중 양성 TRegs의 고밀도를 가지는 잠재적 의미를 확인하였다. TME에 초점을 맞추어, 본 발명자들은 ICOS 단일 양성 세포의 30 μm 내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수를 확인하고 계수하였다.

[0412] 각각의 ICOS 단일 양성 세포 주위에 30μm의 반경을 취하여 영역을 정의하고, 본 발명자들은 TME에서 하나 이상의 이러한 영역에 속하는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 총 수를 측정한 다음, TME 영역에서 이 세포 수를 ICOS 단일 양성 세포의 총 수로 나누어서, 본 발명자들이 구역 영향 비율이라고 칭하는 비율을 제공하였다.

[0413] 본 발명자들은 전체 생존 기간과 구역 영향 비율 사이에 통계적으로 유의한 연관성을 확인하였다. 구역 영향 비율이 0.1 미만인 환자 샘플에서 환자 OS(RFS 제외)는 평균 0.1 이상인 샘플보다 훨씬 더 컸다. 도 10 및 표 E6-1.

[0414] [표 E6-1]

생존 기간 중앙값		
하위 3개 사분위수	미정	
상위 사분위수	79.00	
위험비(Mantel-Haenszel)	A/B	B/A
비율(및 이의 역수)	0.6099	1.640
비율의 95 % CI	0.3819 내지 0.9741	1.027 내지 2.618

[0415]

[0416] 실시예 7. 면역요법의 가치

[0417] 상기 실시예는 다음 특성이 모두 불량한 OS와 연관이 있음을 나타낸다:

[0418] - 종양 코어(TME)에서 더 큰 ICOS 발현(ICOS+ 세포의 더 높은 밀도)

[0419] - $ICOS^{+}FOXP3^{+}$/총 $FOXP3^{+}$ 세포의 더 큰 비율

[0420] - $ICOS^{+}$ TReg와 다른 ICOS+ 세포 간의 더 큰 근접성(더 짧은 거리)

[0421] - ICOS 단일 양성 세포의 30 μm 내에 있는 더 많은 수의 ICOS+FOXP3+ TReg.

[0422] 본 발명자들은 면역억제성 TME가 HCC에서 임상적으로 중요하다는 결론을 내린다. TReg는 CD4+ 및 CD8+ TEff의 기능과 증식을 억제할 수 있다. 이는 TME에서 TReg의 증가와 CD8+ T 세포의 감소가 HCC를 포함한 고형 종양 환자의 불량한 예후와 연관이 있다는 이전 연구와 일치한다[2].

[0423] 예를 들어 KY1044와 같은 항체를 이용하여 이러한 종양에서 $ICOS^{high}$ 양성 TReg를 고갈/감소시키는 것은 면역억제를 감소시킴으로써 면역 구조를 개선시키고 HCC 및 이러한 특징을 특징으로 하는 다른 종양 환자에서 임상적 이익을 제공하여야 한다.

[0424] KY1044는 암 환자에서 ICOS+FOXP3+ TReg를 고갈시키는 것으로 나타났다. KY1044 단일요법으로 임상 시험에 참여한 여러 환자 코호트에서 KY1044는 ICOS+FOXP3+ TReg 대 모든 FOXP3+ TReg의 비율을 기준선(선별)에서 두 번째 투약 주기 후 제8일(C2D8)까지 감소시켰으며, 이 때 투약은 3주 간격이었다. 도 11.

[0425] 실시예 8. 환자 종양 샘플로부터 바이오마커 계산

[0426] 본 발명자들은 실시예 1 내지 6에 기재된 환자 코호트 유래의 종양 샘플로부터의 바이오마커 판독값의 결정을 설명한다.

[0427] 종양 샘플로부터 조직 슬라이드를 준비하고, ICOS 및 FOXP3에 대해 염색하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 디지털 분석하였다. 도 12 내지 14.

[0428] 종양 코어 영역(AREA_TME)을 정의하고 정량화하였다.

[0429] 종양 코어 내의 세포에 대해 다음 데이터가 기록되었다:

[0430] - ICOS 단일 양성 세포의 수(SPICOS_NB_TME);

[0431] - FOXP3 양성 세포의 수(TOTFOXP_NB_TME);

[0432] - ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수(DP_NB_TME);

[0433] - 각각의 ICOS 단일 양성 세포에서 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성 세포까지의 평균 거리(DIST_SPICOS_TME), ICOS+ FOXP3+ 세포와 ICOS+ FOXP3- 세포 사이의 세포간 근접성을 나타냄; 이 평균의 계산은 거리 측정 및 세포 수 데이터로부터 Halo® 소프트웨어에 의해 자동으로 수행되었음; 및

[0434] - 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 30 μm 내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수(DP_NB_30UMSPICOSROI_TME).

[0435] ICOS 단일 양성 세포의 수와 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수를 합하면 ICOS 양성 세포의 총 수(TOTICOS_NB_TME)가 된다.

[0436] ICOS 양성 세포의 총 수를 종양 코어의 면적으로 나누면 ICOS 양성 세포의 밀도(TOTICOS_DEN_TME)가 된다.

[0437] ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수를 FOXP3 양성 세포의 총 수로 나누면 ICOS 양성인 FOXP3 양성 세포의 비율("ICOS+ TReg 비율")(RATIO_DP_TO_TOTFOXP_TME)이 된다.

[0438] 임의의 ICOS 단일 양성 세포의 30 μm 내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수를 TME의 ICOS 단일 양성 세포의 총 수로 나누면 구역 영향 비율(RATIO_DP_30UMSPICOSROI_TO_SPICOS_TME)이 된다.

[0439] [표 E8-1]

[0440] HCC 1기 HBV+ 종양으로부터 얻은 조직 샘플의 데이터. 전체 환자 코호트로부터 계산된 바이오마커 참조 값은 맨 오른쪽 열에 나타나 있다.

[0441]

	샘플	컷오프 값
AREA_TME	168.49	
TOTICOS_NB_TME	43347	
TOTICOS_DEN_TME	257	100
SPICOS_NB_TME	29254	
TOTFOXP_NB_TME	21825	
DP_NB_TME	14093	
RATIO_DP_TO_TOTFOXP_TME	0.646154	0.5
DIST_SPICOS_DP_TME	51.7492	105
DP_NB_30UMSPICOSROI_TME	6863	
RATIO_DP_30UMSPICOSROI_TO_SPICOS_TME	0.234600397	0.1

[0442] ICOS+ 세포 밀도, 세포간 근접성, ICOS+ TReg 비율, 및 구역 영향 비율 각각은 본 발명에서 환자의 예후 및 치료에 대한 바이오마커이다. 환자에 대한 바이오마커 판독값을 코호트에 대한 참조 값과 비교할 수 있다. ICOS 양성 세포의 밀도가 100 mm^2보다 크고, 총 FOXP3+ 세포에 대한 ICOS+ FOXP3+ 세포의 비율이 0.5를 초과하며, ICOS+ FOXP3- 세포에서 이의 가장 가까운 ICOS+ FOXP3+까지의 평균 거리가 105 μm 미만이고, 구역 영향 비율이 0.1을 초과하기 때문에, 샘플의 예시적인 바이오마커 데이터는 불량한 예후를 나타낼 것이다. 이 데이터를 나타내는 HCC 종양을 가진 환자는 다른 HCC 환자와 비교하여 상대적으로 짧은 생존 기간을 가질 것으로 예상된다. 바이오마커 데이터는 환자가 환자의 생존을 연장할 수 있는 항-ICOS 및/또는 항-TReg 면역치료제를 이용한 치료로부터 이익을 얻을 것임을 나타낸다.

[0443] 실시예 9. ICOS+ TReg 비율 계산

[0444] 실시예 1 내지 6에 기재된 환자 코호트 유래의 또 다른 종양 샘플로부터 조직 슬라이드를 제조하였다. 조직 절편을 ICOS 및 FOXP3에 대해 염색하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 디지털 분석하였다. 도 15.

[0445] ICOS+ TReg 비율에 대한 판독값의 분석 결과는 다음과 같다:

[0446] TME에서 ICOS FOXP3 이중 양성 세포의 수 = 11,066

[0447] TME에서 FOXP3 단일 양성 세포의 수 = 10,842

[0448] TME에서 총 FOXP3 세포 = 21,908

[0449] 비율 = 11,066 / 21,908 = 0.51

[0450] **참조문헌**

1 Wei, Duffy & Allison, Cancer Discov. 2018
2 Gao Q, et al. J Clin Oncol 25:2586-93 2007
3 Tu JF, et al. Sci Rep 6:35056 2016
4 Strauss L, et al J Immunol 180:2967-2980 2008
5 Kornete M, Sgouroudis E, Piccirillo CA. J Immunol 188:1064-1074 2012
6 32nd Annual Meeting and Pre-Conference Programs of the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC 2017): Part Two. Poster P288 Journal for ImmunoTherapy of Cancer 5:87 2017
7 Sainson et al., BioRxiv Sep 2019 doi:10.1101/771493
8 Mo et al Vaccine 35:5932-5938 2017
9 Hansen A, et al. Annals of Oncology 29 2018
10 El-Khoueiry AB, et al. Lancet 389:2492-2502 2017
11 Zhu AX, et al. Lancet Oncol 19:940-952 2018
12 Yau T, et al. Annals of Oncology 30 2019
13 Finn RS, et al. J Clin Oncol 1901307 2019
14 Calderaro, J. et al. Programmed death ligand 1 expression in hepatocellular carcinoma: Relationship With clinical and pathological features. Hepatology 64, 2038–2046 2016
15 Yau T, et al. J Clin Oncol 37:4012-4012 2019
16 Cheng A-L, et al. Annals of Oncology 30 2019
17 Sicklick et al., Nat Med, Apr 2019 doi:10.1038/s41591-019-0407-5
18 Ali et al., PLoS Med. 13:e1002194 2016
19 Newman et al., Nat Methods 12:453–457 2015
20 Aran, Hu & Butte, Genome Biol 18:220 2017
21 Binneweis et al., Nat Med 24:541-550 2018
22 Cristescu et al., Science 362 2018
23 Jiang et al. Nat Med. 2018
24 Romano et al., PNAS 112(19):6140-6145 2015
25 Yap TA, et al J Clin Oncol 36:3000 2018

[0451]

26 Feng et al., JCI Insight 2(14):e93652 2017
27 Kagamu et al., Cancer Immunology Research 8:334-344 2020 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0574
28 AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition 2018
29 Malik, N. & Daymon, M. Improved double immunoenzyme labelling using alkaline phosphatase and horseradish peroxidase. J. Clin. Pathol. 35, 1092–1094 1982
30 Lan, H. Y., Mu, W., Nikolic-Paterson, D. J. & Atkins, R. C. A novel, simple, reliable, and sensitive method for multiple immunoenzyme staining: use of microwave oven heating to block antibody crossreactivity and retrieve antigens.: J. Histochem. Cytochem. 2017 doi:10.1177/43.1.7822770.
31 Ferri, G.-L., Gaudio, R. M., Castello, I. F., Berger, P. & Giro, G. Quadruple Immunofluorescence: A Direct Visualization Method: J. Histochem. Cytochem. 2016 doi:10.1177/002215549704500201
32 Boorsma, D. M. Direct immunoenzyme double staining applicable for monoclonal antibodies. Histochemistry 80, 103–106 1984
33 Zhang, W. et al. Fully automated 5-plex fluorescent immunohistochemistry with tyramide signal amplification and same species antibodies. Lab. Invest. 97, 873–885 2017
34 Shi, S. R., Key, M. E. & Kalra, K. L. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc. 39, 741–748 1991
35 Shi, S.-R., Shi, Y. & Taylor, C. R. Antigen Retrieval Immunohistochemistry. J. Histochem. Cytochem. 59, 13–32 2011
36 Hennig, C., Adams, N. & Hansen, G. A versatile platform for comprehensive chip-based explorative cytometry. Cytometry A 75A, 362–370 2009
37 Giesen, C. et al. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. Nat. Methods 11, 417–422 2014
38 Angelo, M. et al. Multiplexed ion beam imaging (MIBI) of human breast tumors. Nat. Med. 20, 436–442 2014
39 Bandura, D. R. et al. Mass Cytometry: Technique for Real Time Single Cell Multitarget Immunoassay Based on Inductively Coupled Plasma Time-of-Flight Mass Spectrometry. Anal. Chem. 81, 6813–6822 2009
40 Mavropoulos, A. et al. Equivalence of Imaging Mass Cytometry and Immunofluorescence on FFPE Tissue Sections, 2017
41 Wagner, J. et al. A Single-Cell Atlas of the Tumor and Immune Ecosystem of Human Breast Cancer. Cell 177, 1330–1345.e18 2019

[0452]

42 Zhang, T. et al. Immunocyte Profiling Using Single-Cell Mass Cytometry Reveals EpCAM+ CD4+ T Cells Abnormal in Colon Cancer. Front. Immunol. 10 2019
43 Ijsselsteijn, M. E., van der Breggen, R., Farina Sarasqueta, A., Koning, F. & de Miranda, N. F. C. C. A 40-Marker Panel for High Dimensional Characterization of Cancer Immune Microenvironments by Imaging Mass Cytometry. Front. Immunol. 10 2019
44 Han, G., Spitzer, M. H., Bendall, S. C., Fantl, W. J. & Nolan, G. P. Metal-isotope-tagged monoclonal antibodies for high-dimensional mass cytometry. Nat. Protoc. 13, 2121–2148 2018
45 International Classification of Diseases for Oncology, Third Edition (ICD-O-3) WHO 2000
46 Lee et al., Science Immunology 5 eaba0759 2020
47 Forner A, Reig M, Bruix J, Lancet 391:1301-1314 2018
48 Llovet JM et al. N Engl J Med 359:378-90 2008
49 Cheng AL, et al. Lancet Oncol 10:25-34 2009
50 Bruix J, et al. Lancet 389:56-66 2017
51 Kudo M, et al. Lancet 391:1163-1173 2018
52 Abou-Alfa GK, et al. N Engl J Med 379:54-63 2018
53 Zhu AX, et al. Lancet Oncol 20:282-296 2019
54 Dao, Tao et al. Oncoimmunology 8(7) 1570778 2019 doi:10.1080/2162402X.2019.1570778
55 Kabat, E. A.*et al.*, 1991, “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, U.S. Department of Health and Human Services
56 Chothia, C. & Lesk, A. M., 1987, “Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins”, J. Mol. Biol., 196, 901-917
57 Lefranc, M. P., “Unique database numbering system for immunogenetic analysis”, Immunol. Today, 18, 50 1997
58 Lefranc M. P., IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains, Dev Comp Immunol. 27(1):55-77 2003
59 Creighton, Proteins, W. H. Freeman and Company (1984)
60 Dordo et al, J. Mol Biol, 1999, 217, 721-739
61 Taylor et al, J. Theor. Biol. 119(1986);205-218
62 S. French and B. Robson, J. Mol. Evol. 19(1983)171
63 Strohl, BioDrugs (2015) 29:215–239
64 Gül et al., “Antibody-Dependent Phagocytosis of Tumor Cells by Macrophages: A Potent Effector Mechanism of Monoclonal Antibody Therapy of Cancer”, Cancer Res., 75(23), December 1, 2015
65 Lazar et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Mar 14; 103(11):4005-10
[0453] 66 Dall *et al.*, Immunol 2002; 169:5171-5180

67 Natsume et al., 2009, Drug Des. Devel. Ther., 3:7–16 or by Zhou Q., Biotechnol. Bioeng., 2008, Feb 15, 99(3):652-65)
68 Shields et al., 2001, J. Biol. Chem., Mar 2; 276(9):6591-604)
69 Idusogie et al., J. Immunol., 2001, 166:2571–2575
70 Natsume et al., 2008, Cancer Res., 68: 3863–3872
71 Bruix J, et al. Lancet 389:56-66 2017
72 Kudo M, et al. Lancet 391:1163-1173 2018
73 Abou-Alfa GK, et al. N Engl J Med 379:54-63 2018
74 Zhu AX, et al. Lancet Oncol 20:282-296 2019
75 Kroemer et al. Immunologic Cell Death in Cancer Therapy, Ann Rev Immunol. 31:51-72 2013
76 Galluzzi, Zitvogel & Kroemer Canc. Imm. Res. 4:895-902 2016
77 NCSS Statistical Software, Chapter 546, One ROC Curve and Cutoff Analysis. Documentation for NCSS 2020 Stastistical Software.
78 Ito T, et al. Immunity 28(6):870-880 2008

[0454]

[0455] [표 B]

[0456] 바이오마커 요약

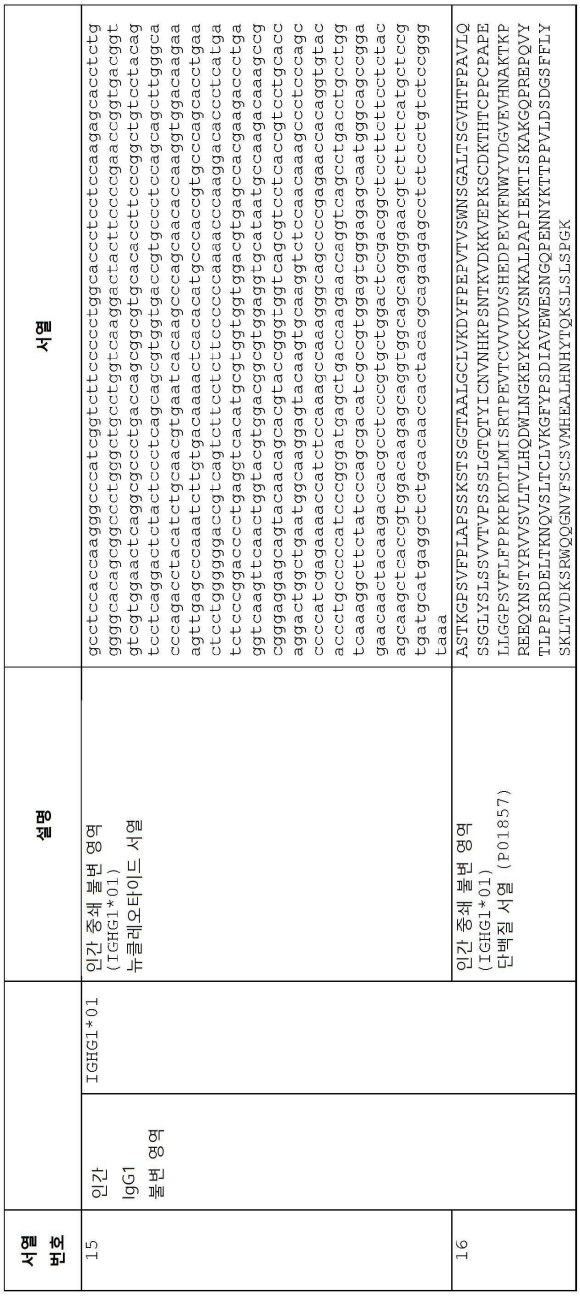
다음 바이오마커 중 하나 이상이 조직 절편의 종양 코어 영역의 TME 내에서 평가된다.

바이오마커	상세 내용	바람직한 방법의 언급	단위	측정 예(예를 들어, HCC에서)
ICOS+ 밀도	ICOS 단백질을 발현하는 세포, 즉 ICOS 양성(ICOS+) 세포의 밀도 또는 농도	ICOS 단일 양성 및 ICOS FOXP3 이중 양성을 포함한, 모든 ICOS+ 세포의 계수	영역 또는 면적당 세포, 예를 들어 mm^2당 세포의 수	mm^2당 120개 세포 초과
ICOS+ TReg 비율	ICOS 양성인 TReg의 비율을 나타내는, ICOS+인 FOXP3+ 세포의 비율	TME에서 면역억제 수준을 나타내는, TReg 활성의 측정	분수 또는 %	> 0.5
세포간 근접성	다른 ICOS 양성 세포(ICOS+ TEff를 포함함)에 대한 ICOS 양성 TReg의 근접성을 나타내는, 각각의 ICOS 단일 양성 세포 (ICOS+ FOXP3- 세포) 및 이의 가장 가까운 ICOS FOXP3 이중 양성(ICOS+ FOXP3+) 세포 사이의 평균 거리인, ICOS+ FOXP3-: ICOS+ FOXP3+ 세포간 근접성	핵 중심에서 핵 중심까지 측정	거리, 예를 들어 μm	< 105 μm
구역 영향 비율	ICOS 단일 양성 세포의 총 수에 대한 하나 이상의 ICOS 단일 양성 세포의 정의된 근접성("영향 반경") 내에 있는 ICOS FOXP3 이중 양성 세포 수의 비율. 영향 반경은 세포-세포 및/또는 사이토카인-의존성 소통이 ICOS FOXP3 이중 양성 세포와 ICOS 단일 양성 세포 사이에서 일어날 수 있는 거리(예를 들어, 30 μm)를 나타내며, 따라서 이중 양성 세포의 이러한 하위 집합은 하나 이상의 Teff를 억제할 수 있도로 배치된 Treg를 나타냄	직경에 의해 정의된 영역 내에 있는 모든 ICOS+ FOXP3+ 세포를 계수하여, ICOS 단일 양성 세포의 핵 중심으로부터 측정한 반경	분수 또는 %	> 0.1

[0457]

[0458] [표 C]

[0459] **항원 불변 영역 서열**



서열 번호			설명	서열
15	인간 IgG1 불변 영역	IGHG1*01	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*01) 뉴클레오타이드 서열	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctg gggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaa agttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaa ctcctgggggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatga tctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctga ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccg cgggaggagcagtacaacagcacgtaccgggtggtcagcgtcctcaccgtcctgcacc aggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagc cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg tcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgga gaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctttctctac agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccg tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggg taaa
16			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*01) 단백질 서열 (P01857)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0460]

[0461]

17	인간 IgG1 불변 영역	IGHG1*02 또는 IGHG1*05	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*02 또는 IGHG1*05) 뉴클레오타이드 서열	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctg ggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacaaggtggacaagaa agttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaa ctcctgggggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatga tctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctga ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccg cgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcacc aggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagc ccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg tcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgga gaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctac agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggaacgtcttctcatgctccg tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggg taaa
	18		인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*02) 단백질 서열	A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

[0462]

19	인간 IgG1 불변 영역	IGHG1*03	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*03) 뉴클레오타이드 서열 (Y14737)	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctg ggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagag agttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaa ctcctgggggaccgtcagtcttcttcccccaaaacccaaggacaccctcatga tctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctga ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccg cgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcacc aggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagc ccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg tcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgga gaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctat agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccg tgatgcatgaggctctgcacaacactacacgcagaagagcctctccctgtccccggg taaa	A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*03) 단백질 서열
	20			

[0463]

21	인간 IgG1 불변 영역	IGHG1*04	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*04) 뉴클레오타이드 서열	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctg ggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaa agttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaa ctcctgggggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatga tctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagaccctga ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccg cggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcacc aggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagc cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg tcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgga gaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctac agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacatcttctcatgctccg tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggg taaa
			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG1*04) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	22			

[0464]

23	불활성 인간 IgG1 중쇄 불변 영역	불활성 인간 IGHG1*01	불활성 인간 IGHG1*01 중쇄 불변 영역 아미노산 서열 야생형 서열과 상이한 2개의 잔기가 **굵은 글꼴**로 식별되어 있음	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctg gggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaagtggacaagaa agtggagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaa ctcgcgggggcaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatga tctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtggacgtgagccacgaagaccctga ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccg cggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcacc aggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagc ccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg tcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgga gaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctac agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccg tgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggg taaa	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LA**G**APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
24				

[0465]

25	인간 IgG2 불변 영역	IGHG2*01 또는 IGHG2*04 또는 IGHG2*05	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*01 또는 IGHG2*03 또는 IGHG2*05) 뉴클레오타이드 서열	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg agagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtgaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggca ccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacacaaggtggacaagac agttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcagga cgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacgtgcgtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaa ctggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcag ttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctga acggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaa aaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccca tcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttct acccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcacc gtggacaagagcaggtggcaggaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgagg ctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*01) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	26			

[0466]

27	인간 IgG2 불변 영역	IGHG2*02	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*02) 뉴클레오타이드 서열	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT GTCGTGGAACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCA CCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAC AGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGA CCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC CTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAG TTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCGTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAA AACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*02) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQ FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	28			

[0467]

29	인간 IgG2 불변 영역	IGHG2*04	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*04) 뉴클레오타이드 서열	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccagagagcacctccg agagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctcacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagac agttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcagga ccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaa ctggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcag ttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctga acggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaa aaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccca tcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttct acccccgcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcacc gtggacaagagcaggtggcaggcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgagg ctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctctcgggtaaa
30			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*04) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0468]

31	인간 IgG2 불변 영역	IGHG2*06	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*06) 뉴클레오타이드 서열	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT GTCGTGGAACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCA CCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAC AGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGA CCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC CTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAG TTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCGTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAA AACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ACCCCAGCGACATCTCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
	32		인간 중쇄 불변 영역 (IGHG2*06) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0469]

33	인간 IgG4 불변 영역	IGHG4*01 또는 IGHG4*04	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4*01 또는 IGHG4*04) 뉴클레오타이드 서열	gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg agagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagag agttgagtccaaatatggtccccccatgcccatcatgcccagcacctagttcctgggg ggaccatcagtcttcctgttccccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccgga ccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagacccgaggtccagttt caactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggag cagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctccatcga gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaccacaggtgtacaccctgcccc ccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggct tctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta caagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaggcta accgtggacaagagcaggtggcaggagggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatg aggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa
	34		인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4*01) 단백질 서열 (P01861)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0470]

35	인간 IgG4 불변 영역	IGHG4*02	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4*02) 뉴클레오타이드 서열	gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg agagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagag agttgagtccaaatatggtcccccgtgcccatcatgcccagcacctagttcctgggg ggaccatcagtcttcctgttccccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccgga ccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggttccagtt caactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggag cagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctccatcga gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaccacaggtgtacaccctgcccc ccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggct tctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta caagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaggcta accgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatg aggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctctgggtaaa
			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4*02) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0471]

37	인간 IgG4 불변 영역	IGHG4*03	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4*03) 뉴클레오타이드 서열	gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccagagcacctccg agagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttggcca cgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagag agttgagtccaaatatggtcccccatgcccatcatgcccagcacctgagttcctgggg ggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccgga cccctgaggtcacgtgcgtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttt caactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggag cagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctccatcga gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaccacaggtgtacaccctgccc ccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggct tctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta caagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctc accgtggacaagagcaggtggcaggaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatg aggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctctgggtaaa
	38		인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4*03) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSLEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0472]

39	인간 IgG4-PE 불변 영역	IGHG4-PE	인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4-PE) 뉴클레오타이드 서열 형태 A	gcctccaccaagggcccatcgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg agagcacggcgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccagtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacacaaggtggacaagag agttgagtccaaatatggtcccccatgcccaccatgcccagcacctgaatttgaggga ggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccgga ccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagtt caactggtacgtggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcag cagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccgtcatcgatcga gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaccacaggtgtacaccctgccc ccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggct tctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta caagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaggcta acagtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcata aggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
40			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4-PE) 뉴클레오타이드 서열 형태 B	gcctccaccaagggcacctagcgtgttccctctgccccctgttccaagtccacaagcg agtccaccgctgccctcggctgtctggtgaaagactactttccgagccccgtgaccgt ctcctggaatagcggagccctgacctccggcgtgcacacatttcccgccgtgctgcag agcagcggactgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccctccagcctcggca ccaaaacctacacctgcaacgtggaccacaagcctccaacacaaggtggacaagcg ggtggagagcaagtacggcccccctgcccctgcctccagttcctgttcctgaaggga ggaccctccgtgttcctgttccccccaaacccaaggacaccctgatgatctcccgga cacccgaggtgacctgtgtggtcgtggacgtcagccaggaggaccccgaggtcagtt caactggtatgtggacggcgtggaggtgcacaatgccaagacaaagccccaggaggag cagttcaattccacctacagggtgtgtgagcgtgctgacgtcctgcatcaggattggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagctccatcga gaagaccatcagcaaggctaagggccagccgaggagccccagtgtataccctgccct cctagccaggaagagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtgaagggat tctaccctccgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta caaaacaccctcccgtgctcgatagcgacggcagcttctttctctacagccggctg acagtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcacg aggccctgcacaatcactacacccagaagagcctctccctgtctgggcaag

[0473]

41			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4-PE) 뉴클레오타이드 서열 형태 C	gccagcaccaagggcccttccgtgttccccctggccccctgcagcaggagcacctccg aatccacagtgccctgggctgtctggtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgt gagctggaacagcggcgtctgacatccggcgtccacacctttcctgccgtcctgcag tcctccggcctctactccctgtcctccgtggtgaccgtgcctagctcctcctcctggca ccaagacctacacctgtaacgtggaccacaaacccaagcaaaccgtggacaaaacg ggtcgagagcaagtacggcccctcccctgcctcctttgtcctgccccgagttcgaaggc ggaccagcgtgttcctgttccctcctaagccaaggacacctcatgatcagccgga caccgaggtgacctgcgtggtggatgtgagccaggaggaccctgaggtccagtt caactggtatgtggcgtggaggtgcacaacgccaagacaaagcccgggaagag cagttcaactccacctacagggtggtcagcgtgctgaccgtgctgcatcaggactggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtcagcaataagggactgcccagcagcatcga gaagaccatctccaaggctaaagggccagccccgggaacctcaggtgtacaccctgcct cccagccaggaggagatgaccaagaaccaggtgagccctgacctgcctggtgaagggat tctaccctccgacatcgccgtggagtgggagtccaacgggccagccggagaacaatta taagaccacccctccctgctcgacagcgacggatccttcttctgtactccaggctg accgtggataagtccaggtggcaggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacg aggcctgcacaatcactacacccagaagtccctgagcctgtccctgggaaag
			인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4-PE) 단백질 서열	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
42				

43	불활성화 인간 IgG4 불변 영역	불활성화 IGHG4	불활성화 인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4) 뉴클레오타이드 서열	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg agagcacggccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccagtgacggt gtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacag tcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttggcca cgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagag agttgagtccaaatatggtcccccatgcccaccatgcccagcgcctccagttgcgggg ggaccatcagtcttctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatcccgga ccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagtt caactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggag cagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc tgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcatgagtga gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaccacaggtgtacaccctgccc ccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggct tctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta caagaccacgcctcccgtgctggactccgacggatccttcttcctctacagcaggcta accgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatg aggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa
44		불활성화 IGHG4	불활성화 인간 중쇄 불변 영역 (IGHG4) 단백질 서열 (굵은 글꼴로 나타낸 인간 IgG4로부터의 불활성화 돌연변이	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPPVAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
45	인간 Cκ 불변 영역	IGKC*01	인간 Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*01) 뉴클레오타이드 서열	cgtacggtggccgctccctcgtgttcatcttcccaccttccgacgagcagctgaagt ccggcaccgcttctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaggt gcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggcaactcccaggaatccgtgaccgag caggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccg actacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgacccacagggcctgtctagccc cgtgaccaagtctttcaaccggggcgagtgt
46			Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*01) 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
47	인간 Cκ 불변 영역	IGKC*02	Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*02) 뉴클레오타이드 서열	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaat ctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaggccaaagt acagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggagagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcag actacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcc cgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

[0474]

[0475]

48			Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*02) 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
49	인간 Cκ 불변 영역	IGKC*03	Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*03) 뉴클레오타이드 서열	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaat ctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagt acagcggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggagagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcag actacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcc cgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt
50			Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*03) 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQRKVDNALQSGNSQESVTE QESKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
51	인간 Cκ 불변 영역	IGKC*04	Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*04) 뉴클레오타이드 서열	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaat ctggaactgcctctgttgtgcctgctgaataacttctatcccagaggccaaagt acagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcag actacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcc cgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgc
52			Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*04) 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
53	인간 Cκ 불변 영역	IGKC*05	Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*05) 뉴클레오타이드 서열	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaat ctggaactgcctctgttgtgcctgctgaataacttctatcccagaggagggccaaagt acagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagcaacaccctgacgctgagcaaagcag actacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcc cgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgc
54			Cκ 경쇄 불변 영역 (IGKC*05) 아미노산 서열	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSNTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	인간 Cλ 불변 영역	IGLC1*01	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*01) 뉴클레오타이드 서열 (ENST00000390321.2)	cccaaggccaaccccacggtcactctgttcccgccctcctctgaggagctccaagcca acaaggccacactagtgtgtctgatcagtgacttctacccggaggctgtgacagtggc ttggaaggcagatggcagccccgtcaaggcgggagtggagacagaccaaacctccaaa cagagcaacaacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcccgagcagtgga agtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccgtggagaagac agtggccctacagaatgttca
56			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*01) 아미노산 서열 (A0A075B6K8)	PKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

57	인간 Cκ 불변 영역	IGLC1*02	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*02) 뉴클레오타이드 서열 형태 A	ggtcagcccaaggccaacccactgtcactctgttcccgccctcctctgaggagctcc aagccaacaaggccacactagtgtctgatcagtgacttctacccgggagctgtgac agtggcctggaaggcagatggcagccccgtcaaggcggagtggagaccaccaaacc tccaaacagagcaacaacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcccgagc agtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggcccctacagaatgttca
58			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*02) 뉴클레오타이드 서열 형태 B	ggtcagcccaaggccaacccactgtcactctgttcccgccctcctctgaggagctcc aagccaacaaggccacactagtgtctgatcagtgacttctacccgggagctgtgac agtggcctggaaggcagatggcagccccgtcaaggcggagtggagaccaccaaaccc tccaaacagagcaacaacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcccgagc agtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggcccctacagaatgttca
59			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*02) 아미노산 서열	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
60	인간 Cκ 불변 영역	IGLC2*01	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC2*01) 뉴클레오타이드 서열 형태 A	ggccagcctaaggccgctccttctgtgaccctgttcccccatcctccgaggaactgc aggctacaaggccacctctgtgtgcctgatcagcgacttctaccctggcgccgtgac cgtggcctggaaggctgatagctcctctgtgaaggccggcgtgaaaccaccaccct tccaagcagtccaacaacaaatacgccgcctcctacctgtccctgacccctgagc agtggaagtcccaccgttcctacagctgccaagtgacccacgagggctccacgtgga aaagaccgtggctcctaccgagtgctcc
61			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC2*01) 뉴클레오타이드 서열 형태 B	ggccagcctaaggctgccccagcgtcaccctgtttcctccctccagcgaggagctcc aggccaacaaggccacccttgtgtgcctgatctacgacttctataccctggcgctgtgac cgtggcttggaaagccgactccagccctgtcaaagccggcgtggagaccaccacacc tccaagcagtccaacaacaagtacgccgcctccagctatctcctccctgacccctgagc agtggaagtcccaccggtcctactcctgtcaggtgaccacgagggctccacgtgga aaagaccgtcgcccccaccgagtgctcc
62			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*02) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
63	인간 Cκ 불변 영역	IGLC2*02 또는 IGLC2*03	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC2*02 또는 IGLC2*03) 뉴클레오타이드 서열	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttc aagccacaaggccacactggtgtgtctcataagtgacttcctacccgggagccgtgac agtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacc tccaaacaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctattctgagcctgacgcctgagc agtggaagtcccacgaagctcacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggcccctacagaatgttca
64			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC2*02) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0476]

65	인간 CΛ 불변 영역	IGLC3*01	CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*01) 뉴클레오타이드 서열	cccaaggctgccccctcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttcaagcca acaaggccacactggtgtgtctcataagtgactctacccggagccgtgacagttgc ctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggggtggagacaccacacctccaaa caaagcaacacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcctgagcagtgga agtcccacaaaagctacagctgcccaggtcacgcatgaagggagcaccgtggagaagac agttgccctacggaatgttca
66			CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*01) 아미노산 서열	PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
67	인간 CΛ 불변 영역	IGLC3*02	CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*02) 뉴클레오타이드 서열	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttc aagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgactctacccgggccagtgac agttgcctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggggtggagaccacacaccc tccaaacaaagcaacacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcctgagc agtggaagtcccacaaaagctacagctgcccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggccctacggaatgttca
68			CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC1*02) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGPVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
69	인간 CΛ 불변 영역	IGLC3*03	CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*03) 뉴클레오타이드 서열	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttc aagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgactctacccgggagccgtgac agtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggagtggagaccacacaccc tccaaacaaagcaacacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcctgagc agtggaagtcccacaaaagctacagctgcccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggccctacagaatgttca
70			CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*03) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
71	인간 CΛ 불변 영역	IGLC3*04	CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*04) 뉴클레오타이드 서열	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttc aagccaacaaggccacactggtgtgtctccataagtgactctacccgggagccgtgac agtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggagtggagaccacacaccc tccaaacaaagcaacacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcctgagc agtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggccctacagaatgttca
72			CΛ 경쇄 불변 영역 (IGLC3*04) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATIVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0477]

[0478]

[0479] [표 K]

73	인간 Cλ 불변 영역	IGLC6*01	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC6*01) 뉴클레오타이드 서열	ggtcagcccaaggctgcccccatcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttc aagccaacaaggccacactggtgtgcctgatcagtgacttctacccgggagctgtgaa agtggcctggaaggcagatggcagccccgtcaaacacggagtggagacaccacaccc tccaaacagagcaacaacaagtacgcggccagcagctacctgagcctgacgcctgagc agtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggcccctgcagaatgttca	
	74		Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC6*01) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWKADGSPVNTGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS	
75	인간 Cλ 늡변 영역	IGLC7*01 또는 IGLC7*02	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC7*01 또는 IGLC7*02) 뉴클레오타이드 서열	ggtcagcccaaggctgccccatcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttc aagccaacaaggccacactggtgtgcctgaagtgactcctacccgggagccgtgac agtggcctggaaggcagatggcagccccgtcaaggtgggagtggagaccacaaaccc tccaaacaaagcaacaacaagtatgcggccagcagctacctgagcctgacgcccgagc agtggaagtcccacagaagctacagctgccgggtcacgcatgaagggagcaccgtgga gaagacagtggccctgcagaatgctct	
76			Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC7*01) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS	
77	인간 Cλ 불변 영역	IGLC7*03	Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC7*03) 뉴클레오타이드 서열	GGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCACCCTCCTCTGAGGAGCTTC AAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCGTAAGTGACTTCAACCCGGGAGCCGTGAC ACTGGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGTGGGAGTGGAGACCACCAAACCC TCCAAACAAAGCAACAACAAGTATGCGGCCAGCACTACCTGAGCCTGACGCCCGAGC ACTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCGGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGA GAAGACAGTGGCCCCTGCAGAATGCTCT	
	78		Cλ 경쇄 불변 영역 (IGLC7*03) 아미노산 서열	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFNPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS	

[0480] **KY1044 항체 서열**

[0481]

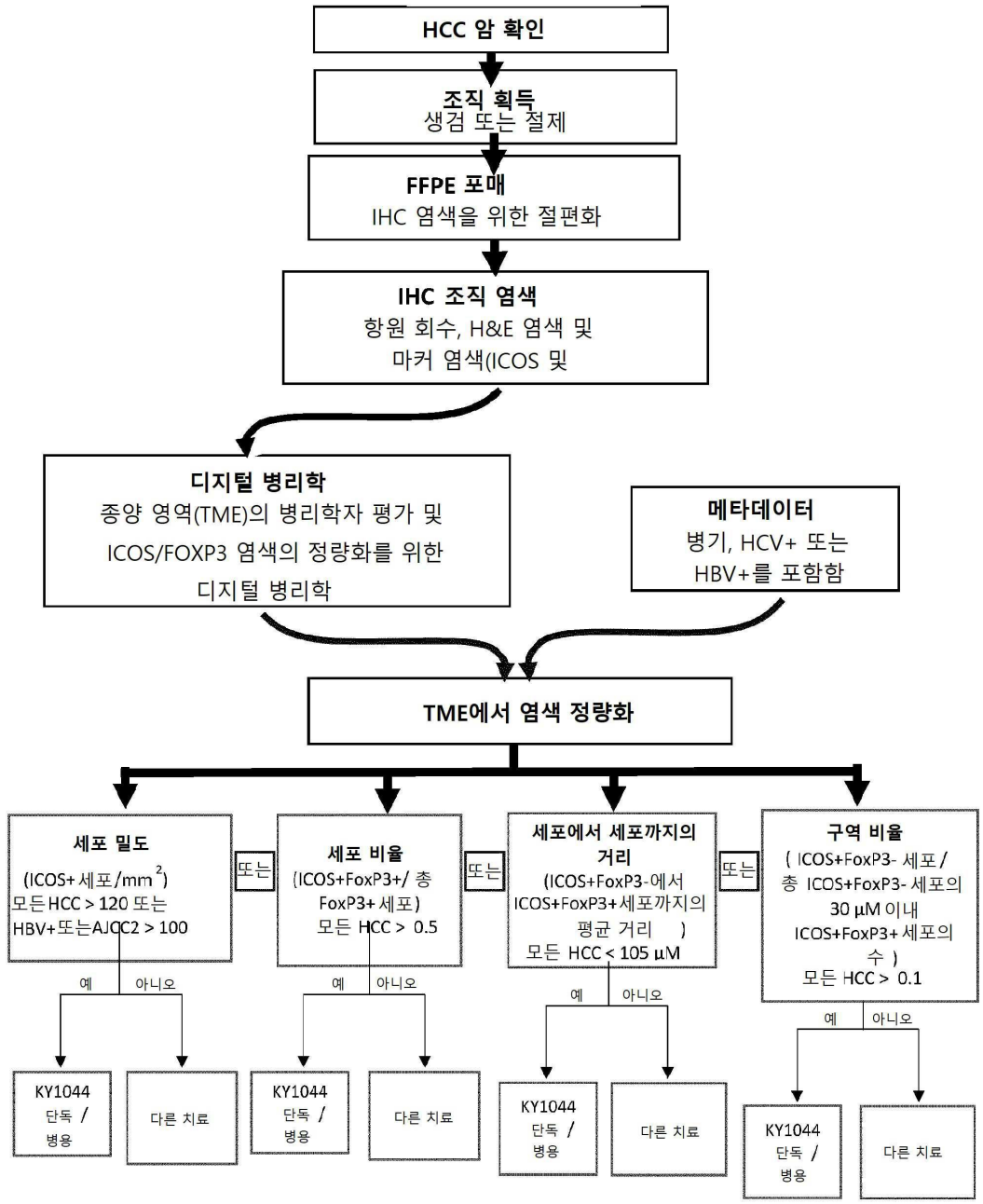
서열번호		서열
1	KY1044의 HCDR1의 아미노산 서열	GVTFDDYG
2	KY1044의 HCDR2의 아미노산 서열	INWNGGDT
3	KY1044의 HCDR3의 아미노산 서열	ARDFYGSGSYYHVFFDY
4	KY1044의 VH의 핵산 서열	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGTCA CCTTTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCTCCAGGGAAGGGGCTGGARTGGTCTCTGGTATTAATTGGAATGG TGGCGACACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTACAA ATGAATAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCGAGGGATTTCTATGGTTCGGGGAGTTATTATCACGTTC CTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTCACCGTCTCCTCA
5	KY1044의 VH의 아미노산 서열	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCVASGVTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGDTYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTALYYCARDFYGSGSYYHVFFDYWGQGILVTVSS
6	KY1044 중쇄의 핵산 서열	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGTCA CCTTTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCTCCAGGGAAGGGGCTGGARTGGTCTCTGGTATTAATTGGAATGG TGGCGACACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTACAA ATGAATAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCGAGGGATTTCTATGGTTCGGGGAGTTATTATCACGTTC CTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCC TTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGTCC TGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCG TCGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCC GTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGT CCCACGAGGACCCTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGA ACAGTACAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGT ACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGA TATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCA TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGG CCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
7	KY1044 중쇄의 아미노산 서열	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCVASGVTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGDTYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTALYYCARDFYGSGSYYHVFFDYWGQGILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0482]

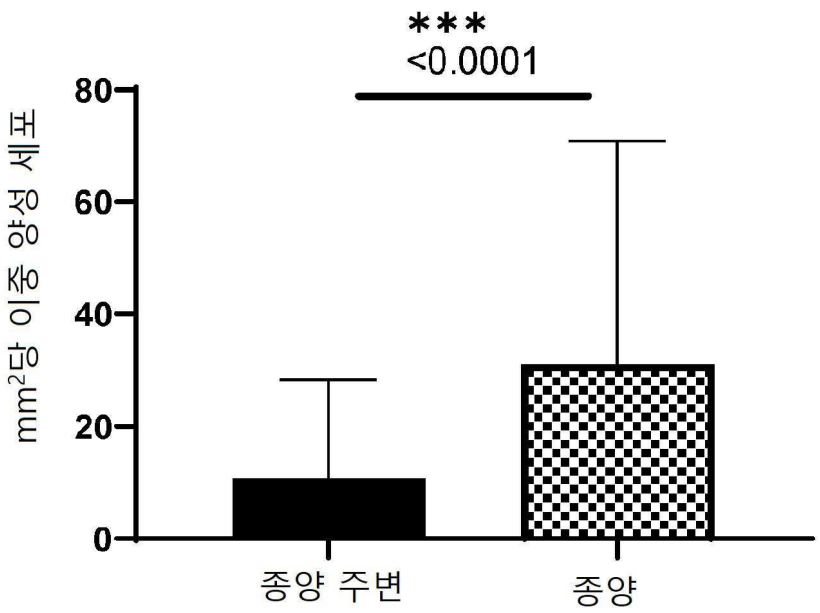
8	KY1044의 LCDR1의 아미노산 서열	QSVSRSY
9	KY1044의 LCDR2의 아미노산 서열	GAS
10	KY1044의 LCDR3의 아미노산 서열	HQYDMSPFT
11	KY1044의 VL의 핵산 서열	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGGACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGAAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACGTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCGATGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCACCAGTATGATATGTCACCATTCACTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
12	KY1044의 VL의 아미노산 서열	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQKRGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGDGSGTDFTLSISRLEPE DFAVYYCHQYDMSPFTFGPGTKVDIK
13	KY1044 경쇄의 핵산 서열	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGGACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGAAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACGTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCGATGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCACCAGTATGATATGTCACCATTCACTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgta cggtggccgctcccctccgttcatctttcccaccttccgacgagcagctgaagtccggcaccgcttctgtcgtgtgcctgct gaacaacttctatcccccgcgagggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggcaactcccaggaatccgtg accgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaagg tgtacgcctgcgaagtgacccacccagggcctgtctagcccccgtgaccaagtctttcaaccgggggcgagtgt
14	KY1044 경쇄의 아미노산 서열	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQKRGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGDGSGTDFTLSISRLEPE DFAVYYCHQYDMSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

도면

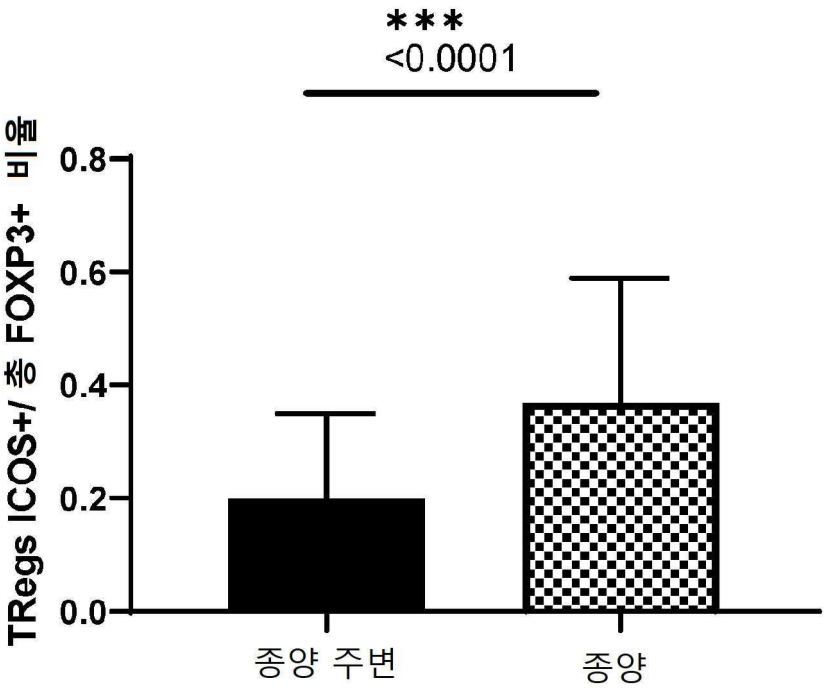
도면1


HCC 암 확인
조직 획득
생검 또는 절제
FFPE 포매
IHC 염색을 위한 절편화
IHC 조직 염색
항원 회수, H&E 염색 및
마커 염색(ICOS 및
디지털 병리학
종양 영역(TME)의 병리학자 평가 및
ICOS/FOXP3 염색의 정량화를 위한
디지털 병리학
메타데이터
병기, HCV+ 또는
HBV+를 포함함
TME에서 염색 정량화
세포 밀도
(ICOS+ 세포/mm2)
모든 HCC > 120 또는
HBV+ 또는 AJCC2 > 100
또는
세포 비율
(ICOS+FoxP3+/ 총
FoxP3+ 세포)
모든 HCC > 0.5
또는
세포에서 세포까지의
거리
(ICOS+FoxP3-에서
ICOS+FoxP3+세포까지의
평균 거리)
모든 HCC < 105 μM
또는
구역 비율
(ICOS+FoxP3- 세포 /
총 ICOS+FoxP3- 세포의
30 μM 이내
ICOS+FoxP3+ 세포의
수)
모든 HCC > 0.1
예
아니오
KY1044
단독 /
병용
다른 치료

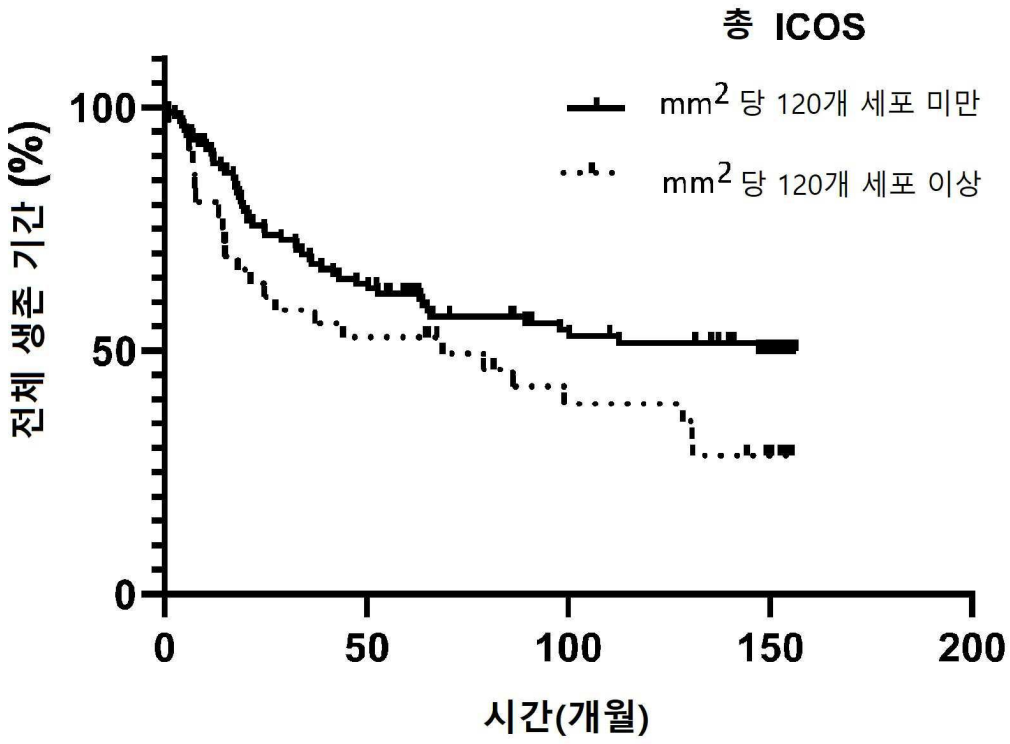
도면2


***
<0.0001
80
60
40
20
0
mm²당 이중 양성 세포
종양 주변
종양

도면3


***
<0.0001
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
TRegs ICOS+/ 총 FOXP3+ 비율
종양 주변
종양

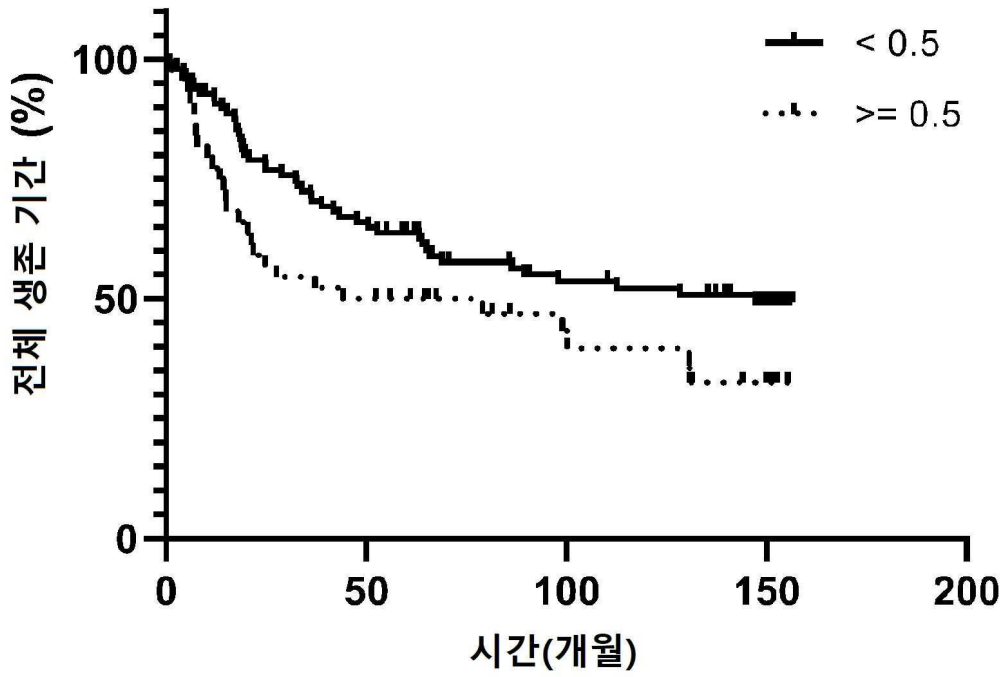
도면4



위험:

낮음	106	65	41	29
높음	36	20	12	6

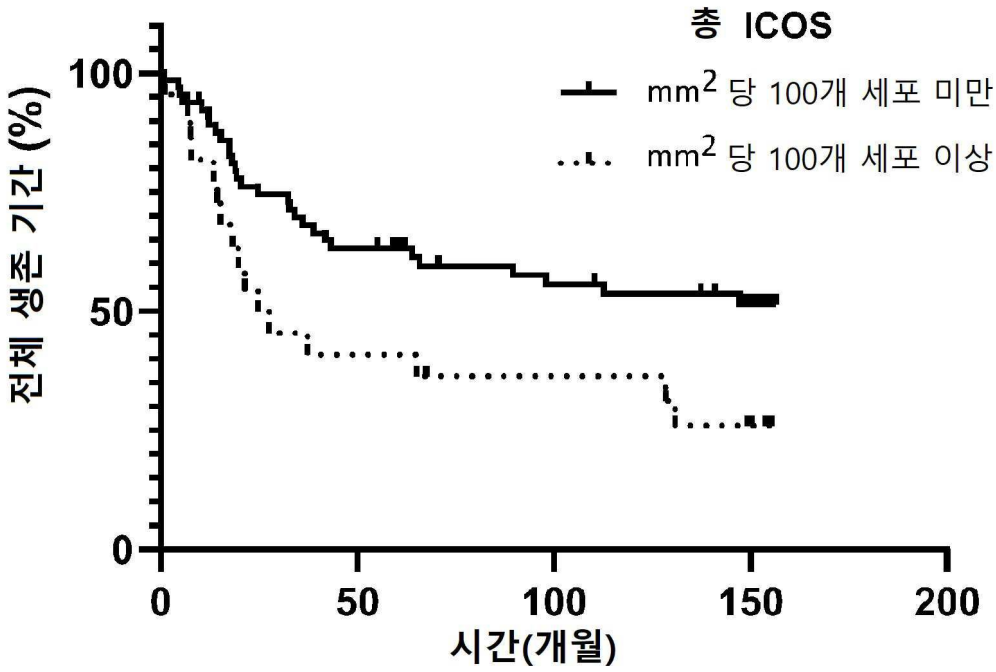
도면5



위험:

낮음	98	62	40	27
높음	44	23	13	7

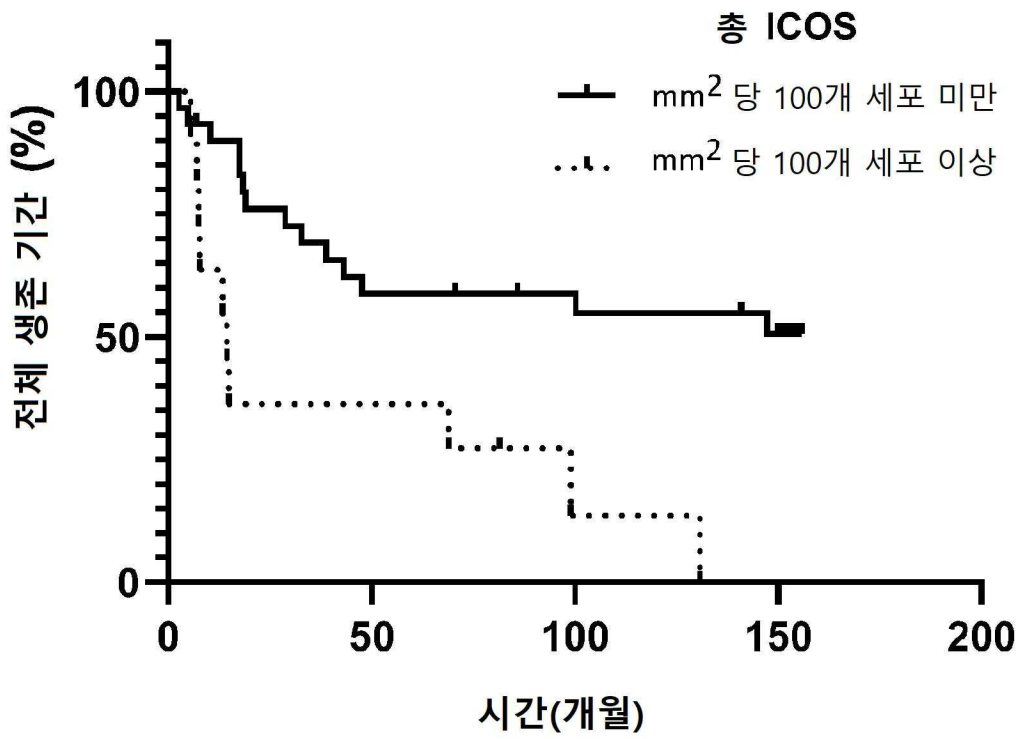
도면6



위험:

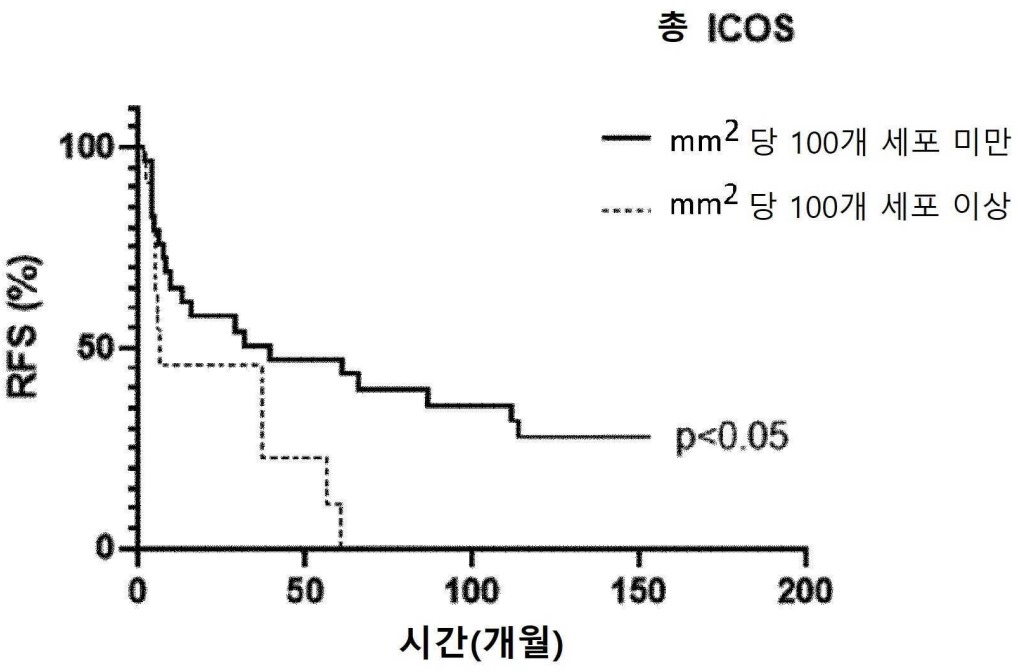
낮음	65	40	29	23
높음	22	10	8	4

도면7

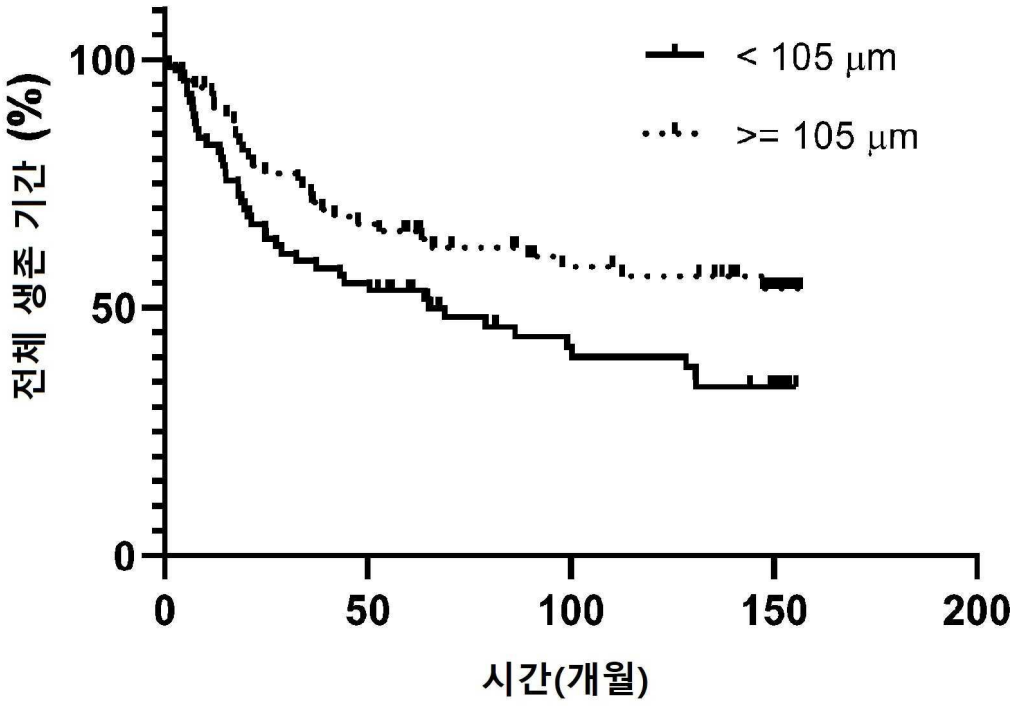


위험:				
낮음	30	18	15	11
높음	11	5	2	1

도면8

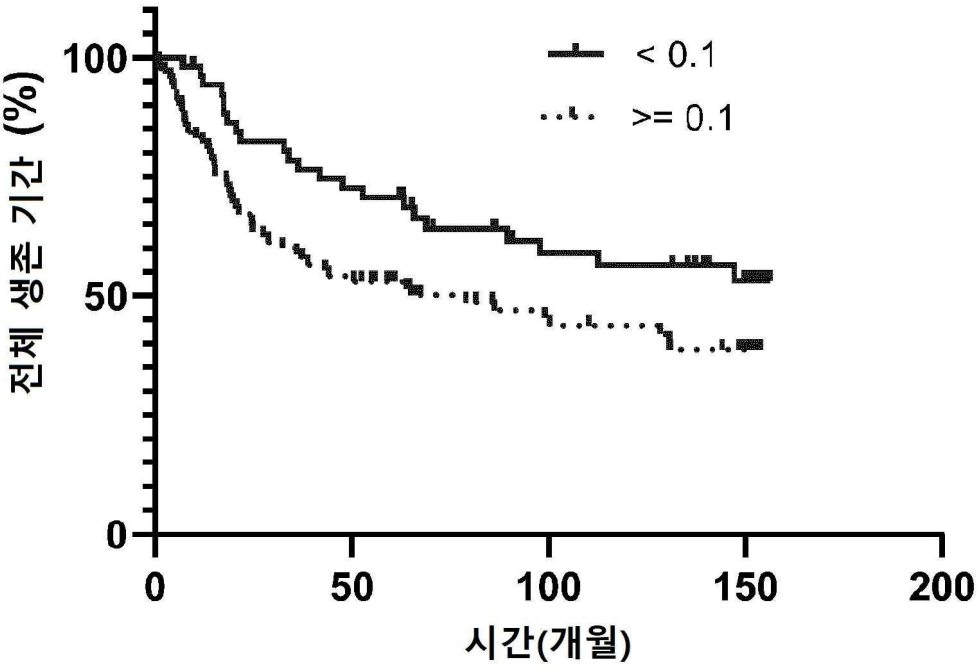


도면9

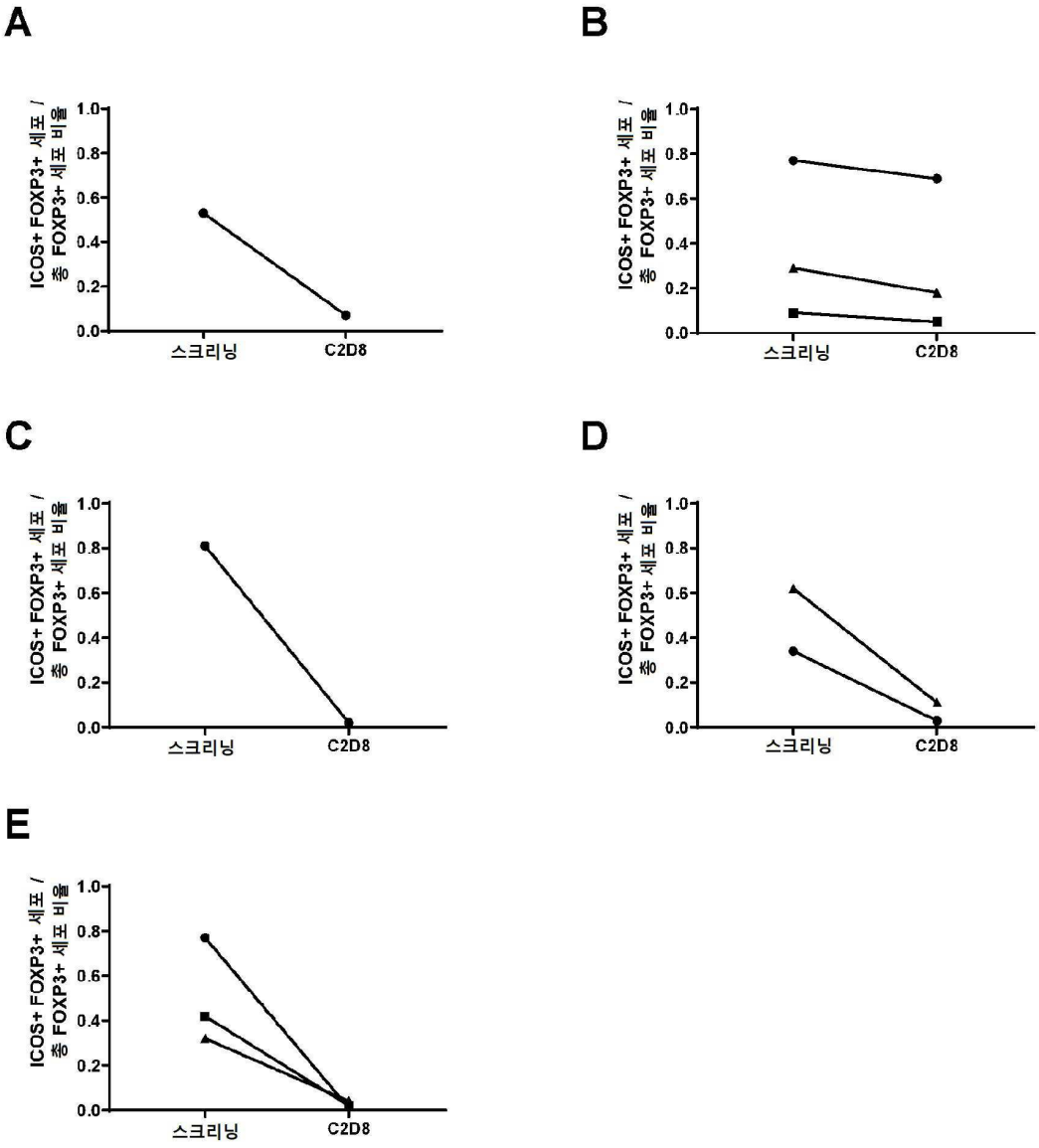


위험:				
낮음	71	47	31	19
높음	71	38	22	15

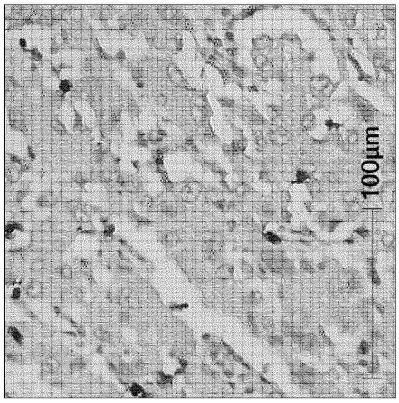
도면10



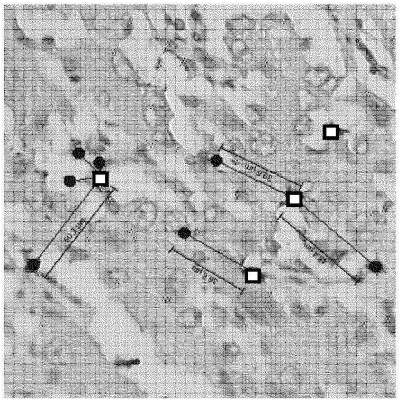
도면11



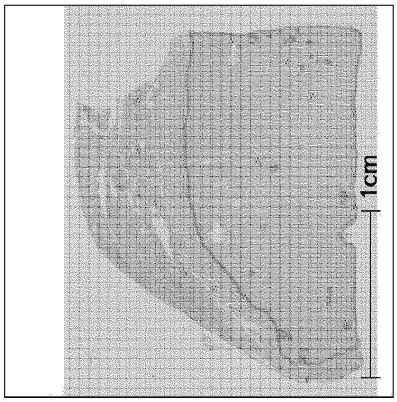
도면12



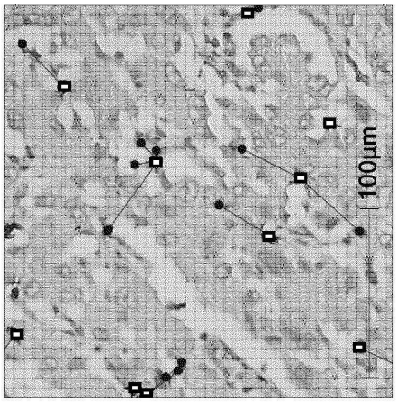
(B)



(D)

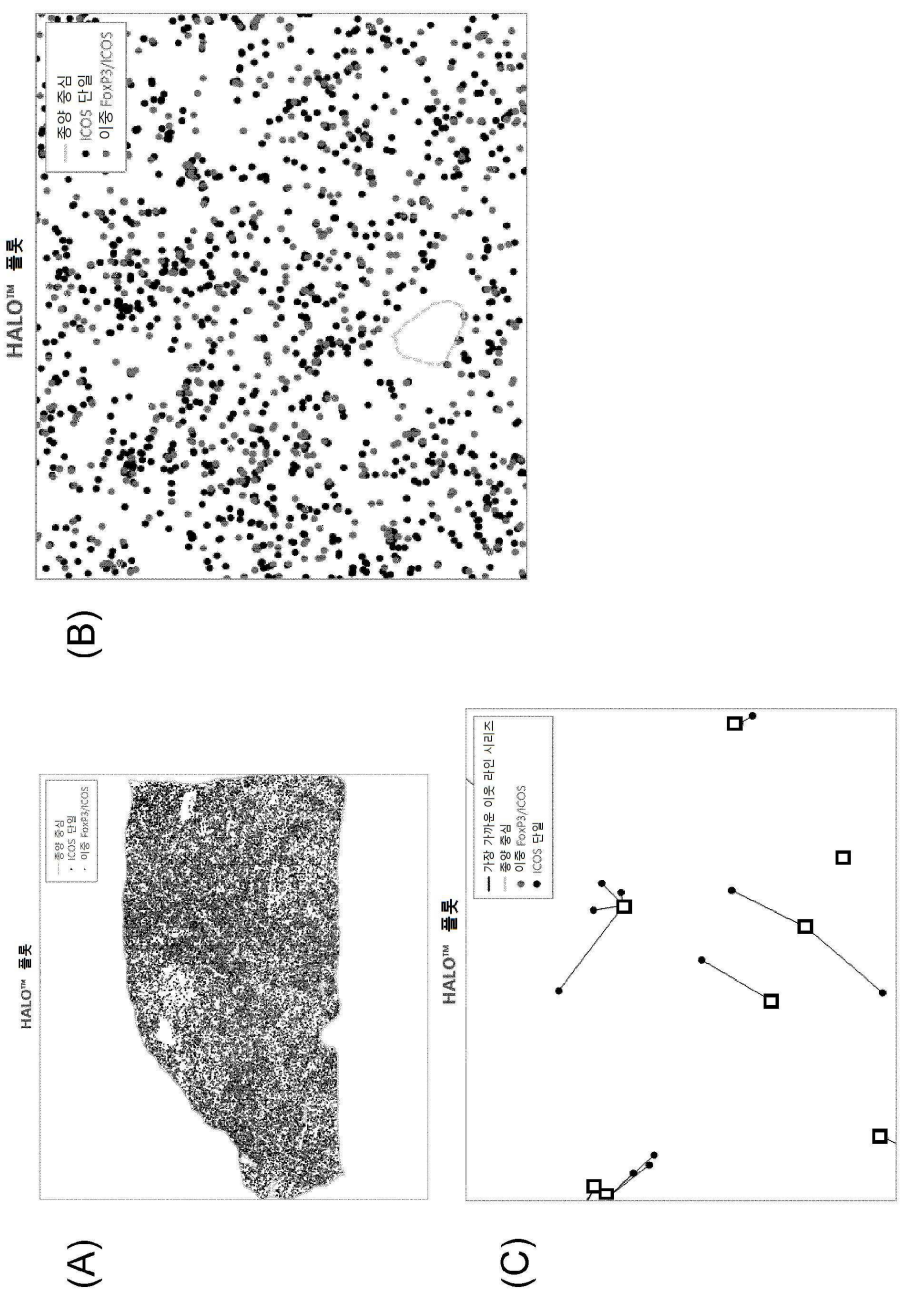


(A)

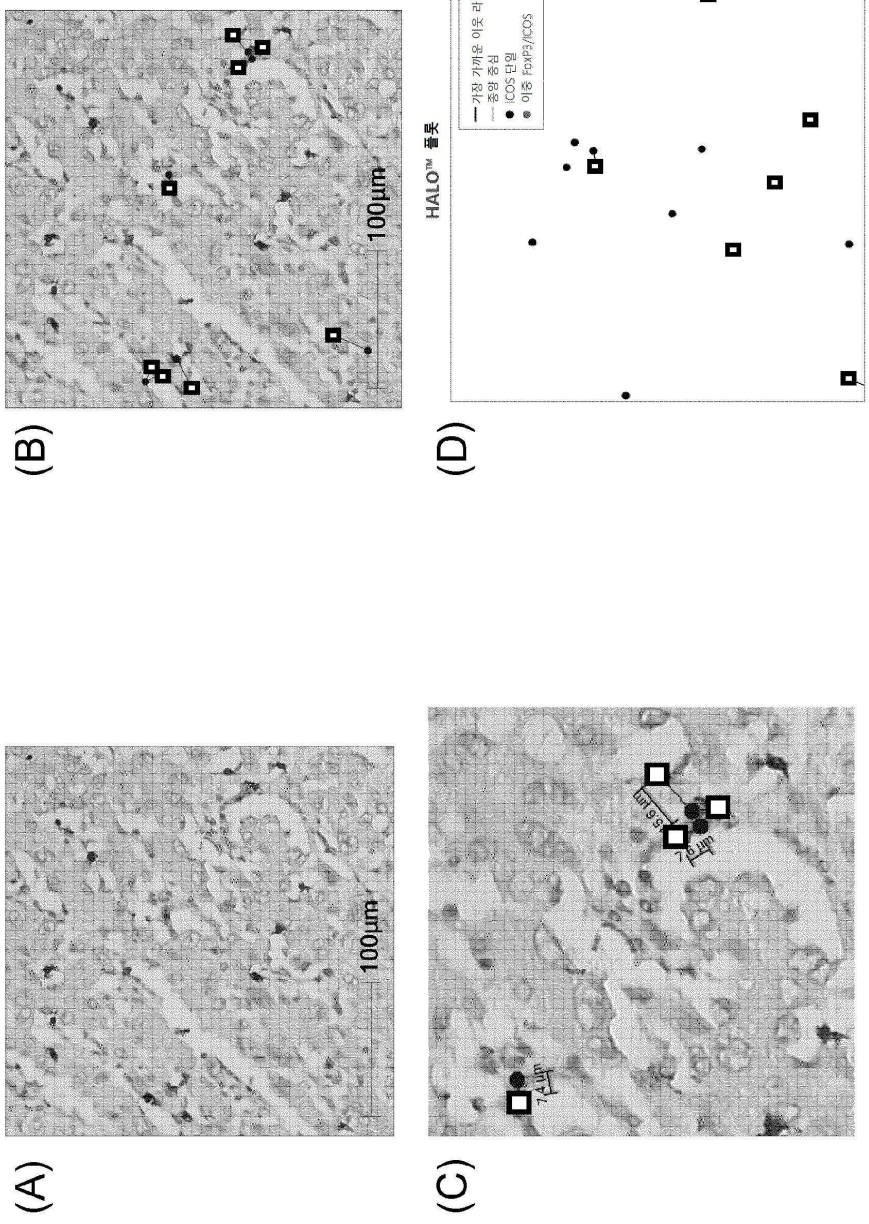


(C)

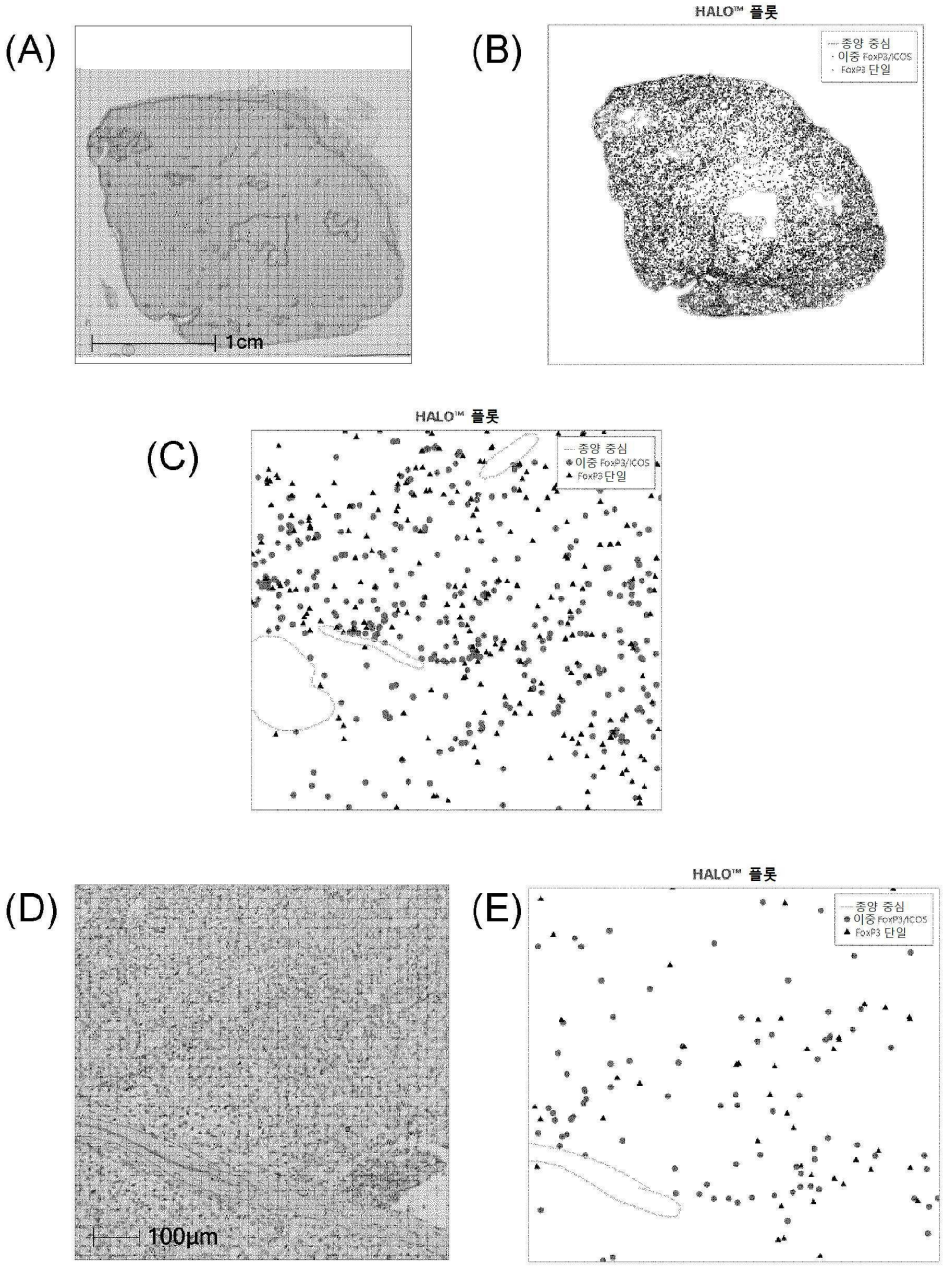
도면13


HALO™ 플롯
중앙 중심
ICOS 단일
이중 FoxP3/ICOS
(B)
HALO™ 플롯
중앙 중심
ICOS 단일
이중 FoxP3/ICOS
(A)
HALO™ 플롯
가장 가까운 이웃 라인 시리즈
중앙 중심
이중 FoxP3/ICOS
ICOS 단일
(C)

도면14


(A)
100μm
(B)
100μm
(C)
(D)
HALO™ 플롯
가장 가까운 이웃 라인 시리즈
중앙 중심
iCOS 단일
이중 FoxP3+/iCOS+

도면15



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Kymab Limited

<120> Tumour biomarkers for immunotherapy

<130> K00061-1 WO

<150> GB2007099.1

<151> 2020-05-14

<160> 78

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 1

Gly Val Thr Phe Asp Asp Tyr Gly

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 2

Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asp Thr

1 5

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213

> Homo Sapiens

<400> 3

Ala Arg Asp Phe Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr His Val Pro Phe Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 4

<211> 372

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 4

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cctctggagt cacctttgat gattatggca tgagctgggt ccgccaagct 120

ccagggaagg ggctggartg ggtctctggt attaattgga atggtggcga cacagattat 180

tcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctacaaatga atagtctgag agccgaggac acggccttgt attactgtgc gagggatttc 300

tatggttcgg ggagttatta tcacgttcct tttgactact ggggccaggg aatcctggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 5

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 5

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Val Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asp Thr Asp Tyr Ser Asp Ser 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Phe Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr His Val Pro Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 6

<211> 1368

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 6

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cctctggagt cacctttgat gattatggca tgagctgggt ccgccaagct 120

ccagggaagg ggctggartg ggtctctggt attaattgga atggtggcga cacagattat 180

tcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctacaaatga atagtctgag agccgaggac acggccttgt attactgtgc gagggatttc 300

tatggttcgg ggagttatta tcacgttcct tttgactact ggggccaggg aatcctggtc 360

accgtctcct cagccagcac caagggcccc tctgtgttcc ctctggcccc ttccagcaag 420

tccacctctg gcggaacagc cgctctgggc tgcctcgtga aggactactt ccccgagcct 480

gtgaccgtgt cctggaactc tggcgctctg accagcggag tgcacacctt ccctgctgtg 540

ctgcagtcct ccggcctgta ctccctgtcc tccgtcgtga ccgtgccttc cagctctctg 600

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccct ccaacaccaa ggtggacaag 660

aaggtggaac ccaagtcctg cgacaagacc cacacctgtc ccccttgtcc tgcccctgaa 720

ctgctgggcg gaccttccgt gttcctgttc cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc 780

tcccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg gtggatgtgt cccacgagga ccctgaagtg 840

aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag 900

gaacagtaca actccaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg 960

ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg tccaacaagg ccctgcctgc ccccatcgaa 1020

aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc cgggaacccc aggtgtacac actgcccccc 1080

agcagggacg agctgaccaa gaaccaggtg tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac 1140

ccctccgata tcgccgtgga atgggagtcc aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc 1200

acccccccctg tgctggactc cgacggctca ttcttcctgt acagcaagct gacagtggac 1260

aagtcccggt ggcagcaggg caacgtgttc tcctgctccg tgatgcacga ggccctgcac 1320

aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg agccccggca agtgatga 1368

<210> 7

<211> 454

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Val Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Asp Thr Asp Tyr Ser Asp Ser 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Phe Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr His Val Pro Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

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

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

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 8
Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
1 5

<210> 9
<211> 3
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 9

Gly Ala Ser

1

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 10

His Gln Tyr Asp Met Ser Pro Phe Thr

1 5

<210> 11

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 11

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagggacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agaagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cgtggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcgatgg gtctgggaca gacttcactc tctccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcac cagtatgata tgtcaccatt cactttcggc 300

cctgggacca aagtggatat caaa 324

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 12

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Arg Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Asp Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Asp Met Ser Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 13

<211> 645

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 13

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagggacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agaagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cgtggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcgatgg gtctgggaca gacttcactc tctccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcac cagtatgata tgtcaccatt cactttcggc 300

cctgggacca aagtggatat caaacgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360

ccttccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcttctgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480

caggaatccg tgaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcta gccccgtgac caagtctttc aaccggggcg agtgt 645

<210> 14

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 14

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Arg Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Asp Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Asp Met Ser Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 15

<211> 990

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 15

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 16

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 16

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 17

<211> 990

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 17

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 18

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 18

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 19

<211> 990

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 19

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 720

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa 990

<210> 20

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 20

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

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

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

245 250 255

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 21
<211> 990
<212> DNA
<213> Homo Sapiens
<400> 21

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acatcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 22

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 22

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 23

<211> 990

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 23

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agtggagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cgcgggggca 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 24

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 24

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 25
<211> 978
<212> DNA

<213> Homo Sapiens
<400> 25
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300

aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540

gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600

aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960

tccctgtctc cgggtaaa 978

<210> 26

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 26

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

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

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 27

<211> 978

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 27

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgacctcca gcaacttcgg cacccagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300

aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480

atggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540

gtggtcagcg tcctcaccgt cgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600

aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 960

tccctgtctc cgggtaaa 978

<210> 28

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 28

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 29
<211> 978
<212> DNA
<213> Homo Sapiens
<400> 29
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960
tccctgtctc cgggtaaa 978

<210> 30
<211> 326
<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 30

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

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 31

<211> 978

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 31

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300

aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 420

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540

gtggtcagcg tcctcaccgt cgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600

aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatctc cgtggagtgg 780

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 960

tccctgtctc cgggtaaa 978

<210> 32

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 32

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 33

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400

> 33

gcttccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300

aaatatggtc ccccatgccc atcatgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840

gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 34

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 34

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

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

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 35

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 35

gcttccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300
aaatatggtc ccccgtgccc atcatgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 360
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840
gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 36
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 36

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

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

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 37

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 37

gcttccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300

aaatatggtc ccccatgccc atcatgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 38

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 38

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

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

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 39

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 39

gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacggccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccagt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300

aaatatggtc ccccatgccc accatgccca gcgcctgaat ttgaggggggg accatcagtc 360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtca tcgatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840

gacggatcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 40

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 40

gcctccacca agggacctag cgtgttccct ctcgcccccc gttccaggtc cacaagcgag 60

tccaccgctg ccctcggctg tctggtgaaa gactactttc ccgagcccgt gaccgtctcc 120

tggaatagcg gagccctgac ctccggcgtg cacacatttc ccgccgtgct gcagagcagc 180

ggactgtata gcctgagcag cgtggtgacc gtgcccagct ccagcctcgg caccaaaacc 240

tacacctgca acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggagagc 300

aagtacggcc ccccttgccc tccttgtcct gcccctgagt tcgagggagg accctccgtg 360

ttcctgtttc cccccaaacc caaggacacc ctgatgatct cccggacacc cgaggtgacc 420

tgtgtggtcg tggacgtcag ccaggaggac cccgaggtgc agttcaactg gtatgtggac 480

ggcgtggagg tgcacaatgc caaaaccaag cccagggagg agcagttcaa ttccacctac 540

agggtggtga gcgtgctgac cgtcctgcat caggattggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtgt ccaacaaggg actgcccagc tccatcgaga agaccatcag caaggctaag 660

ggccagccga gggagcccca ggtgtatacc ctgcctccta gccaggaaga gatgaccaag 720

aaccaagtgt ccctgacctg cctggtgaag ggattctacc cctccgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaaaacaa cccctcccgt gctcgatagc 840

gacggcagct tctttctcta cagccggctg acagtggaca agagcaggtg gcaggagggc 900

aacgtgttct cctgttccgt gatgcacgag gccctgcaca atcactacac ccagaagagc 960

ctctccctgt ccctgggcaa g 981

<210> 41

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 41

gccagcacca agggcccttc cgtgttcccc ctggcccctt gcagcaggag cacctccgaa 60

tccacagctg ccctgggctg tctggtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgagc 120

tggaacagcg gcgctctgac atccggcgtc cacacctttc ctgccgtcct gcagtcctcc 180

ggcctctact ccctgtcctc cgtggtgacc gtgcctagct cctccctcgg caccaagacc 240

tacacctgta acgtggacca caaaccctcc aacaccaagg tggacaaacg ggtcgagagc 300

aagtacggcc ctccctgccc tccttgtcct gccccgagt tcgaaggcgg acccagcgtg 360

ttcctgttcc ctcctaagcc caaggacacc ctcatgatca gccggacacc cgaggtgacc 420

tgcgtggtgg tggatgtgag ccaggaggac cctgaggtcc agttcaactg gtatgtggat 480

ggcgtggagg tgcacaacgc caagacaaag ccccgggaag agcagttcaa ctccacctac 540

agggtggtca gcgtgctgac cgtgctgcat caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtca gcaataaggg actgcccagc agcatcgaga agaccatctc caaggctaaa 660

ggccagcccc gggaacctca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaag ggattctacc cttccgacat cgccgtggag 780

tgggagtcca acggccagcc cgagaacaat tataagacca cccctcccgt cctcgacagc 840

gacggatcct tctttctgta ctccaggctg accgtggata agtccaggtg gcaggaaggc 900

aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca atcactacac ccagaagtcc 960

ctgagcctgt ccctgggaaa g 981

<210> 42

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 42

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 43

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 43

gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacggccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccagt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300

aaatatggtc ccccatgccc accatgccca gcgcctccag ttgcgggggg accatcagtc 360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtca tcgatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840

gacggatcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 44

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 44

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

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

130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

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

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

325

<210> 45

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 45

cgtacggtgg ccgctccctc cgtgttcatc ttcccacctt ccgacgagca gctgaagtcc 60

ggcaccgctt ctgtcgtgtg cctgctgaac aacttctacc cccgcgaggc caaggtgcag 120

tggaaggtgg acaacgccct gcagtccggc aactcccagg aatccgtgac cgagcaggac 180

tccaaggaca gcacctactc cctgtcctcc accctgaccc tgtccaaggc cgactacgag 240

aagcacaagg tgtacgcctg cgaagtgacc caccagggcc tgtctagccc cgtgaccaag 300

tctttcaacc ggggcgagtg t 321

<210> 46

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 46

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 47

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 47

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggag 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgccgg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 48

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Glu Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Gly Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 49

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 49

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

cggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggag 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 50

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 50

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Arg Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Glu Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 51

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 51

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaac tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 52

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 52

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 53

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 53

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcaac accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg c 321

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 54

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Asn Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 55

<211> 312

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 55

cccaaggcca accccacggt cactctgttc ccgccctcct ctgaggagct ccaagccaac 60

aaggccacac tagtgtgtct gatcagtgac ttctacccgg gagctgtgac agtggcttgg 120

aaggcagatg gcagccccgt caaggcggga gtggagacga ccaaaccctc caaacagagc 180

aacaacaagt acgcggccag cagctacctg agcctgacgc ccgagcagtg gaagtcccac 240

agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa gggagcaccg tggagaagac agtggcccct 300

acagaatgtt ca 312

<210

> 56

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100

<210> 57

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 57

ggtcagccca aggccaaccc cactgtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagctccaa 60

gccaacaagg ccacactagt gtgtctgatc agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatggcag ccccgtcaag gcgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180

cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

<210> 58

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 58

ggtcagccca aggccaaccc cactgtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagctccaa 60

gccaacaagg ccacactagt gtgtctgatc agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatggcag ccccgtcaag gcgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180

cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

<210> 59

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 59

Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 60

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 60

ggccagccta aggccgctcc ttctgtgacc ctgttccccc catcctccga ggaactgcag 60

gctaacaagg ccaccctcgt gtgcctgatc agcgacttct accctggcgc cgtgaccgtg 120

gcctggaagg ctgatagctc tcctgtgaag gccggcgtgg aaaccaccac cccttccaag 180

cagtccaaca acaaatacgc cgcctcctcc tacctgtccc tgaccctga gcagtggaag 240

tcccaccggt cctacagctg ccaagtgacc cacgagggct ccaccgtgga aaagaccgtg 300

gctcctaccg agtgctcc 318

<210> 61

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 61

ggccagccta aagctgcccc cagcgtcacc ctgtttcctc cctccagcga ggagctccag 60

gccaacaagg ccaccctcgt gtgcctgatc tccgacttct atcccggcgc tgtgaccgtg 120

gcttggaaag ccgactccag ccctgtcaaa gccggcgtgg agaccaccac accctccaag 180

cagtccaaca acaagtacgc cgcctccagc tatctctccc tgaccctga gcagtggaag 240

tcccaccggt cctactcctg tcaggtgacc cacgagggct ccaccgtgga aaagaccgtc 300

gcccccaccg agtgctcc 318

<210> 62

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 62

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 63

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 63

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

<210> 64

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 65

<211> 312

<212

> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 65

cccaaggctg ccccctcggt cactctgttc ccaccctcct ctgaggagct tcaagccaac 60

aaggccacac tggtgtgtct cataagtgac ttctacccgg gagccgtgac agttgcctgg 120

aaggcagata gcagccccgt caaggcgggg gtggagacca ccacaccctc caaacaaagc 180

aacaacaagt acgcggccag cagctacctg agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcccac 240

aaaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa gggagcaccg tggagaagac agttgccct 300

acggaatgtt ca 312

<210> 66

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 66

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100

<210> 67

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 67

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccac cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccggggcc agtgacagtt 120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag gcgggggtgg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacaaaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacgg aatgttca 318

<210> 68

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 69

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 69

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccac cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacaaaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

<210> 70

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 70

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 71

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 71

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtcaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

<210> 72

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 72

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 73

<211> 318

<212

> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 73

ggtcagccca aggctgcccc atcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgcctgatc agtgacttct acccgggagc tgtgaaagtg 120

gcctggaagg cagatggcag ccccgtcaac acgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180

cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctgcag aatgttca 318

<210> 74

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 74

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45

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

50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser
100 105

<210> 75

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 75

ggtcagccca aggctgcccc atcggtcact ctgttcccac cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcgta agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatggcag ccccgtcaag gtgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtatgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccgggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctgcag aatgctct 318

<210> 76

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 76

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

1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Val Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser

100 105

<210> 77

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 77

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccac cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcgta agtgacttca acccgggagc cgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatggcag ccccgtcaag gtgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtatgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccgggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctgcag aatgctct 318

<210> 78

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 78

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Val Ser Asp
20 25 30

Phe Asn Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45

Val Lys Val Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Arg Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser
100 105