

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0110510

(43) 공개일자 2022년08월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7021340
- (22) 출원일자(국제) 2020년12월04일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년06월22일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/063395
- (87) 국제공개번호 WO 2021/113701
국제공개일자 2021년06월10일
- (30) 우선권주장
62/944,589 2019년12월06일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777
- (72) 발명자
로위 이스라엘
미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
스틴버그 데이비드
미국 뉴욕주 10027 뉴욕 아파트먼트 9엠 리버사이드 드라이브 560
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장훈

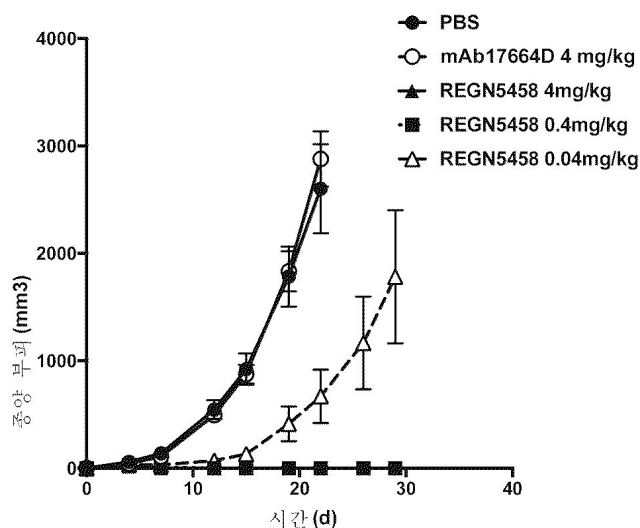
전체 청구항 수 : 총 69 항

(54) 발명의 명칭 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체를 이용한 다발성 골수종의 치료 방법

(57) 요약

B-세포 성숙화 항원(BCMA: B-cell maturation antigen)은 악성 형질 세포 상에서 발현된다. 본 발명은 BCMA와 CD3 둘 다에 결합하고 BCMA-발현 종양 세포의 존재 하에 CD3 복합체를 통해 T 세포를 활성화시키는 이중특이적 항체(bsAb)를 사용한 다발성 골수종의 치료 방법을 제공한다. 소정의 구현예에서, 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자는 BCMA를 발현하는 종양의 성장을 저해할 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07K 16/2809 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/53 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)

(30) 우선권주장

63/055,085 2020년07월22일 미국(US)
63/057,769 2020년07월28일 미국(US)

(72) 발명자

샤르마 매니쉬

미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

아드리안즈 리브

미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

명세서

청구범위

청구항 1

치료를 필요로 하는 시험대상자에서 BCMA+ 암의 치료 방법으로서, 표적 종양 세포 상의 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA: B-cell maturation antigen)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체를 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이적 항체는 매주 적어도 1 mg의 용량으로 시험대상자에게 투여되는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 BCMA+ 암은 다발성 골수종인, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인은

- (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및
- (b) SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인은

- (a) SEQ ID NO: 90 또는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및
- (b) SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인은

- (a) SEQ ID NO: 92 또는 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1;
- (b) SEQ ID NO: 94 또는 SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; 및

(c) SEQ ID NO: 96 또는 SEQ ID NO: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인은

(a) SEQ ID NO: 92, 94, 96의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인; 또는

(b) SEQ ID NO: 100, 102, 104의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인은

(a) SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR; 또는

(b) SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 항체는

(a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및

(a) SEQ ID NO: 92, 94, 96의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 항체는

(a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및

(b) SEQ ID NO: 100, 102, 104의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3, 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 항체는

(a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및

(b) SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 항체는

(a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR를 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및

(b) SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR를 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 항체는

(a) SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 122, 및 124로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 HCVR의 CDR, 및 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 82, 123, 및 125로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 LCVR의 CDR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및

(b) 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 122/123, 124/125, 2/82, 18/82, 34/82, 50/82, 66/82, 122/82, 및 124/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍으로부터의 CDR을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16, 20-22-24-28-30-32, 36-38-40-44-46-48, 52-54-56-60-62-64, 68-70-72-76-78-80, 4-6-8-84-86-88, 20-22-24-84-86-88, 36-38-40-84-86-88, 52-54-56-84-86-88, 및 68-70-72-84-86-88로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 각각 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 122/123, 124/125, 2/82, 18/82, 34/82, 50/82, 66/82, 122/82, 및 124/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 90/82 및 98/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 CDR을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 SEQ ID NO: 130의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함하는 제1 중쇄를 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 SEQ ID NO: 131의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함하는 제2 중쇄를 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄, SEQ ID NO: 127 또는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄, 및 SEQ ID NO: 129

의 아미노산 서열을 포함하는 공통 경쇄를 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 25

제21항에 있어서, 상기 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 이소타입(isotype) IgG1인, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 26

제21항에 있어서, 상기 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 이소타입 IgG4인, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 27

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 동일한 이소타입의 야생형 힌지와 비교하여 Fc γ 수용체 결합을 감소시키는 키메라 힌지를 포함하는, BCMA+ 암의 치료 방법.

청구항 28

치료를 필요로 하는 시험대상자에서 다발성 골수종의 치료 방법으로서, 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하는 이중특이적 항체를 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 92, 94, 96, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 이중특이적 항체는 매주 적어도 1 mg의 용량으로 시험대상자에게 투여되는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 127의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 31

치료를 필요로 하는 시험대상자에서 다발성 골수종의 치료 방법으로서, 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하는 이중특이적 항체를 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 100, 102, 104, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 이중특이적 항체는 매주 적어도 1 mg의 용량으로 시험대상자에게 투여되는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 32

제28항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 33

제29항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는, 다발성 골수종의 치료 방

법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 치료제 또는 치료 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 제2 치료제 또는 치료 요법은 화학치료 약물, DNA 알킬화제, 면역조절제, 프로테아좀 저해제, 히스톤 데아세틸라제 저해제, 방사선요법, 줄기세포 이식, 상이한 종양 세포 표면 항원 및 T 세포 또는 면역 세포 항원과 상호작용하는 상이한 이중특이적 항체, 항체 약물 접합체, 항종양제와 접합된 이중특이적 항체, PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4 체크포인트 저해제, 또는 이들의 조합을 포함하는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 분할 초기 용량을 포함하는 투여 요법으로 투여되는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이적 항체의 용량은 시험대상자에게 매주 3 mg 내지 900 mg의 용량으로 투여되는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BCMA+ 암은 다발성 골수종이고, 시험대상자는 이전에 항-CD38 항체 요법으로 치료받은 적이 있는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 항-CD38 항체는 다라투무맙(daratumumab) 또는 이사투시맙(isatuximab)인, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 40

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BCMA+ 암은 다발성 골수종이고, 시험대상자는 이전에 프로테아좀 저해제 또는 면역조절 약물로 치료받은 적이 있는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 프로테아좀 저해제는 보르테조밋(bortezomib), 카르필조밋(carfilzomib) 또는 이삭조밋(ixazomib)인, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 42

제40항에 있어서, 상기 면역조절 약물은 레날리도마이드(lenalidomide) 또는 포말리도마이드(pomalidomide)인, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시험대상자는 면역글로불린 G, 면역글로불린 A, 람다 경쇄, 또는 카파 경쇄로부터 선택되는 다발성 골수종 면역 하위유형으로 진단받은 적이 있는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 44

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시험대상자는 골수의 형질세포종(extramedullary plasmacytoma)을 갖는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 BCMA+ 암은 재발된 또는 불응성 다발성 골수종을 갖는, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시험대상자는 선행 요법에 대해 적어도 트리플-불응성(triple-refractory)인, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 시험대상자는 선행 요법에 대해 쿼드-불응성(quad-refractory) 또는 펜타-불응성(penta-refractory)인, 다발성 골수종의 치료 방법.

청구항 48

치료를 필요로 하는 시험대상자에서 다발성 골수종의 치료 방법에 사용하기 위한 투여 요법으로서, 상기 투여 요법은 투여 요법의 제1주 동안 초기 용량에서, 투여 요법의 제2주 동안 2차 용량에서, 그리고 투여 요법의 제3주 동안 3차 용량에서 시험대상자에게 이중특이적 항체를 투여하는 단계를 포함하고, 상기 3차 용량은 2차 용량과 동일하거나 그보다 크고 상기 2차 용량은 초기 용량보다 더 크며,

상기 이중특이적 항체는

(a) 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 92, 94, 96, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하거나,

(b) 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 100, 102, 104, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하는, 투여 요법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 92, 94, 96, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하는, 투여 요법.

청구항 50

제48항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 100, 102, 104, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하는, 투여 요법.

청구항 51

제49항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며,

제2 중쇄는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 투여 요법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 127의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는, 투여 요법.

청구항 53

제50항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 투여 요법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는, 투여 요법.

청구항 55

제48항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 초기 용량은 1 내지 5 mg인, 투여 요법.

청구항 56

제48항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 2차 용량은 3 내지 400 mg인, 투여 요법.

청구항 57

제48항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3차 용량은 3 내지 800 mg인, 투여 요법.

청구항 58

제48항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 초기 용량은 5 mg인, 투여 요법.

청구항 59

제48항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 2차 용량은 25 mg인, 투여 요법.

청구항 60

제48항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3차 용량은 50 내지 800 mg인, 투여 요법.

청구항 61

제48항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여 요법의 매주 투여 기간 동안 적어도 12주 동안 매주 3차 용량의 투여를 포함하는, 투여 요법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 투여 요법의 매주 투여 기간을 따르는 투여 요법의 격주 투여 기간 동안 2주마다 1회 3차 용량의 투여를 추가로 포함하는, 투여 요법.

청구항 63

제48항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시험대상자는 이전에 항-CD38 항체 요법, 프로테아좀 저해제 또는 면역조절 약물로 치료받은 적이 있는, 투여 요법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 항-CD38 항체는 다라투무맙 또는 이사톡시맙인, 투여 요법.

청구항 65

제63항에 있어서, 상기 프로테아좀 저해제는 보르테조미, 카르필조미 또는 이삭조미인, 투여 요법.

청구항 66

제63항에 있어서, 상기 면역조절 약물은 레날리도마이드 또는 포말리도마이드인, 투여 요법.

청구항 67

제48항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다발성 골수종은 재발된 또는 불응성 다발성 골수종인, 투여 요법.

청구항 68

제48항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시험대상자는 선행 요법에 대해 적어도 트리플-불응성인, 투여 요법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 시험대상자는 선행 요법에 대해 쿼드-불응성 또는 펜타-불응성인, 투여 요법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록 참조

[0002] 본 출원은 2020년 12월 4일에 생성되었고 81,956 바이트를 포함하는 파일 10702W001-서열로서 컴퓨터 판독 가능 형태로 제출된 서열 목록을 참조로서 포함한다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 BCMA와 CD3에 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체), 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] TNFRSF17, 또는 CD269로도 알려져 있는 B-세포 성숙화 항원(BCMA)은 신호 펩타이드가 결합되어 있고 시스테인-풍부 세포의 도메인을 함유하는 III형 막관통 단백질이다. 밀접하게 관련된 단백질들과 마찬가지로 BCMA는 발달의 뚜렷한 단계에서 B-세포 생존율을 촉진한다. BCMA는 오로지, B-세포 계통 세포에서, 특히 배중심(germinal center)의 여포간(interfollicular) 영역에서, 뿐만 아니라 형질모세포(plasmablast) 및 분화된 형질 세포 상에서 발현된다. BCMA는 형질 세포 분화 동안 선택적으로 유도되고, 골수 내의 장기-생존 형질 세포의 최적의 생존율에 필요하다. 다발성 골수종에서, BCMA는 악성 형질 세포 상에서 상승된 수준으로 광범위하게 발현되고, BCMA 발현은 정상 세포가 활성의 다발성 골수종으로 진전됨에 따라 증가된다. BCMA는 또한, 발텐스트롬 거대글로불린혈증, 버킷 림프종, 및 미만성 거대 B-세포 림프종을 포함한 다른 B-세포 악성물에서 발현된다. 문헌[Tai 등, *Immunotherapy*, 7(11):1187-1199, 2015].

[0006] CD3은 T 세포 수용체 복합체(TCR)와 회합되어 T 세포 상에서 발현되는 동종이량체 또는 이형이량체 항원이고, T 세포 활성화에 필요하다. 기능적 CD3은 4개의 상이한 사슬: 입실론, 제타, 델타 및 감마 중 2개의 이량체성 회합으로부터 형성된다. CD3 이량체성 배열은 감마/입실론, 델타/입실론 및 제타/제타를 포함한다. CD3에 대한 항체는 T 세포 상에서 CD3을 군집화하며, 이로써 펩타이드-로딩된(loaded) MHC 분자에 의한 TCR의 연대(engagement)와 유사한 방식으로 T 세포 활성화를 야기하는 것으로 제시되었다. 그러므로, 항-CD3 항체는 T 세포의 활성화를 수반하는 치료적 목적을 위해 제안되었다. 게다가, CD3 및 표적 항원에 결합할 수 있는 이중특이적 항체는 상기 표적 항원을 발현하는 조직 및 세포에 대한 T 세포 면역 반응을 표적화하는 단계를 수반하는 치료적 용도를 위해 제안되었다.

[0007] 다수 부류의 요법에 불응성인 다발성 골수종 환자는 감소된 비율의 전체 생존율을 갖는다(트리플(triple)-불응성 및 쿼드(quad)-불응성: 9.2개월, 및 펜타(penta)-불응성: 5.6개월). 문헌[Gandhi U. 등, *Leukemia* 33:2266-

2275, 2013]. BCMA와 CD3 둘 다에 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하여, BCMA를 표적화하는 항원-결합 분자는, BCMA를 발현하는 세포의 특이적인 표적화 및 T 세포-매개 사멸화가 요망되는 치료적 설정에서 유용할 것이다.

발명의 내용

- [0008] 일 양태에서, 본 발명은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, 상기 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) *시험관내* FACS 결합 검정법에 의해 측정된 바와 같이 약 100 nM 미만의 EC_{50} 으로, 표적 종양 세포 상의 인간 B 세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) *시험관내* FACS 결합 검정법에 의해 측정된 바와 같이 약 10^{-6} M 미만의 EC_{50} 으로, 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인(D2)을 포함한다.
- [0009] 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 *시험관내*에서 T 세포를 약 10^{-9} M 미만의 EC_{50} 으로 활성화시킨다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 *시험관내*에서 BCMA를 발현하는 종양 세포주의 T 세포 사멸화를 약 10^{-9} M 미만의 EC_{50} 으로 매개한다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 *시험관내*에서 BCMA를 발현하는 원발성 골수종 세포의 자가(autoologus) T 세포 사멸화를 약 10^{-8} M 미만의 EC_{50} 으로 매개한다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 115로 표시된 BCMA의 아미노산 잔기 1 내지 43과 상호작용한다.
- [0010] 일부 경우, 표적 종양 세포는 형질 세포이다. 일부 경우, 표적 종양 세포는 다발성 골수종을 앓고 있거나, BCMA를 발현하는 B 세포를 갖는 것으로 부분적으로 특징화된 또 다른 B-세포 장애를 앓고 있는 환자로부터 유래된다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 약 0.04 mg/kg 내지 약 4.0 mg/kg의 용량에서, BCMA 발현 종양 세포의 증식을 저해한다. 일부 경우, 용량은 0.04 mg/kg, 0.4 mg/kg 또는 4 mg/kg이다. 일부 경우, 용량은 약 0.001 mg/kg, 0.002 mg/kg, 0.003 mg/kg, 0.004 mg/kg, 0.005 mg/kg, 0.006 mg/kg, 0.007 mg/kg, 0.008 mg/kg, 0.009 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 20 mg/kg이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 적어도 7회의 투약 동안 적어도 매주 2회 이를 필요로 하는 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 적어도 매주 이를 필요로 하는 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 적어도 2주마다 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 적어도 4주마다 환자에게 투여된다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 골수종 세포, 림프종 세포 및 백혈병 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 BCMA+ 종양 세포의 증식을 저해한다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 H929 세포, MOLP-8 세포 및 OPM 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 BCMA+ 종양 세포의 증식을 저해한다.
- [0011] 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 시노몰구스 BCMA와 교차-반응한다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자는 시노몰구스 BCMA와 교차-반응하지 않는다.
- [0012] 일부 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 제1 항원-결합 도메인을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 (b) SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자의 제1 결합 도메인은 SEQ ID NO: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 일부 경우, 이중특이적 항원-결합 분자의 제1 결합 도메인은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함한다.
- [0013] 일부 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 제2 항원-결합 도메인을 포함하며, 상기 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 90 또는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 (b) SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는

경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 92 또는 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (b) SEQ ID NO: 94 또는 SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; 및 (c) SEQ ID NO: 96 또는 SEQ ID NO: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 92, 94, 96의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인; 또는 (b) SEQ ID NO: 100, 102, 104의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR; 또는 (b) SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함한다.

[0014] 또 다른 양태에서, 본 발명은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, (a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3, 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3을 포함하는 제1 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0015] 또 다른 양태에서, 본 발명은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, 상기 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 92, 94, 96의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0016] 또 다른 양태에서, 본 발명은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, 상기 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 100, 102, 104의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0017] 또 다른 양태에서, 본 발명은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, 상기 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) 인간 BCMA에 특이적으로 결합하고, SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 122, 및 124로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 HCVR의 CDR, 및 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 82, 123, 및 125로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 LCVR의 CDR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 122/123, 124/125, 2/82, 18/82, 34/82, 50/82, 66/82, 122/82, 및 124/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍으로부터의 CDR을 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16, 20-22-24-28-30-32, 36-38-40-44-46-48, 52-54-56-60-62-64, 68-70-72-76-78-80, 4-6-8-84-86-88, 20-22-24-84-86-88, 36-38-40-84-86-88, 52-54-56-84-86-88, 및 68-70-72-84-86-88로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 각각 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 122/123, 124/125, 2/82, 18/82, 34/82, 50/82, 66/82, 122/82, 및 124/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 90/82 및 98/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 CDR을 포함한다.

[0018] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BCMA에 결합하기 위해 경쟁하거나 기준 항체와 동일한 BCMA 상의 에피토프에 결합하는 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, 상기 기준 항체는 SEQ ID NO: 66/82의 아미노산 서열을 포

합하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 SEQ ID NO: 90/82 또는 SEQ ID NO: 98/82의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0019] 또 다른 양태에서, 본 발명은 인간 CD3에 결합하기 위해 경쟁하거나 기준 항체와 동일한 인간 CD3 상의 에피토프에 결합하는 단리된 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며, 상기 기준 항체는 SEQ ID NO: 66/82의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 SEQ ID NO: 90/82 또는 SEQ ID NO: 98/82의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0020] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 이중특이적 항원-결합 분자는 이중특이적 항체일 수 있다. 일부 경우, 이중특이적 항체는 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 경우, 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 이소타입 IgG1이다. 일부 경우, 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 이소타입 IgG4이다. 다양한 구현예에서, 이중특이적 항체는 동일한 이소타입의 야생형 힌지와 비교하여 Fc γ 수용체 결합을 감소시키는 키메라 힌지를 포함한다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 SEQ ID NO: 130의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함하는 제1 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 SEQ ID NO: 131의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함하는 제2 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄, SEQ ID NO: 127 또는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄, 및 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는 공통 경쇄를 포함한다.

[0021] 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기에서 또는 본원에서 고찰된 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체) 및 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0022] 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기에서 또는 본원에서 고찰된 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다.

[0023] 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 고찰된 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터를 제공한다.

[0024] 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 고찰된 핵산 분자 또는 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0025] 또 다른 양태에서, 본 발명은 시험대상자에서 혈장 세포 종양의 성장을 저해하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기에서 또는 본원에서 고찰된 바와 같은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자, 또는 상기 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물을 상기 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 경우, 형질 세포 종양은 다발성 골수종이다. 일부 경우, 상기 방법은 제2 치료제 또는 치료 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 항종양제(예를 들어, 멜팔란, 빈크리스틴(Oncovin), 사이클로포스파미드(Cytoxan), 에토포사이드(VP-16), 독소루비신(Adriamycin), 리포솜 독소루비신(Doxil), 오벤다무스틴(obendamustine)(Treanda), 또는 시험대상자에서 혈장 세포 종양을 치료하기에 효과적인 것으로 알려진 임의의 다른 것들을 포함한 화학치료제)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 스테로이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 탈리도마이드, 레날리도마이드 및 보르테조미드를 포함한 표적화된 요법을 포함하며, 이들은 새로 진단된 환자를 치료하기 위해 승인된 요법이다. 레날리도마이드(lenalidomide), 포말리도마이드(pomalidomide), 보르테조미드(bortezomib), 카르필조미드(carfilzomib), 파노비노스탯(panobinostat), 익사조미드(ixazomib), 엘로투주맙(elotuzumab) 및 다라투무맙(daratumumab)이 반복적 골수종을 치료하기에 효과적인 제2 치료제의 예이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 방사선 요법 또는 줄기세포 이식을 포함하는 섭생이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 면역조절제일 수 있다. 소정의 구현예에서, 제2 치료제는 보르테조미드(Velcade), 카르필조미드(Kyprolis), 익사조미드(Ninlaro)을 포함한 프로테아좀 저해제일 수 있다. 소정의 구현예에서 제2 치료제는 파노비노스탯(Farydak)과 같은 히스톤 데아세틸라제 저해제일 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 제2 치료제는 단일클론 항체, 항체 약물 접합체, 항종양제에 접합된 이중특이적 항체, 관문 억제제 또는 그의 조합일 수 있다.

[0026] 또 다른 양태에서, 본 발명은 다발성 골수종을 앓고 있거나 또 다른 BCMA-발현 B 세포 악성물을 앓고 있는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기에서 또는 본원에서 고찰된 바와 같은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자, 또는 상기 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물을 상기 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 경우, BCMA-발현 B 세포 악성물은 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 버킷 림프종 및 미만성 거대 B-세포 림프종, 비-호지킨 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 여포성 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, 림프형질세포성 림프종, 및 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 경우, 상기 방법은 제2 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 항종양제(화학치료제), DNA 알킬화제, 면역조절제, 프로테아좀 저해제, 히스톤 데아세틸라제 저해제 방사선요법, 줄기세포 이식, 면역조절제, 중

양 세포 표면 상에서 발현되는 항원과 상호작용하는 모노클로날 항체, 형질 세포 표면 상의 상이한 항원과 상호작용할 수 있는 본원에 기재된 것들 이외의 모노클로날 항체, 종양 세포 표면 상의 항원에 결합하는 하나의 아암(arm) 및 T 세포 상의 항원에 결합하는 다른 아암을 갖는 이중특이적 항체, 항체 약물 접합체, 항종양제와 접합된 이중특이적 항체, 체크포인트 저해제, 예를 들어, PD-1 또는 CTLA-4를 표적화하는 체크포인트 저해제, 또는 이들의 조합을 포함한다. 소정의 구현예에서, 상기 관문 억제제는 켈브롤리주맵(Keytruda), 니볼루맵(Opdivo) 또는 세미플리맵(REGN2810)과 같은 PD-1 저해제에서 선택될 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 관문 억제제는 아테졸리주맵(Tecentriq), 아벨루맵(Bavencio) 또는 듀르발루맵(Imfinzi)과 같은 PD-L1 억제제에서 선택될 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 관문 억제제는 이필리무맵(Yervoy)과 같은 CTLA-4 억제제에서 선택될 수 있다. 본 발명의 항체와의 접합에서 사용될 수 있는 다른 조합은 상기 설명되어 있다.

[0027] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BCMA-발현 종양을 앓고 있는 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기에서 또는 본원에서 고찰된 바와 같은 단리된 이중특이적 항원-결합 분자, 또는 상기 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물을 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 분자와 조합하여 상기 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 경우, 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 항-PD-1 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 세미플리맵(REGN2810)이다. 다양한 구현예에서, 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)와 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편(예를 들어, 항-PD-1 항체)의 조합은 BCMA-발현 종양의 치료에서 상승작용적 치료 효과를 발휘한다.

[0028] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BCMA의 발현과 관련된 질환 또는 장애의 치료에서, 상기에서 또는 본원에서 고찰된 이중특이적 항원-결합 분자, 또는 상기에서 또는 본원에서 고찰된 약제학적 조성물의 용도를 제공한다. 일부 경우, 상기 질환 또는 장애는 암이다. 일부 구현예에서, 상기 암은 다발성 골수종이다. 일부 경우, 상기 질환 또는 장애는 캐슬만병(Castleman disease)이다. 일부 경우, 항원-결합 분자는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 조합되어 사용되기 위한 것이며, 선택적으로 상기 항-PD-1 항체는 세미플리맵(cemiplimab)(REGN2810)이다.

[0029] 또 다른 양태에서, 본 발명은 BCMA의 발현과 관련된 질환 또는 장애의 치료를 위한 약제의 제조에서, 상기에서 또는 본원에서 고찰된 이중특이적 항원-결합 분자의 용도를 추가로 포함한다. 일부 경우, 상기 질환 또는 장애는 암이다. 일부 구현예에서, 상기 암은 다발성 골수종이다. 나아가, 본 발명은 시험대상자에서 BCMA+ 암(예를 들어, 다발성 골수종)의 치료에 사용하기 위한 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)를 제공한다.

[0030] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 시험대상자에서 다발성 골수종의 치료 방법을 제공하며, 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하는 이중특이적 항체를 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 92, 94, 96, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 이중특이적 항체는 매주 적어도 1 mg의 용량으로 시험대상자에게 투여된다. 일부 경우, 이중특이적 항체는 시험대상자에게 매주 또는 2주마다 적어도 1 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 1.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 4 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 6 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 7 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 8 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 9 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 10 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 15 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 20 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 25 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 30 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 35 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 40 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 45 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 50 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 55 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 60 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 65 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 70 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 75 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 80 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 85 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 90 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 95 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 100 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 150 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 200 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 250 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 300 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 350 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 400 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 450 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 500 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 550 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 600 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 650 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 700 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 750 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 800 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 850 mg, 또는 매주

또는 적어도 2주마다 적어도 900 mg의 용량으로 투여된다.

[0031] 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 127의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 시험대상자에서 다발성 골수종의 치료 방법을 제공하며, 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하는 이중특이적 항체를 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 100, 102, 104, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 이중특이적 항체는 매주 적어도 1 mg의 용량으로 시험대상자에게 투여된다. 일부 경우, 이중특이적 항체는 시험대상자에게 매주 또는 2주마다 적어도 1 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 1.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 4 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 6 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 7 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 8 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 9 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 10 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 15 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 20 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 25 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 30 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 35 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 40 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 45 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 50 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 55 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 60 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 65 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 70 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 75 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 80 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 85 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 90 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 95 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 100 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 150 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 200 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 250 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 300 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 350 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 400 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 450 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 500 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 550 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 600 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 650 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 700 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 750 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 800 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 850 mg, 또는 매주 또는 적어도 2주마다 적어도 900 mg의 용량으로 투여된다.

[0033] 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함한다.

[0034] 상기에서 또는 본원에 고찰된 임의의 방법에서, 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체는 분할 초기 용량을 포함하는 투여 요법으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체는 시험대상자에게 매주 적어도 1 mg의 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체의 용량은 시험대상자에게 매주 3 mg 내지 900 mg의 용량으로 투여된다. 일부 경우, 이중특이적 항체는 시험대상자에게 매주 또는 2주마다 적어도 1 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 1.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 4 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 6 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 7 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 8 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 9 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 10 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 15 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 20 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 25 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 30 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 35 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 40 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 45 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 50 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 55 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 60 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 65 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 70 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 75 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 80 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 85 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 90 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 95 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 100 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 150 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 200 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 250 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 300 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 350

mg, 매주 또는 2주마다 적어도 400 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 450 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 500 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 550 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 600 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 650 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 700 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 750 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 800 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 850 mg, 또는 매주 또는 적어도 2주마다 적어도 900 mg의 용량으로 투여된다.

- [0035] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, BCMA+ 암은 다발성 골수종일 수 있고, 항-BCMA x 항-CD3 이중 특이적 항체를 투여받는 시험대상자는 이전에 치료받은 적이 있다.
- [0036] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, BCMA+ 암은 다발성 골수종일 수 있고, 항-BCMA x 항-CD3 이중 특이적 항체를 투여받는 시험대상자는 이전에 항-CD38 항체 요법으로 치료받은 적이 있다. 일부 경우, 상기 항-CD38 항체는 다라투무맙(daratumumab) 또는 이사투시맙(isatuximab)이다.
- [0037] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, BCMA+ 암은 다발성 골수종일 수 있고, 항-BCMA x 항-CD3 이중 특이적 항체를 투여받는 시험대상자는 이전에 프로테아좀 저해제 또는 면역조절 약물로 치료받은 적이 있다. 일부 경우, 프로테아좀 저해제는 보르테조밋, 카르필조밋 또는 이삭조밋이다. 일부 경우, 면역조절 약물은 레날리도마이드 또는 포말리도마이드이다.
- [0038] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, 시험대상자는 재발된 또는 불응성 다발성 골수종을 가질 수 있다. 일부 경우, 시험대상자는 상기에서 또는 본원에서 고찰된 이전의 치료 중 임의의 하나 이상을 포함한 하나 이상(예를 들어, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 또는 5개 이상)의 선행 전신 치료 후 재발된 또는 불응성 다발성 골수종을 갖는다.
- [0039] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, 시험대상자는 면역글로불린 G, 면역글로불린 A, 람다 경쇄, 또는 카파 경쇄로부터 선택되는 다발성 골수종 면역 하위유형을 갖는 환자일 수 있다.
- [0040] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, 시험대상자는 골수와 형질세포종(extramedullary plasmacytoma)을 가질 수 있다.
- [0041] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 임의의 방법에서, 시험대상자는 선행 요법에 대해 적어도 트리플-불응성이다(즉, 적어도 3개의 선행 라인 요법 후 진행됨). 일부 경우, 시험대상자는 선행 요법에 대해 쿼드-불응성이다. 일부 경우, 시험대상자는 선행 요법에 대해 펜타-불응성이다.
- [0042] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 시험대상자에서 다발성 골수종의 치료 방법에 사용하기 위한 투여 요법을 제공하며, 상기 투여 요법은 투여 요법의 제1주 동안 초기 용량에서, 투여 요법의 제2주 동안 2차 용량에서, 그리고 투여 요법의 제3주 동안 3차 용량에서 시험대상자에게 이중특이적 항체를 투여하는 단계를 포함하고, 상기 3차 용량은 2차 용량과 동일하거나 그보다 크고 상기 2차 용량은 초기 용량보다 더 크며, 상기 이중특이적 항체는: (a) 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하고, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하며, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 92, 94, 96, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하거나, (b) 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하고, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하며, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 100, 102, 104, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다.
- [0043] 투여 요법의 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 92, 94, 96, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우, 제1

중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 127의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함한다.

[0044] 투여 요법의 일부 구현예에서, 이중특이적 항체는 인간 B-세포 성숙화 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 중쇄와 보편 경쇄 쌍, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 중쇄와 보편 경쇄 쌍을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68, 70, 72, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 및 3개의 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 100, 102, 104, 84, 86, 및 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄 가변 영역을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄 가변 영역을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 경우, 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하고, 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함한다.

[0045] 투여 요법의 임의의 다양한 구현예에서, 초기 용량은 1 mg 내지 5 mg이다. 투여 요법의 임의의 다양한 구현예에서, 2차 용량은 3 mg 내지 400 mg이다. 투여 요법의 임의의 다양한 구현예에서, 3차 용량은 3 mg 내지 800 mg이다. 일부 구현예에서, 초기 용량은 5 mg이며, 2차 용량은 25 mg이고, 3차 용량은 50 mg 내지 800 mg이다. 일부 경우, 투여 요법은 상기 투여 요법의 매주 투여 기간 동안 적어도 12주(예를 들어, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주 이상) 동안 매주 3차 용량의 투여를 포함한다. 일부 경우, 투여 요법은 상기 투여 요법의 매주 기간을 따르는 투여 요법의 격주 투여 기간 동안 2주마다 1회 3차 용량의 투여를 추가로 포함한다. 일부 경우, 투여 요법은 3주마다 1회, 또는 4주마다 1회의 3차 용량의 투여를 포함한다. 다양한 구현예에서, 용량은 매주 또는 2주마다 적어도 1 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 1.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 2.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.0 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 3.5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 4 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 5 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 6 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 7 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 8 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 9 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 10 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 15 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 20 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 25 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 30 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 35 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 40 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 45 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 50 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 55 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 60 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 65 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 70 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 75 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 80 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 85 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 90 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 95 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 100 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 150 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 200 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 250 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 300 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 350 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 400 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 450 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 500 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 550 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 600 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 650 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 700 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 750 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 800 mg, 매주 또는 2주마다 적어도 850 mg, 또는 매주 또는 2주마다 적어도 900 mg일 수 있다.

[0046] 투여 요법의 임의의 다양한 구현예에서, 시험대상자는 이전에 항-CD38 항체 요법, 프로테아좀 저해제, 또는 면역조절 약물로 치료받은 적이 있다. 일부 경우, 상기 항-CD38 항체는 다라투무맙 또는 이사특시맙이다. 일부 경우, 프로테아좀 저해제는 보르테조밋, 카르필조밋 또는 이삭조밋이다. 일부 경우, 면역조절 약물은 레날리도마이드 또는 포말리도마이드이다.

[0047] 투여 요법의 임의의 다양한 구현예에서, 다발성 골수종은 재발된 또는 불응성 다발성 골수종이다.

[0048] 투여 요법의 임의의 다양한 구현예에서, 시험대상자는 선행 요법에 대해 적어도 트리플-불응성이다. 일부 경우, 시험대상자는 선행 요법에 대해 쿼드-불응성 또는 펜타-불응성이다.

[0049] 다양한 구현예에서, 상기에 또는 본원에서 고찰된 구현예의 임의의 특징 또는 구성요소는 조합될 수 있으며, 이러한 조합은 본 발명의 범주 내에 포괄된다. 상기 고찰된 또는 본원의 임의의 특정한 값은 상기 고찰된 또는 본원의 다른 관련 값과 조합되어 범위의 상단 및 하단을 나타내는 값을 가지는 상기 범위를 나열하고, 그러한 범위는 본 개시의 범주 내에 포함된다.

[0050] 다른 구현예들은 하기의 상세한 설명의 검토로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0051] 도 1 및 도 2는 *생체내에서* 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체 REGN5458 및 REGN5459 각각에 의한 BCMA-발현 NCI-H929 인간 다발성 골수종 종양 세포의 예방적 용량-의존적 용량 저해를 예시한다. NCI-H929 세포는 높은 수준의 BCMA를 발현한다.
- 도 3 및 도 4는 *생체내에서* 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체 REGN5458 및 REGN5459 각각에 의한 확립된 BCMA-발현 NCI-H929 인간 다발성 골수종 종양 세포의 치료적 용량-의존적 용량 저해를 예시한다. NCI-H929 세포는 높은 수준의 BCMA를 발현한다.
- 도 5 및 도 6는 *생체내에서* 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체 REGN5458 및 REGN5459 각각에 의한 BCMA-발현 MOLP-8 인간 다발성 골수종 종양 세포의 예방적 용량-의존적 용량 저해를 예시한다. MOLP-8 세포는 중간 수준의 BCMA를 발현한다.
- 도 7은 *생체내에서* 대조군과 비교하여, 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체 REGN5458 및 REGN5459 각각에 의한 BCMA-발현 OPM-2 인간 다발성 골수종 종양 세포의 확립된 종양 부담(burden)에서 치료적 감소를 예시한다. OPM-2 세포는 낮은 수준의 BCMA를 발현한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0052] 본 발명을 설명하기 전에, 본 발명은 특정 방법 및 기재된 실험 조건으로 제한되지 않으며, 이러한 방법 및 조건은 변할 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 또한, 본 발명의 범위는 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 설명하는 목적을 위한 것이며 제한하려는 의도는 아님을 이해해야 한다.
- [0053] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자가 일반적으로 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 가진다. 본원에서 사용되는 경우, 용어 "약"은 나열된 특정 수치에 대한 언급에서 사용되는 경우 그 값이 나열된 값과 1% 이하로 달라질 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 본원에서 사용되는 경우, 표현 "약 100"은 99와 101 및 그 사이의 모든 값(예를 들어, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.
- [0054] 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질은 이제 설명된다. 본 명세서에 언급된 모든 특허, 출원 및 비특허 출판물은 그 전문이 참조에 의해 본원에 원용된다.
- [0055] **정의**
- [0056] 본원에서 사용되는 바와 같이 표현 "CD3"은 다분자 T 세포 수용체(TCR)의 부분으로서 T 세포에서 발현되고, 4개의 수용체 체 CD3-엡실론, CD3-델타, CD3-제타 및 CD3-감마 중 2종의 회합에서 형성된 동종이량체 또는 이형이량체로 이루어진 항원을 지칭한다. 인간 CD3-엡실론은 SEQ ID NO: 116에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하며; 인간 CD3-델타는 SEQ ID NO: 117에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고; 인간 CD3-제타는 SEQ ID NO: 118에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하며; CD3-감마는 SEQ ID NO 119에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 본원에서 단백질, 폴리펩타이드 및 단백질 단편에 대한 모든 언급은 비인간 종에서 유래된 것으로 분명하게 명시되지 않는 한 각각의 단백질, 폴리펩타이드 또는 단백질 단편의 인간 버전을 지칭하도록 의도된다. 게다가, 표현 "CD3"은 비인간 종, 예를 들어, "마우스 CD3", "원숭이 CD3" 등에서 유래된 것으로 명시되지 않는 한, 인간 CD3을 의미한다.
- [0057] 본원에 사용된 바와 같이, "CD3에 결합하는 항체" 또는 "항-CD3 항체"는 단일 CD3 서브유닛(예를 들어, 엡실론, 델타, 감마 또는 제타)을 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원-결합 단편, 뿐만 아니라 2개의 CD3 서브유닛(예를 들어, 감마/엡실론, 델타/엡실론, 및 제타/제타 CD3 이량체)의 이량체성 복합체를 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 본 발명의 항체 및 이의 항원-결합 단편은 가용성 CD3 및/또는 세포 표면 발현된 CD3에 결합할 수 있다. 가용성 CD3은 천연 CD3 단백질뿐만 아니라 막통과 도메인이 결합되어 있거나 또는 달리 세포막과 관련없는, 예를 들어, 단량체성 및 이량체성 CD3 작제물과 같은, 재조합 CD3 단백질 변이체를 포함한다.
- [0058] 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "세포 표면-발현된 CD3"은 CD3 단백질의 적어도 일부가 세포막의 세포의 측면에 노출되고 항체의 항원-결합 부분에 대해 접근 가능하도록 *시험관내에서* 또는 *생체내에서* 세포 표면 상에서 발현된 하나 이상의 CD3 단백질(들)을 의미한다. "세포 표면 발현 CD3"은 세포의 막에서 기능성 T 세포 수용체의 내용물 내에 함유된 CD3 단백질을 함유한다. 표현 "세포 표면 발현 CD3"은 세포 표면에서 동종이량체 또는 이종이

량체(예를 들어, 감마/입실론, 델타/입실론, 및 제타/제타 CD3 이량체)의 부분으로서 발현된 CD3 단백질을 포함한다. 또한, 표현 "세포 표면 발현 CD3"은 세포 표면에서, 다른 CD3 사슬 유형 없이, 그 자체로 발현되는 CD3 사슬(예를 들어, CD3-입실론, CD3-델타 또는 CD3-감마)을 포함한다. "세포 표면 발현 CD3"은 CD3 단백질을 정상적으로 발현하는 세포 표면에서 발현된 CD3 단백질을 포함할 수 있거나 또는 이로 구성될 수 있다. 대안적으로, "세포 표면 발현 CD3"은 그 세포 표면에서 인간 CD3을 정상적으로 발현하지는 않지만 그 표면에서 CD3을 발현하도록 인공적으로 조작된 세포의 표면에서 발현된 CD3 단백질을 포함할 수 있거나 또는 이로 구성될 수 있다.

[0059] 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "BCMA"는 B-세포 성숙화 항원을 지칭한다. BCMA(TNFRSF17 및 CD269로도 알려져 있음)는 악성 형질 세포 상에서 발현되는 세포 표면 단백질이고, B 세포 성숙 및 면역글로불린-생성 혈장 세포로의 분화를 조절하는 데 있어서 중심적인 역할을 한다. 인간 BCMA의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 115에 제시되어 있고, 또한 GenBank 기탁 번호 NP_001183.2에서 찾을 수 있다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같이, "BCMA에 결합하는 항체" 또는 "항-BCMA 항체"는 BCMA를 특이적으로 인식하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0061] 용어 "항원-결합 분자"는, 예를 들어, 이중 특이적 항체를 포함하는 항체 및 항체의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0062] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는 특정 항원(예를 들어, BCMA 또는 CD3)에 특이적으로 결합하거나 이와 상호작용하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 임의의 항원-결합 분자 또는 분자 복합체를 의미한다. 용어 "항체"는 이항화 결합에 의해 상호-연결된 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)인 4개의 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 면역글로불린 분자뿐만 아니라 그의 다량체(예를 들어, IgM)를 포함한다. 또한, 용어 "항체"는 이항화 결합에 의해 상호-연결된 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)인 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된 면역글로불린 분자를 포함한다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H 로 약칭) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 상기 중쇄 불변 영역은 C_H1 , C_H2 및 C_H3 인 3개의 도메인을 포함한다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L 로 약칭) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 상기 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인(C_L1)을 포함한다. 상기 V_H 및 V_L 영역은, 프레임워크 영역(FR)이라고 하는, 더 보존된 영역이 개재된(interspersed), 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는, 초가변 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각 V_H 및 V_L 은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 이는 하기 순서 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4로 아미노-말단 내지 카르복시-말단에서 배열된다. 본 발명의 상이한 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 항-CD3 항체(또는 이의 항원-결합 부분)의 FR은 인간 생식계열 서열과 동일할 수 있거나, 천연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 아미노산 공통(consensus) 서열은 2개 이상의 CDR의 병렬 분석에 기반하여 정의될 수 있다.

[0063] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 또한 완전 항체 분자의 항원-결합 단편을 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 천연적으로 발생하는, 효소적으로 수득 가능한, 합성인, 또는 유전적으로 조작된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원-결합 단편은 예를 들어, 단백질 가수분해 소화와 같은 임의의 적합한 표준 기법, 또는 항체 가변 및 선택적 불변 도메인을 인코딩하는 DNA의 조작 및 발현을 수반하는 재조합 유전공학적 기법을 사용하여 완전 항체 분자에서 유래될 수 있다. 그러한 DNA는 공지된 및/또는 예를 들어 상업적인 출처인 DNA 라이브러리(예를 들어, 파지-항체 라이브러리 포함)에서 용이하게 이용 가능하거나, 또는 합성될 수 있다. 상기 DNA는, 예를 들어, 하나 이상의 가변 도메인 및/또는 불변 도메인을 적합한 구성으로 배열시키기 위해, 또는 코돈을 도입하기 위해, 시스템인 잔기를 생성하기 위해, 아미노산을 변형, 첨가 또는 결실시키는 등을 위해 화학적으로 또는 분자생물학 기법을 사용함으로써 시퀀싱 및 조작될 수 있다.

[0064] 항원-결합 단편의 비제한적인 예는: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단쇄 Fv(scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체의 초가변 영역을 모방하는 아미노산 잔기로 구성된 최소 인지 단위(unit)(예를 들어, CDR3 펩타이드와 같은 단리된 상보성 결정 영역(CDR)) 또는 구속형(constrained) FR3-CDR3-FR4 펩타이드를 포함한다. 다른 조작된 분자, 예컨대 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결합 항체, 키메라 항체, CDR-이식 항체, 디아바디(diabody), 트리아바디(triobody), 테트라바디(tetrabody), 미니바디(minibody), 나노바디(nanobody)(예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디 등), 소형 모듈식 면역약제(SMIP; small modular immunopharmaceutical), 및 상어 가변 IgNAR 도메인이 또한, 본원에 사용된 바와 같은 표현 "항원-결합 단편" 내에 포괄된다.

[0065] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 상기 가변 도메인은 임의의

크기 또는 아미노산 조성을 가질 수 있고 일반적으로 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 또는 그 내에서 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이다. V_L 도메인과 회합된 V_H 도메인을 가지는 항원-결합 단편에서, 상기 V_H 및 V_L 도메인은 서로에 비해 임의의 적합한 배열로 배치될 수 있다. 예를 들어, 상기 가변 영역은 이량체일 수 있고 V_H - V_H , V_H - V_L 또는 V_L - V_L 이량체를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원-결합 단편은 단량체 V_H 또는 V_L 도메인을 함유할 수 있다.

[0066] 소정의 구현예에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 연결된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 도메인 및 불변 도메인의 비제한적인 예시적인 구성은 (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ; 및 (xiv) V_L - C_L 을 포함한다. 상기 나열된 임의의 예시적인 구성을 포함한 가변 도메인 및 불변 도메인의 임의의 구성에서, 상기 가변 및 불변 도메인은 서로 직접 연결될 수 있거나 또는 완전 또는 부분 힌지 또는 링커 영역에 의해 연결될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩타이드 분자에서 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이의 가요성 또는 반(semi)가요성 연결을 초래하는 적어도 2개(예를 들어, 5, 10, 15, 20, 40, 60 개 또는 그 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 (예를 들어, 이항화 결합(들)에 의해) 서로 및/또는 하나 이상의 단량체성 V_H 또는 V_L 도메인과의 비공유 회합에서 상기 나열된 임의의 가변 및 불변 도메인 입체구조의 동종이량체 또는 이종이량체(또는 다른 다량체)를 포함할 수 있다.

[0067] 완전 항체 분자와 마찬가지로, 항원-결합 단편은 단일특이적 또는 다중특이적(예를 들어, 이중특이적)일 수 있다. 항체의 다중특이적 항원-결합 단편은 전형적으로, 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함할 것이며, 여기서 각각의 가변 도메인은 별개의 항원에, 또는 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중특이적 항체 형식을 포함한 임의의 다중특이적 항체 형식은 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서 사용하기 위해 당업계에서 이용 가능한 일상적인 기법을 사용하여 개조될 수 있다.

[0068] 본 발명의 항체는 상보체-의존적 세포독성(CDC) 또는 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC)을 통해 작용할 수 있다. "보체-의존적 세포독성"(CDC)은 보체의 존재 하에 본 발명의 항체에 의한 항원-발현 세포의 용해를 지칭한다. "항체-의존적 세포-매개 세포독성"(ADCC)은 Fc 수용체(FcR)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포(예를 들어, 자연 살해(NK: Natural Killer) 세포, 호중구 및 대식세포)가 표적 세포 상의 결합된 항체를 인식하고, 이로써 표적 세포의 용해를 유발하는 세포-매개 반응을 지칭한다. CDC 및 ADCC는 잘 알려져 있고 당업계에서 이용 가능한 검정법을 사용하여 측정될 수 있다. (예를 들어, 미국 특허 제5,500,362호 및 제5,821,337호, 및 문헌 [Clynes 등, 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652- 656] 참조). 항체의 불변 영역은 보체를 고정시키고 세포-의존적 세포독성을 매개하는 항체의 능력에 있어서 중요하다. 그러므로, 항체의 이소타입은 세포독성을 매개하기 위해 그것이 항체에 대해 바람직한지의 여부에 기초하여 선택될 수 있다.

[0069] 본 발명의 소정의 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 단일특이적 항체 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 인간 항체이다. 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래한 가변 영역 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하려고 한다. 본 발명의 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 인코딩되지 않는 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이발생에 의해 또는 생체내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 예를 들어, CDR, 특히 CDR3에 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "인간 항체"는 마우스와 같은 다른 포유류 종의 생식계열에서 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열에 이식되어 있는 항체를 포함하지 않도록 의도된다.

[0070] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체는 재조합 인간 항체일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "재조합 인간 항체"는, 숙주 세포 내로 형질주입된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체(하기에 추가로 기재됨), 재조합, 조합적 항체 라이브러리로부터 단리된 항체(하기에 추가로 기재됨), 인간 면역글로불린 유전자에 대해 유전자이식(transgenic)인 동물(예를 들어 마우스)로부터 단리된 항체(예를 들어 문헌[Taylor 등(1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295] 참조) 또는 다른 DNA 서열로의 인간 면역글로불린 유전자 서열의 스포라이싱을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체와 같이 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체를 포함하고자 한다. 그러한 재조합 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에서 유래된 가변 영역 및 불변 영역을 갖는다. 그러나 특정 소정의 구현예에서, 그러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이발생(또는, 인간 Ig 서열에 대한 유전자이식 동물이 사용되는 경우, 생체내 체세포 돌연변이

발생)을 거치고 따라서 상기 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은, 인간 생식계열 V_H 서열 및 V_L 서열에서 유래 및 이와 관련이 있고, *생체내* 상기 인간 항체 생식계열 레파토리 내에 천연적으로 존재하지 않을 수 있다.

[0071] 인간 항체는 힌지 이종성(heterogeneity)과 관련된 2가지 형태로 존재할 수 있다. 제1 형태에서, 면역글로불린 분자는 대략 150 kDa 내지 160 kDa의 안정한 4개 사슬 구조물을 포함하며, 이러한 구조물 내에서 이량체는 사슬 간 중쇄 이황화 결합에 의해 함께 고정된다. 제2 형태에서, 이량체는 사슬간 이황화 결합을 통해 연결되지 않고, 공유 결합된 경쇄 및 중쇄로 구성된 약 75 kDa 내지 80 kDa의 분자(절반-항체)가 형성된다. 이들 형태는 친화 정제 이후에도 분리하는데 극히 어려웠다.

[0072] 다양한 온전한 IgG 이소타입에서 제2 형태의 출현 빈도는 항체의 힌지 영역 이소타입과 관련된 구조적 차이로 인한 것이지만 이로 한정되는 것은 아니다. 인간 IgG4 힌지의 힌지 영역에서의 단일 아미노산 치환은 제2 형태(문헌[Angal 등 (1993) Molecular Immunology 30: 105])의 출현을, 인간 IgG1 힌지를 사용하여 전형적으로 관찰되는 수준으로 유의하게 감소시킬 수 있다. 본 발명은 요망되는 항체 형태의 수율을 향상시키기 위해 예를 들어, 생성 시에 바람직할 수 있는 하나 이상의 돌연변이를 힌지, C_H2 또는 C_H3 영역에 갖는 항체를 포괄한다.

[0073] 본 발명의 항체는 단리된 항체일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "단리된 항체"는 그의 천연 환경의 적어도 하나의 성분에서 식별 및 분리 및/또는 회수된 항체를 의미한다. 예를 들어, 유기체의 적어도 하나의 구성요소로부터, 또는 항체가 천연적으로 존재하거나 천연적으로 생성되는 조직 또는 세포로부터 분리되거나 제거된 항체는 본 발명의 목적을 위한 "단리된 항체"이다. 단리된 항체는 또한 재조합 세포 내에서 *제자리(in situ)* 항체를 포함한다. 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 또는 단리 단계를 거친 항체이다. 특정 구현예에 따르면, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0074] 본 발명은 또한, BCMA에 결합하는 1-아암 항체를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "1-아암 항체"는 단일 항체 중쇄 및 단일 항체 경쇄를 포함하는 항원-결합 분자를 의미한다. 본 발명의 1-아암 항체는 표 1에 제시된 바와 같은 임의의 HCVR/LCVR 또는 CDR 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0075] 본원에 개시된 항-BCMA 또는 항-BCMA x 항-CD3 항체는 이러한 항체가 유래된 상응하는 생식계열 서열과 비교하여 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 그러한 돌연변이는, 본원에 개시된 아미노산 서열을 예를 들어, 공개된 항체 서열 데이터베이스에서 입수 가능한 생식계열 서열과 비교하여 용이하게 확인될 수 있다. 본 발명은 본원에 개시된 임의의 아미노산 서열로부터 유래된 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은, 상기 항체가 유래된 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 또 다른 인간 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 상응하는 생식계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이된다(이러한 서열 변화는 본원에서 종합적으로 "생식계열 돌연변이"로 지칭됨). 당업자라면 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 시작하여, 하나 이상의 개별 생식계열 돌연변이 또는 이들의 조합을 포함하는 수많은 항체 및 항원-결합 단편을 용이하게 생산할 수 있다. 특정 구현예에서, V_H 도메인 및/또는 V_L 도메인 내의 모든 구조물 및/또는 CDR 잔기는, 항체가 유래한 원래의 생식계열 서열에서 발견되는 잔기로 역돌연변이된다. 다른 구현예에서, 단지 특정 잔기, 예를 들어 FR1의 처음 8개 아미노산 내에서 또는 FR4의 마지막 8개 아미노산 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만 원래의 생식계열 서열로 역돌연변이된다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 구조물 및/또는 CDR 잔기(들)는 상이한 생식계열 서열(즉, 항체가 원래 유래한 생식계열 서열과 상이한 생식계열 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 더욱이, 본 발명의 항체는 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내에서 2개 이상의 생식계열 돌연변이의 임의의 조합을 함유할 수 있고, 예를 들어, 소정의 개별 잔기는 특정 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이되는 한편, 원래의 생식계열 서열과 상이한 소정의 다른 잔기는 유지되거나 상이한 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 하나 이상의 생식계열 돌연변이를 함유하는 항체 및 항원-결합 단편은, 일단 수득되면, 하나 이상의 요망되는 특성, 예컨대 향상된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 향상되거나 증강된 길항제성 또는 작용제성 생물학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등에 대해 용이하게 시험될 수 있다. 이런 일반적인 방식에서 수득되는 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포괄된다.

[0076] 본 발명은 또한, 하나 이상의 보존적 치환을 갖는 본원에 개시된 임의의 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열의 변이체를 포함하는 항-BCMA 또는 항-BCMA x 항-CD3 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은, 본원의 표 1 및 표 3에 제시된 임의의 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열과 비교하여, 예를 들어, 10개 이하, 8개 이하, 6

개 이하, 또는 4개 이하 등의 보존적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항-BCMA 또는 항-BCMA x 항-CD3 항체, 또는 WO 2014/047231 또는 WO 2017/053856에 개시된 항-CD3 항체를 포함하며, 이들은 각각 참조에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0077] 용어 "에피토프"는, 파라토프(paratope)로도 알려진 항체 분자의 가변 영역 내의 특이적인 항원-결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 지칭한다. 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원 상의 상이한 영역에 결합할 수 있고, 상이한 생물학적 효과를 가질 수 있다. 에피토프는 형태적(conformational) 또는 선형일 수 있다. 형태적 에피토프는 선형 폴리펩타이드 사슬의 상이한 분절의 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생성된다. 선형 에피토프는 폴리펩타이드 사슬에서 인접한 아미노산 잔기에 의해 생성된 에피토프이다. 특정 상황에서, 에피토프는 상기 항원의 당류, 포스포릴기 또는 설포닐기의 모이어티를 포함할 수 있다.

[0078] 핵산 또는 이의 단편을 지칭할 때 용어 "실질적인 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실을 동반하여 또 다른 핵산(또는 이의 상보적 가닥)과 최적으로 정렬될 때, 하기에 고찰된 바와 같이 FASTA, BLAST 또는 Gap과 같은 임의의 잘 알려진 서열 동일성 알고리즘에 의해 측정된 바와 같이, 뉴클레오타이드 염기의 적어도 약 95%, 더욱 바람직하게는 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오타이드 서열 동일성이 존재함을 나타낸다. 특정 경우에서, 참조 핵산 분자에 대한 실질적인 동일성을 갖는 핵산 분자는 상기 참조 핵산 분자에 의해 인코딩되는 폴리펩타이드와 동일하거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 인코딩할 수 있다.

[0079] 폴리펩타이드에 적용된 바와 같이, 용어 "실질적인 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은, 2개의 펩타이드 서열이, 예컨대 디폴트 갭 중량을 사용하여 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때, 적어도 95%의 서열 동일성, 보다 더 바람직하게 적어도 98% 또는 99%의 서열 동일성을 공유함을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환에 의해 달라진다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄(R기)를 갖는 다른 아미노산 잔기에 의해 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 특성을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 달라지는 경우, 서열 동일성의 백분율 또는 유사성의 정도는 상기 치환의 보존적 성질을 교정하기 위해 상향 조정될 수 있다. 상기 조정을 수행하기 위한 수단은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 본원에 참조로서 인용된 문헌[Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331]을 참조한다. 유사한 화학적 특성을 가지는 측쇄를 가지는 아미노산기의 예시는, (1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; (2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; (3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; (4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판; (5) 염기성 측쇄: 라이신, 아르기닌 및 히스티딘; (6) 산성 측쇄: 아스파르트레이트 및 글루타메이트 및 (7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 바람직한 보존적 아미노산 치환기는, 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 라이신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르트레이트 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안적으로, 보존적 대체는 본원에 참조로서 인용된 문헌[Gonnet 등 (1992) Science 256: 1443-1445]에서 개시된 상기 PAM250 로그-유사 행렬에서 양의 값을 가지는 임의의 변화이다. "적당한 보존적" 대체는 상기 PAM250 로그-유사 행렬에서 음이 아닌 값을 갖는 임의의 변화이다.

[0080] 서열 동일성으로도 지칭되는 폴리펩타이드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 다양한 치환, 결실 및 다른 변형에 할당된 유사성 척도를 사용하여 유사한 서열을 매칭시키며, 이는 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는 디폴트 매개변수와 함께 사용될 수 있는 Gap 및 Bestfit과 같은 프로그램을 포함하여 상이한 유기체 종의 상동성 폴리펩타이드와 같은 밀접하게 관련된 폴리펩타이드 사이의 또는 야생형 단백질과 그의 뮤테인(mutagen) 사이의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 결정할 수 있다. 예를 들어, GCG 버전 6.1 참조. 또한, 폴리펩타이드 서열은 GCG 버전 6.1의 프로그램인 디폴트 또는 권장된 매개변수를 사용하는 FASTA를 사용하여 비교될 수 있다. FASTA(예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 상기 쿼리와 서치 서열(상기 Pearson(2000)) 사이의 최적 중첩 영역의 정렬 및 서열 동일성 백분율을 제공한다. 본 발명의 서열을 상이한 유기체의 다수의 서열을 함유하는 데이터베이스와 비교하는 다른 바람직한 알고리즘은 디폴트 매개변수를 사용하는 상기 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, 각각이 본원에 참조로서 인용된 문헌[Altschul 등 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410] 및 문헌[Altschul 등 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402]를 참조한다.

[0081] 생식계열 돌연변이

- [0082] 본원에 개시된 항-CD3 항체는 항체가 유래된 대응하는 생식계열 서열에 비해 중쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다.
- [0083] 본 발명은 또한 본원에 개시된 임의의 아미노산 서열로부터 유래되고, CD3 항원에 대해 약한 결합을 갖거나 또는 검출가능한 결합을 갖지 않는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래된 생식계열 서열의 대응하는 잔기로, 또는 다른 인간 생식계열 서열의 대응하는 잔기로, 또는 대응하는 생식계열 잔기의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이된다(이러한 변화는 본원에서는 총괄적으로 "생식계열 돌연변이"라고 지칭된다).
- [0084] 더욱이, 본 발명의 항체는 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내에서 2개 이상의 생식계열 돌연변이의 임의의 조합을 함유할 수 있고, 예를 들어, 소정의 개별 잔기는 특정 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이되는 한편, 원래의 생식계열 서열과 상이한 소정의 다른 잔기는 유지되거나 상이한 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 일단 얻어지면, 하나 이상의 생식계열 돌연변이를 포함하는 항체 및 항원-결합 단편은 하나 이상의 목적으로 하는 특성, 예컨대, 개선된 결합 특이성, 약한 또는 감소된 결합 친화도, 개선된 또는 향상된 약동학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등에 대해 시험될 수 있다. 본 개시내용의 가이드를 제공하는 이런 일반적 방식에서 얻어지는 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포함된다.
- [0085] 본 발명은 또한 본원에 개시된 임의의 HCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 HCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항원-결합 도메인을 포함하는 항원-결합 분자를 포함하는 한편, CD3 항원에 대해 목적으로 하는 약한 친화도를 유지하거나 또는 개선시킨다. 아미노산 서열을 지칭할 때 용어 "실질적인 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 예컨대 디폴트 갭 가중치를 이용하는 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때 2개의 아미노산 서열이 적어도 95% 서열 동일성, 더욱 더 바람직하게는 적어도 98% 또는 99% 서열 동일성을 공유함을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환에 의해 달라진다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 달라지는 경우, 서열 동일성의 백분율 또는 유사성의 정도는 상기 치환의 보존적 성질을 교정하기 위해 상향 조정될 수 있다. 상기 조정을 수행하기 위한 수단은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331]을 참조한다.
- [0086] 서열 동일성으로도 지칭되는 폴리펩타이드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 다양한 치환, 결실 및 다른 변형에 할당된 유사성 척도를 사용하여 유사한 서열을 매칭시키며, 이는 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는 디폴트 매개변수와 함께 사용될 수 있는 Gap 및 Bestfit과 같은 프로그램을 포함하여 상이한 유기체 종의 상동성 폴리펩타이드와 같은 밀접하게 관련된 폴리펩타이드 사이의 또는 야생형 단백질과 그의 뮤테인(mutain) 사이의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 결정할 수 있다. 예를 들어, GCG 버전 6.1 참조. 또한, 폴리펩타이드 서열은 GCG 버전 6.1의 프로그램인 디폴트 또는 권장된 매개변수를 사용하는 FASTA를 사용하여 비교될 수 있다. FASTA(예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 상기 쿼리와 서치 서열(상기 Pearson(2000)) 사이의 최적 중첩 영역의 정렬 및 서열 동일성 백분율을 제공한다. 본 발명의 서열을 상이한 유기체의 다수의 서열을 함유하는 데이터베이스와 비교하는 다른 바람직한 알고리즘은 디폴트 매개변수를 사용하는 상기 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, 문헌[Altschul 등 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410] 및 문헌[Altschul 등 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402]를 참조한다.
- [0087] 항체의 결합 특성
- [0088] 본원에 사용된 바와 같이, 예를 들어, 예정된 항원, 예컨대 세포 표면 단백질 또는 이의 단편으로의 항체, 면역글로불린, 항체-결합 단편, 또는 Fc-결합 단백질의 맥락에서 용어 "결합"은 전형적으로, 2개의 독립체(entity) 또는 분자 구조 사이에서의 상호작용 또는 회합, 예컨대 항체-항원 상호작용을 지칭한다.
- [0089] 예를 들어, 결합 친화도는 전형적으로, 예를 들어, BIAcore 3000 기구에서 리간드로서 항원 및 분석물(또는 항리간드)로서 항체, Ig, 항체-결합 단편, 또는 Fc-함유 단백질을 사용하여 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기술에 의해 결정된 경우, 약 10^{-7} M 이하, 예컨대 약 10^{-8} M 이하, 예컨대 약 10^{-9} M 이하의 K_D 값에 상응한다. 세포 기반의 결합 전략, 예컨대 형광 활성화된 세포 분류(FACS) 결합 검정법이 또한 일상적으로 사용되고, FACS 데이터는 방사성 리간드 경쟁 결합 및 SPR와 같은 다른 방법과 양호한 상관관계가 있다(문헌[Benedict, CA, J. Immunol. Methods. 1997, 201(2): 223-31]; 문헌[Geuijen, CA, 등 J. Immunol. Methods. 2005, 302(1-2): 68-77]).
- [0090] 따라서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단백질은 비특이적 항원(예를 들어, BSA, 카세인)에 대한 결합을 위해

그의 친화도보다 적어도 10배 더 낮은 K_D 값에 대응하는 친화도를 갖는 사전결정된 항원 또는 세포 표면 분자(수용체)에 결합한다. 본 발명에 따르면, 비-특이적 항원보다 10-배 이하 더 낮은 K_D 값에 상응하는 항체의 친화도는 검출 가능하지 않은 결합으로 간주될 수 있으나, 이러한 결합은 본 발명의 이중특이적 항체의 생성을 위해 제2 항원 결합 아암과 쌍을 이룰 수 있다.

[0091] 용어 " K_D "(M)는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수, 또는 항원으로의 항체 또는 항체-결합 단편의 해리 평형 상수를 지칭한다. K_D 와 결합 친화성 사이에 역관계가 존재하고, 따라서, K_D 값이 작을수록, 친화성은 더 높으며, 즉, 더 강하다. 따라서, 용어 "더 높은 친화성" 또는 "더 강한 친화성"은 상호작용을 형성하는 더 높은 능력, 따라서 더 작은 K_D 값에 관련되고, 역으로 용어 "더 낮은 친화성" 또는 "더 약한 친화성"은 상호작용을 형성하는 더 낮은 능력, 따라서 더 큰 K_D 값에 관련된다. 일부 상황에서, 또 다른 상호작용 파트너 분자(예를 들어, 항원 Y)로의 분자(예를 들어, 항체)의 결합 친화도와 비교하여 상호작용 파트너 분자(예를 들어, 항원 X)로의 특정 분자(예를 들어 항체)의 더 높은 결합 친화도(또는 K_D)는, 더 큰 K_D 값(더 낮은 또는 더 약한 친화도)을 예를 들어 경우에 따라 5-배 또는 10-배 더 큰 결합 친화도로 표현되는 더 작은 K_D (더 높은 또는 더 강한 친화도)로 나누어서 결정되는 결합비로서 표현될 수 있다.

[0092] 용어 " k_d "(초(sec)⁻¹ 또는 1/s)는 특정 항체-항원 상호작용의 해리 속도 상수, 또는 항체 또는 항체-결합 단편의 해리 속도 상수를 지칭한다. 또한, 상기 값은 k_{off} 값으로 지칭된다.

[0093] 용어 " k_a "(M⁻¹ x 초⁻¹ 또는 1/Ms)는 특정 항체-항원 상호작용의 결합 속도 상수, 또는 항체 또는 항체-결합 단편의 결합 속도 상수를 지칭한다.

[0094] 용어 " K_A "(M⁻¹ 또는 1/M)는 특정 항체-항원 상호작용의 결합 평형 상수, 또는 항체 또는 항체-결합 단편의 결합 평형 상수를 지칭한다. 상기 회합 평형 상수는 k_a 를 k_d 로 나누어서 획득된다.

[0095] 용어 "EC₅₀" 또는 "EC₅₀"은 반수 최대 유효 농도를 지칭하며, 이는 명시된 노출 시간 후 기준선과 최대 사이의 1/2의 반응을 유도하는 항체의 농도를 포함한다. EC₅₀은 본질적으로, 항체의 최대 효과의 50%가 관찰되는 상기 항체의 농도를 나타낸다. 소정의 구현예에서, EC₅₀ 값은 예를 들어, FACS 결합 검정법에 의해 결정된 바와 같이, CD3 또는 종양-관련 항원(예를 들어, BCMA)을 발현하는 세포에 대한 반수-최대 결합을 제공하는 본 발명의 항체의 농도와 동일하다. 따라서, 감소된 또는 더 약한 결합은 증가된 EC₅₀ 또는 절반의 최대 유효 농도 값을 사용하여 관찰된다.

[0096] 일 구현예에서, 저하된 결합은, 반수-최대 양의 표적 세포에 결합할 수 있게 하는 증가된 EC₅₀ 항체 농도로서 정의될 수 있다.

[0097] 다른 구현예에서, EC₅₀ 값은 T 세포 세포독성 활성화에 의해 표적 세포의 절반-최대 고갈을 유발하는 본 발명의 항체 농도를 나타낸다. 따라서, 증가된 세포독성 활성화(예를 들어, T 세포-매개 종양 세포 사멸화)은 감소된 EC₅₀ 또는 절반의 최대 유효 농도 값을 사용하여 관찰된다.

[0098] 이중특이적 항원-결합 분자

[0099] 본 발명의 항체는 단일특이적, 이중특이적 또는 다중특이적일 수 있다. 다중특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩타이드의 상이한 에피토프에 특이적일 수 있거나, 하나 초과와 표적 폴리펩타이드에 특이적인 항원-결합 도메인을 함유할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Tutt 등, 1991, J. Immunol. 147:60-69]; [Kufer 등, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244]를 참조한다. 본 발명의 항-BCMA 단일특이적 항체 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 또 다른 기능성 분자, 예를 들어 또 다른 펩타이드 또는 단백질에 연결되거나 이와 함께 공동-발현될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 이의 단편은 하나 이상의 다른 분자 독립체에, 예컨대 또 다른 항체 또는 항체 단편에 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유 회합 또는 기타에 의해) 기능적으로 연결되어, 제2 또는 부가적인 결합 특이성을 갖는 이중-특이적 항체 또는 다중-특이적 항체를 생성할 수 있다.

[0100] 본원에서 표현 "항-CD3 항체" 또는 "항-BCMA 항체"의 사용은 단일특이적 항-CD3 또는 항-BCMA 항체, 뿐만 아니라 CD3-결합 아암 및 BCMA-결합 아암을 포함하는 이중특이적 항체 둘 다 포함하고자 한다. 그러므로, 본 발명은

이중특이적 항체를 포함하며, 여기서, 면역글로불린의 하나의 아암은 인간 CD3에 결합하고, 면역글로불린의 다른 아암은 인간 BCMA에 특이적이다. CD3-결합 아암은 본원의 표 3에 제시된 바와 같은 임의의 HCVR/LCVR 또는 CDR 아미노산 서열, 또는 WO 2014/047231 또는 WO 2017/053856에 개시된 항-CD3 항체를 포함할 수 있다.

[0101] 특정 구현예에서, CD3-결합 아암은 인간 CD3에 결합하고, 인간 T 세포 활성화를 유도한다. 소정의 구현예에서, CD3-결합 아암은 인간 CD3에 약하게 결합하고, 인간 T 세포 활성화를 유도한다. 소정의 구현예에서, CD3-결합 아암은 인간 CD3에 약하게 결합하고, 이중특이적 또는 다중특이적 항체의 맥락에서 종양-관련 항원-발현 세포 사멸화를 유도한다. 다른 구현예에서, CD3-결합 아암은 인간 및 시노물구스(원숭이) CD3에 약하게 결합하거나 회합하지만, 결합 상호작용은 당업계에서 알려진 시험관내 검정법에 의해 검출 불가능하다. BCMA-결합 아암은 본원의 표 1에 제시된 바와 같은 임의의 HCVR/LCVR 또는 CDR 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0102] 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 본 발명은 CD3 및 BCMA에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함한다. 이러한 분자는 본원에서 예를 들어, "항-BCMA x 항-CD3," 또는 "항-CD3/항-BCMA," 또는 "항-CD3xBCMA" 또는 "CD3xBCMA" 이중특이적 분자, 또는 다른 유사한 용어(예를 들어, 항-BCMA/항-CD3)로 지칭될 수 있다.

[0103] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "BCMA"는 비-인간 종으로부터 유래된 것(예를 들어, "마우스 BCMA", "원숭이 BCMA" 등)으로 명시되지 않는 한 인간 BCMA 단백질을 지칭한다. 인간 BCMA 단백질은 SEQ ID NO: 115에 제시된 아미노산 서열을 갖는다.

[0104] CD3 및 BCMA에 특이적으로 결합하는 상기 언급된 이중특이적 항원-결합 분자는, CD3에 시험관내 친화도 결합 검정법에 의해 측정된 바와 같이 약 40 nM 초과와 K_D 를 나타내는 것과 같은 약한 결합 친화도로 결합하는 항-CD3 항원-결합 분자를 포함할 수 있다.

[0105] 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "항원-결합 분자"는 단독으로 또는 하나 이상의 부가적인 CDR 및/또는 프레임워크 영역(FR)과 조합하여 특정 항원에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하거나 또는 이로 구성된 단백질, 폴리펩타이드 또는 분자 복합체를 의미한다. 소정의 구현예에서, 항원-결합 분자는 해당 용어가 본원의 어디에나 정의된 바와 같은 항체 또는 항체의 단편이다.

[0106] 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "이중특이적 항원-결합 분자"는 적어도 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 단백질, 폴리펩타이드 또는 분자 복합체를 의미한다. 이중특이적 항원-결합 분자 내의 각각의 항원-결합 도메인은 단독으로 또는 하나 이상의 부가적인 CDR 및/또는 FR과 조합되어 특정 항원에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 CDR을 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 제1 항원-결합 도메인은 제1 항원(예를 들어, BCMA)에 특이적으로 결합하고, 제2 항원-결합 도메인은 제2 별개의 항원(예를 들어, CD3)에 특이적으로 결합한다.

[0107] 본 발명의 특정 예시적인 구현예에서, 이중특이적 항원-결합 분자는 이중특이적 항체이다. 이중특이적 항체의 각각의 항원-결합 도메인은 중쇄 가변 도메인(HCVR) 및 경쇄 가변 도메인(LCVR)을 포함한다. 제1 및 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)의 맥락에서, 제1 항원-결합 도메인의 CDR은 접두사 "D1"로 표기될 수 있고, 제2 항원-결합 도메인의 CDR은 접두사 "D2"로 표기될 수 있다. 그러므로, 제1 항원-결합 도메인의 CDR은 본원에서 D1-HCDR1, D1-HCDR2, 및 D1-HCDR3으로 지칭될 수 있고; 제2 항원-결합 도메인의 CDR은 본원에서 D2-HCDR1, D2-HCDR2, 및 D2-HCDR3으로 지칭될 수 있다.

[0108] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 제1 항원-결합 도메인을 포함하며, 상기 제1 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 (b) SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다. 일부 경우, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, SEQ ID NO: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 SEQ ID NO: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 일부 경우, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 분자는 SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함한다.

[0109] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 제2 항원-결합 도메인을 포함하며, 상기 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 90 또는 SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR)

내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 (b) SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 92 또는 SEQ ID NO: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (b) SEQ ID NO: 94 또는 SEQ ID NO: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; 및 (c) SEQ ID NO: 96 또는 SEQ ID NO: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 92, 94, 96의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인; 또는 (b) SEQ ID NO: 100, 102, 104의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 (a) SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR; 또는 (b) SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함한다.

[0110] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 92, 94, 96의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 90의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0111] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 68, 70, 72의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 100, 102, 104의 아미노산 서열을 각각 포함하는 HCDR1, HCDR2, HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 84, 86, 88의 아미노산 서열을 각각 포함하는 LCDR1, LCDR2, LCDR3 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) SEQ ID NO: 66의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) SEQ ID NO: 98의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR, 및 SEQ ID NO: 82의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0112] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 (a) 인간 BCMA에 특이적으로 결합하고, SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 122, 및 124로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 HCVR의 CDR, 및 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 82, 123, 및 125로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 LCVR의 CDR을 포함하는 제1 항원-결합 도메인; 및 (b) 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 122/123, 124/125, 2/82, 18/82, 34/82, 50/82, 66/82, 122/82, 및 124/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍으로부터의 CDR을 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16, 20-22-24-28-30-32, 36-38-40-44-46-48, 52-54-56-60-62-64, 68-70-72-76-78-80, 4-6-8-84-86-88, 20-22-24-84-86-88, 36-38-40-84-86-88, 52-54-56-84-86-88, 및 68-70-72-84-86-88로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 각각 포함한다. 일부 경우, 제1 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 122/123, 124/125, 2/82, 18/82, 34/82, 50/82, 66/82, 122/82, 및 124/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 일부 경우, 제2 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 90/82 및 98/82로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 CDR을 포함한다.

[0113] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 BCMA에 결합하기 위해 경쟁하거나 기준 항체와 동일한 BCMA 상의 에피토프에 결합하며, 여기서, 기준 항체는 SEQ ID NO: 66/82의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 SEQ ID NO: 90/82 또는 SEQ ID NO: 98/82의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0114] 소정의 예시적인 구현예에서, 단리된 이중특이적 항원-결합 분자는 인간 CD3에 결합하기 위해 경쟁하거나 기준 항체와 동일한 인간 CD3 상의 에피토프에 결합하며, 여기서, 기준 항체는 SEQ ID NO: 66/82의 아미노산 서열을

포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 SEQ ID NO: 90/82 또는 SEQ ID NO: 98/82의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 쌍을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함한다.

[0115] 상기에서 또는 본원에서 고찰된 이중특이적 항원-결합 분자는 이중특이적 항체일 수 있다. 일부 경우, 이중특이적 항체는 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 경우, 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 이소타입 IgG1이다. 일부 경우, 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 이소타입 IgG4이다. 다양한 구현예에서, 이중특이적 항체는 동일한 이소타입의 야생형 힌지와 비교하여 Fc γ 수용체 결합을 감소시키는 키메라 힌지를 포함한다.

[0116] 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 서로 직접적으로 또는 간접적으로 연결되어 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자를 형성할 수 있다. 대안적으로, 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 각각 별개의 다량체화 도메인에 연결될 수 있다. 또 다른 다량체화 도메인과 하나의 다량체화 도메인의 회합은 2개의 항원-결합 도메인 사이의 회합을 용이하게 함으로써, 이중특이적 항원-결합 분자를 형성한다. 본원에 사용된 바와 같이, "다량체화 도메인"은 동일한 또는 유사한 구조 또는 구성의 제2 다량체화 도메인과 회합하는 능력을 갖는 임의의 거대분자, 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드 또는 아미노산이다. 예를 들어, 다량체화 도메인은 면역글로불린 C α 3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다. 다량체화 성분의 비제한적인 예시는 면역글로불린의 Fc 부분(C α 2-C α 3 도메인을 포함함), 예를 들어, 이소형 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4, 뿐만 아니라 각각의 이소형 군 내의 임의의 알로타입(allotype)에서 선택되는 IgG의 Fc 도메인이다.

[0117] 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자는 전형적으로 2개의 다량체화 도메인, 예를 들어, 별개의 항체 중쇄의 각각의 개개 부분인 2개의 Fc 도메인을 포함할 것이다. 제1 및 제2 다량체화 도메인은 예를 들어, IgG1/IgG1, IgG2/IgG2, IgG4/IgG4와 같은 동일한 IgG 이소타입일 수 있다. 대안적으로, 상기 제1 및 제2 다량체화 도메인은, 예를 들어, IgG1/IgG2, IgG1/IgG4, IgG2/IgG4 등과 같은 상이한 IgG 이소형일 수 있다.

[0118] 소정의 구현예에서, 상기 다량체화 도메인은 Fc 단편 또는 적어도 1개의 시스테인 잔기를 함유하는 1 내지 약 200개 아미노산 길이의 아미노산 서열이다. 다른 구현예에서, 상기 다량체화 도메인은 시스테인 잔기 또는 짧은 시스테인-함유 펩타이드이다. 다른 다량체화 도메인은 류신 지퍼, 나선-루프 모티프 또는 꼬인-나선 모티프를 포함하거나 또는 이로 구성된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0119] 임의의 이중특이적 항체 포맷 또는 기술이 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자를 제조하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 제1 항원 결합 특이성을 갖는 항체 또는 이의 단편은 하나 이상의 다른 분자 독립체, 예컨대 이중특이적 항원-결합 분자를 생성하기 위해 제2 항원-결합 특이성을 갖는 또 다른 항체 또는 항체 단편에 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전자 융합, 비공유 회합 또는 기타에 의해) 작용적으로 연결될 수 있다. 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 특정 예시적인 이중특이적 형식은, 비제한적으로, scFv-기초 또는 디아바디 이중특이적 형식, IgG-scFv 융합, 이중 가변 도메인(DVD)-Ig, 쿼드라마(Quadroma), 노브-인투-홀(knobs-into-holes), 공통 경쇄(예를 들어, 노브-인투-홀을 갖는 공통 경쇄 등), CrossMab, CrossFab, (SEED)바디, 류신 지퍼, 듀오바디(Duobody), IgG1/IgG2, 이중 작용성 Fab(DAF)-IgG 및 Mab² 이중특이적 형식을 포함한다(앞서 언급한 형식의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Klein 등 2012, mAbs 4:6, 1-11], 및 이에 인용된 참고문헌을 참조).

[0120] 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자와 관련하여, 다량체화 도메인, 예를 들어, Fc 도메인은 Fc 도메인의 야생형, 천연 유래 형태에 비해 하나 이상의 아미노산 변화(예를 들어, 삽입, 결실 또는 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 Fc과 FcRn 사이에서 변형된 결합 상호작용(예를 들어, 증강 또는 저하)을 가지는 변형된 Fc 도메인을 초래하는 상기 Fc 도메인에서 하나 이상의 변형을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 이중특이적 항원-결합 분자는 C α 2 또는 C α 3 영역의 변형을 포함하며, 여기서 상기 변형은 산성 환경에서(예를 들어, pH가 약 5.5 내지 약 6.0의 범위인 엔도솜에서) FcRn에 대한 상기 Fc 도메인의 친화성을 증가시킨다. 그러한 Fc 변형의 비제한적인 예시는, 예를 들어, 위치 250(예를 들어, E 또는 Q); 250 및 428(예를 들어, L 또는 F); 252(예를 들어, L/Y/F/W 또는 T), 254(예를 들어, S 또는 T) 및 256(예를 들어, S/R/Q/E/D 또는 T)에서의 변형; 또는 위치 428 및/또는 433(예를 들어, L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 434(예를 들어, H/F 또는 Y)에서의 변형; 또는 위치 250 및/또는 428에서의 변형; 또는 위치 307 또는 308(예를 들어, 308F, V308F) 및 434에서의 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 변형은 428L(예를 들어, M428L) 및 434S(예를 들어, N434S) 변형; 428L, 259I(예를 들어, V259I), 및 308F(예를 들어, V308F) 변형; 433K(예를 들어, H433K) 및 434(예를 들어, 434Y) 변형; 252, 254 및 256(예를 들어, 252Y, 254T 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형(예를 들어, T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형(예를 들어, 308F 또는 308P)을 포함한다.

[0121] 본 발명은 또한 제1 C_H3 도메인 및 제2 Ig C_H3 도메인을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하며, 여기서, 제1 및 제2 Ig C_H3 도메인은 적어도 하나의 아미노산만큼 서로 상이하고, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중특이적 항체에 비해 단백질 A에 대한 이중특이성 항체의 결합을 감소시킨다. 일 구현예에서, 상기 제1 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고 상기 제2 Ig C_H3 도메인은 H95R 변형(IMGT 엑손 넘버링에 의함; EU 넘버링에 의하면 H435R임)과 같이 단백질 A 결합을 감소시키거나 또는 없애는 돌연변이를 함유한다. 상기 제2 C_H3은 Y96F 변형(IMGT에 의함; EU에 의하면 Y436F임)을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제8,586,713호 참조. 상기 제2 C_H3 내에서 발견될 수 있는 추가 변형은 IgG1 항체의 경우에 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M 및 V82I(IMGT에 의함; EU에 의하면 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M 및 V422I임); IgG2 항체의 경우에 N44S, K52N 및 V82I(IMGT; EU에 의하면 N384S, K392N 및 V422I임); 및 IgG4 항체의 경우에 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q 및 V82I(IMGT에 의함; EU에 의하면 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q 및 V422I임)를 포함한다.

[0122] 소정의 구현예에서, Fc 도메인은 하나 초과와 면역글로불린 이소타입으로부터 유래된 Fc 서열을 조합하는 키메라일 수 있다. 예를 들어, 키메라 Fc 도메인은 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 C_H2 영역에서 유래되는 부분적인 또는 모든 C_H2 서열 및 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4에서 유래되는 부분적인 또는 모든 C_H3 서열을 포함할 수 있다. 또한, 키메라 Fc 도메인은 키메라 힌지 영역을 함유할 수 있다. 예를 들어, 키메라 힌지는 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역에서 유래되는 "하부 힌지" 서열과 조합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역에서 유래되는 "상부 힌지" 서열을 포함할 수 있다. 본원에 명시된 임의의 항원-결합 분자에 포함될 수 있는 키메라 Fc 도메인의 특정 예시는 N-말단 내지 C-말단에서 [IgG4 C_H1] - [IgG4 상부 힌지] - [IgG2 하부 힌지] - [IgG4 CH2] - [IgG4 CH3]을 포함한다. 본원에 명시된 임의의 항원-결합 분자에 포함될 수 있는 키메라 Fc 도메인의 다른 예시는 N-말단 내지 C-말단에서 [IgG1 C_H1] - [IgG1 상부 힌지] - [IgG2 하부 힌지] - [IgG4 CH2] - [IgG1 CH3]을 포함한다. 본 발명의 임의의 항원-결합 분자에 포함될 수 있는 키메라 Fc 도메인의 이들 및 다른 예는 2014년 8월 28일에 공개된 미국 공보 제2014/0243504호에 기재되어 있으며, 이는 그 전체가 본원에 포함된다. 상기 일반적인 구조 배열을 가지는 키메라 Fc 도메인 및 그의 변이체는 변경된 Fc 수용체 결합을 가질 수 있으며, 이는 결국 Fc 효과기 기능에 영향을 미친다.

[0123] 서열 변이체

[0124] 본 발명의 항체 및 이중특이적 항원-결합 분자는 개개의 항원-결합 도메인이 유래된 대응하는 생식계열 서열에 비해 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 그러한 돌연변이는, 본원에 개시된 아미노산 서열을 예를 들어, 공개된 항체 서열 데이터베이스에서 입수 가능한 생식계열 서열과 비교하여 용이하게 확인될 수 있다. 본 발명의 항원-결합 분자는 본원에 개시된 임의의 예시적인 아미노산 서열로부터 유래된 항원-결합 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래된 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 또 다른 인간 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 상응하는 생식계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이된다(이러한 서열 변화는 본원에서 총괄적으로 "생식계열 돌연변이"로 지칭됨). 당업자라면 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 시작하여, 하나 이상의 개별 생식계열 돌연변이 또는 이들의 조합을 포함하는 수많은 항체 및 항원-결합 단편을 용이하게 생산할 수 있다. 특정 구현예에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 모든 구조를 및/또는 CDR 잔기는, 항원-결합 도메인이 원래 유래한 원래의 생식계열 서열에서 발견되는 잔기로 역돌연변이된다. 다른 구현예에서, 단지 특정 잔기, 예를 들어 FR1의 처음 8개 아미노산 내에서 또는 FR4의 마지막 8개 아미노산 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만 원래의 생식계열 서열로 역돌연변이된다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 구조를 및/또는 CDR 잔기(들)는 상이한 생식계열 서열(즉, 항원-결합 도메인이 원래 유래한 생식계열 서열과 상이한 생식계열 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 더욱이, 본 발명의 항원-결합 도메인은 구조를 및/또는 CDR 영역 내에 2개 이상의 생식계열 돌연변이의 임의의 조합을 포함할 수 있으며, 예를 들어 여기서 특정 개별 잔기는 특정한 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이화되는 반면, 원래의 생식계열 서열과 상이한 특정 다른 잔기는 유지되거나, 상이한 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 하나 이상의 생식계열 돌연변이를 함유하는 항원-결합 도메인은, 일단 수득되면, 하나 이상의 요망되는 특성, 예컨대 향상된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 향상되거나 증강된 길항제성 또는 작용제성 생물학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등에

대해 용이하게 시험될 수 있다. 이러한 일반적 방식으로 얻어진 하나 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 이중 특이적 항원-결합 분자는 본 발명 내에 포함된다.

[0125] **pH-의존적 결합**

[0126] 본 발명은 pH-의존적 결합 특징을 갖는 항-BCMA 항체, 및 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 항-BCMA 항체는 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 BCMA에 대해 감소된 결합을 나타낼 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항-BCMA 항체는 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 BCMA에 대해 증강된 결합을 나타낼 수 있다. 표현 "산성 pH"는 약 6.2 미만, 예를 들어, 약 6.0, 5.95, 5.9, 5.85, 5.8, 5.75, 5.7, 5.65, 5.6, 5.55, 5.5, 5.45, 5.4, 5.35, 5.3, 5.25, 5.2, 5.15, 5.1, 5.05, 5.0 또는 그 미만의 pH 값을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "중성 pH"는 약 7.0 내지 약 7.4의 pH를 의미한다. 표현 "중성 pH"는 약 7.0, 7.05, 7.1, 7.15, 7.2, 7.25, 7.3, 7.35 및 7.4의 pH 값을 포함한다.

[0127] 특정 예에서, "중성 pH에 비해 산성 pH에서 감소된 결합 ..."은 산성 pH에서 항원에 대한 항체 결합의 K_D 값 대 중성 pH에서 항원에 대한 항체의 K_D 값의 비(또는 그 반대)에 대해 표현된다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 약 3.0 이상의 산성/중성 K_D 비를 나타낸다면, 본 발명의 목적을 위해 "중성 pH에 비해 산성 pH에서 BCMA에 대한 감소된 결합"을 나타내는 것으로 간주될 수 있다. 소정의 예시적인 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편에 대한 산성/중성 K_D 비는 약 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0, 14.5, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 100.0 이상일 수 있다.

[0128] pH-의존적 결합 특징을 갖는 항체는 예를 들어, 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 특정 항원으로의 감소된(또는 증강된) 결합에 대해 항체 집단을 스크리닝함으로써 수득될 수 있다. 부가적으로, 아미노산 수준에서 항원-결합 도메인의 변형은 pH-의존적 특징을 갖는 항체를 산출할 수 있다. 예를 들어, 항원-결합 도메인(예를 들어 CDR 내의)의 하나 이상의 아미노산을 히스티딘 잔기로 치환함으로써, 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서 감소된 항원-결합을 갖는 항체가 수득될 수 있다.

[0129] **Fc 변이체를 포함하는 항체**

[0130] 본 발명의 소정의 구현예에 따르면, 예를 들어, 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서, FcRn 수용체로의 항체 결합을 증강시키거나 약화시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-BCMA 항체, 및 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자가 제공된다. 예를 들어, 본 발명은 Fc 도메인의 C_H2 또는 C_H3 영역에 돌연변이를 포함하는 항체를 포함하며, 여기서, 돌연변이(들)는 산성 환경에서(예를 들어, pH가 약 5.5 내지 약 6.0의 범위인 엔도솜에서) FcRn에 대한 Fc 도메인의 친화도를 증가시킨다. 이러한 돌연변이는 동물에게 투여될 때 항체의 혈청 반감기를 증가시킬 수 있다. 이러한 Fc 변형의 비제한적인 예는, 예를 들어, 위치 250(예를 들어, E 또는 Q)에서의 변형; 250 및 428(예를 들어, L 또는 F); 252(예를 들어, L/Y/F/W 또는 T), 254(예를 들어, S 또는 T) 및 256(예를 들어, S/R/Q/E/D 또는 T)에서의 변형; 또는 위치 428 및/또는 433(예를 들어, H/L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 434(예를 들어, H/F 또는 Y)에서의 변형; 또는 위치 250 및/또는 428에서의 변형; 또는 위치 307 또는 308(예를 들어, 308F, V308F) 및 434에서의 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 변형은 428L(예를 들어, M428L) 및 434S(예를 들어, N434S) 변형; 428L, 259I(예를 들어, V259I), 및 308F(예를 들어, V308F) 변형; 433K(예를 들어, H433K) 및 434(예를 들어, 434Y) 변형; 252, 254 및 256(예를 들어, 252Y, 254T 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형(예를 들어, T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형(예를 들어, 308F 또는 308P)을 포함한다. 모든 위치는 EU 숫자매킹으로 표시된다.

[0131] 예를 들어, 본 발명은 250Q 및 248L(예를 들어, T250Q 및 M248L); 252Y, 254T 및 256E(예를 들어, M252Y, S254T 및 T256E); 428L 및 434S(예를 들어, M428L 및 N434S); 및 433K 및 434F(예를 들어, H433K 및 N434F)로 이루어진 군으로부터 선택되는 돌연변이의 하나 이상의 쌍 또는 그룹을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-BCMA 항체, 및 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 포함한다. 전술한 Fc 도메인 돌연변이, 및 본원에 개시된 항체 가변 도메인 내의 다른 돌연변이의 모든 가능한 조합이 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0132] **항체 및 이중특이적 항원-결합 분자의 생물학적 특성**

[0133] 본 발명은 높은 친화도(예를 들어, 나노몰 또는 서브-나노몰 K_D 값)로 인간 BCMA에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다.

- [0134] 소정의 구현예에 따르면, 본 발명은 예를 들어, 본원의 실시예 4에 정의된 바와 같은 검정법 형식을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 약 5 nM 미만의 K_D (예를 들어, 25℃에서) 인간 BCMA에 결합하는 항체 및 항체의 항원-결합 단편을 포함한다. 소정의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들어, 본원의 실시예 4에 정의된 바와 같은 검정법 형식 또는 실질적으로 유사한 검정법을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 약 20 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 8 nM 미만, 약 7 nM 미만, 약 6 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 800 pM 미만, 약 700 pM 미만, 약 500 pM 미만, 약 400 pM 미만, 약 300 pM 미만, 약 200 pM 미만, 약 100 pM 미만, 약 50 pM 미만, 또는 약 25 pM 미만의 K_D 로 BCMA에 결합한다. 본 발명은 예를 들어, 본원의 실시예 4에 정의된 바와 같은 검정법 형식 또는 실질적으로 유사한 검정법을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 약 25 pM 미만의 K_D 로 인간 BCMA에 결합하고 약 170 pM 미만의 K_D 로 원숭이 BCMA에 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)를 포함한다.
- [0135] 본 발명은 또한, 예를 들어, 본원의 실시예 4에 정의된 바와 같은 검정법 형식 또는 실질적으로 유사한 검정법을 사용하여 25℃에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 약 10분 초과 또는 약 125분 초과, 해리 반감기($t_{1/2}$)로 BCMA에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 소정의 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들어, 본원의 실시예 4에 정의된 바와 같은 검정법 형식 또는 실질적으로 유사한 검정법을 사용하여 25℃에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 약 3분 초과, 약 4분 초과, 약 10분 초과, 약 20분 초과, 약 30분 초과, 약 40분 초과, 약 50분 초과, 약 60분 초과, 약 70분 초과, 약 80분 초과, 약 90분 초과, 약 100분 초과, 약 110분 초과, 또는 약 120분 초과, $t_{1/2}$ 로 BCMA에 결합한다. 본 발명은 또한, 예를 들어, 본원의 실시예 4에 정의된 바와 같은 검정법 형식 또는 실질적으로 유사한 검정법을 사용하여 25℃에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 바와 같이 약 10분 초과로 BCMA에 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)를 포함한다.
- [0136] 본 발명은 또한, 실시예 6에 제시된 바와 같은 FACS 결합 검정법 또는 실질적으로 유사한 검정법에 의해 결정된 바와 같이, 내인성 BCMA(예를 들어, NCI-H929, MOLP-8 또는 OMP-2)를 발현하는 인간 세포주에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다.
- [0137] 본 발명은 또한, (a) 인간 다발성 골수종 이중이식물을 보유한 면역약화된 마우스에서 종양 성장을 저해하는 특징; (b) 인간 다발성 골수종 이중이식물을 보유한 면역약화된 마우스에서 확립된 종양의 종양 성장을 억제시키는 특징(예를 들어, 실시예 10 내지 15 참조), 및 (c) 인간 CD3을 발현하는 면역적격 마우스에서 인간 BCMA를 발현하도록 조작된 동계 흑색종 및 결장암종 세포의 종양 성장을 억제시키는 특징으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 특징을 나타내는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 포함한다.
- [0138] 본 발명은 고친화도로 인간 CD3에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 본 발명은 또한, 요망되는 치료적 내용 및 특정 표적화 특성에 따라, 중간 또는 낮은 친화도로 인간 CD3에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 일부 경우, 낮은 친화도는 300 nM 초과, 500 nM 초과 또는 1 μ M 초과, K_D 또는 EC_{50} (예를 들어, 표면 플라즈몬 공명 검정법에서 측정된 바와 같음)으로 CD3에 결합하는 항체를 포함한다. 본 발명은 또한, 측정 가능한 친화도가 없이 인간 CD3에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 예를 들어, 하나의 아암이 CD3에 결합하고 또 다른 아암이 표적 항원(예를 들어, BCMA)에 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자의 맥락에서, 표적 항원-결합 아암이 높은 친화도로 표적 항원에 결합하는 것이 바람직할 수 있는 반면, 항-CD3 아암은 단지 중간 또는 낮은 친화도 또는 제로의 친화도로 CD3에 결합한다. 이러한 방식으로, 표적 항원을 발현하는 세포로의 항원-결합 분자의 우선적인 표적화가 달성되는 한편, 일반적인/비표적화된 CD3 결합 및 이와 관련된 결과적인 유해한 부작용을 피할 수 있다.
- [0139] 본 발명은 인간 CD3 및 인간 BCMA에 동시에 결합할 수 있는 이중특이적 항원-결합 분자(예를 들어, 이중특이적 항체)를 포함한다. CD3을 발현하는 세포와 상호작용하는 결합 아암은 적합한 시험관내 결합 검정법에서 측정된 바와 같이 검출 가능한 결합을 약하게 가질 수 있거나 검출 가능한 결합을 갖지 않을 수 있다. 이중특이적 항원-결합 분자가 CD3 및/또는 BCMA를 발현하는 세포에 결합하는 정도는 본원의 실시예 5 및 실시예 6에 예시된 바와 같이 형광 활성 세포 분류(FACS)에 의해 평가될 수 있다.
- [0140] 예를 들어, 본 발명은 CD3을 발현하지만 BCMA를 발현하지 않는 인간 T-세포(예를 들어, Jurkat), 및/또는 BCMA-발현 세포에 특이적으로 결합하는 항체, 이의 항원-결합 단편, 및 이중특이적 항체를 포함한다.
- [0141] 본 발명은 약한(즉, 낮은) 또는 심지어 검출가능하지 않은 친화도로 인간 CD3에 결합하는 항체, 항원-결합

단편, 및 이의 이중특이적 항체를 포함한다.

[0142] 본 발명은 약한(즉, 낮은) 또는 심지어 검출가능하지 않은 친화도로 원숭이(예컨대, 시노몰구스) CD3에 결합하는 항체, 항원-결합 단편, 및 이의 이중특이적 항체를 포함한다.

[0143] 본 발명은 인간 CD3에 결합하고 T 세포 활성화를 유도하는 항체, 항원-결합 단편, 및 이중 특이적 항체를 포함한다.

[0144] 본 발명은 시험대상자에서 종양 항원-발현 세포를 고갈시키거나 감소시킬 수 있는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 포함한다(예를 들어, 실시예 8 내지 실시예 16, 또는 실질적으로 유사한 검정법을 참조). 예를 들어, 소정의 구현예에 따르면, 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자가 제공되며, 여기서, 시험대상자로의 0.04 mg/kg, 0.4 mg/kg 또는 4 mg/kg의 이중특이적 항원-결합 분자의 단일 투여 또는 다중 투여는 시험대상자에서 BCMA-발현 세포의 수의 감소를 야기한다(예를 들어, 시험대상자에서 종양 성장이 억제되거나 저해됨).

[0145] 에피토프 맵핑 및 관련 기술

[0146] 본 발명의 항원-결합 분자가 결합하는 CD3 및/또는 BCMA 상의 에피토프는 CD3 또는 BCMA 단백질의 3개 이상(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상)의 아미노산의 단일 인접 서열로 구성될 수 있다. 대안적으로, 에피토프는 CD3 또는 BCMA의 복수의 비인접 아미노산(또는 아미노산 서열)으로 구성될 수 있다. 본 발명의 항체는 단일 CD3 사슬(예를 들어, CD3-입실론, CD3-델타 또는 CD3-감마) 내에 함유된 아미노산과 상호작용할 수 있거나, 2개 이상의 상이한 CD3 체 상의 아미노산과 상호작용할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "에피토프"는 파라토프로 알려진 항체 분자의 가변 영역 내 특이적인 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 지칭한다. 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원 상의 상이한 영역에 결합할 수 있고, 상이한 생물학적 효과를 가질 수 있다. 에피토프는 형태적(conformational) 또는 선형일 수 있다. 형태적 에피토프는 선형 폴리펩타이드 사슬의 상이한 분절의 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생성된다. 선형 에피토프는 폴리펩타이드 사슬에서 인접한 아미노산 잔기에 의해 생성된 에피토프이다. 특정 상황에서, 에피토프는 상기 항원에서 당류, 포스포릴기 또는 설포닐기의 모이어티를 포함할 수 있다.

[0147] 항체의 항원-결합 도메인이 폴리펩타이드 또는 단백질 내의 "하나 이상의 아미노산과 상호작용"하는지의 여부를 결정하는 데에는 당업자에게 알려진 다양한 기법이 사용될 수 있다. 예시적인 기법은, 예를 들어, 항체, Harlow 및 Lane(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)에 설명된 바와 같은 일상적인 교차-차단 검정, 알려진 스캐닝 돌연변이 분석, 펩타이드 블롯 분석(문헌[Reineke, 2004, Methods Mol Biol 248:443-463]), 및 펩타이드 절단 분석을 포함한다. 또한, 에피토프 제거(excision), 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법이 이용될 수 있다(문헌[Tomer, 2000, Protein Science 9:487-496]). 항체의 항원-결합 도메인이 상호작용하는 폴리펩타이드 내의 아미노산을 식별하는 데 사용될 수 있는 또 다른 방법은 질량 분광법에 의해 검출되는 수소/중수소 교환이다. 일반적으로, 수소/중수소 교환 방법은 관심 단백질을 중수소-표지하고, 뒤이어 항체를 중수소-표지된 단백질에 결합시키는 단계를 수반한다. 다음으로, 단백질/항체 복합체는 물에 전달되어(중수소-표지된 채로 남아있는) 항체에 의해 보호되는 잔기를 제외하고는 모든 잔기에서 수소-중수소 교환이 발생할 수 있게 한다. 항체의 해리 후, 표적 단백질은 프로테아제 절단 및 질량 분광법 분석을 받아, 이로써 항체가 상호작용하는 특이적인 아미노산에 상응하는 중수소-표지된 잔기를 드러낸다. 예를 들어, 문헌[Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259]; [Engen 및 Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A]를 참조한다. 항원/항체 복합체의 X-선 결정법은 또한, 에피토프 맵핑 목적에 사용될 수 있다.

[0148] 본 발명은 본원에 기재된 임의의 특정 예시적인 항체(예를 들어, 본원의 표 1에 제시된 바와 같은 임의의 아미노산 서열을 포함하는 항체)와 동일한 에피토프에 결합하는 항-BCMA 항체를 추가로 포함한다. 마찬가지로, 본 발명은 또한, BCMA에 결합하기 위해 본원에 기재된 임의의 특정 예시적인 항체(예를 들어, 본원의 표 1에 제시된 바와 같은 임의의 아미노산 서열을 포함하는 항체)와 경쟁하는 항-BCMA 항체를 포함한다.

[0149] 본 발명은 또한, 인간 CD3 및/또는 시노몰구스 CD3에 낮은 또는 검출 불가능한 결합 친화도로 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인 및 인간 BCMA에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하며, 여기서, 제2 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 임의의 특정 예시적인 CD3-특이적 항원-결합 도메인과 동일한 CD3 상의 에피토프에 결합하고/하거나 제2 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 임의의 특정 예시적인 BCMA-특이적 항원-결합 도메인과 동일한 BCMA 상의 에피토프에 결합한다.

[0150] 마찬가지로, 본 발명은 또한, 인간 BCMA에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 도메인 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하며, 여기서, 제1 항원-결합 도메인은 BCMA에 결합하기 위해 본원에 기재된 임의의 특정 예시적인 BCMA-특이적 항원-결합 도메인과 경쟁하고/하거나 제2 항원-결합 도메인은 CD3에 결합하기 위해 본원에 기재된 임의의 특정 예시적인 CD3-특이적 항원-결합 도메인과 경쟁한다.

[0151] 특정 항원-결합 분자(예를 들어, 항체) 또는 이의 항원-결합 도메인이 본 발명의 기준 항원-결합 분자와 동일한 에피토프에 결합하는지 혹은 그 기준 항원-결합 분자와 결합을 위한 경쟁을 하는지의 여부는 당업계에 공지된 일상적인 방법을 사용함으로써 용이하게 결정할 수 있다. 예를 들어, 시험 항체가 본 발명의 기준 이중특이적 항원-결합 분자와 동일한 BCMA(또는 CD3) 상의 에피토프에 결합하는지의 여부를 결정하기 위해, 기준 이중특이적 분자는 우선 BCMA 단백질(또는 CD3 단백질)에 결합하게 된다. 다음으로, BCMA(또는 CD3) 분자에 결합하는 시험 항체의 능력이 평가된다. 시험 항체가 기준 이중특이적 항원-결합 분자와의 포화 결합한 후 BCMA(또는 CD3)에 결합할 수 있다면, 시험 항체는 기준 이중특이적 항원-결합 분자와 상이한 BCMA(또는 CD3) 에피토프에 결합하는 것으로 결론내려질 수 있다. 한편, 시험 항체가 기준 이중특이적 항원-결합 분자와의 포화 결합한 후 BCMA(또는 CD3) 분자에 결합할 수 없다면, 시험 항체는 본 발명의 기준 이중특이적 항원-결합 분자에 의해 결합되는 에피토프와 동일한 BCMA(또는 CD3) 에피토프에 결합할 수 있다. 그 후에, 시험 항체 결합의 관찰된 결여가 사실상 기준 이중특이적 항원-결합 분자와 동일한 에피토프에 대한 결합으로 인한 것인지의 여부 또는 입체 차단(또는 또 다른 현상)이 관찰된 결합의 결여를 초래하는지의 여부를 확인하기 위해 부가적인 일상적 실험(예를 들어, 펩타이드 돌연변이 및 결합 분석)이 수행될 수 있다. 이러한 부류의 실험은 ELISA, RIA, Biacore, 유세포 분석법 또는 당업계에서 이용 가능한 임의의 다른 정량적 또는 정성적 항체-결합 분석을 사용하여 수행될 수 있다. 본 발명의 소정의 구현예에 따르면, 2개의 항원-결합 단백질은, 하나의 항원-결합 단백질의, 예를 들어, 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 과량이 경쟁적 결합 검정법에서 측정된 바와 같이 적어도 50%만큼, 그러나 바람직하게는 75%, 90% 또는 심지어 99%만큼 다른 항원-결합 단백질의 결합을 저해한다면, 동일한(또는 중첩) 에피토프에 결합한다(예를 들어, 문헌[Junghans 등, Cancer Res. 1990;50:1495-1502] 참조). 대안적으로, 2개의 항원-결합 단백질은, 하나의 항원-결합 단백질의 결합을 감소시키거나 없애는 항원 내의 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항원-결합 단백질의 결합을 감소시키거나 없애는 경우, 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 여겨진다. 2개의 항원-결합 단백질은, 하나의 항원-결합 단백질의 결합을 감소시키거나 없애는 아미노산 돌연변이의 서브세트만이 다른 항원-결합 단백질의 결합을 감소시키거나 없애는 "중첩 에피토프"를 갖는 것으로 여겨진다.

[0152] 항체 또는 이의 항원-결합 도메인이 결합을 위해 기준 항원-결합 분자와 경쟁하는지의 여부를 결정하기 위해, 상기 기재된 결합 방법론이 2가지 배향으로 수행된다: 제1 배향에서, 기준 항원-결합 분자는 포화 조건 하에 BCMA 단백질(또는 CD3 단백질)에 결합하게 되고, 뒤이어 BCMA(또는 CD3) 분자로의 시험 항체의 결합이 평가된다. 제2 배향에서, 시험 항체는 포화 조건 하에 BCMA(또는 CD3) 분자에 결합하게 되며, 뒤이어 BCMA(또는 CD3) 분자로의 기준 항원-결합 분자의 결합이 평가된다. 상기 두 배향 모두에서, 제1(포화) 항원-결합 분자만 BCMA(또는 CD3) 분자에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체와 기준 항원-결합 분자는 BCMA(또는 CD3)에 결합하기 위해 경쟁하는 것으로 결론내려진다. 당업자라면 알게 되는 바와 같이, 결합하기 위해 기준 항원-결합 분자와 경쟁하는 항체는, 기준 항체와 동일한 에피토프에 반드시 결합하지 않을 수도 있지만, 중첩 또는 인접한 에피토프에 결합함으로써 기준 항체의 결합을 입체적으로 차단시킬 수 있다.

[0153] 항원-결합 도메인의 제조 및 이중특이적 분자의 구성

[0154] 특정 항원에 특이적인 항원-결합 도메인은 당업계에 알려진 임의의 항체 생성 기술에 의해 제조될 수 있다. 일단 수득되면, 2개의 상이한 항원(예를 들어, CD3 및 BCMA)에 특이적인 2개의 상이한 항원-결합 도메인은 일상적인 방법을 사용하여 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자를 생성하도록 서로에 대해 적절하게 배열될 수 있다. (본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자를 구축하는 데 사용될 수 있는 예시적인 이중특이적 항체의 형식에 대한 고찰은 본원의 어디에나 제공되어 있음). 소정의 구현예에서, 본 발명의 다중특이적 항원-결합 분자의 하나 이상의 개별적인 구성요소(예를 들어, 중쇄 및 경쇄)는 키메라, 인간화 또는 완전 인간 항체로부터 유래된다. 그러한 항체를 제조하기 위한 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자의 중쇄 및/또는 경쇄 중 하나 이상은 VELOCIMMUNE™ 기술을 사용하여 제조될 수 있다. VELOCIMMUNE™ 기술(또는 임의의 다른 항체 생성 기술)을 사용하여, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는, 특정 항원(예를 들어, CD3 또는 BCMA)에 대한 고친화도 키메라 항체가 초기에 단리된다. 상기 항체는 친화도, 선택성, 에피토프 등을 포함하는 바람직한 특징에 대해 특성규명되고 선택된다. 마우스 불변 영역은 본 발명의 이중특이적 항원-

결합 분자 내로 혼입될 수 있는 완전 인간 중쇄 및/또는 경쇄를 생성하기 위해 목적으로 하는 인간 불변 영역으로 대체된다.

[0155] 인간 이중특이적 항원-결합 분자를 제조하기 위해 유전자 조작된 동물이 사용될 수 있다. 예를 들어, 내생적 마우스 면역글로불린 경쇄 가변 서열을 재배열 및 발현할 수 없는 유전자 변형 마우스가 사용될 수 있으며, 여기서 상기 마우스는 상기 내생적 마우스 카파 좌위에서 상기 마우스 카파 불변 유전자에 작동 가능하게 연결된 인간 면역글로불린 서열에 의해 인코딩되는 단 1개 또는 2개의 인간 경쇄 가변 도메인을 발현한다. 2개의 상이한 인간 경쇄 가변 영역 유전자 분절 중 하나로부터 유래된 가변 도메인을 포함하는 동일한 경쇄와 회합하는 2개의 상이한 중쇄를 포함하는 완전 인간 이중특이적 항원-결합 분자를 생성하기 위해, 이러한 유전자 변형 마우스가 사용될 수 있다. (예를 들어, 미국 특허 공개 공보 제2011/0195454호 참조). 완전 인간은 항체, 또는 항원-결합 단편 또는 그의 면역 글로불린 도메인을 지칭하고, 이는 항체 또는 항원-결합 단편 또는 그의 면역 글로불린 도메인의 각 폴리펩타이드의 전체 길이에 걸쳐 인간 서열에서 유래된 DNA에 의해 인코딩되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 상황에서, 상기 완전 인간 서열은 인간에 내인성인 단백질에서 유래된다. 다른 상황에서, 상기 완전 인간 단백질 또는 단백질 서열은 각 성분 서열이 인간 서열에서 유래되는 키메라 서열을 포함한다. 임의의 하나의 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, 키메라 단백질 또는 키메라 서열은 일반적으로, 예를 들어, 임의의 야생형 인간 면역글로불린 영역 또는 도메인과 비교하여, 구성요소 서열의 연결(junction)에서 면역원성 에피토프의 생성을 최소화하도록 설계된다.

[0156] 생체등가물

[0157] 본 발명은 본원에 개시된 예시적인 분자의 아미노산 서열과 다르지만 CD3 및/또는 BCMA에 결합하는 능력을 보유하는 아미노산 서열을 갖는 항원-결합 분자를 포괄한다. 이러한 변이체 분자는 부모 서열과 비교될 때 아미노산의 하나 이상의 첨가, 결실 또는 치환을 포함할 수 있지만, 기재된 이중특이적 항원-결합 분자와 본질적으로 등가인 생물학적 활성을 나타낸다.

[0158] 본 발명은 본원에 제시된 임의의 예시적인 항원-결합 분자에 대해 생체등가물인 항원-결합 분자를 포함한다. 2개의 항원-결합 단백질 또는 항체는, 예를 들어, 흡수 속도 및 정도가 단일 용량 또는 다중 용량으로 유사한 실험 조건 하에 동일한 몰 용량으로 투여될 때, 이들이 유의한 차이를 제시하지 않는 약제학적 등가물 또는 약제학적 대안물인 경우 생체등가물로 고려된다. 일부 항원-결합 분자는, 이들이 흡수 정도는 동등하지만 흡수 속도가 동등하지 않으며, 이러한 흡수 속도에서의 이러한 차이가 의도적이고 표지화에 반영되고, 예를 들어 만성적인 사용 시 효과적인 신체 약물 농도의 달성에 필수적이지 않으며, 연구된 특정 약물에 대해 의학적으로 유의하지 않은 것으로 간주되기 때문에, 여전히 생체등가인 것으로 간주될 수 있는 경우, 등가물 또는 약제학적 대용물로 간주될 것이다.

[0159] 일 구현예에서, 2개의 항원-결합 단백질은 이의 안전성, 순도 또는 약효에서 임상적으로 유의미한 차이가 없는 경우 생체등가이다.

[0160] 일 구현예에서, 2개의 항원-결합 단백질은, 전환 없이 지속되는 요법과 비교하여, 면역원성의 임상적으로 유의한 변화, 또는 감소된 효과성을 포함한 예상되는 유해 효과의 위험의 증가 없이 환자가 기준 생성물과 생물학적 생성물 사이에서 1회 이상 전환될 수 있는 경우 생체등가이다.

[0161] 일 구현예에서, 2개의 항원-결합 단백질은 이들 단백질이 둘 다 사용 조건 또는 조건들에 대한 공통의 작용 기전 또는 기전들에 의해 이러한 기전이 알려져 있는 정도까지 작용하는 경우 생체등가이다.

[0162] 생체등가성은 생체내(in vivo) 및 시험관내(in vitro) 방법에 의해 입증될 수 있다. 생체등가물의 측정은, 예를 들어, (a) 항체 또는 이의 대사산물의 농도가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 다른 생물학적 유체에서 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유류에서의 생체내 시험; (b) 인간 생체내 생체이용률 데이터와 상관관계가 있고 이를 합리적으로 예측하는 시험관내 시험; (c) 항체(또는 이의 표적)의 적절한 급성 약리학적 효과가 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유류에서의 생체내 시험; 및 (d) 항원-결합 분자의 안전성, 효능, 또는 생체이용률 또는 생체등가를 확립하는 잘 제어된 임상 시험을 포함한다.

[0163] 본원에 제시된 예시적인 이중특이적 항원-결합 분자의 생체등가 변이체는, 예를 들어, 잔기 또는 서열의 다양한 치환의 형성 또는 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열의 결실에 의해 삭제될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 필수적이지 않은 시스테인 잔기는 다른 아미노산을 사용하여 결실 또는 대체되어 복원 시 불필요한 또는 부정확한 분자내 이황화 교차의 형성을 방지할 수 있다. 다른 맥락에서, 생체등가 항원-결합 단백질은 분자의 글리코실화 특징을 변형하는 아미노산 변화, 예를 들어, 글리코실화를 없애거나 또는

제거하는 돌연변이를 포함하는 본원에 제시된 예시적인 이중특이적 항원-결합 분자의 변이체를 포함할 수 있다.

[0164] **중 선택성 및 중 교차-반응성**

[0165] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 인간 CD3에 결합하지만, 다른 종으로부터의 CD3에 결합하지 않는 항원-결합 분자가 제공된다. 또한, 인간 BCMA에 결합하지만 다른 종으로부터의 BCMA에 결합하지 않는 항원-결합 분자가 제공된다. 본 발명은 또한, 인간 CD3에 그리고 하나 이상의 비-인간 종으로부터의 CD3에 결합하는 항원-결합 분자; 및/또는 인간 BCMA에 그리고 하나 이상의 비-인간 종으로부터의 BCMA에 결합하는 항원-결합 분자를 포함한다.

[0166] 본 발명의 소정의 예시적인 구현예에 따르면, 인간 CD3 및/또는 인간 BCMA에 결합하고 경우에 따라 마우스, 래트, 기니피그, 햄스터, 게르빌루스쥐, 돼지, 고양이, 개, 토끼, 염소, 양, 소, 말, 낙타, 시노몰구스, 마모셋, 레서스 또는 침팬지 CD3 및/또는 BCMA 중 하나 이상에 결합할 수 있거나 결합하지 않을 수 있는 항원-결합 분자가 제공된다. 예를 들어, 본 발명의 특정 예시적인 구현예에서, 인간 BCMA 및 시노몰구스 BCMA에 결합하는 제1 항원-결합 도메인, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자가 제공되고, 인간 BCMA 및 시노몰구스 BCMA에 결합하는 제1 항원-결합 도메인, 및 인간 CD3에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항원-결합 분자가 제공된다.

[0167] **치료 제제 및 투여**

[0168] 본 발명은 본 발명의 항원-결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 약제학적 조성물은 개선된 교환, 전달, 내약성 등을 제공하는 적합한 담체, 부형제 및 다른 제제와 함께 제제화된다. 다수의 적절한 제제는 모든 제약화학자에게 공지된 처방집인 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA]에서 찾을 수 있다. 상기 제제는, 예를 들어, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 소포(예를 들어, 리포펙틴(LIPOFECTIN)TM, Life Technologies, Carlsbad, CA)를 함유한 지질(양이온성 또는 음이온성), DNA 접합체, 무수 흡수성 페이스트, 물-내-오일 및 오일-내-물 에멀전, 에멀전 카보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반(semi)-고체 젤 및 카보왁스를 함유한 반(semi)-고체 혼합물을 포함한다. 또한, 문헌[Powell 등 "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311]을 참조한다.

[0169] 환자에게 투여되는 항원-결합 분자의 용량은 상기 환자의 나이 및 크기, 표적 질환, 병태, 투여 경로 등에 따라 달라질 수 있다. 바람직한 용량은 전형적으로 체중 또는 체표면적에 따라 계산된다. 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자가 성인 환자의 치료 목적으로 사용되는 경우, 본 발명의 이중특이적 항원-결합 분자를 통상적으로 약 0.01 내지 약 20 mg/kg 체중, 보다 바람직하게는 약 0.02 내지 약 7, 약 0.03 내지 약 5, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg/kg 체중의 단일 용량으로 정맥내 투여하는 것일 유리할 수 있다. 상기 병태의 중증도에 따라, 상기 치료의 빈도 및 기간이 조정될 수 있다. 이중특이적 항원-결합 분자의 투여에 효과적인 투여량 및 스케줄은 경험적으로 결정될 수 있으며; 예를 들어, 환자 진행이 주기적인 평가로 모니터링될 수 있고, 그에 따라 용량이 조정될 수 있다. 더욱이, 당업계에 잘 알려져 있는 방법(예를 들어, 문헌[Mordenti 등, 1991, *Pharmaceut. Res.* 8:1351])을 사용하여 투여량의 종간(interspecies) 스케일링을 수행할 수 있다.

[0170] 다양한 전달 시스템, 예를 들어, 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 돌연변이 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개된 세포내이입이 공지되어 있고 본 발명의 약학적 조성물을 투여하는데 사용될 수 있다(예를 들어 문헌[Wu 등 1987, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432] 참조). 도입 방법은 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외 및 경구 경로를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 조성물은 임의의 편리한 경로, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사(bolus injection)에 의해, 상피 또는 점막피부 내벽(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다.

[0171] 본 발명의 약학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기를 이용하여 피하로 또는 정맥내로 전달될 수 있다. 또한, 피하 전달과 관련하여, 펜 전달 장치는 본 발명의 약제학적 조성물의 전달에서 용이한 응용을 가진다. 그러한 펜 전달 장치는 재사용 가능하거나 일회용일 수 있다. 재사용 가능한 펜 전달 장치는 일반적으로 약제학적 조성물을 함유하는 교체 가능한 카트리지를 이용한다. 일단 상기 카트리지 내의 모든 약제학적 조성물이 투여되고 상기 카트리지가 비워지면, 상기 빈 카트리지는 용이하게 폐기되고 상기 약제학적 조성물을 함유하는 새로운 카트리지로 대체될 수 있다. 그 후, 상기 펜 전달 장치는 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교체 가능한 카트리지가 없다. 오히려, 상기 일회용 펜 전달 장치는 상기 장치 내의 저장조에 보유된 상기 약제학적 조성물로

사전충전된다. 일단 상기 저장조에서 상기 약제학적 조성물이 비워지면, 상기 전체 장치가 폐기된다.

[0172] 다수의 재사용 가능한 펜 및 자동주사기 전달 장치가 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용된다. 예시는, 일부만 언급하자면, AUTOPEN™(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II 및 III(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ 펜(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ 및 OPTICLIK™(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 약제학적 조성물의 피하 전달에서 응용을 가지는 일회용 펜 전달 장치의 예시는, 일부만 언급하자면, SOLOSTAR™ 펜(Sanofi-aventis), FLEXPEN™(Novo Nordisk) 및 KWIKPEN™(Eli Lilly), SURECLICK™ 자동주사기(Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™(Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN(Dey, L.P.) 및 HUMIRA™ 펜(Abbott Labs, Abbott Park IL)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0173] 소정의 상황에서, 상기 약제학적 조성물은 제어된 방출 시스템에서 전달될 수 있다. 일 구현예에서, 펌프가 사용될 수 있다(상기 Langer; 문헌[Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201] 참조). 다른 구현예에서, 중합체성 물질이 사용될 수 있다. 문헌[Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida]를 참조한다. 다른 구현예에서, 제어된 방출 시스템은 상기 조성물의 표적 근처에 배치될 수 있으며, 따라서 상기 전신 용량의 일부분을 필요로 한다(예를 들어, 문헌[Goodson, 1984, Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138] 참조). 다른 제어 방출 시스템이 문헌[Langer, 1990, Science 249:1527-1533]의 검토에서 고찰되어 있다.

[0174] 주사 가능한 조제물은 정맥내, 피하, 피부내 및 근육내 주사, 드립 주입 등을 위한 투약 형태를 포함할 수 있다. 상기 주사 가능한 조제물은 널리 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기 주사 가능한 조제물은, 예를 들어, 주사에 통상적으로 사용되는 멸균 수성 배지 또는 유성 배지에 상기 기재된 항체 또는 이의 염을 용해시키거나, 현탁시키거나 또는 에멀전화함으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 배지로서, 예를 들어, 생리 식염수, 글루코스 및 다른 보제를 함유하는 등장성 용액 등이 있으며, 이들은 적절한 가용화제, 예컨대 알코올(예를 들어, 에탄올), 폴리알코올(예를 들어, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제 [예를 들어, 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소화된 피마자유의 폴리옥시에틸렌(50 몰) 부가물)] 등과 조합하여 사용될 수 있다. 상기 유성 매질로서, 예를 들어, 참기름, 대두유 등이 사용되며, 이는 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 용해제와 조합하여 사용될 수 있다. 이렇게 제조된 주사물은 바람직하게는 적절한 앰플에 충전된다.

[0175] 유리하게는, 상기 기재된 경구 또는 비경구 용도를 위한 약제학적 조성물은 활성 성분의 용량에 맞춰진 단위 용량의 투약 형태로 제조된다. 단위 용량의 이러한 투약 형태는 예를 들어, 정제, 알약, 캡슐, 주사물(앰플), 좌제 등을 포함한다. 함유된 전술된 항체의 양은 일반적으로 단위 용량 투약 형태당 약 5 내지 약 500 mg이고; 특히 주사 형태의 경우에는, 전술된 항체가 다른 투약 형태에 대해 약 5 내지 약 100 mg 및 약 10 내지 약 250 mg 으로 함유되는 것이 바람직하다.

[0176] 항원-결합 분자의 치료적 용도

[0177] 본 발명은 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 분자, 또는 CD3 및 BCMA에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하는 치료적 조성물을 이를 필요로 하는 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다. 치료적 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 임의의 항체 또는 이중특이적 항원-결합 분자 및 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "이를 필요로 하는 시험대상자"는 암의 하나 이상의 증상 또는 적응증을 나타내는 인간 또는 비-인간 동물(예를 들어, 종양을 나타내거나 본원 하기에 언급된 임의의 암을 앓고 있는 시험대상자), 또는 BCMA 활성의 억제 또는 감소로부터 또는 BCMA + 세포(예를 들어, 다발성 골수종 세포)의 고갈로부터 이익을 얻을 시험대상자를 의미한다.

[0178] 본 발명의 항체 또는 이중특이적 항원-결합 분자 (및 이를 포함하는 치료적 조성물)은, 그 중에서도, 면역 반응의 자극, 활성화, 및/또는 표적화가 유익한 임의의 질환 또는 장애의 치료에 유용하다. 특히, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자는 BCMA 발현 또는 BCMA+ 세포의 활성 또는 증식과 관련되거나 이에 의해 매개되는 임의의 질환 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 개선에 사용될 수 있다. 본 발명의 치료적 방법이 달성되는 작용 기전은 효과기 세포의 존재 하에 예를 들어, CDC, 세포자멸사, ADCC, 식세포작용에 의한, 또는 이들 기전 중 2가지 이상의 조합에 의한 BCMA를 발현하는 세포의 사멸화를 포함한다. 본 발명

의 이중특이적 항원-결합 분자를 사용하여 저해되거나 사멸화될 수 있는 BCMA를 발현하는 세포는 예를 들어, 다발성 골수종 세포를 포함한다.

[0179] 본 발명의 항원-결합 분자는 예를 들어, 다발성 골수종 또는 다른 B-세포 또는 형질 세포 암을 포함한 암, 예컨대 발덴스트롬 거대글로블린혈증, 버킷 림프종, 및 미만성 거대 B-세포 림프종, 비-호지킨 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 여포성 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, 림프형질세포성 림프종, 및 호지킨 림프종을 포함하여, BCMA 발현과 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 소정의 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 다발성 골수종을 앓고 있는 환자를 치료하는 데 유용하다. 본 발명의 다른 관련 구현예에 따르면, 본원에 개시된 바와 같은 항-BCMA 항체 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 다발성 골수종을 앓고 있는 환자를 치료하기 위해 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 당업계에 알려진 분석적/진단적 방법, 예컨대 중앙 스캐닝 등은, 환자가 다발성 골수종 또는 또 다른 B-세포 계통 암을 보유하고 있는지의 여부를 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0180] 본 발명은 또한, 시험대상자에서 잔류암을 치료하는 방법을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "잔류암"은 항암 요법 요법을 사용한 치료 후 시험대상자에서 하나 이상의 암성 세포가 존재하거나 또는 지속되는 것을 의미한다.

[0181] 소정의 양태에 따르면, 본 발명은, 시험대상자가 다발성 골수종을 갖고 있는 것으로 결정된 후에, 본원 어디에나 기재된 하나 이상의 항-BCMA 또는 이중특이적 항원-결합 분자를 시험대상자에게 투여하는 단계를 포함하는, BCMA 발현과 관련된 질환 또는 장애(예를 들어, 다발성 골수종)를 치료하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은, 시험대상자가 다른 면역요법 또는 화학요법을 받은 후 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주 또는 4주, 2개월, 4개월, 6개월, 8개월, 1년 이상째에 항-BCMA 항체 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 다발성 골수종을 치료하는 방법을 포함한다.

[0182] 조합 요법 및 제제

[0183] 본 발명은 1종 이상의 추가적인 치료제와 병용하여 임의의 예시적인 항체 및 본 명세서에 기재된 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명의 항원-결합 분자와 조합될 수 있거나 조합되어 투여될 수 있는 예시적인 부가적 치료제는 예를 들어, 항종양제(예를 들어, 멜팔란, 빈크리스틴(Oncovin), 사이클로포스파미드(Cytoxan), 에토포사이드(VP-16), 독소루비신(Adriamycin), 리포솜 독소루비신(Doxil), 오벤다무스틴(obendamine)(Treanda), 또는 시험대상자에서 혈장 세포 종양을 치료하기에 효과적인 것으로 알려진 임의의 다른 것들을 포함한 화학치료제)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 스테로이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 탈리도마이드, 레날리도마이드 및 보르테조미드를 포함한 표적화된 요법을 포함하며, 이들은 새로 진단된 환자를 치료하기 위해 승인된 요법이다. 레날리도마이드, 포말리도마이드, 보르테조미드, 카르필조미드, 파노비노스탁, 익사조미드, 엘로투주맙 및 다라투주맙이 반복적 골수종을 치료하기에 효과적인 제2 치료제의 예이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 방사선 요법 또는 줄기세포 이식을 포함하는 섭생이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 면역조절제일 수 있다. 소정의 구현예에서, 제2 치료제는 보르테조미드(Velcade), 카르필조미드(Kyprolis), 익사조미드(Ninlaro)을 포함한 프로테아좀 저해제일 수 있다. 소정의 구현예에서 제2 치료제는 파노비노스탁(Farydak)과 같은 히스톤 데아세틸라제 저해제일 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 제2 치료제는 단일클론 항체, 항체 약물 접합체, 항종양제에 접합된 이중특이적 항체, 관문 억제제 또는 그의 조합일 수 있다. 본 발명의 항체와 조합되어 유익하게 투여될 수 있는 다른 제제는 사이토카인, 예컨대 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, 또는 이들의 각각의 수용체에 결합하는 저분자 사이토카인 저해제 및 항체를 포함한 사이토카인 저해제를 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물(예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항원-결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물)은 또한, 형질 세포 표면 상의 상이한 항원과 상호작용할 수 있는 본원에 기재된 것들 이외의 모노클로날 항체, 중앙 세포 표면 상의 항원에 결합하는 하나의 아암 및 T 세포 상의 항원에 결합하는 다른 아암을 갖는 이중특이적 항체, 항체 약물 접합체, 항종양제와 접합된 이중특이적 항체, 체크포인트 저해제, 예를 들어, PD-1 또는 CTLA-4를 표적화하는 체크포인트 저해제, 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 하나 이상의 치료적 조합을 포함하는 치료 요법의 일부로서 투여될 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 관문 억제제는 펌브롤리주맙(Keytruda), 니블루맙(Opdivo) 또는 세미플리맙(REGN2810)과 같은 PD-1 저해제에서 선택될 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 관문 억제제는 아테졸리주맙(Tecentriq), 아벨루맙(Bavencio) 또는 듀르발루맙(Imfinzi)과 같은 PD-L1 억제제에서 선택될 수 있다. 소정의 구현예에서, 상기 관문 억제제는 이필리무맙(Yervoy)과 같은 CTLA-4 억제제에서 선택될 수 있다. 본 발명의 항체와의 접합에서 사용될 수 있는 다른 조합은

상기 설명되어 있다.

[0184] 본 발명은 또한 본 명세서에 언급된 임의의 항원-결합 분자 및 VEGF, Ang2, DLL4, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, EGFRvIII, cMet, IGF1R, B-raf, PDGFR- α , PDGFR- β , FOLH1(PSMA), PRLR, STEAP1, STEAP2, TMPRSS2, MSLN, CA9, 유로플라킨, 또는 임의의 앞서 언급한 사이토카인 중 하나 이상의 저해제를 포함하는 치료 조합을 포함하며, 여기서, 저해제는 앵타머, 안티센스 분자, 리보자임, siRNA, 펩티바디, 나노바디 또는 항체 단편(예를 들어, Fab 단편; F(ab')₂ 단편; Fd 단편; Fv 단편; scFv; dAb 단편; 또는 다른 조작된 분자, 예컨대 다이아바디, 트라이아바디, 테트라바디, 미니바디 및 최소 인식 단위)을 포함한다. 또한, 본 발명의 항원-결합 분자는 항바이러스제, 항생제, 진통제, 코르티코스테로이드 및/또는 NSAID와 조합하여 투여 및/또는 공동제제화될 수 있다. 또한, 본 발명의 항원-결합 분자는 방사선 치료 및/또는 통상적인 화학요법을 또한 포함하는 치료 요법의 부분으로서 투여될 수 있다.

[0185] 상기 추가 치료적 활성 성분(들)은 본 발명의 항원-결합 분자의 투여 직전에, 동시에 또는 직후에 투여될 수 있다(본 개시의 목적을 위해, 그러한 투여 요법은 추가 치료적 활성 성분과 "조합한" 항원-결합 분자의 투여로 간주됨).

[0186] 본 발명은 본 발명의 항원-결합 분자가 본원의 다른 부분에 설명된 바와 같은 하나 이상의 추가 치료적 활성 성분(들)과 함께 공동 제제화되는 약제학적 조성물을 포함한다.

[0187] 투여 요법

[0188] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 항원-결합 분자(예를 들어, BCMA 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항-BCMA 항체 또는 이중특이적 항원-결합 분자)의 다중 투여량이 대상에게 정해진 시간 과정에 걸쳐 투여될 수 있다. 본 발명의 상기 양태에 따른 방법은 본 발명의 항원-결합 분자의 다중 용량을 시험대상자에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "순차적으로 투여하는"은, 각 용량의 항원-결합 분자가 상이한 시점에서, 예를 들어, 사전결정 간격(예를 들어, 시간, 일, 주 또는 월)으로 분리된 상이한 일수로 시험대상자에게 투여된다는 것을 의미한다. 본 발명은 상기 환자에게 단일 초기 용량의 항원-결합 분자, 그 다음은 하나 이상의 2차 용량의 상기 항원-결합 분자, 및 선택적으로 그 다음은 하나 이상의 3차 용량의 상기 항원-결합 분자를 순차적으로 투여하는 방법을 포함하는 방법을 포함한다.

[0189] 용어 "초기 용량", "2차 용량", 및 "3차 용량"은 본 발명의 항원-결합 분자 투여의 시간적 순서를 지칭한다. 따라서, "초기 용량"은 치료 요법의 시작에서 투여되는 용량이며("기준선 용량"으로도 지칭됨); "2차 용량"은 초기 용량 이후에 투여되는 용량이고; 및 "3차 용량"은 2차 용량 이후에 투여되는 용량이다. 초기, 2차, 및 3차 용량은 모두 동일한 양의 상기 항원-결합 분자를 함유할 수 있지만, 일반적으로 투여 빈도의 측면에서 서로 상이할 수 있다. 그러나, 소정의 구현예에서, 초기, 2차 및/또는 3차 용량에 함유된 항원-결합 분자의 양은 치료 과정 동안 서로 다르다(예를 들어, 적절한 경우 상향 또는 하향 조정됨). 소정의 구현예에서, 2회 이상(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5회)의 용량이 "로딩 용량"으로서 치료 요법의 시작에서 투여되고 그 다음은 덜 빈번한 기준으로 투여되는 후속 용량(예를 들어, "유지 용량")이 투여된다. 임의의 구현예에서, 초기 용량(예를 들어, 매주 1차 용량)은 3일 이하 간격의 별개의 일(예를 들어, 연속일)에 투여되는 2개의 용량으로 분할될 수 있다. 임의의 구현예에서, 1차 명목 용량(nominal dose)(예를 들어, 2차 용량)은 3일 이하 간격의 별개의 일(예를 들어, 연속일)에 투여되는 2개의 용량으로 분할될 수 있다. 예를 들어, 초기 용량 또는 2차 용량이 6 mg이라면, 상기 용량은 예를 들어, 연속일에 또는 3일 이하 간격의 별개의 일에 투여되는 2개의 3 mg 용량으로 분할될 수 있다. 다양한 구현예에서, 용량(예를 들어, 매주 단일 용량으로서 또는 용량의 2개 분할 분획으로서 투여되는 용량)은 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 mg, 20 mg, 21 mg, 22 mg, 23 mg, 24 mg, 25 mg, 26 mg, 27 mg, 28 mg, 29 mg, 30 mg, 31 mg, 32 mg, 33 mg, 34 mg, 35 mg, 36 mg, 37 mg, 38 mg, 39 mg, 40 mg, 41 mg, 42 mg, 43 mg, 44 mg, 45 mg, 46 mg, 47 mg, 48 mg, 49 mg, 50 mg, 51 mg, 52 mg, 53 mg, 54 mg, 55 mg, 56 mg, 57 mg, 58 mg, 59 mg, 60 mg, 61 mg, 62 mg, 63 mg, 64 mg, 65 mg, 66 mg, 67 mg, 68 mg, 69 mg, 70 mg, 71 mg, 72 mg, 73 mg, 74 mg, 75 mg, 76 mg, 77 mg, 78 mg, 79 mg, 80 mg, 81 mg, 82 mg, 83 mg, 84 mg, 85 mg, 86 mg, 87 mg, 88 mg, 89 mg, 90 mg, 91 mg, 92 mg, 93 mg, 94 mg, 95 mg, 96 mg, 97 mg, 98 mg, 99 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg, 140 mg, 145 mg, 150 mg, 155 mg, 160 mg, 165 mg, 170 mg, 175 mg, 180 mg, 185 mg, 190 mg, 195 mg, 200 mg, 205 mg, 210 mg, 215 mg, 220 mg, 225 mg, 230 mg, 235 mg, 240 mg, 245 mg, 250 mg, 255 mg, 260 mg, 265 mg, 270 mg, 275 mg, 280 mg, 285 mg, 290 mg, 295 mg, 300 mg, 305 mg, 310 mg, 315 mg, 320 mg, 325 mg, 330 mg, 335 mg, 340 mg, 345 mg, 350 mg, 355 mg, 360 mg,

365 mg, 370 mg, 375 mg, 380 mg, 385 mg, 390 mg, 395 mg, 400 mg, 405 mg, 410 mg, 415 mg, 420 mg, 425 mg, 430 mg, 435 mg, 440 mg, 445 mg, 450 mg, 455 mg, 460 mg, 465 mg, 470 mg, 475 mg, 480 mg, 485 mg, 490 mg, 495 mg, 500 mg, 510 mg, 520 mg, 530 mg, 540 mg, 550 mg, 560 mg, 570 mg, 580 mg, 590 mg, 600 mg, 610 mg, 620 mg, 630 mg, 640 mg, 650 mg, 660 mg, 670 mg, 680 mg, 690 mg, 700 mg, 710 mg, 720 mg, 730 mg, 740 mg, 750 mg, 760 mg, 770 mg, 780 mg, 790 mg, 800 mg, 810 mg, 820 mg, 830 mg, 840 mg, 850 mg, 860 mg, 870 mg, 880 mg, 890 mg, 900 mg, 910 mg, 920 mg, 930 mg, 940 mg, 950 mg, 960 mg, 970 mg, 980 mg, 990 mg, 1000 mg, 1.5 g, 2 g, 2.5 g, 3 g, 3.5 g, 4 g, 4.5 g, 5 g, 5.5 g, 6 g, 6.5 g, 7 g, 7.5 g, 8 g, 8.5 g, 9 g, 9.5 g, 10 g 이상이거나, 적어도 이들 양이다. 임의의 이들 양은 본원에 고찰된 초기, 2차 또는 3차 용량에 대한 범위를 정의하는데 사용될 수 있고, 본 개시내용의 범위 내에 포괄된다. 일부 구현예에서, 모든 용량은 투여 요법의 제1주 및 제2주에 투여되는 용량을 포함하여 단일 용량(예를 들어, 단일 주입)으로서 주어진다. 예를 들어, 1 mg 내지 5 mg의 초기 용량은 제1주에 단일 용량으로서 투여될 수 있으며, 3 mg 내지 400 mg의 2차 용량은 제2주에 단일 용량으로서 투여될 수 있고, 50 mg 내지 800 mg의 3차 용량은 제3주에 그리고 이후에 투여 요법의 매주 투여 기간 동안 단일 용량으로서 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 5 mg의 초기 용량은 제1주에 단일 용량으로서 투여될 수 있으며, 25 mg의 2차 용량은 제2주에 단일 용량으로서 투여될 수 있고, 50 mg 내지 800 mg의 3차 용량은 제3주에 그리고 이후에 투여 요법의 매주 투여 기간 동안 단일 용량으로서 투여될 수 있다. 일부 경우, 투여 일정은 이후에(예를 들어, 12주 내지 16주 후에) 2주마다, 3주마다, 1개월에 1회 등의 투여를 포함할 수 있다.

[0190] 본 발명의 일 예시적인 구현예에서, 각 2차 및/또는 3차 용량은 바로 이전의 투여량 이후에 1 내지 26주(예를 들어, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½주 또는 그 이상)차에 투여된다. 본원에 사용된 바와 같이, 어구 "바로 이전의 용량"은, 다중 투여 순서에서, 사이에 있는 용량 없이 순서에서 바로 다음 용량의 투여 전에 환자에게 투여되는 항원-결합 분자의 용량을 의미한다.

[0191] 본 발명의 이 양태에 따른 방법은 환자에게 2차 및/또는 3차 용량의 항원-결합 분자(예를 들어, BCMA 및 CD3에 특이적으로 결합하는 항-BCMA 항체 또는 이중특이적 항원-결합 분자)를 임의의 횟수로 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 소정의 구현예에서, 단일 2차 용량만이 상기 환자에게 투여된다. 다른 구현예에서, 2회 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 또는 그 이상)의 2차 용량이 상기 환자에게 투여된다. 마찬가지로, 소정의 구현예에서, 단일 3차 용량만이 상기 환자에게 투여된다. 다른 구현예에서, 2회 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 또는 그 이상)의 3차 용량이 상기 환자에게 투여된다.

[0192] 다중 2차 용량을 수반하는 구현예에서, 각각의 2차 용량은 다른 2차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각 2차 용량은 바로 앞의 용량 후 1주 내지 2주차에 상기 환자에게 투여될 수 있다. 유사하게는, 다중 3차 용량을 포함하는 구현예에서, 각 3차 용량은 다른 3차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각 3차 용량은 바로 앞의 용량 후 2주 내지 4주차에 상기 환자에게 투여될 수 있다. 대안적으로, 상기 2차 및/또는 3차 용량이 환자에게 투여되는 빈도는 상기 치료 요법의 과정에 걸쳐 달라질 수 있다. 또한, 투여 빈도는 임상 시험 후 개별적인 환자의 필요에 따라 의사에 의해 치료 과정 동안 조정될 수 있다.

[0193] 항체의 진단적 용도

[0194] 본 발명의 항-BCMA 항체는 또한, 예를 들어, 진단 목적의 샘플에서 BCMA, 또는 BCMA-발현 세포를 검출하고/하거나 측정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 BCMA의 비정상 발현(예를 들어, 과발현, 저발현, 발현 결여 등)을 특징으로 하는 질병 또는 질환을 진단하는 데 사용될 수 있다. BCMA를 위한 예시적인 진단 분석은, 예를 들어, 환자로부터 수득된 샘플을 본 발명의 항-BCMA 항체와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있으며, 여기서, 항-BCMA 항체는 검출 가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지된다. 대안적으로, 비표지 항-BCMA 항체는 그 자체가 검출 가능하게 표지되는 2차 항체와 조합되어 진단 용도에 사용될 수 있다. 검출 가능한 표지 또는 리포터 분자는 방사성 동위원소, 예컨대 ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S 또는 ¹²⁵I; 형광 또는 화학발광 모이어티, 예컨대 플루오레세인 이소티오시아네이트 또는 로다민; 또는 효소, 예컨대 알칼린 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 호스래디쉬 퍼옥시다제, 또는 루시페라제일 수 있다. 본 발명의 항-BCMA 항체의 또 다른 예시적인 진단 용도는 시험대상자에서 종양 세포의 비침습적 식별 및 추적의 목적(예를 들어, 양전자 방출 단층촬영(PET) 이미징)을 위한 ⁸⁹Zr-표지, 예컨대 ⁸⁹Zr-데스페리옥사민-표지 항체를 포함한다. (예를 들어, 문헌[Tavare, R. 등 Cancer Res. 2016 Jan 1;76(1):73-82]; 및 문헌[Azad, BB. 등 Oncotarget. 2016 Mar 15;7(11):12344-58]

참조) 샘플에서 BCMA를 검출하거나 측정하는 데 사용될 수 있는 구체적인 예시적 분석은 효소-연결 면역흡착 검정법(ELISA), 방사선 면역검정법(RIA), 및 형광-활성화 세포 분류(FACS)를 포함한다.

[0195] 본 발명에 따른 BCMA 진단 검정법에 사용될 수 있는 샘플은 정상적인 또는 병리학적 조건 하에, 검출 가능한 양의 BCMA 단백질 또는 이의 단편을 함유하는 환자로부터 수득 가능한 임의의 조직 또는 유체 샘플을 포함한다. 일반적으로, 기준선 또는 표준 BCMA 수준을 처음에 확립하기 위해 건강한 환자(예를 들어, 비정상적인 BCMA 수준 또는 활성과 관련된 질환 또는 질병을 앓고 있지 않는 환자)로부터 수득된 특정 샘플 내 BCMA 수준이 측정될 것이다. 그 후에, BCMA의 이러한 기준선 수준은 BCMA 관련 질환 또는 질병(예를 들어, BCMA-발현 세포를 함유하는 종양)을 갖는 것으로 의심되는 개체로부터 수득된 샘플에서 측정된 BCMA 수준에 비교될 수 있다.

[0196] **실시예**

[0197] 하기 실시예는 당업자에게 본 발명의 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제시되며, 본 발명자들이 그들의 발명으로 간주하는 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)에 대한 정확도를 보장하기 위해 노력하였으나, 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 나타내지 않는 한, 부분은 중량부, 분자량은 평균 분자량, 온도는 섭씨 온도, 그리고 압력은 대기압 또는 그 부근이다.

[0198] **실시예 1: 항-BCMA 항체의 생성**

[0199] 유전자 변형된 마우스를 인간 BCMA 항원(예를 들어, hBCMA, SEQ ID NO: 115)으로 면역화함으로써 또는 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스를 인간 BCMA 항원으로 면역화함으로써 항-BCMA 항체를 수득하였다.

[0200] 면역화 후, 각각의 마우스로부터 비장 세포를 수확하고, (1) 마우스 골수종 세포와 융합하여, 상기 비장 세포의 생존력을 보존하고 하이브리도마 세포를 형성하며, BCMA 특이성에 대해 스크리닝하거나, (2) 인간 BCMA 단편을, 반응성 항체(항원-양성 B 세포)에 결합하고 식별하는 분류 시약으로서 사용하여 B-세포를 분류하였다(US 2007/0280945A1에 기재된 바와 같이).

[0201] 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는, BCMA에 대한 키메라 항체를 먼저 단리하였다. 항체는 친화도, 선택성, 에피토프 등을 포함하는 바람직한 특징에 대해 특징화되고 선택되었다. 필요하다면, 마우스 불변 영역을 요망되는 인간 불변 영역, 예를 들어, 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4 불변 영역으로 대체하여, 완전 인간 항-BCMA 항체를 생성시켰다. 선택된 불변 영역이 특이적 용도에 따라 달라질 수 있지만, 높은 친화도 항원-결합 및 표적 특이성 특징은 가변 영역에 존재한다.

[0202] **항-BCMA 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 및 핵산 서열:** 표 1은 본 발명의 선택된 항-BCMA 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 CDR의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 상응하는 핵산 서열 식별자는 표 2에 기재되어 있다.

표 1

표 1: 아미노산 서열 식별자

항체 표기	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb16711	2	4	6	8	10	12	14	16
mAb16716	18	20	22	24	26	28	30	32
mAb16732	34	36	38	40	42	44	46	48
mAb16747	50	52	54	56	58	60	62	64
mAb21581	66	68	70	72	74	76	78	80
mAb21587	122				123			
mAb21589	124				125			

[0203]

표 2

표 2: 핵산 서열 식별자

	SEQ ID NO:							
항체 표기	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb16711	1	3	5	7	9	11	13	15
mAb16716	17	19	21	23	25	27	29	31
mAb16732	33	35	37	39	41	43	45	47
mAb16747	49	51	53	55	57	59	61	63
mAb21581	65	67	69	71	73	75	77	79

실시예 2: 항-CD3 항체의 생성

항-CD3 항체는 WO 2017/053856에 기재된 바와 같이 생성되었으며, 이는 참조에 의해 본원에 포함된다. 2가지 이러한 항-CD3 항체는 본 발명에 따른 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체의 생성으로부터 선택되었다. 표 3은 선택된 항-CD3 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 CDR의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 상응하는 핵산 서열 식별자는 표 4에 기재되어 있다. 본 발명에 따른 이중특이적 항체를 제조하기 위해 사용되는 다른 항-CD3 항체는 예를 들어, WO 2014/047231에서 찾을 수 있다.

표 3

표 3: 아미노산 서열 식별자

	SEQ ID NO:							
항체 표기	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb7221G	90	92	94	96	82	84	86	88
mAb7221G20	98	100	102	104	82	84	86	88

표 4

표 4: 핵산 서열 식별자

	SEQ ID NO:							
항체 표기	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb7221G	89	91	93	95	81	83	85	87
mAb7221G20	97	99	101	103	81	83	85	87

실시예 3: BCMA 및 CD3에 결합하는 이중특이적 항체의 생성

본 발명은 CD3 및 BCMA에 결합하는 이중특이적 항원-결합 분자를 제공하며; 이러한 이중특이적 항원-결합 분자는 또한 본원에서 "항-BCMA x 항-CD3 또는 항-CD3xBCMA 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 분자"로 지칭된다. 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 분자의 항-BCMA 부분은 BCMA(CD269로도 알려져 있음)를 발현하는 종양 세포를 표적화하는 데 유용하며, 이중특이적 분자의 항-CD3 부분은 T-세포 활성화에 유용하다. 종양 세포 상의 BCMA와 T-세포 상의 CD3의 동시 결합은 활성화된 T-세포에 의한 표적화된 종양 세포의 직접적인 사멸화(세포 용해)를 용이하게 한다.

[0211] 항-BCMA-특이적 결합 도메인 및 항-CD3-특이적 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체를 표준 방법론을 사용하여 작제하고, 여기서, 항-BCMA 항원-결합 도메인 및 항-CD3 항원-결합 도메인은 각각 공통의 LCVR과 쌍을 이루는 상이한, 별개의 HCVR을 포함한다. 예시된 이중특이적 항체에서, 항-CD3 항체로부터의 중쇄, 항-BCMA 항체로부터의 중쇄 및 항-CD3 항체(예를 들어, SEQ ID NO: 82)로부터의 공통 경쇄를 이용하여 분자가 작제되었다. 다른 상황에서, 항-CD3 항체로부터의 중쇄, 항-BCMA 항체로부터의 중쇄 및 여러가지 중쇄 아암과 효과적으로 혼합(promiscuous)되거나 쌍을 이루는 것으로 알려진 공통 경쇄를 이용하여 이중특이적 항체가 작제될 수 있다.

표 5

표 5: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 구성요소 부분의 요약

이중특이적 항체 식별자	항-BCMA	항-CD3	공통경쇄 가변 영역
	항원-결합 도메인	항원-결합 도메인	
	중쇄 가변 영역	중쇄 가변 영역	
bsAb25441D9 (REGN5458 로도 지칭됨)	mAb21581	mAb7221G	mAb7221G
bsAb25442D (REGN5459 로도 지칭됨)	mAb21581	mAb7221G20	mAb7221G20

[0212]

[0213] 표 6은 본원에 예시된 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체에 대한 아미노산 서열 식별자를 제시한다.

표 6

표 6: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 아미노산 서열

이중특이적 항체 식별자	항-BCMA 제 1 항원-결합 도메인				항-CD3 제 2 항원-결합 도메인				공통경쇄 가변 영역			
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
bsAb25441D (REGN5458)	66	68	70	72	90	92	94	96	82	84	86	88
bsAb25442D (REGN5459)	66	68	70	72	98	100	102	104	82	84	86	88

[0214]

[0215] 표 6에서 식별된 bsAb25441D 이중특이적 항체(REGN5458)는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄(제1 항원-결합 도메인을 함유함), SEQ ID NO: 127의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄(제2 항원-결합 도메인을 함유함), 및 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는 공통 경쇄를 포함한다. bsAb25441D 이중특이적 항체(REGN5458)의 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 130의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. bsAb25441D 이중특이적 항체(REGN5458)의 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 131의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. bsAb25441D 이중특이적 항체(REGN5458)의 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 132의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다.

[0216] 표 6에서 식별된 bsAb25442D 이중특이적 항체(REGN5459)는 SEQ ID NO: 126의 아미노산 서열을 포함하는 제1 중쇄(제1 항원-결합 도메인을 함유함), SEQ ID NO: 128의 아미노산 서열을 포함하는 제2 중쇄(제2 항원-결합 도메인을 함유함), 및 SEQ ID NO: 129의 아미노산 서열을 포함하는 공통 경쇄를 포함한다. bsAb25442D 이중특이적

항체(REGN5459)의 제1 중쇄는 SEQ ID NO: 130의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. bsAb25442D 이중특이적 항체(REGN5459)의 제2 중쇄는 SEQ ID NO: 131의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다. bsAb25442D 이중특이적 항체(REGN5459)의 공통 경쇄는 SEQ ID NO: 132의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다.

실시예 4: 항-BCMA 항체 및 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 표면 플라즈몬 공명 유래 결합 친화도 및 동역학적 상수

정제된 항-BCMA mAb 또는 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 mAb로의 hBCMA.mmh(SEQ ID NO: 106) 결합에 대한 평형 해리 상수(K_D 값)를 Biacore 4000 기구를 사용하는 실시간 표면 플라즈몬 공명 바이오센서를 사용하여 결정하였다. 정제된 항-BCMA mAb 및 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 mAb를 포착하기 위해 모노클로날 마우스 항-인간 Fc 항체(GE, # BR-1008-39)와의 아민 커플링에 의해 CM5 Biacore 센서 표면을 유도체화하였다. 모든 Biacore 결합 연구를 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 계면활성제 P20(HBS-ET 전개 완충액)으로 이루어진 완충액에서 수행하였다. 단량체성 친화도에 대해, C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 태그와 함께 발현된 인간 BCMA(인간 BCMA-MMH; SEQ ID NO: 106) 또는 C-말단 myc-myc-헥사히스티딘 태그와 함께 발현된 원숭이 BCMA(원숭이 BCMA-MMH; SEQ ID NO: 110)의 세포외 도메인을 상이한 농도로 HBS-ET 전개 완충액(90 내지 1.11 nM, 3-배 희석물)에서 제조하였다. 이량체성 친화도에 대해, C-말단 mFc 태그와 함께 발현된 인간 BCMA(인간 BCMA-MFC; SEQ ID NO: 108) 또는 C-말단 mFc 태그와 함께 발현된 원숭이 BCMA(원숭이 BCMA-MFC; SEQ ID NO: 112)의 세포외 도메인을 상이한 농도로 HBS-ET 전개 완충액(30 내지 0.37 nM, 3-배 희석물)에서 제조하거나, C-말단 mFc 태그와 함께 발현된 30 nM BCMA(마우스 BCMA-MFC; SEQ ID NO: 114)를 제조하였다. 그 후에, 항-BCMA 및 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 mAb 포착된 표면에 걸쳐 30 μ L/분의 유속으로 또 다른 샘플을 주사하였다. 항체-시약 회합을 5분 동안 모니터링하는 한편, HBS-ET 전개 완충액에서의 해리를 10분 동안 모니터링하였다. 모든 결합 동역학 실험을 25°C에서 수행하였다. Scrubber 2.0c 곡선 피팅 소프트웨어를 사용하여 실시간 센서그램을 1:1 결합 모델에 피팅함으로써 동역학적 결합(k_a) 및 해리(k_d) 속도 상수를 결정하였다. 결합 해리 평형 상수(K_D) 및 해리 반감기($t_{1/2}$)를 동역학적 속도 상수로부터 하기와 같이 계산하였다:

$$K_D \text{ (M)} = \frac{k_d}{k_a}, \quad \text{및} \quad t_{1/2} \text{ (분)} = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

표 7에 제시된 바와 같이, 25°C에서, 본 발명의 모든 항-BCMA 항체는 1.06 nM 내지 3.56 nM 범위의 K_D 값으로 인간 BCMA-MMH에 결합하였다. 표 8에 제시된 바와 같이, 25°C에서, 본 발명의 모든 항-BCMA 항체는 22.3 pM 내지 103 pM 범위의 K_D 값으로 인간 BCMA-MFC에 결합하였다. 표 9에 제시된 바와 같이, 25°C에서, 본 발명의 2개의 항-BCMA 항체는 38.8 nM 내지 49.92 nM 범위의 K_D 값으로 원숭이 BCMA-MMH에 결합하였다. 표 10에 제시된 바와 같이, 25°C에서, 본 발명의 4개의 항-BCMA 항체는 148 pM 내지 14.7 nM 범위의 K_D 값으로 원숭이 BCMA-MFC에 결합하였다. 표 11에 제시된 바와 같이, 25°C에서, 본 발명의 4개의 항-BCMA 항체는 677 pM 내지 18.8 nM 범위의 K_D 값으로 마우스 BCMA-MFC에 결합하였다.

표 7

표 7: 25°C에서 인간 BCMA-MMH 로의 항-BCMA 모노클로날 항체 결합의 결합 동역학 매개변수

REGN #	Ab PID #	mAb 포착 (RU)	90 nM hBCMA.mmh 결합 (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (분)
REGN5458	bsAb25441D	437.5 $\pm$ 1.1	19.9	8.27E+05	8.74E-04	1.06E-09	13.2
REGN5459	bsAb25442D	384.8 $\pm$ 1.4	17.0	7.30E+05	1.01E-03	1.38E-09	11.5
	mAb16711	275.0 $\pm$ 2.8	22.2	2.01E+06	3.47E-03	1.73E-09	3.3
	mAb16716	310.3 $\pm$ 2.2	26.4	8.41E+05	2.99E-03	3.56E-09	3.9
REGN4514	mAb16732	284.1 $\pm$ 0.9	25.3	1.06E+06	2.85E-03	2.69E-09	4.1
REGN4515	mAb16747	332.5 $\pm$ 0.9	31.4	8.69E+05	2.47E-03	2.84E-09	4.7

표 8

표 8: 25°C에서 인간 BCMA-MFC 로의 항-BCMA 모노클로날 항체 결합의 결합 동역학 매개변수

REGN #	Ab PID #	mAb 포착 (RU)	30 nM hBCMA.mFc 결합 (RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (분)
REGN5458	bsAb25441D	437.9 ± 0.1	106.8	4.48E+05	≤ 1E-5	2.23E-11	≤1155
REGN5459	bsAb25442D	385.2 ± 0.1	96.8	4.49E+05	≤ 1E-5	2.23E-11	≤1155
	mAb16711	268.9 ± 1.4	113.5	1.85E+06	1.90E-04	1.03E-10	60.8
	mAb16716	303.4 ± 1.2	120.3	8.62E+05	8.35E-05	9.68E-11	138.4
REGN4514	mAb16732	282.3 ± 1.0	124.1	1.07E+06	4.53E-05	4.22E-11	255.2
REGN4515	mAb16747	327.3 ± 1.5	146.0	1.41E+06	8.95E-05	6.33E-11	129.0

[0222]

표 9

표 9: 25°C에서 원숭이 BCMA-MMH 로의 항-BCMA 모노클로날 항체 결합의 결합 동역학 매개변수

REGN #	Ab PID #	mAb 포착 (RU)	90 nM mfBCMA.mmh 결합 (RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (분)
REGN5458	bsAb25441D	438.2 ± 0.9	14.8	1.82E+05	9.09E-03	4.99E-08	1.3
REGN5459	bsAb25442D	384.6 ± 1.4	12.7	2.23E+05	8.64E-03	3.88E-08	1.3
	mAb16711	263.5 ± 1.7	-0.5	NB	NB	NB	NB
	mAb16716	301.8 ± 0.5	0.8	NB	NB	NB	NB
REGN4514	mAb16732	279.1 ± 0.8	1.1	NB	NB	NB	NB
REGN4515	mAb16747	326.2 ± 0.5	1.9	NB	NB	NB	NB

[0223]

표 10

표 10: 25°C에서 원숭이 BCMA-MFC 로의 항-BCMA 모노클로날 항체 결합의 결합 동역학 매개변수

REGN #	Ab PID #	mAb 포착 (RU)	30 nM mfBCMA.mFc 결합 (RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (분)
REGN5458	bsAb25441D	437.9 ± 1.1	107.7	5.28E+05	8.80E-05	1.67E-10	131.2
REGN5459	bsAb25442D	386.2 ± 0.22	97.0	4.82E+05	7.15E-05	1.48E-10	161.6
	mAb16711	259.4 ± 1.4	0.9	NB	NB	NB	NB
	mAb16716	300.8 ± 0.6	3.2	IC	IC	IC	IC
REGN4514	mAb16732	276.9 ± 1.1	40.3	4.92E+05	7.24E-03	1.47E-08	1.6
REGN4515	mAb16747	324.4 ± 0.7	101.3	2.13E+06	7.16E-03	3.37E-09	1.6

[0224]

표 11

표 11: 25°C에서 마우스 BCMA-MFC 로의 항-BCMA 모노클로날 항체 결합의 결합 동역학 매개변수

REGN #	Ab PID #	mAb 포착 (RU)	30 nM mBCMA.mFc 결합 (RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (분)
REGN5458	bsAb25441D	438.8	2.7	NB	NB	NB	NB
REGN5459	bsAb25442D	383.9	2.4	NB	NB	NB	NB
	mAb16711	257.0	90.0	1.07E+06	1.10E-03	1.02E-09	10.5
	mAb16716	300.0	33.4	2.05E+05	3.85E-03	1.88E-08	3.0
REGN4514	mAb16732	276.1	109.6	3.97E+05	2.69E-04	6.77E-10	43.0
REGN4515	mAb16747	323.1	107.6	9.47E+05	4.18E-03	4.42E-09	2.8

실시예 5: 인간 및 시노물구스 CD3 발현 세포로의 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 FACS 결합

유세포분석을 이용하여, 인간 및 시노물구스 CD3(Jurkat 세포, mfCD3 조작된 Jurkat 세포, 1차 인간 CD8+ 및 시노물구스 CD8+ T 세포)으로의 항-BCMAxCD3 이중특이적 항체의 결합을 결정하였다. 간략하게는, 1e05 세포/웰을 차단물(PBS+1% 여과된 FBS+5% 마우스 혈청)에 의한 FACS 세척액의 존재 하에 BCMAxCD3의 순차적 희석물 및 대조군 항체와 함께 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 차가운 FACS 세척액(PBS + 1% 여과된 FBS)으로 2회 세척하고, Alexa647-접합 항-인간 2차 항체와 함께 얼음 상에서 부가적인 30분 동안 인큐베이션함으로써, 결합된 항체를 검출하였다. 항체를 함유하지 않거나 또는 2차 항체만을 함유하는 웰을 대조군으로서 사용하였다. 원숭이 및 인간 T 세포의 검출을 위해, CD4, CD8 및 CD16에 대한 인간 및 시노물구스 교차-반응성 항체의 카테일을 항-인간 2차 항체에 첨가하였다. 배양 후, 세포가 세척, 1% 여과 FBS를 함유하는 200 μ L의 차가운 PBS에 재현탁 및 BD FACS Canto II에서 유세포분석법에 의해 분석되었다. 세포를 FSC-H에 의해 FSC-A에 의해 게이팅하여 단일 사건을 선별하고, 뒤이어 사이드 및 포워드 스캐터에 의해 게이팅하여 살아있는 사건을 선별하였다. 원숭이 T 세포에 대해, CD8+/CD16- 세포 상에서 부가적인 게이팅을 수행하였다.

Prism 소프트웨어에서 4-매개변수 비-선형 회귀 분석을 사용하여 FACS 결합에 대한 EC50 값을 계산하였다.

Jurkat 세포는 인간 CD3-발현 T 세포 림프모구성 세포주이다. REGN5458은 Jurkat 세포 및 1차 인간 CD8+ T 세포 상에서 인간 CD3에 각각 1.50×10^{-8} M 및 3.20×10^{-8} M의 중앙값 EC50으로 결합하였다. 인간 CD3으로의 REGN5459의 결합은 더 약했으며, 이때, Jurkat 세포에 대한 EC50은 5.58×10^{-7} M이고 1차 인간 CD8+ T 세포에 대한 EC50은 4.71×10^{-6} M이었다. CRISPR/Cas9 기술을 이용하여, Jurkat 세포주가 시노물구스 CD3 ϵ 및 CD3 δ 사슬을 인간 버전 대신에 발현하도록 조작하였다. mfCD3 조작된 Jurkat 세포주로의 REGN5458의 결합의 중앙값 EC50은 1.51×10^{-8} M이었고, 1차 시노물구스 CD8+ T 세포로의 REGN5458의 결합의 중앙값 EC50은 4.66×10^{-8} M이었다. REGN5459는 mfCD3-발현 세포에 결합하지 않았다.

임의의 세포주 상에서 mAb15260으로 배정된 음성 이소타입 대조군 항체에 대해 어떠한 결합도 관찰되지 않았다.

표 12

표 12: CD3 발현 세포로의 결합: 중앙값 EC50

	Jurkat-hCD3		Jurkat-mfCD3		인간 CD8+ T 세포		Mf(시아노) CD8+ T 세포	
REGN	EC50 [M]	n	EC50 [M]	n	EC50 [M]	n	EC50 [M]	n
REGN5458	1.50E-08	5	1.51E-08	2	3.20E-08	1	4.66E-08	1
REGN5459	5.58E-07	5	결합 없음	2	4.71E-06	1	결합 없음	1

[0232] 실시예 6: 세포 표면 항원 결합 능력을 평가하기 위한 FACS 결합 검정법

[0233] BCMA 양성 다발성 골수종(NCI-H929, MM.1S, OPM-2, 및 RPMI-8226), BCMA 양성 림프종(Raji 및 Daudi), 및 BCMA 음성(HEK293) 세포의 표면에 결합하는 항-BCMA x CD3 항체, mAb25442D의 능력을 유세포분석법을 통해 결정하였다. 세포를 세포 해리 완충액(Millipore, 카탈로그 번호 S-004-C)을 사용하여 플라스크로부터 수합하고, 96웰 V-바닥 플레이트에서 웰당 500,000개 세포의 밀도로 염색 완충액(PBS, 칼슘 및 마그네슘이 없음(Irving 9240) + 2% FBS(ATCC 30-2020)에서 평판배양하였다. 세포를 Alexa647 접합 항-BCMA x CD3 항체(mAb25442D-A647), 또는 무관한 종양 표적화 아암과 쌍을 이룬 동일한 CD3 결합 아암을 갖는 Alexa 647 접합 이소타입 대조군(이소타입-A647)의 2-배 순차적 희석물과 함께 4℃에서 30분 동안 염색하였다. 세포를 염색 완충액으로 2회 세척하고, LIVE/DEAD™ Fixable Green Dead Cell Stain Kit(Invitrogen, L34970)를 제조업체의 설명에 따라 표지하여, 살아있는 세포와 죽은 세포를 구분하였다. 세포를 PBS에서 희석된 BD Cytotfix(BD, 카탈로그 번호 554655)의 50% 용액을 사용하여 4℃에서 25분 동안 세척하고 고정하였다. 샘플을 Accuri C6 유세포분석기(BD Biosciences) 상에서 전개시키고, Flowjo 10.2(Tree Star)에서 분석하였다. 살아있는 세포 및 단일 세포에 대해 게이팅한 후, 평균 형광 강도(MFI)를 결정하고, MFI 값을 10-점 반응 곡선에 걸쳐 4-매개변수 로지스틱 방정식을 사용하여 GraphPad Prism에서 플롯화하여, EC₅₀s를 계산하였다. 각각의 용량-반응 곡선에 대한 제로 조건 또한, 2-배 순차적 희석의 연장으로서 분석에 포함되고, 최저 용량으로서 표시된다. 이소타입-A647 MFI에 대한 mAb25442D-A647 MFI의 비를 취함으로써 신호 대 잡음(S/N: signal to noise)을 결정한다. (표 13). mAb25442D-A647 S/N은 2 내지 470 범위였고, EC₅₀ 값은 27 내지 83 nM 범위였다. HEK293 세포 상에서 어떠한 검출 가능한 결합도 관찰되지 않았다.

표 13

표 13: 세포로의 결합

세포주	mAb25442D-A647 S/N	mAb25442D-A647 EC ₅₀ (nM)
NCI-H929	470	79
MM.1S	43	83
OPM-2	19	57
RPMI-8226	9	27
Daudi	3	ND
Raji	2	ND
HEK293	1	ND

[0234] ND = 비-S 자형 곡선으로 인해 결정되지 않음

[0235] 실시예 7: BCMA-발현 세포의 존재 하에 이중특이적 항-BCMA x 항-CD3 항체를 통한 T-세포 활성화

[0236] 다양한 수준의 BCMA 표면 발현을 갖는 몇몇 세포주를 이용하는 Jurkat/NFATLuc 리porter 생물검정법에서 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 활성을 평가하였다. NFAT-루시페라제 리porter(Jurkat/NFATLuc.3C7)를 발현하도록 Jurkat 세포를 조작하였고, Thermo Nunclon 델타 96웰 백색 마이크로웰 플레이트(Thermo Scientific, 카탈로그 번호 136102)에서 50 uL의 검정법 배지(10% FBS 및 1% P/S/G를 갖는 RPMI 배지)에서 50,000개의 Jurkat 리porter 세포를 50,000개의 BCMA 양성(Daudi, MM1-S, NCI-H929, OPM-2, RPMI-8226, MOLP-8, 또는 Raji) 또는 BCMA 음성(HEK293) 세포와 조합하였다. BCMA x CD3 이중특이적 항체(mAb25441D 또는 mAb25442D), 또는 2가 항-BCMA 항체(mAb21581)의 3-배 순차적 희석물을 50 uL의 검정법 완충액에 각각 첨가하였다. 플레이트를 부드럽게 교반하고, 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 4시간 내지 6시간 동안 인큐베이션하였다. Promega One-Glo(카탈로그 번호 E6130) 및 Perkin Elmer Envision 플레이트 판독기를 사용하여 NFAT-루시페라제 활성을 결정하였다. RLU를 12-점 반응 곡선에 걸쳐 4-매개변수 로지스틱 방정식을 사용하여 GraphPad Prism에서 플롯화하여, EC₅₀ 값을 계산하였다. 각각의 용량-반응 곡선에 대한 어떠한 항체 처리 조건 또한, 3-배 순차적 희석의 연장으로서 분석에 포함되지 않고, 최저 용량으로서 표시된다. 최저 RLU에 대한 곡선 상의 최고 RLU의 비를 취함으로써 신호 대 잡음(S/N)을 결정한다.

[0237] mAb25441D는 BCMA 발현 세포의 존재 하에 Jurkat/NFATLuc를 활성화시켰으며, 이때 EC50은 0.61 nM 내지 2.1 nM 범위이고, S:N은 8 내지 123의 범위이다. mAb25442D는 BCMA 발현 세포의 존재 하에 Jurkat/NFATLuc를 활성화시켰으며, 이때 EC50은 2.6 nM 내지 11 nM 범위이고, S:N은 7 내지 120의 범위이다. 더 높은 친화도 CD3 결합 아암을 갖는 BCMA x CD3 이중특이적 mAb25441D는 더 낮은 친화도 CD3 결합 아암을 갖는 mAb25442D보다 일관되게 더 강력한 반면; S:N은 2개의 이중특이적 항체에 대해 유사하였다. 어떠한 항체도 HEK293 세포의 존재 하에 Jurkat/NFATLuc 세포를 활성화시키지 않았고, 대조군 이중특이적 항체는 임의의 시험된 세포주에서 Jurkat 리포터 활성을 유의하게 증가시키지 않았다. 결과는 하기 표 14A 및 표 14B에 제시된다.

표 14

표 14A: T-세포의 활성화

항체	Daudi		MM1-S		NCI-H929		OPM-2	
	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N
bsAb25441D	2.1E-9	43	1.2E-9	165	6.8E-10	39	6.6E-10	8
bsAb25442D	7.9E-9	25	4.4E-9	120	2.7E-9	32	2.6E-9	7
mAb21581	ND	1	ND	1	ND	1	ND	1

[0238]

표 14B: T-세포의 활성화

항체	RPMI-8226		MOLP-8		Raji		HEK293	
	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N
bsAb25441D	6.1E-10	55	1.4E-9	32	1.6E-9	123	ND	1
bsAb25442D	2.6E-9	42	1.1E-8	31	7.4E-9	78	ND	1
mAb21581	ND	1	ND	1	ND	1	ND	1

[0239]

[0240] 실시예 8: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 존재 하에 BCMA-발현 다발성 골수종 세포의 T 세포-매개 사멸화를 평가하기 위한 FACS 기초 세포독성 검정법

[0241] 다발성 골수종 세포주의 패널 상에서 Quantum Simply Cellular 항-인간 IgG 키트를 제조업체(Bangs Laboratories)의 설명서에 따라 사용하여, 상업적으로 입수 가능한 항-인간 BCMA 항체(클론 19F2)의 항체 결합력(ABC)을 결정하였다.

[0242] 간략하게는, APC 접합 항-hBCMA-19F2 항체를 적정하면서 다발성 골수종(MM) 세포주(H929, MM1S, U266, MOLP8 및 RPMI8226) 및 Quantum Simply 세포 비드를 4°C에서 30분 동안 와 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포 및 비드를 3회 세척하며, 1% 여과된 FBS를 함유하는 200 μ L의 차가운 PBS에 재현탁시키고, 유세포분석법에 의해 분석하였다. QuickCal® 주형(Bangs Labs)을 사용하여, 각각의 세포주에 대한 포화 수준의 항-BCMA 19F2의 ABC를 포화 시 비드 집단의 채널 강도에 의해 생성된 표준 곡선으로부터 보간하였다.

[0243] 휴지(resting) 인간 또는 시노몰구스 원숭이 T 세포에 의한 BCMA 발현 표적 세포의 사멸화를 유세포분석법에 의해 결정하였다. 간략하게는, 인간 또는 시노몰구스 원숭이 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 보충 RPMI(인간) 또는 생체외(시아노) 배지에 1×10^6 개 세포/mL로 평판배양하고, 부착성 대식세포, 수지상 세포 및 일부 단핵 세포를 고갈시킴으로써 림프구를 농화시키기 위해 37°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음날, BCMA 발현 표적 세포를 1 μ M의 Violet CellTrace로 표지하고, 부착성 세포-고갈 PBMC(효과기/표적 세포 4:1 비) 및 BCMAxCD3 이중특이적 항체의 순차적 희석물, 또는 대조군 항체와 함께 37°C에서 공동-인큐베이션하였다. 48시간 내지 72시간 후, 세포를 세포 배양 플레이트로부터 제거하며, 각테일 표현형 항체 및 생/사(live/dead) 생존력 염료로 염색하고, FACS에 의해 분석하였다. 웰에 존재하는 살아있는 표적 세포의 수를 정량화하기 위해, 20 μ L CountBright 절대 카운팅 비드를 획득 직전에 상기 웰에 첨가하였다. 사멸화의 특이성을 평가하기 위해, 바이올렛 세포 트래커 표지 집단에서 세포를 게이팅하였다. 표적 세포의 생존율 백분율을 하기: 표적 생존율 = $(R_1/R_2) \times 100$ 과 같이 계산하였으며, 이때, R_1 은 효과기 세포 및 항체의 존재 하에 살아있는 표적 세포의 절대수이고, R_2 는 살아있는 표적 세포 단독(효과기 세포 또는 시험 항체 없이 배양됨)의 수이다.

[0244] 인간 CD8+ T 세포를 CD45+/CD14-/CD4-/CD8+로서 게이팅하였다. 시노몰구스 CD8+ T 세포를 CD45+/CD20-/CD14-/CD4-/CD8+ T 세포로서 게이팅하고, 활성화를 총 CD8+ T 세포 중 CD25+ 또는 CD69+ T 세포의 백분율로서 보고하

였다.

[0245] Prism 소프트웨어에서 4-매개변수 비-선형 회귀 분석을 사용하여 표적 세포 생존율 및 T 세포 활성화에 대한 EC50 값을 계산하였다.

[0246] 상이한 표면 BCMA 수준을 갖는 BCMA 발현 세포의 패널을 사멸화하도록 휴지 인간 및 시노물구스 T 세포를 활성화시키는 능력에 대해 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체를 시험하였다. 휴지 인간 T 세포를 효과기 세포로 이용하여, REGN5458은 5가지의 상이한 BCMA 세포주의 사멸화를 7.07×10^{-10} M 내지 3.45×10^{-11} M 범위의 EC₅₀ 값으로 매개하였다. REGN5459는 1.66×10^{-9} M 내지 1.06×10^{-10} M 범위의 EC50 값을 갖는 동일한 5개의 세포주의 사멸화를 나타내었다. CD8+ T 세포 상에서의 CD25 상향조절에 의해 측정되는 바와 같이, T 세포 활성화에 대한 EC₅₀은 EC₅₀과 유사하였다. 중간 T 세포 활성화는 1-아암 CD3 이소타입 대조군 mAb17664D의 존재 하에, 그러나 단지 U266 세포주에 대해서만 관찰되었다. 시험된 이소타입 대조군에 대해서는 어떠한 세포독성도 관찰되지 않았다.

[0247] 시노물구스 T 세포에 의한 BCMAxCD3 매개 사멸화를 MM 세포주 H929에서만 시험하였다. REGN5458 및 REGN5459에 의해 매개된 세포독성에 대한 EC₅₀은 각각 2.34×10^{-11} 및 6.92×10^{-11} 이었다. 인간 또는 시노물구스 효과기 세포에서 이소타입 대조군 항체 mAb15260에 대해 세포독성 또는 T 세포 활성화 중 어느 것도 관찰되지 않았다. 결과는 하기 표 15A, 표 15B 및 표 16에 제시된다.

표 15

표 15A: 중앙값 EC₅₀, 인간 효과기 세포

REGN#	H929 (40000 ABC)			MM1S (18000 ABC)			U266 (13000 ABC)		
	n	생존율 %	T 활성화 %	n	생존율 %	T 활성화 %	n	생존율 %	T 활성화 %
REGN5458	3	1.03E-10	2.11E-10	2	6.46E-11	7.06E-11	1	3.28E-10	1.07E-10
REGN5459	4	3.01E-10	3.00E-10	2	2.88E-10	4.58E-10	1	1.66E-09	4.69E-10

[0248]

표 15B: 중앙값 EC₅₀, 인간 효과기 세포

REGN#	RPMI8226 (10000 ABC)			Molp8 (2000 ABC)		
	n	생존율 %	T 활성화 %	n	생존율 %	T 활성화 %
REGN5458	1	3.45E-11	6.49E-11	2	7.07E-10	1.10E-9
REGN5459	1	1.06E-10	7.50E-10	3	1.36E-09	6.47E-9

[0249]

표 16

표 16: 중앙값 EC₅₀, 시노물구스 효과기 세포

REGN#	H929		
	n	생존율 %	T 활성화 %
REGN5458	4	2.34E-11	6.83E-11
REGN5459	4	6.92E-11	1.58E-10

[0250]

[0251] 실시예 9: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체의 존재 하에 원발성 다발성 골수종 미분화 세포의 자가 T 세포-매개 사멸화에 대한 FACS 세포독성 검증법

[0252] 다발성 골수종 세포의 특이적인 사멸화를 유세포분석법에 의해 모니터링하기 위해, 다발성 골수종 환자로부터의 골수 단핵 세포(BMMC)를 인간 기질 세포(HS5) 상에 평판배양하고, 37°C에서 밤새 휴지화시켰다(rest). 별도로, 매칭 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 해동시키고, 부착성 세포를 고갈시킴으로써 림프구를 농화시키기 위해 보충 RPMI 배지에 1×10^6 개 세포/mL로 37°C에서 밤새 배양하였다. 다음날, BMMC를 기질 세포(HS5) 상의 부착성

세포-고갈 미접촉 PBMC 및 BCMAxCD3 이중특이적 항체의 순차적인 10x 희석물 또는 1-아암 CD3 이소타입 대조군 (시작 농도 66.7 nM)과 함께 37°C에서 공동-인큐베이션하였다. 세포를 제3일, 제4일 또는 제7일에 세포 배양 플레이트로부터 제거하고, FACS에 의해 분석하였다. 사멸화의 특이성을 평가하기 위해, 다발성 골수종 세포를 단일, 살아있는, CD90 음성(기질 세포를 배제하기 위해), CD2 음성, CD56 양성으로서 게이팅하였다. CD45는 MM455를 제외하고는, 대부분의 샘플에서 다발성 골수종 세포 상에서 낮았다. 살아있는 표적 세포의 백분율은 다음과 같이 조정된 생존의 계산에 대해 보고되었다: 조정된 생존=(R1/R2)*100, 여기서 R1=항체의 존재하에 살아있는 표적 세포%, R2=시험 항체의 부재하에 살아있는 표적 세포%.

[0253] T 세포는 CD2 양성, CD56 음성 및 CD4 또는 CD8 양성으로서 게이팅하였다. T 세포 활성화를 총 CD4 또는 CD8 T 세포 중에서 CD25+ CD4 또는 CD8 T 세포의 백분율로서 보고하였다.

[0254] 자가 공여체 PBMC에 의한 원발성 다발성 골수종 모세포의 사멸화를 전용(redirect)시키는 BCMAxCD3 이중특이적 항체의 능력에 대해 이들 항체를 시험하였다. 1차 MM 모세포의 최대 BCMAxCD3 매개 세포독성은 52% 내지 96% 범위였으며, 이때, EC50은 REGN5458에 대해 9.89×10^{-11} M 내지 3.67×10^{-9} M 범위였고 REGN5459에 대해 4.96×10^{-10} M 내지 7.94×10^{-8} M 범위였다. CD8+ T 세포 상에서의 CD25의 상향조절을 평가함으로써 T 세포 활성화를 측정하였다. T 세포 활성화의 EC50s는 3.23×10^{-9} 내지 1.69×10^{-10} 범위였다. 중간 세포독성 및 T 세포 활성화는 1-아암 CD3(표적화 결합 없음) 이소타입 대조군에서 관찰되었다. 결과는 하기 표 17A 및 표 17B에 제시된다.

표 17

표 17A: MM 용해 %

샘플 ID	질환 병기	E:T 비	치료 기간	66 nM REGN5458에서 MM 용해 %	66 nM REGN5459에서 MM 용해 %	66 nM 이소타입에서 MM 용해 %
MM2	새로 진단됨	1.4	7 일	88	85	27.5
MM369	새로 진단됨	0.3	3 일	96	94	0
MM453	새로 진단됨	2.4	3 일	82	80	40
MM455	진전, 치료됨	0.4	3 일	63	52	24

[0255]

표 17B: MM 용해 EC50 및 T 세포 활성화

샘플 ID	질환 병기	E:T 비	치료 기간	MM 용해 EC50 REGN5458	MM 용해 EC50 REGN5459	CD25 상향조절 EC50 REGN5456	CD25 상향조절 EC50 REGN5456
MM2	새로 진단됨	1.4	7 일	7.47E-10	7.24E-09	수행되지 않음	수행되지 않음
MM369	새로 진단됨	0.3	3 일	1.07E-10	4.96E-10	1.69E-10	2.03E-10
MM453	새로 진단됨	2.4	3 일	9.89E-11	1.19E-09	1.71E-10	3.23E-9
MM455	진전, 치료됨	0.4	3 일	3.67E-09	7.94E-08	2.06E-10	1.16E-9

[0256]

[0257] 실시예 10: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이중 종양 모델에서 생체내에서 BCMA-발현 종양(NCI-H929)의 성장을 예방한다

[0258] BCMAxCD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 이중 종양 연구를 수행하였다. 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스에게 10×10^6 개 BCMA-발현 NCI-H929 다발성 골수종 세포와 정상적인 공여체로부터 단리된 0.5×10^6 개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 혼합물을 피하 이식하였다. 마우스(그룹당 n=7)에게 PBS 비히클 대조군, 무관한 항-FeID1 2가 이소타입 대조군 Ab(REGN2759), CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(mAb17664D), BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 4 mg/kg 용량으로 즉시 투여하였다. 마우스에게 Ab를 주당 2회 총 3주 동안 투여하고, 종양 성장을 40일에 걸쳐

평가하였다. BCMA⁺ 종양은 비히클-, 이소타입 대조군-, 및 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 유사하게 성장한 한편, 시험된 BCMAxCD3 Ab는 둘 다 생체내에서 종양의 성장을 방지하였다.

[0259] 동계 종양의 이식 및 측정: 10×10^6 개 BCMA-발현 NCI-H929 다발성 골수종 세포와 정상적인 공여체로부터 유래된 0.5×10^6 개 PBMC의 혼합물을 NSG 마우스에게 피하 이식하였다. 마우스(그룹당 n=7)에게 PBS 비히클 대조군, 무관한 항-Fe1D1 2가 이소타입 대조군 Ab(REGN2759), CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(mAb17664D), BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 4 mg/kg 용량으로 즉시 투여하였다. 마우스에게 Ab를 주당 2회 총 3주 동안 투여하였다. 실험 기간 동안 주당 2회 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 측정하였다. 종양 이식 후 40일째에 마우스를 희생시켰다.

[0260] 동계 종양 성장 및 저해의 계산: 외부 캘리퍼에 의해 종양 부피를 결정하기 위해, 가장 큰 세로방향 직경(길이, mm) 및 가장 큰 가로방향 직경(너비, mm)을 결정하였다. 캘리퍼 측정을 기초로 하여 종양 부피를 공식, 부피 (mm^3) = (길이 x 너비²)/2에 의해 계산하였다.

[0261] BCMAxCD3 이중특이적 Ab는 이중 종양 모델에서 생체내에서 BCMA⁺ NCI-H929 종양의 성장을 방지하였다. 결과는 하기 표 18에 제시된다.

표 18

표 18: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 (4 mg/kg)	4 일째 평균 종양 크기 (mm^3) $\pm$ SEM
PBS (비히클 대조군)	67.1 ± 5.9
REGN2759 (이소타입 대조군)	62.6 ± 3.7
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	76.1 ± 7.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	39.5 ± 9.1
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	26.5 ± 6.2

[0262]

항체 (4 mg/kg)	7 일째 평균 종양 크기 (mm^3) $\pm$ SEM
PBS (비히클 대조군)	123.0 ± 25.2
REGN2759 (이소타입 대조군)	109.7 ± 20.3
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	182.0 ± 19.4
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

[0263]

항체 (4 mg/kg)	11 일째 평균 종양 크기 (mm^3) $\pm$ SEM
PBS (비히클 대조군)	361.5 ± 35.7
REGN2759 (이소타입 대조군)	415.3 ± 11.4
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	449.6 ± 46.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

[0264]

항체 (4 mg/kg)	14 일째 평균 종양 크기 (mm^3) $\pm$ SEM
PBS (비히클 대조군)	581.4 ± 57.9
REGN2759 (이소타입 대조군)	734.3 ± 41.8
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	741.2 ± 56.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

[0265]

항체 (4 mg/kg)	18 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	1033.4 ± 143.7
REGN2759 (이소타입 대조군)	1586.1 ± 101.4
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	1511.4 ± 80.7
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

항체 (4 mg/kg)	21 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	1730.9 ± 244.8
REGN2759 (이소타입 대조군)	2554.7 ± 148.8
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	2474.0 ± 132.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

항체 (4 mg/kg)	28 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사됨 - 측정되지 않음
REGN2759 (이소타입 대조군)	안락사됨 - 측정되지 않음
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	안락사됨 - 측정되지 않음
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

항체 (4 mg/kg)	40 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사됨 - 측정되지 않음
REGN2759 (이소타입 대조군)	안락사됨 - 측정되지 않음
mAb17664D (CD3 결합 대조군)	안락사됨 - 측정되지 않음
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0 ± 0

실시예 11: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이중 생체내 종양 모델에서 BCMA-발현 종양(NCI-H929)의 성장을 용량-의존적 방식으로 예방한다

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 이중 종양 연구를 수행하였다. 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스에게 10x10⁶ 개 BCMA-발현 NCI-H929 인간 다발성 골수종 종양 세포와 정상적인 건강한 공여체로부터 분리된 0.5x10⁶ 개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 혼합물을 피하 이식하였다. 그 후에, 마우스(그룹당 n=7)에게 PBS 비히클 대조군, 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G20; REGN4460), 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 주당 2회 총 7회 투약으로 투여하고, 종양 성장을 60일에 걸쳐 평가하였다. BCMA⁺ NCI-H929 종양은 비히클- 및 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 유사하게 성장한 한편, 시험된 항-BCMA x 항-CD3 Ab는 둘 다 생체내에서 종양의 성장을 용량-의존적 방식으로 방지하였다.

이중 종양의 이식 및 측정: 10x10⁶ 개 BCMA-발현 NCI-H929 다발성 골수종 세포와 정상적인 건강한 공여체로부터 유래된 0.5x10⁶ 개 PBMC의 혼합물을 NSG 마우스에게 피하 이식하였다. 마우스(그룹당 n=7)에게 PBS 비히클 대조군, CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G20; REGN4460), BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. mAb17664D 및 REGN4460은 4 mg/kg으로 투여된 한편, REGN5458 및 REGN5459는 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg으로 투여되었다. 마우스에게 Ab를 주당 2회 총 7회 투약 동안 투여하였다. 실험 기간 동안 주당 2회 캘리

피를 이용하여 종양 성장을 측정하였다.

[0273] 이종 종양 성장 및 저해의 계산: 외부 캘리퍼에 의해 종양 부피를 결정하기 위해, 가장 큰 세로방향 직경(길이, mm) 및 가장 큰 가로방향 직경(너비, mm)을 결정하였다. 캘리퍼 측정을 기초로 하여 종양 부피를 공식, 부피 (mm^3) = (길이 x 너비²)/2에 의해 계산하였다.

[0274] BCMAxCD3 이중특이적 Ab는 이러한 이종 생체내 종양 모델에서 BCMA⁺ NCI-H929 종양의 성장을 용량-의존적 방식으로 방지하였다. 결과는 하기 표 19에 제시되고, 도 1 및 도 2에 예시된다.

표 19

표 19: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 처리	4 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	60.1 ± 7.9
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	42.5 ± 4.7
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	52.0 ± 5.9
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	18.0 ± 1.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	31.9 ± 2.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	32.0 ± 2.9
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	21.8 ± 3.4
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	19.6 ± 4.4
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	33.0 ± 4.4

[0275]

항체 처리	7 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	138.2 ± 25.1
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	108.6 ± 17.8
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	132.4 ± 21.1
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1.3 ± 1.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	11.3 ± 3.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	30.8 ± 5.5
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	8.0 ± 4.3
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	7.3 ± 3.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	8.4 ± 4.0

[0276]

항체 처리	12 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	545.4 ± 88.7
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	493.4 ± 67.5
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	616.2 ± 84.4
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1.6 ± 1.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	71.5 ± 22.4
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	1.7 ± 1.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	0 ± 0

[0277]

항체 처리	15 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	921.4 ± 147.5
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	874.8 ± 86.6
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	1190.7 ± 91.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	133.4 ± 50.9
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	7.9 ± 7.9

항체 처리	19 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	1785.3 ± 282.2
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	1833.4 ± 186.6
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	2336.5 ± 188.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	413.7 ± 162.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	23.1 ± 23.1

항체 처리	22 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	2601.5 ± 414.5
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	2878.5 ± 257.6
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	3374.3 ± 267.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	669.4 ± 248.5
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	69.5 ± 69.5

항체 처리	26 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	1167.0 ± 431.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	156.7 ± 156.7

항체 처리	29 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	1781.8 ± 620.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	226.6 ± 226.6

항체 처리	34 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

항체 처리	39 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

항체 처리	42 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

항체 처리	46 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

항체 처리	55 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

항체 처리	60 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

실시예 12: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이중 생체내 종양 모델에서 용량-의존적 방식으로, 확립된 BCMA-발현 종양(NCI-H929)의 크기를 감소시키고 성장을 예방한다

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 이중 종양 연구를 수행하였다. 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스에게 10x10⁶개 BCMA-발현 NCI-H929 인간 다발성 골수종 종양 세포와 정상적인 건강한 공여체로부터 분리된 0.5x10⁶개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 혼합물을 피하 이식하였다. 종양의 크기가 대략 70 mm³가 될 때까지 5일 동안 종양이 성장하고 확립되게 하였다. 제5일에, 마우스(그룹당 n=7 내지 8)에게 PBS 비히클 대조군, 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G20; REGN4460), 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 주당 2회 총 7회 투약으로 투여하고, 종양 성장을 55일에 걸쳐 평가하였다. BCMA⁺ NCI-H929 종양은 비히클- 및 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 유사하게 성장한 한편, 시험된 BCMAxCD3 Ab는 둘 다 생체내에서 용량-의존적 방식으로, 확립된 종양을 수축시키고 종양의 성장을 방지하였다.

이중 종양의 이식 및 측정: 10x10⁶개 BCMA-발현 NCI-H929 다발성 골수종 세포와 정상적인 건강한 공여체로부터

유래된 0.5×10^6 개 PBMC의 혼합물을 NSG 마우스에게 피하 이식하였다. 종양의 크기가 대략 70 mm^3 가 될 때까지 5 일 동안 종양이 성장하고 확립되게 하였다. 제5일에, 그 후에 마우스(그룹당 n=7 내지 8)에게 PBS 비히클 대조군, CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G20; REGN4460), BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 투여하였다. mAb17664D 및 REGN4460은 4 mg/kg으로 투여된 한편, REGN5458 및 REGN5459는 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg으로 투여되었다. 마우스에게 Ab를 주당 2회 총 7회 투약 동안 투여하였다. 실험 기간 동안 주당 2회 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 측정하였다.

[0292] 이종 종양 성장 및 저해의 계산: 외부 캘리퍼에 의해 종양 부피를 결정하기 위해, 가장 큰 세로방향 직경(길이, mm) 및 가장 큰 가로방향 직경(너비, mm)을 결정하였다. 캘리퍼 측정을 기초로 하여 종양 부피를 공식, 부피 (mm^3) = (길이 x 너비²)/2에 의해 계산하였다.

[0293] 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이러한 이종 생체내 종양 모델에서 용량-의존적 방식으로, 확립된 BCMA⁺ NCI-H929 종양의 크기를 감소시키고 성장을 방지하였다. 결과는 하기 표 20에 제시되고, 도 3 및 도 4에 예시된다.

표 20

표 20: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 처리	5 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	61.5 ± 6.4
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	63.7 ± 5.4
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	62.6 ± 3.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	71.9 ± 10.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	69.3 ± 7.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	58.1 ± 5.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	61.8 ± 5.2
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	69.5 ± 4.1
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	74.9 ± 6.4

[0294]

항체 처리	8 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	124.3 ± 17.3
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	145.3 ± 22.0
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	170.7 ± 15.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	64.7 ± 16.4
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	120.3 ± 16.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	130.3 ± 16.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	45.8 ± 9.8
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	171.9 ± 23.2
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	152.3 ± 20.0

[0295]

항체 처리	12 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	565.7 ± 64.7
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	585.0 ± 64.4
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	706.8 ± 46.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	19.5 ± 10.9
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	262.7 ± 61.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	525.9 ± 71.5
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	11.5 ± 8.9
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	233.8 ± 63.5
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	462.5 ± 57.7

항체 처리	15 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	1150.4 ± 105.7
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	1041.4 ± 101.3
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	1298.4 ± 71.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	25.6 ± 19.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	476.2 ± 133.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	1031.2 ± 164.3
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	327.2 ± 135.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	1094.2 ± 78.9

항체 처리	19 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	2621.3 ± 190.9
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	2557.5 ± 241.1
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	3383.3 ± 183.1
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	40.6 ± 32.8
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1347.5 ± 334.7
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	2467.5 ± 370.0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	606.2 ± 288.8
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	2412.5 ± 184.6

항체 처리	22 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	3717.9 ± 214.5
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	3688.9 ± 272.0
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	4492.2 ± 344.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	78.3 ± 60.8
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	2068.5 ± 465.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	3745.7 ± 541.2
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	815.4 ± 387.1
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	3285.9 ± 227.3

항체 처리	27 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	252.3 ± 185.1
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	3463.9 ± 1025.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	1589.1 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	1849.9 ± 903.1
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0300]

항체 처리	30 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	411.3 ± 307.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	2144.2 ± 2144.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	2886.5 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	661.8 ± 490.1
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0301]

항체 처리	35 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	633.5 ± 473.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	996.8 ± 771.0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0302]

항체 처리	40 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	369.5 ± 369.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	375.6 ± 375.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0303]

항체 처리	55 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0304]

[0305]

실시예 13: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이중 생체내 종양 모델에서 BCMA-발현 종양(MOLP-8)의 성장을 용량-의존적 방식으로 예방한다

[0306]

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 이중 종양 연구를 수행하였다. 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid}.Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스에게 5x10⁶ 개 BCMA-발현 MOLP-8 인간 다발성 골수종 종양 세포와 정상적인 건강한 공여체로부터 분리된 1x10⁶ 개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 혼합물을 피하 이식하였다. 그 후에, 마우스(그룹당 n=7)에게 PBS 비히클 대조군, 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G20; REGN4460), 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 주당 2회 총 7회 투약으로 투여하고, 종양 성장을 56일에 걸쳐 평가하였다. BCMA⁺ MOLP-8 종양은 비히클- 및 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 유사하게 성장한 한편, 시험된 BCMAxCD3 Ab는 둘 다 생체내에서 종양의 성장을 용량-의존적 방식으로 방지하였다.

[0307]

이중 종양의 이식 및 측정: 5x10⁶ 개 BCMA-발현 MOLP-8 다발성 골수종 세포와 정상적인 건강한 공여체로부터 유래된 1x10⁶ 개 PBMC의 혼합물을 NSG 마우스에게 피하 이식하였다. 마우스(그룹당 n=7)에게 PBS 비히클 대조군, CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G20; REGN4460), BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 BCMAxCD3(G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. mAb17664D 및 REGN4460은 4 mg/kg으로 투여된 한편, REGN5458 및 REGN5459는 4 mg/kg, 0.4 mg/kg, 또는 0.04 mg/kg으로 투여되었다. 마우스에게 Ab를 주당 2회 총 7회 투약 동안 투여하였다. 실험 기간 동안 주당 2회 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 측정하였다.

[0308]

이중 종양 성장 및 저해의 계산: 외부 캘리퍼에 의해 종양 부피를 결정하기 위해, 가장 큰 세로방향 직경(길이, mm) 및 가장 큰 가로방향 직경(너비, mm)을 결정하였다. 캘리퍼 측정을 기초로 하여 종양 부피를 공식, 부피 (mm³) = (길이 x 너비²)/2에 의해 계산하였다.

[0309]

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이러한 이중 생체내 종양 모델에서 BCMA⁺ MOLP-8 종양의 성장을 용량-의존적 방식으로 방지하였다. 결과는 하기 표 21에 제시되고, 도 5 및 도 6에 예시된다.

표 21

표 21: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 처리	3 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	10.3 ± 3.0
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	11.6 ± 2.0
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	14.1 ± 3.9
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	12.5 ± 1.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	13.5 ± 1.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	9.3 ± 2.4
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	12.9 ± 1.3
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	14.0 ± 1.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	11.7 ± 2.1

[0310]

항체 처리	7 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	73.4 ± 13.5
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	50.0 ± 6.6
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	45.7 ± 6.1
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1.0 ± 1.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	18.3 ± 5.0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0.6 ± 0.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	37.0 ± 5.7

[0311]

항체 처리	10 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	249.9 ± 47.6
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	125.0 ± 6.8
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	173.9 ± 99
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	73.9 ± 25.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	104 ± 23.0

[0312]

항체 처리	14 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	677.0 ± 62.7
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	530.0 ± 44.6
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	549.1 ± 59.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	255.4 ± 79.7
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	356.7 ± 84.6

[0313]

항체 처리	17 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	1349.5 ± 149.7
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	935.3 ± 71.3
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	1027.1 ± 86.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	14.5 ± 7.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1.7 ± 1.7
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	494.3 ± 144.3
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	645.6 ± 140.9

항체 처리	21 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	2990.9 ± 291.7
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	2249.6 ± 113.5
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	2473.4 ± 170.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	102.7 ± 66.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	5.3 ± 5.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	1373.0 ± 366.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	1442.4 ± 310.7

항체 처리	23 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	4155.1 ± 401.8
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	3288.4 ± 204.6
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	3592.7 ± 224.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	193.3 ± 117.7
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	9.7 ± 9.7
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	1882.3 ± 551.5
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	2124.4 ± 444.1

항체 처리	28 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	627.4 ± 318.1
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	47.4 ± 47.4
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	2542.5 ± 613.3
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	1.9 ± 1.9
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	1939.3 ± 840.6

항체 처리	31 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1018.5 ± 498.3
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	104.7 ± 92.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	2906.1 ± 532.6
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	3.8 ± 3.0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	2688.7 ± 1176.6

[0318]

항체 처리	35 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1342.9 ± 629.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	375.1 ± 307.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	3538.0 ± 0.0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	9.3 ± 7.5
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	612.1 ± 0

[0319]

항체 처리	42 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	2363.0 ± 890.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	968.8 ± 689.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	12.8 ± 12.8
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0320]

항체 처리	49 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결함 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1683.5 ± 1683.5
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	기록 없음
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	기록 없음
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	기록 없음
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0321]

항체 처리	56 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
PBS (비히클 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN4460 (CD3 결합 대조군-G20) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	3108.1 ± 3108.1
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1742.4 ± 635.2
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 4 mg/kg	17.2 ± 17.2
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	0 ± 0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.04 mg/kg	안락사된 동물

[0322]

[0323]

실시예 14: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 이중 생체내 종양 모델에서 BCMA-발현 종양(MOLP-8)의 성장을 지연시킨다

[0324]

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 이중 종양 연구를 수행하였다. 제-11일에, 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid}I12rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스에게 정상적인 건강한 공여체로부터의 4×10^6 개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 복강내 주사하였다. 제0일에, 마우스에게, 반딧불이 루시페라제를 또한 발현하도록 조작된 2×10^6 개 BCMA⁺ MOLP-8 인간 다발성 골수종 종양 세포(MOLP-8-루시페라제 세포)를 정맥내 투여하였다. 그 후에, 마우스(그룹당 n=5)에게 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 또는 4 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 제3일 및 제7일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하였다. 마취된 동물에서 종양 생물발광(BLI)을 측정함으로써 종양 성장을 48일에 걸쳐 평가하였다. 양성 대조군으로서, 마우스 그룹(n=5)에게 PBMC 또는 항체가 아닌 MOLP-8-루시페라제 세포만 제공하였다. 배경 BLI 수준을 측정하기 위해, 마우스 그룹(n=5)은 치료하지 않았으며, 종양, PBMC 또는 항체를 제공하지 않았다. BCMA⁺ MOLP-8-루시페라제 종양이 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 점진적으로 성장한 한편, REGN5458과 함께 BCMAxCD3 Ab 치료는 생체내에서 종양의 성장을 지연시켰다.

[0325]

이중 종양의 이식 및 측정: 제-11일에, 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid}I12rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG) 마우스에게 정상적인 건강한 공여체로부터의 5×10^6 개 인간 PBMC를 복강내 주사하였다. 제0일에, 마우스에게 2×10^6 개 BCMA⁺ MOLP-8-루시페라제 세포를 정맥내 투여하였다. 그 후에, 마우스(그룹당 n=5)에게 4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 또는 4 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 제3일 및 제7일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하였다. 마취된 동물에서 BLI를 측정함으로써 종양 성장을 48일에 걸쳐 평가하였다. 양성 대조군으로서, 마우스 그룹(n=5)에게 PBMC 또는 항체가 아닌 MOLP-8-루시페라제 세포만 제공하였다. 배경 BLI 수준을 측정하기 위해, 마우스 그룹(n=5)은 치료하지 않았으며, 종양, PBMC 또는 항체를 제공하지 않았다.

[0326]

이중 종양 성장의 측정: BLI 이미지화를 사용하여 종양 부담을 측정하였다. 마우스에게 PBS에 현탁된 150 mg/kg의 루시페라제 기질 D-루시페린을 IP 주사하였다. 이 주사 후 5분째에, Xenogen IVIS 시스템을 사용하여 이소플루란 마취 하에 마우스의 BLI 이미지화를 수행하였다. Living Image 소프트웨어에 의해 결정된 D에서의 시야, 1.5 cm의 물체 높이, 및 자동 노출 시간과 함께 미디엄 비닝 수준(medium binning level)으로 이미지 획득을 수행하였다. Living Image 소프트웨어를 사용하여 BLI 신호를 추출하며: 각각의 종양 덩어리 주변으로 관심 영역을 그리고, 광자 강도를 p/s/cm2/sr로서 기록하였다.

[0327]

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체 REGN5458은 이러한 이중 생체내 종양 모델에서 MOLP-8-루시페라제 종양의 성장을 지연시켰다. 결과는 하기 표 22에 제시된다.

표 22

표 22: 다양한 시점에서 평균 종양 크기(복사휘도에 의함)

항체 처리	이식 후 8 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	4.93E+05 ± 1.66E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	5.73E+05 ± 5.27E+04
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	6.08E+05 ± 5.16E+04
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	5.66E+05 ± 1.97E+04

항체 처리	이식 후 15 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	5.37E+05 ± 1.46E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	1.24E+06 ± 9.67E+04
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	1.61E+06 ± 9.64E+04
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	5.28E+05 ± 4.13E+04

항체 처리	이식 후 22 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.00E+05 ± 1.03E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	1.23E+07 ± 1.02E+06
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	1.98E+07 ± 8.86E+06
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1.08E+06 ± 1.71E+05

항체 처리	이식 후 24 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	5.24E+05 ± 1.86E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	1.56E+07 ± 1.29E+06
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	5.26E+07 ± 1.91E+07
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1.02E+06 ± 1.99E+05

항체 처리	이식 후 28 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.09E+05 ± 2.28E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	3.01E+07 ± 4.78E+06
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	5.69E+07 ± 2.77E+07
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	3.56E+06 ± 6.34E+05

항체 처리	이식 후 30 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.44E+05 ± 4.56E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	6.92E+06 ± 1.40E+06

항체 처리	이식 후 34 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.78E+05 ± 3.02E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결함 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	2.65E+07 ± 1.36E+07

항체 처리	이식 후 37 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.59E+05 ± 2.96E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	4.52E+07 ± 1.40E+07

항체 처리	이식 후 43 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.26E+05 ± 4.18E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	1.06E+08 ± 3.43E+07

항체 처리	이식 후 48 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	8.24E+05 ± 1.73E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 4 mg/kg	3.22E+08 ± 1.27E+08

실시예 15: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 생체내에서 종양(OPM-2) 부담을 배경 수준까지 감소시킨다

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 이중 종양 연구를 수행하였다. 제0일에, 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) 마우스에게, 반딧불이 루시페라제를 또한 발현하도록 조작된 2x10⁶개 BCMA⁺ OPM-2 인간 다발성 골수종 종양 세포(OPM-2-루시페라제 세포)를 정맥내 투여하였다. 제10일에, 상기 마우스에게 정상적인 건강한 공여체로부터의 4x10⁶개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 복강내 주사하였다. 제21일에, 마우스(그룹당 n=5)에게 0.4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 0.4 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 0.4 mg/kg 용량의 BCMAxCD3 (G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 제25일 및 제28일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하였다. 마취된 동물에서 종양 생물발광(BLI)을 측정함으로써 종양 성장을 제61일에 걸쳐 평가하였다. 양성 대조군으로서, 마우스 그룹(n=5)에게 PBMC 또는 항체가 아닌 OPM-2-루시페라제 세포만 제공하였다. 배경 BLI 수준을 측정하기 위해, 마우스 그룹(n=5)은 치료하지 않았으며, 종양, PBMC 또는 항체를 제공하지 않았다. BCMA⁺ OPM-2-루시페라제 종양이 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 점진적으로 성장한 한편, REGN5458 및 REGN5459와 함께 BCMAxCD3 Ab 치료는 대부분의 동물에서 종양 부담을 배경 수준까지 감소시켰다.

이중 종양의 이식 및 측정: 제0일에, 면역결핍 NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) 마우스에게, 반딧불이 루시페라제를 또한 발현하도록 조작된 2x10⁶개 BCMA⁺ OPM-2 인간 다발성 골수종 종양 세포(OPM-2-루시페라제 세포)를 정맥내 투여하였다. 제10일에, 상기 마우스에게 정상적인 건강한 공여체로부터의 4x10⁶개 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 복강내 주사하였다. 제21일에, 마우스(그룹당 n=5)에게 0.4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 0.4 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab, 또는 0.4 mg/kg 용량의 BCMAxCD3 (G20; REGN5459) 이중특이적 Ab를 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 제25일 및 제28일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하였다. 마취된 동물에서 종양 생물발광(BLI)을 측정함으로써 종양 성장을 제61일에 걸쳐 평가하였다. 양성 대조군으로서, 마우스 그룹(n=5)에게 PBMC 또는 항체가 아닌 OPM-2-루시페라제 세포만 제공하였다. 배경 BLI 수준을 측정하기 위해, 마우스 그룹(n=5)은 치료하지 않았으며, 종양, PBMC 또는 항체를 제공하지 않았다.

이중 종양 성장의 측정: BLI 이미지화를 사용하여 종양 부담을 측정하였다. 마우스에게 PBS에 현탁된 150 mg/kg의 루시페라제 기질 D-루시페린을 IP 주사하였다. 이 주사 후 5분째에, Xenogen IVIS 시스템을 사용하여 이소플루란 마취 하에 마우스의 BLI 이미지화를 수행하였다. Living Image 소프트웨어에 의해 결정된 D에서의 시야, 1.5 cm의 물체 높이, 및 자동 노출 시간과 함께 미디엄 비닝 수준(medium binning level)으로 이미지 획득을 수

행하였다. Living Image 소프트웨어를 사용하여 BLI 신호를 추출하며: 각각의 종양 덩어리 주변으로 관심 영역을 그리고, 광자 강도를 p/s/cm²/sr로서 기록하였다.

[0342]

BCMA⁺ OPM-2-루시퍼라제 종양이 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 점진적으로 성장한 한편, REGN5458 및 REGN5459와 함께 BCMAxCD3 Ab 치료는 대부분의 동물에서 종양 부담을 배경 수준까지 감소시켰다. 결과는 하기 표 23에 제시되고, 도 7에 예시된다.

표 23

표 23: 다양한 시점에서 평균 종양 크기(복사휘도에 의함)

항체 처리	이식 후 5 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.22E+05 ± 2.77E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	5.62E+05 ± 2.75E+04
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	5.73E+05 ± 3.02E+04
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	5.87E+05 ± 2.40E+04
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	5.09E+05 ± 3.56E+04

[0343]

항체 처리	이식 후 11 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.90E+05 ± 3.64E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	6.22E+05 ± 3.34E+04
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	6.25E+05 ± 3.80E+04
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	6.19E+05 ± 4.39E+04
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	6.45E+05 ± 2.39E+04

[0344]

항체 처리	이식 후 20 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.59E+05 ± 5.82E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	2.32E+06 ± 2.94E+05
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	2.36E+06 ± 5.46E+05
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1.81E+06 ± 2.37E+05
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	2.13E+06 ± 1.69E+05

[0345]

항체 처리	이식 후 26 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	5.51E+05 ± 2.51E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	5.96E+06 ± 8.74E+05
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	6.05E+06 ± 1.32E+06
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1.73E+06 ± 8.69E+05
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	1.28E+06 ± 7.36E+05

[0346]

항체 처리	이식 후 31 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.62E+05 ± 3.35E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	1.58E+07 ± 4.84E+06
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	1.35E+07 ± 2.35E+06
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	3.50E+06 ± 2.42E+06
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	1.98E+06 ± 1.36E+06

[0347]

항체 처리	이식 후 34 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	4.57E+05 ± 1.04E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	3.36E+07 ± 1.27E+07
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	2.35E+07 ± 5.72E+06
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	4.85E+06 ± 3.24E+06
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	4.24E+06 ± 3.69E+06

[0348]

항체 처리	이식 후 38 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.60E+05 ± 3.13E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	3.91E+07 ± 6.87E+06
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	4.84E+07 ± 1.65E+07
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	5.30E+06 ± 3.44E+06
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	3.21E+06 ± 2.52E+06

[0349]

항체 처리	이식 후 40 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	5.39E+05 ± 9.67E+03
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	5.06E+06 ± 3.36E+06
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	3.84E+06 ± 3.34E+06

[0350]

항체 처리	이식 후 47 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.73E+05 ± 1.91E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	7.76E+05 ± 7.85E+04
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	7.34E+05 ± 2.62E+04

[0351]

항체 처리	이식 후 54 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	7.49E+05 ± 1.95E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	5.78E+05 ± 1.15E+05
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	6.41E+05 ± 5.96E+04

[0352]

항체 처리	이식 후 61 일째의 복사휘도 [p/s/cm ² /sr] (평균 ± SEM)
종양 없음 (배경 BLI)	6.18E+05 ± 2.77E+04
PBMC/항체 없음 (양성 대조군)	안락사된 동물
mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	안락사된 동물
REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	5.23E+05 ± 4.10E+04
REGN5459 (BCMAxCD3-G20) - 0.4 mg/kg	6.03E+05 ± 5.29E+04

[0353]

실시예 16: BCMAxCD3 이중특이적 항체는 생체내 동계 종양의 성장을 용량-의존적 방식으로 억제시킨다

[0354]

항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체(Ab)의 생체내 효능을 결정하기 위해, 인간 CD3을 발현하는 마우스에서 동계 종양 연구를 수행하였다. 무린 CD3deg 대신에 인간 CD3deg를 발현하는 C57BL/6 마우스(CD3-인간화 마우스)에게 전장 인간 BCMA를 발현하도록 조작된 0.5x10⁶개 B16 흑색종 세포(B16/BCMA 세포) 또는 전장 인간 BCMA를 발현하도록 조작된 1x10⁶개 MC38 결장암종 세포(MC38/BCMA)를 피하 이식하였다. 그 후에, 마우스(그룹당 n=7)에게 0.4

[0355]

mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 또는 0.4 mg/kg 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 제4일 및 제7일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하고, 실험 전기간에 걸쳐 종양 성장을 평가하였다. B16/BCMA 종양 및 MC38/BCMA 종양은 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 성장한 한편, BCMAxCD3 REGN5458은 생체내에서 두 종양주의 성장을 용량-의존적 방식으로 억제시킬 수 있었다.

[0356] 동계 종양의 이식 및 측정: 무린 CD3deg 대신에 인간 CD3deg를 발현하는 C57BL/6 마우스(CD3-인간화 마우스)에게 전장 인간 BCMA를 발현하도록 조작된 0.5×10^6 개 B16F10 흑색종 세포(B16/BCMA 세포) 또는 전장 인간 BCMA를 발현하도록 조작된 1×10^6 개 MC38 결장암종 세포(MC38/BCMA)를 피하 이식하였다. 그 후에, 마우스(그룹당 n=7)에게 0.4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; mAb17664D), 또는 0.4 mg/kg 또는 0.04 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab를 즉시 투여하였다. 마우스에게 이들 Ab를 제4일 및 제7일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하고, 실험 전기간에 걸쳐 종양 성장을 평가하였다.

[0357] 동계 종양 성장 및 저해의 계산: 외부 캘리퍼에 의해 종양 부피를 결정하기 위해, 가장 큰 세로방향 직경(길이, mm) 및 가장 큰 가로방향 직경(너비, mm)을 결정하였다. 캘리퍼 측정을 기초로 하여 종양 부피를 공식, 부피(mm^3) = (길이 x 너비²)/2에 의해 계산하였다.

[0358] B16/BCMA 종양 및 MC38/BCMA 종양은 CD3-결합 대조군-치료 마우스에서 성장한 한편, BCMAxCD3 REGN5458은 생체내에서 두 종양주의 성장을 용량-의존적 방식으로 억제시킬 수 있었다. 결과는 하기 표 24에 제시된다.

표 24

표 24: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 처리	5 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
B16/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	25.6 ± 2.7
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0.0 ± 0.0
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	3.3 ± 2.2
MC38/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	29.3 ± 4.4
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	1.4 ± 1.4
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	11.9 ± 2.9

[0359]

항체 처리	10 일째 평균 종양 크기 (mm^3) ± SEM
B16/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	179.2 ± 30.6
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0.0 ± 0.0
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	15.4 ± 12.5
MC38/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	123.1 ± 14.6
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	0.0 ± 0.0
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	66.7 ± 22.5

[0360]

항체 처리	14 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
B16/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	763.1 ± 156.2
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	8.1 ± 4.4
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	81.4 ± 49.2
MC38/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	477.1 ± 77.1
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	2.9 ± 2.9
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	273.3 ± 115.3

항체 처리	18 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
B16/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	2068.9 ± 357.7
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	47.1 ± 17.0
B16/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	127.2 ± 63.9
MC38/BCMA 종양 mAb17664D (CD3 결합 대조군-G) - 0.4 mg/kg	1432.5 ± 231.6
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.4 mg/kg	7.5 ± 7.5
MC38/BCMA 종양 REGN5458 (BCMAxCD3-G) - 0.04 mg/kg	641.5 ± 309.8

실시예 17: 수소 중수소 교환에 의한, BCMA로의 REGN5458 결합의 에피토프 맵핑

질량 분광법이 동반된 H/D 교환 에피토프 맵핑(HDX-MS)을 수행하여, REGN5458(BCMA x CD3 이중특이적 항체)과 상호작용하는 BCMA(재조합 인간 BCMA, SEQ ID NO: 115의 아미노산 서열)의 아미노산 잔기를 결정하였다. H/D 교환 방법에 대한 일반적인 설명은 예를 들어, 문헌[Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259]; 및 문헌[Engen 및 Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A]에 제시되어 있다.

중수소 표지화 및 켄칭(quenching)을 위한 Leaptec HDX PAL 시스템, 샘플 분해 및 로딩을 위한 Waters Acquity M-Class(Auxiliary 용매 매니저), 분석적 구매를 위한 Waters Acquity M-Class(μ Binary 용매 매니저) 및 펩타이드 질량 측정을 위한 Thermo Q Exactive HF 질량 분광계로 구성된, 통합된 HDX/MS 플랫폼 상에서 HDX-MS 실험을 수행하였다.

표지화 용액을 pD 7.0에서 D₂O 중 PBS 완충액(10 mM 포스페이트 완충액, 140 mM NaCl 및 3 mM KCl, 25°C에서 pH 7.4의 당량)으로서 제조하였다. 중수소 표지화를 위해, 10 μ L의 hBCMA.hFc(REGN2746, 54.5 μ M; SEQ ID NO: 120) 또는 1:2 몰비(Ag-Ab 복합체)로 REGN5458과 예비혼합된 hBCMA.hFc를 20°C에서 90 μ L D₂O 표지화 용액과 함께 다양한 시점 동안 이중으로 인큐베이션하였다(예를 들어, 비중수소화된 대조군 = 0초; 중수소-표지의 경우 5분 및 10분). 100 μ L의 예비-냉각된 켄치 완충액(0.5 M TCEP-HCl, 8 M 우레아 및 1% 포름산)을 각각의 샘플에 첨가하고 20°C에서 5분 동안 인큐베이션함으로써 중수소화 반응을 켄칭하였다. 그 후에, 켄칭된 샘플을 온라인 펩신/프로테아제 XIII 분해를 위해 Waters HDX Manager 내에 주사하였다. 분해된 펩타이드를 10% 내지 32% B(이동상 A: 수(water) 중 0.5% 포름산, 이동상 B: 아세토니트릴 중 0.1% 포름산)의 13분 구배를 이용하여 C8 컬럼(1.0 mm $\times$ 50 mm, NovaBioassays)에 의해 분리하였다. LC-MS/MS 또는 LC-MS 모드로 Q Exactive HF 질량 분광법에 의해, 용출된 펩타이드를 분석하였다.

BCMA 및 이의 무작위화된 서열을 포함하는 데이터베이스에 대해 Byonic 검색 엔진(Protein Metrics)을 사용하여, 비중수소화된 BCMA 샘플의 LC-MS/MS 데이터를 검색하였다. 비-특이적 효소적 분해 및 인간 글리코실화를 공통 변수 변형으로서 사용하여 검색 매개변수(ELN)를 디폴트로서 설정하였다. 그 후에, 식별된 펩타이드

목록을 HDX Workbench 소프트웨어(버전 3.3) 내로 임포트하여, 모든 중수소화된 샘플로부터 LC-MS에 의해 검출된 각각의 펩타이드의 중수소 흡수를 계산하였다. 주어진 펩타이드에 대해, 각각의 시점에서의 센트로이드 질량(강도-가중 평균 질량)을 사용하여, 중수소 흡수(D) 및 중수소 흡수의 백분율(%D)을 계산하였다:

$$\begin{aligned} \text{중수소 흡수 (D-흡수)} &= \text{평균 질량 (중수소화된)} - \text{평균 질량 (비중수소화된)} \\ \text{중수소 흡수의 백분율 (\%D)} &= \frac{\text{각각의 시점에서 펩타이드에 대한 D-흡수} \times 100\%}{\text{펩타이드의 최대 D-흡수 (ELN에서 정의됨)}} \end{aligned}$$

hBCMA.hFc 단독 및 REGN5458 샘플과 복합된 hBCMA.hFc 둘 다로부터 hBCMA.hFc로부터의 총 8개 펩타이드를 식별하였으며, 이는 hBCMA의 100% 서열 커버리지를 나타낸다. 모든 펩타이드의 평균화된 표준 편차(SD)는 1.4%인 것으로 평가되었다(상세한 계산은 문헌[ELN and Pascal, BD 등 (2012) *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 23(9):1512-1521]에서 정의되었음). 따라서, 4.2%(평균화된 SD의 3-배) 초과와 차별적인 D-흡수 백분율 값을 나타낸 임의의 펩타이드는 유의하게 보호된 것으로 정의되었다. hBCMA.hFc의 경우, SEQ ID NO: 106의 아미노산 1-43에 상응하는 펩타이드(MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPQLRCSSNTPLTCQRYCNA; SEQ ID NO: 121)는 REGN5458에 의해 유의하게 보호되었다. hBCMA.mmh(REGN2744, SEQ ID NO: 106의 아미노산 서열)를 사용하여 REGN5458에 의한 이들 잔기의 보호를 확인하였다.

표 25

표 25: REGN5458로의 결합 시 유의한 보호를 갖는, 선택된 BCMA.hFc 펩타이드

BCMA 잔기	5 분			10 분			-hFc
	REGN2746	REGN2746 + REGN5458		REGN2746	REGN2746 + REGN5458		
	센트로이드 MH ⁺	센트로이드 MH ⁺	ΔD	센트로이드 MH ⁺	센트로이드 MH ⁺	ΔD	
1-28	3217.16	3212.39	-4.77	3218.05	3212.62	-5.43	-25.2
4-26	2582.03	2577.26	-4.77	2582.71	2577.45	-5.26	-31
27-43	1921.75	1920.69	-1.06	1922.1	1920.83	-1.27	-11.1

실시예 18: 항-BCMA 항체와 암세포 인큐베이션한 후 다발성 골수종 세포주 상에서 BCMAxCD3 이중특이적 항체 및 부가적인 BCMA 항체의 FACS 결합 검증법

다발성 골수종 세포주를 항-BCMA 항체와 함께 암세포 인큐베이션한 것이 표면 BCMA의 수준에 미치는 영향을 결정하기 위해 유세포분석을 이용하였다. MM 세포주(H929, MoIp8, U266 및 MM1.S)를 2회 세척하고, 66.7 nM 또는 667 nM 항-BCMA 항체, DAPT(감마-분비효소 저해제)를 함유하는 R10 배지(RPMI+10% FBS+페니실린/스트렙토마이신/글루타민) 또는 배지 단독에서 37°C에서 배양하였다. 18시간 후, 웰을 차가운 FACS 세척액(PBS+1% 여과된 FBS)으로 세척하고, 차가운 염색 완충액(Miltenyi 130-091-221) 중 667 nM의 동일한 항-BCMA 항체에서 얼음 상에서 30분 동안 재현탁시켰다. 인큐베이션 후, 세포를 차가운 FACS 세척액(PBS + 1% 여과된 FBS)으로 2회 세척하고, 적절한 항-인간 2차 항체(항-hIgG 또는 항-HIS)와 함께 얼음 상에서 부가적인 30분 내지 45분 동안 인큐베이션함으로써, 결합된 항체를 검출하였다. 배양 후, 세포가 세척, 1% 여과 FBS를 함유하는 200 μL의 차가운 PBS에 재현탁 및 BD FACS Canto II에서 유세포분석법에 의해 분석되었다. BCMA ab 또는 DAPT에서 이전에 암세포 인큐베이션된 염색된 세포의 MFI를 배지 단독에서 암세포 인큐베이션된 염색된 세포의 MFI로 나누어서, 염색에서의 배수 증가를 계산하였다.

BCMA는 효소 감마-분비효소에 의해 세포의 표면으로부터 신속하게 절단된다. 감마-분비효소, 예컨대 DAPT와 함께 암세포 인큐베이션하면, BCMA 절단을 방지하여, 세포 표면 상에서 BCMA의 증가된 수준을 초래한다. 표 26 내지 표 29는 배지 단독에서 인큐베이션된 세포와 비교하여 항-BCMA 항체 또는 DAPT에서 암세포 인큐베이션된 세포 상에서 BCMA의 중앙값 형광 강도(MFI)에서 배수 증가를 보고한다. 본 발명자들은, DAPT와의 암세포 인큐베이션이 H929, MoIp8, U266 및 MM.1S 상에서 항-BCMA 항체(BCMAxCD3 이중특이적 R5458, 부모 BCMA 항체 mAb15281, 및 다른 인 하우스 BCMA 항체)에 의해 검출되는 BCMA 수준을 각각 2.3배 내지 4배, 2.4배 내지 8.6배, 5.3배 내지

9.0배, 및 11.9배 증가시켰음을 관찰하였다.

[0374]

주목할 만하게는, 본 발명자들은 또한, MM 세포주를 66.7 nM 또는 667 nM REGN5458 또는 부모 2가 항-BCMA 항체 mAb21581와 함께 밤새 인큐베이션한 것이 FACS에 의해 검출된 표면 BCMA의 수준을 유사하게 증가시켰음을 관찰하였으며, 이는 항-BCMA 항체의 결합이 감마-분비효소에 의한 BCMA의 절단을 방지함을 시사한다. 표면 BCMA에서 항체 유도 증가는 세포주에 의해 상이하였으며, 이때, Molp8 및 MM1S 세포는 H929 또는 U266과 비교하여 더 큰 배수 증가를 나타내었다. 이러한 현상은 REGN5458로 제한되지 않았으며, 다른 인 하우스 BCMA 항체에서도 관찰되었다.

표 26

표 26: 배지 단독(NCI-H929)에서 인큐베이션된 세포에 걸친 MFI 배수 변화

NCI-H929		67 nM		667 nM		DAPT	
		평균	n	평균	n	평균	n
mAb21581	aBCMA (R5458 에 대해 부모)	1.2	5	1.4	3	3.5	6
REGN5458	BCMAxCD3	2.0	3	3.0	1	4.0	3
mAb16749	aBCMA	1.0	2	0.8	1	2.3	3
mAb16711	aBCMA	2.8	2	2.1	1	3.8	3
mAb16747	aBCMA	1.8	2	2.1	1	3.9	3
REGN960	scFv IsoC	1.0	2	1.1	1	1.1	3
mAb11810	IgG1 IsoC	1.0	2	1.0	1	1.1	3
mAb11810	IgG4s IsoC	1.3	2	1.0	1	1.1	3

[0375]

표 27

표 27: 배지 단독(Molp8)에서 인큐베이션된 세포에 걸친 MFI 배수 변화

Molp8		67 nM		667 nM		DAPT	
		평균	n	평균	n	평균	n
mAb21581	aBCMA (R5458 에 대해 부모)	2.3	5	3.7	3	6.3	6
REGN5458	BCMAxCD3	2.3	3	4.5	1	8.6	3
mAb16749	aBCMA	1.1	2	3.4	1	4.0	3
mAb16711	aBCMA	3.5	2	3.0	1	5.1	3
mAb16747	aBCMA	2.2	2	0.6	1	6.2	3
REGN960	scFv IsoC	1.1	2	1.0	1	1.0	3
mAb11810	IgG1 IsoC	1.0	2	1.3	1	1.1	3
mAb11810	IgG4s IsoC	0.9	2	1.2	1	1.0	3

[0376]

표 28

표 28: 배지 단독(U266)에서 인큐베이션된 세포에 걸친 MFI 배수 변화

U266		67 nM		667 nM		DAPT	
		평균	n	평균	n	평균	n
mAb21581	aBCMA (R5458 에 대해 부모)	1.8	2	2.3	1	6.7	6
REGN5458	BCMAxCD3	1.4	2	2.3	1	9.0	3
mAb16749	aBCMA	1.3	2	1.2	1	5.3	3
mAb16711	aBCMA	2.2	2	2.2	1	7.2	3
mAb16747	aBCMA	1.5	2	1.7	1	8.3	3
REGN960	scFv IsoC	1.0	2	1.0	1	1.0	3
mAb11810	IgG1 IsoC	1.0	2	1.1	1	1.1	3
mAb11810	IgG4s IsoC	1.1	2	1.1	1	1.4	3

[0377]

표 29

표 29: 배지 단독(MM1S)에서 인큐베이션된 세포에 걸친 MFI 배수 변화

MM1S		67 nM		667 nM		DAPT	
		평균	n	평균	n	평균	n
mAb21581	aBCMA (R5458 에 대해 부모)	7.3	2	7.0	2	11.9	2

[0378]

[0379]

실시예 19: BCMAxCD3 이중특이적 항체의 존재 하에 인간 및 시노물구스 원숭이 혈장 세포의 자가 T 세포-매개 사멸화

[0380]

비자극된 자가 T 세포에 의한 농화된 CD138⁺ 인간 또는 시노물구스 원숭이 혈장 세포의 특이적인 사멸화를 유세포분석법에 의해 결정하였다. 인간 또는 시노물구스 골수 흡인물 및 혈액을 24시간의 수합 이내에 제공하였다. EasySep 인간 CD138⁺ 양성 선별 키트를 제조업체의 설명서에 따라 사용하여 양성 선별에 의해 골수로부터 CD138⁺ 형질 세포를 농화시켰다. 전혈로부터의 PBMC를 밀도 분리에 의해 단리하였다. PBMC를 1 μ M의 Vybrant CFDA-SE 형광 추적 염료로 표지하였다. 표지 후, 1x10⁴개의 농화된 CD138⁺ 혈장 세포를 둥근-바닥 96웰 플레이트에서 Vybrant CFDA-SE 표지 PBMC 및 REGN5458, CD3-결합 대조군 bsAb, 또는 BCMA-결합 대조군 mAb의 순차적 희석물과 함께 10:1의 E:T 비로 완전 배지 내에서 37°C에서 72시간 동안 평판배양하였다. 배양 종료 시, 생존한 CD138⁺ 형질 세포를, 고정형 생/사 염료 및 형질 세포 특이적 세포 표면 마커를 이용하는 유세포분석법에 의해 분석하였다. 생존력 백분율을 대조군 조건(PBMC 단독의 존재 하에서의 형질 세포)으로 정규화하였다. T 세포 활성화를 유세포분석법에 의해 평가하였다. 활성화는 CD25를 발현하는 CD2⁺/CD4⁺ 또는 CD2⁺/CD8⁺/CD16⁻ T 세포의 백분율로서 보고된다. T 세포 활성화 백분율을 대조군 조건(PBMC 단독의 존재 하에서의 형질 세포)으로 정규화하였다.

[0381]

시험관내 연구는 1차 인간 및 시노물구스 원숭이 T 세포 활성화 및 자가 혈장 세포의 세포독성에 미치는 REGN5458 또는 음성 대조군(BCMA-결합 대조군 mAb 또는 CD3-결합 대조군 bsAb)의 효과를 평가하였다. 각각의 공여체에 대한 세포독성에 대한 EC₅₀ 값 및 T 세포 활성화 백분율은 표 30에 요약되어 있다.

- [0382] REGN5458은 자가 T 세포의 존재 하에 공여체 1 및 2로부터의 1차 인간 혈장 세포의 세포독성을 각각 42.8 pM 및 191 pM의 EC_{50} 값으로 용량-의존적 방식으로 매개하였고, 최대 세포독성 백분율을 각각 91% 및 89%로 초래하였다. 병행하여, REGN5458은 공여체 1 및 2로부터의 인간 혈장 세포의 존재 하에 T 세포 활성화를 용량-의존적 방식으로 매개하였으며, 이때, $CD8^+$ T 세포 활성화에 대해 각각 214 pM 및 860 pM의 EC_{50} 값, 및 최대 $CD8^+$ T 세포 활성화 백분율은 각각 2% 및 36%였다. 두 공여체 모두에서의 혈장 세포의 세포독성 및 공여체 2 단독에서의 증가된 $CD8^+$ T 세포 활성화는 나노몰 농도의 CD3-결합 대조군에서 관찰되었다. 공여체에서 시험된 임의의 농도에서 BCMA-결합 대조군에서 세포독성 또는 T 세포 활성화에 미치는 어떠한 효과도 관찰되지 않았다.
- [0383] REGN5458은 두 공여체 모두에서 1차 시노물구스 혈장 세포의 세포독성을 용량-의존적 방식으로 매개하였으며; 1.31 nM의 EC_{50} 은 공여체 1에 대해 계산되었으나, 공여체 2에 대해서는 EC_{50} 이 결정될 수 없었다. 두 공여체 모두에서, REGN5458 치료는 혈장 세포의 세포독성을 증가시켰다(공여체 1 및 2 각각에 대해 최대 세포독성 백분율은 94% 및 91%였음). 병행하여, REGN5458은 공여체 1 및 2로부터의 시노물구스 혈장 세포의 존재 하에 T 세포 활성화를 용량-의존적 방식으로 매개하였으며, 이때, $CD4^+$ T 세포 활성화에 대해 각각 28.1 nM 및 18.1 nM의 EC_{50} 값, 및 최대 $CD8^+$ T 세포 활성화에 대해서는 각각 22.4 nM 및 76.7 nM였다. 생성된 최대 T 세포 활성화 백분율은 공여체 1 및 2에 있어서 각각 $CD4^+$ T 세포에 대해 9% 및 16%였고 $CD8^+$ T 세포에 대해 12% 및 17%였다.
- [0384] 평가된 세포주에서 시험된 임의의 농도에서 BCMA-결합 대조군에서 어떠한 표적 세포 사멸화가 관찰되지 않았다. 공여체 2로부터의 혈장 세포의 존재 하에 일부 표적 세포 사멸화 및 T 세포 활성화가 나노몰 농도에서 CD3-결합 대조군에서 관찰되었다.

표 30

표 30: 각각의 공여체에 있어서 세포독성에 대한 EC_{50} 값 및 T 세포 활성화 백분율

세포주		세포독성 사멸화		T 세포 활성화 (CD25 상향조절 %)			
				$CD4^+$ T 세포		$CD8^+$ T 세포	
효과기 세포	표적 세포	EC_{50} (M)	최대 세포독성 %	EC_{50} (M)	활성화 %	EC_{50} (M)	활성화 %
1차 인간 T 세포 ^a	인간 공여체 1 혈장 세포	4.28×10^{-11}	91	NR	NR	2.14×10^{-10}	2
	인간 공여체 2 혈장 세포	1.91×10^{-10}	89	NR	NR	8.60×10^{-10}	36
1차 시노물구스 원숭이 T 세포 ^a	시노물구스 원숭이 공여체 1 혈장 세포	1.31×10^{-9}	94	2.81×10^{-8}	9	2.24×10^{-8}	12
	시노물구스 원숭이 공여체 2 혈장 세포	ND	91	$\sim 1.81 \times 10^{-8}$	16	7.67×10^{-8}	17

- [0385] ^a 각각의 공여체에 대해 자가 혈장 세포가 시험되었다.

- [0386] 실시예 20: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 항-PD-1 항체와 상승작용하여, 생체내에서 항-종양 효능을 증강시킨다

- [0387] BCMAxCD3 이중특이적 항체(Ab)가 PD-1 차단과 상승작용하여 생체내에서 우수한 항-종양 효능을 제공하는지의 여부를 결정하기 위해, 인간 CD3을 발현하는 마우스에서 동계 종양 연구를 수행하였다. 그 결과는, REGN5458 + PD-1 차단 조합이 REGN5458 또는 PD-1 차단 단독보다 우수한 항-종양 효능을 제공함을 실증한다.

- [0388] 동계 종양의 이식 및 측정: 무린 CD3deg 대신에 인간 CD3deg를 발현하는 C57BL/6 마우스(CD3-인간화 마우스)에게 전장 인간 BCMA를 발현하도록 조작된 1×10^6 개 MC38 결합암종 세포(MC38/BCMA)를 피하 이식하였다. 3일 동안 종양을 확립시켰으며, 이때, 마우스(그룹당 n=6 또는 7)에게 0.4 mg/kg 용량의 CD3-결합 대조군 이중특이적 Ab(G; H4sH17664D), 또는 0.04 mg/kg 또는 0.24 mg/kg 용량의 BCMAxCD3(G; REGN5458) 이중특이적 Ab를, 4

mg/kg의 대리 항-마우스 PD-1 항체(클론 RPM1-14) 또는 4 mg/kg의 이소타입 대조군 Ab(클론 2A3)와 함께 투여하였다. 구체적인 치료 그룹은 하기 표 31에 제시된다.

표 31

표 31: 치료군

그룹	이중특이적 치료	항체	n
1	H4SH17664D (0.24 mg/kg)	이소타입 (4 mg/kg)	7
2	H4SH17664D (0.24 mg/kg)	RPM1-14 (4 mg/kg)	7
3	REGN5458 (0.04 mg/kg)	이소타입 (4 mg/kg)	7
4	REGN5458 (0.04 mg/kg)	RPM1-14 (4 mg/kg)	7
5	REGN5458 (0.24 mg/kg)	이소타입 (4 mg/kg)	6
6	REGN5458 (0.24 mg/kg)	RPM1-14 (4 mg/kg)	6

[0389]

[0390]

마우스에게 이들 Ab를 제7일 및 제11일에 2회 초과로 총 3회 투약 동안 투여하고, 실험 전기간에 걸쳐 종양 성장을 평가하였다.

[0391]

통계 종양 성장 및 저해의 계산: 외부 캘리퍼에 의해 종양 부피를 결정하기 위해, 가장 큰 세로방향 직경(길이, mm) 및 가장 큰 가로방향 직경(너비, mm)을 결정하였다. 캘리퍼 측정을 기초로 하여 종양 부피를 공식, 부피 (mm^3) = (길이 x 너비²)/2에 의해 계산하였다.

[0392]

그 결과는, REGN5458 + PD-1 차단 조합이 REGN5458 또는 PD-1 차단 단독보다 우수한 항-종양 효능을 제공함을 실증한다. 특히, 그 결과는, 제24일(모든 치료 그룹에 대해 데이터가 수집되는 마지막 날)에 BCMAxCD3 이중특이적 항체와 항-PD-1 항체의 조합이 종양 성장의 저해에서 통계학적으로 유의한 상승작용적인 치료 효과를 발휘하였음을 실증한다(표 32, 0.04 mg/kg에서 BCMAxCD3 및 4 mg/kg에서 항-PD-1). 제24일에 2-원 ANOVA 검정을 사용하여, (i) REGN5458(0.04 mg/kg) + 이소타입 및 REGN5458(0.04 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 3 대 그룹 4), (ii) REGN5458(0.24 mg/kg) + 이소타입 및 REGN5458(0.24 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 5 대 그룹 6), (iii) 항-PD-1 및 REGN5458(0.04 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 2 대 그룹 6) 사이에서 $p < 0.0001$ 이다. 제24일에 2-원 ANOVA 검정을 사용하여, 항-PD-1 및 REGN5458(0.04 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 2 대 그룹 4) 사이에서 $p = 0.0005$ 이다. PD-1 차단과 조합하여 BCMAxCD3 이중특이적 항체(0.24 mg/kg)의 용량을 증가시키는 것은 이 실험에서 더 낮은 이중특이적 항체 용량 + PD-1 차단과 유사한 종양 저해를 초래하였다. 더 낮은 용량의 이중특이적 항체와의 실증된 상승작용은, 더 낮은 용량의 사용이 임의의 유해 부작용의 위험을 감소시키기 때문에 유리하다. 유사하게는, BCMAxCD3 이중특이적 항체와 항-PD-1 항체의 조합은 표 33에 제시된 바와 같이, 실험 종료(제28일) 시, 종양-부재 마우스의 수에서 두 용량 모두의 이중특이적 항체(0.04 mg/kg 및 0.24 mg/kg)에서 상승작용적인 치료 효과를 나타내었다.

표 32

표 32: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 처리	3 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	16.30 ± 1.50 n=7
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	14.34 ± 1.17 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	15.62 ± 1.61 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	19.20 ± 2.94 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	13.13 ± 3.12 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	20.41 ± 3.15 n=6

[0393]

항체 처리	7 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	55.78 ± 6.61 n=7
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	43.59 ± 8.32 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	37.98 ± 3.93 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	30.30 ± 6.47 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	29.27 ± 5.00 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	29.18 ± 3.65 n=6

[0394]

항체 처리	11 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	145.74 ± 21.37 n=7
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	45.33 ± 11.46 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	112.53 ± 17.39 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	8.81 ± 0.88 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	36.63 ± 14.89 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	12.99 ± 4.35 n=6

[0395]

항체 처리	14 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	414.28 ± 46.72 n=7
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	49.50 ± 17.02 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	438.16 ± 59.56 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	6.86 ± 3.90 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	224.33 ± 47.04 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	22.75 ± 17.62 n=6

[0396]

항체 처리	18 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1035.43 ± 123.41 n=6
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	100.83 ± 41.62 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1040.12 ± 61.95 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	7.81 ± 7.81 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	515.15 ± 115.38 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	57.79 ± 43.62 n=6

[0397]

항체 처리	21 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1834.87 ± 639.56 n=2
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	208.29 ± 91.80 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	2133.12 ± 129.26 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	21.13 ± 21.13 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1225.47 ± 289.39 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	113.69 ± 85.39 n=6

[0398]

항체 처리	24 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	2358.81 ± 0.00 n=1
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	534.03 ± 205.49 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	3648.37 ± 536.71 n=3
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	53.52 ± 53.52 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1493.26 ± 973.01 n=2
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	54.29 ± 54.29 n=5

항체 처리	28 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	안락사된 모든 동물 n=0
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	1196.57 ± 467.34 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	안락사된 모든 동물 n=0
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	141.68 ± 141.68 n=7
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1371.17 ± 0.00 n=1
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	104.44 ± 104.44 n=5

표 33

표 33: 실험 종료 시 종양-부재 마우스

항체 처리	실험 종료(제 28 일) 시 종양- 부재 마우스의 수
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	7 마리 중 0 마리
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	7 마리 중 2 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	7 마리 중 0 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	7 마리 중 6 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	6 마리 중 0 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.24 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	6 마리 중 4 마리

실시예 21: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체는 항-PD-1 항체와 상승작용하여, 생체내에서 항-종양 효능을 증강시킨다

그룹당 마우스 수가 10이고, 더 높은 용량의 BCMAxCD3 REGN5458이 0.4 mg/kg인 점을 제외하고는, 상기 실시예 20에서 고찰된 것과 동일한 제2 실험에서 유사한 결과가 획득되었다. 제2 실험에 대한 구체적인 치료 그룹은 하기 표 34에 제시된다.

표 34

표 34: 치료군

그룹	이중특이적 치료	항체	n
1	H4SH17664D (0.4 mg/kg)	이소타입 (4 mg/kg)	10
2	H4SH17664D (0.4 mg/kg)	RPM1-14 (4 mg/kg)	10
3	REGN5458 (0.04 mg/kg)	이소타입 (4 mg/kg)	10
4	REGN5458 (0.04 mg/kg)	RPM1-14 (4 mg/kg)	10
5	REGN5458 (0.4 mg/kg)	이소타입 (4 mg/kg)	10
6	REGN5458 (0.4 mg/kg)	RPM1-14 (4 mg/kg)	10

[0404]

[0405]

그 결과는, REGN5458 + PD-1 차단제의 조합이 REGN5458 또는 PD-1 차단 단독보다 우수한 항-종양 효능을 제공함을 실증한다. 특히, 그 결과는, 제21일(모든 치료 그룹에 대해 데이터가 수집되는 마지막 날)에 BCMAxCD3 이중특이적 항체와 항-PD-1 항체의 조합이 종양 성장의 저해에서 상승작용적인 치료 효과를 발휘하였음을 실증한다(표 35, 0.04 mg/kg에서 BCMAxCD3 및 4 mg/kg에서 항-PD-1). 제21일에 2-원 ANOVA 검정을 사용하여, (i) REGN5458(0.04 mg/kg) + 이소타입 및 REGN5458(0.04 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 3 대 그룹 4), (ii) 항-PD-1 및 REGN5458(0.04 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 2 대 그룹 4), (iii) 항-PD-1 및 REGN5458(0.4 mg/kg) + 항-PD-1 항체의 조합(그룹 2 대 그룹 6) 사이에서 $p < 0.0001$ 이다. 상기 실시예 20에서 고찰된 바와 같이, PD-1 차단과 조합하여 BCMAxCD3 이중특이적 항체(0.4 mg/kg)의 용량을 증가시키는 것은 이 실험에서 PD-1 차단과 조합된 더 낮은 이중특이적 항체 용량과 유사한 종양 저해를 초래하였다. 더 낮은 용량의 이중특이적 항체와의 실증된 상승작용은, 더 낮은 용량의 사용이 임의의 유해 부작용의 위험을 감소시키기 때문에 유리하다. 유사하게는, BCMAxCD3 이중특이적 항체와 항-PD-1 항체의 조합은 표 36에 제시된 바와 같이, 실험 종료(제25일) 시, 종양-부재 마우스의 수에서 두 용량 모두의 이중특이적 항체(0.04 mg/kg 및 0.4 mg/kg)에서 상승작용적인 치료 효과를 나타내었다.

표 35

표 35: 다양한 시점에서 평균 종양 크기

항체 처리	3 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	9.85 ± 0.61 n=10
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	13.44 ± 1.44 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	12.41 ± 2.56 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	9.73 ± 1.25 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	11.22 ± 0.68 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	9.59 ± 1.78 n=10

[0406]

항체 처리	6 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	40.43 ± 4.07 n=10
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	44.52 ± 2.80 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	38.79 ± 3.52 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	36.42 ± 3.51 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	16.11 ± 1.27 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	24.34 ± 1.86 n=10

[0407]

항체 처리	10 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	149.41 ± 17.08 n=10
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	107.34 ± 13.73 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	116.32 ± 19.99 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	23.48 ± 3.24 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	24.27 ± 6.74 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	3.60 ± 1.92 n=10

[0408]

항체 처리	13 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	386.55 ± 48.49 n=10
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	186.87 ± 41.06 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	319.91 ± 53.05 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	10.60 ± 2.34 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	50.93 ± 20.00 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	0.74 ± 0.74 n=10

[0409]

항체 처리	18 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1809.29 ± 242.64 n=9
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	688.52 ± 152.20 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	1314.27 ± 211.22 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	6.28 ± 4.55 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	248.51 ± 107.21 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	3.93 ± 2.67 n=10

[0410]

항체 처리	21 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	3094.87 ± 482.38 n=8
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	1425.22 ± 338.49 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	2446.35 ± 395.48 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	15.03 ± 10.35 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	453.43 ± 174.75 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	9.34 ± 7.59 n=10

[0411]

항체 처리	25 일째 평균 종양 크기 (mm ³) ± SEM
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	안락사된 동물 n=0
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	1918.27 ± 571.19 n=6
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	2411.64 ± 451.96 n=3
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	38.96 ± 21.47 n=10
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	661.70 ± 331.60 n=8
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	32.02 ± 24.67 n=10

[0412]

표 36

표 36: 실험 종료 시 종양-부재 마우스

항체 처리	실험 종료(제 25 일) 시 종양- 부재 마우스의 수
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	10 마리 중 0 마리
CD3-결합 대조군 H4SH17664D (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	10 마리 중 1 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	10 마리 중 0 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.04 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	10 마리 중 7 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + 이소타입 (4 mg/kg)	10 마리 중 2 마리
BCMAxCD3 REGN5458 (0.4 mg/kg) + PD-1-차단 RPM1-14 (4 mg/kg)	10 마리 중 8 마리

[0413]

[0414] 실시예 22: 항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체를 이용한 다발성 골수종의 치료 방법

[0415]

프로테아좀 저해제, 면역조절 약물 및 항-CD38 항체 치료를 포함한 모든 치료 옵션을 소진한, 재발된 또는 불응성 다발성 골수종을 갖는 환자에서 REGN5458(항-BCMA x 항-CD3 이중특이적 항체)의 안전성, 내약성, 예비 항종양 활성, 및 약동학(PK)의 1/2상 임상시험이 시행중에 있으며, 유의미한 임상적 이점을 보여주고 있다.

[0416]

골수외(골수 외부에서) 그리고 비-분비성(검출 가능한 생체표지자를 분비하지 않음)인 암성 혈장 세포를 갖는 환자를 포함하여 치료가 어려운 진행성 형태의 다발성 골수종을 갖는 환자는 REGN5458 프로그램의 일부로서 임상시험중에 있다.

[0417]

다발성 골수종 임상시험에서, 치료 평가는 골수종 단백질 수준의 감소, 뿐만 아니라 골수종 세포의 근절에 기초한다. 골수종 단백질 반응 평가는 환자의 소변 및 혈액에서 발견되고 골수종 질환의 정도를 결정하는 데 사용되는 생체표지자인 단일클론(M) 단백질의 수준의 감소에 기초한다. 부분 관해(PR)는 혈청/소변 M-단백질의 $\geq 50\%$ 감소 또는 연관된 유리 경쇄(FLC: free light chain) 수준과 무관한 유리 경쇄(FLC) 수준 사이의 차이에서 $\geq 50\%$ 저하, 및 연조직 형질세포종의 $\geq 50\%$ 감소로서 정의된다. 매우 양호한 부분 관해(VGPR)는 혈청/소변 M-단백질의 $\geq 90\%$ 감소 또는 연관된 FLC 수준과 무관한 FLC 수준 사이의 차이에서 $\geq 90\%$ 저하, 연조직 형질세포종의 $\geq 90\%$ 감소, 및 전기영동에 의한 것이 아니라 면역고정에 의한 M-단백질의 검출로서 정의된다. 완전 관해(CR)는 혈청 및 소변에서 면역고정에 의한 M-단백질의 음성 검출, 임의의 연조직 형질세포종의 소멸, 및 골수 흡인물에서 $<5\%$ 혈장 세포로서 정의된다. 엄격한 완전 관해는 완전 관해(상기 정의된 바와 같음) + 정상 FLC 비(κ 및 λ 환자에 대해 $\leq 4:1$ 또는 $\geq 1:2$ 의 κ/λ 비)로서 정의된다. 골수종 세포의 근절을 반영하는 미세잔존질환(MRD: minimal residual disease)은 M 단백질로부터 별개로 측정되고, MRD 음성은 100,000개 골수 세포 내 암 혈장 세포의 부재로서 정의된다.

[0418]

목적: 1차 평가변수와 2차 평가변수 둘 다 조사할 것이다.

[0419]

임상시험의 1차 목적은 하기이다:

[0420]

(1) 임상시험의 1상 부분에서: 유의미한 임상 이점을 제공하는 것으로 예상되는, 모든 치료 옵션을 소진한, 재발된 또는 불응성 다발성 골수종(MM)을 갖는 환자에서 단독요법으로서 REGN5458의 안전성, 내약성, 및 용량-제한 독성(DLT)을 평가하기 위해 그리고 권고된 2상 용량 요법(RP2DR)(최대 내약 용량 요법[MTDR] 또는 생물학적 유효 용량 요법[BEDR]으로서 정의됨)을 결정하기 위해. RP2DR의 결정은 안전성, 약동학(PK), PK/PD(약동학/약력학) 관계, 및 효능에 관한 것을 포함하여 비임상 및 모든 임상 데이터의 검토에 기초할 것이다.

[0421]

(2) 임상시험의 2상 부분에서: 객관적 반응률(ORR)에 의해 측정되는 바와 같이 REGN5458의 예비 항종양 활성을 평가하기 위해.

[0422]

임상시험의 2차 목적은 하기이다(1상 부분 및 2상 부분에서):

- [0423] (1) 반응 지속 기간(DOR), 무진행 생존율(PFS), 미세잔존질환(MRD) 상태, 및 전체 생존율(OS)에 의해 측정되는 바와 같이 REGN5458의 예비 항종양 활성을 평가하기 위해;
- [0424] (2) REGN5458의 (PK) 특성을 평가하기 위해;
- [0425] (3) REGN5458의 면역원성을 특징화하기 위해;
- [0426] (4) 1상 부분 단독에서: ORR에 의해 측정되는 바와 같이 REGN5458의 예비 항종양 활성을 평가하기 위해; 및
- [0427] (5) 2상 부분 단독에서: REGN5458의 안전성 및 내약성을 평가하기 위해.
- [0428] **임상시험 설계:** 1상 부분은 REGN5458의 안전성을 평가하기 위해 그리고 단독요법으로서 REGN5458의 RP2DR(MTDR 또는 BEDR로서 정의됨)을 선택하기 위해 28-일 DLT 관찰 기간과 함께 표준 4+3 용량 증가 설계를 따를 것이다.
- [0429] 2상 부분은, REGN5458 단독요법으로 치료된 환자에서 예비 항종양 활성, 안전성 및 내약성, PK 특성, 및 생체표지자 반응을 추가로 평가하기 위해 일단 RP2DR이 결정되면 시작될 것이다.
- [0430] 각각의 환자는 배정된 투여 요법에 따라 REGN5458의 16개의 매주(QW) 주입, 뒤이어 12개의 추가 용량 동안 REGN5458을 이용한 2주마다(Q2W) 치료를 받을 것이다.
- [0431] 각각의 환자는 초기 용량이 적절하게 내약성이라면 REGN5458의 초기 용량, 뒤이어 명목 용량을 받을 것이다. REGN5458의 초기 용량은 배정된 용량에서 나뉘어진(분할) 주입(2개의 바람직한 연속일에, 그러나 3일 이하의 간격)으로 투여될 것이다. 이러한 초기 용량이 적절하게 내약성이라면, 환자는 3주 내에 배정된 용량에서 분할 주입(2개의 바람직한 연속일에, 그러나 3일 이하의 간격)으로 더 높은 명목 용량을 받을 것이고, 이후에 명목 용량이 단일 주입으로 투여될 것이다.
- [0432] 용량 증가 체계는 이전에 평가된 용량 코호트의 명목 용량과 비교하여 각각의 연속 용량 코호트의 명목 용량에서 대략 3배 증가를 제공한다. 유사하게는, 이는 각각의 연속 용량 코호트의 제1주 초기 용량에서 대략 3배 증가를 제공한다. 그러나, 용량-제한 독성(DLT) 관찰 기간에서, 용량 코호트 중 1명의 환자에서 DLT의 발생 또는 ≥ 2 명의 환자에서 등급 ≥ 2 이상반응(시험약과 명백하게 무관한 등급 ≥ 2 AE는 제외함)이 존재하지만 용량 요법이 내약성인 것으로 결정된다면, 초기 용량 및 명목 용량의 증량은 이전에 평가된 용량 코호트에서 각각의 초기 및 명목 용량보다 2배(즉, 100% 증가) 이하일 것이다. 예를 들어, 1개의 DLT가 DL2(3 mg 초기 용량 및 10 mg 명목 용량)에서 6명 또는 7명의 환자 중에서 관찰되고 용량 요법이 내약성인 것으로 결정된다면, 다음 용량 코호트(즉, DL3)에서 초기 용량은 6 mg일 것이며, 명목 용량은 20 mg일 것이고, 연속 용량 코호트에서 후속적인 용량 증량은 이전의 용량 코호트보다 2배 이하 더 높을 것이다.
- [0433] **임상시험 기간:** 각각의 환자에 대한 임상시험의 계획된 지속 기간은 스크리닝 기간(최대 28일), 치료 기간(40주), 및 핵심 추적관찰 기간(대략 24주), 뒤이어 오래 가는 임상 활성 및 안전성의 결정을 위한 대략 36주의 연장된 추적관찰 기간(대략 60주의 총 추적관찰 기간)을 포함하여 최대 대략 24개월일 것이다.
- [0434] **임상시험 집단:**
- [0435] 1상 부분: 최대 7명의 DLT 평가 가능한 환자가 4+3 설계에 따라 각각의 용량 코호트에 등록될 수 있다. 명시된 용량 수준(DL)에서의 용량 요법이 내약성이고 최대 내약 용량(MTD)을 초과하지 않았다면, 각각의 DL에서 최대 3명의 환자의 추가 등록이 개시될 수 있다(각각의 DL에서 최대 총 10명의 환자). 전체적으로 이들 용량 증가 코호트의 실제 샘플 크기는 문서로 기록된 DLT를 갖는 관찰된 환자의 수, 실행된 DL의 수, 및 중도하차된 환자의 수에 의존할 것이다.
- [0436] 2상 부분: 안전성 및 효능에 대해 평가 가능한 대략 10명 내지 14명의 환자. 이들 환자의 분석은 RP2DR에서 치료된 총 20명을 산출하기 위해 1상 부분에서 RP2DR로 치료된 6명 내지 10명의 환자의 분석과 조합될 것이다. 이러한 임상시험은 질환 재발, 치료 불응성 질환, 또는 요법의 비내약성(intolerance) 또는 거부를 통해 유의미한 임상 이점을 제공할 것으로 예상되는 모든 치료 옵션을 소진한, MM을 갖는 환자를 등록할 것이다. 이에 더하여, 각각의 환자는 항-CD38 항체, 프로테아좀 저해제, 및 면역조절 약물(IMiD)을 포함한 적어도 3개 선행 차수의 요법 후에도 진행되었어야 한다. 환자가 이전에 항-CD38 항체로 치료되고 IMiD와 프로테아좀 저해제 둘 다에 대해 불응성인 것으로 나타난다면, 환자는 또한, 3개 미만의 선행 차수의 요법이 투여되더라도 임상시험에 적격일 수 있다. 불응성 질환은 마지막 치료 60일 이내에 MM의 반응의 결여 또는 재발로서 정의된다.
- [0437] 포함 기준: 환자는 임상시험에 포함되기에 적격이기 위해서는 하기 기준을 충족시켜야 한다:

- [0438] 1. 18세 이상의 연령
- [0439] 2. 미국 동부 종양학 협력 그룹(ECOG; Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도 ≤ 1
- [0440] ECOG 상태가 효과적인 요법의 결과 향상될 것으로 예상되는 ECOG 2 수행 상태를 갖는 환자의 개별 사례는 잠재적 등록에 대한 의료 모니터와 함께 고찰될 수 있다.
- [0441] 3. 국제 골수종 연구 그룹(IMWG) 진단 기준에 의한 활성 MM의 확진된 진단.
- [0442] 4. 환자는 임상시험 진입 시 골수종-관련 기관 손상 또는 조직 기능이상(예컨대 고칼슘혈증, 신부전, 골 용해 병변, 또는 빈혈)과 함께 증상적 골수종을 가져야 한다.
- [0443] 5. 환자는 단일클론 구성요소의 혈청 또는 소변 평가에 의해 또는 혈청 검정(FLC)에 의해 측정 가능한 골수종을 가져야 한다.
- [0444] 측정 가능한 질환은 하기 중 하나 이상으로서 정의된다:
- [0445] a. 혈청 M-단백질 ≥ 1 g/dL,
- [0446] b. 소변 M-단백질 ≥ 200 mg/24-hr, 및/또는
- [0447] c. 비정상적인 혈청 FLC 비와 함께 ≥ 10 mg/dL의 연관된 FLC 수준을 갖는 FLC 검정
- [0448] - 정량적 IgA 수준이 상승되고 세로로(longitudinally) 이어질 수 있다면 면역글로불린 A(IgA) 골수종을 갖지만 측정 가능한 M-단백질을 갖지 않는 환자가 등록될 수 있다.
- [0449] - 비-분비성 MM을 갖는 환자는, IMWG 지침에 따른 반응 평가를 위한 계획의 실현성을 포함하는 의뢰자와 논의 후 등록에 고려될 수 있다.
- [0450] 6. IMWG 기준에 기초한 질환 진행
- [0451] 7. 질환 재발, 치료 불응성 질환, 또는 요법의 비내약성 또는 거부를 통해, 그리고 하기를 포함하는 유의미한 임상 이점을 제공할 것으로 예상되는 모든 치료 옵션을 소진한, MM을 갖는 환자:
- [0452] a. 프로테아좀 저해제, IMiD, 및 항-CD38 항체를 포함한 적어도 3개 차수의 요법 동안 또는 이후의 진행, 또는 요법의 비내약성, 또는
- [0453] b. 항-CD38 항체 동안 또는 이후의 진행, 및 프로테아좀 저해제 및 IMiD에 대한 "이중 불응성", 또는 요법의 비내약성을 가짐. 항-CD38 항체는 단독으로 또는 프로테아좀 저해제와 같은 또 다른 제제와 병용되어 투여되었을 수 있다. 불응성 질환은 마지막 치료 60일 이내에 반응의 결여 또는 재발로서 정의된다.
- [0454] 8. 하기에 의해 측정되는 바와 같은 적절한 혈액학적 기능:
- [0455] a. 혈소판 카운트 $> 50 \times 10^9/L$. 환자는 이러한 혈소판 적합성 요건을 충족시키기 위해 7일 이내에 혈소판 수혈을 받지 않았을 수 있다.
- [0456] b. ANC $> 1.0 \times 10^9/L$. 환자는 이러한 절대 호중구 카운트 적합성 요건을 충족시키기 위해 2일 이내에 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF)를 받지 않았을 수 있다.
- [0457] c. 헤모글로빈 > 8.0 g/dL
- [0458] 9. 하기로써 정의되는 적절한 간 기능:
- [0459] a. 총 빌리루빈 $\leq 1.5 \times \text{ULN}$
- [0460] b. 트랜스아미나제(ALT, AST) $\leq 2.5 \times \text{ULN}$
- [0461] c. 알칼리 포스파타제 $\leq 2.5 \times \text{ULN}$
- [0462] - 길버트 증후군(Gilbert syndrome) 환자는 이러한 총 빌리루빈 요건을 충족시킬 필요가 없으며, 단, 총 빌리루빈은 기준선으로부터 변하지 않는다.
- [0463] 10. 콕크로프트-가울트(Cockcroft-Gault)에 의한 혈청 크레아틴 청소율 > 30 mL/분
- [0464] - 적합성 기준을 충족시키지 않는 콕크로프트-가울트에 의한 크레아틴 청소율을 갖는 환자는, 측정된 크레아틴

청소율(24-시간 소변 수집물 또는 다른 신뢰할 만한 방법에 기초함)이 >30 mL/분이라면, 등록되는 것으로 간주될 수 있다.

- [0465] 11. 이전에 CAR T 요법 또는 임의의 유전자 요법 생성물로 치료된다면, 환자는 이러한 요법의 독성으로부터 회복되었어야 한다
- [0466] 12. 적어도 6개월의 기대 수명
- [0467] 13. 프로토콜 일정에 따른 일련의 골수 평가를 포함하여, 임상 방문 및 임상시험-관련 절차에 부응할 의향 및 능력
- [0468] - 골수 흡인물 및 생검, 또는 악성 혈장 세포가 침윤된 다른 조직은 악성 세포 내 BCMA 수준의 평가를 위한 스크리닝 시 제공되어야 하지만, BCMA 수준의 실증은 선행 등록을 필요로 할 것이다.
- [0469] 14. 임상시험 환자에 의해 서명된 시험대상자 동의를 제공한다.
- [0470] 15. 연구-관련 설문조사를 이해하고 완성할 수 있다.
- [0471] 배제 기준: 임의의 하기 기준을 충족시키는 환자는 임상시험으로부터 배제될 것이다:
- [0472] 1. 형질 세포 백혈병, 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom macroglobulinemia)(림프형질세포성 림프종(lymphoplasmacytic lymphoma)), 또는 POEMS 증후군(다발신경병증(polyneuropathy), 장기종대(organomegaly), 내분비병증(endocrinopathy), 단일클론 단백질, 및 피부 변화)의 존재
- [0473] 2. 기지의 MM 뇌 병변 또는 MM과의 유의미한 연관성을 갖는 환자(의심되는 중추신경계(CNS) 골수종은 적절하다면 방사선 촬영 및/또는 요추 천자에 의해 배제되어야 함)
- [0474] 3. 신경퇴행성 병태 또는 CNS 운동 장애의 병력
- [0475] 4. 심전도 또는 다중-게이트 획득 스캔(MUGA: multi-gated acquisition scan)에 의한 <40%의 심장 박출률(cardiac ejection fraction)
- [0476] 5. 임상시험 약물의 시작 72시간 이내에 프레드니손 또는 항염증성 증가물의 1일당 10 mg 초과에 의한 연속적인 전신 코르티코스테로이드 치료
- [0477] 6. 제1 임상시험 약물 투여 전 28일 이내에 복제 잠재력을 갖는 박터에 의한 백신화.
- [0478] 7. 시험약의 제1 투여 전, 반감기의 5-배 이내 또는 28일 이내 중 어느 쪽이 더 짧은지 간에 상기 기간 이내의 임의의 전신 표준 또는 조사 항-림프종 요법에 의한 치료
- [0479] 8. 임의의 항-BCMA 항체(항체-약물 접합체 또는 이중특이적 항체를 포함함) 또는 BCMA-표적(directed) CAR T 요법을 이용한 선행 치료
- [0480] 9. 시험약의 제1 투여의 2주 이내에 입원 또는 IV 항-감염성병원체 제제에 의한 치료를 필요로 하는 임의의 감염
- [0481] 10. 인간 면역결핍 바이러스(HIV), B형 간염 바이러스(HBV) 또는 C형 간염 바이러스(HCV) 감염에 의한 비제어된 감염; 또는 다른 비제어된 감염
- [0482] a. 제어된 감염(자발적으로 또는 안정한 항바이러스 요법 상에서 검출 불가능한 바이러스 부하 및 350개 세포/마이크로리터를 초과하는 CD4 카운트)을 갖는 공지된 HIV 감염에 걸린 환자는 허용된다.
- [0483] b. 제어된 감염(검출 한계 미만인 혈청 HBV DNA 중합효소 연쇄 반응[PCR] 및 B형 간염에 대해 항바이러스 요법을 받고 있음)을 갖는 B형 간염(B형 간염 표면 항원 검사 양성 [HepBsAg+]) 환자가 허용된다.
- [0484] c. 제어된 감염을 갖는 HCV 항체-양성(HCV Ab+) 환자(자발적으로 또는 항-HCV 요법의 성공적인 사전 과정에 반응하여, 검출할 수 없는, PCR에 의한 HCV RNA)가 허용된다.
- [0485] 11. 선행 항체 치료에 기인한, 입증된 중증 알레르기 반응 또는 급성 과민증 반응의 이력
- [0486] - 중증 알레르기 반응은 이러한 목적에 대해 CTCAE v5.0 등급 3 또는 등급 4 중증도(즉, 기관지 경련(bronchospasm); 또는 생명-위협 결과; 또는 IV 중재, 다른 응급 중재, 또는 임상적 후유증에 대한 입원을 필요로 함)에 대한 기준을 충족하였거나 응급실 방문을 필요로 했던 것으로 정의된다.

- [0487] 12. 테트라사이클린 항생제 군 내의 임의의 화합물에 대한 과민증의 이력(시험약 물질 내 미량의 구성요소의 잠재적인 존재로 인한 주의)
- [0488] 13. 알룰푸리놀과 라스부리카제 둘 다에 대한 기지의 과민증.
- [0489] 14. 임의의 시기에 동종이계 줄기세포 이식, 또는 임상시험 치료 시작 12주 내에 자가 줄기세포 이식의 이력
- [0490] 15. 임상 사이트 임상시험 팀의 구성원 또는 그의/그녀의 직계 가족은 선행 승인이 없는 한, 의뢰자에 의해 승인을 받는다.
- [0491] 16. 양성 혈청 베타-인간 융모성 생식선 자극 호르몬(β -hCG)을 갖는 가임기 여성(WOCBP)은 이 임상시험에 부적합하다.
- [0492] 17. 사법 또는 행정 당국에 의해 발행된 순서로 인해 기관에 수용된 환자
- [0493] 18. 임신 또는 모유-수유 여성
- [0494] 19. 초기 요양/제1 치료의 시작 전, 임상시험 동안, 그리고 마지막 용량 후 적어도 6개월 동안 고도로 효과적인 피임을 수행할 의향이 없는 가임기* 및 남성**.
- [0495] *여성에 대한 매우 효과적인 피임법은 하기를 포함한다:
- [0496] a. 스크리닝 전 배란에서 유발된 2회 이상의 월경주기의 억제와 관련된, 조합된 (에스트로겐 및 프로게스토겐 함유) 호르몬 피임법(경구, 질내, 경피) 또는 프로게스토겐-단독 호르몬 피임법(경구, 주사 가능, 이식 가능)의 안정적인 사용
- [0497] b. 자궁내 장치(IUD); 자궁내 호르몬-방출 시스템(IUS)
- [0498] c. 양측성 난관결찰술
- [0499] d. 정관절제술을 받은 파트너(단, 정관절제술을 받은 남성 파트너가 임상시험 참가자의 유일한 성행위 파트너이고 상기 파트너는 시술에 대한 수술적 성공의 의학적 평가를 수득하였음)
- [0500] e. 및/또는 성적 금욕†, ‡.
- [0501] 가임기 여성은 영구적으로 불임이지 않는 한, 폐경후가 될 때까지 초경 이후 생식력이 있는 여성으로서 정의된다. 영구 불임 방법은 자궁 절제술, 양측 난관절제술, 및 양측 난소절제술을 포함한다.
- [0502] 폐경후 상태는 대안적인 의학적 이유가 없이 12개월 동안 월경이 없는 것으로 정의된다. 폐경후 범위에서 높은 여포 자극 호르몬(FSH) 수준은, 호르몬 피임 또는 호르몬 대체 요법을 사용하지 않는 여성에서 폐경후 상태를 확인하는 데 사용될 수 있다. 그러나, 12개월간의 무월경의 부재 시, 단일 FSH 측정으로는 폐경후 상태의 발생을 결정하는 데 불충분하다.
- [0503] **남성에 대해 고도로 효과적인 피임 조치는 정관절제술(수술적 성공에 대해 의학적으로 평가되었음)을 받지 않는 한 콘돔 또는 금욕을 포함한다†, ‡.
- [0504] †성적 금욕은 임상시험 치료와 관련된 전체 위험 기간 동안 이성애 성행위를 삼가는 것으로 정의된 경우에만 매우 효과적인 방법으로 간주된다. 성적 금욕의 신뢰성은 임상 시험의 기간 및 환자의 바람직하고 통상적인 생활방식과 관련하여 평가되어야 한다.
- [0505] ‡주기적인 금욕(달력법, 증상체온법, 배란후법), 철수(질외 사정), 살정제만 사용, 수유성 무월경 방법(LAM)은 허용되는 피임법이 아니다. 여성용 콘돔 및 남성용 콘돔은 함께 사용되지 않아야 한다.
- [0506] **치료(들):** IV 주입을 위한 REGN5458은 멸균, 1회용 바이알 중 액체로서 의뢰자에 의해 공급될 것이다. 각각의 바이알은 REGN5458을 10 mg/mL의 농도로 함유할 것이다.
- [0507] 약사 또는 다른 자격이 있는 개체는 투여를 위해 REGN5458을 제조하기 위해 각각의 사이트에서 식별될 것이다.
- [0508] 초기 용량 및 제1 명목 용량에 대해, 치료는 바람직하게는 2 연속일에, 그러나 3일 이하의 간격을 두고(예를 들어, 제1주 제1일 및 제1주 제2일) 2개의 별개의 4-시간 주입으로서 투여될 것이다. 단일 주입으로서 투여되는 제1 명목 용량은 4시간에 걸쳐 투여될 것이다. 이러한 주입이 임의의 등급의 CRS 또는 IRR 없이 적절하게 내약성이라면, 후속적인 REGN5458 주입은 시험자의 임상적 판단에 따라 2시간까지 감소될 수 있다. 이러한 2-시간 REGN5458 주입이 임의의 등급의 CRS 또는 IRR 없이 적절하게 내약성이라면, 후속적인 REGN5458 주입은 시험자의

임상적 판단에 따라 1시간까지 감소될 수 있다. 이후, 각각의 용량의 REGN5458은 CRS 또는 IRR 사건의 부재와 관련된 IV 주입 지속 기간으로 투여될 수 있다.

[0509] 환자가 초기 용량 및 제1 명목 용량을 받은 후의 치료는 단일 주입으로서 투여될 수 있다. 시험자는 용량을 2일에 걸쳐 2개의 별개의 주입으로 분할하는 것을 선택할 수 있다(바람직하게는 연속적이지만 3일 이하의 간격을 가짐).

[0510] 각각의 환자가 받는 REGN5458의 용량(들)은 DL 코호트 배정에 따를 것이다. 각각의 DL에서 투여되는 용량은 고정된 용량일 것이고 환자 체중 또는 체표면적(BSA)에 의존하지 않을 것이다.

[0511] **임상시험 평가변수(들):**

[0512] 1상 부분에서, 임상시험에서의 1차 평가변수는 하기이다:

[0513] (1) 제1 용량으로부터 DLT 관찰 기간의 종료를 통한 DLT의 발생빈도; 및

[0514] (2) REGN5458 치료 기간 및 마지막 용량 후 최대 14개월 동안 투여 후 발현 이상반응(TEAE) 및 특수 관심의 이상반응(AESI)의 발생빈도 및 중증도.

[0515] 2상 부분에서 - 임상시험의 1차 평가변수는 마지막 용량 후 최대 14개월째에 국제 골수종 연구 그룹(IMWG) 기준을 사용하여 측정된 바와 같은 ORR이다.

[0516] 2차 평가변수는 하기이다(1상 부분 및 2상 부분에서):

[0517] (1) 시간 경과에 따른 혈청 내 REGN5458의 농도;

[0518] (2) 시간 경과에 따른, REGN5458에 대한 투여 후 발현(treatment-emergent) 항약물 항체(ADA)의 발생빈도;

[0519] (3) 마지막 용량 후 최대 14개월째에 IMWG 기준을 사용하는 DOR;

[0520] (4) 마지막 용량 후 최대 14개월째에 IMWG 기준을 사용하여 측정된 바와 같은 PFS;

[0521] (5) 마지막 용량 후 최대 14개월째에 IMWG 기준을 사용하는MRD 음성 상태의 비율;

[0522] (6) 마지막 용량 후 최대 14개월째에 OS;

[0523] (7) 1상 부분 단독에서 - 마지막 용량 후 최대 14개월째에 IMWG 기준을 사용하여 측정된 바와 같은 ORR; 및

[0524] (8) 2상 부분 단독에서 - 마지막 용량 후 최대 14개월째에 REGN5458 치료 동안 TEAE 및 AESI의 발생빈도 및 중증도.

[0525] **절차 및 평가:**

[0526] 스크리닝 단독: 인구통계, 종합 신체검사, 키, 의학적 및 종양학적 이력, 수정된 국제 병기 시스템(ISS) 병기(염색체 이상 및 $\beta 2$ -마이크로글로불린을 포함함), 뇌 자기 공명 영상(MRI), 심전도 또는 다중-게이트 획득 스캔(MUGA: multi-gated acquisition scan), HIV/HBV/HCV 검사, 프로트롬빈 시간(PT)(국제 정상화 비율[INR]) 및 aPTT/PTT.

[0527] 안전성: 활력 징후, 제한된 신체 검사, 체중, 심전도, ECOG 상태, 실험 평가, 이상반응(AE), 병용 약물(CM).

[0528] 효능: 혈청 단백질 전기영동(SPEP), 소변 단백질 전기영동(UPEP), 24시간 소변 샘플, 혈청 및 소변 면역고정, 혈청 유리 경쇄(FLC) 검사, 골수 흡인물/생검, 면역글로불린 정량화(면역글로불린 A[IgA], 면역글로불린 M[IgM], 면역글로불린 G[IgG], 면역글로불린 D[IgD], 면역글로불린 E[IgE]), 골수의 형질세포종 평가(관련이 있다면 임상 검사, 및/또는 방사선학적 검사[생검은 선택적인]에 의한 측정), 골격 검사.

[0529] 혈청 내 약물 농도 분석 및 ADA 평가를 위한 혈액 샘플을 수집할 것이다.

[0530] **통계학적 계획:**

[0531] 1상 부분: 최대 7명의 DLT-평가 가능한 환자가 4+3 설계에 따라 각각의 용량 코호트에 등록될 수 있다. 명시된 DL에서의 용량 요법이 내약성이고 MTD를 초과하지 않았다면, 각각의 DL에서 최대 3명의 환자의 추가 등록이 개시될 수 있다(각각의 DL에서 최대 총 10명의 환자). 전체적으로 이들 용량 증가 코호트의 실제 샘플 크기는 문서로 기록된 DLT를 갖는 관찰된 환자의 수, 실행된 DL의 수, 및 중도하차된 환자의 수에 의존할 것이다.

[0532] 2상 부분: 20명 환자의 샘플 크기는, RP2DR에서 치료받은 환자에서 REGN5458의 안전성 및 예비 항종양 활성을

추가로 조사하기 위해 임상 고려사항에 기초하여 결정된다. 1상에서, RP2DR에서 시험약을 받고 있는 6명 내지 10명의 환자가 존재할 것이며, 이들은 분석을 위해 20명 환자의 총 샘플 크기에 기여할 것이다. 안전성 및 효능에 대해 평가 가능한 나머지 10명 내지 14명의 환자가 2상 부분에 등록될 것이다.

[0533] 등록 일시중지 및 안전성 검토를 위한 2상 조건: RP2DR에서 내약성을 추가로 평가하기 위해, 허용되지 않는 독성(cUT)을 경험하는 환자의 누적수의 비율은 1상 부분 및 2상 부분으로부터 RP2DR에서 치료되는 환자에서 추정될 것이다. 중지 경계(stopping bound)는 일측 80% 신뢰구간(CI)의 더 낮은 경계를 활용하는 빈도학과 간격에 기초하여 포함된다. 추정된 cUT의 일측 80% CI의 더 낮은 경계가 20%를 초과한다면, 2상 부분에서의 등록은 일시중지될 것이다.

[0534] 이러한 평가는 1상 부분 및 2상 부분에서 RP2DR에서 치료되는 처음 12명의 환자에서 수행될 것이고; 이러한 평가는 1상 부분 및 2상 부분에서 RP2DR에서 치료되는 처음 16명에 대해 반복될 것이다(즉, 4명의 추가 환자가 등록되었음). cUT의 비율이 20%를 초과한다면(즉, RP2DR에서 치료되는 처음 12명의 환자 중 4명 이상의 환자는 허용되지 않는 독성을 갖거나, 처음 16명의 환자 중 5명 이상의 환자는 허용되지 않는 독성을 가짐), 2상 부분에서 추가 등록은 일시중지될 것이다. 12명의 환자를 등록하기 전에 4명의 환자가 허용되지 않는 독성을 갖고 있는 것으로 관찰되거나 16명의 환자를 등록하기 전에 5명의 환자가 허용되지 않는 독성을 갖고 있는 것으로 관찰된다면, 2상 부분에서의 추가 등록 또한 일시중지될 것이다.

[0535] **예비 결과:** 전신 요법의 5개 선행선의 중앙값(범위, 2 내지 17)을 가졌던 49명의 환자(연령 중앙값 64세; 31% 70세 이상); 33명의 환자(67.3%)는 선행 자가 줄기세포 이식을 받았다. 연구 진입 시 다발성 골수종 면역 하위 유형은 면역글로불린(Ig) G(21명의 환자, 42.9%), IgA(11명의 환자, 22.4%), 람다 경쇄(11명의 환자, 24.4%), 및 카파 경쇄(6명의 환자, 12.2%)를 포함하였다. 모든 환자는 항-CD38 항체에 대해 불응성이었고, 각각 모든 %는 트리플-불응성이며, 30.6%는 쿼드-불응성이고, 57.1%는 펜타-불응성이었다. 80%의 환자는 카르필조집에 대해 불응성이고, 92%는 포말리도마이드에 대해 불응성이었다. 환자는 6개 용량 수준에 걸쳐 3 mg 내지 96 mg의 REGN5458을 받는 코호트에서 치료되었다. 추적 관찰의 연속 기간 중앙값은 2.63(범위 0.5 내지 13.4)개월이었다. 과반수(63%)는 II의 수정된 국제 병기 시스템(ISS) 병기를 가졌다.

[0536] 가장 보편적인 이상반응(AE)은 사이토카인 방출 증후군(CRS; 38.8%), 빈혈(36.7%), 피로(34.7%), 오심(31%), 발열(31%), 및 등-통증(27%)이었다. 등급 3 이상의 AE는 43%의 환자에서 발생하였고, 가장 보편적인 것은 빈혈(22.4%), 호중구감소증(14.3%), 및 림프구감소증(12.2%)이었다. 가장 보편적인 중증 이상반응은 감염(20.4%) 및 CRS(12.2%)로 인한 것이었고; 어떠한 환자도 등급 ≥ 3 CRS를 경험하지 않았으며, 40% 미만의 환자는 CRS를 경험하였다. CRS는 주로 치료의 제1주 동안 발생하였고, 33%의 환자에서 등급 1이고 6%의 환자에서 등급 2였다. CRS와 용량 수준 사이에 어떠한 상관관계도 관찰되지 않았다. 어떠한 환자도 등급 ≥ 3 신경독성을 경험하지 않았다.

[0537] 객관적 반응률(ORR)은 모든 용량 수준에 걸쳐 38.8%였고(용량 수준 1 내지 3에서 29.2%, 용량 수준 4 및 5에서 41.2%, 및 용량 수준 6에서 62.5%), 반응자 중 95%는 적어도 매우 양호한 부분 반응(VGPR)을 달성하고; 42.1%는 완전 반응(CR) 또는 엄격한 CR을 가졌다. 7명 중 4명(57%)의 평가 가능한 환자는 10^{-5} 의 민감도와 함께 미세잔존 질환(MRD) 음성 상태를 달성하였다. 중앙 반응은 면역조직화학에 의해 평가되는 바와 같이 핵심 생검에서 BCMA 발현에 의해 영향을 받지 않았다. 반응자 중 총 63.2%는 ≥ 4 개월의 반응 지속 기간(DOR)을 가지며, 반응자 중 52.6%는 ≥ 6 개월의 DOR을 갖고, 반응자 중 36.8%는 ≥ 8 개월의 DOR을 가졌다. 관찰된 반응 지속 기간 중앙값은 6.01개월이었다. 반응은 초기에(대부분 제4주까지) 발생하였고, 시간이 지나면서 분명해졌다. ≥ 6 개월의 추적 관찰을 갖는 반응하는 환자 중에서, 83%(10/12)는 최대 13개월 동안 진행중인 반응을 보여주었다. 현재까지, 반응자 중 74%는 진행중인 치료를 받고 있다. 골수외 형질세포종(EMP)을 갖는 환자에서의 ORR은 14.3%인 한편, EMP가 없는 환자에서의 ORR은 20%의 완전 반응 또는 엄격한 완전 반응, 및 22.5%의 매우 양호한 부분 반응을 포함하여 45%였다. $<50\%$ 의 골수 형질세포증가증을 갖는 환자에서 ORR은 71.4%인 한편 $\geq 50\%$ 의 골수 형질세포증가증을 갖는 환자에서 ORR은 9.1%였다. $<50\%$ 의 골수 형질세포증가증을 갖는 환자 중에서, 35.7%는 엄격한 완전 반응을 달성하였고, 35.7%는 매우 양호한 부분 반응을 달성하였다. 전반적인 건강 상태/삶의 질에서의 유의미한 향상은 제4주에서 관찰되었고, 제24주까지(현재까지) 유지되었다. 중앙 반응은 면역조직화학에 의해 평가되는 바와 같이 BCMA 발현과 상관관계가 있지 않았다. 관찰된 반응의 요약은 아래 표 37에 나타낸다.

표 37

표 37: 용량 수준에 의한 효능 결과

% (n)	용량 수준 1, 2, 3 (3, 6, 12 mg; n=24)	용량 수준 4, 5 (24, 48 mg; n=17)	용량 수준 6 (96 mg; n=8)
전체 반응률 (ORR)	29% (7)	41% (7)	63% (5)
완전 반응 (CR) 또는 엄격한 CR (sCR)	21% (5)	18% (3)	0% (0)
매우 양호한 부분 반응 (VGPR)	4% (1)	24% (4)	63% (5)
부분 반응 (PR)	4% (1)	0% (0)	0% (0)

[0538]

[0539]

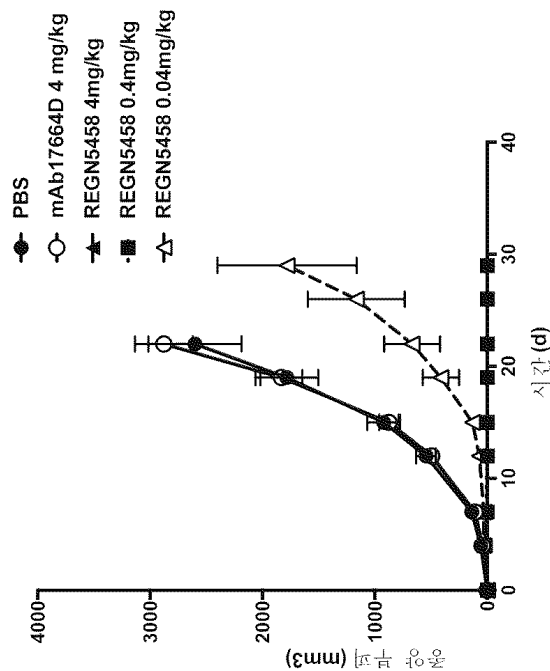
그러므로, 본원에 기재된 이중특이적 항체가, 분할 용량으로서(예를 들어, 제1주 및 제2주 동안) 또는 단일 주입으로서(예를 들어, 제3주 그리고 이후에) 매주 투여되는 적어도 3 mg의 용량에서, 다발성 골수종과 같이 BCMA-발현 암을 앓고 있는 인간 시험대상자, 특히 선행 요법에 불응성(예를 들어, 트리플-불응성, 쿼드-불응성, 또는 펜타-불응성)이고 선행 요법 후에 재발된 인간 시험대상자를 치료하는 데 사용될 수 있는 것은 타당하다.

[0540]

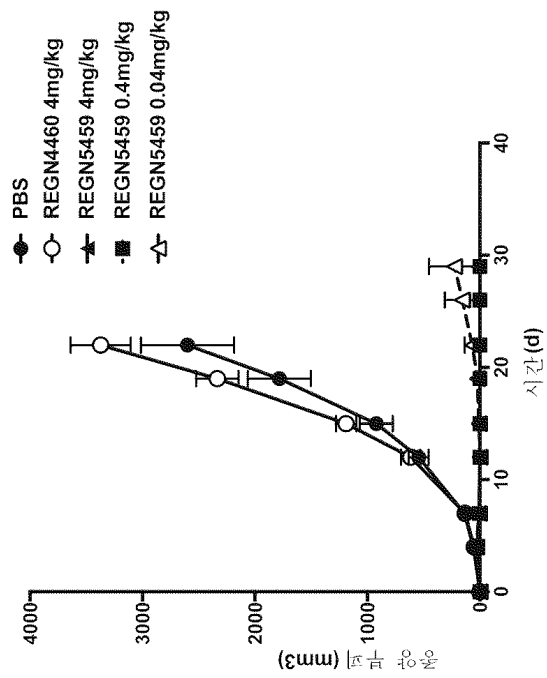
본 발명은 그 범위가 본원에 설명된 구체적인 구현예에 의해 제한되지 않는다. 사실상, 본원에 설명된 것에 더해 본 발명의 다양한 변형은 상기 설명에서 당업자에게 명확해질 것이다. 그러한 변형은 첨부된 청구항의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

도면

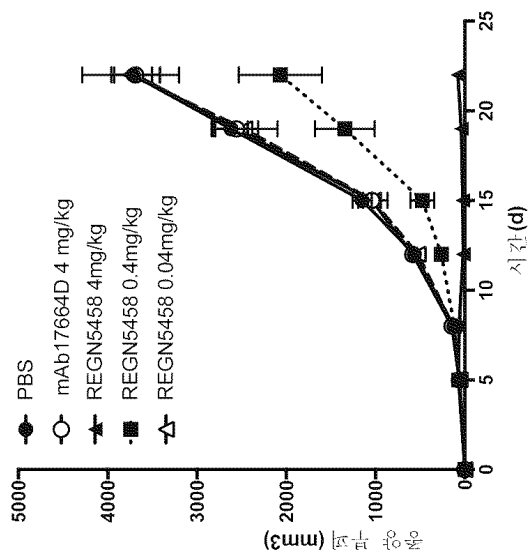
도면1



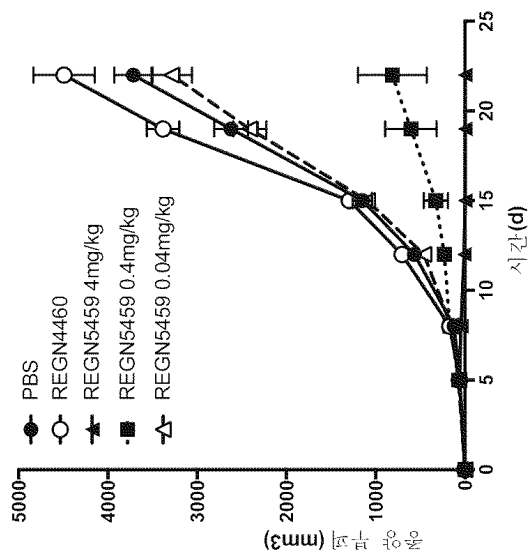
도면2



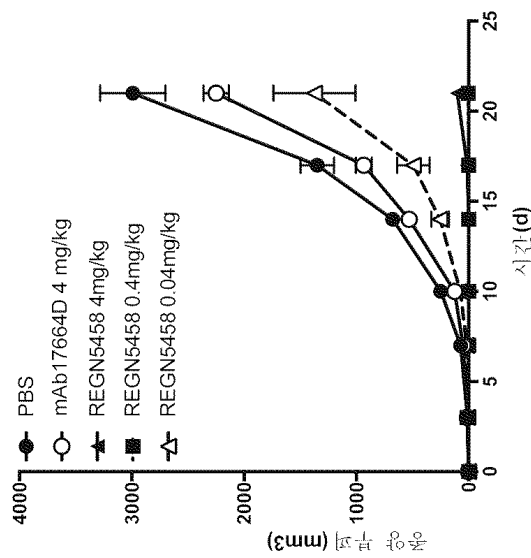
도면3



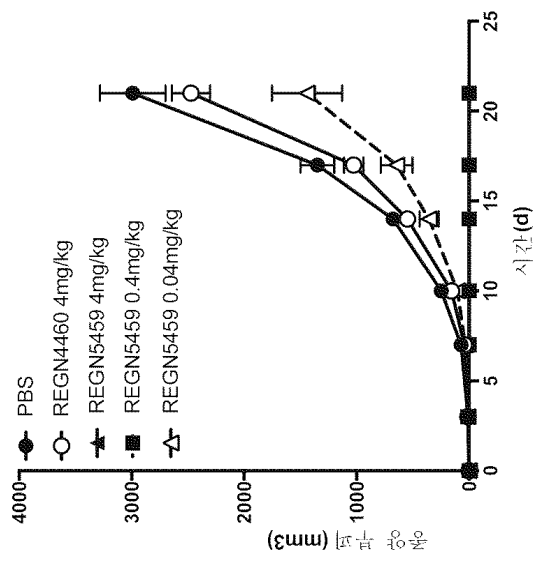
도면4



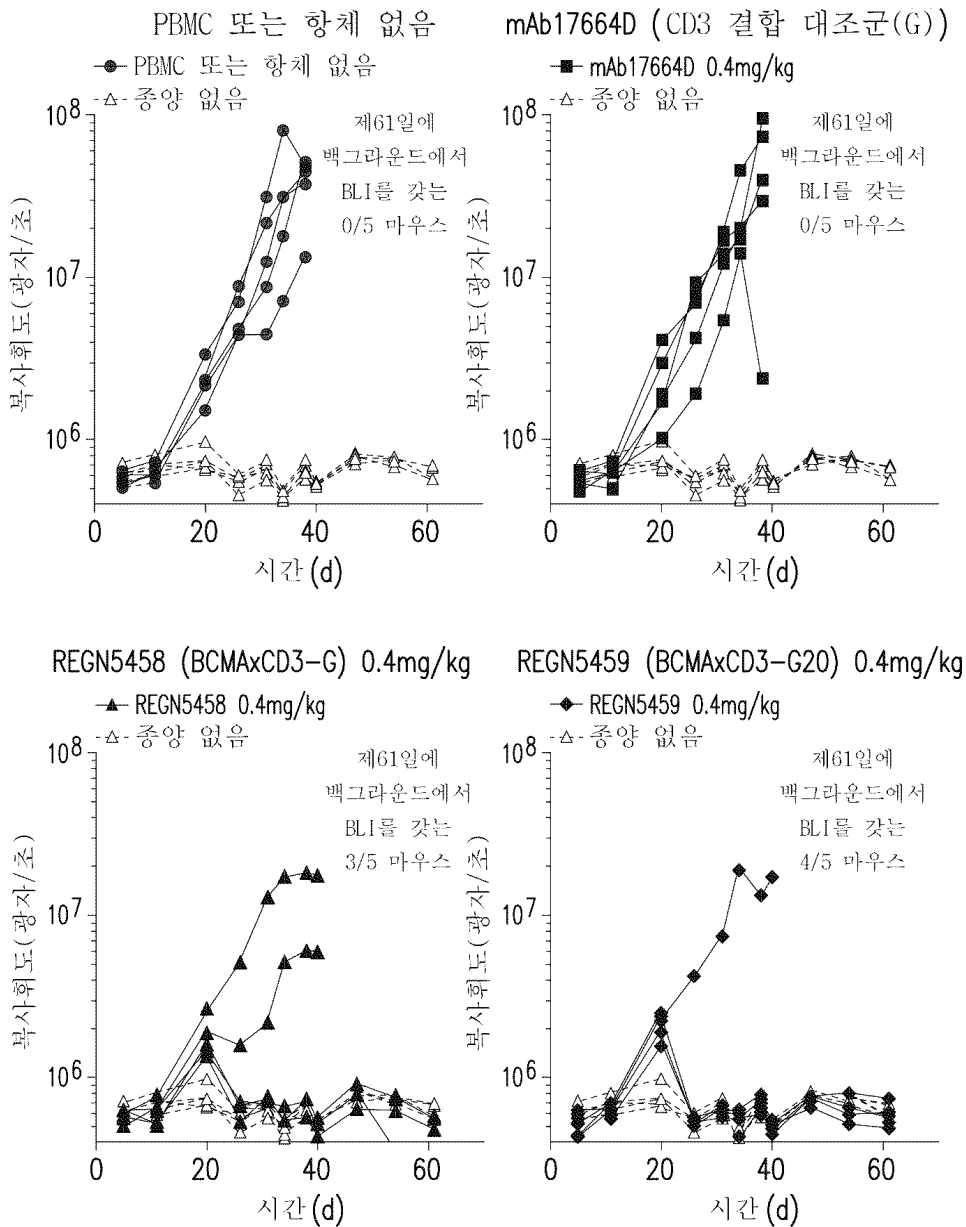
도면5



도면6



도면7



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> METHODS OF TREATING MULTIPLE MYELOMA WITH BISPECIFIC ANTI-BCMA X ANTI-CD3 ANTIBODIES

<130> 10702W001

<150> 62/944,589

<151> 2019-12-06

<150> 63/055,085

<151> 2020-07-22

<150> 63/057,769

<151> 2020-07-28

<160> 132

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 1

caggtgcagc tgggtggagtc ggggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatggca ttcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atattacatg atggaagtag taactactat 180
gcagagtccg tgaagggccg attcatcatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctctat attactgtac gaaaaggat 300
tcagaagcag ctggcccaaa ttggttcgac ccctggggcc agggaaacct ggtcacccgc 360
tcctca 366

<210> 2

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 2

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

1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu
Ser	Cys	Ala	Ala
Ser	Gly	Phe	Thr
Phe	Ser	Thr	Tyr
20	25	30	
Gly	Ile	His	Trp
Val	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Gly
Leu	Glu	Trp	Val
35	40	45	
Ala	Val	Ile	Leu
His	Asp	Gly	Ser
Ser	Asn	Tyr	Tyr
Ala	Glu	Ser	Val
50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe
Ile	Ile	Ser	Arg
Asp	Asn	Ser	Lys
Asn	Thr	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
 Thr Lys Arg Tyr Ser Glu Ala Ala Gly Pro Asn Trp Phe Asp Pro Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 3

ggattcacct tcagtaccta tggc 24
 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly
 1 5
 <210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 5

atattacatg atggaagtag taac 24
 <210> 6
 <211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 6

Ile Leu His Asp Gly Ser Ser Asn

1 5

<210> 7

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 7

acgaaaaggt attcagaagc agctggccca aattgggtcg acccc 45

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 8

Thr Lys Arg Tyr Ser Glu Ala Ala Gly Pro Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 9

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc gggaattagc agctgggttag cctggtatca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagtcct gatccatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg ctacttacta ttgtcaacag gctatcagtt tccattcac ttteggccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ile Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 11

cggggaatta gcagctgg

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 12

Arg Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 13

gctgcatcc

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 14

Ala Ala Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 15

caacaggcta tcagtttccc attcact

27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 16

Gln Gln Ala Ile Ser Phe Pro Phe Thr

1

5

<210> 17

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 17

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgtca tgagttgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg gactggagtg ggtctcagct attattggta gtggtggttag cacatattac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaagagcc 300

ggggataact ggaactggtt cgaccctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 18

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 18

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

1

5

10

15

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

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

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 19

ggattcacct ttagcagcta tgtc

24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val

1 5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 21
 attattggta gtggtggtag caca 24
 <210> 22
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 22
 Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ser Thr
 1 5
 <210> 23
 <211> 39

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 23
 gcgaaaagag ccggggataa ctggaactgg ttcgacccc 39
 <210> 24
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 24
 Ala Lys Arg Ala Gly Asp Asn Trp Asn Trp Phe Asp Pro
 1 5 10
 <210> 25
 <211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 25

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctttaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc gggatttagc agctggtag cctggatatca gcggaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtgatc tggggcggat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaaaagtg tccattcac ttccggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 26

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

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Ser Val Pro Phe

85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 27
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 27
 cagggtatta gcagctgg 18
 <210> 28
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 28
 Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 1 5
 <210> 29
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 29
 gctgcatcc 9
 <210> 30
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 30
 Ala Ala Ser
 1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 31

caacaggcta aaagtgtccc attcact

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 32

Gln Gln Ala Lys Ser Val Pro Phe Thr

1

5

<210> 33

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 33

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cgggcaagct 120

ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggc atcagttgga atagtggtaa catgggatat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttc 240

ctgcaaatgc acagtttgag agctgaggac acggcctttt attactgtgc aaaagtcctg 300

ctaactgcct ttgacttttg gggccaggga accctgggtca ccgtctctc a 351

<210> 34

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asn Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met His Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Arg Leu Thr Ala Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 35

ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 37

atcagttgga atagtggtaa catg 24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 38

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asn Met

1 5

<210> 39

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 39

gcaaaaagtcc gtctaactgc ctttgacttt 30

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 40

Ala Lys Val Arg Leu Thr Ala Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 41

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 41

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggacaagtc gagcattggc aactatttaa attggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct catctatact gcatccagtt tgcagaatgg agtcccatca 180
aggttcactg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaggattttg taatttacta ctgtcaacag agtttcagta cccgtatac ttttgccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 42

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Gly Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Val Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 43

cagagcattg gcaactat 18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 44

Gln Ser Ile Gly Asn Tyr

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 45

actgcatcc 9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 46

Thr Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 47

caacagagtt tcagtacccc gtatact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 48

Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 49

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 49

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tcagctggat ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagttcta gtggtagttc cataaagtac 180

gcagactctg tgaaggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagaggga 300
 gggaactacg gtatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ile Lys Tyr Ala 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Gly Asn Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 51
 ggattcacct tcagtgacta ctac 24
 <210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 52
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
 1 5
 <210> 53
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 53
 attagttcta gtggtagttc cata 24
 <210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 >
 <223> synthetic
 <400> 54
 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ile
 1 5
 <210> 55
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic

<400> 55

gcgagagagg gaggaacta cggatatggac gtc

33

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 56

Ala Arg Glu Gly Gly Asn Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 57

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 57

gacatccaga tgaccagtc tccatcttc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc gggatattaac aactggtag tctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcaaccagct tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctccac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 58

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

1 5 10 15

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 59

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 59

cagggtatta acaactgg

18

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 60

Gln Gly Ile Asn Asn Trp

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 61

gctgcaacc

9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 62

Ala Ala Thr

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 63

caacaggcta acagtttccc tccact

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 64

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr

1

5

<210> 65

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 65

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aacttttga tgacctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtggccaac atgaaccaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagag ctcaactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
gaatatgtga ttagtaccag ctgctatgat gactttgact actggggcca gggaaccctg 360
gtcacctct cctca 375

<210> 66

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 66

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

1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu
Ser	Cys	Ala	Ala
Ser	Gly	Phe	Thr
Phe	Ser	Asn	Phe
20	25	30	
Trp	Met	Thr	Trp
Val	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Gly
Leu	Glu	Trp	Val
35	40	45	
Ala	Asn	Met	Asn
Gln	Asp	Gly	Ser
Glu	Lys	Tyr	Tyr
Val	Asp	Ser	Val
50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe
Thr	Ile	Ser	Arg
Asp	Asn	Ala	Lys
Ser	Ser	Leu	Tyr
65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn
Ser	Leu	Arg	Ala
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
85	90	95	
Ala	Arg	Asp	Arg
Glu	Tyr	Cys	Ile
Ser	Thr	Ser	Cys
Tyr	Asp	Asp	Phe
100	105	110	
Asp	Tyr	Trp	Gly
Gln	Gly	Thr	Leu
Val	Thr	Val	Ser
Ser			

115	120	125
<210> 67		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<		
223> synthetic		
<400> 67		
ggattcacct ttagtaactt ttgg		24
<210> 68		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 68		
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Trp		
1 5		
<210> 69		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 69		
atgaaccaag atggaagtga gaaa		24
<210> 70		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223>		
synthetic		
<400> 70		

Met Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 71

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 71

gcgagagatc ggggaatattg tattagtacc agctgctatg atgactttga ctac 54

<210> 72

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 72

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

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 73

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtc gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcatagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa

324

<210> 74

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 74

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 75

cagagcatta gcagctat

18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 76

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 77

gctgcatcc

9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 78

Ala Ala Ser

1

<210> 79

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 79

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 80

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 80

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 81

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 81

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 82

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 82

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 83

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 83

cagagcatta gcagctat 18

<210> 84

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 84

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 85

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 85

gctgcatcc 9

<210> 86

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 86

Ala Ala Ser

1

<210> 87

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 87

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 88

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 89

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 89

gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60

agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggtagcgagg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
 gccgacagcg tgaagggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240

cttcaaatga acitctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta tcattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 90

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys Gly Tyr Ala 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 Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 91

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 91

gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 92

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser

1 5

<210> 93

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 93

atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 94

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys

1 5

<210> 95

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 95

gcaaaatacgcgcagtgggttatggcaagttttatcattatggactggacgtg51

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 96

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp

1 5 10 15

Val

<210> 97

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 97

gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60

agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120

cctggtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180

gccgacagcg tgaagggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240

cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300

agtggttatg gcaagtttta ttattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360

acagtgagta gc 372

<210> 98

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala 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 Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 99

<211>

> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 99

gggtttacat tgcacgatta cagc

24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser

1 5

<210> 101

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 101

atatcatgga actcaggaag catc

24

<210> 102

<211>

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 102

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile

1 5

<210> 103

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 103

gcaaaatagc gcagtggta tggcaagttt tattattatg gaatggacgt g

51

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 104

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 105

<211> 249

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hBCMA ecto.mmh

<400> 105

atgttgcaga tggctgggca gtgctcccaa aatgaatatt ttgacagttt gttgcatgct 60
tgcatacctt gtcaacttcg atgttcttct aatactcttc ctctaacatg tcagcggttat 120
tgtaatgcaa gtgtgaccaa ttccagtgaag ggaacgaatg cggaacaaaa actcatctca 180
gaagaggatc tgggtggaga acaaaaactc atctcagaag aggatctgca ccatcaccat 240
caccattga 249

<210> 106

<211> 82

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hBCMA ecto.mmh

<400> 106

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser

35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

50 55 60
Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His
65 70 75 80
His His

<210> 107

<211> 864

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hBCMA ecto.mFc

<400> 107

atgttcgaga ttgctgggca gtgctcccaa aatgaatatt ttgacagttt gttgcatgct 60
tgcataacctt gtcaacttcg atgttcttct aatactcctc ctctaactg tcagcggtat 120
tgtaatgcaa gtgtgaccaa ttcagtgaag ggaacgaatg cggagcccag agggcccaca 180

atcaagccct gtctccatg caaatgccca gcacctaacc tcttgggtgg accatccgtc 240
ttcatcttcc ctccaaagat caaggatgta ctcatgatct ccctgagccc catagtcaca 300
tgtgtgggtg ttgatgtgag cgaggatgac ccagatgtcc agatcagctg gtttgtgaac 360
aacgtggaag tacacacagc tcagacacaa acccatagag aggattacaa cagtactctc 420
cgggtgggtc gtgccctccc catccagcac caggactgga tgagtggtcaa ggagtcaaa 480
tgcaagggtc acaacaaaga cctcccagcg cccatcgaga gaaccatctc aaaacccaaa 540
gggtcagtaa gagctccaca ggtatatgtc ttgcctccac cagaagaaga gatgactaag 600
aaacaggtc ctctgacctg catggtcaca gacttcatgc ctgaagacat ttactggag 660

tggaccaaca acgggaaaac agagctaaac tacaagaaca ctgaaccagt cctggactct 720
gatggttctt acttcatgta cagcaagctg agagtggaaa agaagaactg ggtggaaaga 780
aatagctact cctgttcagt ggtccacgag ggtctgcaca atcaccacac gactaagagc 840
ttctcccga ctccgggtaa atga 864

<210> 108

<211> 287

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hBCMA ecto.mFc

<400> 108

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
50 55 60

Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
65 70 75 80

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
85 90 95

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
100 105 110

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
115 120 125

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
130 135 140

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
145 150 155 160

Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile
165 170 175

Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
180 185 190

Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
195 200 205

Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn
210 215 220

Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser
 225 230 235 240
 Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
 245 250 255
 Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
 260 265 270

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 275 280 285

<210> 109

<211> 246

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mBCMA ecto.mmh

<400> 109

atgttgacaga tggctcggca gtgctcccaa aatgaatatt ttgacagttt gttgcatgat 60
 tgcaaacctt gtcaacttcg atgttctagt actcctctc taacatgtca gcgttattgc 120
 aatgcaagta tgaccaattc agtgaaagga atgaatgcgg aacaaaaact catctcagaa 180
 gaggatctgg gtggagaaca aaaactcatc tcagaagagg atctgcacca tcaccatcac 240

cattga 246

<210> 110

<211> 81

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mBCMA ecto.mmh

<400> 110

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

35

40

45

Lys Gly Met Asn Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly

50

55

60

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

65

70

75

80

His

<210> 111

<211> 861

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mFBCMA ecto.mFc

<400> 111

atgttgacaga tggctcggca gtgctcccaa aatgaatatt ttgacagttt gttgcatgat 60
tgcaaacctt gtcaacttcg atgttctagt actcctcttc taacatgtca gcgttattgc 120

aatgcaagta tgaccaattc agtgaaagga atgaatgcgg agcccagagg gccacaatc 180
aagccctgtc ctccatgcaa atgccagca cctaacctct tgggtggacc atccgtcttc 240
atcttccctc caaagatcaa ggatgtactc atgatctccc tgagcccat agtcacatgt 300
gtggtggtgg atgtgagcga ggatgaccca gatgtccaga tcagctggtt tgtgaacaac 360
gtggaagtac acacagctca gacacaaacc catagagagg attacaacag tactctccgg 420
gtggtcagtg ccttccccat ccagcaccag gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc 480
aaggtcaaca acaaagacct ccagcgcgcc atcgagagaa ccatctcaaa acccaaaggg 540
tcagtaagag ctccacaggt atatgtcttg cctccaccag aagaagagat gactaagaaa 600

caggtcactc tgacctgcat ggtcacagac ttcatgcctg aagacattta cgtggagtgg 660
accaacaacg ggaaaacaga gctaaactac aagaacctg aaccagtcct ggactctgat 720
ggttcttact tcatgtacag caagctgaga gtggaaaaga agaactgggt ggaaagaaat 780
agctactcct gttcagtggc ccacagggt ctgcacaatc accacacgac taagagcttc 840
tcccggactc cgggtaaatg a 861

<210> 112

<211> 286

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> mFBCMA ecto.mFc

<400> 112

Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro

20 25 30

Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val

35 40 45

Lys Gly Met Asn Ala Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

65 70 75 80

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr

115 120 125

Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala

130 135 140

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys

145 150 155 160

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser

165 170 175

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro

180 185 190

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val

195 200 205

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly

210 215 220
 Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
 225 230 235 240
 Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp
 245 250 255
 Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His

260 265 270
 Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

275 280 285

<210> 113

<211> 849

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mouse BCMA ecto domain with mouse Fc

<400> 113

atggcgcaac agtgtttcca cagtgaatat ttgacagtc tgctgcatgc ttgcaaaccg 60
 tgtcacttgc gatgttccaa cctcctgca acctgtcagc cttactgtga tccaagcgtg 120
 accagttcag tgaaggagac gtacacggag ccagagggc ccacaatcaa gccctgtcct 180

ccatgcaaat gccacgacc taacctcttg ggtggacat ccgtcttcat cttccctcca 240
 aagatcaagg atgtactcat gatctcctg agcccatag tcacatgtgt ggtgggtggat 300
 gtgagcgagg atgaccaga tgtccagatc agctggtttg tgaacaacgt ggaagtacac 360
 acagctcaga cacaaccca tagagaggat tacaacagta ctctccgggt ggtcagtgcc 420
 ctcccatcc agcaccagga ctggatgagt ggcaaggagt tcaaatgcaa ggtcaacaac 480
 aaagacctcc cagcgcccat cgagagaacc atctcaaac ccaaagggtc agtaagagct 540
 ccacaggtat atgtcttgcc tccaccagaa gaagagatga ctaagaaaca ggtcactctg 600
 acctgcatgg tcacagactt catgcctgaa gacatttacg tggagtggac caacaacggg 660

aaaacagagc taaactacaa gaacactgaa ccagtcttgg actctgatgg ttcttacttc 720
 atgtacagca agctgagagt ggaaaagaag aactgggtgg aaagaaatag ctactcctgt 780
 tcagtgtgcc acgaggtct gcacaatcac cacacgacta agagcttctc ccggactccg 840
 ggtaaatga 849

<210> 114

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mouse BCMA ecto domain with mouse Fc

<400> 114

Met Ala Gln Gln Cys Phe His Ser Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His
1 5 10 15

Ala Cys Lys Pro Cys His Leu Arg Cys Ser Asn Pro Pro Ala Thr Cys
20 25 30

Gln Pro Tyr Cys Asp Pro Ser Val Thr Ser Ser Val Lys Gly Thr Tyr
35 40 45

Thr Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
50 55 60

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
65 70 75 80

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
85 90 95

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
100 105 110

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
115 120 125

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
130 135 140

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
145 150 155 160

Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
165 170 175

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
180 185 190

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met

195					200					205					
Pro	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu	Leu
210					215					220					
Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Glu	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe
225					230					235					240
Met	Tyr	Ser	Lys	Leu	Arg	Val	Glu	Lys	Lys	Asn	Trp	Val	Glu	Arg	Asn
245					250					255					
Ser	Tyr	Ser	Cys	Ser	Val	Val	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn	His	His	Thr
260					265					270					

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
275 280

<210> 115

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> human BCMA (TNFRSF17) Protein NP_001183.2

<400> 115

Met	Leu	Gln	Met	Ala	Gly	Gln	Cys	Ser	Gln	Asn	Glu	Tyr	Phe	Asp	Ser
1				5					10					15	
Leu	Leu	His	Ala	Cys	Ile	Pro	Cys	Gln	Leu	Arg	Cys	Ser	Ser	Asn	Thr
			20					25					30		
Pro	Pro	Leu	Thr	Cys	Gln	Arg	Tyr	Cys	Asn	Ala	Ser	Val	Thr	Asn	Ser

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

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

165 170 175
 Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
 180

<210> 116

<211> 207

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> human CD3 Epsilon Protein (>NP_000724.1 T-cell

surface glycoprotein CD3 epsilon chain precursor

<400> 116

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
 1 5 10 15
 Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr

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

85 90 95
 Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu

100 105 110
 Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
 115 120 125
 Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
 130 135 140
 Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys

 145 150 155 160
 Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
 165 170 175
 Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
 180 185 190
 Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
 195 200 205
 <210> 117
 <211> 171
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> human CD3 Delta Protein (>NP_000723.1 T-cell
 surface glycoprotein CD3 delta chain isoform A
 precursor
 <400> 117
 Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
 20 25 30
 Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
 35 40 45

 Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
 50 55 60
 Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
 65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85 90 95
Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
100 105 110

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

<210> 118

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> human CD3 Zeta Protein (>NP_932170.1 T-cell
surface glycoprotein CD3 zeta chain isoform 1
precursor

<400> 118

Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu
1 5 10 15
Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys
20 25 30
Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala
35 40 45
Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
50 55 60
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
65 70 75 80
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met

85 90 95
Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn

100 105 110
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

115 120 125
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

130 135 140
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

145 150 155 160
Leu Pro Pro Arg

<210> 119

<211> 182

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> human CD3 Gamma Protein (>NP_000064.1 T-cell
surface glycoprotein CD3 gamma chain precursor

<400> 119

Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu
1 5 10 15

Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys
20 25 30

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

35 40 45
Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe

50 55 60
Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp

65 70 75 80
Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro

85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala

100 105 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val

115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln

130 135 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr

145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly

165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn

180

<210> 120

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human BCMA ecto.hFc Protein

<400> 120

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser

35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

275 280

<210> 121

<211> 43

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Peptides 1-43 of human BCMA

<400> 121

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala

35 40

<210> 122

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 21587N VH

<400> 122

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Ala Thr Ser Arg Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Phe Ala Glu Tyr Cys Gly Gly Asn Ile Cys Tyr Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 123

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 21587N VL (Non-germline Cys in CDR3)

<400> 123

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Ser
 20 25 30
 Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Leu
 35 40 45
 Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Cys Gly Gly Ser Pro
 85 90 95
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 124

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 21589N VH

<400> 124

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

50						55						60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Thr	Asp	Gly	Ser	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Tyr	
65						70					75						80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90						95	
Ala	Arg	Thr	Val	Tyr	Asp	Leu	Asn	Ser	Lys	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	
					100					105					110		
Gly	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
					115					120					125		

<210> 125

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> 21589N VL

<400> 125

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

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

<210> 126

<211> 451

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> bsAb25441D and bsAb25442D anti-BCMA Heavy Chain

<400> 126

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ala Asn Met Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
210 215 220

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

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

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly Lys

450

<210> 127

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> bsAb25441D anti-CD3 Heavy Chain

<400> 127

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

1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu
Ser	Cys	Ala	Ala
Ser	Gly	Phe	Thr
Phe	Asp	Asp	Tyr
20	25	30	
Ser	Met	His	Trp
Val	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Gly
Leu	Glu	Trp	Val
35	40	45	
Ser	Gly	Ile	Ser
Trp	Asn	Ser	Gly
Ser	Lys	Gly	Tyr
Ala	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	Lys	Tyr	Gly	Ser	Gly	Tyr	Gly	Lys	Phe	Tyr	His	Tyr	Gly	Leu	Asp
100	105	110													
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
115	120	125													
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu
130	135	140													
Ser	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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn		
195	200	205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser		
210	215	220
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 128

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> bsAb25442D anti-CD3 Heavy Chain

<400> 128

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala 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 Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

115 120 125

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

130 135 140

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

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

 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 129
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> bsAb25441D and bsAb25442D Common Light Chain

<400> 129

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu 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> 130
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> bsAb25441D and bsAb25442D anti-BCMA Heavy Chain Constant Region
 <400> 130

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 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 Gln 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 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu 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
 Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln 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 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys
 325

<210> 131

<211> 326

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> bsAb25441D and bsAb25442D anti-CD3 Heavy Chain Constant Region

<400> 131

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 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 Gln 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 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu 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
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln 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 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325
 <210> 132
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> bsAb25441D and bsAb25442D Common Light Chain Constant Region

 <400> 132
 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