



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0067732
 (43) 공개일자 2017년06월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/39558 (2013.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7008164
- (22) 출원일자(국제) 2015년09월15일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년03월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2015/071069
- (87) 국제공개번호 WO 2016/041945
 국제공개일자 2016년03월24일
- (30) 우선권주장
 62/050,948 2014년09월16일 미국(US)
 (뒷면에 계속)

- (71) 출원인
이나뜨 파르마, 에스.아.
 프랑스 에프-13009 마르세유 아베뉴 드 루미니 117
- (72) 발명자
앙드레, 빠스칼
 프랑스공화국, 에프-13006 마르세이유, 뤼 드 라 루비에르 38
블레리, 마띠유
 프랑스공화국, 에프-13009 마르세이유, 블르바르 뒤 배쑈 50, 레 오 드 마자르그 베떼 데4
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인오리진

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 **립프구에서의 억제 경로의 중화**

(57) 요약

본 발명은 인간 PD-1에 결합하고 이를 억제하는 화합물과 병용하여 인간 NKG2A에 특이적으로 결합하고 이를 억제하는 화합물을 사용하는 질병의 치료, 예방 및 진단 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 NKG2A+PD1+ 중앙 침윤 NK 및/또는 CD8 T 세포를 확인하기 위한 검정에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2818 (2013.01)
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

빠뛰렐, 까린

프랑스공화국, 에프-69280 마르씨 레뚜알르, 알레
뒤 부와, 411

와그만, 니폴라이

프랑스공화국, 에프-13260 까씨쓰, 아브뉴 조셉 리
오토 16

(30) 우선권주장

62/083,929 2014년11월25일 미국(US)
62/093,141 2014년12월17일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 환자에서 암의 치료에 이용하기 위한 인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 작용제로서, 상기 치료가 유효량의 각각의 (a) 인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 작용제, 선택적으로 항체, 및 (b) 인간 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 작용제, 선택적으로 항체를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 작용제.

청구항 2

항-NKG2A 항체 및 항-PD1, 항-PDL1 항체 및/또는 항-PDL2 항체를 개체에 동시-투여하는 단계를 포함하는, 개체에서의 NKG2A+/PD1+ CD8+ T 세포의 활성화 방법.

청구항 3

인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 적어도 2회 용량의 항체가 그의 투여 후 적어도 1주 동안 적어도 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여되는 제1항의 용도 또는 제2항의 방법을 위한 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 적어도 하나의 투여 사이클을 포함하며, 선택적으로, 상기 사이클이 8주의 기간이며, 각 사이클에 있어서, 인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는, 2, 3 또는 4회 용량의 항체가 투여되고, PD-1 항체의 억제 활성을 중화시키는, 2, 3 또는 4회 용량의 항체가 투여되는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체 및 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체가 개별 투여를 위해 제형화되고, 동시에 또는 순차적으로 투여되는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체 및 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체가 제형화되고, 단일의 제형으로 동시에 투여되는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체 및 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체가 제형화되고, 동일한 날에 동시에 투여되는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 암이 혈액학적 종양인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 암이 폐암, 신장 세포 암종(RCC), 흑색종, 대장암 및 난소암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 11

제8항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 HLA-E-발현 암인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체가 SEQ ID NO: 4 내지 8 중 어느 하나에 기재된 서열을 갖는 중쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 경쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체가 PD-1 폴리펩티드에 결합하는 항체인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체가 PD-L1 폴리펩티드에 결합하는 항체인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 키메라, 인간 또는 인간화 항체인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 상기 항체가 비-고갈 항체인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1의 억제 활성을 중화시키는 상기 항체가 비-고갈 항체인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 IgG4 항체인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 Fc 도메인이 결여되거나, Fc 도메인과 Fc γ 수용체 사이의 결합을 감소시키도록 변형된 Fc 도메인을 포함하는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 항체 단편인, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 항체 단편이 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 디아바디(diabody), 단쇄 항체 단편 또는 다수의 상이한 항체 단편을 포함하는 다중특이적 항체로부터 선택되는, 용도 또는 방법을 위한 화합물.

청구항 22

NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 작용제, 선택적으로 항체, PD-1의 억제 활성을 중화시키는 작용제, 선택적으로 항체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 23

(a) NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 소정의 용량의 작용제, 선택적으로 항체, 및 (b) PD-1의 억제 활성을 중화시키는 소정의 용량의 작용제, 선택적으로 항체를 포함하는 키트.

청구항 24

(a) NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 유효량의 항체를 함유하는 단일-용량 약제학적 조성물의 다수의 패키지, 및 (b) PD-1의 억제 활성을 중화시키는 유효량의 항체를 함유하는 단일-용량 약제학적 조성물의 다수의 패키지를 포함하는 키트.

청구항 25

개체에서 NKGA+ PD-1+ 림프구, 선택적으로 CD8+ T 세포의 조절에 사용하기 위한 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체로서, 상기 방법이 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 유효량의 작용제, 선택적으로 항체, 및 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 작용제, 선택적으로 항체를 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 항체.

청구항 26

종양 침윤 림프구를 포함하는 생물학적 시료를 제공하는 단계 및 림프구가 NKG2A 및 PD-1을 발현하는지 여부를 결정하는 단계를 포함하는, NKG2A+ PD-1+ 림프구, 선택적으로 NK 또는 CD8+ T 세포의 시험관내 검출 방법.

청구항 27

림프구의 표면에서 NKG2A 및 PD-1을 발현하는 림프구가 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체 및 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체와 접촉되게 하는 단계를 포함하는 NKG2A+ PD-1+ 림프구, 선택적으로 CD8+ T 세포의 활성의 시험관내 조절 방법.

청구항 28

개체에서의 암의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체로서, 상기 치료가

- a) 암을 갖는 상기 개체 내의 악성 세포의 HLA-E 폴리펩티드 상태를 결정하는 단계, 및
- b) HLA-E 폴리펩티드가 악성 세포(예를 들어, 종양 세포)에 의해(예를 들어, 그의 표면 상에서) 주로 발현된다는 결정시에, 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 항체.

청구항 29

개체에서의 암의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체로서, 상기 치료가

- a) 상기 개체로부터의 종양 침윤 림프구의 NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드 상태를 결정하는 단계, 및
- b) NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드가 상기 개체로부터의 유의미한 비의 종양 침윤 림프구의 표면 상에서 발현된다는 결정시에, (i) 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 (ii) 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 포함하는 치료적 요법제를 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 항체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 관한 상호-참조**

[0002] 본 출원은 2014년 9월 16일에 출원된 미국 가출원 제62/050,948호; 2014년 11월 25일에 출원된 제62/083,929호; 및 2014년 12월 17일에 출원된 제62/093,141호의 이익을 주장하며, 이들 모두는 임의의 도면을 포함하는 그들 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **서열 목록에 관한 참조**

[0004] 본 출원은 전자 형식의 서열 목록과 함께 출원된다. 서열 목록은 크기가 38 KB이고, 2015년 9월 15일에 생성된 명칭이 "NKG2A-PD1_ST25"인 파일로 제공된다. 전자 형식의 서열 목록 내의 정보는 그의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 발명은 암의 치료를 위한 NKG2A-중화제 및 PD-1 중화제의 병용에 관한 것이다.

배경 기술

- [0007] NK 세포 활성화는 활성화 및 억제 신호 둘 모두를 수반하는 복잡한 메커니즘에 의해 조절된다. NK 세포 매개의 인식 및 HLA 부류 I 결핍 표적 세포의 사멸에 중요한 역할을 수행하는 몇몇의 별개의 NK-특이적 수용체가 확인되었다. 자연 세포독성 수용체(NCR)는 NK 세포에서 특이적으로 발현되는 활성화 수용체 단백질 및 그들을 발현하는 유전자의 부류를 지칭한다. NCR의 예는 NKp30, NKp44 및 NKp46(예를 들어, 전체 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 문헌[Lanier (2001) Nat Immunol 2:23-27], 문헌[Pende et al. (1999) J Exp Med. 190:1505-1516], 문헌[Cantoni et al. (1999) J Exp Med. 189:787-796], 문헌[Sivori et al (1997) J. Exp. Med. 186:1129-1136], 문헌[Pessino et al. (1998) J Exp Med. 188(5):953-60]; 문헌[Mandelboim et al. (2001) Nature 409:1055-1060] 참조)을 포함한다. 이들 수용체는 Ig 상과의 구성원이며, 특이적 mAb에 의해 유도되는 그들의 교차-결합은 강력한 NK 세포 활성화를 야기하여, 증가된 세포내 Ca⁺⁺ 수준, 세포독성의 촉발 및 림프카인 분비 및 많은 유형의 표적 세포에 대한 NK 세포독성의 활성화를 초래한다.
- [0008] CD94/NKG2A는 림프구의 서브셋에서 관찰되는 억제 수용체이다. CD94/NKG2A는 CD94/NKG2A-리간드 HLA-E를 발현하는 세포에 대한 특정 림프구의 사이토카인 방출 및 세포독성 반응을 제한한다(예를 들어, W099/28748호 참조). 또한, HLA-E는 특정 종양 세포(문헌[Derre et al., J Immunol 2006;177:3100-7]) 및 활성화 내피 세포(문헌[Coupeil et al., Blood 2007;109:2806-14])에 의해 가용성 형태로 분비되는 것으로 관찰되었다. CD94/NKG2A 신호전달을 억제하는 항체는 HLA-E 양성 표적 세포를 향한 림프구의 사이토카인 방출 및 세포용해 활성, 예를 들어, HLA-E 발현 종양 세포 또는 바이러스 감염 세포를 향한 CD94/NKG2A-양성 NK 세포의 반응을 증가시킬 수 있다. 따라서, CD94/NKG2A를 억제하지만, CD94/NKG2A-발현 세포의 사멸을 유발하지 않는 치료적 항체(즉, 비-고갈 항체)는 암 환자에서 종양-성장의 조절을 유도할 수 있다.
- [0009] PD-1은 CD28, CTLA-4, ICOS 및 BTLA도 또한 포함하는 수용체의 CD28 과의 억제성 구성원이다. PD-1은 활성화 B 세포, T 세포 및 글수 세포에서 발현된다(문헌[Okazaki et al. (2002) Curr. Opin. Immunol. 14: 391779-82]; 문헌[Bennett et al. (2003) J Immunol 170:71 1-8]). PD-1로의 결합시에 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 알려져 있는 PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2가 확인되었다(문헌[Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027-34]; 문헌[Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2:261-8]; 문헌[Carter et al. (2002) Eur J Immunol 32:634-43]). PD-L1은 다양한 인간 암에서 풍부하다(문헌[Dong et al. (2002) Nat. Med. 8:787-9]). PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용은 종양 침윤 림프구의 감소, T-세포 수용체 매개의 증식의 감소 및 암 세포에 의한 면역 회피를 초래한다. 면역 억제는 PD-1과 PD-L1의 국소 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있으며, PD-1과 PD-L2 간의 상호작용도 또한 차단되는 경우, 효과는 상가적이다.
- [0010] PD-1 차단은 수많은 임상 시험에서 인상적인 항종양 반응을 초래한다. 그러나, 모든 환자가 항종양 반응으로의 치료에 반응하는 것이 아니며, 추가로, 일부 환자는 치료 후에 재발하는 암을 갖는다. 결과적으로, PD-1 축의 억제제로 처리된 환자에 대한 이익 개선이 해당 분야에 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] **요약**
- [0012] 본 발명은 예를 들어, 항체의 사용을 통한 억제 수용체 NKG2A 및 PD-1의 조합된 중화를 통한 항-종양 면역 반응의 개선된 증진 방법을 제공한다. CD8T 세포 및 NK 세포(주변부 내)는 NKG2A 및 PD-1 둘 모두를 발현하지 않지만, 종양 세포의 제거를 매개하는 종양 침윤 림프구가 억제 수용체 PD-1 및 억제 수용체 NKG2A 둘 모두를 발현할 수 있는 것이 관찰되었다. 또한, 항-PD1으로의 처치는 종양 침윤 림프구 상의 NKG2A 수용체의 상향조절을 야기하여, NKG2A가 PD1 축을 차단하는 작용체의 효능을 제한하는 것이도록 할 수 있다. 이들 수용체가 둘 모두 종양 침윤 림프구의 세포독성 활성을 제한할 수 있기 때문에, 항체에 의한 이들 2개 모두의 수용체의 억제 활성의 중화는 NKG2A+PD1+ 림프구가 암 세포를 효율적으로 제거할 수 있게 한다. 일 구현예에서, NKG2A+PD1+ 림프구는 세포독성 림프구, 선택적으로 CD8+ T 세포 또는 NK 세포이다.
- [0013] PD-1의 억제 활성의 중화 또는 억제는 유리하게는, 예를 들어, 그의 천연 리간드 PD-L1과의 상호작용을 차단함으로써(그리고 선택적으로, PD-1과 PD-L2 간의 상호작용을 추가로 차단함으로써) PD-L1-유도 PD-1 신호전달을 방지하는 폴리펩티드(예를 들어, 항체, Fc 도메인에 융합된 폴리펩티드, 면역부착소(immunoadhesin) 등)의 이용

을 수반할 수 있다. 일 양태에서, 폴리펩티드는 PD-1에 결합하는 항체(항-PD-1 항체)이며; 그러한 항체는 PD-1과 PD-L1 간의 상호작용 및/또는 PD-1과 PD-L2 간의 상호작용을 차단할 수 있다. 다른 양태에서, 폴리펩티드는 PD-L1에 결합하는 항체(항-PD-L1 항체)이며, PD-1과 PD-L1 간의 상호작용을 차단한다.

- [0014] 따라서, 일 구현예에서, 개체에서의 암의 치료 또는 예방 방법이 제공되며, 당해 방법은 (a) 인간 NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 치료적 유효량의 화합물 및 (b) 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 치료적 유효량의 화합물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 암은 고형 종양이다. 일 구현예에서, 인간 NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체이다. 일 구현예에서, 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항-PD-1 또는 항-PDL-1 항체이다. 개체는 인간인 것으로 특정될 수 있다.
- [0015] 일 구현예에서, 개체에서의 CD8+ 종양-침윤 T 세포의 활성화 또는 그의 활성의 강화 방법이 제공되며, 당해 방법은 (a) 인간 NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 치료적 유효량의 화합물 및 (b) 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 치료적 유효량의 화합물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 개체에서의 종양-침윤 NK 세포의 활성화 또는 그의 활성의 강화 방법이 제공되며, 당해 방법은 (a) 인간 NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 치료적 유효량의 화합물 및 (b) 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 치료적 유효량의 화합물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0016] 일 양태에서, NKG2A의 억제 활성을 중화시키는 항체 및 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체의 조합을 투여하는 단계를 포함하는 치료가 제공된다.
- [0017] 일 양태에서, 인간 NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 항체 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 항체를 포함하는 조성물이 제공된다. 일 양태에서, 조성물은 암, 선택적으로 고형 종양, 선택적으로 혈액학적 악성종양의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 것이다.
- [0018] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 인간 환자에서(생체내에서) 인간 CD94/NKG2A의 억제 활성의 중화를 초래하는 양, 예를 들어, 인간 환자에서 CD8 T 세포 및 NK 세포 상의 인간 CD94/NKG2A의 억제 활성의 중화를 초래하는 양으로 투여된다. 일 구현예에서, 인간 환자에서 인간 CD94/NKG2A의 억제 활성의 중화를 초래하는 양은(예를 들어, 항체가 PBMC 상에서 적정되는 결합 검정에서) NKG2A+ 세포의 표면 상의 NKG2A 수용체를 실질적으로 포화시키는데 필요한 최소 농도의 적어도 10배(예를 들어, 10 내지 20배, 10 내지 50배, 10 내지 100배, 20 내지 50배, 20 내지 100배, 30 내지 100배, 50 내지 100배), 선택적으로 적어도 50배, 60배, 80배 또는 100배이다. 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 인간 NKG2A로의 결합을 위해 HLA-E와 경쟁한다.
- [0019] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 적어도 하나의 투여 사이클 동안 투여되며, 투여 사이클은 항-NKG2A 항체의 적어도 제1 및 제2(및 선택적으로, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7 및/또는 제8 이상의) 투여를 포함하며, 항-NKG2A 항체는 제1 및 제2(및 선택적으로 추가의) 투여 사이에 적어도 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (또는 선택적으로 적어도 20, 30, 40 또는 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 항-NKG2A 항체의 연속(최소) 혈중 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다. 특정 연속 혈중 농도의 달성 또는 유지는 혈중 농도가 실질적으로 특정 기간(예를 들어, 2회의 항체의 투여 사이, 수 주) 동안 특정 혈중 농도 미만으로 떨어지지 않는 것을 의미하며, 다시 말하면, 혈중 농도가 특정 기간 동안 달라질 수 있지만, 특정 혈중 농도는 최소 또는 "최저(trough)" 농도를 나타낸다.
- [0020] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 투여시에(예를 들어, 투여 1 또는 2일 이내에) 약 또는 적어도 약 50, 60, 70 또는 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 선택적으로 적어도 약 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 피크 혈중 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다.
- [0021] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 항체의 투여 후에, 적어도 1주 또는 적어도 2주 동안 약 또는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 또는 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 선택적으로 적어도 약 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속(최소) 혈중 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다.
- [0022] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 2회의 연속 투여 사이에, 약 또는 적어도 약 50, 60, 70 또는 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 선택적으로 적어도 약 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속(최소) 혈중 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 투여는 시간이 약 2주, 선택적으로 약 1주 분리된다.
- [0023] 항-NKG2A 항체는 선택적으로 투여 사이클의 전체 기간 동안 특정된 바와 같은 연속(최소) 혈중 농도를 달성하는 빈도에 따라 유효량으로 투여될 수 있다.
- [0024] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 개체에서의 고형 종양의 치료를 위하여 인간 PD-1 폴리펩티드를 중화시키는 항체와 병용 투여되며, 투여 사이클은 항-NKG2A 항체의 적어도 2회의 투여를 포함하며, 항-NKG2A 항체는 2회의 연

속 투여 사이에 적어도 4 $\mu\text{g/ml}$, 선택적으로 적어도 약 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 혈관의 조직 내의(예를 들어, 종양 환경 내의) 연속(최소) 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다. 선택적으로, 항-NKG2A 항체는 투여 사이클의 전체 기간 동안 적어도 4 $\mu\text{g/ml}$, 선택적으로 적어도 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 혈관의 조직 내의(예를 들어, 종양 환경 내의) 연속(최소) 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다. 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 2회의 연속 투여 사이에 또는 투여 사이클의 기간 동안 적어도 40 $\mu\text{g/ml}$, 선택적으로 적어도 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속(최소) 혈중 농도를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다.

- [0025] 일 구현예에서, 인간 PD-1 폴리펩티드를 중화시키는 항체는 인간 환자에서(생체내에서) 인간 PD-1의 억제 활성의 중화를 초래하는 양, 예를 들어, 인간 환자에서 CD8 T 세포 및 NK 세포 상의 인간 PD-1의 억제 활성의 중화를 초래하는 양으로 투여된다. 일 양태에서, 조합은 특정 임상 투여 요법에 따라, 특히 특정 투여량으로, 그리고 특정 투여 일정에 따라 투여된다(또는 그에 따른 투여를 위한 것이다).
- [0026] 일 양태에서, NKG2A를 중화시키는 항체는 비-고갈 항체, 예를 들어, 시료에 또는 대상체에 존재하는 NKG2A-발현 세포의 수에 부정적으로 영향을 미치도록 사멸시키거나, 제거하거나, 용해시키거나, 그러한 사멸, 제거 또는 용해를 유도하지 않는 항체이다. 일 양태에서, PD-1을 중화시키는 항체는 비-고갈 항체이다. 비-고갈 항체는 예를 들어, Fc 도메인이 결여되거나, 하나 이상의 Fc γ 수용체(예를 들어, CD16)로의 최소의 결합을 갖거나, 그로의 결합을 갖지 않는 Fc 도메인을 가질 수 있다. 예에는 인간 IgG4 아이소타입 항체로부터의 불변 영역을 갖는 항체, 하나 이상의 Fc γ 수용체(예를 들어, CD16)로의 결합을 감소시키거나 철폐하도록 변형된 불변 영역을 갖는 임의의 아이소타입의 항체(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3)가 포함된다.
- [0027] 일 구현예에서, 암은 진행성 및/또는 불응성 고형 종양이다. 비제한적인 일 구현예에서, 암(예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)은 비소세포폐암(NSCLC), 신장암, 췌장 또는 식도 선암종, 유방암, 신장 세포 암종(RCC), 흑색종, 대장암 및 난소암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0028] NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 화합물(항-NKG2A 작용제)은 HLA-E-발현 세포의 사멸을 야기하는 NKG2A-발현 NK 및/또는 T 세포의 능력을 증가시키는 화합물이다. 선택적으로, NKG2A 폴리펩티드를 억제하는 화합물은 NKG2A 폴리펩티드에 결합하는 폴리펩티드, 선택적으로 항체(예를 들어, 모노클로날 항체)이다.
- [0029] 일 구현예에서, 항-NKG2A 작용제는 그의 리간드, HLA-E의 결합을 차단함으로써 NKG2A의 억제 활성을 감소시키며, 다시 말하면, 항-NKG2A 작용제는 HLA-E에 의한 NKG2A의 결합을 간섭한다. SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄를 갖는 항체는 그러한 항체의 일 예이다. 일 구현예에서, 항-NKG2A 작용제는 그의 리간드, HLA-E의 결합의 차단 없이, NKG2A의 억제 활성을 감소시키며, 다시 말하면, 항-NKG2A 작용제는 비-경쟁적 길항제이며, HLA-E에 의한 NKG2A의 결합을 간섭하지 않는다. 각각 SEQ ID NO: 10 및 11의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체는 그러한 항체의 일 예이다.
- [0030] 일 구현예에서, 항-NKG2A 작용제는 하나 이상의 활성화 NKG2 수용체에 대해서보다 유의미하게 더 높은 친화성으로 NKG2A에 결합하는 항체이다. 예를 들어, 일 구현예에서, 작용제는 NKG2C에 대해서보다 유의미하게 더 높은 친화성으로 NKG2A에 결합하는 항체이다. 추가의 또는 대안적인 구현예에서, 작용제는 NKG2E에 대해서보다 유의미하게 더 높은 친화성으로 NKG2A에 결합하는 항체이다. 추가의 또는 대안적인 구현예에서, 작용제는 NKG2H에 대해서보다 유의미하게 더 높은 친화성으로 NKG2A에 결합하는 항체이다.
- [0031] 일 구현예에서, 항-NKG2A 작용제는 CD94/NKG2A로의 결합에서, 각각 SEQ ID NO: 4 내지 8 및 9의 중쇄 및 경쇄를 갖는 항체 또는 각각 SEQ ID NO: 10 및 11의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체와 경쟁한다. 작용제는 예를 들어, 인간 또는 인간화 항-NKG2A 항체일 수 있다.
- [0032] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 각각 SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄 중 임의의 것의 중쇄 CDR 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄의 경쇄 CDR을 갖는 인간화 항체이다. 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 각각 SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄 중 임의의 것의 중쇄 가변 영역 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄의 경쇄 가변 영역을 갖는 인간화 항체이다. 개선된 특성, 예를 들어, 보다 낮은 면역원성, 개선된 항원-결합 또는 기타 기능적 특성 및/또는 개선된 물리화학적 특성, 예를 들어, 보다 나은 안정성을 갖는 그러한 인간화 항체의 프레임워크 영역(FR) 내의 아미노산 치환을 위한 예시적인 상보성-결정 영역(CDR) 잔기 또는 서열 및/또는 부위가 제공된다.
- [0033] 임의의 특정 양태에서, 종양 시료(예를 들어, 종양 조직 및/또는 종양 인접 조직)에서의 NKG2A에 대한 리간드, 선택적으로, 추가로 PD-1의 리간드의 존재를 평가함으로써 항-NKG2A 작용제 및 PD1-중화제로의 치료를 위한 환자가 확인될 수 있다. 본원의 치료적 용도 또는 암 치료 또는 예방 방법 중 임의의 것의 일 구현예에서, 개체에서의 암의 치료 또는 예방은

- [0034] a) 암을 갖는 개체 내의 악성 세포의 HLA-E 폴리펩티드 상태를 결정하고,
- [0035] b) HLA-E 폴리펩티드가 악성 세포(예를 들어, 종양 세포)에 의해(예를 들어, 그의 표면 상에서) 주로 발현된다는 결정시에, 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 개체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0036] 본원의 치료적 용도 또는 암 치료 또는 예방 방법 중 임의의 것의 일 구현예에서, 개체에서의 암의 치료 또는 예방은
- [0037] a) 암을 갖는 개체 내의 악성 세포(예를 들어, 종양 세포)의 HLA-E 폴리펩티드 상태 및 PD-L1 폴리펩티드 상태를 결정하고,
- [0038] b) HLA-E 및 PD-L1 폴리펩티드가 악성 세포의 표면 상에서 주로 발현된다는 결정시에, 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 개체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0039] 일 구현예에서, 생물학적 시료(예를 들어, 종양 세포, 종양 조직 및/또는 종양 인접 조직을 포함하는 시료)가 주로 HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드를 발현한다는 결정은 개체가 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제와 병용하여 NKG2A를 억제하는 작용제로 치료될 수 있는 암을 갖는 것을 나타낸다.
- [0040] 방법들 중 임의의 것의 일 구현예에서, 단계 (a)에서 HLA-E 폴리펩티드 상태를 결정하거나 발현의 수준을 결정하는 것은 생물학적 시료에서 악성 세포의 HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드의 발현 수준을 결정하고, 상기 수준을 참조 수준(예를 들어, 소정의 값, 약한 또는 강력한 세포 표면 염색 등)과 비교하는 것을 포함한다. 참조 수준은 예를 들어, 건강한 개체, (선택적으로, 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제와 병용하여) 항-NKG2A 항체로의 치료로부터 낮은 임상적 이익을 유도하는/임상적 이익을 유도하지 않는 개체 또는 (선택적으로, 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제와 병용하여) 항-NKG2A 항체로의 치료로부터 상당한 임상적 이익을 유도하는 개체에 상응할 수 있다. 생물학적 시료가 HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드를 증가된 수준(예를 들어, 높은 값, 강력한 표면 염색, 항-NKG2A 항체로의 치료로부터 상당한 임상적 이익을 유도하는 개체의 수준에 상응하는 수준, 항-NKG2A 항체로의 치료로부터 낮은 임상적 이익을 유도하는/임상적 이익을 유도하지 않는 개체에 상응하는 수준보다 더 높은 수준 등)으로 발현한다는 결정은 예를 들어, 본원에 기재된 치료 방법에 따라 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제와 병용하여 항-NKG2A 항체로 치료될 수 있는 암을 갖는 것을 나타낸다.
- [0041] 일 구현예에서, NKG2A-억제된 PD-1-발현 림프구의 확인 방법이 제공되며, 당해 방법은
- [0042] a) 생물학적 시료에서의 NK 및/또는 CD8 T 림프구의 NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드 상태를 결정하는 단계, 및
- [0043] b) NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드가 유의미한 비율의 림프구의 표면 상에서 발현된다는 결정은 림프구가 NKG2A-억제된 PD-1-발현 림프구임을 나타내는 단계를 포함한다. 선택적으로, 림프구는 종양 침윤 림프구이다. 선택적으로, 생물학적 시료는 종양 조직 및/또는 종양 인접 조직을 포함하는 시료이다.
- [0044] 일 구현예에서, 항-NKG2A 작용제로의 치료가 적합한 암을 갖는 개체의 확인 방법이 제공되며, 당해 방법은
- [0045] a) 개체로부터의 종양 침윤 림프구의 NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드 상태를 결정하는 단계, 및
- [0046] b) NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드가 개체로부터의 유의미한 비율의 종양 침윤 림프구, 선택적으로, 사전-정의된 서브셋의 TIL(예를 들어, CD8 T 세포, NK 세포)의 표면 상에서 발현된다는 결정은 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제로의 치료가 상기 개체에 적합한 것을 나타내는 단계를 포함한다.
- [0047] 일 구현예에서, 개체에서의 암의 치료 또는 예방 방법이 제공되며, 당해 방법은
- [0048] a) 개체로부터의 종양 침윤 림프구의 NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드 상태를 결정하는 단계, 및
- [0049] b) NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드가 유의미한 비율의 종양 침윤 림프구, 선택적으로, 개체로부터의 사전-정의된 서브셋의 TIL(예를 들어, CD8 T 세포, NK 세포)의 표면 상에서 발현된다는 결정시에, 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 포함하는 치료적 요법제를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0050] 일 구현예에서, 종양 침윤 림프구는 CD8 T 세포이다. 일 구현예에서, 종양 침윤 림프구는 NK 세포이다. 일 구현예에서, CD8 T 세포의 적어도 10, 15, 20, 25%는 NKG2A⁺PD⁺이다. 일 구현예에서, CD8 T 세포의 적어도 10%,

15%, 20% 또는 25%는 NKG2A⁺PD-1⁺이다. 일 구현예에서, NK 세포의 적어도 20%, 25%, 30% 또는 35%는 NKG2A⁺PD-1⁺이다.

[0051] 다른 구현예에서, 약제학적 조성물 및 키트, 및 그들의 이용 방법이 제공된다. 일 구현예에서, 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일 구현예에서, 인간 NKG2A 폴리펩티드의 억제 활성을 중화시키는 화합물 및 인간 PD-1 폴리펩티드를 억제하는 작용제를 포함하는 키트가 제공된다.

[0052] 이들 양태는 본원에 제공된 본 발명의 설명에 더욱 완전히 기재되어 있으며, 추가의 양태, 특징 및 이점은 본원에 제공된 본 발명의 설명으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0053] 도 1a 및 도 1b는 PD-L1 + Qa-1 + RMA-S Qa-1 Qdm B2m 및 A20 종양 세포가 NKG2A를 발현하는 NK 세포 및 NKG2A 및/또는 PD-1을 발현하는 CD8 T 세포에 의해 침윤되는 것을 보여준다. 종양 부피가 대략 500 mm³인 경우 RMA-S Qa-1 Qdm B2m(윗줄) 및 A20(아랫줄) 종양을 지니는 마우스를 희생시켰다. 종양 세포(도 1a) 및 종양 침윤 림프구-TIL-(도 1b)을 각각 종양 세포에 대해서는 Qa-1 및 PDL-1, 및 TIL에 대해서는 NKG2A/C/E 및 PD-1의 발현에 대하여 유세포분석에 의해 분석하였다. MFI: 형광 세기의 중간값.

도 2는 마우스에서의 NK 및 T 세포 서브셋 상의 NKG2A 및 PD-1의 분포를 보여준다. 림프구를 비장으로부터, 종양 배액 림프절로부터, 그리고 고형 종양 종괴 내로부터 취하였다. PD-1 발현은 비장 및 림프절로부터의 모든 세포 서브셋 중에서 드물거나 부재하였지만, 종양 침윤 림프구(TIL) 중에서, 모든 세포 서브셋은 PD-1을 발현하는 상대적으로 높은 백분율의 세포를 가졌다. 반면에, NKG2A는 NK 세포에서 관찰되었지만, 비장 및 림프절 내의 T 세포 서브셋에서는 관찰되지 않았지만, 종양에서 유의미한 백분율의 TIL 상에서 관찰되었으며, 평균 30% 초과 NK 세포 및 19% 초과 CD8 T 세포가 NKG2A 및 PD-1에 대하여 이중 양성이었다.

도 3a 및 도 3b는 종양을 지니는 마우스에서의 NKG2A 및 PD-1 발현을 보여준다. RMA Rae1(윗줄), MC38(중간줄) 및 RMA(아랫줄) 종양을 지니는 마우스를 그들의 종양이 각각 500, 2000 및 800 mm³의 부피에 도달하는 경우에 희생시켰다. NK 세포(도 3a) 및 CD8 T 세포(도 3b)를 NKG2A/C/E 및 PD-1 발현에 대하여 비장, 종양 배액 림프절(LN) 및 종양에서 유세포분석에 의해 분석하였다.

도 4는 항-PD-1 mAb로의 마우스의 처치가 MC38 종양에서 NKG2A 발현 TCD8 세포의 빈도를 증가시키는 것을 보여준다. MC38 종양을 지니는 마우스를 세포 이식 후 제11일, 제14일 및 제17일에 200 μg의 랫트 IgG2a 아이소타입 대조군(IC) 또는 항-마우스 PD-1 항체로 처치하였다. 마우스를 제31일에 희생시키고, CD8 T 세포를 비장, 종양 배액 림프절(LN) 및 종양에서 유세포분석에 의해 특성화시켰다.

도 5는 제11일, 제14일 및 제18일에 아이소타입 대조군, 항-마우스 NKG2A mAb(200 μg, 정맥내), 항-마우스 PD-L1 mAb(200 μg, 복강내) 또는 항-mNKG2A/mPDL-1 조합으로 처치된 마우스에서의 시간에 따른 종양 부피 중간값을 보여준다. 항-NKG2A가 이러한 모델에서 아이소타입 대조군에 비하여 오직 중등의 항-종양 효과만을 생성하고, 항-PD-L1이 상당한 항-종양 효과를 생성하나, 종양 부피가 제28일 무렵에 증가하지만, 항-NKG2A 및 항-PD-L1로의 병용 처치는 종양 성장을 완전히 철폐하고, 종양 부피의 유의미한 성장이 제28일에 관찰되지 않았다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0054] 상세한 설명

[0055] 정의

[0056] 본 명세서에서 사용된 단수는 하나 이상을 의미할 수 있다. 청구범위(들)에서 사용된 단수 용어는 용어 "포함하는"과 함께 사용되는 경우에 하나 또는 하나를 초과하는 것을 의미할 수 있다. 본원에 사용된 "또 다른"은 적어도 제2 또는 그 이상의 것을 의미할 수 있다.

[0057] "포함하는"이 사용되는 경우, 이것은 선택적으로 "로 본질적으로 이루어지는" 또는 "로 이루어지는"에 의해 대체될 수 있다.

[0058] NKG2A(OMIM 161555, 이의 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함)는 NKG2 그룹의 전사물의 구성원이다(문헌 [Houchins, et al. (1991) J. Exp. Med. 173:1017-1020]). NKG2A는 25 kb에 걸쳐 있는 7개 엑손에 의해 인코딩

되며, 이는 몇몇의 차별적인 스플라이싱을 보여준다. NKG2A는 CD94와 함께, NK 세포, α/β T 세포, γ/δ T 세포 및 NKT 세포의 서브셋의 표면 상에 관찰되는 이중이량체 억제 수용체 CD94/NKG2A를 형성한다. 그것은 억제 KIR 수용체와 유사하게, 그의 세포질 도메인 내에 ITIM을 지닌다. 본원에 사용되는 "NKG2A"는 NKG2A 유전자 또는 인코딩된 단백질의 임의의 변이체, 유도체 또는 아이소형을 지칭한다. 인간 NKG2A는 3개의 도메인 내에 하기의 서열의 233개의 아미노산을 포함하며, 세포질 도메인은 잔기 1 내지 70을 포함하고, 막횡단 영역은 잔기 71 내지 93을 포함하고, 세포외 영역은 잔기 94 내지 233을 포함한다:

MDNQGVIYSDLNLPNPKRQQRKPKGNKSSILATEQEITYAELNLQKASQDFQGN-
 KTYHCKDLPSAPEKLIVGILGIICILIMASVVTVIPSTLIQRHNNSSLNTRTQKARHCGHCP
 EEWITYSNSCYYIGKERRTWEESLLACTSKNSSLLSIDNEEEMKFLSIISPSWIGVFRNSS
 HHPVWTMNGLAFKHEIKDSDNAELNCAVLQVNRKLSAQCGSSIYHCKHKL (SEQ ID NO:1)

[0059]

NKG2C(OMIM 602891, 이의 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함됨) 및 NKG2E(OMIM 602892, 이의 개시 내용은 본원에 참조로 포함)는 NKG2 그룹의 전사물의 2개의 다른 구성원이다(문헌[Gilenske, et al. (1998) Immunogenetics 48:163-173]). CD94/NKG2C 및 CD94/NKG2E 수용체는 NK 세포 및 T-세포와 같은 림프구의 서브셋의 표면 상에서 관찰되는 활성화 수용체이다.

[0060]

HLA-E(OMIM 143010, 이의 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함됨)는 세포 표면 상에 발현되고, 펩티드, 예를 들어 다른 MHC 부류 I 분자의 신호 서열로부터 유래된 단편 등의 결합에 의해서 조절되는 비전형적인 MHC 분자이다. HLA-E의 가용성 버전도 또한 확인되었다. HLA-E는 그의 T-세포 수용체 결합 특성에 더하여, CD94/NKG2A, CD94/NKG2B, 및 CD94/NKG2C에 특이적으로 결합함으로써, 자연 살해(NK) 세포, 자연살해 T 세포(NKT) 및 T 세포(α/β 및 γ/δ)의 서브셋과 결합한다(예를 들어, 문헌[Braud et al. (1998) Nature 391:795-799] 참조, 이의 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함됨). HLA-E의 표면 발현은 표적 세포가 CD94/NKG2A+ NK, T, 또는 NKT 세포 클론에 의해 용해되는 것을 방지한다. 본원에서 사용된 "HLA-E"는 HLA-E 유전자 또는 인코딩된 단백질의 임의의 변이체, 유도체 또는 아이소형을 지칭한다.

[0061]

본 발명의 맥락에서, "NKG2A" 또는 "CD94/NKG2A 양성 림프구"는 세포 표면 상에서 CD94/NKG2A를 발현하는 림프계 계통의 세포(예를 들어, NK-, NKT- 및 T-세포)를 지칭하며, 이것은, 예를 들어 CD94 및 NKG2A 상의 조합된 에피토프 또는/및 단독의 NKG2A 상의 에피토프를 특이적으로 인식하는 항체를 사용하는 유세포분석에 의해 검출될 수 있다. "NKG2A 양성 림프구"는 림프계 기원의 불멸화 세포주를 포함한다(예를 들어, NKL, NK-92).

[0062]

본 발명의 맥락에서, "NKG2A의 억제 활성을 감소시킨다", "NKG2A를 중화시킨다" 또는 "NKG2A의 억제 활성을 중화시킨다"는 사이토카인 방출 및 세포독성 반응과 같은 림프구 반응을 야기하는 세포내 과정에 부정적으로 영향을 미치는 CD94/NKG2A의 능력이 억제되는 과정을 지칭한다. 이것은, 예를 들어 NK- 또는 T-세포 기반의 세포독성 검정에서 측정될 수 있으며, 여기서 CD94/NKG2A 양성 림프구에 의한 HLA-E 양성 세포의 사멸을 자극하는 치료 화합물의 능력이 측정된다. 일 구현예에서, 항체 제제는 기재된 세포독성 검정과 관련하여 CD94/NKG2A-제한 림프구의 세포독성에서 적어도 10% 증가, 선택적으로는 림프구 세포독성에서 적어도 40% 또는 50% 증가, 선택적으로 NK 세포독성에서 적어도 70% 증가를 야기한다. 항-NKG2A 항체가 CD94/NKG2A와 HLA-E의 상호작용을 감소시키거나 차단한다면, 그것은 CD94/NKG2A-제한 림프구의 세포독성을 증가시킬 수 있다. 이것은 예를 들어, CD94/NKG2A를 발현하는 NK 세포 및 HLA-E를 발현하는 표적 세포를 사용하는 표준 4시간 시험관내 세포독성 검정에서 평가될 수 있다. CD94/NKG2A가 HLA-E를 인식하기 때문에 그러한 NK 세포는 HLA-E를 발현하는 표적을 효율적으로 사멸시키지 못하여, 림프구-매개 세포용해를 방지하는 억제 신호전달의 개시 및 증폭을 야기한다. 그러한 시험관내 세포독성 검정은 예를 들어, 문헌[Coligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993)]에 기재된 바와 같이 해당 분야에 널리 공지된 표준 방법에 의해 수행될 수 있다. 림프구가 표적 세포, 예를 들어, P815, K562 세포 또는 적절한 종양 세포를 사멸시키도록 자극하는 항체의 능력을 평가하기 위한 크롬 방출 및/또는 기타 파라미터도 또한 문헌[Sivori et al., J. Exp. Med. 1997;186:1129-1136]; 문헌[Vitale et al., J. Exp. Med. 1998; 187:2065-2072]; 문헌[Pessino et al. J. Exp. Med. 1998;188:953-960]; 문헌[Neri et al. Clin. Diag. Lab. Immun. 2001;8:1131-1135]; 문헌[Pende et al. J. Exp. Med. 1999;190:1505-1516]에 개시되어 있으며, 이의 각각의 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. NK 세포의 첨가 전에 표적 세포를 ⁵¹Cr로 표지한 다음, 사멸의 결과로서 세포로부터 배지로의 ⁵¹Cr의 방출에 비례하여 사멸을 추정한다. CD94/NKG2A가 HLA-E에 결합하는 것을 방지하는 항체의 첨가는 CD94/NKG2A를 통한 억제 신호전달의 개시와 증폭의 방지를 초래한다. 따라서, 이러한 작용제의 첨가는 표적 세포의 림프구-매개 사멸의 증가를 초래한다. 그에 의해, 이 단계에서, 예를 들어 리간드 결합을

[0063]

차단함으로써 CD94/NKG2A-유도된 음성 신호전달을 방지하는 작용제가 확인된다. 특정 ⁵¹Cr-방출 세포독성 검정에서, CD94/NKG2A-발현 NK 이펙터-세포는 HLA-E-음성 LCL 721.221 표적 세포를 사멸시킬 수 있지만, HLA-E-발현 LCL 721.221-Cw3 대조군 세포는 상당히 더 적게 사멸시킨다. 이와 대조적으로, CD94/NKG2A가 결여된 YTS 이펙터-세포는 두 세포주를 모두 효율적으로 사멸시킨다. 따라서, NK 이펙터 세포는 CD94/NKG2A를 통한 HLA-E-유도 억제 신호전달로 인하여 HLA-E⁺ LCL 721.221-Cw3 세포를 덜 효과적으로 사멸시킨다. NK 세포가 그러한 ⁵¹Cr-방출 세포독성 검정에서 본 발명에 따른 차단 항-CD94/NKG2A 항체와 함께 사전-인큐베이션된 경우, HLA-E-발현 LCL 721.221-Cw3 세포는 항체-농도-의존적 방식으로 더욱 효율적으로 사멸된다. 또한, 항-NKG2A 항체의 억제 활성화(즉, 세포독성 증진력)는 수많은 다른 방식에서, 예를 들어 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 문헌[Sivori et al., J. Exp. Med. 1997; 186:1129-1136]에 기재된 세포내 유리 칼슘에 대한 항체의 영향에 의해 평가될 수 있다. NK 세포 세포독성의 활성화는 예를 들어, 사이토카인 생성(예를 들어, IFN- γ 생성) 또는 세포독성 마커(예를 들어, CD107 또는 CD137 동원)의 증가를 측정함으로써 평가될 수 있다. 예시적인 프로토콜에서, PBMC로부터의 IFN- γ 생성은 배양 중 4일 후에 세포 표면 및 세포질내 염색 및 유세포분석에 의한 분석에 의해 평가된다. 약술하면, 브레펠딘(Brefeldin A(시그마 알드리치(Sigma Aldrich)))를 마지막 4시간의 배양 동안 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 최종 농도로 첨가한다. 그 다음, 세포를 투과화(인트라프렙(IntraPrep)TM; 베크만 쿨터(Beckman Coulter)) 및 PE-항-IFN- γ 또는 PE-IgG1(파민젠(Pharmingen))을 사용한 염색 이전에 항-CD3 및 항-CD56 mAb와 인큐베이션시킨다. 폴리클로날 활성화 NK 세포로부터의 GM-CSF 및 IFN- γ 생성을 ELISA(GM-CSF: 듀오셋(DuoSet) Elisa, 알앤디 시스템즈(R&D Systems), 미국 미네소타주 미니애폴리스 소재, IFN- γ : OptEIA 세트, 파민젠)를 사용하여 상청액에서 측정한다.

[0064] 본원에 사용되는 용어 "PD-1"은 CD28, CTLA-4, ICOS 및 BTLA도 또한 포함하는 CD28 과의 수용체의 억제 구성원인 단백질 예정사 1(PD-1)("예정된 세포사 1"로도 지칭)을 지칭한다. 완전한 인간 PD-1 서열은 하기에 나타낸 진뱅크(GenBank) 수탁 번호 U64863 하에 관찰될 수 있다:

```
MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFFPALLVVTEGD-
NATFTCSFSNTSESVLWNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFVRVQLPNGRD-
FHMSVVRARRNDSTYLCGAIISLAPKAQIKESLRALRVTTERRAEVPTAHP-
SPSPRPAGQFQTLVVGGVGGLLGSLLVLLVWLAVICSRARGTIGARRTGQPLKEDPSAV-
PVFSVDYGELEDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSPGMSGTSSPARRG-
SADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (SEQ ID NO: 2)
```

[0065] 또한, "PD-1"은 PD-1 유전자 또는 인코딩된 단백질의 임의의 변이체, 유도체 또는 아이소형을 포함한다. PD-1은 활성화 B 세포, T 세포 및 골수 세포 상에서 발현된다(문헌[Okazaki et al. (2002) Curr. Opin. Immunol. 14:391779-82]; 문헌[Bennett et al. (2003) J Immunol 170:711-8]). 상기 과의 초기 구성원인 CD28 및 ICOS는 모노클로날 항체의 첨가 후에 T 세포 증식을 증진시키는 데에서의 기능적 효과에 의해 발견되었다(문헌[Hutloff et al. (1999) Nature 397:263-266]; 문헌[Hansen et al. (1980) Immunogenics 10:247-260]). PD-1으로의 결합시에 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 보이는 PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2가 확인되었다(문헌[Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027-34]; 문헌[Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2:261-8]; 문헌[Carter et al. (2002) Eur J Immunol 32:634-43]). PD-L1 및 PD-L2는 둘 모두 PD-1에 결합하지만, 다른 CD28 과 구성원에 결합하지 않는 B7 상동체이다.

[0067] 하기와 같이 나타낸 완전한 인간 PD-L1 서열은 UniProtKB/Swiss-Prot, 식별자 Q9NZQ7-1 하에 찾을 수 있다:

```
MRIFAVFIFM TYWHLLNAFT VTPPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL
AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLVQVHSS YRQRARLLKD QLSLGNAAALQ
ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTVSE
HELTCQAEQY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTTLRIN
TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVPIPELP LAHPPNERTH LVILGAILLC
LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK QSDTHLEET (SEQ ID NO: 3)
```

[0068] PD-L1은 다양한 인간 암에서 풍부하다(문헌[Dong et al. (2002) Nat. Med. 8:787-9]). PD-1과 PD-L1 사이의 상호작용은 중앙 침윤 림프구의 감소, T-세포 수용체 매개 증식의 감소 및 암성 세포에 의한 면역 회피를 초래한다(문헌[Dong et al. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7]; 문헌[Blank et al. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314]; 문헌[Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100]). PD-1과 PD-L1의 국소 상호작용을 억제함으로써 면역 억제가 역전될 수 있고, PD-1과 PD-L2의 상호작용이 또한 차단되는 경우 효과

는 상가적이다.

- [0070] 본 발명의 맥락에서, "인간 PD-1의 억제 활성을 감소시킨다", "PD-1을 중화시킨다" 또는 "인간 PD-1의 억제 활성을 중화시킨다"는 PD-1과 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예를 들어, PD-L1 또는 PD-L2의 상호작용으로부터 초래되는 그의 신호 전달 능력에서, PD-1이 억제되는 과정을 지칭한다. PD-1의 억제 활성을 중화시키는 작용제는 PD-1과 그의 결합 파트너 중 하나 이상, 예를 들어, PD-L1, PD-L2의 상호작용으로부터 초래되는 신호 전달을 감소, 차단, 억제, 철폐 또는 간섭한다. 그에 의해, 그러한 작용제는 T 림프구 상에 발현되는 세포 표면 단백질에 의해 또는 그를 통하여 매개되는 음성 동시-자극 신호를 감소시켜, T-세포 이펙터 기능, 예를 들어, 증식, 사이토카인 생성 및/또는 세포독성을 증진시킬 수 있다.
- [0071] 이러한 전체 명세서 내에서는 언제나, "암의 치료" 등은 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제(예를 들어, 항체)에 관하여 언급되며, 본 출원서가 출원되는 국가에서의 특허권을 가능하게 하는 특허 대상에 따라, (a) (적어도 하나의 치료를 위하여) (예를 들어, 약제학적으로 허용되는 담체 물질에서 함께 또는 각각 개별적으로) NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제를 그러한 치료를 필요로 하는 개체, 포유류, 특히, 인간에게 암의 치료를 가능하게 하는 용량(치료적 유효량), 선택적으로 본원에 특정된 바와 같은 용량(양)으로 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료 방법; (b) (특히 인간에서) 암의 치료를 위한 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제, 또는 상기 치료에 사용하기 위한 항-NKG2A 결합제의 용도; (c) 암의 치료용 약제학적 제제의 제조를 위한 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제의 용도, 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제와 약제학적으로 허용되는 담체를 배합하는 단계를 포함하는 암의 치료용 약제학적 제제의 제조를 위한 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제의 이용 방법 또는 암의 치료에 적절한 유효량의 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 결합제를 포함하는 약제학적 제제; 또는 (d) a), b) 및 c)의 임의의 조합을 포함한다.
- [0072] 본원에 사용되는 용어 "생검"은 예를 들어, 진단을 확립하기 위한 시험의 목적을 위한 조직의 제거로 정의된다. 생검의 유형의 예는 흡인의 적용에 의한 것, 예를 들어, 주사기에 부착된 주사바늘을 통한 것; 조직의 단편의 기구에 의한 제거에 의한 것; 내시경을 통한 적절한 기구를 사용한 제거에 의한 것; 예를 들어, 전체 병변의 수술적 절제에 의한 것; 등을 포함한다.
- [0073] 본원에 사용되는 용어 "항체"는 폴리클로날 및 모노클로날 항체를 지칭한다. 중쇄 내의 불변 도메인의 유형에 따라, 항체는 5개의 주요 부류 중 하나로 할당된다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM. 이들 중 몇몇은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 등과 같은 하위부류 또는 아이소타입으로 더욱 나뉜다. 예시적인 면역글로불린(항체) 구조 유닛은 사량체를 포함한다. 각각의 사량체는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩티드 쇄로 이루어지며, 각 쌍은 하나의 "경"쇄(약 25 kDa) 및 하나의 "중"쇄(약 50 내지 70 kDa)를 갖는다. 각 쇄의 N-말단은 주로 항원 인식을 담당하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 한정한다. 용어 가변 경쇄(V_L) 및 가변 중쇄(V_H)는 각각 이들 경쇄 및 중쇄를 지칭한다. 상이한 부류의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 "알파", "델타", "엡실론", "감마", 및 "뮤"로 지칭된다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3-차원 배치가 널리 공지되어 있다. IgG는, 그들이 생리학적 상황에서 가장 흔한 항체이고, 그들이 실험 환경에서 가장 용이하게 제조되기 때문에, 본원에서 사용되는 예시적인 항체의 부류이다. 선택적으로, 항체는 모노클로날 항체이다. 항체의 특징 예는 인간화, 키메라, 인간 또는 다르게는 인간-적합한 항체이다. "항체"는 또한 본원에 기재된 항체 중 임의의 것의 임의의 단편 또는 유도체를 포함한다.
- [0074] 용어 "에 특이적으로 결합한다"는 단백질의 재조합 형태, 그 내의 에피토프 또는 단리된 표적 세포의 표면 상에 존재하는 고유 단백질 중 어느 하나를 사용하여 평가시, 항체가 바람직하게는 경쟁적 결합 검정에서 결합 파트너, 예를 들어, NKG2A, PD-1, PD-L1에 결합할 수 있는 것을 의미한다. 특이적인 결합을 결정하기 위한 경쟁적 결합 검정 및 기타 방법은 해당 분야에 널리 알려져 있다. 예를 들어, 결합은 방사성표지, 물리적 방법, 예를 들어, 질량 분광법, 또는 예를 들어, 세포형광 분석(예컨대, FACSscan)을 사용하여 검출되는 직접적인 또는 간접적인 형광 표지를 통해 검출될 수 있다. 대조군, 비특이적인 작용제로 관찰되는 양을 초과하는 결합은 작용제가 표적에 결합하는 것을 나타낸다. NKG2A에 특이적으로 결합하는 작용제는 단독의 NKG2A 또는 CD94와의 이량체로서의 NKG2A에 결합할 수 있다.
- [0075] 항체가 특정 모노클로날 항체와 "경쟁한다"고 하는 경우, 그것은 항체가 재조합 분자(예를 들어, NKG2A, PD-1, PD-L1) 또는 표면 발현 분자(예를 들어, NKG2A, PD-1, PD-L1) 중 어느 하나를 사용하는 결합 검정에서 모노클로날 항체와 경쟁하는 것을 의미한다. 예를 들어, 시험 항체가 결합 검정에서 NKG2A 폴리펩티드 또는 NKG2A-발현 세포로의 SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄를 갖는 항체의 결합을 감소시킨다면, 항체는 각각 그러한 항체와 "경쟁"한다고 한다.

- [0076] 본원에 사용되는 용어 "친화성"은 에피토프로의 항체의 결합의 세기를 의미한다. 항체의 친화성은 $[Ab] \times [Ag] / [Ab-Ag]$ 로 정의되는 해리 상수 K_d 에 의해 제공되며, 여기서, $[Ab-Ag]$ 는 항체-항원 복합체의 몰 농도이며, $[Ab]$ 는 비결합 항체의 몰 농도이며, $[Ag]$ 는 비결합 항원의 몰 농도이다. 친화성 상수 K_a 는 $1/K_d$ 에 의해 정의된다. mAb의 친화성을 결정하기 위한 방법은 문헌[Harlow, et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988], 문헌[Coligan et al., eds., *Current Protocols in Immunology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993)] 및 문헌[Muller, *Meth. Enzymol.* 92:589-601 (1983)]에서 찾을 수 있으며, 이러한 참고문헌은 전문이 본원에 참조로 포함된다. mAb의 친화성을 결정하기 위한 해당 분야에 널리 알려져 있는 하나의 표준 방법은 (예를 들어, BIAcore™ SPR 분석 장치를 사용한 분석에 의한) 표면 플라즈몬 공명(SPR) 스크리닝을 이용하는 것이다.
- [0077] 본원의 맥락에서, "결정부위"는 폴리펩티드 상의 상호작용 또는 결합 부위를 표기한다.
- [0078] 용어 "에피토프"는 항원 결정부위를 지칭하며, 항체가 결합하는 항원 상의 영역 또는 구역이다. 단백질 에피토프는 결합에 직접 연루되는 아미노산 잔기 및 특정 항원 결합 항체 또는 펩티드, 즉, 항체의 "풋-프린트" 내의 아미노산 잔기에 의해 효율적으로 차단되는 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 그것은, 예컨대, 항체 또는 수용체와 조합될 수 있는 복잡한 항원 분자 상의 가장 간단한 형태 또는 최소 구조 영역이다. 에피토프는 선형 또는 입체적/구조적일 수 있다. 용어 "선형 에피토프"는 아미노산의 선형 서열(1차 구조) 상에서 연속적인 아미노산 잔기로 구성된 에피토프로서 정의된다. 용어 "입체적 또는 구조적 에피토프"는 모두 연속적이지 않은 아미노산 잔기로 구성된 에피토프로서 정의되고, 따라서 분자의 폴딩에 의해 서로 인접하게 되는 아미노산의 선형 서열의 분리된 부분(2차, 3차 및/또는 4차 구조)을 나타낸다. 입체적 에피토프는 3-차원 구조에 좌우된다. 따라서, 용어 "입체적"은 흔히 "구조적"과 상호교환가능하게 사용된다.
- [0079] 용어 "작용제"는 본원에서 화합물, 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자 또는 생물학적 물질로 이루어진 추출물을 지칭하는데 이용된다. 용어 "치료제"는 생물학적 활성을 갖는 작용제를 지칭한다.
- [0080] 본원의 목적을 위하여, "인간화" 또는 "인간" 항체는 하나 이상의 인간 면역글로불린의 불변 및 가변 프레임워크 영역이 동물 면역글로불린의 결합 영역, 예컨대, CDR과 융합된 항체를 지칭한다. 그러한 항체는 결합 영역이 유래되는 비-인간 항체의 결합 특이성을 유지하지만 비-인간 항체에 대한 면역 반응을 회피하도록 설계된다. 그러한 항체는 항원 시험감염에 반응하여 특정 인간 항체를 생성하도록 "조작된" 트랜스제닉 마우스 또는 기타 동물로부터 얻어질 수 있다(예컨대, 문헌[Green et al. (1994) *Nature Genet* 7:13]; 문헌[Lonberg et al. (1994) *Nature* 368:856]; 문헌[Taylor et al. (1994) *Int Immun* 6:579] 참조, 이의 전체 교시내용은 본원에 참조로 포함됨). 완전한 인간 항체는 또한 유전자 또는 염색체 트랜스펙션 방법 및 파지 디스플레이 기법에 의해 작제될 수 있으며, 이들 방법은 모두 당업계에 공지되어 있다(예컨대, 문헌[McCafferty et al. (1990) *Nature* 348:552-553] 참조). 인간 항체는 또한 시험관내 활성화된 B 세포에 의해 생성될 수도 있다(예컨대, 그들의 전문이 참고로 포함되는 미국 특허 제5,567,610호 및 제5,229,275호 참조).
- [0081] "키메라 항체"는 (a) 불변 영역 또는 그의 일부가 변경, 대체 또는 교환되어 항원 결합 부위(가변 영역)가 키메라 항체, 예컨대, 효소, 독소, 호르몬, 성장 인자, 약물 등에 새로운 특성을 부여하는 상이한 또는 변경된 부류, 이펙터 기능 및/또는 중, 또는 완전히 상이한 분자의 불변 영역에 연결되거나; 또는 (b) 가변 영역 또는 그의 일부가 상이한 또는 변경된 항원 특이성을 가진 가변 영역으로 변경, 대체 또는 교환된 항체 분자이다.
- [0082] 용어 "Fc 도메인," "Fc 부분" 및 "Fc 영역"은, 항체 중쇄의 C-말단 단편, 예컨대, 인간 γ (감마) 중쇄의 약 아미노산(aa) 230 내지 약 aa 450 또는 다른 유형의 항체 중쇄(예컨대, 인간 항체에 대해서 α , δ , ϵ 및 μ) 또는 그의 천연 발생 동종이인자형(allotype)에서의 그의 대응 서열을 지칭한다. 달리 특정되지 않는 한, 면역글로불린에 대하여 통상적으로 허용되는 카바트(Kabat) 아미노산 넘버링이 본 개시내용에 사용된다(문헌[Kabat et al. (1991) *Sequences of Protein of Immunological Interest*, 5th ed., United States Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD] 참조).
- [0083] 용어 "단리된", "정제된" 또는 "생물학적으로 순수한"은 그의 고유 상태에서 관찰되는 바와 같이 보통 그를 동반하는 성분이 실질적으로 또는 본질적으로 없는 물질을 지칭한다. 순도 및 균질성은 전형적으로 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 또는 고성능 액체 크로마토그래피와 같은 분석 화학적 기법을 이용하여 결정된다. 제제 중에 존재하는 우세한 종인 단백질은 실질적으로 정제된다.
- [0084] 용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 본원에 상호교환가능하게 이용된다. 이 용어는 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 발생 아미노산의 인공의 화학 모방체인 아미

노산 중합체, 그리고 천연 발생 아미노산 중합체 및 비-천연 발생 아미노산 중합체에 적용된다.

- [0085] 예컨대, 세포, 또는 핵산, 단백질 또는 벡터를 지칭하는데 이용되는 경우 용어 "재조합"은, 세포, 핵산, 단백질 또는 벡터가 이중 핵산 또는 단백질의 도입 또는 고유 핵산 또는 단백질의 변경에 의해 변형되거나 세포가 그와 같이 변형된 세포로부터 유래되는 것을 나타낸다. 따라서, 예를 들어, 재조합 세포는, 세포의 고유(비재조합) 형태 내에서 발견되지 않는 유전자를 발현하거나, 또는 달리 비정상적으로 발현되거나, 발현 하에 있거나 또는 전혀 발현되지 않는 고유 유전자를 발현한다.
- [0086] 본원의 맥락 내에서, 폴리펩티드 또는 에피토프에 "결합하는" 항체라는 용어는 특이성 및/또는 친화성을 갖고 상기 결정부위에 결합하는 항체를 지칭한다.
- [0087] 용어 "동일성" 또는 "동일한"은, 2개 이상의 폴리펩티드의 서열 간의 관계에서 사용되는 경우, 2개 이상의 아미노산 잔기의 스트링 사이의 일치 개수에 의해 결정되는 바와 같은 폴리펩티드 간의 서열 관련성의 정도를 지칭한다. "동일성"은 특정 수학적 모델 또는 컴퓨터 프로그램(즉, "알고리즘")에 의해 다루어지는 값 정렬(준제한 다면)을 가진 둘 이상의 서열 중 더 작은 것들 간의 동일한 일치 백분율이다. 관련된 폴리펩티드의 동일성은 공지된 방법에 의해 용이하게 산출될 수 있다. 그러한 방법은 문헌[Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988]; 문헌[Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993]; 문헌[Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994]; 문헌[Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987]; 문헌[Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York, 1991]; 및 문헌[Carillo et al., SIAM J. Applied Math. 48, 1073 (1988)]에 기재된 것들을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.
- [0088] 동일성을 결정하기 위한 방법은 시험된 서열들 간에 최대 일치를 제공하도록 설계된다. 동일성을 결정하는 방법은 공개적으로 입수가 가능한 컴퓨터 프로그램에 기술된다. 두 서열 간에 동일성을 결정하기 위한 컴퓨터 프로그램 방법은 GAP(문헌[Devereux et al., Nucl. Acid. Res. 12, 387 (1984)]; 문헌[Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.]), BLASTP, BLASTN, 및 FASTA(문헌[Altschul et al., J. Mol. Biol. 215, 403-410 (1990)])를 비롯한 GCG 프로그램 패키지를 포함한다. BLASTX 프로그램은 NCBI(미국 국립 생명공학 정보 센터) 및 기타 공급처(BLAST 매뉴얼, 문헌[Altschul et al. NCB/NLM/NIH Bethesda, Md. 20894]; 상기 문헌[Altschul et al.]로부터 공개적으로 입수가 가능하다. 잘 알려진 스미스 워터맨(Smith Waterman) 알고리즘도 또한 동일성을 결정하는데 이용될 수 있다.
- [0089] *NKG2A-중화 치료제*
- [0090] 항-NKG2A 작용제는 인간 CD94/NKG2A 수용체의 세포의 부분에 결합하며, CD94/NKG2A 양성 림프구의 표면 상에 발현되는 인간 CD94/NKG2A 수용체의 억제 활성을 감소시킨다. 일 구현예에서, 작용제는 CD94/NKG2A로의 결합에 있어서 HLA-E와 경쟁하며, 다시 말하면, 작용제는 CD94/NKG2A와 그의 리간드 HLA-E 사이의 상호작용을 차단한다. 다른 구현예에서, 작용제는 CD94/NKG2A로의 결합에 있어서 HLA-E와 경쟁하지 않으며; 다시 말하면, 작용제는 HLA-E와 동시에 CD94/NKG2A에 결합할 수 있다. 항체는 CD94 및 NKG2A 상의 조합된 에피토프 또는 단독의 NKG2A 상의 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0091] 일 양태에서, 항-NKG2A 작용제는 완전 인간 항체, 인간화 항체 및 키메라 항체로부터 선택되는 항체이다. 일 양태에서, 작용제는 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체로부터 유래된 불변 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 작용제는 IgA, IgD, IgG, IgE 및 IgM 항체로부터 선택되는 항체의 단편이다. 일 양태에서, 작용제는 Fab 단편, Fab' 단편, Fab'-SH 단편, F(ab)2 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편, 중쇄 Ig(라마 또는 낙타 Ig), V_H 단편, 단일 도메인 FV 및 단쇄 항체 단편으로부터 선택되는 항체 단편이다. 일 양태에서, 작용제는 scFV, dsFV, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 카파 바디, IgNAR; 및 다중특이적 항체로부터 선택되는 합성 또는 반합성 항체-유래 분자이다.
- [0092] 선택적으로, 항-NKG2A 항체는 Fc γ 수용체, 예를 들어, CD16으로의 상당한 특이적인 결합을 보이지 않는다. 그러한 항체는 Fc 수용체에 결합하지 않는 것으로 알려져 있는 다양한 중쇄의 불변 영역을 포함할 수 있다. 그러한 하나의 예는 인간 IgG4 불변 영역이다. 일 구현예에서, IgG4 항체는 생체내에서 하프(half) 항체(fab 아암(arm) 교환)의 형성을 방지하기 위한 변형을 포함하며, 예를 들어, 항체는 EU-인덱스(index)에 따른 위치 228에 상응하는 잔기 241에서의 세린에서 프롤린으로의 돌연변이를 포함하는 IgG4 중쇄를 포함한다(문헌[Kabat et al., "Sequences of proteins of immunological interest", 5th ed., NIH, Bethesda, ML, 1991]). 그러한 변형

된 IgG4 항체는 그들이 결합 친화성을 변경시킬 수 있는 1가 방식으로 NKG2A에 결합하도록 생체내 fab 아암 교환을 겪을 고유 IgG4와 반대로, 생체내에서 무손상 유지되고, NKG2A로의 2가(고 친화성) 결합을 유지할 것이다. 대안적으로, 불변 영역을 포함하지 않는 항체 단편, 예를 들어, Fab 또는 F(ab')₂ 단편은 Fc 수용체 결합을 회피하도록 사용될 수 있다. Fc 수용체 결합은 예를 들어, BIACORE 검정에서 Fc 수용체 단백질로의 항체의 결합의 시험을 포함하는 해당 분야에 알려져 있는 방법에 따라 평가될 수 있다. 또한, 임의의 인간 항체 유형(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4)이 사용될 수 있으며, 여기서, Fc 부분은 Fc 수용체로의 결합을 최소화시키거나 제거하도록 변형된다(예를 들어, 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 WO03101485호 참조). Fc 수용체 결합을 평가하기 위한 검정, 예를 들어, 세포 기반의 검정이 해당 분야에 널리 알려져 있으며, 예를 들어, WO03101485호에 기재되어 있다.

[0093] 따라서, 본 발명은 NKG2A에 결합하는 항체 또는 다른 작용제에 관한 것이다. 일 양태에서, 항체는 인간 NKG2C 및/또는 NKG2E보다 적어도 100배 더 낮은 KD로 NKG2A에 결합한다.

[0094] 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 CD94/NKG2A 신호전달의 간섭에 의해, 예를 들어, NKG2A에 의한 HLA-E의 결합의 간섭에 의해, CD94/NKG2A 수용체의 입체적 변화의 방지 또는 유도에 의해, 및/또는 CD94/NKG2A 수용체의 이량체화 및/또는 클러스터링에 영향을 미침으로써 CD94/NKG2A-발현 림프구의 CD94/NKG2A-매개의 억제력을 감소시킨다.

[0095] 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 NKG2C보다 적어도 100배 더 낮은 KD로 NKG2A의 세포의 부분에 결합한다. 추가의 바람직한 양태에서, 작용제는 NKG2C보다 적어도 150, 200, 300, 400 또는 10,000배 더 낮은 KD로 NKG2A의 세포의 부분에 결합한다. 본 발명의 다른 양태에서, 작용제는 NKG2C, NKG2E 및/또는 NKG2H 분자보다 적어도 100배 더 낮은 KD로 NKG2A의 세포의 부분에 결합한다. 추가의 바람직한 양태에서, 작용제는 NKG2C, NKG2C 및/또는 NKG2H 분자보다 적어도 150, 200, 300, 400 또는 10,000배 더 낮은 KD로 NKG2A의 세포의 부분에 결합한다. 이것은 예를 들어, Biacore 실험에서 측정될 수 있으며, 여기서, 고정화된 CD94/NKG2A(예를 들어, CD94/NKG2 발현 세포로부터 정제되거나, 바이오-시스템에서 생성)의 세포의 부분에 결합하는 작용제의 능력이 측정되고, 동일한 검정에서 유사하게 생성된 CD94/NKG2C 및/또는 다른 CD94/NKG2 변이체로의 작용제의 결합과 비교된다. 대안적으로, (예를 들어, 일시적인 또는 안정적인 트랜스펙션 후에) CD94/NKG2A를 천연적으로 발현하거나, 이를 과발현하는 세포로의 작용제의 결합을 측정하고, CD94/NKG2C 및/또는 다른 CD94/NKG2 변이체를 발현하는 세포의 결합과 비교할 수 있다. 항-NKG2A 항체는 선택적으로 NKG2B에 결합할 수 있으며, NKG2B는 CD94와 함께 억제 수용체를 형성하는 NKG2A 스플라이스 변이체이다. 일 구현예에서, 친화성은 예를 들어, 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 제8,206,709호의 실시예 8에 나타난 바와 같은 Biacore에 의해 공유적으로 고정화된 NKG2A-CD94-Fc 융합 단백질로의 결합을 평가함으로써 미국 특허 제8,206,709호에 개시된 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

[0096] 항-NKG2A 항체는 예를 들어, VH1_18, VH5_a, VH5_51, VH1_f 및 VH1_46으로부터 선택되는 인간 수용자 서열로부터의 VH 인간 수용자 프레임워크, 및 JH6 J-세그먼트 또는 해당 분야에 알려져 있는 다른 인간 생식계열 VH 프레임워크 서열을 포함하는 인간화 항체일 수 있다. VL 영역 인간 수용자 서열은 예를 들어, VKI_02/JK4일 수 있다.

[0097] 일 구현예에서, 항체는 항체 Z270에 기반한 인간화 항체이다. 상이한 인간화 Z270VH 쇠는 SEQ ID NO: 4 내지 8에 나타나 있다(가변 영역 도메인 아미노산에 밑줄이 있음). HumZ270VH6(SEQ ID NO: 4)은 VH5_51에 기반하며; HumZ270VH1(SEQ ID NO: 5)은 VH1_18에 기반하며; humZ270VH5(SEQ ID NO: 6)는 VH5_a에 기반하며; humZ270VH7(SEQ ID NO: 7)은 VH1_f에 기반하며; humZ270VH8(SEQ ID NO: 8)은 VH1_46에 기반하며; 모두는 JH6 J-세그먼트를 지닌다. 이들 항체의 각각은 NKG2A로의 고 친화성 결합을 유지하며, 인간화 작제물의 각각의 카바트 CDR-H2의 6개의 C-말단 아미노산 잔기가 인간 수용자 프레임워크와 동일하기 때문에 항체에 대한 숙주 면역 반응의 가능성이 낮다. 정렬 프로그램 VectorNTI를 사용하여, humZ270VH1과 humZ270VH5, -6, -7 및 -8 사이에 하기의 서열 동일성이 획득되었다: 78,2%(VH1 대 VH5), 79,0%(VH1 대 VH6), 88,7%(VH1 대 VH7) 및 96,0%(VH1 대 VH8).

[0098] 일 양태에서, 작용제는 (i) SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것 또는 그와 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열의 중쇄 가변 영역, 및 (ii) SEQ ID NO: 9 또는 그와 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열의 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일 양태에서, 작용제는 (i) SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 아미노산 서열 또는 그와 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 (ii) SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열 또는 그와

적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄를 갖는 항체는 NKG2A의 억제 활성을 중화시키지만, 활성화 수용체 NKG2C, NKGE 또는 NKG2H에 실질적으로 결합하지 않는다. 이러한 항체는 추가로 세포의 표면상의 NKG2A로의 결합을 위해 HLA-E와 경쟁한다. 일 양태에서, 작용제는 SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 아미노산 서열을 갖는 중쇄로부터 유래된 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3 서열을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 SEQ ID NO: 9의 아미노산 서열을 갖는 경쇄로부터 유래된 LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0099] 중쇄

[0100] VH6:

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMNWRQMPGKGLEWMGRIDPYD-
SETHYSPSFQGGVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKHP-
 SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS-
 RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK-
 TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK-
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN-
 NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
 (SEQ ID NO: 4)

[0101]

[0102] VH1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTSYWMNWRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYA-
QKLGQRVTMTTDTSTAYMELRSLRSDTAVYYCARGGYDFDVGTLTYWFFDVGQGGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKHP-
 SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS
 LSLGK (SEQ ID NO: 5)

[0103]

[0104] VH5:

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWMNWRQMPGKGLEWMGRIDPYD-
SETHYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARGGYDFDVGTLTY-
WFFDVGQGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKHP-
 SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS-
 RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS
 LSLGK (SEQ ID NO: 6)

[0105]

[0106] VH7:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYFTSYWMNWRQAPGKGLEWMGRIDPYDSETHY
AEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGGYDFDVGTLTY-
WFFDVGQGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKHP-
 SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS-
 RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS
 LSLGK (SEQ ID NO: 7)

[0107]

[0108] **VH8:**
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHY
AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCARGGYDFDVGTL YWFFDWWGQTTVTVS
 SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT-
 FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVHDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE-
 FLGGPSVFLFPPKPKDMLISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK-
 TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK-
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN-
 NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO:
 8)

[0109]
 [0110] **경쇄**

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASENIYSYLAWYQKPKGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGS
 GSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQHHYGTPTRFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
 LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQG
 LSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 9)

[0112] 일 양태에서, 항-NKG2A 항체는 SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 31 내지 35에 상응하는 CDR-H1, SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 50 내지 60(선택적으로 인간 기원의 아미노산을 포함하는 경우 50 내지 66)에 상응하는 CDR-H2 및 SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 99 내지 114(카바트에 따라 95 내지 102)에 상응하는 CDR-H3을 포함하는 항체이다. 일 구현예에서, CDR-H2는 SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 50 내지 66에 상응한다. 선택적으로, CDR은 1, 2, 3, 4개 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

[0113] 일 양태에서, 항-NKG2A 항체는 SEQ ID NO: 9의 잔기 24 내지 34에 상응하는 CDR-L1, SEQ ID NO: 9의 잔기 50 내지 56에 상응하는 CDR-L2, 및 SEQ ID NO: 9의 잔기 89 내지 97에 상응하는 CDR-L3을 포함하는 항체이다. 선택적으로, CDR은 1, 2, 3, 4개 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

[0114] 일 양태에서, 항-NKG2A 항체는 SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 31 내지 35에 상응하는 CDR-H1, SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 50 내지 60(선택적으로 50 내지 66)에 상응하는 CDR-H2 및 SEQ ID NO: 4 내지 8의 잔기 99 내지 114(카바트에 따라 95 내지 102)에 상응하는 CDR-H3, SEQ ID NO: 9의 잔기 24 내지 34에 상응하는 CDR-L1, SEQ ID NO: 9의 잔기 50 내지 56에 상응하는 CDR-L2, 및 SEQ ID NO: 9의 잔기 89 내지 97에 상응하는 CDR-L3을 포함하는 항체이다.

[0115] 일 양태에서, 작용제는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 갖는 VH로부터 유래된 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3 서열을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 갖는 VL로부터 유래된 LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3 서열을 포함한다. 일 양태에서, 작용제는 SEQ ID NO: 10의 아미노산 서열을 갖는 VH로부터 유래된 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3 서열, 및 SEQ ID NO: 11의 아미노산 서열을 갖는 VL로부터 유래된 LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3 서열을 포함한다. SEQ ID NO: 10의 중쇄 및 SEQ ID NO: 11의 경쇄를 갖는 항체는 NKG2A의 억제 활성을 증화시키며, 또한 활성화 수용체 NKG2C, NKG2E 또는 NKG2H에 결합한다. 항체는 세포의 표면 상의 NKG2A로의 결합을 위해 HLA-E와 경쟁하지 않는다(다시 말하면, 그것은 NKG2A의 비경쟁적인 길항제이다).

EVQLVESGGGLV KPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQSPEKRLWVAEISSGGSYTY
 PDTVTGRFTISRDNKNTLYLEISSLRSEDTAMYCYTRHGDYPRFFDWWGAGTTVTVSS
 (SEQ ID NO: 10)

[0116]
 QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSSVSYIYWYQKPRSSPKPWIYLTSLNLSGVPAR
 FSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYCCQWVSGNPNYTFGGGKLEIKR
 (SEQ ID NO: 11)

[0118] 일 양태에서, 작용제는 선택적으로 1, 2, 3, 4개 이상의 아미노산 치환과 함께, 가변-중쇄(V_H) 도메인(SEQ ID NO: 10)의 아미노산 잔기 31 내지 35, 50 내지 60, 62, 64, 66 및 99 내지 108 및 가변-경쇄(V_L) 도메인(SEQ ID NO: 11)의 아미노산 잔기 24 내지 33, 49 내지 55 및 88 내지 96을 포함한다.

[0119] 일 양태에서, 작용제는 상기 언급된 항체 중 임의의 것이 결합하는 CD94/NKG2A 에피토프에 대하여 야기된 완전

인간 항체이다.

- [0120] 상기 언급된 항체가 사용될 수 있지만, 항체가 NKG2A의 억제 활성화의 중화를 야기하는 한, 다른 항체가 NKG2A 폴리펩티드를 인식하고, 그의 임의의 부분에 대하여 야기될 수 있음이 인식될 것이다. 예를 들어, NKG2A, 바람직하지만 비배타적으로, 인간 NKG2A의 임의의 단편 또는 NKG2A 단편의 임의의 조합을 면역원으로 사용하여, 항체를 야기할 수 있으며, 항체는 그들이 본원에 기재된 바와 같이 NKG2A 발현 NK 세포 상에서 그렇게 행할 수 있는 한, NKG2A 폴리펩티드 내의 임의의 위치에서 에피토프를 인식할 수 있다. 선택적으로, 에피토프는 SEQ ID NO: 4 내지 8의 중쇄 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄를 갖는 항체에 의해 특이적으로 인식되는 에피토프이다.
- [0121] 일 양태에서, 작용제는 인간 CD94/NKG2A 수용체의 세포외 부분으로의 결합에서 미국 특허 제8,206,709호(그의 개시내용은 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 humZ270 항체와 경쟁한다. 경쟁적 결합은 예를 들어, BiaCore 실험에서 측정될 수 있으며, 여기서, humZ270으로 포화된 고정화 CD94/NKG2A 수용체(예를 들어, CD94/NKG2 발현 세포로부터 정제되거나, 바이오-시스템에서 생성)의 세포외 부분에 결합하기 위한 작용제의 능력이 측정된다. 대안적으로, CD94/NKG2A 수용체를 천연적으로 발현하거나, (예를 들어, 일시적인 또는 안정적인 트랜스펙션 후에) 이를 과발현하며, 포화 용량의 Z270과 사전-인큐베이션시킨 세포로의 작용제의 결합이 측정된다. 일 구현예에서, 경쟁적 결합은 예를 들어, 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 제8,206,709호의 실시예 15에 나타낸 바와 같은 유세포분석에 의해 Ba/F3-CD94-NKG2A 세포로의 결합을 평가함으로써 미국 특허 제 8,206,709호에 개시된 방법을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0122] PD-1 중화 치료제
- [0123] PD-1/PD-L1 경로를 차단하는 적어도 6개의 작용제가 현재 시판되거나, 임상적 평가 중에 있다. 하나의 작용제는 BMS-936558(니볼루맙(Nivolumab)/ONO-4538, 브리스틀-마이어스 스퀴프(Bristol-Myers Squibb); 이전에 MDX-1106)이다. 니볼루맙(상표명 Opdivo®)은 PD-1 및 CD80 둘 모두로의 PD-L1 리간드의 결합을 억제하는 FDA-승인된 완전 인간 IgG4 항-PD-L1 mAb이며, 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 WO 2006/121168호에 항체 5C4로 기재되어 있다. 흑색종 환자에 있어서, 가장 유의미한 OR이 3 mg/kg의 용량에서 관찰된 한편, 다른 암 종류에 있어서, 그것은 10 mg/kg이었다. 니볼루맙은 일반적으로 암 진행까지 3주마다 10 mg/kg으로 투여된다.
- [0124] 램브롤리주맙(lambrolizumab) 또는 펨브롤리주맙(pembrolizumab)(상표명 Keytruda®)으로도 지칭되는 MK-3475(머크(Merck)로부터의 인간 IgG4 항-PD1 mAb)는 흑색종의 치료를 위하여 FDA에 의해 승인되었으며, 다른 암에서 시험 중에 있다. 펨브롤리주맙을 질병 진행까지 2 또는 3주마다 2 mg/kg 또는 10 mg/kg에서 시험하였다. 인간화 항체 h409AII의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 인코딩하는 DNA 작제물은 아메리칸 타입 컬처 컬렉션 특허 수탁기관(American Type Culture Collection Patent Depository)(미국 버지니아주 머내서스 유니버시티 블러바드 10801 소재)에 기탁되었다. h409A-I 1의 중쇄를 인코딩하는 DNA를 함유하는 플라스미드는 2008년 6월 9일에 기탁되었으며, 081469_SPD-H로 식별되고, h409AI 1의 경쇄를 인코딩하는 DNA를 함유하는 플라스미드는 2008년 6월 9일에 기탁되었으며, 0801470_SPD-L-I 1로 식별된다. 머크 3745로도 알려져 있는 MK-3475 또는 SCH-900475도 또한 WO2009/114335호에 기재되어 있다.
- [0125] MPDL3280A/RG7446(로슈(Roche)/제넨테크(Genentech)로부터의 항-PD-L1)은 Fc γ R 결합 및 그에 따른 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC)을 최소화시킴으로써 효능 및 안전성을 최적화하도록 설계된 조작된 Fc 도메인을 함유하는 인간 항-PD-L1 mAb이다. 1, 10, 15 및 25 mg/kg 이하의 용량의 MPDL3280A를 최대 1년 동안 3주마다 투여하였다. 3상 시험에서, MPDL3280A는 NSCLC에서 3주마다 정맥내 주입에 의해 1200 mg으로 투여된다.
- [0126] AMP-224(암플리뮴(Amplimmune) 및 GSK)는 Fc 도메인에 융합된 PD-L2 세포외 도메인을 포함하는 면역부착소이다. PD-1을 중화시키는 작용제의 다른 예는 PD-L2에 결합하는 항체(항-PD-L2 항체)를 포함할 수 있으며, PD-1과 PD-L2 사이의 상호작용을 차단한다.
- [0127] 피들리주맙(pidlizumab)(CT-011; 큐어테크(CureTech))(큐어테크/테바(Teva)로부터의 인간화 IgG1 항-PD1 mAb), 피들리주맙(CT-011; 큐어테크)(예를 들어, WO2009/101611호 참조). 리툽시맙(rituximab)-감수성 재발 FL이 있는 30명의 환자를 CT-011의 처음의 주입 후 2주에 시작하여, 4주 동안 주마다 375 mg/m²로 투여되는 리툽시맙과 병용하여 4회의 주입 동안 4주마다 3 mg/kg의 정맥내 CT-011로 처치하였다.
- [0128] 추가로 알려져 있는 PD-1 항체 및 다른 PD-1 억제제는 AMP-224(GSK에 허가된 B7-DC/IgG1 융합 단백질), WO 2012/145493호에 기재된 AMP-514, WO2011/066389호 및 US2013/034559호에 기재된 항체 MEDI-4736(아스트라제네카(AstraZeneca)/메드이뮴(Medimmune)에 의해 개발된 항-PD-L1), WO2010/077634호에 기재된 항체 YW243.55.S70(항-PD-L1), WO2007/005874호에 기재된 브리스틀-마이어스 스퀴프에 의해 개발된 항-PD-L1 항체인

BMS-936559로도 알려져 있는 MDX-1105 및 WO2006/121168호, WO2009/014708호, WO2009/114335호 및 WO2013/019906호에 기재된 항체 및 억제제를 포함하며, 상기 문헌의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 항-PD1 항체의 추가의 예는 WO2015/085847호(상하이 행루이 파마슈티컬 컴퍼니 리미티드(Shanghai Hengrui Pharmaceutical Co. Ltd.))에 개시되어 있으며, 예를 들어, 각각 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 및/또는 SEQ ID NO: 8의 경쇄 가변 도메인 CDR1, 2 및 3, 및 각각 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 또는 SEQ ID NO: 5의 항체 중쇄 가변 도메인 CDR1, 2 및 3을 갖는 항체가 있으며, 여기서, SEQ ID NO 참조는 WO2015/085847호에 따른 넘버링이며, 이의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 또한, PD-1 또는 PD-L1로의 결합을 위해 이들 항체 중 임의의 것과 경쟁하는 항체가 사용될 수 있다.

[0129] 예시적인 항-PD-1 항체는 펩브리주맵이다(예를 들어, 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 WO 2009/114335호 참조). 항-PD-1 항체는 ATCC에 081469_SPD-H로 기탁된 DNA에 의해 인코딩되는 중쇄 가변 영역 및 ATCC에 0801470_SPD-L-I 1로 기탁된 DNA에 의해 인코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함하는 WO 2008/156712호에서의 항체 h409AI 1일 수 있다. 다른 구현예에서, 항체는 펩브리주맵의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 포함한다. 따라서, 일 구현예에서, 항체는 ATCC에 081469_SPD-H로 기탁된 DNA에 의해 인코딩되는 펩브리주맵의 VH의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 ATCC에 0801470_SPD-L-I 1로 기탁된 DNA에 의해 인코딩되는 펩브리주맵의 VL의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다.

[0130] 일부 구현예에서, PD-1 중화제는 PD-1로의 PD-L1의 결합을 억제하는 항-PD-L1 mAb이다. 일부 구현예에서, PD-1 중화제는 PD-L1로의 PD-1의 결합을 억제하는 항-PD1 mAb이다. 일부 구현예에서, PD-1 중화제는 면역부착소(예를 들어, 불변 영역(예를 들어, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역부착소)이다.

[0131] 다른 예시적인 항-PD-1 항체는 SEQ ID NO: 12 및 13에 나타난 각각의 서열 또는 각각 그와 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 또는 그의 항원 결합 단편 및 변이체를 포함하는 니블루맵이다. 다른 구현예에서, 항체는 니블루맵의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 포함한다. 따라서, 일 구현예에서, 항체는 SEQ ID NO: 12에 기재된 서열을 갖는 니블루맵의 중쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 13에 기재된 서열을 갖는 니블루맵의 경쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다.

```

QVQLVESGGGWQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVrWY
DGSKRYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVT
VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSVVTPSSSLGT TYTCNVDHKPSNTKVD RVES YGPPCPPCPAPEFLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCWVDVVSQEDPEVQFNWYYDGVVEVHNA TKPREEQF
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA GQPREPQVYTLPPSQ
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEKKNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
    
```

(SEQ ID NO: 12).

```

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSG
TDFLTISLSEPEDFAVYYCQQSSNWPRFTGQGTKVEI RTVAAPSVFI FPPSDEQL SGTASVVCLLN
NFYPREA VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS DSTYSL SSTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTSFNRGEC
    
```

(SEQ ID NO: 13).

[0134] 예시적인 항-PD-L1 항체는 SEQ ID NO: 14 및 15에 나타난 각각의 서열 또는 각각 그와 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변 영역 또는 그의 항원 결합 단편 및 변이체를 포함한다. 다른 구현예에서, 항체는 MPDL3280A의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 포함한다. 따라서, 일 구현예에서, 항체는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 갖는 중쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 갖는 경쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다.

```

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKGLEWVAVIS PYGGSTY-
YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ NSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWG QGTLVTVSS
    
```

(SEQ ID NO: 14)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQ PGKAPKLLIY SASF
 LYSQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYLYHPATFGQGTKVEIKR
 (SEQ ID NO: 15)

[0136]

[0137]

항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 완전 인간 항체, 인간화 항체 및 키메라 항체로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체로부터 유래된 불변 도메인을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 IgA, IgD, IgG, IgE 및 IgM 항체로부터 선택되는 항체의 단편이다. 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 Fab 단편, Fab' 단편, Fab'-SH 단편, F(ab)2 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편, 중쇄 Ig(라마 또는 낙타 Ig), V_H 단편, 단일 도메인 FV 및 단쇄 항체 단편으로부터 선택되는 항체 단편이다. 본 발명의 일 양태에서, 작용제는 scFV, dsFV, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 카파 바디, IgNAR; 및 다중-특이적 항체로부터 선택되는 합성 또는 반합성 항체-유래 분자이다.

[0138]

항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 Fc γ 수용체, 예를 들어, CD16에 대한 실질적인 특이적인 결합이 결합된다. 그러한 항체는 Fc 수용체에 결합하지 않는 것으로 알려져 있는 다양한 중쇄의 불변 영역을 포함할 수 있다. 그러한 일 예는 IgG4 불변 영역이다. IgG4 대안적으로, 불변 영역, 예를 들어, Fab 또는 F(ab')₂ 단편을 포함하지 않는 항체 단편을 사용하여 Fc 수용체 결합을 회피할 수 있다. Fc 수용체 결합은 예를 들어, BIACORE 검정에서 Fc 수용체 단백질로의 항체의 결합을 시험하는 것을 포함하는 해당 분야에 알려져 있는 방법에 따라 평가될 수 있다. 또한, 임의의 인간 항체 유형(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4)이 사용될 수 있으며, 여기서, Fc 부분은 Fc γ 수용체로의 결합을 최소화시키거나, 없애도록 변형된다. 따라서, 항-PD-1 또는 항-PDL1 항체, 항체는 전형적으로 감소된 또는 최소의 이펙터 기능을 가질 것이다. 일 양태에서, 최소의 이펙터 기능은 원핵 세포에서의 생성으로부터 초래한다. 일 양태에서, 최소의 이펙터 기능은 "이펙터-무함유 Fc 돌연변이" 또는 비-글리코실화로부터 초래한다. 추가의 구현예에서, 이펙터-무함유 Fc 돌연변이는 불변 영역 내의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0139]

제형

[0140]

항-NKG2A 또는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 작용제, 예를 들어, 항체는 1 mg/ml 내지 500 mg/ml 농도로 포함하는 약제학적 제형에 혼입될 수 있으며, 여기서, 상기 제형은 2.0 내지 10.0의 pH를 갖는다. 제형은 완충제, 보존제(들), 등장화제(들), 킬레이트화제(들), 안정화제 및 계면활성제를 추가로 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 약제학적 제형은 수성 제형, 즉, 물을 포함하는 제형이다. 그러한 제형은 전형적으로 용액 또는 현탁액이다. 추가의 구현예에서, 약제학적 제형은 수용액이다. 용어 "수성 제형"은 적어도 50 w/w%의 물을 포함하는 제형으로 정의된다. 마찬가지로, 용어 "수용액"은 적어도 50 w/w%의 물을 포함하는 용액으로 정의되며, 용어 "수성 현탁액"은 적어도 50 w/w%의 물을 포함하는 현탁액으로 정의된다.

[0141]

다른 구현예에서, 약제학적 제형은 동결 건조 제형이며, 내과의 또는 환자가 사용 전에 그에 용매 및/또는 희석제를 첨가한다.

[0142]

다른 구현예에서, 약제학적 제형은 임의의 이전의 용해 없이 사용할 준비가 된 건조된 제형(예를 들어, 동결-건조 또는 분무-건조)이다.

[0143]

추가 양태에서, 약제학적 제형은 그러한 항체 및 완충제의 수용액을 포함하며, 여기서, 항체는 1 mg/ml 이상의 농도로 존재하고, 상기 제형은 약 2.0 내지 약 10.0의 pH를 갖는다.

[0144]

다른 구현예에서, 제형의 pH는 약 2.0 내지 약 10.0, 약 3.0 내지 약 9.0, 약 4.0 내지 약 8.5, 약 5.0 내지 약 8.0, 및 약 5.5 내지 약 7.5로 이루어진 목록으로부터 선택되는 범위이다.

[0145]

추가 구현예에서, 완충제는 아세트산나트륨, 탄산나트륨, 시트르산염, 글리실글리신, 히스티딘, 글리신, 라이신, 아르기닌, 인산이수소나트륨, 인산수소이나트륨, 인산나트륨 및 트리스(하이드록시메틸)-아미노메탄, 비신(bicine), 트리신(tricine), 말산, 석신산염, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 아스파르트산 또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 이들 특정 완충제의 각각의 것은 본 발명의 대안적인 구현예를 구성한다.

[0146]

추가 구현예에서, 제형은 약제학적으로 허용되는 보존제를 추가로 포함한다. 추가의 구현예에서, 제형은 등장화제를 추가로 포함한다. 추가의 구현예에서, 제형은 또한 킬레이트화제를 포함한다. 본 발명의 추가의 구현예에서, 제형은 안정화제를 추가로 포함한다. 추가의 구현예에서, 제형은 계면활성제를 추가로 포함한다. 편의상, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995]을 참조한다.

- [0147] 다른 성분이 본 발명의 펩티드 약제학적 제형에 존재할 수 있는 것이 가능하다. 그러한 추가의 성분은 습윤화제, 유화제, 항산화제, 증량제(bulking agent), 장성 조절제, 킬레이트화제, 금속 이온, 유성 비히클, 단백질(예를 들어, 인간 혈청 알부민, 젤라틴 또는 단백질) 및 양쪽성이온(예를 들어, 아미노산, 예를 들어, 베타인, 타우린, 아르기닌, 글리신, 라이신 및 히스티딘)을 포함할 수 있다. 물론, 그러한 추가의 성분이 본 발명의 약제학적 제형의 전체 안정성에 불리하게 영향을 미치지 않아야 한다.
- [0148] 본 발명에 따른 약제학적 조성물의 투여는 몇몇의 투여 경로를 통해, 예를 들어, 정맥내로 이루어질 수 있다. 또한, 적합한 항체 제형은 다른 이미 개발된 치료적 모노클로날 항체를 사용하여 실험을 시험함으로써 결정될 수 있다. 몇몇의 모노클로날 항체, 예를 들어, 리투산(Rituxan)(리투시맵), 헤르셉틴(Herceptin)(트라스투주맵(Trastuzumab)), 졸레어(Xolair)(오말리주맵(Omalizumab)), 벅사르(Bexxar)(토시투모맵(Tositumomab)), 캄파스(Campath)(알렘투주맵(Alemtuzumab)), 제발린(Zevalin), 온콜라임(Oncolym)이 임상적 환경에서 유효한 것으로 보이며, 유사한 제형이 본 발명의 항체와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 모노클로날 항체는 100 mg(10 ml) 또는 500 mg(50 ml)의 단위-사용 바이얼 내에 9.0 mg/ml의 염화나트륨, 7.35 mg/ml의 시트르산나트륨 이수화물, 0.7 mg/ml의 폴리소르베이트 80 및 주사용 멸균수 중에 정맥내 투여를 위해 제형화되어, 10 mg/ml의 농도로 공급될 수 있다. pH는 6.5로 조정된다. 다른 구현예에서, 항체는 약 6.0의 pH에서, 약 20 mM Na-시트레이트, 약 150 mM NaCl을 포함하는 제형 중에 공급된다.
- [0149] 또한, 이전의 방법에 사용하기 위해 조정된 치료적 유효량으로, 항-NKG2A 항체 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물을 포함하는 키트가 제공된다. 키트는 또한, 예를 들어, 조성물을 암(예를 들어, 고형 종양)을 갖는 환자에게 투여하기 위해 진료의(예를 들어, 의사, 간호사 또는 환자)가 키트 내에 함유된 조성물을 투여하게 하는 투여 일정을 포함하는 지침서를 선택적으로 포함할 수 있다. 또한, 키트는 주사기를 포함할 수 있다.
- [0150] 선택적으로, 키트는 상기 제공된 방법에 따른 단일 투여를 위한 유효량의 항-NKG2A, 항-PD-1 또는 PD-L1 항체를 각각 함유하는 단일-용량 약제학적 조성물의 다중 패키지를 포함한다. 약제학적 조성물(들)을 투여하는데 필요한 기기 또는 장치가 또한 키트에 포함될 수 있다. 예를 들어, 키트는 소정량의 항-NKG2A, 항-PD-1 또는 PD-L1 항체를 함유하는 하나 이상의 사전 충전된 주사기를 제공할 수 있다.
- [0151] 일 구현예에서, 본 발명은 인간 환자에서의 암의 치료를 위한 키트를 제공하며, 당해 키트는
- [0152] (a) SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것에 기재된 서열을 갖는 중쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 갖는 경쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 소정의 용량의 항-NKG2A 항체;
- [0153] (b) 소정의 용량의 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체; 및
- [0154] (c) 선택적으로, 본원에 기재된 방법 중 임의의 것에서 항-NKG2A 항체 및 항-PD-1 항체를 사용하기 위한 지침서를 포함한다.
- [0155] **악성종양의 진단, 예후 및 치료**
- [0156] 개체에서의 암의 진단, 예후, 모니터링, 치료 및 예방에 유용한 방법이 기재된다. 본원에 기재된 치료 요법 및 방법이 고형 종양의 치료에 특히 유용하지만, 본원에 기재된 치료 요법 및 방법은 또한 다양한 혈액학적 암 및 감염성 질병 및 염증 및 자가면역 장애를 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 방법 및 조성물은 예를 들어, 방광, 유방, 결장, 신장, 간, 폐, 난소, 전립선, 췌장, 위, 자궁경부, 갑상선 및 피부의 암종을 포함하는 암종; 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 유모세포 림프종 및 버켓 림프종, 및 다발성 골수종을 포함하는 림프 계통의 조혈계 종양; 급성 및 만성 골수성 백혈병, 전골수성 백혈병, 및 골수이형성 증후군을 포함하는 골수 계통의 조혈계 종양; 섬유육종 및 횡문근육종을 포함하는 간엽 기원의 종양; 흑색종, 수암, 기형암종, 신경모세포종 및 신경아교종을 포함하는 기타 종양; 성상세포종, 신경모세포종, 신경교종 및 신경초종을 포함하는 중추 및 말초 신경계의 종양; 섬유육종, 횡문근육종 및 골육종을 포함하는 간엽 기원의 종양; 및 흑색종, 색소성 피부건조증, 각화극세포종, 고환종 및 갑상선 여포암을 포함하는 기타 종양을 포함하나 이들에 제한되지 않는 다양한 암 및 기타 증식성 질병의 치료에 사용된다.
- [0157] 본원에 제공된 암의 치료를 위한 병용 요법은 암(예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)에 걸린 대상체를 치료하기 위한 중화성 항-NKG2A 항체 및 PD-1-중화제, 예를 들어, 중화성 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여를 수반한다. 일 구현예에서, 본 발명은 고형 종양(예를 들어, 고형 종양, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체 또

는 혈액학적 증양을 갖는 대상체를 치료하기 위하여 병용되는 항-NKG2A 항체 및 항-PD-1 항체를 제공한다. 특정 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄, 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄를 포함한다. 일 구현예에서, PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체는 캄브롤리주맙, 니볼루맙, AMP-514, MEDI-4736, CT-011 및 MPDL3280A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0158] 본원에 사용되는 바와 같이, 보조 또는 병용 투여(동시-투여)는 동일한 또는 상이한 투여형의 화합물의 동시 투여, 또는 화합물의 개별 투여(예를 들어, 순차적 투여)를 포함한다. 따라서, 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 단일 제형으로 동시에 투여될 수 있다. 대안적으로, 항-NKG2A 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 개별 투여를 위해 제형화될 수 있고, 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

[0159] 일 구현예에서, 본원에 개시된 방법으로 치료되는 암은 HLA-E-발현 암이다. 일 구현예에서, 암은 폐암(예를 들어, 비소세포폐암(NSCLC)), 신세포 암종(RCC), 흑색종, 대장암 및 난소암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0160] 암을 갖는 환자는 종양 세포의 표면 상의 HLA-E의 발현을 평가하기 위한 이전의 검출 단계와 함께, 또는 이것 없이, 항-NKG2A 작용제로 치료될 수 있다. 유리하게는, 치료 방법은 개체로부터의 종양의 생물학적 시료에서의 (예를 들어, 종양 세포 상의) HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드의 검출 단계를 포함할 수 있다. 생물학적 시료의 예는 임의의 적합한 생물학적 유체(예를 들어, 혈청, 림프, 혈액), 세포 시료 또는 조직 시료를 포함한다. 예를 들어, 조직 시료는 종양 조직 또는 종양-인접 조직의 시료일 수 있다. 선택적으로, HLA-E 폴리펩티드는 악성 세포의 표면 상에서 검출된다. 생물학적 시료가 HLA-E를 발현한다(예를 들어, 현저히 HLA-E를 발현한다; 항-HLA-E 항체를 사용하여, 참조물질에 비하여 높은 수준, 고강도의 염색으로 HLA-E를 발현한다)는 결정은 개체가 NKG2A를 억제하는 작용제를 사용한 치료로부터 강력한 이익을 가질 수 있는 암을 갖는 것을 나타낸다. 일 구현예에서, 상기 방법은 생물학적 시료에서의 HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드의 발현 수준을 결정하는 단계, 및 상기 수준을 건강한 개체에 상응하는 참조 수준(예를 들어, 소정의 값, 약한 세포 표면 염색 등)과 비교하는 단계를 포함한다. 생물학적 시료가 참조 수준에 비하여 증가된 수준으로 HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드를 발현한다는 결정은 개체가 NKG2A를 억제하는 작용제로 치료될 수 있는 암을 갖는 것을 나타낸다.

[0161] 일 구현예에서, 생물학적 시료(예를 들어, 종양 세포, 종양 조직 및/또는 종양 인접 조직을 포함하는 시료)가 HLA-E 핵산 또는 폴리펩티드를 현저히 발현한다는 결정은 개체가 NKG2A를 억제하는 작용제로 치료될 수 있는 암을 갖는 것을 나타낸다. HLA-E 폴리펩티드를 나타내는 경우, "현저히 발현되는"은 HLA-E 폴리펩티드가 주어진 개체로부터 취한 상당한 수의 종양 세포에서 발현되는 것을 의미한다. 용어 "현저히 발현되는"의 정의가 정확한 백분율 값에 의해 결부되지 않지만, 일부 예에서, "현저히 발현되는"이라고 하는 수용체는 환자로부터 취한(시료 중) 종양 세포의 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 이상에 존재할 것이다.

[0162] 개체가 HLA-E 폴리펩티드를 발현하는 암 세포를 갖는지 여부를 결정하는 것은 예를 들어, 암 세포를 포함하는 개체로부터 (예를 들어, 생검을 수행함으로써) 생물학적 시료를 획득하는 것, 상기 세포가 HLA-E 폴리펩티드에 결합하는 항체와 접촉되게 하는 것 및 세포가 그들의 표면 상에 HLA-E를 발현하는지 여부를 검출하는 것을 포함할 수 있다. 선택적으로, 개체가 HLA-E를 발현하는 암 세포를 갖는지 여부를 결정하는 것은 면역조직화학 검정을 행하는 것을 포함한다. 선택적으로, 개체가 HLA-E를 발현하는 암 세포를 갖는지 여부를 결정하는 것은 유세포분석 검정을 행하는 것을 포함한다.

[0163] 치료 방법에서, 항-NKG2A 항체 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 개별적으로, 함께, 또는 순차적으로, 또는 각 데일에서 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 화합물은 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여 이전에 투여된다. 예를 들어, 항-NKG2A 항체는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여 전 대략 0 내지 30일에 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여 전 약 30분 내지 약 2주, 약 30분 내지 약 1주, 약 1시간 내지 약 2시간, 약 2시간 내지 약 4시간, 약 4시간 내지 약 6시간, 약 6시간 내지 약 8시간, 약 8시간 내지 1일 또는 약 1 내지 5일에 투여된다. 일부 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여와 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여 후에 투여된다. 예를 들어, 항-NKG2A 항체는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여 후 대략 0 내지 30일에 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-NKG2A 항체는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체의 투여 후 약 30분 내지 약 2주, 약 30분 내지 약 1주, 약 1시간 내지 약 2시간, 약 2시간 내지 약 4시간, 약 4시간 내지 약 6시간, 약 6시간 내지 약 8시간, 약 8시간 내지 1일 또는 약 1 내지 5일에 투여된다.

[0164] 암을 갖는 인간을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, NKG2A를 억제하는 항체 및 인간 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 항체의 각각의 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서, 당해 방법은 적어도 하나의 투여 사이클을 포함하고, 적어도 1회 용량의 항-NKG2A 항체는 1 내지 10 mg/kg(체중)의 용량으로

투여되며, 적어도 1회 용량의 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 1 내지 20 mg/kg(체중)의 용량으로 투여된다. 일 구현예에서, 투여 사이클은 2주 내지 8주이다.

[0165] 일 구현예에서, 상기 방법은 적어도 하나의 투여 사이클을 포함하며, 여기서, 사이클은 8주 이하의 기간이며, 각각의 적어도 하나의 사이클에 있어서, 2, 3 또는 4회 용량의 항-NKG2A 항체는 1 내지 10 mg/kg(체중)의 용량으로 투여되며, 2, 3 또는 4회 용량의 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 1 내지 20 mg/kg(체중)의 용량으로 투여된다.

[0166] 항-NKG2A 항체는 유리하게는 (예를 들어, PBMC에서, NKG2A-발현 세포 상에서 항-NKG2A 항체를 적정함으로써 평가시) 실질적으로 완전한(예를 들어, 90%, 95%) 수용체 포화를 위해 요구되는 농도보다 적어도 10, 20 또는 30 배 더 높은 순환 중 농도를 달성하는 양으로 또는 선택적으로 (예를 들어, PBMC에서, NKG2A-발현 세포 상에서 항-NKG2A 항체를 적정함으로써 평가시) 실질적으로 완전한 수용체 포화를 위해 요구되는 농도보다 적어도 10, 20 또는 30배 더 높은 혈관의 조직(예를 들어, 종양 조직 또는 환경)에서의 농도를 달성하는 양으로 투여될 수 있다.

[0167] HLA-E 발현 표적 세포에 대한 NKG2A-발현 NK 세포의 세포독성 활성의 적합한 검정을 사용하여 NKG2A+ NK 세포 반응이 평가될 수 있다. 예에는 NK 세포 활성화의 마커, 예를 들어, CD107 또는 CD137 발현에 기반한 검정이 포함된다. (예를 들어, CD107 동원 검정에서 평가시) 본원의 실시예에 사용되는 (SEQ ID NO: 4 내지 8 중 임의의 것의 중쇄 및 SEQ ID NO: 9의 경쇄를 갖는) 차단성 항-NKG2A 항체 humZ270의 NKG2A+ NK 세포 반응에 대한 EC₅₀은 약 4 µg/ml이며, EC₁₀₀은 약 10 µg/ml이다. 따라서, 적어도 4 µg/ml의 연속(최소) 혈중 농도를 유지하도록 소정량의 항-NKG2A 항체가 투여된다. 유리하게는, 적어도 10 µg/ml의 연속(최소) 혈중 농도를 달성 및/또는 유지하도록 소정량의 항-NKG2A 항체가 투여될 수 있다. 예를 들어, 달성 및/또는 유지되어야 하는 혈중 농도는 10 내지 12 µg/ml, 10 내지 15 µg/ml, 10 내지 20 µg/ml, 10 내지 30 µg/ml, 10 내지 40 µg/ml, 10 내지 50 µg/ml, 10 내지 70 µg/ml, 10 내지 100 µg/ml, 10 내지 150 µg/ml 또는 10 내지 200 µg/ml일 수 있다. (예를 들어, 고형 종양의 치료에서) 혈관구조의 외측의 조직이 표적화되는 경우, 적어도 10 µg/ml의 조직 농도를 달성 및/또는 유지하도록 소정량의 항-NKG2A 항체가 투여되며; 예를 들어, 적어도 100 µg/ml의 혈중 농도를 달성하도록 소정량의 항-NKG2A 항체를 투여하는 것은 적어도 10 µg/ml의 조직 농도를 달성하는 것으로 예상된다. 예를 들어, 조직에서 10 µg/ml을 달성/유지하기 위해 달성 및/또는 유지되어야 하는 혈중 농도는 100 내지 110 µg/ml, 100 내지 120 µg/ml, 100 내지 130 µg/ml, 100 내지 140 µg/ml, 100 내지 150 µg/ml, 100 내지 200 µg/ml, 100 내지 250 µg/ml 또는 100 내지 300 µg/ml일 수 있다.

[0168] 일부 구현예에서, 적어도 NKG2A+ 림프구 세포 반응(예를 들어, NKG2A+ NK 세포 반응)에 대한 EC₅₀, 선택적으로, 약 또는 적어도 약 EC₁₀₀에 상응하는 혈액(예를 들어, 혈청) 중 농도를 수득하도록 소정량의 항-NKG2A 항체가 투여된다. NKG2A+ 세포 반응(예를 들어, NK 세포 반응)에 관한 "EC₅₀"(또는 "EC₁₀₀")은 그러한 NKG2A+ 세포 반응(예를 들어, NK 세포 반응)에 관한 그의 최대 반응 또는 효과의 50%(또는 EC₁₀₀에 관한 경우에는 100%)를 생성하는 항-NKG2A 항체의 유효 농도를 말한다. 일부 구현예에서, 특히, 고형 종양의 치료를 위하여, 달성되는 농도는 적어도 NKG2A+ NK 세포 반응에 대한 EC₅₀, 선택적으로, 약 또는 적어도 약 NKG2A+ NK 세포 반응에 대한 EC₁₀₀에 상응하는 조직 내의(혈관구조의 외측, 예를 들어, 종양 환경 내의) 농도를 야기하도록 설계된다.

[0169] 항-NKG2A 항체, 예를 들어, 약 10 µg/ml의 NKG2A+ NK 세포 반응에 대한 EC₁₀₀을 갖는 본원의 실시예에 사용되는 humZ270에 대한 적합한 치료 프로토콜은 적어도 하나의 투여 사이클을 포함하며, 적어도 1회 용량의 항-NKG2A 항체는 2 내지 10 mg/kg, 선택적으로 4 내지 10 mg/kg, 선택적으로 6 내지 10 mg/kg, 선택적으로 2 내지 6 mg/kg, 선택적으로 2 내지 8 mg/kg 또는 선택적으로 2 내지 4 mg/kg(체중)의 용량으로 투여된다. 선택적으로, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8회 용량의 항-NKG2A 항체가 투여된다. 일 구현예에서, 투여 사이클은 2주 내지 8주이다. 일 구현예에서, 투여 사이클은 8주이다. 일 구현예에서, 투여 사이클은 8주이며, 2주마다(총 4회 용량) 1회 용량의 항-NKG2A 항체를 투여하는 것을 포함한다.

[0170] 본원의 구현예 중 임의의 것의 일 양태에서, 항-NKG2A 항체는 약 2주마다 1회 투여된다.

[0171] 특히 혈액학적 종양의 치료를 위하여 항-NKG2A 항체와 함께 사용하기 위한 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, 항-NKG2A 항체의 적어도 2회의 연속 투여 사이에 적어도 10 µg/ml의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 유지하기 위한, 2 내지 10 mg/kg, 선택적으로 2 내지 6 mg/kg, 선택적으로 2 내지 8 mg/kg, 선택적으로 2 내지 4 mg/kg, 선택적으로 2 내지 6 mg/kg, 선택적으로 2 내지 4 mg/kg, 선택적으로 약 4 mg/kg(체중)인 유효량으로, 개별

마다 2회 항-NKG2A 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 이들 용량은 선택적으로 치료 사이클 내내 적어도 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 제공하도록 투여될 수 있다. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 혈중 농도를 달성하는 것은 항체, 예를 들어, 인간화 Z270에 대한 EC_{100} 에 상응한다.

[0172] 특히 항-NKG2A 항체 EC_{50} 농도가 혈관의 조직(예를 들어, 종양 또는 종양 환경 내)에서 추구되는 고형 종양의 치료를 위하여 항-NKG2A 항체와 함께 사용하기 위한 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, 항-NKG2A 항체의 적어도 2회의 연속 투여 사이에 적어도 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 유지하기 위한, 2 내지 10 mg/kg, 선택적으로 2 내지 6 mg/kg, 선택적으로 2 내지 4 mg/kg, 선택적으로 약 4 mg/kg(체중)인 유효량으로, 개월마다 2회 항-NKG2A 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 이들 용량은 선택적으로 치료 사이클 내내 적어도 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 제공하도록 투여될 수 있다. 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 혈중 농도를 달성하는 것은 차례로 항체, 예를 들어, 인간화 Z270에 대한 EC_{50} 에 상응하는 약 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 조직(예를 들어, 혈관의 조직, 종양 환경) 농도를 제공하는 것으로 예상된다.

[0173] 특히 항-NKG2A 항체 EC_{50} 농도가 혈관의 조직(예를 들어, 종양 또는 종양 환경 내)에서 추구되는 고형 종양의 치료를 위하여 항-NKG2A 항체와 함께 사용하기 위한 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, 유효량의 항-NKG2A 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서, 항체는 개월마다 2회 투여되며, 항-NKG2A 항체의 적어도 2회의 연속 투여 사이에 적어도 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 유지하기 위한 유효량은 4 내지 10 mg/kg, 선택적으로 4 내지 6 mg/kg, 선택적으로 4 내지 8 mg/kg, 선택적으로 약 4 mg/kg, 선택적으로 약 6 mg/kg, 선택적으로 약 8 mg/kg 또는 선택적으로 약 10 mg/kg이다. 이들 용량은 선택적으로 치료 사이클 내내 적어도 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 제공하도록 투여될 수 있다. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 혈중 농도를 달성하는 것은 차례로 항체, 예를 들어, 인간화 Z270에 대한 EC_{100} 에 상응하는 약 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 조직(예를 들어, 혈관의, 종양 환경) 농도를 제공하는 것으로 예상된다.

[0174] 항-NKG2A 항체와 함께 사용하기 위한 추가의 적합한 치료 프로토콜은 보다 높은 용량을 사용한 로딩 기간에 이어서 유지 기간을 사용하는 요법을 포함한다. 예를 들어, 로딩 기간은 유효량의 항-NKG2A 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함할 수 있으며, 여기서, 항체는 유지 요법에서 항-NKG2A 항체의 처음의 투여까지 적어도 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 유지하기 위한 유효량으로 1회 이상 투여된다. 예를 들어, 1회 투여되는 경우, 10 mg/kg의 로딩 용량의 항-NKG2A 항체가 투여될 수 있으며, 여기서, 유지 요법 내에서 항-NKG2A 항체의 처음의 투여는 로딩 용량 후 약 2주(또는 그 미만)에 일어난다. 이어서, 유지 요법은 더 낮은 용량 및/또는 더 낮은 빈도의 투여를 사용하여, 유지 요법 내에서 연속 투여 사이에 적어도 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-NKG2A 항체의 연속 혈중 농도를 유지할 수 있다. 예를 들어, 유지 요법은 2 내지 10 mg/kg, 선택적으로 4 내지 10 mg/kg, 선택적으로 2 내지 4 mg/kg, 선택적으로 4 내지 6 mg/kg, 선택적으로 4 내지 8 mg/kg, 선택적으로 약 4 mg/kg, 선택적으로 약 6 mg/kg, 선택적으로 약 8 mg/kg의 용량으로 2주마다 항-NKG2A 항체를 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0175] 특정 구현예에서, 소정의 용량(예를 들어, 각 용량)의 항-NKG2A 항체는 4, 6, 8 또는 10 mg/kg으로 투여된다. 특정 구현예에서, 소정의 용량(예를 들어, 각 용량)의 항-PD-1 항체는 1 내지 20 mg/kg, 선택적으로 10 mg/kg으로 투여된다. 특정 구현예에서, 소정의 용량(예를 들어, 각 용량)의 항-PD-L1 항체는 10, 15, 20 또는 25 mg/kg, 선택적으로 1200 mg의 총 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 병용 요법은 항-PD-1 또는 PD-L1 항체가 더 낮은 용량으로 투여되게 하며; 일 구현예에서, 각 용량의 항-PD-1 항체가 2 또는 3 mg/kg으로 투여된다.

[0176] 일 구현예에서, 항-NKG2A 항체 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 하기의 용량으로 투여된다:

[0177] (a) 1 내지 10 mg/kg의 항-NKG2A 항체 및 (i) 1 내지 10 mg/kg의 항-PD-1 항체 또는 (ii) 1 내지 20 mg/kg의 항-PD-L1 항체;

[0178] (b) 4, 6, 8 또는 10 mg/kg의 항-NKG2A 항체 및 10 mg/kg의 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체;

[0179] (c) 4, 6, 8 또는 10 mg/kg의 항-NKG2A 항체 및 3 mg/kg의 항-PD-1 항체; 또는

[0180] (d) 4, 6, 8 또는 10 mg/kg의 항-NKG2A 항체 및 2 mg/kg의 항-PD-1 항체.

[0181] 본원의 구현예 중 임의의 것의 일 양태에서, 항-NKG2A 항체는 약 2주마다 1회 투여된다. 본원의 구현예 중 임의의 것의 일 양태에서, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 약 3주마다 1회 투여된다. 본원의 구현예 중 임의의 것의 일 양태에서, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 약 2주마다 1회 투여된다. 본원의 구현예 중 임의의 것의 일 양태

에서, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체는 약 4주마다 1회 투여된다.

- [0182] 일 구현예에서, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 및 항-NKG2A 항체는 정맥내로 투여된다. 일 구현예에서, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 및 항-NKG2A 항체는 같은 날에, 선택적으로 추가로 약 2주마다 1회, 선택적으로 추가로 정맥내로 투여된다.
- [0183] 다른 양태에서, NKG2A+PD1+ NK 세포 및/또는 T 세포를 확인하기 위한 방법이 제공된다. NK 세포 및/또는 T 세포 상의 NKG2A 및 PD-1의 동시-발현을 평가하는 것은 진단 또는 예후 방법에 사용될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 시료는 개체로부터(예를 들어, 암 환자로부터 수득되는 암 또는 암-인접 조직으로부터) 수득되고, NKG2A+PD1+ NK 및/또는 T 세포의 존재에 대하여 분석될 수 있다. 예를 들어, 그러한 세포 상의 NKG2A 및 PD-1 둘 모두의 발현을 사용하여, NKG2A 및 PD1 폴리펩티드 둘 모두에 의해 억제되는 종양 침윤 NK 및/또는 T 세포를 갖는 개체를 확인할 수 있다. 상기 방법은 예를 들어, NKG2A를 중화시키는 작용제를 사용한 치료에 대한 반응을 위한 예후로서, PD1을 중화시키는 작용제를 사용한 치료에 대한 반응을 위한 예후로서, 또는 NKG2A를 중화시키는 작용제 및 PD1을 중화시키는 작용제를 사용한 병용 치료에 대한 반응을 위한 예후로서 유용할 수 있다.
- [0184] 일 구현예에서, 개체가 NKG2A를 억제하는 작용제 및 인간 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 작용제를 사용한 치료에 적합한지 여부를 평가하기 위한 방법이 제공되며, 당해 방법은 개체로부터의 생물학적 시료 중 NKG2A 핵산 또는 폴리펩티드 및 PD-1 핵산 또는 폴리펩티드 둘 모두를 발현하는 림프구 모집단(예를 들어, CD8+ T 세포)을 검출하는 단계를 포함한다. 개체가 NKG2A 핵산 또는 폴리펩티드 및 PD-1 핵산 또는 폴리펩티드 둘 모두를 발현하는 림프구 모집단을 갖는다는 결정은 환자가 인간 PD-1의 억제 활성을 중화시키는 작용제와 병용하여 NKG2A를 억제하는 작용제로 치료될 수 있는 암을 갖는 것을 나타낸다.
- [0185] 다른 양태에서, NKG2A+PD1+ NK 세포 및/또는 T 세포를 확인하기 위한 방법이 제공된다. 종양 침윤 이펙터 림프구가 억제 수용체 NKG2A 및 PD-1 둘 모두를 발현할 수 있다는 관찰은 개선된 치료 방법 및 진단 및 예후에 유용할 수 있는 그러한 이중-제한/억제된 이펙터 세포의 검출 방법으로 이어진다.
- [0186] 예를 들어, 생물학적 시료는 개체로부터(예를 들어, 암 환자로부터 수득되는 암 또는 암-인접 조직으로부터) 수득되고, NKG2A+PD1+ NK 및/또는 T 세포의 존재에 대하여 분석될 수 있다. 예를 들어, 그러한 세포에서의 NKG2A 및 PD-1 둘 모두의 발현을 사용하여, NKG2A 및 PD1 폴리펩티드 둘 모두에 의해 억제되는 종양 침윤 NK 및/또는 T 세포를 갖는 개체를 확인할 수 있다. 상기 방법은 예를 들어, NKG2A를 중화시키는 작용제를 사용한 치료에 대한 반응을 위한 예후로서, PD1을 중화시키는 작용제를 사용한 치료에 대한 반응을 위한 예후로서, 또는 NKG2A를 중화시키는 작용제 및 PD1을 중화시키는 작용제를 사용한 병용 치료에 대한 반응을 위한 예후로서 유용할 수 있다.
- [0187] 생물학적 시료 내에서 NKG2A- 및 PD-1 제한된 NK 및/또는 CD8 T 세포를 검출하는 것은 더욱 일반적으로 NK 및/또는 CD8 T 세포의 특성화가 관심 대상인 병태의 연구, 평가, 진단, 예후 및/또는 예측에 사용하기 위한 이점을 가질 수 있다. 예를 들어, 바람직한 또는 바람직하지 않은 암 예후는 종양 또는 종양 인접 조직이 NKG2A 및 PD-1 둘 모두를 발현하는 침윤성 NK 및/또는 CD8 T 세포를 특징으로 하는지 여부를 평가함으로써 이루어질 수 있다.
- [0188] 예를 들어, 환자에서 암을 항-NKG2A 및 항-PD1 항체를 사용하여 특성화하거나 평가하여, 그러한 NK 및/또는 CD8 T 세포가 종양 주변에(암 인접 조직에) 존재하는지 여부를 포함하여, 종양-침윤 NK 및/또는 CD8 T 세포가 NKG2A+PD1+인지 여부를 평가할 수 있다. 당해 방법은 환자가(예를 들어, NKG2A 및/또는 PD-1, 또는 그들의 각각의 리간드 HLA-E 또는 PD-L1로의 결합에 의해) 그러한 NK 및/또는 CD8 T 세포에서 직접 작용하는, 또는(예를 들어, NK 및/또는 CD8 T 세포의 활성을 조절할 수 있는 사이토카인 또는 기타 신호전달 분자를 생성함으로써) 그러한 NK 및/또는 CD8 T 세포에 간접적으로 작용하는 치료제에 의해 조절될 수 있는 NK 및/또는 CD8 T 세포를 특징으로 하는 병태를 갖는지 여부를 결정하는데 유용할 수 있다. 선택적으로, 임의의 구현예에서, 환자는 PD-1을 중화시키는 작용제로 치료되었다. 본원에 기재되는 방법은 선택적으로, 개체가 종양 침윤 NK 및/또는 CD8 T 세포에 작용하는 치료제에 의해 조절될 수 있는 병태를 갖는 것이 결정된다면, 그러한 치료제를 개체에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0189] 일 양태에서, 본 발명자들은 NKG2A+ PD-1+ 림프구, 선택적으로 NK 또는 CD8+ T 세포의 시험관내 검출 방법을 제공하며, 당해 방법은 종양 침윤 림프구를 포함하는 생물학적 시료를 제공하는 단계 및 림프구가 NKG2A 및 PD-1을 발현하는지 여부를 결정하는 단계를 포함한다.
- [0190] 일 양태에서, 본 발명자들은 인간 개체로부터의 시료 내의 NKG2A 및 PD-1-발현(즉, 이중 양성) CD8 T 세포 또는

NK 세포의 시험관내 검출 방법을 제공하며, 상기 방법은 개체로부터 시료를 제공하는 단계, 시료에서 인간 NKG2A 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체 및 인간 PD-1 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체를 사용하여 상기 시료 중 세포를 접촉시키는 단계 및 세포로의 항체의 결합을 검출하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 세포는 CD8 T 세포 및/또는 NK 세포이다.

[0191] 일 양태에서, 본 발명자들은 인간 개체로부터의 시료 내의 NKG2A 및 PD-1 둘 모두에 의해 억제되는 조직 침윤 인간 CD8 T 세포 및/또는 NK 세포의 시험관내 검출 방법을 제공하며, 상기 방법은 개체로부터 시료를 제공하는 단계, 및 시료에서 인간 NKG2A 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체 및 인간 PD-1 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체를 사용하여 상기 시료 중 조직 침윤 CD8 T 세포 및/또는 NK 세포를 검출하는 단계로서, NKG2A 및 PD-1 폴리펩티드의 검출이 NKG2A- 및 PD-1-억제된 조직 침윤 CD8 T 세포 및/또는 NK 세포의 존재를 나타내는 단계를 포함한다. 선택적으로, 임의의 구현예에서, 환자는 PD-1을 중화시키는 작용제로 치료된다. 일 구현예에서, 시료는 종양 세포, 종양 조직 또는 종양 인접 조직을 포함한다. 일 구현예에서, CD8 T 세포 및/또는 NK 세포는 면역조직화학 방법을 사용하여 확인된다. 일 구현예에서, 시료는 파라핀-포매된 시료이며; 선택적으로, 파라핀-포매된 시료를 고정하고, 파라핀에 포매시키고, 섹션화시키고, 파라핀 제거하고, 슬라이드로 옮긴 후에, 모노클로날 항체와 접촉되게 한다. 일 구현예에서, CD8 T 세포 및/또는 NK 세포는 유세포 분석 방법을 사용하여 확인된다.

[0192] 실시예

[0193] 실시예 1 -RMA-S 및 A20 종양 세포는 NKG2A를 발현하는 NK 세포 및 NKG2A 및/또는 PD-1을 발현하는 CD8 T 세포에 의해 침윤된다

[0194] 림프구는 일반적으로 NKG2A 및 PD-1을 동시-발현하는 것으로 관찰되지 않는다. 종양-침윤 림프구에서의 이들 수용체의 발현을 조사하기 위하여, NKG2A 및 PD-1의 분포를 마우스로부터의 종양 내의 NK 및 T 세포 서브셋에서 연구하였다. 림프구를 비장으로부터, 종양 배액 림프절로부터, 및 고형 종양 내로부터 취하였다.

[0195] C57/BL6 마우스를 PDL-1 + Qa-1 + RMA-S 세포(Qa-1, Qdm, B2m) 또는 A20 종양 세포로 이식하였다(피하). 종양 부피가 대략 500 mm³인 경우 RMA-S Qa-1 Qdm B2m(윗줄) 및 A20(아랫줄) 종양을 지니는 마우스를 희생시켰다.

[0196] 결과는 도 1a 및 도 1b에 나타나 있다. 종양 세포(도 1a) 및 종양 침윤 림프구-TIL-(도 1b)을 종양 세포를 위해서는 Qa-1 및 PDL-1의 발현에 대하여, 그리고 TIL을 위해서는 NKG2A 및 PD-1의 발현에 대하여 각각 유세포분석에 의해 분석하였다. 3마리 중 대표적인 1마리의 마우스가 나타나 있다. MFI:형광 세기의 중간값.

[0197] 둘 모두의 종양 유형으로부터의 침윤성 NK 세포의 절반 이상이 NKG2A를 발현하였으며, 이는 종양-침윤 NK 세포가 NKG2A에 의해 억제되는 것을 시사한다. NKG2A+ NK 세포는 일반적으로 유의미한 양의 PD-1을 발현하지 않았다. 그러나, NKG2A 및 PD-1 둘 모두에 대하여 양성이었던 CD8 T 세포가 관찰되었으며, 이는 CD8 T 세포가 억제 수용체 NKG2A 및 PD-1 둘 모두에 의해 제한될 수 있는 것을 시사한다.

[0198] 실시예 2 -rma-rae1 종양을 지니는 마우스로부터의 NK 및 T 세포 서브셋은 NKG2A 및 PD-1을 동시-발현할 수 있다

[0199] 수용체 NKG2A 및 PD-1의 발현을 추가로 조사하기 위하여, NKG2A 및 PD-1의 분포를 마우스 내의 NK 및 T 세포 서브셋에서 연구하였다. 림프구를 비장으로부터, 종양 배액 림프절로부터, 및 고형 종양 내로부터 취하였다.

[0200] C57/BL6 마우스를 RMA-Rae 클론 6(2백만개 세포)으로 이식하였다(피하). 이들 종양 세포는 CD94/NKG2A 리간드, Qa-1을 발현한다. 마우스를 제12일에 희생시켰으며, 평균 종양 부피: 723 mm³, SD: 161 mm³, n=4이다. 비장, LN 및 종양으로부터의 세포 현탁액 제조 후에, 세포를 하기와 같이 염색하였다: CD3e PerCP Cy5.5, NKP46 Alexa 647, NKG2A/C/E FITC, PD1 PE, CD8 Pacific Blue.

[0201] 결과는 도 2 및 표 1 내지 표 3에 나타나 있다.

[0202] NK 세포 서브셋에서, 배액 림프절 및 비장 둘 모두 내의 세포는 대략 절반이 NKG2A-양성이고, 절반이 NKG2A-음성이었으나, 어느 경우에도 PD1의 유의미한 발현이 존재하지 않았다. 림프절로부터의 NK 세포는 NKG2A⁺ PD-1⁻ (49.2%) 및 NKG2A⁻ PD-1⁻ (49.5%)였으며, NK 세포의 1% 미만(평균)은 NKG2A⁺ PD-1⁺였다. 비장으로부터의 NK 세포는 NKG2A⁺ PD-1⁻ (44.1%) 및 NKG2A⁻ PD-1⁻ (55.7%)였으며, NK 세포의 평균 0.1%(평균)는 NKG2A⁺ PD-1⁺였다.

[0203] T 세포 서브셋에서, 대부분의 세포는 NKG2A-음성이었으며(림프절에서 오직 1.1% 및 비장에서 4.7%만이

NKG2A⁺임), 적은 분율의 세포가 유의미한 이중 양성 NKG2A PD-1 세포 없이, PD-1⁺(림프절에서 3.5% 및 비장에서 10%가 PD-1⁺ NKG2A⁻였음)였다. 림프절에서 오직 0.1%(평균)의 T 세포는 NKG2A⁺ PD-1⁺였으며, 비장 내의 오직 0.4%(평균)의 T 세포만이 NKG2A⁺ PD-1⁺였다. 림프절로부터의 T 세포의 95.1%가 이중 음성이었으며, 비장으로부터의 T 세포의 85.6%가 이중 음성이었다.

[0204] CD8 T 세포 서브셋에서, 대부분의 세포는 다시 NKG2A-음성(림프절에서 오직 1.6% 및 비장에서 3.9%만이 NKG2A⁺임)이었으며, 적은 분율의 세포가 유의미한 이중 양성 NKG2A PD-1 세포 없이, PD-1⁺(림프절에서 1.1% 및 비장에서 2.5%가 PD-1⁺ NKG2A⁻였음)였다. 림프절에서 오직 0.2%(평균)의 T 세포만이 NKG2A⁺ PD-1⁺였으며, 비장에서 오직 0.3%(평균)의 T 세포만이 NKG2A⁺ PD-1⁺였다. 림프절로부터의 T 세포의 97.3%가 이중 음성이었으며, 비장으로부터의 T 세포의 93.6%가 이중 음성이었다.

[0205] 그러나, 종양 침윤 림프구(TIL) 중에, 모든 세포 서브셋이 PD-1을 발현하는 세포를 가졌다. NKG2A⁺ 서브셋 내에서, NK 세포의 31.8%(평균)가 NKG2A⁺PD-1⁺였음을 포함하여, 유의미한 백분율로 PD-1을 발현하는 것으로 이전에 관찰되지 않은 NK 세포가 종양에서 PD-1-양성인 것으로 관찰되었다. 종양 외측의 CD8 T 세포가 NKG2A 발현을 거의 갖지 않지만, PD-1을 발현하는 CD8 T 세포는 종양에서 빈번하였다(종양 침윤 CD8 T 세포 서브셋이 평균 26.3%의 NKG2A⁺ 양성 세포를 가졌다). 더욱이, 이러한 NKG2A-양성 CD8 T 세포 서브셋 내에서, 대부분의 세포는 NKG2A⁺ PD-1⁺(19.4%(평균))였다. 그런데도, 종양에서 오직 5.1%의 T 세포만이 NKG2A를 발현하였고, T 세포의 오직 3.6%만이 이중 양성 NKG2A PD-1이었기 때문에, CD8⁻ T 세포 서브셋 중에, TIL과, 비장 또는 림프절 세포 사이에서 NKG2A 발현 차이가 거의 관찰되지 않았다.

표 1

비장

	NK 중의 %				
	NK NKG2A- PD1+ %	NK NKG2A+ PD1+ %	NK NKG2A+ PD1- %	NK NKG2A- PD1- %	NK NKG2A+ %
마우스 1 비장	0.064	0.064	41.8	58.1	41.864
마우스 2 비장	0.15	0.098	46.1	53.7	46.198
마우스 4 비장	0.19	0.19	44.3	55.3	44.49

[0206]

중간값	0.1	0.1	44.1	55.7	44.2
SD	0.1	0.1	2.2	2.2	2.2
T 림프구 중의 %					
	T NKG2A- PD1+ %	T NKG2A+ PD1+ %	T NKG2A+ PD1- %	T NKG2A- PD1- %	T NKG2A+ %
마우스1 비장	8.08	0.38	4.52	87	4.54
마우스2 비장	9.64	0.32	4.22	85.8	6.25
마우스4 비장	12.3	0.41	3.21	84.1	3.37
중간값	10.0	0.4	4.0	85.6	4.7
SD	2.13	0.05	0.69	1.46	1.45
CD8+ T 림프구 중의 %					
	TCD8+ NKG2A- PD1+ %	TCD8+ NKG2A+ PD1+ %	TCD8+ NKG2A+ PD1- %	TCD8+ NKG2A- PD1- %	TCD8+ NKG2A+ %
마우스1 비장	1.8	0.27	4.68	93.2	4.95
마우스2 비장	2.08	0.27	3.09	94.6	3.36
마우스4 비장	3.67	0.48	2.97	92.9	3.45
중간값	2.5	0.3	3.6	93.6	3.9
SD	1.01	0.12	0.95	0.91	0.89

[0207]

표 2

중양 배액 림프절

NK 중의 %					
	NK NKG2A- PD1+ %	NK NKG2A+ PD1+ %	NK NKG2A+ PD1- %	NK NKG2A- PD1- %	NK NKG2A+ %
마우스1 LN	0.68	0.85	45.10	53.40	45.95
마우스3 LN	0.20	0.40	54.70	44.70	55.10
마우스4 LN	0.61	1.21	47.90	50.30	49.11
평균	0.50	0.82	49.23	49.47	50.05
SD	0.26	0.41	4.94	4.41	4.65
T 림프구 중의 %					
	T NKG2A- PD1+ %	T NKG2A+ PD1+ %	T NKG2A+ PD1- %	T NKG2A- PD1- %	T NKG2A+ %
마우스1 LN	2.8	0.1	1.8	95.3	0.5
마우스3 LN	6.6	0.4	2.4	90.6	0.7

[0208]

마우스4 LN	2.1	0.0	0.6	97.2	0.6
평균	3.5	0.1	1.3	95.1	1.1
SD	2.1	0.2	0.9	3.1	1.1
CD8+ T 림프구 중의 %					
	TCD8+ NKG2A- PD1+ %	TCD8+ NKG2A+ PD1+ %	TCD8+ NKG2A+ PD1- %	TCD8+ NKG2A- PD1- %	TCD8+ NKG2A+ %
마우스1 LN	1.0	0.2	2.0	96.8	2.1
마우스3 LN	2.1	0.6	2.5	94.8	3.1
마우스4 LN	0.6	0.1	0.7	98.6	0.8
평균	1.1	0.2	1.4	97.3	1.6
SD	0.7	0.3	1.0	1.9	1.3

[0209]

표 3

종양 침윤 림프구

NK 중의 %					
	NK NKG2A- PD1+ %	NK NKG2A+ PD1+ %	NK NKG2A+ PD1- %	NK NKG2A- PD1- %	NK NKG2A+ %
마우스1 TIL	18.8	25.6	26.6	28.9	52.2
마우스2 TIL	22.8	31	13.5	32.7	44.5
마우스3 TIL	26	38.2	13.8	22	52
마우스4 TIL	24.4	32.5	22.5	20.7	55
평균	23	31.8	19.1	26.1	50.9
SD	3.1	5.2	6.5	5.7	4.5
T 림프구 중의 %					
	T NKG2A- PD1+ %	T NKG2A+ PD1+ %	T NKG2A+ PD1- %	T NKG2A- PD1- %	T NKG2A+ %
마우스1 TIL	51.7	4.85	7.8	35.6	2.89
마우스2 TIL	86.5	1.47	1.42	10.7	8.22
마우스3 TIL	75	4.93	3.29	16.8	9.3
마우스4 TIL	66	3.1	6.2	24.7	0
평균	69.8	3.6	4.7	22.0	5.1
SD	14.7	1.6	2.9	10.8	4.4
CD8+ 림프구 중의 %					
	TCD8+ NKG2A-	TCD8+ NKG2A+	TCD8+ NKG2A+	TCD8+ NKG2A- PD1-	TCD8+ NKG2A+

[0210]

	PD1+ %	PD1+ %	PD1- %		
마우스1 TIL	49.5	16	10.8	23.7	26.8
마우스2 TIL	52.2	21.7	4.35	21.7	26.05
마우스3 TIL	44.3	28.6	5.71	21.4	34.31
마우스4 TIL	52.8	11.3	6.6	29.2	17.9
평균	49.7	19.4	6.9	24.0	26.3
SD	3.9	7.5	2.8	3.6	6.7

[0211]

[0212]

실시예 3 -종양을 지니는 마우스 내의 NKG2A 및 PD-1 발현

[0213]

종양-함유 마우스에서의 NKG2A 및 PD-1 발현을 추가로 조사하기 위하여, C57/BL6 마우스를 상이한 종양 세포, RMA-Rae1, MC38 또는 RMA 세포주로 이식하였다(피하). 종양 부피의 영향을 평가하기 위하여, 그들의 종양이 각각 500, 2000 및 800 mm³의 부피에 도달하는 경우, 마우스를 희생시켰다.

[0214]

결과는 RMA Rae1(윗줄), MC38(중간 줄) 및 RMA(아랫줄)와 함께 도 3a 및 도 3b에 나타나 있다. NK 세포(도 3a) 및 CD8 T 세포(도 3b)를 NKG2A 및 PD-1 발현에 대하여 비장, 종양 배액 림프절(LN) 및 종양에서 유세포분석에 의해 분석하였다. 2 내지 4마리 중 1마리의 대표적인 마우스가 나타나 있다.

[0215]

NK 세포 서브셋에서, 종양, 림프절 및 비장에서의 세포는 대략 절반이 NKG2A-양성이었으며, 절반이 NKG2A-음성이었다. 배액 림프절 또는 비장으로부터의 NK 세포(그들의 NKG2A 발현과 관련 없이) 중 어느 것도 PD1의 임의의 유의미한 발현을 보이지 않았다. 그러나, RMA-Rae1 및 RMA로부터의 종양 침윤 NK 세포는 유의미한 수준의 NKG2A 및 PD1 둘 모두를 발현하였다. 특히 큰 부피(2000 mm³)로 희생시킨 종양 세포주 MC38로부터의 종양 침윤 NK 세포는 NKG2A를 발현하였지만(50%), 유의미하게 PD1을 발현하지 않았다(3%).

[0216]

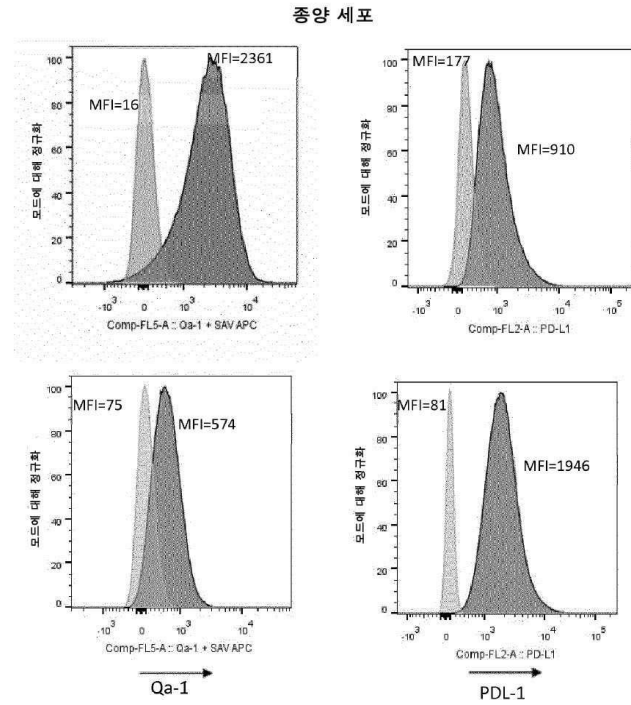
대략 절반의 모집단에서 NKG2A를 발현하는 NK 세포와 달리, 비장 및 림프절로부터의 CD8 T 세포는 일반적으로 NKG2A 또는 PD1 중 어느 것도 발현하지 않았다. 그러나, 종양에서, 큰 비율의 CD8 T 세포가 NKG2A 및 PD1 둘 모두를 발현하였다(RMA-Rae1에서 28%, MC38의 43% 및 RMA의 40%가 이중 양성이었다). 결과는 다시, 종양 침윤 CD8 T 세포 및 NK 세포가 역제 수용체 NKG2A 및 PD1 둘 모두에 의해, 추가로 상이한 유형의 종양 세포에 걸쳐 제한될 수 있음을 시사한다.

- [0217] **실시예 4 - 항-PD-1 mAb로의 치료가 종양에서의 NKG2A 발현 CD8 T 세포의 빈도를 증가시킨다**
- [0218] CD8 T 세포에 대한 항-PD1 항체로의 치료의 효과를 평가하기 위하여, MC38 종양 함유 마우스를 세포 이식 후 제 11일, 제14일 및 제17일에 200 μ g의 랫트 IgG2a 아이소타입 대조군(IC) 또는 중화성 항-마우스 PD-1 모노클로날 항체로 처치하였다. 마우스(n=3/그룹)를 제31일에 희생시키고, CD8 T 세포를 비장, 종양 배액 림프절(LN) 및 종양에서의 유세포분석에 의해 특성화시켰다. CD8 T 세포 중 CD8 NKG2A+의 백분율의 평균 +/- SD(n=3)가 나타나 있다. P<0.005(**), P<0.0005(****), 통계적 분석을 이원분산분석에 이어서, 터키(Tukey)의 다중 비교 검정으로 수행하였다.
- [0219] 결과는 도 4에 나타나 있다. 다른 실험에서 관찰되는 것과 유사하게, 림프절의 비장으로부터의 CD8 T 세포는 NKG2A를 유의미하게 발현하지 않았다. 항-PD1 항체의 투여는 비장 또는 림프절 T 세포에서의 NKG2A 발현의 수준의 어떠한 변화도 야기하지 않았다. 그러나, 종양 침윤 CD8 T 세포 모집단에서, 항-PD1 항체의 투여는 NKG2A-발현 CD8 T 세포의 50% 초과 증가를 야기하였다. 결과는 항-PD1 항체로의 치료 시에, NKG2A 수용체가 생체내에서 종양에 대한 CD8 T 세포 반응의 억제에 대한 기여의 증가를 가질 수 있음을 시사한다. 따라서, NKG2A의 증가는 PD-1 축을 중화시키는 작용제, 예를 들어, 항-PD1 또는 PDL1 항체로 처치된 개체에서 NKG2A 제한된 T 세포의 억제를 역전시키는데 유용할 수 있다.
- [0220] **실시예 5 - 병용 항-NKG2A/항-PD1 차단이 종양 성장을 억제한다**
- [0221] 중화 항-PD1 항체 및 중화 항-NKG2A 항체로의 병용 치료의 효과를 평가하기 위하여, C57BL/6 마우스를 RMA-S Qa-1 Qdm B2m 종양 세포로 이식하고(피하), 중화 항-PD1 작용제(중화성 항-PD-L1 항체) 및 중화 항-NKG2A 항체로 처치하였다.
- [0222] 약술하면, RMA-S Qa-1 Qdm B2m 종양 부피가 약 85 mm³인 경우 C57BL/6 마우스를 제11일에 무작위화시키고(n=8 마우스/그룹), 제11일, 제14일 및 제18일에 아이소타입 대조군, 항-마우스 NKG2A mAb(200 μ g, 정맥내), 항-마우스 PD-L1 mAb(200 μ g, 복강내) 또는 항-mNKG2A/mPDL-1 조합으로 처치하였다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 주 2회 측정하였다. 종양이 커지거나(2000 mm³ 초과 부피), 폐양화되거나, 괴사되면, 동물을 안락사시켰다. 데이터는 실험마다의 종양 부피 중간값을 나타낸다.
- [0223] 시간에 따른 종양 부피 중간값의 진행은 도 5에 나타나 있다. 항-NKG2A가 이러한 모델에서 아이소타입 대조군에 비하여 오직 중등의 항-종양 효과만을 제공하고, 항-PD-L1이 상당한 항-종양 효과를 제공하나, 종양 부피가 제 28일 무렵에 증가하였지만, 항-NKG2A 및 항-PD-L1로의 병용 치료는 종양 성장을 완전히 철폐하였고, 종양 부피의 유의미한 성장이 제28일에 관찰되지 않았다.
- [0224] 본원에서 인용되는 간행물, 특허 출원 및 특허를 포함하는 모든 참고문헌은 그들 전체가 본원에 참고로 그리고 각 참고문헌이 개별적이고 구체적으로 참조로 포함되는 것으로 나타나는 것과 동일한 정도로 본원에 포함되고, 본원의 다른 곳에서 이루어지는 특정 문헌의 포함이 선택적으로 개별적으로 제공되는지와 상관없이 그의 전체 (법에 의해 허용되는 최대 정도로)가 본원에서 설명된다.
- [0225] 본 발명을 설명하는 내용에서 단수 용어 및 유사한 관련어의 사용은 본원에서 달리 지시되지 않거나 또는 내용에 의해 분명하게 모순되지 않는다면 단수와 복수를 모두 포괄하는 것으로 간주되어야 한다.
- [0226] 달리 언급되지 않는다면, 본원에서 제공되는 모든 정확한 값은 상응하는 대략적 값의 대표이다(예를 들어, 특정 인자 또는 측정에 대하여 제공되는 모든 정확한 예시적인 값은 또한 적절하게는 "약"으로 수식되는 상응하는 대략의 측정을 제공하는 것으로 여겨질 수 있다). "약"이 수와 관련하여 사용되는 경우, 이것은 특정 수의 +/-10%에 상응하는 값을 포함하는 것으로 특정될 수 있다.
- [0227] 요소 또는 요소들에 대해서 "포함하는", "가지는", 또는 "함유하는"과 같은 용어를 사용하는 본 발명의 임의의 양태 또는 구현예의 본원의 서술은 달리 언급되지 않거나 내용에 의해 명확하게 모순되지 않는다면 특정 요소 또는 요소들로 "구성되는", "본질적으로 구성되는", 또는 "실질적으로 포함하는" 본 발명의 유사한 양태 또는 구현예에 대한 지지를 제공하는 것으로 의도된다(예를 들어, 특정 요소를 포함하는 것으로 본원에서 설명되는 조성물은 또한 달리 언급되지 않거나 또는 내용에 의해 명확하게 모순되지 않는다면, 상기 요소로 구성되는 조성물을 기술하는 것으로 이해되어야 한다).
- [0228] 본원에서 제공된 임의의 그리고 모든 실시예, 또는 예시적 언어(예컨대, "와 같은")의 사용은 단지 본 발명을 더욱 잘 설명하기 위해 의도된 것이며, 달리 청구되지 않는 한, 본 발명의 범주에 제한을 제기하는 것은 아니다. 본 명세서 내의 어떠한 언어도 임의의 비-청구된 요소가 본 발명의 실시예 필수적이라는 것을 나타내는

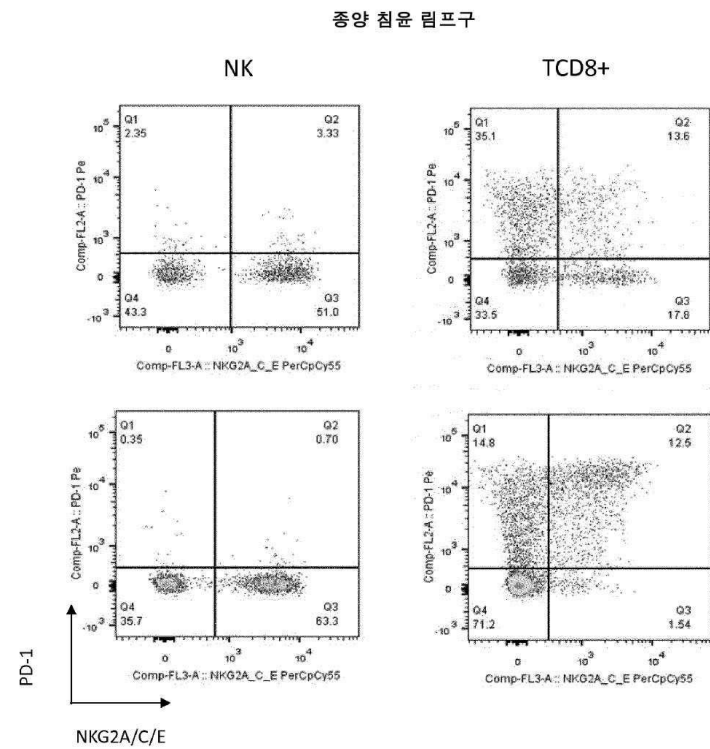
것으로 해석되어서는 안 된다.

도면

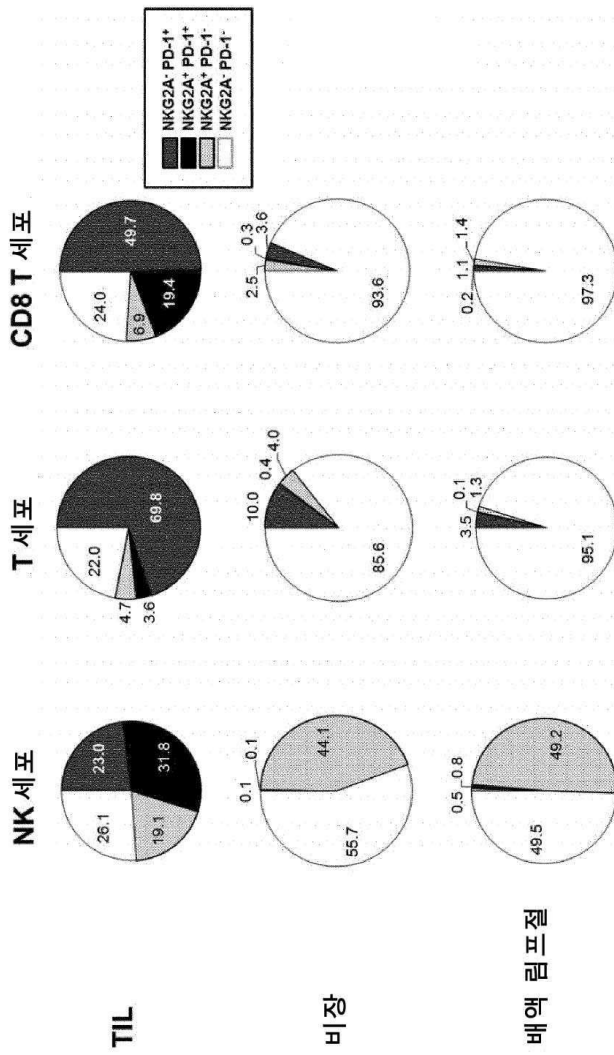
도면1a



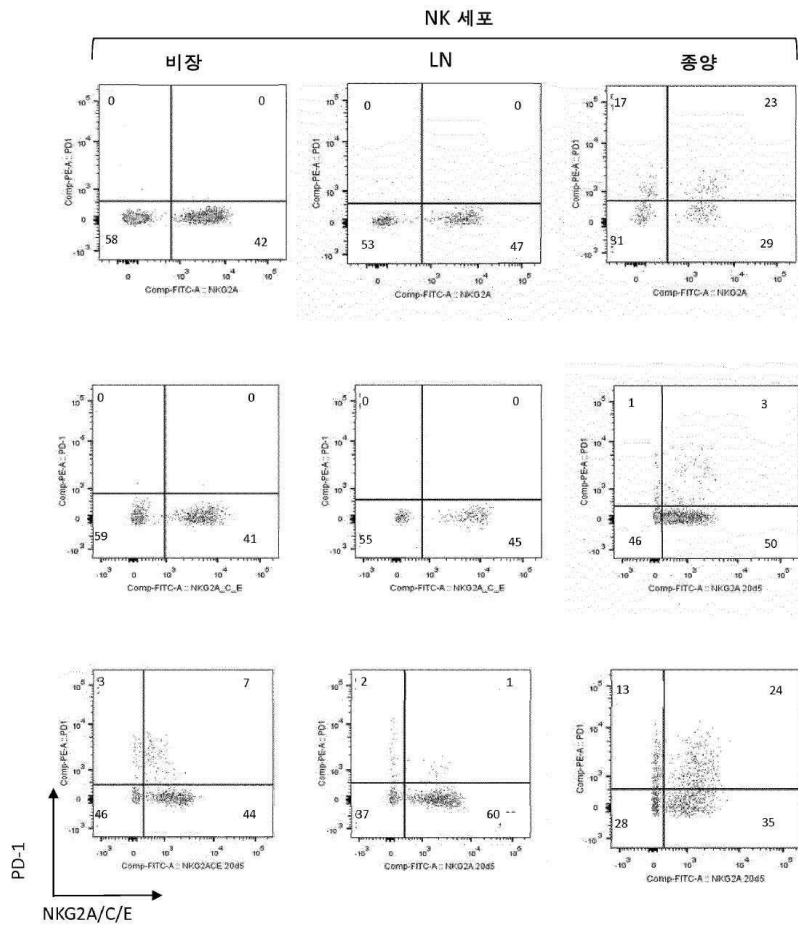
도면1b



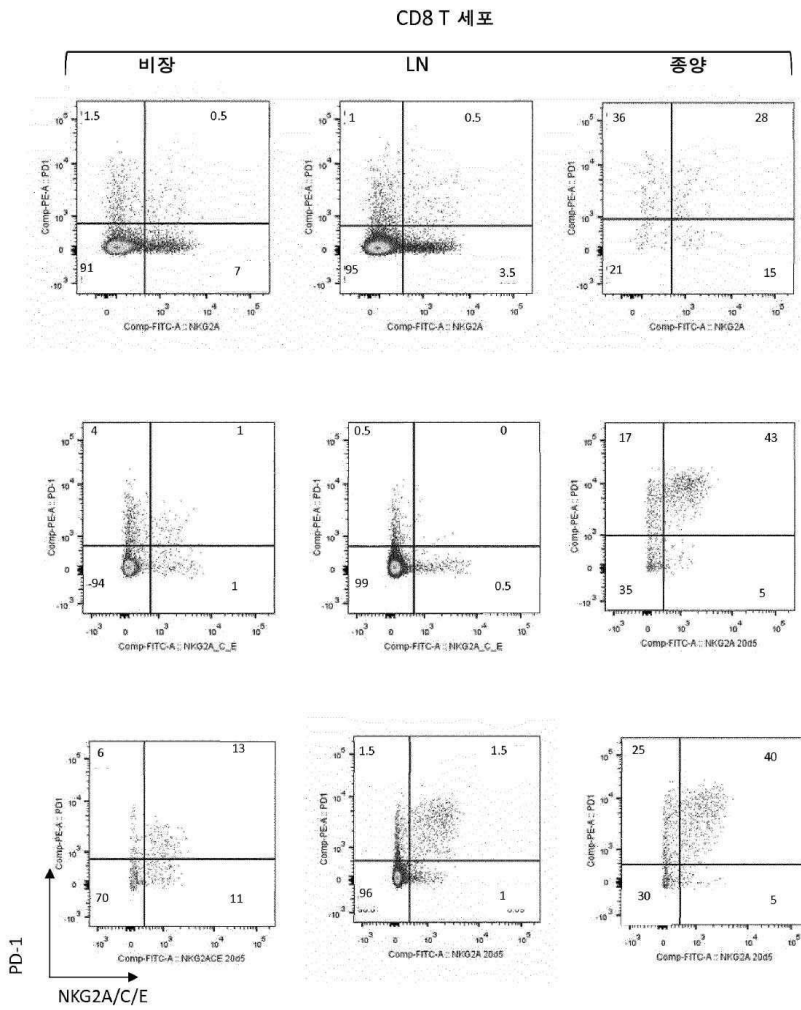
도면2



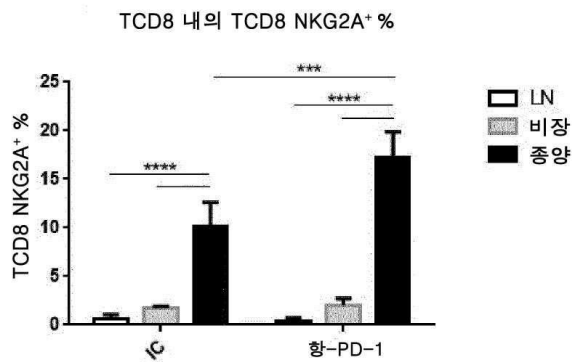
도면3a



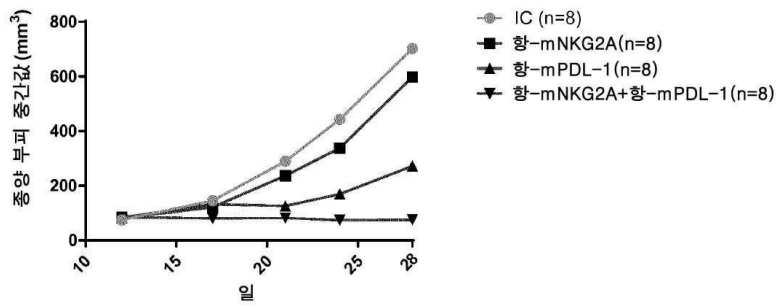
도면3b



도면4



도면5



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> INNATE PHARMA

<120> NEUTRALIZATION OF INHIBITORY PATHWAYS IN LYMPHOCYTES

<130> IP20173114FR

<150> US 62/050,948

<151> 2014-09-16

<150> US 62/083,929

<151> 2014-11-25

<150> US 62/093,141

<151> 2014-12-17

<160> 15

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Asp Asn Gln Gly Val Ile Tyr Ser Asp Leu Asn Leu Pro Pro Asn

1 5 10 15

Pro Lys Arg Gln Gln Arg Lys Pro Lys Gly Asn Lys Ser Ser Ile Leu

20 25 30

Ala Thr Glu Gln Glu Ile Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Leu Gln Lys Ala

35 40 45

Ser Gln Asp Phe Gln Gly Asn Asp Lys Thr Tyr His Cys Lys Asp Leu

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285

<210> 3
 <211> 290
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
 1 5 10 15
 Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
 20 25 30
 Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
 35 40 45
 Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
 50 55 60
 Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
 65 70 75 80
 Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
 85 90 95
 Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
 100 105 110
 Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
 115 120 125
 Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
 130 135 140
 Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
 145 150 155 160
 Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
 165 170 175
 Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
 180 185 190

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

245 250 255
 Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
 260 265 270
 Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
 275 280 285
 Glu Thr
 290

<210> 4

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Chimeric human-mouse

<400> 4

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

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

65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Phe Asp Val Gly Thr Leu Tyr Trp Phe Phe
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr 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 Glu Phe Leu
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Gly Lys
 450

<210> 6
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> chimeric human-mouse
 <400> 6

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

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Gly Lys
 450

<210> 8
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Chimeric human-mouse
 <400> 8

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Phe Asp Val Gly Thr Leu Tyr Trp Phe Phe
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr 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 Glu Phe Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser

 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr

 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

 435 440 445
 Ser Leu Gly Lys

450

<210> 9

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Chimeric human-mouse

<400> 9

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 Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu 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 His His Tyr Gly Thr Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 10
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Chimeric human-mouse
 <400> 10
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

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

85 90 95
 Thr Arg His Gly Asp Tyr Pro Arg Phe Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 11

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Chimeric human-mouse

<400> 11

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile

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

85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

Ser Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
 210 215 220

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

225 230 235 240

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Trp Val Asp Val Ser Gln Glu
 245 250 255

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Tyr Asp Gly Val Glu Val His
 260 265 270

Asn Ala Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 275 280 285

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

290 295 300

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 305 310 315 320

Thr Ile Ser Lys Ala Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 325 330 335

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 340 345 350

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

355 360 365

Asn Gly Gln Pro Glu Lys Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 370 375 380

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 385 390 395 400

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 405 410 415

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

420 425 430

<210> 13
 <211> 207
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg Thr

 85 90 95

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

 100 105 110

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Ser Gly Thr Ala Ser

 115 120 125

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Val Gln Trp

 130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Gln Asp Ser Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Leu Ser

 165 170 175

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

 180 185 190

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

 195 200 205

<210> 14

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

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 Asp Ser

20 25 30

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

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

85 90 95

Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

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 Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr

85

90

95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105