



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0004006
 (43) 공개일자 2017년01월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7035347
- (22) 출원일자(국제) 2015년05월15일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2016년12월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/031081
- (87) 국제공개번호 WO 2015/179236
 국제공개일자 2015년11월26일
- (30) 우선권주장
 62/001,534 2014년05월21일 미국(US)

- (71) 출원인
 화이자 인코포레이티드
 미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트
 235
 교와 핫꼬 기린 가부시키가이샤
 일본 도쿄도 씨요다구 오떼마찌 1조메 6-1
- (72) 발명자
 팀, 치아-양
 미국 94303 캘리포니아주 팔로 알토 코스트랜드
 드라이브 735
 첼, 시하오
 미국 94404 캘리포니아주 포스터 시티 마르케트
 레인 968
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 암을 치료하기 위한 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제의 조합

(57) 요 약

본 개시내용은 인간 CCR4에 특이적으로 결합하는 항체 및 선택적 4-1BB 효능제를 포함하는 조합 요법, 및 암을 치료하기 위한 상기 조합 요법의 용도를 기술한다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2866 (2013.01)

C07K 16/2878 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

(72) 발명자

리, 리펜

미국 94306 캘리포니아주 팔로 알토 이스트 찰스턴
로드 330

포틀루리, 쇼브하

미국 94404 캘리포니아주 포스터 씨티 니안틱 드라
이브 717

헬리, 데니스

미국 08540 뉴저지주 프린스턴 스위트 101 카네기
센터 212

마르쉘, 마가렛

미국 08540 뉴저지주 프린스턴 스위트 101 카네기
센터 212

사와다, 나오키

일본 도쿄도 나카노구 마츠가오카 2-2-13-401

명세서

청구범위

청구항 1

개체에게 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체 및 4-1BB 효능제를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 4-1BB 효능제가 4-1BB 효능제 모노클로날 항체인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항-CCR4 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 15 및 서열식별번호: 16을 포함하고; 4-1BB 효능제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 4-1BB 효능제 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 21 및 서열식별번호: 22를 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CCR4 항체가 4-1BB 효능제와 별개의 시점에 투여되는 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 고형 종양인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 두부/경부 편평 세포 암, 직장암, 결장암, 편평 세포 폐암, 갑상선암, 방광암, 흑색종, 자궁경부암, 전립선암, 유방암, 자궁/자궁내막암, 혀장암, 폐 샘암종, 난소암, 또는 유두상 신장암인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CCR4 항체가 약 0.5, 1, 2, 3, 5 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 9

개체에서 암을 치료하기 위해 4-1BB 효능제와 함께 조합하여 사용하기 위한 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체를 포함하는 의약.

청구항 10

개체에서 암을 치료하기 위해 4-1BB 효능제와 함께 조합하여 사용하기 위한 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체를 포함하는 의약이며, 여기서 항-CCR4 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 15 및 서열식별번호: 16을 포함하고; 4-1BB 효능제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 4-1BB 효능제 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 21 및 서열식별번호: 22를 포함하는 것인 의약.

청구항 11

개체에서 암을 치료하기 위해 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체와 함께 조합하여 사용하기 위한 4-1BB 효능제를 포함하는 의약.

청구항 12

개체에서 암을 치료하기 위해 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체와 함께 조합하여 사용하기 위한 4-1BB 효능제를 포함하는 의약이며, 여기서 항-CCR4 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 15 및 서열식별번호: 16을 포함하고; 4-1BB 효능제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 4-1BB 효능제 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 21 및 서열식별번호: 22를 포함하는 것인 의약.

청구항 13

제8항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CCR4 항체가 약 0.5, 1, 2, 3, 5 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여되는 것인 의약.

청구항 14

제8항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CCR4 항체가 시트레이트 완충제 (pH 5.2-5.8) 중 4 mg/mL 항-CCR4 항체, 22.5 mg/mL 글리신, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로서 제제화된 것인 의약.

청구항 15

제8항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 고형 종양인 의약.

청구항 16

제8항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 CCR4 발현에 대하여 양성 판정을 받은 것인 의약.

청구항 17

제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CCR4 항체가 KW-0761인 의약.

청구항 18

제15항에 있어서, KW-0761이 시트레이트 완충제 (pH 5.2-5.8) 중 4 mg/mL 항-CCR4 항체 KW-0761, 22.5 mg/mL 글리신, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로서 제제화된 것인 의약.

청구항 19

제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트이며, 여기서 제1 용기는 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 포함하고, 제2 용기는 4-1BB 효능제를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 포함하고, 패키지 삽입물은 의약을 사용하여 암에 대해 개체를 치료하는 것에 관한 설명서를 포함하는 것인, 키트.

청구항 20

제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트이며, 여기서 제1 용기가 항-CC 케모카인 수용체 4 (CCR4) 항체를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 포함하고, 제2 용기가 4-1BB 효능제를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 포함하고, 패키지 삽입물이 의약을 사용하여 암에 대해 개체를 치료하는 것에 관한 설명서를 포함하며, 여기서 항-CCR4 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 15 및 서열식별번호: 16을 포함하고; 4-1BB 효능제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 4-1BB 효능제 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 각각 서열식별번호: 21 및 서열식별번호: 22를 포함하는 것인 키트.

청구항 21

제17항 또는 제18항에 있어서, 설명서가 의약이 CCR4 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 가진 개체를 치료하는데 사용되도록 의도된 것임을 명시하는 것인 키트.

청구항 22

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 두부/경부 편평 세포 암, 직장암, 결장암, 편평 세포 폐암, 갑상선암, 방광암, 흑색종, 자궁경부암, 전립선암, 유방암, 자궁/자궁내막암, 췌장암, 폐 샘암종, 난소암, 또는

유두상 신장암인 방법, 용도, 또는 키트.

청구항 23

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 CCR4 발현에 대해 양성 반응을 보이는 고형 종양이고, 두부/경부 편평 세포 암, 직장암, 결장암, 편평 세포 폐암, 갑상선암, 방광암, 흑색종, 자궁경부암, 전립선암, 유방암, 자궁/자궁내막암, 췌장암, 폐 샘암종, 난소암, 및 유두상 신장암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법, 용도, 또는 키트.

청구항 24

제20항에 있어서, 암이 진행성 또는 전이성 고형 종양인 방법, 용도, 또는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 2014년 5월 21일 출원된 미국 가출원 번호 62/001,534의 이익을 주장하고, 상기 출원은 모든 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0003]

발명의 분야

[0004]

본 발명은 암 치료에 유용한 조합 요법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 인간 CC 케모카인 수용체 4 (CCR4)에 특이적으로 결합하는 항체 및 4-1BB 단백질의 효능제를 포함하는 조합 요법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

케모카인은 정상적인 면역 감시 및 반응뿐만 아니라, 조혈, 혈관신생, 바이러스 감염 제어, 및 T 세포 분화에서 수개의 다른 기능에 필수적인 기저 백혈구 트래픽킹의 중요 성분으로서 인식되어 왔다 ([Berggolm et al., Ann. Rev. Immunol. 15:675 (1997)]; [Zou et al., Nature 393:595 (1998)]; [Tachibana et al., Nature 393:591 (1998)]). 염증성 질환의 개시 및 유지에서의 그의 중요한 역할과 함께, 예컨대, 화학주성, 탈과립화, 지질 매개인자 합성, 및 인테그린 활성화의 촉발과 같이, 백혈구에 대해 미치는 다양한 염증유발 작용의 매개를 비롯한 이러한 다양한 생물학적 활성으로 인해 케모카인과 케모카인 수용체는 치료 표적의 매력적인 새로운 세트가 되어 왔다.

[0006]

케모카인 수용체 4 (CCR4)는 파워(Power) 등 ([J. Biol. Chem. 270:19495-19500 (1995)]; 진뱅크 수탁 번호 (Genbank accession number) X85740) 및 마이어(Meyer) 등 ([J. Biol. Chem. 271(24):14445-14451 (1996)]; 진뱅크 수탁 번호 X94151)에 의해 확인되었다. CCR4는 Th2 세포 및 조절 T 세포 상에서 선택적으로 발현되는 7-막횡단 G-단백질 커플링된 수용체이다 (D'Ambrosio, et al. J. Immunol. 161:5111-5115 (1998)). 정상 세포, 예컨대, Th2 세포 상에서의 CCR4 발현은 리간드, 특히 대식세포-유도된 케모카인 (MDC)에 의해 부분적으로 조절될 수 있는 반면 (Mariani et al., Eur. J. Immunol. 34:231-240 (2004)), 암 세포 상에서의 리간드에 의한 조절은 아직까지 이해되고 있지 않다. 항-CCR4 모노클로날 항체는 이펙터-유형의 FoxP3⁺CD4⁺ 조절 T 세포를 선택적으로 고갈시켜 인간에서 항종양 면역 반응을 일으키는 것으로 밝혀졌다 (Sugiyama et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 110(44):17945-17950 (2003)).

[0007]

KW-0761 (모가뮬리주맙(mogamulizumab) 또는 포텔리지오(POTELIGEO)TM)은 일본에서 재발성 또는 불응성 CCR4-양성 성인 T 세포 백혈병/림프종 및 재발성 또는 불응성 CCR4-양성 말초 T 세포 림프종 (PTCL) 및 피부 T 세포 림프종 (CTCL)용으로서 승인을 받은 것이다. KW-0761은, CCR4 발현 세포를 표적으로 하여 ADCC를 통해 CCR4 발현 T-лим프구를 고갈시킬 수 있는 능력을 보인, 이뮤노글로불린 G, 하위부류 1 (IgG1) 카파 이소형의 인간화 모노클로날 항체이다. KW-0761은 불변 (Fc) 영역에서 복합체 유형의 올리고사카라이드로부터의 탈푸코실화에 기인하여 증강된 ADCC 활성을 갖는다 ([Ishii et al., Clinical Cancer Research 16: 1520-31 (2010)]; [Shitara et al., Human CDR-grafted antibody and antibody fragment thereof], 미국 특허 번호 7,504,104; 미국 특허 번호 8,491,901).

- [0008] 활성화된 T 세포 상에서 발현된 유도성 공동자극 수용체로서 최초로 확인된 4-1BB (CD137 및 TNFRSF9)는 종양 괴사 인자 (TNF) 수용체 슈퍼페밀리의 막 관통 당단백질이다. 현 시점의 4-1BB에 관한 이해는 발현이 일반적으로 활성화 의존성이고, 활성화된 NK 및 NKT 세포, 조절 T 세포, 수지상 세포 (DC) (여포 DC 포함), 자극받은 비만 세포, 분화 골수 세포, 단핵구, 호중구, 호산구 (Wang et al., *Immunol Rev.* 229(1):192-215 (2009)), 및 활성화된 B 세포 (Zhang et al., *J Immunol.* 184(2):787-795 (2010))를 비롯한 광범위한 면역 세포 하위세트를 포함한다는 것을 나타낸다. 4-1BB 발현은 또한 종양 혈관계 ([Broll K et al., *Am J Clin Pathol.* 115(4):543-549 (2001)]; [Seaman et al., *Cancer Cell* 11(6):539-554 (2007)]) 및 아테롬성동맥경화성 내피 (Olofsson et al., *Circulation* 117(10):1292-1301 (2008)) 상에서도 입증되었다. 4-1BB를 자극시키는 리간드 (4-1BBL)는 활성화된 항원-제시 세포 (APC), 골수 전구세포 및 조혈 줄기 세포 상에서 발현된다.
- [0009] B 세포 수용체 관여 시점에 활성화된 정상 인간 B 세포 상의 4-1BB와 그의 리간드의 상호작용이 증식을 자극시키고, 생존을 증강시킨다 (Zhang et al., *J Immunol.* 184(2):787-795 (2010)). B 세포 림프종에서 4-1BB 관여가 미치는 잠재적인 영향이 2개의 공개된 연구에서 조사된 바 있다. 여러 유형의 인간 원발성 NHL 샘플에 관한 평가에서 4-1BB는 림프종 세포보다는 침윤성 T 세포 상에서 우세하게 발현된 것으로 나타났다 (Houot et al., *Blood* 114(16):3431-3438 (2009)). 리툭시맙 및 NK 세포와 함께 B 림프종 세포의 시험관내 배양물에 4-1BB 효능제를 첨가한 결과, 림프종 사멸이 증가하였다 (Kohrt et al., *Blood* 117(8):2423-2432 (2011)). 또한, 시노몰구스 원숭이에서 PF-05082566 (항-4-1BB 효능제 모노클로날 항체)을 0.001-100 mg/kg의 용량으로 사용하여 2개의 실험에서 B 세포 면역 표현형 분석을 수행하였는데; 이들 실험에서 말초 혈액 B 세포 수는 변함이 없거나, 또는 감소하였다.
- [0010] 4-1BB는 나이브(naive) T 세포의 표면 상에서는 검출불가능하지만, 활성화시 발현이 증가한다. 4-1BB 활성화시, TNFR-연관 인자 (TRAF) 패밀리의 생존-촉진 구성원인 TRAF-1 및 TRAF-2는 4-1BB 세포질 테일로 동원되고, 이로써 NF_κB, 및 ERK, JNK, 및 p38 MAP 키나제를 비롯한 미토겐 활성화 단백질 (MAP) 키나제 캐스캐이드 하류의 활성화가 이루어진다. NF_κB 활성화는 Bcl-2 패밀리의 생존-촉진 구성원인 Bfl-1 및 Bcl-XL을 상향조절시킨다. 아폽토시스 촉진 단백질인 Bim은 TRAF-1 및 ERK 의존성 방식으로 하향조절된다 (Sabbagh et al., *J Immunol.* 180(12):8093-8101 (2008)).
- [0011] 보고에 따르면, 4-1BB 효능제 mAb가 다양한 모델에서 공동자극 분자 발현을 증가시키고, 세포용해 T 림프구 반응을 현저히 증강시킴으로써 항종양 효능을 일으키는 것으로 밝혀졌다. 4-1BB 효능제 mAb는 단독요법 및 조합요법 둘 다에 대한 예방적 및 치료적 환경에서 효능을 보였고, 지속적인 항종양 보호성 T 세포 기억 반응을 확립하였다 (Lynch et al., *Immunol Rev.* 222:277-286 (2008)). 4-1BB 효능제는 또한 다양한 자가면역 모델에서 자가면역 반응을 억제시킨다 (Vinay et al., *J Mol Med* 84(9):726-736 (2006)).
- ### 발명의 내용
- [0012] 본원에서는 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 개체에게 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0013] 의약 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 의약은 암 치료를 위해 4-1BB 효능제와 함께 조합하여 사용하기 위한 항-CCR4 항체를 포함한다. 다른 실시양태에서, 의약은 암 치료를 위해 항-CCR4 항체와 함께 조합하여 사용하기 위한 4-1BB 효능제를 포함한다.
- [0014] 다른 실시양태는 4-1BB 효능제와 함께 조합하여 투여될 때 개체에서의 암 치료용 의약 제조에서의 항-CCR4 항체의 용도, 및 항-CCR4 항체와 함께 조합하여 투여될 때 개체에서의 암 치료용 의약 제조에서의 4-1BB 효능제의 용도를 제공한다.
- [0015] 다른 실시양태는 개체에서의 암 치료용 의약 제조에서의 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 의약은 키트를 포함하고, 키트는 또한 개체에서 암을 치료하기 위해 4-1BB 효능제와 함께 조합하여 항-CCR4 항체를 사용하는 것에 관한 사용 설명서를 포함하는 패키지 삽입물도 포함한다.
- [0016] 일부 실시양태에서, 본 방법은 개체에게 CD4⁺ T 세포를 고갈시키는 작용제, 및 4-1BB 효능제를 포함하는 조합요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD4⁺ T 세포는 FoxP3⁺CD4⁺ 조절 T 세포이다. 일부 실시양태에서, CD4⁺ T 세포를 고갈시키는 작용제는 FoxP3⁺CD4⁺ 조절 T 세포를 선택적으로 고갈시킨다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 개체에게 CD4⁺ T 세포를 고갈시키는 작용제, 4-1BB 효능제, 및 PD-1 길항제를 포함하는 조합

요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD4⁺ T 세포를 고갈시키는 작용제는 항-CCR4 항체 또는 항-CD4 항체이다.

[0017] 일부 실시양태에서, 본 방법은 개체에게 항-CCR4 항체, 4-1BB 효능제, 및 PD-1 길항제를 포함하는 조합 요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 개체에게 항-CD4 항체, 4-1BB 효능제, 및 PD-1 길항제를 포함하는 조합 요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, PD-1 길항제는 PD-L1의 PD-1에의 결합을 억제시킨다. 일부 실시양태에서, PD-1 길항제는 또한 PD-L2의 PD-1에의 결합을 억제시킨다. 상기 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, PD-1 길항제는 PD-1에 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하고, PD-L1의 PD-1에의 결합을 차단하는 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0018] 조합 요법은 또한 하나 이상의 추가 치료제를 포함할 수 있다. 추가 치료제는 예컨대, 화학요법제, 생물요법제 (VEGF, VEGFR, EGFR, Her2/neu, 다른 성장 인자 수용체, CD20, CD40, CD-40L, CTLA-4, OX-40, 4-1BB, PD-1, TIM-3, LAG-3, GITR, CD137, ICOS, CD28, CD27, HVEM, BTLA, VISTA, CCR8, TIGIT, CD4, ARHGEF6, IKZF1, PTPRC, DOCK2, CCR4, CCR5, IL21R, IL2RB, NCKAP1L, SLAMF1, ITGAL, IL10RA, P2RY10, IL2RA, FMNL1, DOCK10, ITK, SASH3, KIAA0748, LCP2, TNFRSF9 (4-1BB, CD137), CYBB, 및 CTLA4에 대한 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않음), 면역원성 작용제 (예를 들어, 약독화된 암성 세포, 종양 항원, 항원 제시 세포, 예컨대, 종양 유도된 항원 또는 핵산으로 펼성된 수지상 세포, 면역 자극 시토카인 (예를 들어, IL-2, IFN α 2, GM-CSF), 및 면역 자극 시토카인, 예컨대, 제한하는 것은 아니지만, GM-CSF를 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포일 수 있다.

[0019] 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 인간 CCR4에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 CD4⁺ T 세포를 선택적으로 고갈시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는, 중쇄 및 경쇄가 도 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 (서열식별번호(SEQ ID NO): 15 및 서열식별번호: 16)를 포함하되, 단, 서열식별번호: 15의 C-말단 리신 잔기는 임의로 존재하지 않는 것인 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있다.

[0020] 치료 방법, 의약 및 용도의 상기 실시양태 모두에서, 4-1BB 효능제는 4-1BB이 세포외 도메인에 결합하고, 4-1BB에 효능작용할 수 있다. 상기 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0021] 일부 실시양태에서, 단리된 항체는 서열식별번호: 26의 아미노산 잔기 115 - 156 내에 위치하는 에피토프에서 인간 4-1BB에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 27의 H-CDR1 아미노산 서열, 서열식별번호: 28의 H-CDR2 아미노산 서열, 및 서열식별번호: 29의 H-CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 서열식별번호: 30의 L-CDR1 아미노산 서열, 서열식별번호: 31의 L-CDR2 아미노산 서열, 및 서열식별번호: 32의 L-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0022] 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 서열식별번호: 19에 기재된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0023] 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 서열식별번호: 20에 기재된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0024] 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 서열식별번호: 19에 기재된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하고 서열식별번호: 20에 기재된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 추가로 포함하되, 단, 서열식별번호: 21의 C-말단 리신 잔기는 임의로 존재하지 않는 것인 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0025] 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 서열식별번호: 21에 기재된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하고, 서열식별번호: 22에 기재된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 추가로 포함하되, 단, 서열식별번호: 21의 C-말단 리신 잔기는 임의로 존재하지 않는 것인 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0026] 본 발명의 상기 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 개체는 인간이고, 암은 고형 종양이고, 일부 실시양태에서, 고형 종양은 방광암, 유방암, 투명 세포 신장암, 결장암, 두부/경부 편평 세포 암종, 직장암, 폐 편평 세포 암종, 갑상선암, 방광암, 자궁경부암, 자궁암, 자궁내막암, 폐 샘암종, 난소암, 유두상 신장암, 악성 흑색종, 비소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암, 소세포 폐암 (SCLC) 또는 심중 음성 유방암이다. 일부 실시양태에서, 암은 진행성 고형 종양 악성 종양이다.

[0027] 본 발명의 상기 치료 방법, 의약 및 용도의 다른 실시양태에서, 개체는 인간이고, 암은 헴(Heme) 악성 종양이고, 일부 실시양태에서, 헴 악성 종양은 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성

림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), EBV-양성 DLBCL, 원발성 종격동 대 B 세포 림프종, T 세포/조직구-풍부한 대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 호지킨(Hodgkin's) 림프종 (HL), 외투 세포 림프종 (MCL), 다발성 골수종 (MM), 골수 세포 백혈병-1 단백질 (Mc1-1), 골수이형성 증후군 (MDS), 비-호지킨 림프종 (NHL), 또는 소림프구성 림프종 (SLL)이다.

[0028] 상기 치료 방법, 의약 및 용도 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 암은 CCR4의 발현에 대하여 양성 판정을 받은 것이다. 일부 실시양태에서, 암은 CCR4 발현이 상승된 것이다.

[0029] 상기 치료 방법, 의약 및 용도 중 어느 것의 일부 실시양태에서, 개체는 인간이고, 암은 인간 CCR4에 대하여 양성 판정을 받은 진행성 고형 종양이다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 본 발명에서 유용한 예시적인 항-CCR4 모노클로날 항체에 대한 경쇄 및 중쇄 CDR의 아미노산 서열 (서열식별번호: 1-6)을 도시한 것이다.

도 2는 본 발명에서 유용한 또 다른 예시적인 항-CCR4 모노클로날 항체에 대한 경쇄 및 중쇄 CDR의 아미노산 서열 (서열식별번호: 7-12)을 도시한 것이다.

도 3은 본 발명에서 유용한 예시적인 항-CCR4 모노클로날 항체에 대한 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 13 및 서열식별번호: 14)을 도시한 것이다.

도 4는 항-CCR4 모노클로날 항체 KW-0761에 대한 전장의 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열 (각각 서열식별번호: 15 및 16), 및 항-CCR4 모노클로날 항체 KW-0761에 대한 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (각각 서열식별번호: 17 및 18)을 도시한 것이다.

도 5는 항-PD-1 항체 니볼루맙에 대한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열 (각각 서열식별번호: 23 및 24)을 도시한 것이다.

도 6은 4-1BB 효능제 항체에 대한 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (각각 서열식별번호: 19 및 20)을 도시한 것이다.

도 7은 4-1BB 효능제 항체에 대한 중쇄 CDR 서열의 아미노산 서열 (서열식별번호: 27, 28, 및 29), 및 경쇄 CDR 서열의 아미노산 서열 (서열식별번호: 30, 31, 및 32)을 도시한 것이다.

도 8은 PF-05082566에 대한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열 (각각 서열식별번호: 21 및 22)을 도시한 것이다.

도 9는 B16 흑색종 모델에서 4-1BB 효능제 항체 치료, PD-1 길항제 항체 치료, 및 조합 치료가 CD4+ T 세포 고갈에 미치는 효과를 보여주는 그래프를 도시한 것이다.

도 10은 CT26 결장 종양 모델에서 CD4+ T 세포 고갈이 4-1BB 효능제 항체 치료, PD-1 길항제 항체 치료, 및 조합 치료에 미치는 효과를 보여주는 그래프를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] **약어**. 본 발명의 상세한 설명 및 실시예 전역에 걸쳐, 하기 약어가 사용될 것이다:

[0032] BID 1일 2회 1회분 투여

[0033] CDR 상보성 결정 영역

[0034] CHO 차이니즈 햄스터 난소

[0035] DFS 무질환 생존

[0036] DLT 용량 제한 독성

[0037] FFPE 포르말린-고정, 파라핀-포매

[0038] FR 프레임워크 영역

[0039] HNSC 두부/경부 편평 세포 암종.

[0040] IgG 이뮤노글로불린 G

- [0041] IHC 면역조직화학법 또는 면역조직화학적
- [0042] MDSC 골수성 유래 억제 세포
- [0043] MTD 최대 허용 용량
- [0044] NCBI 미국 국립 생물 공학 정보 센터(National Center for Biotechnology Information)
- [0045] NCI 미국 국립 암 연구소(National Cancer Institute)
- [0046] OR 전체 반응
- [0047] OS 전체 생존
- [0048] PD 진행성 질환
- [0049] PFS 무진행 생존
- [0050] PR 부분 반응
- [0051] Q1W 매주 1회 투여
- [0052] Q2W 2주마다 1회 투여
- [0053] Q3W 3주마다 1회 투여
- [0054] Q4W 4주마다 1회 투여
- [0055] QD 1일 1회 투여
- [0056] RECIST 고형 종양의 반응 평가 기준(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)
- [0057] SD 질환의 안정 상태
- [0058] VH 이뮤노글로불린 중쇄 가변 영역
- [0059] VK 이뮤노글로불린 카파 경쇄 가변 영역
- [0060] I. 정의
- [0061] 본 발명이 보다 용이하게 이해될 수 있도록 하기 위해, 특정 기술 및 과학 용어가 하기에 구체적으로 정의된다. 본 문서의 다른 곳에서 구체적으로 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 다른 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 가진다.
- [0062] 수치로 정의되는 파라미터 (예컨대, 항-CCR4 항체 또는 4-1BB 효능제의 용량, 또는 본원에 기술된 조합 요법을 사용하는 치료 기간)를 수식하는 데 사용되는 경우 "약"은 파라미터가 그 파라미터에 대해 언급된 수치 값의 10% 미만 또는 그 초과만큼 달라질 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 약 5 mg/kg인 용량은 4.5 mg/kg 내지 5.5 mg/kg 사이에서 달라질 수 있다.
- [0063] 첨부된 청구범위를 비롯한 본원에서 사용된 단수 형태의 단어, 예컨대, "하나" 및 "그"라는 것은 문맥상 달리 명백하게 지시되지 않는 한, 그의 상응하는 복수 지시대상을 포함한다.
- [0064] 동물, 인간, 실험 대상체, 세포, 조직, 기관, 또는 생물학적 유체에 적용되는 바, "투여" 및 "치료"는 외인성 제약, 치료제, 진단제, 또는 조성물을 동물, 인간, 대상체, 세포, 조직, 기관, 또는 생물학적 유체와 접촉시키는 것을 의미한다. 세포의 치료는 시약을 세포와 접촉시키는 것 뿐만 아니라, 시약을 세포와 접촉되어 있는 유체와 접촉시키는 것을 포함한다. "투여" 및 "치료"는 또한 시약, 진단제, 결합 화합물에 의한, 또는 또 다른 세포에 의한, 예컨대, 세포의, 시험관내 및 생체외 치료를 의미한다. "대상체"라는 용어는 임의의 유기체, 바람직하게는 동물, 보다 바람직하게는 포유동물 (예컨대, 래트, 마우스, 개, 고양이, 토끼) 및 가장 바람직하게는 인간을 포함한다.
- [0065] "제약상 허용되는 담체"라는 용어는 결합 분자 전달용 제제에서의 사용에 적합한 임의의 불활성 물질을 의미한다. 담체는 부착방지제, 결합제, 코팅제, 봉해제, 충전제 또는 희석제, 보존제 (예컨대, 항산화제, 항박테리아제 또는 항진균제), 감미제, 흡수 지연제, 습윤제, 유화제, 완충제 등일 수 있다. 적합한 제약상 허용되는 담체의 예로는 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등) 텍스트로스, 식물성 오일 (예컨대, 올리브 오일), 염수, 완충제, 완충 염수, 및 등장화제, 예컨대, 당, 폴리알콜, 소르비톨,

및 염화나트륨을 포함한다.

[0066]

본원에서 사용된 "항체"라는 용어는 목적하는 생물학적 또는 결합 활성을 나타내는 임의 형태의 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 따라서, 이는 가장 넓은 의미로 사용되고, 구체적으로 모노클로날 항체 (전장의 모노클로날 항체 포함), 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예컨대, 이중특이적 항체), 인간화, 완전 인간 항체, 키메라 항체 및 카멜화 단일 도메인 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. "모체 항체"는 의도된 용도를 위한 항체의 변형, 예컨대, 인간 치료제로서의 용도를 위한 항체의 인간화 이전에 면역계를 항원에 노출시켜 수득된 항체이다. 본원에서 사용된 "항체"라는 용어는 무손상 폴리클로날 또는 모노클로날 항체 뿐만 아니라, 달리 명시되지 않는 한, 특이적 결합에 대하여 무손상 항체와 경쟁하는 임의의 그의 항원 결합 부분, 항원 결합 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위를 포함하는 이뮤노글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 배위도 포함한다. 항원 결합 부분은 예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, 도메인 항체 (dAb, 예컨대, 샤크 및 카멜리드 항체), 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함하는 단편, 단일 쇄 가변 단편 항체 (scFv), 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv, 및 폴리펩티드에 특이적인 항원 결합을 부여하는 데 충분한 이뮤노글로불린의 적어도 일부를 함유하는 폴리펩티드를 포함한다. 항체는 임의 부류의 항체, 예컨대, IgG, IgA, 또는 IgM (또는 그의 하위부류)를 포함하고, 항체는 임의의 특정 부류 중의 하나일 필요는 없다. 그의 중쇄의 불변 영역의 항체 아미노산 서열에 의존하여, 이뮤노글로불린은 상이한 부류로 배정될 수 있다. 이뮤노글로불린에는 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이 존재하고, 이들 중 수개의 것으로 하위부류 (이소형), 예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 추가로 나뉠 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 영역은 각각 알파, 텔타, 엡실론, 감마, 및 뮤로 불린다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린의 서브유니트 구조 및 3차원 입체배치는 널리 공지되어 있다.

[0067]

본원에서 사용되는 바, "4-1BB 항체"라는 용어는 본원에서 정의되는 바와 같이, 인간 4-1BB 수용체에 결합할 수 있는 항체를 의미한다.

[0068]

본원에서 사용되는 바, "가변 영역" 또는 "V 쇄"는 상이한 항체 사이의 서열이 가변적인 IgG 쇄의 세그먼트를 의미한다. 이는 경쇄 중 카바트(Kabat) 잔기 109번 및 중쇄 중 113번까지 이어진다. 항체의 "가변 영역"은 단독의 또는 조합 상태의 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 포함한다. 전형적으로, 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 영역은 비교적 보존된 프레임워크 영역 (FR) 내에 위치하는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 불리는 3개의 초가변 영역을 포함한다. CDR은 통상적으로 프레임워크 영역과 정렬되며, 이는 특이적 에피토프에 결합하는 것을 가능하게 한다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다는 N-말단에서 C-말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 아미노산을 각 도메인에 배정하는 것은 일반적으로 문헌 [Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.]; [NIH Publ. No. 91-3242 (1991)]; [Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75]; [Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616]; [Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196:901-917] 또는 [Chothia, et al., (1989) Nature 342:878-883]의 정의에 따른다.

[0069]

본원에서 사용된 "초가변 영역"이라는 용어는 항원-결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR" (즉, 경쇄 가변 도메인의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3, 및 중쇄 가변 도메인의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3)로부터의 아미노산 잔기를 포함한다. (서열에 의해 항체의 CDR 영역을 정의하는) 문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md]를 참조할 수 있고; (구조에 의해 항체의 CDR 영역을 정의하는) 문헌 [Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917]을 참조할 수 있다. 본원에서 사용된 "프레임워크" 또는 "FR" 잔기라는 용어는 CDR 잔기로서 본원에 정의된 초가변 영역 잔기 이외의 상기 가변 도메인 잔기를 지칭한다.

[0070]

달리 명시되지 않는 한, 본원에서 사용된 "항체 단편" 또는 "항원 결합 단편"은 항체의 항원 결합 단편, 즉 전장의 항체에 의해 결합된 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 능력을 보유하는 항체 단편, 예컨대, 하나 이상의 CDR 영역을 보유하는 단편을 의미한다. 항체 결합 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 단일 쇄 항체 분자, 예컨대, sc-Fv; 나노바디 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0071]

명시된 표적 단백질에 "특이적으로 결합하는" 항체는 다른 단백질에 비해 그 표적에 대해 우선적인 결합을 나타내는 항체이지만, 이 특이성이 절대적인 결합 특이성을 요구하는 것은 아니다. 항체는 그의 결합이, 예컨대,

가양성과 같은 원치 않는 결과를 생성하지 않으면서, 샘플 중 표적 단백질의 존재를 결정하는 경우, 그의 의도된 표적에 대해 "특이적"인 것으로 간주된다. 본 발명에 유용한 항체는 비-표적 단백질과의 친화도보다 2배 이상 더 큰, 바람직하게는 10배 이상 더 큰, 더욱 바람직하게는 20배 이상 더 큰, 가장 바람직하게는 100배 이상 더 큰 친화도로 표적 단백질에 결합할 것이다. 본원에서 사용되는 바, 항체가 주어진 아미노산 서열, 예컨대, 성숙 인간 PD-1 또는 인간 PD-L1 분자의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에는 결합하지만, 그 서열이 결핍되어 있는 단백질에는 결합하지 않는다면, 항체는 그 서열을 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 것으로 지칭된다.

[0072] "키메라 항체"란, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부는 특정한 종 (예컨대, 인간)으로부터 유래되거나, 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나, 상동성이고, 나머지 쇄 (들)는 또 다른 종 (예컨대, 마우스)으로부터 유래되거나, 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나, 상동성인 항체뿐만 아니라, 이들이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 이러한 항체의 단편을 의미한다.

[0073] "인간 항체"란, 오직 인간 이뮤노글로불린 단백질 서열만을 포함하는 항체를 의미한다. 인간 항체가 마우스, 마우스 세포, 또는 마우스 세포로부터 유래된 하이브리도마에서 생산되는 경우, 이는 뮤린 탄수화물 쇄를 함유할 수 있다. 유사하게, "마우스 항체" 또는 "래트 항체"는 각각 오직 마우스 또는 래트 이뮤노글로불린 서열만을 포함하는 항체를 의미한다.

[0074] "인간화 항체"란, 비인간 (예컨대, 뮤린) 항체 뿐만 아니라, 인간 항체로부터의 서열을 함유하는 형태의 항체를 지칭한다. 이러한 항체는 비인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유한다. 일반적으로, 인간화 항체는 1개 이상, 전형적으로, 2개의 가변 도메인 모두를 실질적으로 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 또한 임의적으로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로, 인간 이뮤노글로불린의 것을 포함할 것이다. "hum," "hu" 또는 "h"라는 접두사는 필요한 경우, 인간화 항체를 모체 설치류 항체와 구분하기 위해 항체 클론 명칭에 추가된다. 설치류 항체의 인간화 형태는 일반적으로 모체 설치류 항체의 동일한 CDR 서열을 포함하겠지만, 친화도를 증가시키기 위해, 인간화 항체의 안정성을 증가시키기 위해, 또는 다른 이유를 위해 특정 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

[0075] "암," "암성," 또는 "악성"이라는 용어는 전형적으로 비조절된 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 형태를 의미하거나, 기술한다. 암의 예로는 암종, 림프종, 백혈병, 모세포종, 및 육종을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 상기 암의 더욱 특정한 예는 편평 세포 암종, 폐 샘암종, 두부/경부 편평 세포 암, 골수종, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 신경교종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병 (AML), 다발성 골수종, 위장 (관) 암, 직장암, 신장암, 난소암, 간암, 림프모구성 백혈병, 림프구성 백혈병, 결장직장암, 자궁 내막암, 신장암, 전립선암, 갑상선암, 흑색종, 연골육종, 신경모세포종, 췌장암, 다형성 교모세포종, 골암, 유잉육종, 자궁경부암, 뇌암, 위암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장 암종, 자궁암, 난소암, 및 두부경부암을 포함한다. 악성인지 또는 양성인지 상관없이, 및 원발성인지 또는 속발성인지 상관없이, 4-1BB 또는 CCR4가 연루되어 있는 각종 암은 본 개시내용에 의해 제공되는 방법을 이용하여 치료 또는 예방될 수 있다. 본 발명에 따라 치료될 수 있는 특히 바람직한 암으로는 시험된 조직 샘플에서의 CCR4의 발현을 특징으로 하는 것을 포함한다.

[0076] "생물요법제"는 종양 유지 및/또는 성장을 지지하거나, 항종양 면역 반응을 억제하는 임의의 생물학적 경로에서의 리간드/수용체 신호전달을 차단하는 생물학적 분자, 예컨대, 항체 또는 융합 단백질을 의미한다.

[0077] 본원에서 사용되는 바, "CDR" 또는 "CDR들"이란, 달리 명시되지 않는 한, 카바트 넘버링(Kabat numbering) 체계를 사용하여 규정된, 이뮤노글로불린 가변 영역 중의 상보성 결정 영역(들)을 의미한다.

[0078] "화학요법제"는 암 세포의 사멸을 유발할 수 있거나, 또는 암 세포의 성장, 분열, 수복, 및/또는 기능을 방해할 수 있는 화학적 또는 생물학적 물질을 의미한다. 화학요법제의 예로는 WO 2006/129163, 및 US 20060153808 (상기 문헌의 개시내용은 본원에서 참조로 포함된다)에 개시되어 있는 것을 포함한다. 화학요법제 부류로는 알킬화제, 항대사산물, 키나제 억제제, 방추체 독 식물 알칼로이드, 세포독성/항종양 항생제, 토포이소머라제 억제제, 광감작제, 항-에스트로겐제 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 항-프로게스테론제, 에스트로겐 수용체 하향-조절제 (ERD), 에스트로겐 수용체 길항제, 항체형성 호르몬-방출 호르몬 효능제, 항-안드로겐제, 아로마타제 억제제, EGFR 억제제, VEGF 억제제, 비정상 세포 증식 또는 종양 성장에 연루된 유전자의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 치료 방법에 유용한 화학요법제는 세포증식 억제제 및/또는 세포독성제를 포함한다.

- [0079] 본 개시내용에 의해 제공되는 항체 및 조성물은 임의의 적합한 장관 경로 또는 비경구 경로 투여를 통해 투여될 수 있다. "장관 경로" 투여라는 용어는 위장관 중의 임의의 부분을 통한 투여를 의미한다. 장관 경로의 예로는 경구, 점막, 협측, 및 직장 경로, 또는 위내 경로를 포함한다. "비경구 경로" 투여는 장관 경로 이외의 경로의 투여를 의미한다. 비경구 경로 투여의 예로는 정맥내, 근육내, 진피내, 복강내, 종양내, 방광내, 동맥내, 척추강내, 관절낭내, 안와내, 심장내, 경기관, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내, 피하, 또는 국소 투여를 포함한다. 본 개시내용의 항체 및 조성물은 임의의 적합한 방법을 사용하여, 예컨대, 경구 섭취, 경비위관, 위루관, 주사, 주입, 이식형 주입 펌프, 및 삼투 펌프에 의해 투여될 수 있다. 적합한 투여 경로 및 투여 방법은 예컨대, 사용되는 특정 항체, 원하는 흡수 속도, 사용되는 특정 제제 또는 투여 형태, 치료되는 장애 유형 또는 증증도, 특정 작용 부위, 및 환자 상태와 같은 다수의 인자에 의존하여 달라질 수 있고, 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 쉽게 선택될 수 있다.
- [0080] 의약 투여와 관련하여 본원에서 사용되는 바, "동시 투여"라는 용어는 개별 의약이 같은 시점에 대상체 내에 존재하도록 의약을 투여하는 것을 의미한다. (동일한 또는 대체 경로를 통해 이루어지는) 의약의 병용 투여 이외에도, 동시 투여는 다른 시점에 (동일한 또는 대체 경로를 통해 이루어지는) 의약의 투여를 포함할 수 있다.
- [0081] 효과 A 및 B 를 가진 2개의 단일 화합물에 대한 블리스 독립 조합 반응(Bliss independence combined response) C 는 $C = A + B - A*B$ (여기서, 각 효과는 0 내지 1 사이의 분수값인 억제치로서 표현된다)이다. (참고 문헌: [Bliss (1939) *Annals of Applied Biology*]). 실험 반응과 계산된 블리스 독립 값 사이의 차로 정의되는 블리스 값이 조합된 두 화합물이 상가적인지 또는 상승작용적인지를 나타낸다.
- [0082] 블리스 값이 영 (0)이라면, 이는 상가적인 것으로 간주된다. "상가적"이라는 용어는 표적화된 두 작용제의 조합의 결과가 개별적으로 각 작용제의 총합과 같다는 것을 의미한다.
- [0083] 본원에서 사용되는 바, "코티아(Chothia)"란, 문헌 [Al-Lazikani *et al.*, *JMB* 273:927-948 (1997)]에 기술된 항체 넘버링 체계를 의미한다.
- [0084] "보존적으로 변형된 변이체" 또는 "보존적 치환"은 단백질의 생물학적 활성을 다른 원하는 특성, 예컨대, 항원 친화도 및/또는 특이성을 변경하지 않으면서, 변화가 빈번하게 이루어질 수 있도록, 단백질의 아미노산을, 유사한 특징 (예컨대, 전하, 측쇄 크기, 소수성/친수성, 백분 입체형태 및 강성 등)을 가진 다른 아미노산으로 치환하는 것을 의미한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 일반적으로, 폴리펩티드의 비-필수 영역 내의 단일 아미노산 치환이 생물학적 활성을 실질적으로 변경시키지 않는다는 것을 인지하고 있다 (예컨대, 문헌 [Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)] 참조). 추가로, 구조적으로 또는 기능적으로 유사한 아미노산의 치환은 생물학적 활성을 파괴할 가능성이 낮다. 예시적인 보존적 치환을 하기 표 1에 제시한다.
- [0085] <표 1>

[0086]

예시적인 보존적 아미노산 치환

원래 잔기	보존적 치환
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

[0087]

명세서 및 청구범위 전역에 걸쳐 사용된 "~로 본질적으로 이루어지다(consists essentially of)," 및 "~로 본질적으로 이루어지다(consist essentially of)" 또는 "~로 본질적으로 이루어진"과 같은 파생어는 명시된 투여 요법, 방법, 또는 조성물의 기본 또는 신규 특성을 실질적으로 바꾸지 않는, 임의의 언급된 요소 또는 요소 군의 포함, 및 언급된 요소와 유사한 또는 상이한 성질의 다른 요소의 임의적인 포함을 나타낸다. 비-제한적인 예로서, 언급된 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진 항-CCR4 항체는 또한 결합 화합물의 특성에 실질적으로 영향을 미치지 않는, 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함한, 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0089]

"항-CCR4 항체"는 CCR4에 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다.

[0090]

본원에서 사용되는 바, 항-인간 CCR4는 인간 CCR4에 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. 한 예시적인 인간 CCR4 분자는 하기 서열로 이루어진다:

```
MNPTDIADTT LDESIYSNYY LYESIPKPCT KEGIKAFGEL FLPPPLYSLVF
VFGLLGNSVV VLVLFKYKRL RSMTDVYLLN LAISDLLFVF SLPFWGYYAA
DQWVFGGLGC KMISWMYLVG FYSGIFFVML MSIDRYLAJV HAVFSLRART
LTYGVITSLA TWSVAVFASL PGFLFSTCYT ERNHTYCKTK YSLNSTTWKV
LSSLEINILG LVIPLGIMLF CYSMIIRTLQ HCKNEKKNA VKMIFAVVVL
FLGFWTTPYNI VLFLETLVEL EVLQDCTFER YLDYAIQATE TLAFVHCLN
PHYFFLGEK FRKYILQLFK TCRGLFVLCQ YCGLLQIYSA DTPSSSYTQS
TMDHDLHDAL
```

[0091]

(서열식별번호: 25) (유니프로트KB/스위스-프로트(UniProtKB/Swiss-Prot): P51679.1; 진뱅크 수탁 번호 NM_005508.2).

[0093]

본원에서 사용되는 바, "프레임워크 영역" 또는 "FR"은 CDR 영역을 제외한 이뮤노글로불린 가변 영역을 의미한다.

[0094]

"상동성"은 두 폴리펩티드 서열이 최적으로 정렬되었을 때, 그들 둘 사이의 서열 유사성을 의미한다. 비교되는 두 서열 모두에서의 위치가 동일한 아미노산 단량체 서브유닛으로 점유되어 있을 때, 예컨대, 2개의 상이한 Ab의 경쇄 CDR에서의 한 위치가 알라닌에 의해 점유되어 있다면, 이때 두 Ab는 그 위치에서 상동성이다. 상동성(%)은 두 서열이 공유하는 상동성 위치의 개수를 비교되는 위치의 총 개수로 나누고, 그 값에 x100한 것이다. 예를 들어, 서열이 최적으로 정렬되었을 때, 두 서열에서 10개의 위치 중 8개가 매칭되거나, 상동성인 경우에, 두 서열은 80% 상동성이다. 일반적으로, 비교는 두 서열의 상동성(%)이 최대가 되도록 정렬되었을 때 이루어진다. 예를 들어, 비교는 BLAST 알고리즘에 의해 수행될 수 있으며, 여기서, 알고리즘의 파라미터는 각 참조 서

열의 전체 길이 상에서 각 서열들 사이에 매치가 가장 크게 이루어지도록 선택된다.

- [0095] 하기 참고 문헌은 서열 분석에 종종 사용되는 BLAST 알고리즘에 관한 것이다: 문헌 [BLAST ALGORITHMS: Altschul, S.F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410]; [Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3:266-272]; [Madden, T.L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141]; [Altschul, S.F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402]; [Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7:649-656]; [Wootton, J.C., et al., (1993) Comput. Chem. 17:149-163]; [Hancock, J.M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70]; [ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352], [Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358], [Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565]; [States, D.J., et al., (1991) Methods 3:66-70]; [Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919]; [Altschul, S.F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300]; [ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268]; [Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877]; [Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039]; 및 [Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York].
- [0096] "단리된 항체" 및 "단리된 항체 단편"은 정체 상태를 지칭하고, 이러한 맥락에서, 명명된 분자는 다른 생물학적 분자, 예컨대, 핵산, 단백질, 지질, 탄수화물, 또는 다른 물질, 예컨대, 세포 과편 및 성장 배지가 실질적으로 없는 것을 의미한다. 일반적으로, "단리된"이라는 용어는 이러한 물질, 또는 물, 완충제, 또는 염이 본원에 기술된 바와 같은 결합 화합물의 실험적 또는 치료적 사용을 실질적으로 방해하는 양으로 존재하지 않는 한, 이러한 물질의 완전한 부재, 또는 물, 완충제, 또는 염의 부재를 의미하도록 의도되지는 않는다.
- [0097] 본원에서 사용되는 바, "카바트"는 엘빈 A. 카바트(Elvin A. Kabat)에 의해 개척된 이뮤노글로불린 정렬 및 넘버링 체계를 의미한다 ((1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.).
- [0098] 본원에서 사용되는 바, "모노클로날 항체" 또는 "mAb" 또는 "Mab"는 실질적으로 동종인 항체의 집단을 지칭하며, 즉, 집단을 포함하는 항체 분자는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하면, 아미노산 서열이 동일하다. 대조적으로, 통상적인 (폴리클로날) 항체 제제는 전형적으로, 상이한 에피토프에 대해 종종 특이적인 그의 가변 도메인, 특히, 그의 CDR에서 상이한 아미노산 서열을 가진 다수의 상이한 항체를 포함한다. "모노클로날"이라는 수식어는 항체 특징이 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득되는 바와 같다는 것을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의해 항체가 생산되어야 한다는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al. (1975) Nature 256: 495]에 최초로 기술된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다 (예컨대, 미국 특허 번호 4,816,567 참조). "모노클로날 항체"는 또한 예를 들어, 문헌 [Clackson et al. (1991) Nature 352: 624-628] 및 [Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597]에 기재된 기술을 사용하여 과거 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 또한 문헌 [Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731]을 참조할 수 있다.
- [0099] "환자" 또는 "대상체"는 인간 및 포유동물 수의학적 환자, 예컨대, 소, 말, 개, 및 고양이를 비롯한, 요법이 요구되는 임의의 단일 대상체 또는 임상 시험, 역학적 연구에 참여하고 있거나, 대조군으로서 사용되는 임의의 단일 대상체를 의미한다.
- [0100] 인간 CCR4에 결합하고, 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에서 유용한 mAb의 예는 예를 들어, 예를 들어, US8491902 및 US20110171210에 기술되어 있다. 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에서 항-CCR4 항체로서 유용한 구체적인 항-인간 CCR4 mAb로는, CAS 등록 번호 1159266-37-1을 갖고, 도 4에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 인간화 IgG1 mAb인, KW-0761; 및 US20110171210에 기술되어 있고, 도 3에 제시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 인간화 항체 huCCR4를 포함한다.
- [0101] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 (a) 경쇄 CDR 서열식별번호: 1, 2 및 3, 및 중쇄 CDR 서열식별번호: 4, 5 및 6; 또는 (b) 경쇄 CDR 서열식별번호: 7, 8 및 9, 및 중쇄 CDR 서열식별

번호: 10, 11 및 12를 포함하는, 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이다.

[0102] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 인간 CCR4에 특이적으로 결합하고, (a) 서열식별번호: 13을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 (b) 서열식별번호: 14를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 모노클로날 항체이다.

[0103] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 인간 CCR4에 특이적으로 결합하고, (a) 서열식별번호: 15를 포함하는 중쇄 및 (b) 서열식별번호: 16을 포함하는 경쇄를 포함하는 모노클로날 항체이다.

[0104] 하기 표 2는 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에서 사용하기 위한 예시적인 항-CCR4 mAb의 아미노산 서열의 목록을 제공하며, 서열은 도 1-4에 제시되어 있다.

[0105] <표 2>

예시적인 항-인간 CCR4 모노클로날 항체	
A. US8491902에서의 KW-0761의 경쇄 및 중쇄 CDR 포함	
CDRL1	SEQ ID NO:1
CDRL2	SEQ ID NO:2
CDRL3	SEQ ID NO:3
CDRH1	SEQ ID NO:4
CDRH2	SEQ ID NO:5
CDRH3	SEQ ID NO:6
B. US20110171210에서의 Mab1567의 경쇄 및 중쇄 CDR 포함	
CDRL1	SEQ ID NO:7
CDRL2	SEQ ID NO:8
CDRL3	SEQ ID NO:9
CDRH1	SEQ ID NO:10
CDRH2	SEQ ID NO:11
CDRH3	SEQ ID NO:12
C. US20110171210에서의 huCCR4 중쇄 가변 영역 및 huCCR4 경쇄 가변 영역 포함	
중쇄 VR	SEQ ID NO:13
경쇄 VR	SEQ ID NO:14
D. US8491902에서의 KW-0761 중쇄 및 KW-0761 경쇄 포함	
중쇄	SEQ ID NO:15
경쇄	SEQ ID NO:16

[0106]

[0107] "지속 반응"은 치료제, 또는 본원에 기술된 조합 요법을 사용한 치료의 중단 후에 지속되는 치료 효과를 의미한다. 일부 실시양태에서, 지속 반응은 적어도 치료 지속 기간과 동일하거나, 또는 치료 지속 기간보다 약 1.5, 2.0, 2.5 또는 3배 더 긴 지속 시간을 가진다.

[0108]

"상승작용" 또는 "상승작용적"이라는 용어는 두 작용제 조합의 반응이 각 작용제의 개별 반응의 총합보다 더 크다는 것을 의미하는 것으로 사용된다. 더욱 구체적으로, 시험관내 환경에서, 상승작용의 한 척도는 "블리스 상승작용"으로 알려져 있다. 블리스 상승작용이란, 상기 정의된 블리스 값으로 측정되는 바와 같이, "블리스 독립값 대비 초과"를 의미한다. 블리스 값이 영 (0)보다 클 경우, 또는 보다 바람직하게는 0.2보다 클 경우, 이는 상승작용을 나타내는 것으로 간주된다. 물론, 본원에서 "상승작용"의 사용은 또한 추가 및/또는 대체 방법에 의해 측정되는 시험관내 상승작용을 포함한다. 개별적인 조합의 성분의 총합보다 크거나, 또는 그와 동일한 조합의 시험관내 생물학적 효과 (항암 효과를 포함하나, 이에 제한되지 않는다)에 대한 본원에서의 언급은 블리스 값과 상관관계가 있을 수 있다. 또한, 성분의 조합이 개별적인 성분의 총합과 동일하거나, 또는 그보다 큰 활성을 보이는지 여부를 포함하는, 본원에서 "상승작용"의 사용은 추가 및/또는 대체 방법에 의해 측정될 수 있고, 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있거나, 또는 그들에게 자명할 것이다.

- [0109] "조직 절편"은 조직 샘플의 단일 부분 또는 조각, 예컨대, 정상 조직 또는 종양의 샘플로부터 절단된 얇은 조직 슬라이스를 지칭한다.
- [0110] 본원에서 사용된, 암을 "치료하다" 또는 "치료하는"이라는 것은 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제의 조합 요법을 암에 걸렸거나, 또는 암 진단을 받은 대상체에게 투여하여 1개 이상의 긍정적인 치료 효과, 예컨대, 예를 들어, 암 세포 수의 감소, 종양 크기 축소, 말초 기관으로의 암 세포 침윤 속도의 감소, 또는 종양 전이 또는 종양 성장 속도의 감소를 달성하는 것을 의미한다. 암에서의 긍정적인 치료 효과는 다수의 방식으로 측정될 수 있다 (문헌 [W. A. Weber, *J. NucI. Med.* 50:1S-10S (2009)] 참조). 예를 들어, 종양 성장 억제와 관련하여, NCI 표준에 따르면, $T/C \leq 42\%$ 가 최소 수준의 항종양 활성이다. $T/C < 10\%$ 는 높은 항종양 활성 수준으로 간주되며, 여기서, $T/C (\%) = \text{치료군의 중앙 종양 부피}/\text{대조군의 중앙 종양 부피} \times 100$ 이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합에 의해 달성된 치료는 PR, CR, OR, PFS, DFS 및 OS 중 임의의 것이다. "종양 진행까지의 시간"으로도 지칭되는 PFS는 치료 동안 및 치료 후의 암이 성장하지 않는 기간을 나타내고, 환자가 CR 또는 PR을 경험한 시간의 양뿐만 아니라, 환자가 SD를 경험한 시간의 양을 포함한다. DFS는 치료 동안 및 치료 후에 환자가 병이 없는 상태를 유지하는 기간을 지칭한다. OS는 나이브 또는 치료받지 않은 개체 또는 환자와 비교하여 기대 수명에의 연장을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합에 대한 반응은 RECIST 1.1 반응 기준을 사용하여 평가된 PR, CR, PFS, DFS, OR 또는 OS 중 임의의 것이다. 암 환자를 치료하는데 효과적인, 본 발명의 조합에 대한 치료 요법은 환자의 질환 상태, 연령, 및 체중, 및 대상체에서 항암 반응을 유도할 수 있는 요법의 능력과 같은 인자들에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 임의의 측면의 실시양태가 모든 대상체에서 긍정적인 치료 효과를 달성하는 데 효과적이지 않을 수도 있지만, 관련 기술분야에 공지된 임의의 통계학적 검정, 예컨대, 스튜던츠(Student's) t-검정, 카이²(chi²)-검정, 만(Mann) 및 휘트니(Whitney)에 따른 U-검정, 크루스칼-왈리스(Kruskal-Wallis) 검정 (H-검정), 존키어-터프스트라(Jonckheere-Terpstra)-검정 및 윌콕슨(Wilcoxon)-검정에 의해 결정되는 바와 같이, 통계학상 유의한 수의 대상체에서는 효과적이어야 한다.
- [0111] "치료 요법," "투여 프로토콜" 및 투여 요법은 상호교환적으로 사용되며, 본 발명의 조합에서 각 치료제의 투여 용량 및 시점을 지칭한다.
- [0112] 암 진단을 받았거나, 또는 암에 걸린 것으로 의심되는 대상체에게 적용될 때 "종양"이란, 임의의 크기의 악성 또는 잠재적으로 악성인 신생물 또는 조직 종괴를 지칭하고, 원발성 종양 및 속발성 신생물을 포함한다. 고형 종양은 통상적으로 낭 또는 액체 영역을 함유하지 않는 조직의 비정상적 성장 또는 종괴이다. 상이한 유형의 고형 종양들은 그를 형성하는 세포 유형에 대해 명명된다. 고형 종양의 예로는 육종, 암종, 및 림프종이 있다. 백혈병 (혈액암)은 일반적으로 고형 종양을 형성하지 않는다 (미국 국립 암 연구소, 암 용어 사전(Dictionary of Cancer Terms)).
- [0113] "종양 부담"은 또한 "종양 부하"로 지칭되고, 신체 전역에 걸쳐 분포된 종양 물질의 총량을 지칭한다. 종양 부담은 림프절 및 골수를 포함하여, 신체 전역에 걸친 암 세포의 총 개수 또는 종양(들)의 총 크기를 지칭한다. 종양 부담은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대, 예컨대, 대상체로부터 제거시, 예컨대, 캐리퍼를 사용하여, 또는 신체 내에 있는 경우, 영상화, 기술, 예컨대, 초음파, 골 스캔, 컴퓨터 단층촬영 (CT) 또는 자기 공명 영상화 (MRI) 스캔을 사용하여 종양(들)의 치수를 측정하는 것에 의해 측정될 수 있다.
- [0114] "종양 크기"라는 용어는 종양의 길이 및 너비로서 측정될 수 있는 종양의 총 크기를 지칭한다. 종양 크기는 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대, 예컨대, 대상체로부터의 제거시, 예컨대, 캐리퍼를 사용하여, 또는 신체 내에 있는 경우, 영상화 기술, 예컨대, 골 스캔, 초음파, CT 또는 MRI 스캔을 사용하여 종양(들)의 치수를 측정하는 것에 의해 측정될 수 있다.
- [0115] 4-1BB는 신호 서열 (아미노산 잔기 1-17), 이어서, 세포외 도메인 (169개의 아미노산), 막횡단 영역 (27개의 아미노산), 및 세포내 도메인 (42개의 아미노산)을 포함한다 (Cheuk ATC et al. 2004 *Cancer Gene Therapy* 11: 215-226). 수용체는 단량체 및 이량체 형태로 세포 표면 상에서 발현되고, 4-1BB 리간드와 신호에로 삼량체가 일어난다.
- [0116] 4-1BB는 나이브 T 세포의 표면 상에서는 검출불가능하지만, 활성화시 발현은 증가하게 된다. 4-1BB 활성화시, TNFR-연관 인자 (TRAF) 패밀리의 생존-촉진 구성원인 TRAF-1 및 TRAF-2는 4-1BB 세포질 테일로 동원되고, 이로써 NF_κB, 및 ERK, JNK, 및 p38 MAP 키나제를 비롯한 미토콘 활성화된 단백질 (MAP) 키나제 캐스케이드 하류의 활성화가 이루어진다. NF_κB 활성화는 Bcl-2 패밀리의 생존-촉진 구성원인 Bfl-1 및 Bcl-XL을 상향조절시킨다. 아폽토시스-촉진 단백질인 Bim은 TRAF1 및 ERK 의존성 방식으로 하향조절된다 (24).

- [0117] "4-1BB" 및 "4-1BB 수용체"라는 용어는 본 출원에서 상호교환적으로 사용되고, 이는 임의 형태의 4-1BB 수용체 뿐만 아니라, 4-1BB 수용체의 활성의 적어도 일부를 보유하는, 그의 변이체, 이소폼, 및 종 동종체를 지칭한다. 따라서, 본원에 정의되고, 개시된 바와 같은 결합 분자는 또한 인간 이외의 다른 종으로부터의 4-1BB에 결합할 수 있다. 다른 경우에서, 결합 분자는 인간 4-1BB에 완전히 특이적일 것이고, 종 또는 다른 유형의 교차 반응성을 보이지 않을 수 있다. 예컨대, 인간 4-1BB에 대한 구체적인 언급에 의해 달리 상이하게 명시되지 않는 한, 4-1BB는 예컨대, 인간, 개, 고양이, 말 및 소와 같은, 모든 포유동물 종의 천연 서열 4-1BB를 포함한다. 한 예시적인 인간 4-1BB는 255개의 아미노산 단백질 (수탁 번호 NM_001561; NP_001552)이다. 완전한 인간 4-1BB 아미노산 서열의 한 실시양태는 서열식별번호: 26으로 제공된다.
- [0118] 본원에서 사용되는 바, "4-1BB 효능제"란, 본원에서 정의되는 바와 같이, 4-1BB에의 결합시, (1) 4-1BB를 자극 또는 활성화시키거나, (2) 4-1BB의 활성, 기능, 또는 존재를 증강, 증가, 촉진, 유도 또는 연장시키거나, 또는 (3) 4-1BB의 발현을 증강, 증가, 촉진, 또는 유도하는 임의의 화학적 화합물 또는 생물학적 분자를 의미한다.
- [0119] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도 중 임의의 것에서 유용한 4-1BB 효능제로는 4-1BB에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체 (mAb), 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 4-1BB에 대한 대체 명칭 또는 동의어로는 CD137 및 TNFRSF9를 포함한다. 인간 개체를 치료하는 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도 중 임의의 것에서, 4-1BB 효능제는 4-1BB 매개 반응을 증가시킨다. 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 여러 모델에서 세포독성 T 세포 반응을 현저히 증강시킴으로써 항종양 활성을 일으킨다.
- [0120] mAb는 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있고, 인간 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 일부 실시양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1 또는 IgG4 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 Fab, Fab'-SH, F(ab')₂, scFv 및 Fv 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0121] 인간 4-1BB에 결합하고, 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에서 유용한 mAb의 예는 US 8,337,850 및 US 2013-0078240에 기술되어 있다. 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에서 4-1BB 효능제로서 유용한 특정 항-인간 4-1BB mAb로는 PF-05082566을 포함한다. PF-05082566은 4-1BB를 표적화하는 완전한 인간화 IgG2 효능제 모노클로날 항체이다.
- [0122] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 (a) 경쇄 CDR 서열식별번호: 30, 31 및 32, 및 중쇄 CDR 서열식별번호: 27, 28 및 29를 포함하는, 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이다.
- [0123] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 인간 4-1BB에 특이적으로 결합하고, (a) 서열식별번호: 19를 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 그의 변이체, 및 (b) 서열식별번호: 20으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 또는 그의 변이체를 포함하는, 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이다. 중쇄 가변 영역 서열의 변이체는 프레임워크 영역 (즉, CDR 밖의) 중의 최대 17개의 보존적 아미노산 치환을 가지는 것을 제외하면 참조 서열과 동일하고, 바람직하게는 프레임워크 영역 중 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 미만의 보존적 아미노산 치환을 가진다. 경쇄 가변 영역 서열의 변이체는 프레임워크 영역 (즉, CDR 밖의) 중의 최대 5개의 보존적 아미노산 치환을 가지는 것을 제외하면 참조 서열과 동일하고, 바람직하게는 프레임워크 영역 중 4, 3 또는 2개 미만의 보존적 아미노산 치환을 가진다.
- [0124] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도의 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 인간 4-1BB에 특이적으로 결합하고, (a) 서열식별번호: 21에 기재된 중쇄 아미노산 서열, 및 (b) 서열식별번호: 22에 기재된 경쇄 아미노산 서열을 포함하되, 단, 서열식별번호: 21의 C-말단 리신 잔기는 임의로 존재하지 않는 것인, 모노클로날 항체이다.
- [0125] "PD-1 길항제"는, 암 세포 상에서 발현된 PD-L1의 면역 세포 (T 세포, B 세포 또는 NKT 세포) 상에서 발현된 PD-1에의 결합을 차단하고, 바람직하게는 또한 암 세포 상에서 발현된 PD-L2의 면역 세포에서 발현된 PD-1에의 결합을 차단하는, 임의의 화학적 화합물 또는 생물학적 분자를 의미한다. PD-1 및 그의 리간드에 대한 대체 명칭 또는 동의어로는 PD-1의 경우, PDCD1, PD1, CD279 및 SLEB2; PD-L1의 경우, PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 및 B7-H; 및 PD-L2의 경우, PDCD1L2, PDL2, B7-DC, Btdc 및 CD273을 포함한다. 인간 개체를 치료하는 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도 중 임의의 것에서, 항-PD-1 항체는 인간 PD-L1의 인간 PD-1에의 결합을 차단하고, 바람직하게는 인간 PD-L1 및 PD-L2 둘 다의 인간 PD-1에의 결합을 차단한다. 예시적인 인간 PD-1 아미노산 서열은 NCBI 로커스 번호(NCBI Locus No.): NP_005009에서 살펴볼 수 있다. 예시적인 인간 PD-L1 및 PD-L2 아미노산 서열은 각각 NCBI 로커스 번호: NP_054862 및 NP_079515에서 살펴볼 수 있다.
- [0126] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도 중 임의의 것에서 유용한 PD-1 길항제로는 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로

결합하고, 바람직하게는, 인간 PD-1 또는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체 (mAb), 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. mAb는 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있고, 인간 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 일부 실시양태에서, 인간 불변 영역은 IgG1 또는 IgG4 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 Fab, Fab'-SH, F(ab')₂, scFv 및 Fv 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0127] 실시양태가 본원에서 "포함하는"이라는 표현을 사용하여 기술되는 경우에는 언제나, "~으로 이루어진" 및/또는 "~으로 본질적으로 이루어진"이라는 용어로 기술된 다른 유사 실시양태 또한 제공한다는 것을 이해한다.

[0128] 본 발명의 측면 또는 실시양태가 마쿠쉬(Markush) 군 또는 대체물의 다른 분류에 의해 기술되는 경우, 본 발명은 전체로서 열거된 전체 군을 포함하지만, 개별적으로 군의 각 구성원 및 주요 군의 모든 가능한 하위군 뿐만 아니라, 군 구성원 중 하나 이상의 것이 존재하지 않는 주요 군 또한 포함한다. 본 발명은 또한 청구하는 본 발명에서 군의 구성원 중 임의의 것 중 하나 이상이 명백하게 배제된 것을 구상한다.

[0129] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 통상 이해하는 것과 동일한 의미를 가진다. 상충하는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서가 조정할 것이다. 본 명세서 및 특허청구범위 전역에 걸쳐, "포함하다(comprise)"라는 단어, 또는 예컨대, "포함하다 (comprises)" 또는 "포함하는"이라는 파생어는 언급된 정수 또는 정수 군을 포함하는 것 뿐만 아니라, 임의의 다른 정수 또는 정수 군은 배제시킨다는 것을 암시하는 것으로 이해될 것이다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 형태의 단어는 복수 형태를 포함하여야 하고, 복수 형태의 단어는 단수 형태를 포함하여야 한다. "예컨대" 또는 "예를 들어"라는 단어 다음에 오는 임의의 예(들)는 철저하다거나, 제한적인 것은 아님을 의미한다.

[0130] 비록 본원에 기술된 것과 유사하거나, 또는 등가인 방법 및 물질 또한 본 발명의 실시 또는 검사에서 사용될 수 있지만, 예시적인 방법 및 물질이 본원에 기술된다. 물질, 방법, 및 예는 단지 예시적인 것이며, 제한적인 것으로 의도되지 않는다.

II. 방법, 용도 및 의약

[0132] 본원에서는 개체에게 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제를 포함하는 조합 용법을 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 조합 요법은 항-CCR4 항체, 4-1BB 효능제 및 PD-1 길항제를 포함한다.

[0133] 조합 요법은 또한 하나 이상의 추가 치료제를 포함할 수 있다. 추가 치료제는 예컨대, 화학요법제, 생물요법제 (VEGF, VEGFR, EGFR, Her2/neu, 다른 성장 인자 수용체, CD20, CD40, CD-40L, CTLA-4, OX-40, 4-1BB, PD-1, TIM-3, LAG-3, GITR, CD137, ICOS, CD28, CD27, HVEM, BTLA, VISTA, CCR8, TIGIT, CD4, ARHGEF6, IKZF1, PTPRC, DOCK2, CCR4, CCR5, IL21R, IL2RB, NCKAP1L, SLAMF1, ITGAL, IL10RA, P2RY10, IL2RA, FMNL1, DOCK10, ITK, SASH3, KIAA0748, LCP2, TNFRSF9 (4-1BB, CD137), CYBB, 및 CTLA4에 대한 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않음), 면역원성 작용제 (예를 들어, 약독화된 암성 세포, 종양 항원, 항원 제시 세포, 예컨대, 종양 유래 항원 또는 핵산으로 펼성된 수지상 세포, 면역 자극 시토카인 (예를 들어, IL-2, IFNα2, GM-CSF), 및 면역 자극 시토카인, 예컨대, 제한하는 것은 아니지만, GM-CSF를 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포일 수 있다).

[0134] 화학요법제의 예로는 알킬화제, 예컨대, 티오텐파 및 시클로포스파미드; 알킬 술포네이트, 예컨대, 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘, 예컨대, 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오프스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸라멜라민; 아세토게닌 (특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르겔레신 및 비겔레신 합성 유사체 포함); 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 두오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CBI-TMI 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로스우레아, 예컨대, 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 예컨대, 에네디인 항생제 (예컨대, 칼리케아미신, 특히, 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 phiII, 예컨대, 문헌 [Agnew, Chem. Int'l. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)] 참조; 디네미신 A를 포함하는 디네미신; 비스포스포네이트, 예컨대, 클로드로네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라, 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련된 색소단백질 에네디인 항생제

발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-페롤리노-독소루비신 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대, 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 폐플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사산물, 예컨대, 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 엽산 유사체, 예컨대, 데노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대, 플루다라빈, 6-메르캅토퓨린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐, 예컨대, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항아드레날린제, 예컨대, 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충제, 예컨대, 프롤린산; 아세글라تون; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포텔론; 에토글루시드; 절산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 메이탄시노이드, 예컨대, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; 라족산; 리족신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히, T-2 독소, 베라큐린 A, 로리딘 A 및 앙구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오텐파; 탁소이드, 예컨대, 파클리탁셀 및 도세탁셀; 클로람부실; 쟈시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토퓨린; 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예컨대, 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빙크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드, 예컨대, 레티노산; 카페시타빈; 및 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다. 또한, 예를 들어, 타목시펜, 랄록시펜, 드록시펜, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 토레미펜 (파레스톤(Fareston))을 비롯한, 종양에 대해 미치는 호르몬 작용을 조절하거나 억제하도록 작용하는 항호르몬제, 예컨대, 항-에스트로겐제 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM); 부신에서 에스트로겐 생산을 조절하는 효소인 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대, 예를 들어, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트를 아세테이트, 엑세메스탄, 포르메스탄, 파드로졸, 보로졸, 레트로졸, 및 아나스트로졸; 및 항안드로겐제, 예컨대, 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드, 및 고세렐린; 및 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다.

- [0135] 본 발명의 조합 요법에서 각 치료제는 단독으로, 또는 표준 제약 실무에 따라 치료제 및 하나 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함하는 의약 (본원에서 제약 조성물로도 지칭된다)으로 투여될 수 있다.
- [0136] 본 발명의 조합 요법에서 각 치료제는 동시에 (즉, 동일한 의약으로), 공동으로 (즉, 임의의 순서로 하나의 투여 직후에 다른 것이 투여되는 개별 의약으로) 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있다. 조합 요법에서 치료제가 상이한 투여 형태이고/거나 (한 작용제는 정제 또는 캡슐이고, 또 다른 작용제는 멸균 액제인 경우), 상이한 투여 일정으로 투여되는 경우, 예컨대, 적어도 매일 투여되는 화학요법제 및 예컨대, 매주 1회, 2주마다 1회 또는 3주마다 1회와 같이 덜 빈번하게 투여되는 생물요법제인 경우, 순차적 투여가 특히 유용하다.
- [0137] 투여량 단위는 mg/kg (즉, mg/kg (체중)) 또는 mg/m²로 표현될 수 있다. mg/m²라는 투여량 단위는 체표면적 1제곱미터당 밀리그램인 양을 지칭한다.
- [0138] 일부 경우에서, 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제는 조합되거나, 또는 단일 투여 형태로 공동으로 제제화된다.
- [0139] 비록 항-CCR4 항체, 및 4-1BB 효능제의 동시 투여가 치료 또는 예방 전 기간 동안에 걸쳐 유지될 수는 있지만, 항암 활성을 한 화합물을 단독으로 순차적으로 투여하는 것 (예를 들어, 조합 치료 후, 4-1BB 효능제 없이, 항-CCR4 항체, 또는 대안적으로, 조합 치료 후, 항-CCR4 항체 없이, 4-1BB 효능제)으로도 또한 달성될 수 있다.
- [0140] 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제는 항-CCR4 항체 투여 이전에 투여되고, 반면, 다른 실시양태에서는, 4-1BB 효능제는 항-CCR4 항체 투여 이후에 투여된다.
- [0141] 일부 실시양태에서, 조합 요법에서 치료제 중 적어도 하나는 작용제가 동일한 암을 치료하기 위해 단독 요법으

로서 사용되는 경우에 전형적으로 사용되는 동일한 투여 요법 (용량, 빈도 및 치료 지속 기간)을 사용하여 투여 된다. 다른 실시양태에서, 환자는 조합 요법에서 치료제 중 적어도 하나를, 작용제가 단독요법으로 사용되는 경우보다 더 낮은 총량, 예컨대, 더 적은 용량, 덜 빈번한 투여, 및/또는 더 짧은 치료 지속 기간으로 받는다.

[0142] 본 발명의 조합 요법은 종양을 제거하는 수술 이전에 또는 그 이후에 사용될 수 있고, 방사선 요법 이전에, 그 동안 또는 그 이후에 사용될 수 있다.

[0143] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합 요법은 생물요법제 또는 화학요법제로 이전에 치료받지 않은, 즉, 치료받은 경험이 없는 나이브 상태인 환자에게 투여된다. 다른 실시양태에서, 조합 요법은 생물요법제 또는 화학요법제를 사용한 선행 요법 후 지속적인 반응을 달성하는 데 실패한, 즉, 치료 경험이 있는 환자에게 투여된다.

[0144] 본 발명의 조합 요법은 촉진에 의해, 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 영상화 기술, 예컨대, MRI, 초음파, 또는 CAT 스캔에 의해 발견되기에 충분히 큰 종양을 치료하는데 전형적으로 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합 요법은 치수가 약 200 mm³, 300 mm³, 400 mm³, 500 mm³, 750 mm³, 또는 최대 1,000 mm³ 이상인 진행성 병기의 종양을 치료하는데 사용된다.

[0145] 본 발명의 조합 요법은 바람직하게는 CCR4 발현에 대하여 양성 판정을 받은 암을 가진 인간 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, CCR4 발현은 환자로부터 제거된 종양 샘플의 FFPE 또는 냉동 조직 절편 상의 면역조직화학법 (IHC) 검정법에서 진단 항-인간 CCR4 항체를 사용하여 검출된다. 전형적으로, 환자의 담당의는 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제로의 치료를 개시하기 이전에 환자로부터 제거된 종양 조직 샘플에서 CCR4 발현을 측정하기 위한 진단 시험을 지시하지만, 담당의는 예를 들어, 치료 주기 완료 후와 같은 치료 개시 후의 임의의 시간에 제1 또는 후속 진단 시험을 지시할 수 있는 것으로 구상된다.

[0146] 한 실시양태에서, 투여 요법은 임의의 요법에 통상적인 방식으로 특정 환자의 상태, 반응 및 관련된 치료에 맞게 적합화되고, 상태 변화에 대한 반응으로 및/또는 다른 임상적 상태를 고려하여 조정되어야 할 필요가 있을 수도 있다.

[0147] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합 요법을 위한 투여(dosage) 요법 (본원에서 투여(administration) 요법으로도 지칭된다)을 선택하는 것은 엔티티의 혈청 또는 조직 회전율, 증상의 수준, 엔티티의 면역원성, 및 치료되는 개체에서의 표적 세포, 조직 또는 기관의 접근성을 비롯한, 여러 인자들에 좌우된다. 바람직하게, 투여 요법은 환자에게 전달되는 각 치료제의 양을 허용가능한 수준의 부작용에 부합하여 최대화한다. 따라서, 조합에서 각 생물요법제 및 화학요법제의 투여량 및 투여 빈도는 부분적으로 특정 치료제, 치료되는 암의 종종도, 및 환자 특징에 좌우된다. 항체, 시토카인 및 소분자의 적합한 용량을 선택하는 데 있어서 가이던스가 이용가능하다. 예컨대, 문헌 [Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK]; [Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY]; [Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY]; [Baert et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608]; [Milgrom et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973]; [Slamon et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792]; [Beniaminovitz et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619]; [Ghosh et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32]; [Lipsky et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602]; [Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed.)]; [Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57th edition (November 2002)]을 참조할 수 있다. 적합한 투여 요법의 결정은, 예컨대, 치료에 영향을 주는 것으로 관련 기술분야에 공지되었거나 의심되는, 또는 치료에 영향을 줄 것으로 예상되는 파라미터 또는 인자를 사용하여 임상의에 의해 이루어질 수 있고, 예를 들어, 환자의 임상 병력 (예컨대, 선행 요법), 치료하고자 하는 암의 유형 및 병기, 및 조합 요법에서 치료제 중 하나 이상의 것에 대한 반응의 바이오마커에 좌우될 것이다.

[0148] 본 발명의 조합 요법에서 생물요법제는 연속 주입에 의해, 또는 예컨대, 매일, 격일로, 1주에 3회, 또는 매주, 2주, 3주, 매월, 격월 1회 등의 간격으로의 투여에 의해 투여될 수 있다. 매주 총 용량은 일반적으로 적어도 약 0.05 µg/kg, 0.2 µg/kg, 0.5 µg/kg, 1 µg/kg, 10 µg/kg, 100 µg/kg, 0.2 mg/kg, 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg (체중) 또는 그 초과이다. 예컨대, 문헌 [Yang et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434]; [Herold et al. (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698]; [Liu et al. (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456]; [Portielji et al. (2000) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:133-144]를 참조할 수 있다.

- [0149] 조합 요법에서 항-CCR4 항체로서 항-인간 CCR4 mAb를 사용하는 일부 실시양태에서, 투여 요법은 항-인간 CCR4 mAb를 치료 전 과정에 걸쳐 약 7일 (± 2 일) 또는 14일 (± 2 일) 또는 약 21일 (± 2 일) 또는 약 30일 (± 2 일) 간격으로 약 0.5, 1, 2, 3, 5 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여하는 것을 포함할 것이다.
- [0150] 조합 요법에서 항-CCR4 항체로서 항-인간 CCR4 mAb를 사용하는 일부 실시양태에서, 투여 요법은 항-인간 CCR4 mAb를 환자내 용량 증량으로 약 0.005 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 용량으로 투여하는 것을 포함할 것이다. 용량을 증량하는 다른 실시양태에서, 투여 사이의 간격은, 예컨대, 제1 및 제2 투여 사이에 약 30일 (± 2 일), 제2 및 제3 투여 사이에 약 14일 (± 2 일)로 점진적으로 짧아질 것이다. 특정 실시양태에서, 투여 간격은 제2 투여에 후속하는 투여인 경우, 약 14일 (± 2 일)이 될 것이다. 특정 실시양태에서, 투여 간격은 제2 투여에 후속하는 투여인 경우, 약 7일 (± 2 일)이 될 것이다.
- [0151] 일부 실시양태에서, 대상체는 본원에 기술된 항-CCR4 항체 중 임의의 것을 포함하는 의약의 정맥내 (IV) 주입을 투여받을 것이다.
- [0152] 일부 실시양태에서, 조합 요법에서 항-CCR4 항체는 KW-0761이고, 이는 약 0.5 mg/kg Q2W, 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg/kg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, 및 10 mg/kg Q3W로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 정맥내로 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 0.1-50 mM 시트레이트 완충제 (pH 4-7) 중 0.01-150 mg/mL KW-0761, 10-30 mg/mL 글리신을 포함하는 액체 의약으로 투여되고, 선택된 용량의 의약은 약 2 hr의 기간에 걸쳐 200-250 mL 염수 중에 용해된 IV 주입에 의해 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 시트레이트 완충제 (pH 5.2-5.8) 중 4 mg/mL KW-0761, 22.5 mg/mL 글리신, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로 투여되고, 선택된 용량의 의약은 약 2 hr의 기간에 걸쳐 200-250 mL 염수 중에 용해된 IV 주입에 의해 투여된다.
- [0153] 일부 실시양태에서, 조합 요법에서 항-CCR4 항체는 KW-0761이고, 이는 0.5 mg/kg Q1W, 0.5 mg/kg Q2W, 1 mg/kg Q1W, 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg/kg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, 및 10 mg/kg Q3W로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 액체 의약으로 투여된다. 일부 실시양태에서, KW-0761은 10 mM 히스티딘 완충제 (pH 5.5) 중 25 mg/ml KW-0761, 7% (w/v) 수크로스, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로서 투여되고, 선택된 용량의 의약은 약 30분의 기간에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여된다. 또 다른 실시양태에서, KW-0761은 0.1-50 mM 시트레이트 완충제 (pH 4-7) 중 0.01-150 mg/mL KW-0761, 10-30 mg/mL 글리신을 포함하는 액체 의약으로서 투여되고, 선택된 용량의 의약은 약 2 hr의 기간에 걸쳐 200-250 mL 염수 중에 용해된 IV 주입에 의해 투여된다. 또 다른 실시양태에서, KW-0761은 시트레이트 완충제 (pH 5.2-5.8) 중 4 mg/mL KW-0761, 22.5 mg/mL 글리신, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로서 투여되고, 선택된 용량의 의약은 약 2 hr의 기간에 걸쳐 200-250 mL 염수 중에 용해된 IV 주입에 의해 투여된다.
- [0154] 일부 실시양태에서, 조합 요법에서 4-1BB 효능제는 PF-05082566이고, 이는 등가의 고정 용량을 포함하는, 0.24 mg/ml Q2W, 1.2 mg/kg Q2W, 2.4 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg Q2W, 0.24 mg/ml Q3W, 1.2 mg/kg Q3W, 2.4 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, 및 10 mg Q3W로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 액체 의약으로 투여된다. 일부 실시양태에서, PF-05082566은 액체 의약으로 투여되고, 선택된 용량의 의약은 약 60분의 기간에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여된다.
- [0155] PF-05082566과 조합되는 KW-0761의 최적의 용량은 상기 작용제 중 하나 또는 그 둘 다의 용량 증량에 의해 확인할 수 있다.
- [0156] 한 실시양태에서, KW-0761은 1.0 mg/kg Q2W인 출발 용량으로 투여되고, PF-05082566은 0.24 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.6 mg/kg, 1.2 mg/kg, 2.4 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg의 용량으로 Q4W로, 또는 등가의 고정 용량으로 투여된다.
- [0157] 또 다른 실시양태에서, KW-0761은 0.5 mg/kg Q3W인 출발 용량으로 투여되고, PF-05082566은 0.3 mg/kg, 0.6 mg/kg, 1.2 mg/kg, 2.4 mg/kg, 5 mg/kg, 또는 10 mg/kg인 출발 용량으로 Q3W로 투여된다.
- [0158] 추가의 또 다른 실시양태에서, PF-05082566은 0.3 mg/kg Q4W인 출발 용량으로 투여되고, KW-0761은 1 mg/kg Q2W인 출발 용량으로 투여되고, 출발 용량 조합이 환자에 의해 허용되지 않을 경우, 이때 KW-0761의 용량은 0.5 mg/kg Q2W로 감량되고, PF-05082566의 용량은 0.3 mg/kg Q4W로 감량된다.
- [0159] 일부 실시양태에서, 치료는 4주 주기로 투여된다. 일부 실시양태에서, PF-05082566은 4주마다 (Q4W) 각 주기의

1일째에 투여된다. 일부 실시양태에서, PF-05082566은 1시간 정맥내 (IV) 주입으로서 투여된다. 일부 실시양태에서, PF-05082566의 출발 용량은 1.2 mg/kg이다.

[0160] 일부 실시양태에서, KW-0761은 매주 (QW) 4주 연속 (1, 8, 15, 및 22일째) 투여된 후, 이어서, 격주 투여로 (1 및 15일째) 1 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, PF-05082566은 1시간 IV 주입으로서 투여된다.

[0161] 일부 실시양태에서, 약물이 공동 투여되는 각 투여 주기의 1일째에 KW-0761 주입은 PF-05082566 주입 완료 후 30분 (± 10 min) 경과시에 출발하고, PF-05082566 후 및 KW-0761 전에 PK 혈액 샘플을 채취한다.

[0162] 일부 실시양태에서, KW-0761은 제1 주기시에 매주 (즉, 1, 8, 15, 22일째) 1시간 정맥내 주입으로서 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 2주기때부터는 계속해서 KW-0761은 2주마다 (즉, 매 주기의 1 및 15일째) 투여된다. 일부 실시양태에서, 1일째 KW-0761 주입은 PF-05082566 주입 완료 후 30분 (± 10 min) 경과시에 출발하고, PF-05082566 후 및 KW-0761 전에 약동학적 혈액 샘플을 채취한다.

[0163] 일부 실시양태에서, 투여 요법은 하기 표 3에 제시된 용량 조합 중 하나이다.

[0164] <표 3>

KW-0761	및	PF-05082566
1 mg/kg	및	0.2 mg/kg
1 mg /kg	및	0.3 mg/kg
1 mg/kg	및	0.5 mg/kg
1 mg/kg	및	1.2 mg/kg
1 mg/kg	및	2.4 mg/kg
1 mg/kg	및	5.0 mg/kg
1 mg/kg	및	10 mg/kg
0.5 mg/kg	및	0.2 mg/kg
0.5 mg/kg	및	0.3 mg/kg
0.5 mg/kg	및	0.5 mg/kg
0.5 mg/kg	및	1.2 mg/kg
0.5 mg/kg	및	2.4 mg/kg
0.5 mg/kg	및	5.0 mg/kg
0.5 mg/kg	및	10 mg/kg
0.1 mg/kg	및	0.2 mg/kg
0.1 mg/kg	및	0.3 mg/kg
0.1 mg/kg	및	0.5 mg/kg
0.1 mg/kg	및	1.2 mg/kg
0.1 mg/kg	및	2.4 mg/kg
0.1 mg/kg	및	5.0 mg/kg
0.1 mg/kg	및	10 mg/kg

[0165]

[0166] 일부 실시양태에서, 연구 약물을 이용하는 치료는 24개월 간의 치료 (대략 24주기)가 완료, 질환 진행 확인, 환자 거부, 허용되지 않는 독성이 있을 때까지 계속되며, 상기 중 어느 것이 제일 먼저 발생하든, 상기 연구는 조기에 종결될 수 있다.

[0167] 독성이 상당한 경우에 투여는 지연 및/또는 감소될 수 있다. 일부 실시양태에서, 주기 내에서 용량 변형이 이루어질 수 있다. 예를 들어, 적합한 회복이 이루어질 때까지 투여는 중단될 수 있고, 필요할 경우, 주어진 치료 주기 동안 투여는 감소될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 투여는 주기 사이에 변형될 수 있다. 예를 들어, 새 주기가 출발에 기인할 때, 다음 주기 투여는 지속되는 독성에 기인하여 지연될 수 있다. 추가의 또 다른 실시양태에서, 투여는 다음 주기에서 변형될 수 있다. 예를 들어, 이전 주기에서 경험한 독성에 기초하여 후속 주기에서는 용량 감량이 요구될 수 있다. 일부 실시양태에서, PF 05082566 및/또는 KW-0761을 이용한 치료는 모든 독성이 본원에 기술된 한계 범위 내에서 회복된 이후에 재개될 수 있다.

[0168] 일부 실시양태에서, 상기 언급된 범위의 하한 미만인 투여량 수준이 적정량보다 클 수 있지만, 다른 경우에는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정되는 바와 같이, 훨씬 더 큰 용량이 사용될 수 있다.

- [0169] 일부 실시양태에서, 치료 주기는 조합 치료 1일째에 시작하여 3주 또는 4주 동안 지속된다. 약물이 공동 투여되는 치료 주기 어느 날에든, KW-0761 IV 주입은 바람직하게는 PF-05082566 주입 완료 후 30분 경과하였을 때 시작된다. 대안적으로, KW-0761은 PF-05082566 주입 완료 후 IV 주입에 의해 투여된다. 본 발명은 또한 PF-05082566 및 KW-0761의 동시 IV 주입을 고려한다.
- [0170] 일부 실시양태에서, 조합 요법은 바람직하게 12주 이상 동안 (3회에 걸친 4주 주기 또는 4회에 걸친 3주 주기), 더욱 바람직하게는, 24주 이상, 및 더욱더 바람직하게는, 환자가 CR을 달성한 후 2주 내지 4주 이상 동안 투여된다.
- [0171] 또 다른 실시양태에서, 조합 요법에 대한 반응은 RECIST 버전 1.1 및 irRC를 사용하여 평가된다. 종양 평가는 모든 공지된 또는 의심되는 질환 부위를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 영상화는 흉부, 복부 및 골반 CT 또는 MRI 스캔; 뇌 CT 또는 MRI 스캔, 및 골 스캔 (필요할 경우)을 포함할 수 있다. 추가의 또 다른 실시양태에서, CT 스캔은 의학상의 이유로 사용이 금지되지 않는 한, 조영제를 사용하여 수행된다. 또 다른 실시양태에서, 기준선에서 확인 및 보고된 각각의 병변을 특징화하는 데 사용된 동일의 영상화 기술이 이후 종양 평가에서도 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 항종양 활성을 기준선에서, 최대 1년까지 8주마다 치료시에, 이어서, 3개월마다, 및 질환 진행이 의심되는 경우 (예컨대, 증상 악화)에는 언제든 수행되는 방사선 종양 평가를 통해 평가된다. 추가의 또 다른 실시양태에서, 반응 (CR/PR) 확인은 초기 반응 후 4주 이상 경과하였을 때 수행된다. 일부 실시양태에서, 질환 평가를 위해 허용되는 시간창은 스크리닝의 경우, 최대 ~7일이고 (즉, 스크리닝 시간창은 등록 이전 최대 35일이다), 치료시에는 C1D1로부터 출발하여 ±7일이다. 또 다른 실시양태에서, 시점은 역일을 따라 진행되고, 주기 출발 지연에 대해 조정되지 않아야 한다.
- [0172] 일부 실시양태에서, 본 발명의 조합 요법을 이용하는 치료를 위한 것으로 선택된 환자는 진행성 고형 암성 종양 진단을 받은 환자이다. 바람직하게, 환자는 진행성 종양에 대한 선행 전신 요법을 받지 않은 환자이다.
- [0173] 본 발명은 또한 상기 기술된 항-CCR4 항체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 의약을 제공한다. 항-CCR4 항체가 생물요법제, 예컨대, mAb인 경우, 길항체는 통상적인 세포 배양 및 회수/정제 기술을 사용하여 CHO 세포에서 생산될 수 있다.
- [0174] 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체로서 항-CCR4 항체를 포함하는 의약은 액체 제제로서 제공될 수 있거나, 또는 사용 이전에 주사용 멀균수를 사용하여 동결건조 분체를 재구성함으로써 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, KW-0761을 포함하는 의약은 약 50 mg의 KW-0761을 함유하는 유리 바이알에 제공된다.
- [0175] 본 발명은 또한 4-1BB 효능제 항체 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 의약을 제공한다. 4-1BB 효능제 항체는 미국 특허 번호 8,337,850에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다.
- [0176] 일부 실시양태에서, 4-1BB 효능제 항체는 정맥내 (IV)를 허용하도록 10 mg/mL 농도로 제제화될 수 있다. 상업적 제제는 α, α-트레할로스 이수화물, 디소듐 에틸렌디아민테트라아세트산 이수화물 및 폴리소르베이트 80 (pH 5.5)을 포함하는 L-히스티딘 완충제를 함유할 수 있다.
- [0177] 본원에 기술된 항-CCR4 및 4-1BB 의약은 제1 용기 및 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트로서 제공될 수 있다. 제1 용기는 항-CCR4 항체를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 함유하고, 제2 용기는 4-1BB 효능제를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 함유하고, 패키지 삽입물 또는 라벨은 의약을 사용하여 암에 대해 환자를 치료하는 것에 관한 설명서를 포함한다. 제1 및 제2 용기는 동일하거나 상이한 형상 (예컨대, 바이알, 시린지 및 병) 및/또는 물질 (예컨대, 플라스틱 또는 유리)로 구성될 수 있다. 키트는 의약을 투여하는 데 유용할 수 있는 다른 물질, 예컨대, 희석제, 필터, IV 백 및 라인, 바늘 및 시린지를 추가로 포함할 수 있다. 키트의 일부 실시양태에서, 항-CCR4 항체는 KW-0761이고, 설명서는 의약이 CCR4 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 가진 환자를 치료하는데 사용되도록 의도된 것임을 명시한다.
- [0178] 하기 열거되는 예시적인 구체적 실시양태를 비롯한, 본 발명의 상기 및 다른 측면은 본원에 포함된 교시로부터 자명해질 것이다.
- [0179] **본 발명의 예시적인 구체적 실시양태**
- [0180] 1. 개체에게 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제를 포함하는 조합 요법을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.
- [0181] 2. 개체에서 암을 치료하기 위해 4-1BB 효능제와 함께 조합하여 사용하기 위한 항-CCR4 항체를 포함하는 의약.

- [0182] 3. 개체에서 암을 치료하기 위해 항-CCR4 항체와 함께 조합하여 사용하기 위한 4-1BB 효능제를 포함하는 의약.
- [0183] 4. 실시양태 3 또는 4에 있어서, 제약상 허용되는 부형제를 추가로 포함하는 것인 의약.
- [0184] 5. 4-1BB 효능제와 함께 조합되어 투여되는 경우, 개체에서의 암 치료용 의약 제조에서의 항-CCR4 항체의 용도.
- [0185] 6. 항-CCR4 항체와 함께 조합되어 투여되는 경우, 개체에서의 암 치료용 의약 제조에서의 4-1BB 효능제 화합물의 용도.
- [0186] 7. 개체에서의 암 치료용 의약 제조에서의 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제의 용도.
- [0187] 8. 제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트이며, 여기서 제1 용기는 항-CCR4 항체를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 포함하고, 제2 용기는 4-1BB 효능제를 포함하는 의약을 1회분 이상의 용량으로 포함하고, 패키지 삽입물은 의약을 사용하여 암에 대해 개체를 치료하는 것에 관한 설명서를 포함하는 것인, 키트.
- [0188] 9. 실시양태 8에 있어서, 설명서가 의약이 예를 들어, 면역조직화학적 (IHC) 검정법에 의해 CCR4 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 가진 개체를 치료하는데 사용되도록 의도된 것임을 명시하는 것인 키트.
- [0189] 10. 실시양태 1 내지 9 중 어느 실시양태에 있어서, 개체가 인간이고, 항-CCR4 항체가 인간 CCR4에 특이적으로 결합하고, CD4⁺ 세포를 고갈시키는 모노클로날 항체인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0190] 11. 실시양태 9에 있어서, 항-CCR4 항체가 KW-0761 또는 huCCR4인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0191] 12. 실시양태 1 내지 9 중 어느 실시양태에 있어서, 개체가 인간이고, 항-CCR4 항체가 인간 CCR4에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0192] 13. 실시양태 12에 있어서, 항-CCR4 항체가 CD4⁺ 세포를 고갈시키는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0193] 14. 실시양태 13에 있어서, 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이 (a) 서열식별번호: 1, 2 및 3의 경쇄 CDR, 및 서열식별번호: 4, 5 및 6의 중쇄 CDR; 또는 (b) 서열식별번호: 7, 8 및 9의 경쇄 CDR, 및 서열식별번호: 10, 11 및 12의 중쇄 CDR을 포함하는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0194] 15. 실시양태 13에 있어서, 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편이 서열식별번호: 7, 8 및 9의 경쇄 CDR, 및 서열식별번호: 10, 11 및 12의 중쇄 CDR을 포함하는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0195] 16. 실시양태 13에 있어서, 항-CCR4 항체가 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서, 중쇄는 서열식별번호: 15를 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 16을 포함하는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0196] 17. 실시양태 13에 있어서, 항-CCR4 항체가 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서, 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 17을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 18을 포함하는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0197] 18. 실시양태 10 내지 17 중 어느 실시양태에 있어서, 암이 고형 종양인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0198] 19. 실시양태 10 내지 17 중 어느 실시양태에 있어서, 암이 방광암, 유방암, 투명 세포 신장암, 두부/경부 편평 세포 암종, 직장 암종, 폐 편평 세포 암종, 악성 흑색종, 비소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암, 소세포 폐암 (SCLC) 또는 삼중 음성 유방암인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0199] 20. 실시양태 10 내지 17 중 어느 실시양태에 있어서, 개체가 이전에 진행성 고형 악성 종양에 대해 치료받지 않은 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0200] 21. 실시양태 10 내지 17 중 어느 실시양태에 있어서, 암이 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종, 호지킨 림프종 (HL), 외투 세포 림프종 (MCL), 다발성 골수종 (MM), 골수 세포 백혈병-1 단백질 (Mc1-1), 골수이형성 증후군 (MDS), 비-호지킨 림프종 (NHL), 또는 소림프구성 림프종 (SLL)인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0201] 22. 실시양태 10 내지 21 중 어느 실시양태에 있어서, 4-1BB 효능제가, 각각 서열식별번호: 19 및 서열식별번호: 20의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 모노클로날 항체인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.

- [0202] 23. 실시양태 10 내지 21 중 어느 실시양태에 있어서, 4-1BB 효능제가 서열식별번호: 30, 31 및 32의 경쇄 CDR 및 서열식별번호: 27, 28 및 29의 중쇄 CDR을 포함하는 모노클로날 항체인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0203] 24. 실시양태 10 내지 21 중 어느 실시양태에 있어서, 4-1BB 효능제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 21을 포함하고, 경쇄는 서열식별번호: 22를 포함하는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0204] 25. 실시양태 10 내지 22 중 어느 실시양태에 있어서, 암이 인간 CCR4에 대해 양성 반응을 보이는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0205] 26. 실시양태 23에 있어서, 인간 CCR4 발현이 상승된 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0206] 27. 실시양태 14에 있어서, 항-CCR4 항체가 KW-0761 또는 huCCR4인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0207] 28. 실시양태 25에 있어서, KW-0761이 시트레이트 완충제 (pH 5.2-5.8) 중 4 mg/mL 항-CCR4 항체, 22.5 mg/mL 글리신, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로서 제제화되는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0208] 29. 실시양태 1 내지 26 중 어느 실시양태에 있어서, 4-1BB 효능제가 PF-05082566인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0209] 30. 실시양태 1 내지 26 중 어느 실시양태에 있어서, 항-CCR4 항체가 약 0.5, 1, 2, 3, 5 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여되는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0210] 31. 실시양태 1 내지 26 중 어느 실시양태에 있어서, 항-CCR4 항체가 KW-0761이고, 4-1BB 효능제가 PF-05082566이고, 개체가 진행성 악성 고형 종양 진단을 받은 개체이고, 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제의 용량이 하기 표의 조합 중 하나로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법, 의약, 용도 또는 키트:

[0211] <표 4>

KW-0761	및	PF-05082566
1 mg/kg	및	0.2 mg/kg
1 mg /kg	및	0.3 mg/kg
1 mg/kg	및	0.5 mg/kg
1 mg/kg	및	1.2 mg/kg
1 mg/kg	및	2.4 mg/kg
1 mg/kg	및	5.0 mg/kg
1 mg/kg	및	10 mg/kg
0.5 mg/kg	및	0.2 mg/kg
0.5 mg/kg	및	0.3 mg/kg
0.5 mg/kg	및	0.5 mg/kg
0.5 mg/kg	및	1.2 mg/kg
0.5 mg/kg	및	2.4 mg/kg
0.5 mg/kg	및	5.0 mg/kg
0.5 mg/kg	및	10 mg/kg
0.1 mg/kg	및	0.2 mg/kg
0.1 mg/kg	및	0.3 mg/kg
0.1 mg/kg	및	0.5 mg/kg
0.1 mg/kg	및	1.2 mg/kg
0.1 mg/kg	및	2.4 mg/kg
0.1 mg/kg	및	5.0 mg/kg
0.1 mg/kg	및	10 mg/kg

[0212]

[0213] 일반 방법

[0214]

분자 생물학의 표준 방법은 문헌 [Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring

Harbor, NY]; [Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY]; [Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA]에 기술되어 있다. 표준 방법은 또한 박테리아 세포에서의 클로닝 및 DNA 돌연변이유발 (Vol. 1), 포유동물 세포 및 효모에서의 클로닝 (Vol. 2), 당접합체 및 단백질 발현 (Vol. 3), 및 생물정보학 (Vol. 4)을 기술하는 문헌 [Ausbel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols.1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY]에 제시되어 있다.

[0215] 면역침전, 크로마토그래피, 전기영동, 원심분리, 및 결정화를 비롯한, 단백질 정제 방법이 기술되어 있다 (Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). 화학적 분석, 화학적 변형, 변역후 변형, 융합 단백질의 생산, 단백질의 글리코실화가 기술되어 있다 (예컨대, 문헌 [Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York]; [Ausbel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17]; [Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89]; [Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391] 참조). 폴리클로날 및 모노클로날 항체의 생산, 정제, 및 단편화가 기술되어 있다 ([Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York]; [Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY]; [Harlow and Lane, 상기 문헌 동일]). 리간드/수용체 상호작용을 특징화하는 표준 기술이 이용가능하다 (예컨대, 문헌 [Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York] 참조).

[0216] 모노클로날, 폴리클로날, 및 인간화 항체가 제조될 수 있다 (예컨대, 문헌 [Sheperd and Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY]; [Kontermann and Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York]; [Harlow and Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243]; [Carpenter, et al. (2000) *J. Immunol.* 165:6205]; [He, et al. (1998) *J. Immunol.* 160:1029]; [Tang et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:27371-27378]; [Baca et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684]; [Chothia et al. (1989) *Nature* 342:877-883]; [Foote and Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499]; 미국 특허 번호 6,329,511 참조).

[0217] 인간화에 대한 대안은 과거 상에 디스플레이되어 있는 인간 항체 라이브러리 또는 트랜스제닉 마우스의 인간 항체 라이브러리를 사용하는 것이다 ([Vaughan et al. (1996) *Nature Biotechnol.* 14:309-314]; [Barbas (1995) *Nature Medicine* 1:837-839]; [Mendez et al. (1997) *Nature Genetics* 15:146-156]; [Hoogenboom and Chames (2000) *Immunol. Today* 21:371-377]; [Barbas et al. (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York]; [Kay et al. (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA]; [de Bruin et al. (1999) *Nature Biotechnol.* 17:397-399]).

[0218] 항체를 생성하는 데 있어 항원을 정제하는 것이 필수적인 것은 아니다. 동물은 관심 항원을 보유하는 세포로 면역화될 수 있다. 이어서, 비장세포는 면역화된 동물로부터 단리될 수 있고, 비장세포는 골수종 세포주와 융합되어 하이브리도마를 생성할 수 있다 (예컨대, 문헌 [Meyaard et al. (1997) *Immunity* 7:283-290]; [Wright et al. (2000) *Immunity* 13:233-242]; [Preston et al., 상기 문헌 동일]; [Kaithamana et al. (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164] 참조).

[0219] 항체는, 예컨대, 소형 약물 분자, 효소, 리포솜, 폴리에티렌 글리콜 (PEG)에 접합될 수 있다. 항체는 치료, 진단, 키트 또는 다른 목적에 유용하고, 예컨대, 염료, 방사성 동위원소, 효소, 또는 금속, 예컨대, 콜로이드성 금에 커플링된 항체를 포함한다 (예컨대, 문헌 [Le Doussal et al. (1991) *J. Immunol.* 146:169-175]; [Gibellini et al. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898]; [Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811]; [Everts et al. (2002) *J. Immunol.* 168:883-889] 참조).

[0220] 형광 활성화 세포 분류 (FACS)를 비롯한 유세포 분석법 방법이 이용가능하다 (예컨대, 문헌 [Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ]; [Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.]; [Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ] 참조). 예컨대, 진단 시약으로서 사용하기 위해 핵산 프라이머 및 프로브를 비롯한 핵산, 폴리펩티드, 및 항체를 변형시키는 데 적합한 형광 시약이 이용가능하다

([Molecular Probesy (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR]; [Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO]).

[0221] 면역계 조직학의 표준 방법이 기술되어 있다 (예컨대, 문헌 [Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY]; [Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA]; [Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY] 참조).

[0222] 예컨대, 항원성 단편, 리더 서열, 단백질 폴딩, 기능성 도메인, 글리코실화 부위, 및 서열 정렬을 결정하기 위한 소프트웨어 패키지 및 데이터베이스가 이용가능하다 (예컨대, 진뱅크(GenBank), 벡터(Vector) NTI® 스위트 (Suite) (인포르맥스, 인크(Informax, Inc.: 미국 메릴랜드주 베데스다)); GCG 위스콘신 패키지(Wisconsin Package) (액셀리스, 인크.(Accelrys, Inc.: 미국 캘리포니아주 샌디에고)); 데시퍼(DeCypher)® (타임로직 코포레이션(TimeLogic Corp.: 미국 네바다주 크리스탈 베이)); 문헌 [Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742]; [Menne, et al. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742]; [Wren, et al. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181]; [von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21]; [von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690] 참조).

실시예

실시예 1. 조합 치료

[0225] 본 실시예는 암에 걸린 동물 모델에서 CD4⁺ T 세포 고갈이 4-1BB 효능제 항체의 항종양 활성에 미치는 효과를 예시하는 것이다.

[0226] 확립된 B16F10 종양에 대한 조합 면역요법의 항종양 효능을 평가하기 위해, CT26 모델에서 효능을 보인 이전 연구 (Escuin-Ordinas et al., *J Immunother Cancer*, 2013;1:14), 및 앞서 보고된 항-PD-1 및 항-LAG-3 투여 요법 ([Woo et al., *Cancer Research*, 2012;72:917-27]; [Curran et al., *PLoS One*. 2011;6:e19499])에 기초하여 항-4-1BB 투여 요법을 선택하였다. 공개된 결과와 일관되게, 항-4-1BB, 항-PD-1 또는 항-LAG-3 단독의 것은 종양 크기가 50 - 154 mm³일 때 이를 단일 작용제 처리를 시작한 경우에 B16F10 종양 성장을 일관되게 억제시키지 못했다 (데이터는 나타내지 않음). 항-PD-1을 항-LAG-3과 조합한 결과, 비록 상기 처리 이후에 어떤 마우스도 무종양인 것은 없었지만, 이소형 대조군과 비교하여 54%의 종양 성장 억제 (TGI)가 이루어졌다 ($p < 0.001$). 그에 반해, 동물에 항-4-1BB 및 항-PD-1 항체를 공동으로 투여하였을 때, 이소형 대조군과 비교하여 85% TGI의 극적 효능이 뒤따라 발생하였고 ($p < 0.0001$), 처리된 동물 10마리 중 7마리는 무종양이었다 (데이터는 나타내지 않음). 상기와 같이 현저한 조합 효능은 재현가능하다: 다른 실험자에 의해 이루어진 독립 연구에서 (종양 크기 64-209 mm³), 조합 치료군에서는 평균 종양 부담이 축소되었으며, 여기서, 연구 종료시 동물 10마리 중 2마리는 완전한 무종양 상태였고, 동물 10마리 중 4마리는 부분적 퇴행이 진행 중이었다 (데이터는 나타내지 않음). 추가로, 처리를 매우 큰 종양 (크기 126-350 mm³)에 적용시켰을 때, 유의적인 TGI (대조군과 비교하여 51%, $p < 0.0001$)는 오직 항-4-1BB/항-PD-1 조합인 경우에서만 관찰되었고, 반면 항-PD-1/항-LAG-3 조합은 효과가 없었다 (데이터는 나타내지 않음).

[0227] 유사하게, MC38 결장암 모델에서 항-4-1BB/항-PD-1 조합의 강력한 항종양 효과가 관찰되었다. 연구 종료시 (종양 이식 후 21일째), 조합 치료의 경우 TGI는 PBS 대조군과 비교하여 63%였다. 단일 작용제로 단독으로 처리한 경우와 비교하였을 때에도 또한 억제는 유의적이었다 (항-4-1BB 단독에 대해 $p < 0.05$, 및 항-PD-1 단독에 대해 $p < 0.001$).

[0228] 항-4-1BB/항-PD-1 조합 치료를 필요로 하는 면역 세포 하위세트를 확인하기 위해, 항체를 사용하여 B16F10 보유 마우스에서 CD4⁺ T 세포, CD8⁺ T 세포, 또는 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포 둘 다를 동시에 고갈시켰다. 0일째, 1×10^6 개의 B16F10을 C57BL/6 마우스에 s.c.로 접종하였다. 평균 종양 부피가 ~80 mm³인 마우스를 군당 10마리의 동물로 이루어진 군으로 무작위화하였다 (10일째). B16F10 보유 마우스는 앞서 기술된 바와 같이 항-CD4 (GK1.5, 바이오X셀(BioXcel1)) 및/또는 항-CD8 (53.5.8, 바이오X셀)을 받았다 (Butler et al., *Nature Immunology*, 2012;13:188-95). 간략하면, 백 (100) µg 이소형 대조군 IgG 또는 항-CD4 및/또는 항-CD8 mAb를 11, 16, 및 21일째 i.p.로 투여하였다. 항-4-1BB (1 mg/kg)/항-PD-1 (10 mg/kg) mAb를 12, 17 및 22일째 투여하였다. 주당 2-3회에 걸쳐 종양 크기를 측정하였다.

[0229] 항-4-1BB 효능제 항체 + 항-PD-1 길항제 항체 조합 치료 후 종양 성장을 비교하였다 (도 9). 각 처리군의 평균

\pm SEM이 도 9에 제시되어 있다. CD8⁺ T 세포의 부재하에서, 종양 억제는 완전히 폐기되었다. 흥미롭게도, CD4⁺ T 세포 고갈은 항종양 활성을 증강시켰다 (항-4-1BB/항-PD-1 군과 비교하였을 때, p < 0.05). 상기 데이터는 Treg 세포 고갈이 4-1BB 효능제의 항종양 활성을 증강시킨다는 것을 시사한다.

[0230] 별개의 실험에서, CT26 결장 종양 모델에서 CD4⁺ T 세포 고갈이 항-4-1BB/항-PD-1 조합 치료에 미치는 효과를 평가하였다 (도 10). CD8⁺ T 세포의 부재하에서, 종양 억제는 완전히 폐기되었다. B16 흑색종 모델에서와 같이, CD4⁺ T 세포 고갈은 항종양 활성을 증강시켰다.

[0231] 상기 결과는 종양 모델에서 4-1BB 효능제 항체의 항종양 활성을 Treg 세포 또는 CD4⁺ T 세포의 고갈에 의해 증강될 수 있다는 것을 입증한다.

물질 및 방법

[0233] **마우스.** 6 내지 8주령된 암컷 C57BL/6 마우스를 더 잭슨 라보라토리즈(The Jackson Laboratories)로부터 구입하였다. 마우스를 유지시키고, 모든 동물 실험은 리나트(Rinat: 사우쓰 샌프란시스코)의 실험 동물 운영 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee) 및 화이자 인크.(Pfizer Inc.: 라호야)의 세계 연구 개발(Worldwide Research and Development: WRD)에 의해 승인받은 프로토콜에 따라 수행하였다.

[0234] **세포주.** B16F10 흑색종 세포주를 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(American Type Culture Collection: ATCC)으로부터 구입하였다. MC38 결장 암종 세포주는 UCLA (미국 캘리포니아주 로스엔젤레스)의 안토니 리바스(Antoni Ribas) 박사로부터 친절하게 제공받았다. 세포를 공기 중 5% CO₂의 대기하에 37°C에서 10% 우테아 혈청, 2 mM L-글루타민으로 보충된 DMEM 배지 중에서 배양하고, 실험 동물 진단 실험실(Research Animal Diagnostic Laboratory: RADIL: 미국 미주리주 콜롬비아)에서 병원체에 대해 IMPACT 시험을 수행하였다. 지수 성장기로 성장하는 무병원체 세포를 수거하고, 종양 접종을 위해 사용하였다.

[0235] **면역요법 및 유세포 분석법을 위한 항체.** 치료제 래트 항-마우스 4-1BB mAb (클론 MAB9371)를 R&D 시스템즈(R&D systems)로부터 구입하였다. 래트 항-마우스 PD-1 mAb (클론 RMP1-14) 및 래트 IgG2a 이소형 대조군은 바이오X셀로부터 구입하였다. 래트 항-마우스 LAG-3 mAb (클론 eBioC9B7W)는 e바이오사이언스(eBioscience)로부터 구입하였다.

[0236] 세포 표면 또는 세포내 염색을 위해 사용되는 모노클로날 항체는 BD 바이오사이언시스(BD Biosciences) 또는 e바이오사이언스로부터 구입하였다. T 세포를 특징화하는 데 사용된 모노클로날 항체는 햄스터 항-마우스 CD3 ε-알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 488 (클론 145-2C11), 래트 항-마우스 CD4-PerCP-Cy5.5 (클론 RM4-5), 래트 항-마우스 CD8 α-APC-H7 (클론 53-6.7), 래트 항-마우스 CD25-BD 호라이즌(Horizon) V450 (클론 PC61), 햄스터 항-마우스 CD137 (4-1BB)-APC (클론 17B5), 햄스터 항-마우스 CD279 (PD-1)-BD 호라이즌 PE-CF594 (클론 J43), 래트 항-마우스 폭스P3(FoxP3)-알렉사 플루오르 700 (클론 FJK-16s), 래트 항-마우스 에오메스(Eomes)-PE (클론: Dan11mag), 햄스터 항-마우스 KLRG1-PerCP-Cy5.5 (클론 2F1), 및 래트 항-마우스 NK-1.1-PE-Cy7 (클론 PK136)이었다. MDSC를 특징화하는 경우, mAb는 래트 항-마우스 CD45-APC-Cy7 (클론 30-F11), 래트 항-마우스 CD11b-알렉사 플루오르 488 (클론 M1/70), 래트 항-마우스 Ly-6G (Gr-1)-PerCP-Cyanine5.5 (클론 RB6-8C5), 및 래트 항-마우스 F4/80-PE (클론 BM8)였다. 생/사멸 고정가능한 청색 사멸 세포 염색용 키트(LIVE/DEAD Fixable Blue Dead Cell Stain Kit) (인비트로젠(Invitrogen))를 사용하여 생 세포를 사멸 세포로부터 분리하였다.

[0237] **유세포 분석법을 이용한 면역 세포 표현형 분석.** 종양 보유 마우스로부터 비장을 수거하고, 기계적으로 해리시켜 냉동 PBS 중 단일 세포 혼탁액으로 만들었다. 비장세포를 적혈구 용해 완충제 하이브리-맥스(Red Blood Cell Lysing Buffer Hybri-Max) (시그마-알드리치(Sigma-Aldrich))로 처리하여 적혈구를 제거하고, PBS로 2회 세척하고, 2% FBS 및 0.9% NaN₃으로 보충된 PBS 중에 재현탁시켰다. ~1 x 10⁶개의 비장세포로 이루어진 분취량을 표현형 분석 전 10분 동안 10 μg/mL의 마우스 BD Fc 블록 (BD 바이오사이언시스)과 함께 미리 인큐베이션시키고, mAb 칵테일을 첨가하여 면역 세포를 특이적으로 염색시켰다.

[0238] 제조사의 설명서 (밀테니이 바이오테크(Miltenyi Biotec))에 따라 마우스 종양 해리용 키트 및 젠틀MACS 해리 장치(GentleMACS Dissociator)를 사용하여 종양 침윤 림프구를 제조하였다.

[0239] 4°C에서 30분 동안 세포를 인큐베이션시켜 세포 표면 항원을 표지하였다. 제조사의 설명서 (e바이오사이언스)

에 따라 FoxP3/전사 인자 염색 완충제 세트(FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer set)를 사용하여 세포내 염색을 수행하였다. LSR 포르테사(LSR Fortessa) (BD 바이오사이언시스)를 이용하여 유세포 분석법 데이터를 획득하고, 플로우조(FlowJo) (트리스타, 잉크.(TreeStar Inc.))를 이용하여 분석하였다.

[0240] **생체내 종양 효능 연구.** 0.1 ml의 무혈청 DMEM 배지 또는 PBS 중 1×10^6 개의 B16F10 또는 MC38 세포를 C57BL/6 마우스 우측 옆구리에 피하로 접종하였다. 종양 크기가 50 - 154 mm³에 도달하였을 때 처리하기 시작하였다. 4-1BB (1 mg/kg), PD-1 (10 mg/kg) 및 LAG-3 (10 mg/kg)에 대한 항체를 단독으로 또는 조합하여 5일 간격으로 2회에 걸쳐 복강내로 (i.p.) 투여하였다. (126-350 mm³ 범위의) 더 큰 종양을 치료하는 연구에서는 항체를 3일 간격으로 4회에 걸쳐 제공하였다. 캘리퍼를 사용하여 2차원으로 종양 크기를 측정하고, 하기 식: V = 0.5 L x W² (여기서, L 및 W는 각각 종양의 긴 직경 및 짧은 직경이다)를 사용하여 부피를 mm³으로 표시하였다.

실시예 2. 유전자 발현 프로파일링: 인간 종양에서 FOXP3 mRNA와 상관관계가 있는 인간 유전자의 분석

[0241] 본 실시예는 인간 종양에서의 FOXP3 mRNA와 CCR4 mRNA의 상관관계를 예시한다.

[0242] 더 캔서 게놈 아틀라스(The Cancer Genome Atlas: TCGA)로부터의 RNA-Seq 데이터를 분석하여 인간 종양 종 FOXP3 mRNA와 인간 유전자 사이의 상관관계를 확인하였다. 하기 표 5는 인간 유전자 목록을 3가지 종양 유형 간에 걸친 FOXP3 mRNA와 그의 평균 상관 계수 (종양 RNAseq 데이터) 순서대로 제공한다. 상관 계수 값이 더 높을수록 Treg를 고갈시키는 데 있어서 효능이 잠재적으로 더 높다는 것을 나타낸다. 굵은체로 표시된 유전자는 활성화된 Treg 세포와 연관이 있는 것으로 널리 공지된 유전자이다.

[0243] TCGA로부터의 다중 고형 종양 RNA-Seq 데이터 간의 FOXP3과의 상관관계 분석에 기초하여, CCR4는 Treg 세포를 고갈시키는 데 있어 관심을 끄는 표적인 것으로 확인되었다. CCR4는 HNSC 종양, 결장 종양 및 직장 종양에서 각각 0.857, 0.837, 및 0.856인 비교적 높은 FOXP3 상관 계수 값을 가진다 (표 5). 본 연구에서 확인된, Treg 세포를 고갈시키는 데 있어 다른 표적으로는 CCR8, ICOS, TIGIT, CD4, CD28, ARHGEF6, IKZF1, PTPRC, DOCK2, CCR4, CCR5, IL21R, IL2RB, NCKAP1L, SLAMF1, ITGAL, IL10RA, P2RY10, IL2RA, FMNL1, DOCK10, ITK, SASH3, KIAA0748, LCP2, TNFRSF9 (4-1BB, CD137), CYBB 및 CTLA4를 포함한다.

[0245]

<표 5>

유전자	FOXP3 mRNA 와의 상관 계수			
	HNSC 종양	결장 종양	직장 종양	평균
CCR8	0.914	0.910	0.885	0.903
ICOS	0.870	0.847	0.874	0.864
TIGIT	0.878	0.833	0.876	0.862
CD4	0.864	0.862	0.851	0.859
CD28	0.900	0.835	0.838	0.858
ARHGEF6	0.839	0.844	0.880	0.854
IKZF1	0.895	0.821	0.841	0.852
PTPRC	0.885	0.823	0.846	0.851
DOCK2	0.886	0.826	0.841	0.851
CCR4	0.857	0.837	0.856	0.850
CCR5	0.856	0.833	0.856	0.848
IL21R	0.884	0.826	0.830	0.847
IL2RB	0.884	0.834	0.820	0.846
NCKAP1L	0.880	0.818	0.825	0.841
SLAMF1	0.856	0.833	0.824	0.838
ITGAL	0.853	0.822	0.827	0.834
IL10RA	0.858	0.827	0.815	0.834
P2RY10	0.883	0.801	0.815	0.833
IL2RA	0.839	0.822	0.839	0.833
FMNL1	0.826	0.818	0.844	0.829
DOCK10	0.802	0.844	0.841	0.829
ITK	0.876	0.803	0.808	0.829
SASH3	0.854	0.817	0.816	0.829
KIAA0748	0.876	0.821	0.788	0.828
LCP2	0.845	0.808	0.825	0.826
TNFRSF9 (4-1BB, CD137)	0.822	0.794	0.857	0.824
CYBB	0.812	0.801	0.851	0.821
CTLA4	0.782	0.785	0.692	0.753

[0246]

[0247] 실시예 3. 유전자 발현 프로파일링: 항-CCR4 항체 처리에 적합한 암 유형 확인

[0248]

본 실시예는 인간 종양에서 FOXP3 mRNA와 인간 유전자 mRNA의 상관관계를 예시한다.

[0249]

더 캔서 게놈 아틀라스(TCGA)로부터의 RNA-Seq 데이터를 분석하여 인간 종양 중 CCR4 mRNA와 FOXP3 mRNA, 및 CTLA4 mRNA와 FOXP3 mRNA 사이의 상관관계를 확인하였다. 하기 표 6은 TCGA에서 이용가능한 모든 종양 유형 간의 상관 계수를 제공한다.

[0250]

본 분석에 기초하여, 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제를 이용하는 처리가 지시되는 암 유형으로는 두부/경부 편평 세포 암, 직장암, 결장암, 편평 세포 폐암, 갑상선암, 방광암, 흑색종, 자궁경부암, 전립선암, 유방암, 자궁/자궁내막암, 췌장암, 폐 샘암종, 난소암, 및 유두상 신장암을 포함한다.

[0251]

<표 6>

종양	FOXP3-CCR4 상관관계	FOXP3- CTLA4 상관관계	종양 샘플 개수	스타이거(Steiger's) 검정 통계치	스타이거 검정 p-값	스타이거 검정 조정된 p-값
두부경부암	0.857 ^a	0.782	425	4.085	5.27E-05	0.0002
직장암	0.856 ^a	0.692	85	3.480	0.0008	0.0027
결장암	0.837 ^c	0.785 ^c	248	2.191	0.0294	0.0587
폐 편평 세포암	0.820 ^c	0.842 ^c	482	-1.443	0.1496	0.2288
갑상선암	0.820	0.859 ^b	496	-2.909	0.0038	0.0090
방광암	0.812 ^c	0.847 ^c	211	-1.393	0.1651	0.2385
흑색종	0.756 ^a	0.511	356	6.813	4.12E-11	3.57E-10
자궁경부암	0.731 ^c	0.616 ^c	159	2.089	0.0383	0.06639
전립선암	0.730 ^a	0.409	256	7.437	1.58E-12	2.06E-11
유방암	0.712	0.852 ^b	994	-10.540	1.08E-24	2.80E-23
자궁암 자궁내막암	0.699	0.597	145	1.795	0.07469	0.12137
췌장암	0.698 ^c	0.757 ^c	56	-1.048	2.99E-01	0.38930
폐 샘암종	0.692	0.764 ^b	490	-3.254	0.001215	0.00351
난소암	0.646	0.800 ^b	265	-5.412	1.40E-07	7.29E-07
유두상 신장암	0.600	0.542	161	0.997	0.32009	0.39630
AML	0.582	0.613	172	-0.684	0.49489	0.55945
투명 세포 신장암	0.574	0.730 ^b	507	-5.868	7.98E-09	5.19E-08
B-세포 림프종	0.569	0.571	28	-0.013	0.98997	0.98997
간암	0.557	0.358	147	2.885	4.51E-03	0.00976
신경교종	0.520	0.551	166	-0.527	5.99E-01	0.64900

[0252]

종양	FOXP3-CCR4 상관관계	FOXP3- CTLA4 상관관계	종양 샘플 개수	스타이거(Steiger's) 검정 통계치	스타이거 검정 p-값	스타이거 검정 조정된 p-값
자궁 육종	0.496	0.490	56	0.046	0.96385	0.98997
신장암 크로모	0.429	0.609	66	-2.143	3.59E-02	0.06639
육종	0.424	0.666	105	-3.445	0.00083	0.00269
저등급 신경교종	0.199	0.148	306	0.805	0.42152	0.49816
부신암	0.126	0.270	79	-1.320	1.91E-01	0.26117

[0253]

[0254]

^a CCR4가 FOXP3과 더 우수한 상관관계가 있는 암 유형

[0255]

^b CTLA4가 FOXP3과 더 우수한 상관관계가 있는 암 유형

- [0256] ^c CTLA4 및 CCR4와 FOXP3의 상관관계가 우수한 것인 암 유형
- [0257] 실시예 4. 종양을 보유하는 마우스에의 항-CCR4 항체 및 4-1BB 효능제의 공동 투여.
- [0258] 본 실시예는 동물 암 모델에서 4-1BB 효능제와 함께 조합된 항-CCR4 항체 처리를 예시하는 것이다.
- [0259] 한 연구에서, 1×10^6 개의 MC38 뮤린 결장 암종 세포를 C57BL6 마우스에 피하로 이식한다. 종양 성장을 모니터링하고, 종양의 평균 크기가 150 mm^3 에 도달하였을 때, 동물을 8마리로 이루어진 4개의 군으로 무작위화하고, 이소형 대조군, 1 mg/kg의 래트 항-마우스 4-1BB 효능제 모노클로날 항체 (R&D 시스템즈 #MAB9371), 10 mg/kg의 항-마우스 CCR4 항체, 또는 상기 둘의 동시 조합을 5일마다 1번씩 총 2회 용량으로 복강내로 투여한다. 캘리퍼를 사용하여 2차원으로 종양 크기를 측정하고, 하기 식: $V = 0.5 L \times W^2$ (여기서, L 및 W는 각각 종양의 긴 직경 및 짧은 직경이다)를 사용하여 부피를 mm^3 으로 표시하였다. 대조군의 종양 크기가 1,000 mm^3 에 도달하였을 때, 연구를 종료한다. 4-1BB 효능제 모노클로날 항체, 항-마우스 CCR4 항체, 또는 상기 둘의 동시 조합으로 처리된 동물을 비교함으로써 조합 치료의 효능을 평가한다.
- [0260] 실시예 5. 적응증의 우선 순위화: 환자 선택 전략법 추구
- [0261] 본 실시예는 항-CCR4 항체/4-1BB 효능제 조합 치료에 대한 환자를 선택하는 전략법을 예시한다.
- [0262] 항-CCR4 요법은 항종양 반응을 억제시키는 Treg를 고갈시킨다. 4-1BB는 항종양 T 세포 활성을 증폭시킨다. 상기 실시예 1에서 입증된 효과에 기초하여, 항-CCR4 항체를 4-1BB 효능제와 함께 조합하면, 단일 작용제 중 어느 하나의 것보다 더 큰 증강된 반응을 얻게 될 것이다.
- [0263] Treg (FOXP3+) 함량이 높은 종양이 본 연구에 우선 순위화된다. 쌍을 이룬 투여전 및 투여후의 신선한 생검에서 종양 침윤 림프구 (TIL)를 평가함으로써 환자를 선택한다. 면역조직화학법 분석을 수행하여 종양 침윤 T 세포 위치 및 활성화 상태를 측정한다. 기준선에서 및 처리 후에 4-1BB/CCR4 비율을 평가한다. CD4, CD8, FoxP3, PD-1 및 PD-L1을 병렬로 평가한다.
- [0264] 하기 표 7은 서열 목록의 서열에 관한 간략한 설명을 제공한다.

[0265]

<표 7>

SEQ ID NO:	설명
1	KW-0761 경쇄 CDR1
2	KW-0761 경쇄 CDR2
3	KW-0761 경쇄 CDR3
4	KW-0761 중쇄 CDR1
5	KW-0761 중쇄 CDR2
6	KW-0761 중쇄 CDR3
7	Mab1567 경쇄 CDR1
8	Mab1567 경쇄 CDR2
9	Mab1567 경쇄 CDR3
10	Mab1567 중쇄 CDR1
11	Mab1567 중쇄 CDR2
12	Mab1567 중쇄 CDR3
13	huCCR4 중쇄 가변 영역
14	huCCR4 경쇄 가변 영역
15	KW-0761 전장 중쇄
16	KW-0761 전장 경쇄
17	KW-0761 중쇄 가변 영역
18	KW-0761 경쇄 가변 영역
19	4-1BB 효능제 중쇄 가변 영역
20	4-1BB 효능제 경쇄 가변 영역
21	4-1BB 효능제 중쇄
22	4-1BB 효능제 경쇄
23	니볼루맙 중쇄
24	니볼루맙 경쇄
25	인간 CCR4
26	인간 4-1BB
27	4-1BB 효능제 중쇄 CDR1
28	4-1BB 효능제 중쇄 CDR2
29	4-1BB 효능제 중쇄 CDR3
30	4-1BB 효능제 경쇄 CDR1
31	4-1BB 효능제 경쇄 CDR2
32	4-1BB 효능제 경쇄 CDR3

[0266]

[0267] 실시예 6. 조합 치료

[0268] 본 실시예는 항-CCR4 항체/4-1BB 효능제를 이용한 조합 치료를 예시한다.

[0269] PF-05082566을 4주마다 (Q4W) 각 주기의 1일째에 1시간 정맥내 (IV) 주입으로서 투여할 것이다. PF-05082566의 출발 용량은 1.2 mg/kg이 될 것이다.

[0270] KW-0761은 1시간 IV 주입으로서 매주 (QW) 4주 연속 (1, 8, 15, 및 22일째) 투여된 후, 이어서, 격주 투여로 (1 및 15일째) 1 mg/kg의 용량으로 투여될 것이다.

[0271] 약물이 공동 투여되는 각 투여 주기의 1일째에 KW-0761 주입은 PF-05082566 주입 완료 후 30분 ($\pm 10 \text{ min}$) 경과 시에 출발할 것이며, PF-05082566 후 및 KW-0761 전에 PK 혈액 샘플을 채취한다.

[0272] 본원에 인용된 모든 참고 문헌은 마치 각각의 개별적인 공개, 데이터베이스 엔트리 (예컨대, 진뱅크 서열 또는 진ID(GeneID) 엔트리), 특히 출원, 또는 특허가 참조로 포함된 것으로 구체적으로 및 개별적으로 명시된 것과

같은 정도로 참조로 포함된다. 참조로 포함된다는 이 설명은, 이러한 인용이 참조로 포함된다는 전용 설명에 바로 인접하지 않은 경우에도, 37 C.F.R. § 1.57 (b)(1)에 따라 각각의 및 모든 개별적인 공개, 데이터베이스 엔트리 (예컨대, 진뱅크 서열 또는 진ID 엔트리), 특히 출원, 또는 특허에 관련되도록 출원인에 의해 의도되며, 이를 각각은 37 C.F.R. § 1.57(b)(2)에 따라 명백하게 확인된다. 명세서 내에서의 참조로 포함된다는 전용 설명의 포함은, 존재할 경우 어떠한 방식으로도 참조로 포함된다는 이 일반적인 설명을 약화시키지 않는다. 본원의 참고 문헌의 인용은 참고 문헌이 선행 기술과 관련이 있는 것으로 인정하는 것으로 의도되지 않고, 이를 공개 또는 문헌의 내용 또는 날짜로서 어떠한 승인도 구성하지 않는다.

도면

도면1

KW0761 경쇄 CDR1 (SEQ ID NO:1)

RSSRNIVHINGDTYLE

KW0761 경쇄 CDR2 (SEQ ID NO:2)

KVSNRFS

KW0761 경쇄 CDR3 (SEQ ID NO:3)

FQGSLLPWT

KW0761 중쇄 CDR1 (SEQ ID NO:4)

NYGMS

KW0761 중쇄 CDR2 (SEQ ID NO:5)

TISSASTYSYYPDSVKG

KW0761 중쇄 CDR3 (SEQ ID NO:6)

HSDGNFAFGY

도면2

Mab1567 경쇄 CDR1 (SEQ ID NO:7)

KSSQSILYSSNQKNYLA

Mab1567 경쇄 CDR2 (SEQ ID NO:8)

WASTRES

Mab1567 경쇄 CDR3 (SEQ ID NO:9)

HQYLSSYT

Mab1567 중쇄 CDR1 (SEQ ID NO:10)

GYTFASYY

Mab1567 중쇄 CDR2 (SEQ ID NO:11)

WINPGNVNTKYNEKFKG

Mab1567 중쇄 CDR3 (SEQ ID NO:12)

STYYRPLDY

도면3

huCCR4 중쇄 가변 영역 (SEQ ID NO:13)

QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFASYYMHWMRQAPGQGLEWIGWINPGN
VNTKYNEKFKGRTLTVDTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYRPLDYWGQ
GTLTVSS

huCCR4 경쇄 가변 영역 (SEQ ID NO:14)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSILYSSNQKNYLA
WASTRESGVPDFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
VYYCHQYLSSYT
FGQGTKLE
IK

도면4

KW-0761 중쇄 (SEQ ID NO:15)

EVQLVESGGD LVQPGRLRL SCAASGFIFS NYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
 ISSASTYSYY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRVED TALYYCGRHS
 DGNFAFGYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY
 ICNVNHNKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CFAPELLGGP SVFLFPPKPK
 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNNAK TKPREEQYNS
 TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESENQPE NNYKTTPPVL
 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

KW-0761 경쇄 (SEQ ID NO: 16)

DVLMTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSRNIV HINGDTYLEW YLQKPGQSPQ
 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLLP
 WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTL SKAD YEHKHVYACE
 VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

KW-0761 중쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 17)

EVQLVESGGD LVQPGRLRL SCAASGFIFS NYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
 ISSASTYSYY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRVED TALYYCGRHS
 DGNFAFGYWG QGTLVTVSS

KW-0761 경쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 18)

DVLMTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSRNIV HINGDTYLEW YLQKPGQSPQ
 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSLLP
 WTFGQGTKVE IK

도면5

나볼루맙**중쇄 (SEQ ID NO: 23)**

QVQLVESGGG VVQPGRLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV 50
 IWYDGSKRYY ADSVKGRFTI SRDN SKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND 100
 DWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV 150
 TVSWNSGALT SGVHTFP A VL QSSGLYSLSS VVTVPSSLG TKTYTCNVDH 200
 KPSNTKVDKR VESKYGPPCP PCPAPEFLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP 250
 EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGEVHNNA KTKPREEQFN STYRVSVLT 300
 VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE 350
 MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESENQPE ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY 400
 SRLTVDKSRW QEGNVFSCSVM MHEALHNHYT QKSLSL LGK 440

경쇄 (SEQ ID NO: 24)

EIVLTQSPAT LS LSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD 50
 ASN RATGIPA RFSGSGSGTD FT LTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ 100
 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCL LNNFY PREAKVQWKV 150
 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSS LT LSKADYEKH VYACEVTHQG 200
 LS SPVTKSFN R GEC 214

도면6

4-1BB 항체에 대한 중쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 19)

EVQLVQSGAEVKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEWM
GKIYPGDSYTNYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC
ARGYGIFDYWGQGTLTVSS

4-1BB 항체에 대한 경쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 20)

SYELTQPPSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVIY
QDKNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCATYTGFGL
AVFGGGTKLTVL

도면7

인간 4-1BB의 아미노산 서열 (SEQ ID No: 26)

Mgnscynivatlllvlnfertrslqdpcsnpcagtfcdnnrnqicspcppnsfss
aggqrtdicrqckgvfrtrkecsstsnaecdctpgfhclgagcsmceqdckqqq
eltkkgckdcccftfdqkrgicrpwtncsldgksvlvngtkerdvvcgpypadl
spgasstppaparepghspqiisfflaltstallfllffltlrfsvvkrgrkkl
lyifkqpmpvqttqeegcscrfpeeeeeggcel

4-1BB에 대한 중쇄 CDR1 (SEQ ID No: 27)

STYWIS

4-1BB에 대한 중쇄 CDR2 (SEQ ID No: 28)

KIYPGDSYTNYSPSFQG

4-1BB에 대한 중쇄 CDR3 (SEQ ID No: 29)

RGYGIFDY

4-1BB에 대한 경쇄 CDR1 (SEQ ID No: 30)

SGDNIGDQYAH

4-1BB에 대한 경쇄 CDR2 (SEQ ID No: 31)

QDKNRPS

4-1BB에 대한 경쇄 CDR3 (SEQ ID No: 32)

ATYTGFGLAV

도면8

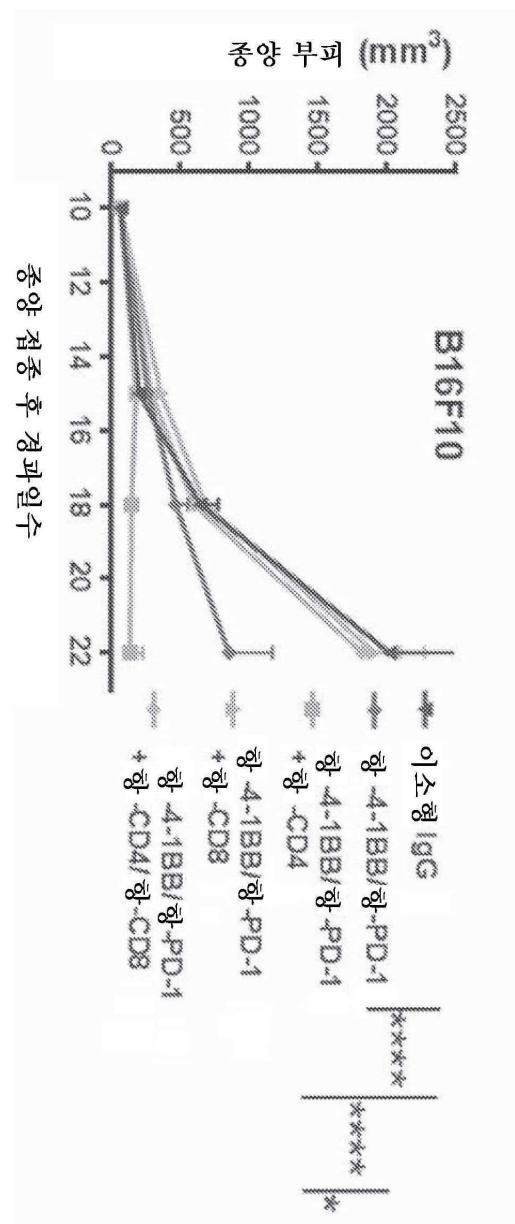
4-1BB 효능제 항체 중쇄 (SEQ ID NO: 21)

EVQLVQSGAEVKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEWMGKIYPGD
SYTNYSFPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYWGQGT
LTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaalgclyfpeptvswnsgaltsg
vhtfpavlqssglysliSSVtvPSSnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccv
ecppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvd
gvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiekt
isktkgqpqrepqvytlippsreemtnqvsitclvkgfypsdiavewesngqpenn
yktppmlsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslsp
gk

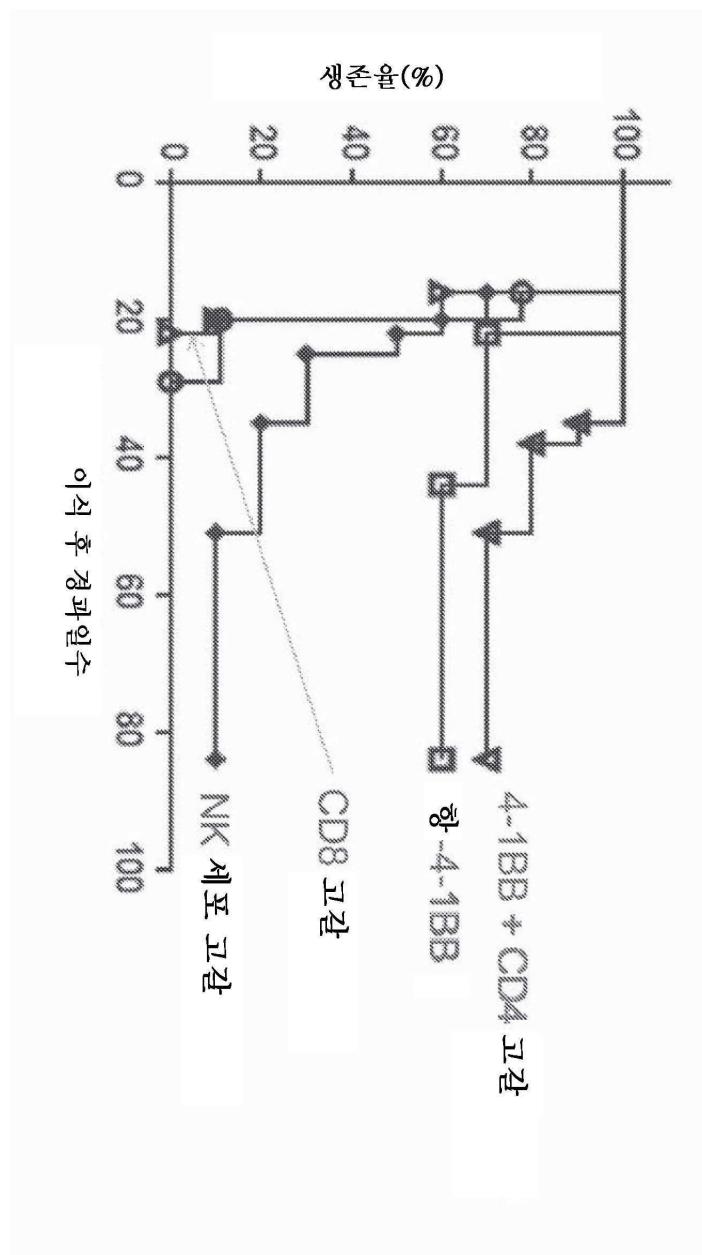
4-1BB 효능제 항체 경쇄 (SEQ ID NO: 22)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVIYQDKNRPS
GIPERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCATYTGFGLAVFGGGTKLTVLgq
pkaapsvtlfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkadsspvcagvettt
pskqsnnkyaaassylsltpeqwkshrsyscqvthegstvektvaptecs

도면9



도면10



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> PFIZER INC.

KYOWA HAKKO KIRIN, CO., LTD.

<120> Combination of an Anti-CCR4 Antibody and a 4-1BB Agonist for Treating Cancer

<130> PC72128A

<150> 62/001,534

<151> 2014-05-21

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 1

Arg Ser Ser Arg Asn Ile Val His Ile Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 2

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 3

Phe Gln Gly Ser Leu Leu Pro Trp Thr

1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 4

Asn Tyr Gly Met Ser

1 5

<210>

> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 5

Thr Ile Ser Ser Ala Ser Thr Tyr Ser Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 6

His Ser Asp Gly Asn Phe Ala Phe Gly Tyr

1 5 10

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> Synthetic Construct

<400> 7

Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 9

His Gln Tyr Leu Ser Ser Tyr Thr

1 5

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 10

Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 11

Trp Ile Asn Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic Construct

<400> 12

Ser Thr Tyr Tyr Arg Pro Leu Asp Tyr

1 5

<210> 13

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 13

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 Ala Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 14

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

1	5	10	15												
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Ile	Leu	Tyr	Ser
20		25		30											
Ser	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln

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

100	105	110													
<210>	15														
<211>	449														
<212>	PRT														
<213>	Artificial Sequence														
<220><223>	Synthetic Construct														
<400>	15														
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1		5		10		15									
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Asn	Tyr
20		25		30											
Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35		40		45											

Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Pro	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	Val	Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys
85		90		95											
Gly	Arg	His	Ser	Asp	Gly	Asn	Phe	Ala	Phe	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly

100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

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

435 440 445

Lys

<210> 16

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 16

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Asn Ile Val His Ile

20 25 30

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

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85	90	95
----	----	----

Ser Leu Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100	105	110
-----	-----	-----

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115	120	125
-----	-----	-----

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

130	135	140
-----	-----	-----

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210	215	
-----	-----	--

<210> 17

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 17

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn Tyr

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

<210> 18
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 18

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

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

<210> 19
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 19

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 Ser Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 20

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic Construct

<400> 20

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

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

<210> 21

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 21

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 Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn 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 Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285
 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 290 295 300
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

405 410 415

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

420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 22

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 22

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

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165	170	175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser		
180	185	190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val		
195	200	205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser		
210		
<210> 23		
<211> 440		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Synthetic Construct		
<400> 23		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser		
20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
100	105	110
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser		
115	120	125
Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp		
130	135	140
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr		

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

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

355	360	365
-----	-----	-----

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

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

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

405 410 415

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

420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 24

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 24

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 Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln 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> 25

<211> 360

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 25

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

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

115	120	125	
Met Leu Met Ser Ile Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val Phe			
130	135	140	

Ser Leu Arg Ala Arg Thr Leu Thr Tyr Gly Val Ile Thr Ser Leu Ala
 145 150 155 160
 Thr Trp Ser Val Ala Val Phe Ala Ser Leu Pro Gly Phe Leu Phe Ser
 165 170 175
 Thr Cys Tyr Thr Glu Arg Asn His Thr Tyr Cys Lys Thr Lys Tyr Ser
 180 185 190
 Leu Asn Ser Thr Thr Trp Lys Val Leu Ser Ser Leu Glu Ile Asn Ile
 195 200 205
 Leu Gly Leu Val Ile Pro Leu Gly Ile Met Leu Phe Cys Tyr Ser Met
 210 215 220
 Ile Ile Arg Thr Leu Gln His Cys Lys Asn Glu Lys Lys Asn Lys Ala
 225 230 235 240
 Val Lys Met Ile Phe Ala Val Val Leu Phe Leu Gly Phe Trp Thr
 245 250 255
 Pro Tyr Asn Ile Val Leu Phe Leu Glu Thr Leu Val Glu Leu Glu Val
 260 265 270
 Leu Gln Asp Cys Thr Phe Glu Arg Tyr Leu Asp Tyr Ala Ile Gln Ala
 275 280 285
 Thr Glu Thr Leu Ala Phe Val His Cys Cys Leu Asn Pro Ile Ile Tyr
 290 295 300
 Phe Phe Leu Gly Glu Lys Phe Arg Lys Tyr Ile Leu Gln Leu Phe Lys
 305 310 315 320
 Thr Cys Arg Gly Leu Phe Val Leu Cys Gln Tyr Cys Gly Leu Leu Gln
 325 330 335
 Ile Tyr Ser Ala Asp Thr Pro Ser Ser Tyr Thr Gln Ser Thr Met
 340 345 350
 Asp His Asp Leu His Asp Ala Leu
 355 360
 <210> 26
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

<400> 26

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

1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser

65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly

85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu

100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln

115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala

165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu

180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu

195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe

210 215 220

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly

225 230 235 240

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

245	250	255
-----	-----	-----

<210> 27

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 27

Ser Thr Tyr Trp Ile Ser

1	5	
---	---	--

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 28

Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 29

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 29

Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr

1	5	
---	---	--

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 30

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala His

1 5 10

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 31

Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 32

Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Ser Leu Ala Val

1 5 10