



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0074214
(43) 공개일자 2020년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-7015641
(22) 출원일자(국제) 2018년11월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년06월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/058704
(87) 국제공개번호 WO 2019/089921
국제공개일자 2019년05월09일
(30) 우선권주장
62/580,346 2017년11월01일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000
(72) 발명자
고드로, 마리-클로드
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
가오, 찬
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 심미성

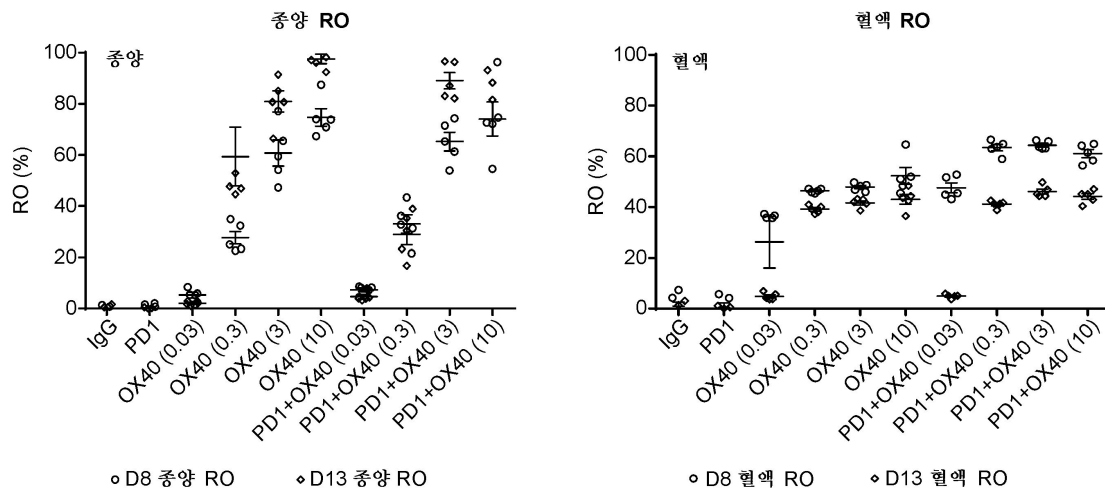
전체 청구항 수 : 총 75 항

(54) 발명의 명칭 암을 치료하는데 사용하기 위한 면역자극 효능작용 항체

(57) 요약

약 80% 미만의 수용체 점유율, 예를 들어, 약 20% 내지 약 80%의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 및/또는 빈도로 항체가 투여되는, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 사용하여 암을 치료하는 방법이 본원에서 제공된다. 이같은 효능작용 항체에 대한 인간 용량을 결정하는 방법, 및 예를 들어 인간 환자에서, 유효한 항체 수준을 유지하기 위해 효능작용 항체의 수용체 점유율을 모니터링하는 방법이 또한 제공된다. 대상체에서 가용성 OX40를 측정하는 방법이 또한 제공된다. 대상체에게 항-OX40 항체 및 항-PD-1 항체 각각의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법이 또한 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07K 16/2818 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
C07K 2317/75 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

퀴글리, 마이클

미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드
 700

아누르, 프라빈

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로
 빈스 라인 로드

(30) 우선권주장

62/581,441	2017년11월03일	미국(US)
62/581,905	2017년11월06일	미국(US)
62/583,808	2017년11월09일	미국(US)
62/628,207	2018년02월08일	미국(US)
62/657,616	2018년04월13일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 2

암을 가진 대상체의 종양에서 T 조절 세포의 수를 감소시키거나 또는 고갈시키는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 3

암을 가진 대상체에서 T 세포에서의 IL-2 및/또는 IFN- γ 생산을 증가시키는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 4

암을 가진 대상체에서 면역 반응을 자극하는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 5

암을 가진 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 약 20% 내지 약 80%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 효능작용 항체가 약 20% 내지 약 70%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 효능작용 항체가 약 20% 내지 약 60%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 9

제5항에 있어서, 효능작용 항체가 약 20% 내지 약 50%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 10

제5항에 있어서, 효능작용 항체가 약 20% 내지 약 40%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양으로 투여되는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 수용체 점유율 및/또는 수용체 점유율 범위가 효능작용 항체로의 치료 레지멘의 사이클 1 후의 제1일에 측정되는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 면역자극 수용체가 LFA-1 (CD11a/CD18), CD2, CD7, CD30, CD40, CD54, CD160, BAFFR, HVEM, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, 및 Nkp80으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 면역자극 수용체가 공동-자극 수용체인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 공동-자극 수용체가 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리의 구성원인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 효능작용 항체가 IgG1 항체인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 효능작용 항체가 활성화 Fc γ R에 대한 증진된 결합을 갖는 Fc를 포함하는 것인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 인간, 인간화 또는 키메라 항체인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 이중특이적 항체인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 방광암, 유방암, 자궁/자궁경부암, 난소암, 전립선암, 고환암, 식도암, 위장암, 췌장암, 결장직장암, 결장암, 신장암, 두경부암, 폐암, 위암, 배세포암, 골암, 간암, 갑상선암, 피부암, 중추 신경계의 신생물, 림프종, 백혈병, 골수종, 육종, 비-소세포 폐암, 및 바이러스-관련 암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 전이성 암, 불응성 암, 또는 재발성 암인 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 요법을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 요법이 항체 또는 소형 분자를 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 요법이 항-PD1 항체, LAG-3 항체, CTLA-4 항체, PD-L1 항체, 또는 항-

TGF β 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 하나 이상의 추가적인 요법의 투여 전에 투여되는 것인 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 하나 이상의 추가적인 요법의 투여 후에 투여되는 것인 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 하나 이상의 추가적인 요법과 공동으로 투여되는 것인 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 효능작용 항체가 제약 조성물로서 제형화되는 것인 방법.

청구항 29

암을 가진 대상체의 치료를 위해 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 유효한 용량 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법:

- (a) 동물 모델에게 효능작용 항체를 투여하는 단계;
- (b) 동물 모델로부터 샘플을 수득하는 단계;
- (c) 샘플에서 효능작용 항체의 수용체 점유율 또는 수용체 점유율 범위를 결정하는 단계;
- (d) 단계 (c)로부터 수득된 수용체 점유율 또는 수용체 점유율 범위를 사용하여, 대상체에서의 예상 수용체 점유율 또는 수용체 점유율 범위를 예측 또는 추정하는 단계; 및
- (e) 단계 (d)에서 수득된 예상 수용체 점유율을 기반으로 대상체에서 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 용량 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 단계.

청구항 30

제29항에 있어서, 약 20% 내지 약 80%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 양이 선택되는 것인 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 약 20% 내지 약 70%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 양이 선택되는 것인 방법.

청구항 32

제29항에 있어서, 약 20% 내지 약 60%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 양이 선택되는 것인 방법.

청구항 33

제29항에 있어서, 약 20% 내지 약 50%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 양이 선택되는 것인 방법.

청구항 34

제29항에 있어서, 약 20% 내지 약 40%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 양이 선택되는 것인 방법.

청구항 35

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체 또는 이러한 항체를 포함하는 제약 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여되는 효능작용 항체의 양은 제29항 내지 제34항 중 어느 한 항의 방법에 따라 선택되는 것인 방법.

청구항 36

암에 대해 치료 중인 대상체에서 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 수준을 모니터링하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법:

- (a) 대상체로부터 샘플을 수득하는 단계;
- (b) 샘플에서 효능작용 항체의 수용체 점유율을 결정하는 단계;
- (c) 수용체 점유율이 약 80%를 초과하면 대상체에게 투여되고 있는 효능작용 항체의 양 또는 빈도를 감소시키거나, 또는 수용체 점유율이 약 20% 미만이면 효능작용 항체의 양 또는 빈도를 증가시키는 단계;
- (d) 임의적으로, 약 20% 내지 약 80%의 수용체 점유율이 달성되고/되거나 유지될 때까지 단계 (a)-(c)를 반복하는 단계.

청구항 37

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 70%를 초과하면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 감소되는 것인 방법.

청구항 38

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 60%를 초과하면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 감소되는 것인 방법.

청구항 39

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 50%를 초과하면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 감소되는 것인 방법.

청구항 40

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 40%를 초과하면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 감소되는 것인 방법.

청구항 41

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 30% 미만이면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 증가되는 것인 방법.

청구항 42

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 40% 미만이면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 증가되는 것인 방법.

청구항 43

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 50% 미만이면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 증가되는 것인 방법.

청구항 44

제36항에 있어서, 단계 (c)에서, 수용체 점유율이 약 60% 미만이면 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 증가되는 것인 방법.

청구항 45

제36항에 있어서, 단계 (d)에서, 약 20% 내지 약 70%의 수용체 점유율이 달성되고/되거나 유지될 때까지 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 조정되는 것인 방법.

청구항 46

제36항에 있어서, 단계 (d)에서, 약 20% 내지 약 60%의 수용체 점유율이 달성되고/되거나 유지될 때까지 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 조정되는 것인 방법.

청구항 47

제36항에 있어서, 단계 (d)에서, 약 20% 내지 약 50%의 수용체 점유율이 달성되고/되거나 유지될 때까지 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 조정되는 것인 방법.

청구항 48

제36항에 있어서, 단계 (d)에서, 약 20% 내지 약 40%의 수용체 점유율이 달성되고/되거나 유지될 때까지 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 조정되는 것인 방법.

청구항 49

암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 추가적인 요법을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 추가적인 요법은 고정 빈도로 투여되고, 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 용량 및 빈도로 투여되는 것인 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 효능작용 항체의 용량 또는 빈도가 제29항의 방법을 사용하여 결정되는 것인 방법.

청구항 51

제29항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 면역자극 수용체가 공동-자극 수용체인 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 공동-자극 수용체가 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리의 구성원인 방법.

청구항 53

면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체를 투여받은 대상체에서 암에 대한 치료의 유효성을 결정하는 방법으로서, 대상체에서 가용성 OX40의 수준을 측정하는 것을 포함하는 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 가용성 OX40의 수준이, 예를 들어, 메조 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery) 플랫폼 상에서, 총 가용성 OX40 바이오마커 검정에 의해 측정되는 것인 방법.

청구항 55

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 하기 각각의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며:

(a) 서열식별번호: 11에 기재된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 12에 기재된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 항-OX40 항체, 및

(b) 서열식별번호: 18에 기재된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 19에 기재된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 항-PD-1 항체,

여기서 방법은 적어도 1회의 투여 사이클을 포함하고, 여기서 사이클은 12주의 기간이며, 여기서 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 항-OX40 항체의 1회 용량은 20, 40, 또는 80 mg의 용량으로 투여되고, 항-PD-1 항체의 3회

용량은 480 mg의 용량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 항-OX40 항체 및 항-PD-1 항체가 하기 용량으로 투여되는 것인 방법:

- (a) 20 mg 항-OX40 항체 및 480 mg의 항-PD-1 항체;
- (b) 40 mg 항-OX40 항체 및 480 mg의 항-PD-1 항체; 또는
- (c) 80 mg 항-OX40 항체 및 480 mg의 항-PD-1 항체.

청구항 57

제55항 또는 제56항에 있어서, 항-PD-1 및 항-OX40 항체가 정맥내 투여용으로 제형화되는 것인 방법.

청구항 58

제55항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 및 항-OX40 항체가 함께 제형화되는 것인 방법.

청구항 59

제55항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 및 항-OX40 항체가 별도로 제형화되는 것인 방법.

청구항 60

제55항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 항-OX40 항체가 항-PD-1 항체의 투여 전에 투여되는 것인 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 항-OX40 항체가 항-PD-1 항체의 투여 전 약 30분 이내에 투여되는 것인 방법.

청구항 62

제55항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 항-OX40 항체가 항-PD-1 항체의 투여 후에 투여되는 것인 방법.

청구항 63

제55항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 항-OX40 항체가 항-PD-1 항체와 공동으로 투여되는 것인 방법.

청구항 64

제55항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 치료가 9회 이하의 사이클로 이루어지는 것인 방법.

청구항 65

제55항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 항-OX40 항체가 각각의 사이클의 제1일에 투여되는 것인 방법.

청구항 66

제55항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 항체가 각각의 사이클의 제1일, 제29일 및 제57일에 투여되는 것인 방법.

청구항 67

제55항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 치료가 종양의 크기에서의 감소, 경시적인 전이성 병변의 수에서의 감소, 완전 반응, 부분 반응 및 안정 질환으로부터 선택된 적어도 하나의 치료 효과를 생성하는 것인 방법.

청구항 68

제55항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 방광암, 자궁경부암, 신세포암, 고환암, 결장직장암, 폐암, 두경부암, 및 난소암으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 암이 방광암인 방법.

청구항 70

제55항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 항-OX40 항체가 하기를 포함하는 것인 방법:

- (a) 서열식별번호: 5에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1;
- (b) 서열식별번호: 6에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2;
- (c) 서열식별번호: 7에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3;
- (d) 서열식별번호: 8에 기재된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1;
- (e) 서열식별번호: 9에 기재된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및
- (f) 서열식별번호: 10에 기재된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3.

청구항 71

제70항에 있어서, 항-OX40 항체가 각각 서열식별번호: 11 및 12에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 72

제71항에 있어서, 항-OX40 항체가 각각 서열식별번호: 13 및 14에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 것인 방법.

청구항 73

제55항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 항체가 하기를 포함하는 것인 방법:

- (a) 서열식별번호: 20에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1;
- (b) 서열식별번호: 21에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2;
- (c) 서열식별번호: 22에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3;
- (d) 서열식별번호: 23에 기재된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1;
- (e) 서열식별번호: 24에 기재된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및
- (f) 서열식별번호: 25에 기재된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3.

청구항 74

제73항에 있어서, 항-PD-1 항체가 각각 서열식별번호: 18 및 19에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 항-PD-1 항체가 각각 서열식별번호: 16 및 17에 기재된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 PCT 출원은 미국 가출원 번호 62/580,346 (2017년 11월 1일 출원); 62/581,441 (2017년 11월 3일 출원); 62/581,905 (2017년 11월 6일 출원); 62/583,808 (2017년 11월 9일 출원); 62/628,207 (2018년 2월 8일 출원);

및 62/657,616 (2018년 4월 13일 출원)을 우선권 주장하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다

[0003] 전자 제출된 서열 목록에 대한 언급

[0004] 본 출원과 함께 출원된 ASCII 텍스트 파일 (파일명: 3338.115PC06_ST25.txt; 크기: 30,589 바이트; 및 생성일: 2018년 10월 30일)의 전자 제출된 서열 목록의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0005] 다수의 면역억제 수용체가 암 요법에서 성공적으로 표적화되었지만, 면역 세포, 예컨대 조절 T 세포, 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포), 및 항원-제시 세포 상에서 발현되는 조절 수용체와 억제 수용체 사이의 복잡한 상호작용이 특정한 면역 수용체를 표적화하는 항체가 효과적일지 여부의 예측을 어렵게 한다. 면역억제 수용체를 표적화하는 길항작용 항체 (예를 들어, 니볼루맙, 이필리무맙)의 최근의 성공에 비교하여, 예를 들어, 효능 결여 및/또는 독성으로 인해, 면역자극 수용체를 표적화하는 효능작용 항체는 임상 환경에서 거의 성공적이지 않았다. 이러한 항체들은 개발되지 않은 잠재력을 나타내고, 이들의 효능 결여/독성의 기저를 이루는 이유가 해결될 수 있고, 이들의 사용이 최적화될 수 있다면, 종양학적 적응증에 대항하는데 이용가능한 치료제 풀을 실질적으로 증가시킬 가능성이 있다. 예를 들어, 면역 반응 예컨대 T 세포 반응을 증진시키는 것을 통해, 암과 같은 질환을 치료하기 위한 개선된 전략에 대한 요구가 진행 중인 것을 고려하여, 면역자극 수용체를 활성화시키는 방법을 최적화하는 것이 치료적으로 이로운 것이다.

발명의 내용

[0006] 한 측면에서, 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.

[0007] 또 다른 측면에서, 암을 가진 대상체의 종양에서 T 조절 세포의 수를 감소시키거나 또는 고갈시키는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.

[0008] 또 다른 측면에서, 암을 가진 대상체에서 T 세포에서의 IL-2 및/또는 IFN- γ 생산을 증가시키는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.

[0009] 또 다른 측면에서, 암을 가진 대상체에서 면역 반응을 자극하는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.

[0010] 또 다른 측면에서, 암을 가진 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.

[0011] 또 다른 측면에서, 암을 가진 대상체의 치료를 위해 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 유효한 용량 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다:

[0012] (a) 동물 모델에게 효능작용 항체를 투여하는 단계;

[0013] (b) 동물 모델로부터 샘플을 수득하는 단계;

[0014] (c) 샘플에서 효능작용 항체의 수용체 점유율 또는 수용체 점유율 범위를 결정하는 단계;

[0015] (d) 단계 (c)로부터 수득된 수용체 점유율 또는 수용체 점유율 범위를 사용하여, 대상체에서의 예상 수용체 점유율 또는 수용체 점유율 범위를 추정하는 단계; 및

[0016] (e) 단계 (d)에서 수득된 예상 수용체 점유율을 기반으로 대상체에서 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 효능작용 항체의 용량 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 단계.

- [0017] 또 다른 측면에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능 작용 항체 또는 이러한 항체를 포함하는 제약 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여되는 항체의 유효량은 본원에 기재된 방법에 따라 선택되는 것인 방법 본원에서 제공된다.
- [0018] 또 다른 측면에서, 암에 대해 치료 중인 대상체에서 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 수준을 모니터링하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다:
- [0019] (a) 대상체로부터 샘플을 수득하는 단계;
- [0020] (b) 샘플에서 효능작용 항체의 수용체 점유율을 결정하는 단계;
- [0021] (c) 수용체 점유율이 약 80% (예를 들어, 70%, 60%, 50%)를 초과하면 대상체에게 투여되고 있는 효능작용 항체의 양 또는 빈도를 감소시키거나, 또는 수용체 점유율이 약 20% (예를 들어, 30%, 40%, 50%, 또는 60%) 미만이면 항체의 양 또는 빈도를 증가시키는 단계;
- [0022] (d) 임의적으로, 약 20% 내지 약 80% (예를 들어, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%)의 수용체 점유율이 달성되고/되거나 유지될 때까지 단계 (a)-(c)를 반복하는 단계.
- [0023] 또 다른 측면에서, 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 추가적인 요법을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 추가적인 요법은 고정 빈도로 투여되고, 효능작용 항체는 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 용량 및 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.
- [0024] 또 다른 측면에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체를 투여받은 대상체에서 암에 대한 치료의 유효성을 결정하는 방법으로서, 대상체 (예를 들어, 대상체로부터의 샘플)에서 가용성 OX40의 수준을 측정하는 것을 포함하는 방법이 본원에서 제공된다.
- [0025] 본원에 개시된 방법의 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 약 20% 내지 약 80%, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%의 수용체 점유율 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 용량 또는 빈도로 투여된다. 일부 실시양태에서, 수용체 점유율 및/또는 수용체 점유율 범위는 치료 레지멘의 사이클 1 후의 제1일에 측정된다.
- [0026] 본원에 개시된 방법의 특정 실시양태에서, 효능작용 항체는 공동-자극 수용체와 같은 면역자극 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리의 구성원, ICOS, LFA-1 (CD11a/CD18), CD2, CD7, CD30, CD40, CD54, CD160, BAFFR, HVEM, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, 및 NKp80에 결합한다. 한 실시양태에서, 효능작용 항체는 OX40에 결합한다.
- [0027] 본원에 개시된 방법의 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 활성화 Fc γ R에 대한 증진된 결합을 갖는 Fc를 포함한다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 인간, 인간화 또는 키메라 항체이다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 이중특이적 항체이다.
- [0028] 본원에 개시된 방법의 일부 실시양태에서, 치료될 암은 방광암, 유방암, 자궁/자궁경부암, 난소암, 전립선암, 고환암, 식도암, 위장암, 췌장암, 결장직장암, 결장암, 신장암, 두경부암, 폐암, 위암, 배세포암, 골암, 간암, 갑상선암, 피부암, 중추 신경계의 신생물, 림프종, 백혈병, 골수종, 육종, 비-소세포 폐암, 및 바이러스-관련 암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 암은 전이성, 불응성, 또는 재발성이다.
- [0029] 본원에 기재된 방법의 일부 실시양태에서, 하나 이상의 추가적인 요법 (예를 들어, 항-PD1 항체, 항-PDL1 항체, 항-LAG3 항체, 항-CTLA4 항체, 항-TGF β 항체)가 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에게 추가로 투여된다. 이같은 하나 이상의 추가적인 요법은 효능작용 항체 전에, 효능작용 항체 후에, 또는 효능작용 항체와 공동으로 투여될 수 있다.
- [0030] 일부 실시양태에서, 효능작용 항체 및 임의적인 하나 이상의 추가적인 요법은 제약 조성물로서 제형된다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1a 및 1b는 지시된 용량 (mg/kg)의 IgG 및 리간드-차단 OX40.23 (도 1a) 및 리간드 비-차단 OX40.3 (도 1b)으로 처리된 CT26 마우스 종양 모델의 종양 성장 곡선이다.

도 2a 및 2b는 지시된 용량 (mg/kg)에서의 OX40.3 처리 마우스의 평균 및 중앙값 종양 부피를 각각 제시한다.

도 2c 및 2d는 지시된 용량 (mg/kg)에서의 OX40.23 처리 마우스의 평균 및 중앙값 종양 부피를 각각 제시한다.

도 3a는 OX40.23 + 항-PD1 항체의 조합으로 처리된 CT26 마우스 종양 모델의 일련의 종양 성장 곡선이다. 도 3b는 다양한 용량의 OX40.23 항체의 조합 처리의 퍼센트 종양 성장 억제를 제시하는 그래프이다.

도 4는 OX40.3 + 항-PD1 항체의 조합으로 처리된 CT26 마우스 종양 모델의 일련의 종양 성장 곡선이다.

도 5는 항-PD-1 항체와 공동으로 또는 순차적으로 (지연되어) 지시된 농도의 OX40.23으로 종양 이식 후 제5일 및 제12일에 처리된 CT26 마우스 종양 모델의 일련의 종양 성장 곡선이다. 공동 투여의 경우, 항-PD1 항체는 제5일, 제9일, 및 제13일에 투여되었다. 지연 투여의 경우, 항-PD1 항체는 제10일, 제14일, 및 제18일에 투여되었다.

도 6a는 단독요법으로 또는 항-PD1 항체와의 조합 요법으로 투여된 OX40.23에 대한 투약 및 샘플링 스케줄에 대한 개략도이다. 도 6b는 혈액 및 종양 샘플에서의 IgG, PD1, OX40.23 (0.3, 3, 및 10 mg/kg), 및 항-PD1 항체 + OX40.23 (0.03, 0.3, 3, 및 10 mg/kg)로 처리된 마우스에서의 OX40 수용체 점유율 (RO)의 그래프를 제시한다. 도 6c는 제8일 및 제13일의 종양에서의 OX40 수용체의 총 및 점유 수준의 그래프를 제시한다. 도 6d는 OX40 RO의 함수로서의 퍼센트 종양 성장 억제를 제시하는 그래프이다.

도 7a는 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, 및 320 mg의 OX40.21이 투여된 인간 환자로부터의 말초 CD4+ T 세포 및 Treg 세포에서의 %OX40 RO를 제시하는 일련의 그래프이다. 2주 사이클의 C1D1, C1D8, 및 C2D1에 RO를 측정하였다. CD4+ Treg에서의 관찰된 말초 OX40 RO는 20 mg에서 80%였고, ≥ 40 mg의 용량에서 포화였다. 도 7b는 20 mg 내지 320 mg 범위의 OX40.21 용량에서 니볼루맵과 조합된 OX40.21의 노출을 제시하는 그래프이다.

도 8a는 관찰된 OX40.21 농도 데이터를 기재하기 위한 집단 PK (PPK) 모델이다. 도 8b는 RO의 중앙값 (선) 및 95% 신뢰 구간 (음영 면적)과 함께, OX40.21로 치료된 인간 환자로부터의 C2D1의 약물 농도 (Cmin1: 제1 용량 후의 최저 농도)와 CD4+ T 세포 상에서의 말초혈 RO 사이의 관계를 기재하기 위한 수학적 PK-PD 모델이다.

도 9는 다양한 OX40.21 용량 및 빈도에서의 CD4+ T 세포 상에서의 예측 혈액 RO (중앙값 및 90% 예측 구간)를 제시한다.

도 10a 및 10b는 다양한 투약 레지멘에 대한 예상 인간 종양 RO를 제시한다. 도 10a는 평균 종양 투과 및 평균 표적 로드를 제공한다. 도 10b는 낮은 종양 투과 및 높은 표적 로드를 제공한다.

도 11a는 OX40의 표면 발현 (OX40.21 (총))에 대한 수용체 점유율 (OX40.21 (결합))에 대한 OX40.21의 상이한 농도들의 효과를 제시하는 그래프이다. 도 11b는 OX40의 총 표면 발현에 대한 %OX40 RO의 영향을 요약하는 그래프이다.

도 12a 및 12b는 각각 이소타입 및 OX40.21 항체의 지시된 농도에서의 다양한 날 (제1일, 제2일, 제3일 및 제4일)의 OX40 표면 발현의 경과를 제시하는 그래프이다.

도 13a 및 13b는 총 표면 OX40 발현에 대한 OX40.21 (도 13a) 또는 CD28 (도 13b) 농도의 효과를 제시하는 그래프이다.

도 14는 OX40 RO (y-축), 및 OX40.21 농도 (x-축)의 함수로서 IFN- γ 수준에 의해 반영된 바와 같은 T 세포의 활성화를 제시하는 그래프이다.

도 15a는 OX40 RO (y-축), 및 OX40.21 농도 (x-축)의 함수로서 3[H]-티미딘 혼입에 의해 반영된 바와 같은 T 세포의 증식을 제시하는 그래프이다. 도 15b 및 15c는 각각 %OX40 RO의 척도로서 CD25+ T 세포 및 증식 중인 T 세포의 수를 제시하는 그래프이다.

도 16은 가용성 OX40 (sOX40) 수준을 측정하기 위한 ELISA의 개략도이다.

도 17은 세포가 지시된 농도의 OX40.21로 처리되었을 때의 세포 상에서의 표면 OX40 발현의 수준을 제시하는 그래프이다.

도 18은 세포가 지시된 농도의 OX40.21로 처리되었을 때의 가용성 OX40의 수준을 제시하는 그래프이다.

도 19는 인간 환자가 OX40.21 단독요법 또는 OX40.21 + 니볼루맵 조합 요법으로 치료되었을 때의 sOX40의 C1D1 대비 배수 증가를 제시하는 일련의 그래프이고, OX40.21은 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, 및 320 mg으로 투여되었다.

도 20a는 세포가 이소타입, OX40.21, 또는 항-CD28 항체로 처리되었을 때의 제1일, 제2일, 제3일 및 제4일의 sOX40의 총 수준을 제시하는 그래프이다. **도 20b**는 세포가 이소타입, OX40.21, 또는 항-CD28 항체로 처리되었을 때의 제1일, 제2일, 제3일 및 제4일의 결합된 sOX40의 수준을 제시하는 그래프이다.

도 21a는 세포를 OX40.21 및 항-CD28 항체로 공동-자극했을 때의 sOX40 수준에 대한 부가 효과를 제시하는 그래프이다. **도 21b**는 배양에서 제3일에 OX40.21이 CD28에 부가된 후의 제4일 sOX40 수준에 대한 효과를 제시하는 그래프이다.

도 22는 OX40 내재화 검정을 제시하는 개략도이다.

도 23은 CD3/CD28로 활성화되고, 이어서 IgG1, DT, OX40.21 (리간드 차단 항체), 또는 OX40.8 (리간드 비-차단 항체)로 처리된 Treg에서의 OX40의 내재화를 제시하는 그래프이다.

도 24는 OX40.21의 효능작용 활성화에 대한 Fc γ R-매개 가교의 효과를 제시하는 일련의 그래프이다.

도 25는 말초 약역학 마커의 평가를 위한, CT26 마우스 종양 모델을 단독요법으로서 또는 항-PD1 항체와 조합하여 OX40.23으로 처리하기 위한 투약 및 샘플링 스케줄을 제시하는 그래프이다.

도 26a는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포 내의 ICOS, Ki67, 및 CD44의 수준에 대한 OX40.23 단독요법 또는 항-PD1 항체와의 조합 요법의 효과를 제시하는 일련의 그래프이다. OX40 단독요법 패널에서, x-축 표지는 왼쪽에서 오른쪽으로 IgG, 90mpk, 30mpk, 10mpk, 3mpk, 1mpk, 0.3mpk, 0.1mpk, 및 0.03mpk이다. OX40/PD-1 조합 패널에서, x-축 표지는 왼쪽에서 오른쪽으로 IgG, PD1, PD1 + 90mpk, PD1 + 30mpk, PD1 + 10mpk, PD1 + 3mpk, PD1 + 1mpk, PD1 + 0.3mpk, PD1 + 0.1mpk, PD1 + 0.03mpk, 및 PD1 + 0.01mpk이다. **도 26b**는 OX40.21 (20, 40, 80, 160, 또는 320 mg) + 니볼루맙의 조합물로 치료된 인간 환자의 종양 기질 내의 Ki67+인 CD8⁺ 세포의 백분율을 제시한다. **도 26c**는 OX40.21 (20, 40, 80, 160, 또는 320 mg) + 니볼루맙으로 치료된 인간 환자의 종양 기질 내의 FOXP3⁺ 세포의 백분율을 제시한다. **도 26d**는 OX40.21 (320 mg) + 니볼루맙 (240 mg)으로 치료된 자궁내막암을 가진 인간 환자의 종양 샘플로부터의 Ki67+CD8⁺ T 세포의 면역조직화학 분석을 제시한다. **도 26e**는 장액성 난소 암종 (상부 패널) 및 난소 선암종 (하부 패널)을 가진 인간 환자의 종양 샘플로부터의 FOXP3⁺ 세포의 면역조직화학 분석을 제시한다.

도 27a 및 **27b**는 비-반응자 (종양 부피 >100 mm³) 또는 반응자 (종양 부피 ≤100 mm³) 상태를 기반으로, CD44 (**도 27a**) 및 Ki67 (**도 27b**)에 대해 양성인 CD8⁺ T 세포의 백분율의 그래프를 제시한다. **도 27c**는 항종양 활성화에 의한 % Ki67+CD8⁺ T 세포의 절대 변화 (종양 부담에서의 최대 퍼센트 감소)를 제시하는 그래프이다. **도 27d**는 항종양 활성화에 의한 Ki67+CD8⁺ T 세포의 변화 (종양 부담에서의 퍼센트 감소)를 제시하는 그래프이다. PR: 부분 반응, PD: 진행성 질환, SD: 안정적 질환.

도 28는 마우스 모델에서의 종양 성장 억제에 대한 항-ICOS + 항-PD1 조합 요법에서 항-ICOS 항체의 용량을 증가시키는 것의 효과를 제시하는 그래프이다.

도 29는 마우스 MC38 종양 모델에서의 mIgG1 및 mIgG2a 모노클로날 항-OX40 항체의 노출-반응 관계를 제시하는 일련의 그래프이다.

도 30은 OX-40에 대한 OX-40 효능제 항체 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 작용 메커니즘을 실연한다. Fc γ R = Fc γ 수용체; FoxP3 = 포크헤드 박스 단백질 P3; NK = 천연 킬러; BMS-986178: OX40 모노클로날 항체.

도 31은 OX-40 효능제 항체 (BMS-986178 대용물 마우스 항체) 또는 이소타입 항체로 처리된 CD4⁺ T 세포 상에서의 CD25의 기하 평균 형광 강도 [GMFI]에 의해 측정된 바와 같은 T 세포 활성화를 나타낸다.

도 32a 및 **32b**는 이소타입 항체 대조군에 비교된 CHO 세포를 CD137 모노클로날 항체 (**도 32a**) 또는 CD28 모노클로날 항체 (**도 32b**)로 처리한 후의 OX40의 총 표면 발현에 대한 %OX40 R0의 영향을 요약하는 그래프이다.

도 33a-33i는 CHO 세포가 OX-40 효능제 항체로 처리되었을 때의 Treg 억제 검정에서의 후크 효과 및 용량 의존성을 제시한다. **도 33a**는 Treg 억제 검정의 개략도이다. **도 33b**는 Treg의 존재 하의 CD4⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 IL-2 발현을 제시한다. **도 33c**는 Treg의 부재 하의 CD4⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 IL-2 발현을 제시한다. **도 33d**는 Treg의 존재 하의 CD4⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 상응하는 배양물로부터의 Treg 상에서의 OX40 발현을 제시한다. **도 33e**는 Treg의 부재 하의 CD4⁺

에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 상응하는 배양물로부터의 Treg 상에서의 OX40 발현을 제시한다. **도 33f**는 Treg의 존재 하의 CD8⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 IL-2 발현을 제시한다. **도 33g**는 Treg의 부재 하의 CD8⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 IL-2 발현을 제시한다. **도 33h**는 Treg의 존재 하의 CD8⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 상응하는 배양물로부터의 Treg 상에서의 OX40 발현을 제시한다. **도 33i**는 Treg의 부재 하의 CD8⁺에서의 다양한 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 처리에 걸친 상응하는 배양물로부터의 Treg 상에서의 OX40 발현을 제시한다.

도 34a는 0.03 mg/kg, 0.3 mg/kg, 3.0 mg/kg, 10 mg/kg의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체) 또는 대조군 IgG로의 처리 7일 후의 종양 Treg 상에서의 OX40 RO 발현이다. **도 34b**는 0.03 mg/kg, 0.3 mg/kg, 3.0 mg/kg, 10 mg/kg의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체) 또는 대조군 IgG로의 처리 7일 후의 종양 Treg 상에서의 평균 형광 강도에 의해 측정된 바와 같은 총 OX40 RO 발현이다. **도 34c**는 0.5 mg/kg BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체), 5 mg/kg BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체), 또는 대조군 PD-1 모노클로날 항체로의 처리 10일 후, 17일 후, 및 22일 후의 종양 Treg 상에서의 OX40 RO 발현이다. **도 34d**는 0.5 mg/kg BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체), 5 mg/kg BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체), 또는 대조군 PD-1 모노클로날 항체로의 처리 10일 후, 17일 후, 및 22일 후의 종양 Treg 상에서의 평균 형광 강도에 의해 측정된 바와 같은 총 OX40 RO 발현이다.

도 35a는 세포가 지시된 농도의 CD28 모노클로날 항체 또는 이소타입 항체 대조군으로 처리되었을 때의 가용성 OX40의 수준을 제시하는 그래프이다. **도 35b**는 세포가 지시된 농도의 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)로 처리되었을 때의 총 및 약물-결합 가용성 OX40의 수준을 제시하는 그래프이다.

도 36은 세포가 0.01 nM 및 100 nM의 BMS-986178로 처리되었을 때의 Treg 및 CD4⁺ T 세포에 내재화된 OX40-결합-BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체)의 내재화를 제시한다.

도 37은 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체) 용량, OX40 RO, OX40 발현, 및 PD 조정 사이의 관계의 개략적인 모델이다.

도 38은 대조군 모노클로날 항체 (mIgG1), BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체), 항-PD-1, 항-CTLA-4, BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체) 및 항-PD-1의 조합물 또는 BMS-986178 (BMS-986178 대용물 마우스 항체) 및 항-CTLA-4의 조합물로 처리된 CT26 마우스 종양 모델에서의 종양 부피 및 무종양 마우스의 수를 제시한다. mIgG = 마우스 면역글로불린 G; TF = 무종양; 항-PD-1 = 4H2 mIgG1 D265A, 항-CTLA-4 = 9D9 mIgG2b. 종양 부피 ± 표준 편차를 이식 (처리 시작) 후 제6일에 시작하여 매주 2회 측정하였다.

도 39는 단독요법 용량 증량 (BMS-986178 단독) 대 조합물 (BMS-986178 + 니볼루맙 또는 이필리무맙)에 대한 연구 디자인을 제시한다. DLT = 용량-제한 독성; ECOG PS = 동부 협동 종양학 그룹(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행 상태; IV = 정맥내; MTD = 최대 허용 용량; Q2W = 2주마다; Q3W = 3주마다; RECIST = 고형 종양에서의 반응 평가 기준(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors); RP2D = 권장 2기 용량. **도 40**은 BMS-986178 ± 니볼루맙 또는 이필리무맙에서의 약동학을 제시한다.

도 41은 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg 또는 320 mg의 OX-40.21로의 처리 후의 C1D1, C1D8, C2D1, 또는 C5D1의 표면 마커를 사용한 말초 Treg 상에서의 말초 OX40 RO를 제시한다.

도 42는 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg 또는 320 mg의 OX-40.21로의 처리 후의 C1D1, C1D8, C2D1, 또는 C5D1의 표면 마커를 사용하여 말초 Treg 상에서의 평균 형광 강도에 의해 측정된 바와 같은 총 OX40 발현이다.

도 43a는 다양한 용량에서의 개별적인 환자 샘플에서의 경시적인 sOX40의 배수 변화를 제시한다. **도 43b**는 다양한 용량의 sOX40의 정규화된 AUC를 제시한다. sOX40의 정규화된 AUC는 $(AUC_{0-T_{최종}} / T_{최종})$ 를 사용하여 계산되었고, 이는 추적 시간이 상이한 환자를 해명하였다; $AUC_{0-T_{최종}} = 0$ 시부터 최종 추적까지의 곡선하 면적; $T_{최종}$ = 최종 추적 시간.

도 44a 및 **44b**는 BMS-986178 ± 니볼루맙 또는 이필리무맙이 IFN- γ (**도 44a**) 및 IP-10 (**도 44b**)의 생산을 자극하였음을 제시한다.

도 45a 및 45b는 BMS-986178 ± 니볼루맵 또는 이필리무맵이 증식 중인 (Ki67⁺) CD4⁺ (도 45a) 및 CD8⁺ (도 45b) 이펙터 기억 T 세포의 수준을 증가시켰음을 제시한다.

도 46a 내지 46h는 인간 혈청에서의 총 가용성 OX40 수준을 측정하기 위해 개발된 인간 총 가용성 OX40 바이오마커 검정의 검증 결과를 제시한다. 도 46a는 BMS-986178과 2개의 상이한 OX40 단백질 (OX40-His_Sino 및 OX40-Fc_R&D) 사이의 교정 곡선을 제시한다. 도 46b는 2개의 항체 쌍 사이의 혈청 OX40 상관관계를 제시한다. 도 46c 및 46d는 각각 희석 평행성 및 선형성을 나타낸다. 도 46e는 BMS-986178의 선택성을 제시한다. 도 46f 및 46g는 약물 간섭 데이터를 제시한다. 도 46h는 5가지 상이한 조건에서의 BMS-986178의 보관 및 냉동-해동 안정성을 제시한다.

도 47은 정상적인 건강한 개체 및 3명의 상이한 암 대상체 (두경부, 난소, 및 자궁경부)에서의 인간 총 가용성 OX40 바이오마커 검정을 사용하여 측정된 바와 같은 가용성 OX40 수준을 제시한다.

도 48은 OX40.8 항체에 대한 약물 간섭 데이터를 제시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 약 80% 미만의 수용체 점유율을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양으로 사용하여 면역 반응을 증진시키는 방법이 본원에서 제공되며, 여기서 항체는 단독으로 또는 다른 면역자극제 및/또는 암 요법과 조합되어 투여된다. 본원에 기재된 방법은 광범위한 종양학적 용도에, 예를 들어, 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는데 사용될 수 있다.
- [0033] 정의
- [0034] 본 명세서가 더욱 쉽게 이해될 수 있기 위하여, 특정 용어가 먼저 정의된다. 추가적인 정의가 상세한 설명 전반에 걸쳐 기재된다.
- [0035] 본원에서 사용된 바와 같이, "면역자극 수용체"는 면역 반응을 자극하는데 수반되는 수용체를 지칭한다. 이 같은 수용체는, 예를 들어, 공동-자극 수용체를 포함한다.
- [0036] 본원에서 사용된 바와 같이, "공동-자극 수용체"는 공동-자극 신호를 면역 세포에 전송하는 수용체를 지칭한다. 공동-자극 수용체의 예는 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 (TNFRSF)의 구성원, ICOS (CD278), CD28, LIGHT, CD40L, TIM1, SLAM, CD1, CD2, CD226, LFA-1 (CD11A, CD18), CD2, CD5, CD7, CD30, CD54, CD97, CD154, CD160, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, 및 Nkp80을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 본원에서 사용된 바와 같이, "효능제 항체" 또는 "효능작용 항체"는 면역자극 수용체의 효능제인 항체, 예를 들어, 차례로 면역 세포를 자극하는 단백질의 활성을 자극함으로써 대상체의 면역계 (또는 면역 반응)를 부스팅할 수 있는 항체를 지칭한다.
- [0038] 본원에서 사용된 바와 같이, "면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체" 또는 동의적 표현은 면역자극 수용체 (예를 들어, 공동-자극 수용체 예컨대 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리의 구성원)에 특이적으로 결합하고, 이러한 수용체 및/또는 그의 하류 신호전달 경로(들)를 활성화시키는 항체를 지칭한다.
- [0039] 본원에서 사용된 바와 같이, "종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리" 또는 "TNFRSF"는 동족 리간드에 결합하는 이들의 세포외 도메인에 시스테인-풍부 도메인이 있는 시토카인 수용체의 단백질 수퍼패밀리를 지칭하며, TNFR1, TNFR2, HVEM, LTβR, OX40, CD27, CD40, FAS, DCR3, CD30, 4-1BB, TRAILR1, TRAILR2, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, FN14, TACI, BAFFR, BCMA, GITR, TROY, DR3 (사멸 수용체 3), DR6 (사멸 수용체 6), XEDAR (엑토디스플라신 A2 수용체), 및 NGFR과 같은 구성원을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Croft et al., Nat Rev Drug Discov 2013;12:147-168] 참조).
- [0040] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "OX40"은 OX40 리간드 (OX40-L)에 결합하는, TNFRSF의 구성원인 수용체를 지칭한다. OX40은 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리, 구성원 4 (TNFRSF4), ACT35, IMD16, TXGP1L, 및 CD134로도 지칭된다. 용어 "OX40"은 세포에 의해 천연적으로 발현되는 OX40의 임의의 변이체 또는 이소형을 포함한다.
- [0041] 인간 OX40 전구체 (수탁 번호 NP_003318.1)의 아미노산 서열이 서열식별번호(SEQ ID NO): 1에 기재된다. 성숙 인간 OX40의 세포외 도메인의 아미노산 서열이 서열식별번호: 2에 기재된다. 시노몰구스 OX40의 아미노산 서열이 서열식별번호: 3에 기재된다. 인간 OX40-L의 아미노산 서열이 서열식별번호: 4에 기재된다.
- [0042] 용어 "프로그래밍된 사멸 1", "프로그래밍된 세포 사멸 1", "단백질 PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1"

및 "hPD-I"는 CD28 패밀리에 속하는 면역억제 수용체를 지칭한다. PD-1은 생체 내의 이전에 활성화된 T 세포 상에서 우세하게 발현되고, 2개의 리간드 PD-L1 및 PD-L2에 결합한다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "PD-1"은 인간 PD-1 (hPD-1), hPD-1의 변이체, 이소형 및 중 호모로그, 및 적어도 하나의 hPD-1과 공통적인 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전한 hPD-1 서열을 진뱅크(GenBank) 수탁 번호 U64863 하에 확인할 수 있다.

[0043] "프로그래밍된 사멸 리간드-1 (PD-L1)"은 PD-1에 결합 시 T 세포 활성화 및 시토카인 분비를 하향조절하는 PD-1에 대한 2개의 세포 표면 당단백질 리간드 중 하나이다 (다른 하나는 PD-L2임). 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1의 변이체, 이소형 및 중 호모로그, 및 적어도 하나의 hPD-L1과 공통적인 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전한 hPD-L1 서열을 진뱅크 수탁 번호 Q9NZQ7 하에 확인할 수 있다.

[0044] 용어 "세포독성 T 림프구-연관 항원-4", "CTLA-4", "CTLA4", "CTLA-4 항원" 및 "CD152" (예를 들어, 문헌 [Murata (1999) Am. J. Pathol. 155:453-460] 참조)는 상호교환가능하게 사용되고, 인간 CTLA-4의 변이체, 이소형 및 중 호모로그, 및 적어도 하나의 CTLA-4와 공통적인 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Balzano (1992) Int. J. Cancer Suppl. 7:28-32] 참조). 인간 CTLA-4의 완전한 서열이 진뱅크 수탁 번호 L1 5006에 기재되어 있다.

[0045] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "항체"는 전체 항체, 및 그의 임의의 항원 결합 단편 (즉, "항원-결합 부분") 또는 단일체를 포함할 수 있다. "항체"는, 한 실시양태에서, 디설피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질, 또는 그의 항원 결합 부분을 지칭한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 V_H 로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 특정한 천연 발생 IgG, IgD, 및 IgA 항체에서, 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 특정한 천연 발생 항체에서, 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 V_L 로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인 CL로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 칭해지는 더욱 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)로 칭해지는 초가변성의 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역글로불린이 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적 보체 시스템의 제1 성분 (C1q)를 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 결합하는 것을 매개할 수 있다.

[0046] 전형적으로 항체는 10^{-7} 내지 10^{-11} M 이하의 해리 상수 (K_D)에 의해 반영되는 높은 친화도로 그의 동족 항원에 특이적으로 결합한다. 일반적으로, 약 10^{-6} M을 초과하는 임의의 K_D 가 비-특이적 결합을 지시하는 것으로 간주된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 항원에 "특이적으로 결합하는" 항체는 K_D 가 10^{-7} M 이하, 바람직하게는 10^{-8} M 이하, 더욱 더 바람직하게는 5×10^{-9} M 이하, 가장 바람직하게는 10^{-8} M 내지 10^{-10} M 이하인 것을 의미하는 높은 친화도로 항원 및 실질적으로 동일한 항원에 결합하지만, 관련되지 않은 항원에는 높은 친화도로 결합하지 않는 항체를 지칭한다. 항원이 소정의 항원에 대해 고도의 서열 동일성을 나타내면, 예를 들어, 소정의 항원의 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 적어도 97%, 또는 더욱 더 바람직하게는 적어도 99%의 서열 동일성을 나타내면, 이는 소정의 항원과 "실질적으로 동일"하다. 예를 들어, 인간 OX40에 특이적으로 결합하는 항체는 특정한 비-인간 영양류 중 (예를 들어, 시노물구스 원숭이)으로부터의 OX40과 교차-반응할 수 있지만, 다른 종으로부터의 OX40 (예를 들어, 뮤린 OX40), 또는 OX40 이외의 항원과는 교차-반응하지 않을 수 있다.

[0047] 면역글로불린은 IgA, 분비형 IgA, IgG 및 IgM을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 통상적으로 공지된 이소타입 중 임의의 것으로부터의 것일 수 있다. IgG 이소타입은 특정 종에서 서브클래스로 나뉜다: 인간에서의 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4, 및 마우스에서의 IgG1, IgG2a, IgG2b 및 IgG3. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항-OX40 항체는 IgG1 또는 IgG2 서브타입의 것이다. 면역글로불린, 예를 들어, IgG1은 여러 동종이형으로 존재하고, 이들은 최대 몇 개의 아미노산에서 서로 상이하다. "항체"는, 예를 들어, 천연 발생 및 비-천연 발생 항체 둘 다; 모노클로날 및 폴리클로날 항체; 키메라 및 인간화 항체; 인간 및 비-인간 항체; 완전 합성 항체; 및 단일쇄 항체를 포함할 수 있다.

[0048] 항체의 "항원-결합 부분" 또는 "항원-결합 단편"이라는 용어는, 본원에서 사용된 바와 같이, 항원 (예를 들어,

인간 OX40)에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원-결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 제시된 바 있다. 항체의 "항원-결합 부분"이라는 용어에 포괄되는 결합 단편의 예는 (i) V_L , V_H , CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설파이드 다리에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (iii) V_H 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어진 Fv 단편, (v) V_H 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR) 또는 (vii) 임의적으로 합성 링커에 의해 연결될 수 있는, 2개 이상의 단리된 CDR의 조합물을 포함한다. 또한, Fv 단편의 2개의 도메인인 V_L 및 V_H 가 별도의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들을 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 사슬로서 만들어지게 할 수 있는 합성 링커에 의해, 재조합 방법을 사용하여, 이들이 연결될 수 있다 (단일쇄 Fv (scFv)로 공지됨; 예를 들어, 문헌 [Bird et al. (1988) Science 242:423-426]; 및 [Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조). 이같은 단일쇄 항체 또한 항체의 "항원-결합 부분"이라는 용어 내에 포괄되도록 의도된다. 이러한 구축물 및 다른 잠재적인 구축물이 문헌 [Chan & Carter (2010) Nat. Rev. Immunol. 10:301]에 기재되어 있다. 관련 분야의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 이러한 항체 단편들이 수득되고, 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 단편이 스크리닝된다. 항원-결합 부분은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 무손상 면역글로불린의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다.

[0049] "이중특이적" 또는 "이관능성 항체"는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위가 있는 인공적인 하이브리드 항체이다. 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함하는 다양한 방법에 의해 이중특이적 항체가 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990)]; [Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992)]을 참조한다.

[0050] 용어 "모노클로날 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 특정한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타내는 항체, 또는 모든 항체가 특정한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타내는 항체들의 조성물을 지칭한다. 전형적으로, 이같은 모노클로날 항체는 항체를 코딩하는 단일 세포 또는 핵산으로부터 유래될 것이고, 임의의 서열 변경을 의도적으로 도입하지 않으면서 증식될 것이다. 따라서, 용어 "인간 모노클로날 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역 및 임의적인 불변 영역이 있는 모노클로날 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 인간 모노클로날 항체는 하이브리도마에 의해 생산되고, 이는, 예를 들어, 트랜스제닉 또는 트랜스크로모조말 비-인간 동물 (예를 들어, 인간 중쇄 트랜스진 및 경쇄를 포함하는 게놈이 있는 트랜스제닉 마우스)로부터 수득된 B 세포를 불멸화 세포에 융합시킴으로써 수득된다.

[0051] 용어 "재조합 인간 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 (a) 인간 면역글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉 또는 트랜스크로모조말인 동물 (예를 들어, 마우스) 또는 이로부터 제조된 하이브리도마로부터 단리된 항체, (b) 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예를 들어, 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, (c) 조합형의 재조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 (d) 인간 면역글로불린 유전자 서열이 다른 DNA 서열로 스플라이싱되는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이같은 재조합 인간 항체는 생식계열 유전자에 의해 코딩되지만, 후속 재배열 및 돌연변이 (예를 들어, 항체 성숙 동안 발생함)를 포함하는 특정한 인간 생식계열 면역글로불린 서열을 이용하는 가변 및 불변 영역을 포함한다. 관련 분야에 공지된 바와 같이 (예를 들어, 문헌 [Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125] 참조), 가변 영역은 외래 항원에 대해 특이적인 항체를 형성하도록 재배열되는 다양한 유전자에 의해 코딩되는 항원 결합 도메인을 함유한다. 재배열에 더하여, 가변 영역은 외래 항원에 대한 항체의 친화성을 증가시키기 위한 다수의 단일 아미노산 변화 (체세포 돌연변이 또는 과돌연변이로 지칭됨)에 의해 추가로 변형될 수 있다. 항원에 대한 추가 반응에서 불변 영역이 변화될 것이다 (즉, 이소타입 스위치). 따라서, 항원에 반응하여 경쇄 및 중쇄 면역글로불린 폴리펩티드를 코딩하는 재배열되고 체세포 돌연변이된 핵산 서열은 원래의 생식계열 서열과 동일하지 않을 수 있지만, 대신 실질적으로 동일하거나 또는 유사할 것이다 (즉, 동일성이 적어도 80%일 것임).

[0052] "인간" 항체 (HuMAb)는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하면, 불변 영역 또한 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된다. 본원에 기재된 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관 내에서의 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체 내에서의 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 용어 "인간 항체"는, 본원에서 사용된 바

와 같이, 또 다른 포유동물 중, 예컨대 마우스의 생식계열로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그래프팅된 항체를 포함하도록 의도되지 않는다. 용어 "인간" 항체 및 "완전히 인간형인" 항체는 동의적으로 사용된다.

- [0053] "인간화" 항체는 비-인간 항체의 CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두가 인간 면역글로불린으로부터 유래되는 상응하는 항미노산으로 교체된 항체를 지칭한다. 인간화 형태의 항체의 한 실시양태에서, CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두가 인간면역글로불린으로부터의 아미노산으로 교체된 반면, 하나 이상의 CDR 영역 내의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두는 변화되지 않는다. 특정 항원에 결합하는 항체의 능력을 폐기하지 않는 한 아미노산의 소규모의 부가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형이 허용가능하다. "인간화" 항체는 원래의 항체의 것과 유사한 항원 특이성을 유지한다.
- [0054] "키메라 항체"는 하나의 종으로부터 가변 영역이 유래되고, 또 다른 종으로부터 불변 영역이 유래되는 항체, 예컨대 마우스 항체로부터 가변 영역이 유래되고, 인간 항체로부터 불변 영역이 유래되는 항체를 지칭한다.
- [0055] 본원에서 사용된 바와 같이, "이소타입"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 코딩되는 항체 클래스 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, 및 IgE 항체)를 지칭한다.
- [0056] "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 대해 특이적인 항체"는 본원에서 용어 "항원에 특이적으로 결합하는 항체"와 상호교환가능하게 사용된다.
- [0057] "단리된 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 항원 특이성이 상이한 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하도록 의도된다.
- [0058] 본원에서 사용된 바와 같이, "OX40-L이 OX40에 결합하는 것을 억제하는" 항체는 OX40-L이 OX40에 결합하는 것을 억제하는 항체를 지칭하도록 의도된다.
- [0059] "이펙터 기능"은 항체 Fc 영역과 Fc 수용체 또는 리간드의 상호작용, 또는 이로부터 초래되는 생화학적 이벤트를 지칭한다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합, 보체 의존적 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합, Fc γ R-매개 이펙터 기능 예컨대 ADCC 및 항체 의존적 세포-매개 포식작용 (ADCP), 및 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절을 포함한다. 이같은 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과 조합되는 것을 필요로 한다.
- [0060] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 면역글로불린의 Fc 영역에 결합하는 수용체이다. IgG 항체에 결합하는 FcR은 Fc γ R 패밀리의 수용체를 포함하고, 이러한 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한다. Fc γ R 패밀리는 3개의 활성화 수용체 (마우스의 Fc γ RI, Fc γ RIII, 및 Fc γ RIV; 인간의 Fc γ RIA, Fc γ RIIA, 및 Fc γ RIIIA) 및 1개의 억제성 수용체 (Fc γ RIIB)로 이루어진다. 인간 Fc γ R의 다양한 특성이 표 1에서 요약된다. 대다수의 선천적 이펙터 세포 유형은 하나 이상의 활성화 Fc γ R 및 억제성 Fc γ RIIB를 공동-발현하는 반면, 천연 킬러 (NK) 세포는 1개의 활성화 Fc 수용체 (마우스의 Fc γ RIII 및 인간의 Fc γ RIIIA)를 선택적으로 발현하지만, 마우스 및 인간에서 억제성 Fc γ RIIB를 발현하지 않는다. 인간 IgG1은 대부분의 인간 Fc 수용체에 결합하고, 자신이 결합하는 활성화 Fc 수용체의 유형과 관련하여 무린 IgG2a와 등가인 것으로 간주된다.

[0061] 표 1. 인간 Fc γ R의 특성

Fc γ	대립유전자 변이체	인간 IgG에 대한 친화도	이소타입 선호도	세포 분포
Fc γ RI	기재되지 않음	높음 ($K_D \sim 10$ nM)	IgG1=3>4>>2	단핵구, 대식세포, 활성화된 호중구, 수지상 세포
Fc γ RIIA	H131	낮음 내지 중간	IgG1>3>2>4	호중구, 단핵구, 대식세포, 호산구, 수지상 세포, 혈소판
	R131	낮음	IgG1>3>4>2	
Fc γ RIIAA	V158	중간	IgG1=3>>4>2	NK 세포, 단핵구, 대식세포, 비만 세포, 호산구, 수지상 세포
	F158	낮음	IgG1=3>>4>2	
Fc γ RIIB	I232	낮음	IgG1=3=4>2	B 세포, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포, 비만 세포
	T232	낮음	IgG1=3=4>2	

[0062]

[0063] "Fc 영역" (결정화가능한 영역 단편) 또는 "Fc 도메인" 또는 "Fc"는 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 상에 위치하는 Fc 수용체 또는 고전적 보체 시스템의 제1 성분 (C1q)에 결합하는 것을 포함하여 면역글로불린이 숙주 조직 또는 인자에 결합하는 것을 매개하는 항체의 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. 따라서, Fc 영역은 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인 (예를 들어, CH1 또는 CL)을 제외한 항체의 불변 영역을 포함한다. IgG, IgA 및 IgD 항체 이소타입에서, Fc 영역은 항체의 2개의 중쇄 각각 내의 C_{H2} 및 C_{H3} 불변 도메인을 포함하고; IgM 및 IgE Fc 영역은 각각의 폴리펩티드 사슬 내에 3개의 중쇄 불변 도메인 (C_H 도메인 2-4)을 포함한다. IgG의 경우, Fc 영역은 면역글로불린 도메인 C γ 2 및 C γ 3, 및 C γ 1과 C γ 2 사이의 힌지를 포함한다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계가 다양할 수 있지만, 일반적으로 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 위치 C226 또는 P230의 아미노산 잔기 (또는 이러한 2개의 아미노산 사이의 아미노산)에서 중쇄의 카르복시-말단까지 신장되는 것으로 정의되며, 여기서 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, MD]; 미국 특허 출원 공개 번호 2008/0248028의 도 3c-3f를 또한 참조한다. 인간 IgG Fc 영역의 C_{H2} 도메인은 대략적인 아미노산 231에서 대략적인 아미노산 340까지 걸쳐지는 반면, C_{H3} 도메인은 Fc 영역 내의 C_{H2} 도메인의 C-말단 측 상에 위치하고, 즉, 이는 IgG의 대략적인 아미노산 341에서 대략적인 아미노산 447까지 걸쳐진다. 본원에서 사용된 바와 같이, Fc 영역은 임의의 동종이형 변이체를 포함하는 천연 서열 Fc, 또는 변이체 Fc (예를 들어, 비-천연 발생 Fc)일 수 있다. 또한 Fc는 단리된 이러한 영역 또는 "Fc 융합 단백질"로도 지칭되는 Fc-포함 단백질 폴리펩티드 예컨대 "Fc 영역을 포함하는 결합 단백질" (예를 들어, 항체 또는 면역부착소)의 환경에 있는 이러한 영역을 또한 지칭할 수 있다.

[0064] 본원에서 사용된 바와 같이, "특이적 결합", "선택적 결합", "선택적으로 결합한다", 및 "특이적으로 결합한다"라는 용어는 미리 정해진 항원 상의 에피토프에 결합하지만, 다른 항원에는 결합하지 않는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 항체는 (i) 예를 들어, 미리 정해진 항원을 분석물로서, 항체를 리간드로 사용하여 BIACORE 2000 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기구에서 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술에 의해 결정되었을 때, 약 10^{-7} M 미만, 예컨대 약 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 이보다 더 낮은 값의 평형 해리 상수 (K_D)로 결합하고, (ii) 미리 정해진 항원 또는 밀접하게 관련된 항원 이외의 비-특이적 항원 (예를 들어, BSA, 카세인)에 결합하는 것에 대한 그의 친화도보다 적어도 2-배 더 큰 친화도로 미리 정해진 항원에 결합한다.

[0065] 용어 " k_{assoc} " 또는 " k_a "는, 본원에서 사용된 바와 같이, 특정한 항체-항원 상호작용의 회합 속도 상수를 지칭하도록 의도되는 반면, 용어 " k_{dis} " 또는 " k_d "는, 본원에서 사용된 바와 같이, 특정한 항체-항원 상호작용의 해리

속도 상수를 지칭하도록 의도된다. 용어 " K_D "는, 본원에서 사용된 바와 같이, 평형 해리 상수를 지칭하도록 의도되고, 이는 k_d 대 k_a 의 비 (즉, k_d/k_a)로부터 수득되고, 몰 농도 (M)로서 표현된다. 관련 분야에 잘 확립되어 있는 방법을 사용하여 항체에 대한 K_D 값을 결정할 수 있다. 항체의 K_D 를 결정하는 바람직한 방법은 표면 플라즈몬 공명을 사용하는 것, 바람직하게는 바이오센서 시스템 예컨대 비아코어(Biacore)® SPR 시스템 또는 유동 세포측정법 및 스캐차드(Scatchard) 분석을 사용하는 것에 의한 방법이다.

[0066] 본원에서 사용된 바와 같이, IgG 항체에 대한 "높은 친화도"라는 용어는 표적 항원에 대한 K_D 가 10^{-8} M 이하, 더욱 바람직하게는 10^{-9} M 이하, 더욱 더 바람직하게는 10^{-10} M 이하인 항체를 지칭한다. 그러나, "높은 친화도" 결합은 다른 항체 이소타입에 경우 변할 수 있다. 예를 들어, IgM 이소타입에 대한 "높은 친화도" 결합은 K_D 가 10^{-7} M 이하, 더욱 바람직하게는 10^{-8} M 이하인 항체를 지칭한다.

[0067] 항체를 사용하는 시험관내 또는 생체내 검정의 맥락에서의 용어 "EC50"은 최대 반응의 50%, 즉 최대 반응과 기준선의 절반인 반응을 유도하는 항체의 농도를 지칭한다.

[0068] "수용체 점유율" 또는 "수용체의 점유율"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 면역자극 수용체에 결합된 효능작용 항체의 양을 지칭한다. "% 수용체 점유율" 또는 "수용체의 % 점유율"을 하기 식을 사용하여 계산할 수 있다: $([\text{테스트의 } \Delta\text{MFI}] / [\text{총의 } \Delta\text{MFI}]) \times 100$. ΔMFI 는 이소타입 대조군 항체로의 배경 염색의 평균 형광 강도 (MFI)를 결합된 효능작용 항체로부터의 MFI로부터 차감함으로써 계산된다. 총 수용체 수준은 특정 면역자극 수용체의 최대 발현, 따라서 MFI를 결정하기 위해 포화량의 효능작용 항체를 첨가함으로써 결정된다. 총 수용체 발현을 계산하기 위한 대안적인 수단은 수용체 점유율이 계산되고 있는 효능작용 항체와 경쟁하지 않는 동일한 면역자극 수용체에 대한 항체를 사용하는 것이다.

[0069] "면역 반응"은 외래 작용제 및 이에 의해 야기되는 질환에 대해 생물을 보호하는, 외래 작용제에 대한 척추동물에서의 생물학적 반응을 지칭한다. 면역 반응은 침습성 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 기타 비정상 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우의 정상적인 인간 세포 또는 조직을 선택적 표적화하는 것, 이에 결합하는 것, 이를 손상시키는 것, 이를 파괴하는 것 및/또는 이를 척추동물의 신체로부터 제거하는 것을 초래하는, 면역계의 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 천연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는 호중구) 및 이러한 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생산된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인 및 보체 포함)의 작용에 의해 매개된다. 면역 반응은, 예를 들어, T 세포, 예를 들어, 이펙터 T 세포 또는 Th 세포, 예컨대 CD4+ 또는 CD8+ T 세포의 활성화 또는 억제, 또는 Treg 세포의 억제를 포함한다.

[0070] "면역요법"은 면역 반응을 유도하거나, 증진시키거나, 억제하거나 또는 다른 방식으로 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의한 질환에 걸렸거나 또는 질환에 걸리거나 질환이 재발할 위험이 있는 대상체의 치료를 지칭한다.

[0071] "T 이펙터" (" T_{eff} ") 세포는 세포용해 활성이 있는 T 세포 (예를 들어, CD4+ 및 CD8+ T 세포), 뿐만 아니라 시토카인을 분비하고 다른 면역 세포를 활성화시키고 지지하지만, 조절 T 세포 (Treg 세포)를 포함하지 않는 T 헬퍼 (Th) 세포를 지칭한다.

[0072] 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 능력의 증가는 T 세포 공동-자극 수용체의 증진된 효능제 활성 및/또는 억제 수용체의 증진된 길항제 활성으로부터 초래될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 능력의 증가는 면역 반응을 측정하는 검정, 예를 들어, 시토카인 또는 케모카인 방출, 세포용해 활성 (표적 세포 상에서 직접적으로 또는 CD107a 또는 그랜자임을 검출하는 것을 통해 간접적으로 결정됨) 및 증식의 변화를 측정하는 검정에서 활성의 최대 수준 또는 EC_{50} 의 배수 증가에 의해 반영될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계 활성을 자극하는 능력은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 이를 초과하는 값만큼 증진될 수 있다.

[0073] 본원에서 사용된 바와 같이, "투여하는 것"은 관련 분야의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 치료제를 포함하는 조성물을 대상체에게 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 기재된 항체에 대한 바람직한 투여 경로는 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예컨대 주사 또는 주입을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 "비경구 투여"라는 구절은 장 및 국소 투여 이외의 투여 방식, 통상적으로는 주사에 의한 투여 방식을 의미하고, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 림프관, 병변내, 관절낭내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 비제한적으로 포함한다. 대안적으로, 본원에 기재

된 항체는 비경구가 아닌 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통하여, 예를 들어 비강내, 경구, 질내, 직장내, 설하 또는 국소 투여로 투여될 수 있다. 또한 투여는, 예를 들어, 1번으로, 여러 번으로, 및/또는 하나 이상의 연장된 기간 전반에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0074] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "T 세포-매개 반응"은 이펙터 T 세포 (예를 들어, $CD8^+$ 세포) 및 헬퍼 T 세포 (예를 들어, $CD4^+$ 세포)를 포함하는 T 세포에 의해 매개되는 반응을 지칭한다. T 세포 매개 반응은, 예를 들어, T 세포 세포독성 및 증식을 포함한다.

[0075] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "세포독성 T 림프구 (CTL) 반응"은 세포독성 T 세포에 의해 유도되는 면역 반응을 지칭한다. CTL 반응은 주로 $CD8^+$ T 세포에 의해 매개된다.

[0076] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "억제하다" 또는 "차단하다" (예를 들어, OX40-L이 세포 상의 OX40에 결합하는 것의 억제/차단)는 상호교환가능하게 사용되고, 부분적 및 완전 억제/차단 둘 다를 포괄한다. 유사하게, "차단 항체"는 리간드가 그의 수용체에 결합하는 것을 차단하는 항체를 지칭하며, 예를 들어, OX40.21은 OX40이 그의 리간드에 결합하는 것을 억제하며, 따라서 차단 항체로 지칭된다. 역으로, 리간드가 그의 수용체에 결합하는 것을 차단하지 않는 항체, 예를 들어, OX40.8은 "비-차단 항체"로 지칭된다.

[0077] 본원에서 사용된 바와 같이, 종양의 "성장을 억제한다"는 용어는 종양 성장의 임의의 측정가능한 감소, 예를 들어, 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 99%, 또는 100%만큼의 종양 성장의 억제를 포함한다.

[0078] 본원에서 사용된 바와 같이, "암"은 신체 내에서의 비정상적인 세포의 제어되지 않은 성장을 특징으로 하는 광범위한 질환 군을 지칭한다. 조절되지 않은 세포 분열로 인해, 이웃 조직을 침범하고, 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위부로 전이될 수 있는 악성 종양 또는 세포의 형성이 초래될 수 있다.

[0079] 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 본원에서 사용된 바와 같이, 질환과 연관된 증상, 합병증, 병태 또는 생화학적 징후의 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전시키거나, 경감시키거나, 완화시키거나, 억제하거나, 또는 느리게 하거나 또는 방지하려는 목적으로 대상체에서 수행되는 임의 유형의 개입 또는 프로세스, 또는 대상체에게 활성 작용제를 투여하는 것을 지칭한다. 예방은 질환 발생을 방지하거나 또는 질환이 발생하는 경우 그 효과를 최소화하기 위해 질환을 가지지 않은 대상체에게 투여하는 것을 지칭한다.

[0080] "혈액학적 악성종양"은 림프종, 백혈병, 골수종 또는 림프성 악성종양, 뿐만 아니라 비장 및 림프절의 암을 포함한다. 예시적인 림프종은 B 세포 림프종 (B-세포 혈액암) 및 T 세포 림프종 둘 다를 포함한다. B-세포 림프종은 호지킨 림프종 및 대부분의 비-호지킨 림프종 둘 다를 포함한다. B 세포 림프종의 비제한적인 예는 광범위 대형 B-세포 림프종, 소포 림프종, 점막-연관 림프 조직 림프종, 소세포 림프구성 림프종 (만성 림프구성 백혈병과 중첩됨), 외투 세포 림프종 (MCL), 버킷 림프종, 종격 대형 B 세포 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린 혈증, 결절성 변연부 B 세포 림프종, 비장 변연부 림프종, 혈관내 대형 B-세포 림프종, 원발성 삼출 림프종, 림프종모양 육아종증을 포함한다. T 세포 림프종의 비제한적인 예는 림프절외 T 세포 림프종, 피부 T 세포 림프종, 악성 대형 세포 림프종, 및 혈관면역모세포성 T 세포 림프종을 포함한다. 혈액학적 악성 종양은 이차 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 및 급성 림프모구성 백혈병과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 백혈병을 또한 포함한다. 혈액학적 악성 종양은 다발성 골수종 및 무증상 다발성 골수종과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 골수종을 추가로 포함한다. 다른 혈액학적 및/또는 B 세포- 또는 T-세포-연관 암이 용어 혈액학적 악성 종양에 포괄된다.

[0081] 용어 "유효한 용량" 또는 "유효한 투여량" 또는 "충분한 용량"은 원하는 효과를 달성하는데 또는 적어도 부분적으로 달성하는데 충분한 약물 (예를 들어, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체)의 양으로서 정의된다. 약물 또는 치료제의 "치료적 유효량" 또는 "치료적 유효 투여량"은 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합되어 사용되었을 때, 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 증상이 없는 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 장애 또는 곤란의 방지에 의해 증명되는 질환 퇴행을 촉진하는 약물의 임의의 양이다.

[0082] 고형 종양의 언급에서, 유효량은 종양이 축소되게 하고/거나 종양의 성장 속도를 감소시키는데 (예컨대 종양 성장을 억제하는데) 또는 다른 원치 않는 세포 증식을 방지하거나 지연시키는데 충분한 양을 포함한다. 특정 실시양태에서, 유효량은 종양 발달을 지연시키는데 충분한 양이다. 일부 실시양태에서, 유효량은 종양 재발을 방지하거나 지연시키는데 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여에 의해 투여될 수 있다. 약물 또는 조성물

의 유효량은 (i) 암 세포의 수를 감소시킬 수 있고/있거나; (ii) 종양 크기를 감소시킬 수 있고/있거나; (iii) 말초 기관 내로의 암 세포 침윤을 억제하고, 지연시키고, 어느 정도 늦추고, 이를 정지시킬 수 있고/있거나; (iv) 종양 전이를 억제하고, 즉 어느 정도 늦추고, 이를 정지시킬 수 있고/있거나; (v) 종양 성장을 억제할 수 있고/있거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 방지하거나 지연시킬 수 있고/있거나; (vii) 암과 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 해소시킬 수 있다.

[0083] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "고정 용량", "균일 용량" 및 "균일-고정 용량"은 상호교환가능하게 사용되고, 환자의 체중 또는 체표면적 (BSA)과 관계없이 환자에게 투여되는 용량을 지칭한다. 따라서, 고정 또는 균일 용량은 mg/kg 용량으로서 제공되지 않고, 그보다는 작용제의 절대량으로서 제공된다.

[0084] 약물의 "예방적 유효량" 또는 "예방적 유효 투여량"은 질환이 발달될 위험이 있거나 또는 질환이 재발할 위험이 있는 대상체에게 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합되어 투여되었을 때, 질환의 발달 또는 재발을 억제하는 약물의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하거나 또는 질환의 발달 또는 재발을 억제하는 치료제 또는 예방제의 능력을 숙련된 실무자에게 공지되어 있는 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 중인 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예보하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 작용제의 활성을 검정함으로써 평가할 수 있다.

[0085] 예를 들어, 항암제는 대상체에서 암 진행을 느리게 하거나 또는 암 퇴행을 촉진하는 약물이다. 바람직한 실시양태에서, 치료적 유효량의 약물은 암을 제거하는 지점까지 암 퇴행을 촉진한다. "암 퇴행을 촉진하는 것"은 유효량의 약물을 단독으로 또는 항-신생물 작용제와 조합하여 투여하는 것이 환자에서 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양 괴사, 적어도 하나의 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 증상이 없는 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 질환 고통으로 인한 곤란 또는 장애의 방지, 또는 질환 증상의 다른 방식의 호전을 초래한다는 것을 의미한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진하는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 초래되는 세포, 기관 및/또는 생물 수준에서의 허용가능하게 낮은 수준의 독성 또는 다른 유해한 생리학적 효과 (유해 효과)를 지칭한다.

[0086] 예를 들어 종양의 치료를 위해, 바람직하게는 치료적 유효량 또는 유효 투여량의 약물은 치료되지 않은 대상체에 비교하여 세포 성장 또는 종양 성장을 적어도 약 20%, 더욱 바람직하게는 적어도 약 40%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 더더욱 바람직하게는 적어도 약 80%만큼 억제한다. 가장 바람직한 실시양태에서, 치료적 유효량 또는 유효 투여량의 약물은 세포 성장 또는 종양 성장을 완전히 억제하고, 즉, 바람직하게는 세포 성장 또는 종양 성장을 100%만큼 억제한다. 화합물이 종양 성장을 억제하는 능력을 하기에 기재된 검정을 사용하여 평가할 수 있다. 대안적으로, 화합물이 세포 성장을 억제하는 능력을 검사함으로써 조성물의 이러한 특성을 평가할 수 있고, 이같은 억제를 숙련된 실무자에게 공지되어 있는 검정에 의해 시험관 내에서 측정할 수 있다. 본원에 기재된 다른 바람직한 실시양태에서, 종양 퇴행이 관찰될 수 있고, 적어도 약 20일, 더욱 바람직하게는 적어도 약 40일, 또는 더욱 더 바람직하게는 적어도 약 60일의 기간 동안 계속될 수 있다.

[0087] 용어 "환자" 및 "대상체"는 예방적 또는 치료적 처치를 받는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 지칭한다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법 및 조성물은 암을 가진, 예컨대 진행성 고형 종양이 있는 대상체 또는 환자를 치료하는데 사용될 수 있다.

[0088] 대안 ((예를 들어, "또는")의 사용은 대안들 중 하나, 둘 다, 또는 그의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0089] 본원에서 사용된 바와 같이, 부정 관사 "a" 또는 "an"은 "하나 이상"의 임의의 언급되거나 열거된 성분을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다.

[0090] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약"은, 수치 또는 범위의 맥락에서, 수치 또는 범위의 $\pm 10\%$ 를 의미한다.

[0091] 본원에 기재된 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위, 또는 정수 범위는, 달리 지시되지 않는 한, 언급된 범위 내의 임의의 정수의 값 및 적합한 경우의 그의 분율 (예컨대 정수의 1/10 또는 1/100)을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0092] 본원에 기재된 다양한 측면이 하기의 하위 섹션에서 추가로 상세하게 기재된다.

[0093] I. 사용 방법

[0094] 비-포화 수용체 점유율 (RO)을 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 (용량) 또는 빈도 (항체 투여 스케줄)로 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 사용하여 암을 치료하는 방법이 본원에서 제공된다. 실시예에서 제

시킨 바와 같이, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체의 포화 또는 포화-근접 용량 (>80% R0를 초래하는 용량)은, 비-포화 용량 (약 80% 미만의 R0를 초래하는 용량)에 비교하여, T 세포 활성화 및 증식의 마커에서 반영되는 바와 같이, 항종양 효능 감소를 초래한다. 이는 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 포화-미만 용량으로 투여함으로써 암을 가진 대상체를 치료하는 것이 항체가 포화 용량으로 투여되었을 때보다 더 큰 치료 이익을 제공할 수 있다는 것을 시사한다.

- [0095] 따라서, 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에게 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.
- [0096] 약 80% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체의 양 또는 빈도가 결정된 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에서 암을 치료하는 방법으로서, 대상체에게 충분한 양의 항체를 투여하는 것을 포함하는 방법이 본원에서 또한 제공된다.
- [0097] 암을 가진 대상체의 종양에서 T 조절 세포의 수를 감소시키거나 또는 고갈시키는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 또한 제공된다.
- [0098] 암을 가진 대상체에서 T 세포에서의 IL-2 및/또는 IFN- γ 생산을 증가시키는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 또한 제공된다.
- [0099] 암을 가진 대상체에서 면역 반응을 자극하는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 또한 제공된다.
- [0100] 암을 가진 대상체에서 종양 또는 종양 세포의 성장을 억제하는 방법으로서, 대상체에게 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항체는 약 80% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 또한 제공된다.
- [0101] 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 약 70% 미만, 예를 들어, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 또는 약 30% 미만의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여된다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 약 20% 내지 약 80%, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 약 20% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 70%, 약 40% 내지 약 70%, 약 50% 내지 약 70%, 약 60% 내지 약 70%, 약 30% 내지 약 60%, 또는 약 30% 내지 약 50%의 R0 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양으로 투여된다.
- [0102] 본원에 기재된 방법의 특정 실시양태에서, 효능작용 항체는 약 20% 미만, 예를 들어, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 또는 약 5% 내지 약 20%, 약 10% 내지 약 20%, 또는 약 15% 내지 약 20%의 R0를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여된다. 일부 실시양태에서, 20%-미만 R0는 대상체 (예를 들어, 인간 환자)의 간헐적 또는 펄스 투약으로 달성되고/되거나 유지된다. 예를 들어, 펄스 투약은 효능작용 항체 및 추가적인 작용제의 조합 요법을 수반할 수 있고, 여기서 효능작용 항체는 8주 또는 12주마다 투여되고, 추가적인 작용제 (예를 들어, 항-PD1 항체)는 4주마다 투여된다.
- [0103] 일부 실시양태에서, R0는 항체 요법 레지멘의 사이클 1 후의 제1일에 측정된다. 일부 실시양태에서, R0는 항체 요법 레지멘에서 사이클 중반에 측정된다. 일부 실시양태에서, R0는 항체 요법 레지멘의 사이클을 시작할 때 측정된다. 일부 실시양태에서, R0는 항체 요법 레지멘의 사이클 또는 사이클들에서 여러 날에 측정된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, R0는 14일 사이클의 제1일, 제7일 및/또는 제14일, 및 그 후의 설정된 간격 (예를 들어, 2주마다)에 측정된다. 특정 실시양태에서, R0는 항체 농도가 C_{max}, C_{min}, 및/또는 C_{최저}에 근접할 때 및/또는 면역자극 수용체의 발현이 최고일 것으로 예측되는 때 (예를 들어, 투약 후 제7일-제14일)인 면역 반응 유도가 피크일 때 측정된다.
- [0104] R0를 측정하는 방법은 관련 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 실시예 7A에 기재된 바와 같이, 예를 들어, 형광-표지 버전의 관심 항체로 유동 세포측정법을 사용하여 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈액)에서 R0를 측정할 수 있다. 수용체 점유율을 측정하는 방법이, 예를 들어, 문헌 [Liang et al., Cytometry B Clin Cytom 2016;90:117-27], [Ciccimaro et al. Anal Chem 2017;89:5115-512]에서 상세하게 검토되었다. 효능작용 항체의 총 수준, 관심 면역자극 수용체의 총 수준, 뿐만 아니라 복합체를 평가함으로써 친화성 추출 액체 크로마토

그래피-질량 분광법 (AE LC-MS) 또한 말초 혈액으로부터, 뿐만 아니라 조직에서 RO를 측정하는데 사용될 수 있다.

- [0105] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체의 RO를 인간 용량 선택을 통지하는데 사용할 수 있다. 예를 들어, 암을 치료하는 방법으로서, (a) 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 항체를 투여하는 단계, (b) 대상체로부터의 샘플에서 RO를 측정하는 단계, 및 (c) 측정된 RO 및/또는 RO 범위를 기반으로 대상체에게 투여할 항체의 양 또는 항체 투여 스케줄을 결정하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다.
- [0106] 일부 실시양태에서, 암을 가진 대상체의 치료를 위해 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 유효한 양 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다:
- [0107] (a) 대상체에게 항체를 투여하는 단계;
- [0108] (b) 대상체로부터 샘플 (예를 들어, 혈액)을 수득하는 단계;
- [0109] (c) 샘플에서 세포 상의 RO를 결정하는 단계; 및
- [0110] (d) 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 항체의 양 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 단계.
- [0111] 효능작용 항체의 RO를 초기에 임상전 동물 모델에서 결정하여 다른 포유동물, 예를 들어 인간에서의 투약을 통지할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 암을 가진 대상체의 치료를 위해 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 유효한 양 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다:
- [0112] (a) 동물 모델 (예를 들어, 마우스 종양 모델, 원숭이 종양 모델)에게 항체를 투여하는 단계;
- [0113] (b) 동물 모델로부터 샘플 (예를 들어, 혈액)을 수득하는 단계;
- [0114] (c) 샘플에서 항체의 RO를 결정하는 단계;
- [0115] (d) 단계 (c)로부터 수득된 RO를 사용하여, 대상체에서의 예상 RO를 추정/예측하는 단계; 및
- [0116] (e) 대상체에게 투여하기 위한 약 80% 미만의 RO 또는 RO 범위 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%의 RO)를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 항체의 양 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 단계.
- [0117] 특정 실시양태에서, 항체의 유효량은 항체가 치료 효능 (예를 들어, 항종양 활성)을 나타내는 RO 범위를 기반으로 정의된다. 따라서, 항체가 치료 효과, 예를 들어, 항종양 활성을 달성하는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체의 유효한 RO 범위를 결정하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 또한 제공된다:
- [0118] (a) 상이한 양 또는 상이한 빈도로 항체를 예를 들어 동물 모델 (예를 들어, 마우스 종양 모델)에게 투여하는 단계;
- [0119] (b) 동물로부터 샘플 (예를 들어, 혈액)을 수득하는 단계;
- [0120] (c) 샘플에서 항체의 RO를 측정하여 용량-반응 RO 곡선을 수득하는 단계;
- [0121] (d) 치료 효과 (예를 들어, 항종양 활성)를 초래하는 항체의 양 또는 투여 빈도를 결정하고, 이를 RO의 범위와 상호관련시키는 단계.
- [0122] 일부 실시양태에서, 방법은 단계 (d)에서 결정된 RO 범위를 기반으로 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에 대한 효능작용 항체의 예상 RO 범위를 추정/예측하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0123] 일부 실시양태에서, 암을 가진 대상체의 치료를 위해 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 유효한 양 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다:

- [0124] (a) 항체로 치료된 환자로부터 샘플 (예를 들어, 종양 생검 샘플)을 수득하는 단계;
- [0125] (b) 샘플에서 항체의 RO를 결정하는 단계;
- [0126] (c) 단계 (b)로부터 수득된 RO를 사용하여, 대상체에서의 예상 RO를 결정하는 단계; 및
- [0127] (d) 대상체에게 투여하기 위한 약 80% 미만의 RO (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%의 RO)를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 항체의 양 또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 단계.
- [0128] 일부 실시양태에서, 후향 분석에 의해 또는 임상전 데이터로부터 치료 효능 (예를 들어, 항종양 활성)과 연관된 RO 및/또는 RO 범위를 기반으로 인간 환자에서의 예상 RO 및/또는 RO 범위를 추정/예측할 수 있다.
- [0129] 임상전 환경에서, 예를 들어, 시험관내 인간 세포주로부터 수득된 결합 EC_{50} 또는 표면 플라즈몬 공명으로부터 결정된 해리 상수 K_d 를 사용하여, 인간 RO를 결정할 수 있다 (Muller PY and Brennan FR, Clin Pharmacol Ther. 2009;85:247-58; Saber H et al., Regul Toxicol Pharmacol. 2016;81:448-56). 그러나, 다양한 시험관내 시스템의 제약 (예를 들어, 경쟁 리간드의 결여)으로 인해, 동물 종에서의 시험관내 RO가 이러한 종에서 관찰되는 생체내 RO와 얼마나 잘 상호연관되는지를 평가하는 것에 의해 인간 RO 예측이 실현될 수 있다 (Yang Z et al., J Pharmacol Exp Ther. 2015;355:506-515). 임상적으로, 집단 약동학-약역학 (PK-PD) 모델링을 구축하여 약물 농도와 RO 데이터 사이의 관계를 결정할 수 있고 (Rosario MC et al., Br J Clin Pharmacol. 2008;65:86-94), 이로부터 상이한 투여량 레지멘들에서의 인간 RO 데이터를 예측할 수 있다. 그 후, 예측/추정 RO를 사용하여, 효능작용 치료용 항체의 유효한 인간 용량 또는 항체 투여 스케줄, 예를 들어, 암을 가진 인간 환자에서 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 용량 또는 빈도를 결정할 수 있다.
- [0130] 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체의 예상 RO 및/또는 RO 범위를 추정하는데 사용하기 위한 적절한 임상전 동물 모델은 마우스 종양 모델 (예를 들어, CT26 마우스 동계 종양 모델), 마우스 백신접종 모델, 원숭이 백신접종 모델, 및 1차 인간 백혈구 집단을 이용하는 시험관내 자극 모델 시스템을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0131] 후향 분석의 경우, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체로 치료된 환자로부터 수득된 샘플에서 RO를 결정할 수 있다. 환자로부터의 샘플은, 예를 들어, 종양 생검, 혈액, 및 단리된 말초혈 단핵 세포일 수 있다. 그 후, 후향 분석으로부터 수득된 RO를 사용하여, 암을 가진 인간 환자에게 투여하기 위한 용량 또는 투여 스케줄 (예를 들어, 약 80% 미만의 RO를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 용량 또는 빈도)을 통지할 수 있다.
- [0132] 일부 실시양태에서, 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체를 유효한 양 또는 항체 투여 스케줄로 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여하려는 항체의 양 또는 항체 투여 스케줄은 상기 기재된 용량 선택 방법에 따라 선택되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.
- [0133] 일부 실시양태에서, 대상체에 대한 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 및/또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 치료용 효능작용 항체의 양 또는 항체 투여 스케줄이 본원에 기재된 방법을 사용하여 결정된 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에서 암을 치료하는 방법으로서, 충분한 양 또는 투여 스케줄의 치료용 효능작용 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법이 본원에서 제공된다.
- [0134] 암에 대해 치료 중인 대상체에서 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 수준을 모니터링하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 또한 제공된다:
- [0135] (a) 대상체로부터 샘플 (예를 들어, 혈액)을 수득하는 단계;
- [0136] (b) 샘플에서 RO (즉, 항체에 의한 수용체의 점유율)를 결정하는 단계;
- [0137] (c) RO가 약 80%를 초과하면 항체 투여의 용량 또는 빈도를 감소시키거나, 또는 RO가 약 20% 미만이면 항체의 용량 또는 빈도를 증가시키는 단계;

- [0138] (d) 임의적으로, 약 20% 내지 약 80%, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%의 RO를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 항체의 용량 또는 항체 투여 스케줄이 달성될 때까지 단계 (a)-(c)를 반복하는 단계.
- [0139] 또 다른 실시양태에서, 암에 대해 치료 중인 대상체에서 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 치료용 효능작용 항체의 수준을 모니터링하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법이 본원에서 또한 제공된다:
- [0140] (a) 대상체로부터 샘플 (예를 들어, 혈액)을 수득하는 단계;
- [0141] (b) 샘플에서 RO (즉, 항체에 의한 수용체의 점유율)를 결정하는 단계;
- [0142] (c) 용량 레지멘 및/또는 용량 빈도의 RO를 예측하기 위해 항체 농도와 RO 사이의 PK-PD 관계를 확립하는 단계;
- [0143] (d) 약 20% 내지 약 80%, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%의 RO 및/또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지할 용량 및/또는 항체 투여 스케줄을 선택하는 단계.
- [0144] 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 추가적인 요법을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 추가적인 요법은 고정 빈도로 투여되고, 효능작용 항체는 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 및/또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항체의 투여 빈도는 상기 기재된 용량 선택 방법을 사용하여 결정된다.
- [0145] 본원에 기재된 방법의 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체는 공동-자극 수용체, 예를 들어, 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 (TNFRSF)의 구성원, ICOS (CD278), CD28, LIGHT, CD40L, TIM1, SLAM, CD1, CD2, CD226, LFA-1 (CD11A, CD18), CD2, CD5, CD7, CD30, CD54, CD97, CD154, CD160, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, 및 NKp80으로 이루어진 군으로부터 선택되는 수용체이다.
- [0146] 일부 실시양태에서, 공동-자극 수용체는 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 (TNFRSF)의 구성원이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에서 사용되는 효능작용 항체는 TNFR1, TNFR2, HVEM, LT β R, OX40, CD27, CD40, FAS, DCR3, CD30, 4-1BB, TRAILR1, TRAILR2, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, FN14, TACI, BAFFR, BCMA, GITR, TROY, DR3 (사멸 수용체 3), DR6 (사멸 수용체 6), XEDAR (엑토디스플라신 A2 수용체), 또는 NGFR에 결합한다.
- [0147] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체는 OX40이다. 따라서, 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 OX40에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, OX40.21)을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 효능작용 항체는 대상체에서 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 및/또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.
- [0148] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 암을 치료하는 방법은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 항-OX40 항체 및 항-PD-1 항체 각각의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항-OX40 및 항-PD-1 항체는 적어도 1회의 투여 사이클 동안 투여되고, 이러한 사이클은 12주 기간이며, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 적어도 1회의 용량의 항-OX40 항체가 약 1, 3, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 또는 280 mg의 고정 용량으로 투여되고, 적어도 3회의 용량의 항-PD-1 항체가 약 50, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 240, 480, 720, 또는 960 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 20, 40, 또는 80 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 20 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 40 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 80 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 각각의 사이클의 제1일, 제29일 및 제57일에 투여된다. 한 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각의 사이클의 제1일에 투여된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 각각의 사

이클의 제1일, 제29일 및 제57일에 투여되고, 항-OX40 항체는 각각의 사이클의 제1일에 투여된다. 한 실시양태에서, 필요하다면, 12주 투여 사이클이 반복될 수 있다. 한 실시양태에서, 투여는 9회 이하의 사이클로 이루어진다. 한 실시양태에서, 투여는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9회의 사이클로 이루어진다. 한 실시양태에서, OX-40 항체는 OX40.21을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵을 포함한다. 한 실시양태에서, 암은 방광암, 자궁경부암, 신세포암, 고환암, 결장직장암, 폐암, 두경부암 및 난소암으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 암은 방광암이다. 한 실시양태에서, 대상체는 인간 대상체이다.

[0149] 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체 및 추가적인 작용제로의 조합 요법이 또한 제공된다. 이같은 실시양태에서, 효능작용 항체 (예를 들어, 항-OX40 항체)의 유효량은 효능작용 항체가 단독으로 (즉, 단독요법에서) 사용되는 경우보다 실질적으로 더 낮을 수 있다.

[0150] 따라서, 암을 치료하는 방법으로서, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 OX40에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, MEDI6469, MEDI0562, PF-04518600, MOXR0916, GSK3174998, 및 W02016/196228에 기재된 항체 (예를 들어, OX40.21)) 및 추가적인 요법 (비-제한적인 예는 항-PD1 항체, 항-PDL1 항체, 항-LAG3 항체, 항-CTLA4 항체, 및 -TGF β 항체를 포함함)를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 효능작용 항체는 대상체에서 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 및/또는 RO 범위를 달성하고/거나 유지하는데 충분한 양 또는 빈도로 투여되는 것인 방법이 본원에서 제공된다.

[0151] 일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 추가적인 요법과 상이한 빈도로 투여된다. 예를 들어, 추가적인 요법은 고정 빈도로 투여되고, 항-OX40 항체는 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO 및/또는 RO 범위를 달성하는데 충분한 용량 및/또는 빈도로 투여된다.

[0152] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, 항-OX40 항체 예컨대 OX40.21)는 추가적인 요법 (예를 들어, 니볼루맵)과 조합되어 사용되는 경우 펄스 투여된다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 약 80% 미만 (또는 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 50% 미만, 약 20% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 60%, 약 20% 내지 약 50%, 약 20% 내지 약 40%, 또는 약 20% 내지 약 30%)의 RO를 달성하고/거나 유지하기 위해 펄스 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 펄스 투여는 효능작용 항체 및 추가적인 작용제의 조합 요법을 수반하고, 여기서 효능작용 항체는 8주 또는 12주 마다 투여되고, 추가적인 작용제 (예를 들어, 항-PD1 항체)는 4주마다 투여된다.

[0153] 유효한 용량 또는 빈도의 효능작용 항체가 투여되고 있는지를 확증하기 위해 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체로 치료 중인 대상체에서 T 세포 활성화의 마커를 모니터링할 수 있다. 모니터링될 수 있는 (그리고, "후크 효과"를 나타내는) T 세포 활성화의 추가적인 마커의 예는 면역자극 수용체 (예를 들어, OX40), ICOS, CD44, 및 Ki67의 표면 발현, 뿐만 아니라 면역 반응 동안 상향조절되는 것으로 공지된 시토키인 (예를 들어, IFN- γ , IL-2)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 상기 마커의 수준을 측정하는 방법은 관련 분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, ELISA). 예를 들어, 3[H]-티미딘 혼입 검정에 의해 T 세포 증식을 모니터링할 수 있다.

[0154] 본원에 기재된 방법에서 표적화되는 면역자극 수용체가 OX40인 경우, 가용성 OX40 (sOX40)이 효능작용 항체 치료의 치료 효능을 모니터링하기 위한 마커로서 사용될 수 있는데, sOX40이 높은 RO 수준에서 소위 "후크 효과"를 또한 나타내기 때문이다 (예를 들어, 실시예 8 참조). sOX40 수준을 결정하기 위한 예시적인 방법 (ELISA)이 실시예 8에서 제공된다.

[0155] 본원에 기재된 방법으로 성장을 치료하거나 모니터링할 수 있는 암은 전형적으로 면역요법에 반응성인 암 및 전형적으로 면역요법에 반응성이 없는 암을 포함한다. 암은 고형 종양 또는 혈액 악성종양 (액상 종양)의 암일 수 있다. 치료하기 위한 암의 비제한적인 예는 편평 세포 암종, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 편평 비-소세포 폐암 (NSCLC), 비-편평 NSCLC, 신경아교종, 위장암, 신장암 (예를 들어 투명 세포 암종), 난소암, 간암, 결장직장암, 자궁내막암, 신장암 (예를 들어, 신세포 암종 (RCC)), 전립선암 (예를 들어 호르몬 불응성 전립선암종), 갑상선암, 신경모세포종, 췌장암, 교모세포종 (다형성 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장 암종, 및 두경부암 (또는 암종), 위암, 생식 세포 종양, 소아 육종, 비부비동 천연 킬러, 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종, 예컨대 피부 또는 안내 악성 흑색종), 골암, 피부암, 자궁암, 항문 영역의 암, 고환암, 나팔관의 암종, 자궁내막의 암종, 자궁경부의 암종, 질의 암종, 외음부암종, 식도암, 소장암, 내분비계 암, 부갑상선암, 부신암, 연질 조직의 육종, 요도암, 남근암, 아동기의 고형 종양, 수뇨관의 암,

신우의 암종, 중추 신경계 (CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 중앙 혈관형성, 척추 종양, 뇌암, 뇌간 신경아교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 유표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 암을 포함하는 환경적으로 유도된 암, 바이러스 관련 암 또는 바이러스 기원의 암 (예를 들어, 인간 유두종 바이러스 (HPV)-관련 또는 -기원 종양), 및 2개의 주요 혈액 세포 계통, 즉 골수성 세포주 (과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포 및 비만 세포를 생산함) 또는 림프성 세포주 (B, T, NK 및 혈장 세포를 생산함) 중 하나로부터 유래된 혈액학적 악성 종양, 예컨대 모든 유형의 백혈병, 림프종, 및 골수종, 예를 들어, 급성, 만성, 림프구성 및/또는 골수성 백혈병, 예컨대 급성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 만성 골수성 백혈병 (CML), 미분화 AML (M0), 골수모구성 백혈병 (M1), 골수모구성 백혈병 (M2; 세포 성숙이 있음), 전골수구성 백혈병 (M3 또는 M3 변이체 [M3V]), 골수단핵구성 백혈병 (M4 또는 호산구 증가증이 있는 M4 변이체 [M4E]), 단핵구성 백혈병 (M5), 적백혈병 (M6), 거핵모구성 백혈병 (M7), 단리된 과립구성 육종, 및 녹색종; 림프종, 예컨대 호지킨 림프종 (HL), 비-호지킨 림프종 (NHL), B 세포 혈액학적 악성종양, 예를 들어, B-세포 림프종, T-세포 림프종, 림프혈장세포양 림프종, 단핵모양 B-세포 림프종, 점막-연관 림프 조직 (MALT) 림프종, 역형성 (예를 들어, Ki 1+) 대형-세포 림프종, 성인 T-세포 림프종/백혈병, 외투 세포 림프종, 혈관 면역모구성 T-세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장 T-세포 림프종, 원발성 종격 B-세포 림프종, 전구체 T-림프모구성 림프종, T-림프모구성; 및 림프종/백혈병 (T-Lbly/T-ALL), 말초 T-세포 림프종, 림프모구성 림프종, 이식후 림프증식성 장애, 진성 조직구성 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종, B 세포 림프종, 림프모구성 림프종 (LBL), 림프 계통의 조혈 종양, 급성 림프모구성 백혈병, 광범위 대형 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 소포 림프종, 광범위 조직구성 림프종 (DHL), 면역모세포성 대형 세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 피부 T-세포 림프종 (CTLC) [균상식육종 또는 세자리 증후군으로도 칭해짐], 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증이 동반된 림프형질세포양 림프종 (LPL); 골수종, 예컨대 IgG 골수종, 경쇄 골수종, 비-분비성 골수종, 무증상 골수종 (무통성 골수종으로도 칭해짐), 단발성 형질세포종, 및 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발상 세포 림프종; 골수 계통의 조혈 종양, 섬유육종 및 횡문근육종을 포함하는 중간엽 기원의 종양; 고환종, 기형암종, 중추 및 말초 신경의 종양 (성상세포종, 신경초종 포함); 섬유육종, 횡문근육종, 및 골육종을 포함하는 중간엽 기원의 종양; 및 흑색종, 색소성 건피증, 각질가시세포종, 고환종, 갑상선 소포성 암 및 기형암종, 림프 계통의 조혈 종양, 예를 들어 T-세포 장애 예컨대 T-전림프구성 백혈병 (T-PLL) (소세포 및 대세포양 세포 유형 포함)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 T-세포 및 B-세포 종양을 포함하는 기타 종양; 대형 과립 림프구 백혈병 (LGL), 바람직하게는 T-세포 유형; a/d T-NHL 간비장 림프종; 말초/흉선 후 T 세포 림프종 (다형성 및 면역모세포성 아유형); 혈관중심성 (비내) T-세포 림프종; 두경부암, 신장암, 직장암, 갑상선암; 급성 골수성 림프종, 뿐만 아니라 상기 암의 임의의 조합을 포함한다.

- [0156] 본원에 기재된 방법은 전이성 암, 절제불능성, 및/또는 불응성 암 (예를 들어, 이전의 면역요법, 예를 들어, 차단 CTLA-4 또는 PD-1 항체로의 요법에 불응성인 암), 및 재발성 암을 치료하는데 또한 사용될 수 있다.
- [0157] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법으로 치료될 환자는 진행성 고형 종양이 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 환자는 자궁경부암을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 결장직장암 (CRC)을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 방광암 (예를 들어, 절제불능성의 국소 진행성 또는 전이성 방광암)을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 난소암 (예를 들어, 절제불능성의 국소 진행성 또는 전이성 난소암)을 가진다.
- [0158] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 비-소세포 폐암 (NSCLC)을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 두경부의 편평세포 암종 (SCCHN)을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 B-세포 비-호지킨 림프종 (B-NHL)을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 골수종을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 흑색종을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 광범위 대형 B-세포 림프종 (DLBCL)을 가진다.
- [0159] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 자궁경부암을 가진다. 한 실시양태에서, 자궁경부암은 질환 진행이 문서화되어 있으면서 절제불능성, 전이성, 또는 재발성이다.
- [0160] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 신세포 암종을 가진다. 한 실시양태에서, 신세포 암종은 전이성 신세포 암종이다. 한 실시양태에서, 신세포 암종은 투명-세포 성분이 있는 신세포 암종이다.
- [0161] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 고환암을 가진다.
- [0162] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 결장직장암을 가진다. 한 실시양태에서, 결장직장암은 고도의 현미부수체 불안정성 (MSI-H) 결장직장암이다. 한 실시양태에서, 결장직장암은 현미부수체 안정적 결장직장암이다. 한 실시양태에서, 결장직장암은 미스매치 복구-결핍성 결장직장암이다.

- [0163] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 폐암을 가진다.
- [0164] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 두경부암을 가진다. 한 실시양태에서, 두경부암은 편평세포 암종이다.
- [0165] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 난소암을 가진다. 한 실시양태에서, 난소암은 절제불능성의 국소 진행성 난소암이다. 한 실시양태에서, 난소암은 전이성 난소암이다. 한 실시양태에서, 난소암은 재발성 백금-민감성 난소암이다.
- [0166] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법으로 치료 중인 환자는 선행 치료, 예를 들어, 면역-종양학 약물로의 선행 치료에 부적합한 반응을 나타낸 암을 가지거나, 또는 환자는 불응성이거나 저항성 (내인성으로 불응성 또는 저항성이거나, 또는 저항성 또는 불응성 상태가 후천적임)인 암을 가진다. 일부 실시양태에서, 환자는 이전에 면역-종양학 작용제, 예를 들어, PD-1 경로 길항제가 제공되지 않았다 (즉, 이러한 작용제로 치료되지 않았음).
- [0167] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법은 표준 관리 치료 (예를 들어, 수술, 방사선조사 및 화학요법)를 추가로 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 방법은 유지 요법, 예를 들어, 종양의 발생 또는 재발을 방지하도록 의도되는 요법으로서 수행될 수 있다.
- [0168] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 결합하는 효능작용 항체는 아주반트 요법으로서 대상체에게 제공된다. 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 결합하는 효능작용 항체는 1선, 2선 또는 3선 치료로서 사용된다.
- [0169] 일부 실시양태에서, 다른 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 결합하는 효능작용 항체는 단독요법으로서, 또는 유일한 면역자극 요법으로서 투여될 수 있다.
- [0170] 다른 실시양태에서, 다른 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 결합하는 효능작용 항체는, 하기 기재된 바와 같이, 조합 요법의 일부로서 투여될 수 있다.
- [0171] 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 면역-종양학 작용제, 예를 들어, 둘 다 면역 반응, 예컨대 항원-특이적 T 세포 반응을 증폭시키는 것을 초래하는, 면역 세포, 예컨대 T 세포 상의 (i) 면역자극 (예를 들어, 공동-자극) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 효능제 및/또는 (ii) 면역억제 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 길항제와 조합될 수 있다. 특정 측면에서, 면역-종양학 작용제는 선천 면역에서 수반되는 세포, 예를 들어, NK 세포 상에 존재하는 (i) 면역자극 (공동-자극 포함) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 효능제 또는 (ii) 면역억제 (공동-억제 포함) 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)의 길항제이다. 이같은 면역-종양학 작용제는 종종 면역 체크포인트 조절제, 예를 들어, 면역 체크포인트 억제제 또는 면역 체크포인트 자극제로 지칭된다.
- [0172] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 면역글로불린 슈퍼 패밀리의 (IgSF)의 구성원인 자극 또는 억제 분자를 표적화하는 작용제와 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA), 및 B7-H6을 포함하는 막-결합 리간드의 B7 패밀리의 구성원을 표적화하는 (또는 이에 특이적으로 결합하는) 작용제, 또는 B7 패밀리에 특이적으로 결합하는 공동-자극 또는 공동-억제 수용체와 함께 투여될 수 있다.
- [0173] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 TNF 및 TNFR 패밀리의 구성원인 분자 (리간드 또는 수용체), 예컨대 CD40 및 CD40L, GITR, GITR-L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137, TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDA1, EDA2, TNFR1, 림포톡신 α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, 림포톡신 α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, 및 NGFR (예를 들어, 문헌 [Tansey (2009) Drug Discovery Today 00:1] 참조)을 표적화하는 작용제와 함께 투여될 수도 있다.
- [0174] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 하기 작용제 중 하나 이상과 함께 투여된다:
- [0175] (1) T 세포 활성화를 억제하는 단백질 (예를 들어, 면역 체크포인트 억제제), 예컨대 상기 기재된 바와 같은 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, 및 LAG-3, 및 하기 단백질: TIM-3, 갈렉틴(Galectin) 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, 및 TIM-4 단백질

질 중 임의의 것의 길항제 (억제제 또는 차단제); 및/또는

- [0176] (2) T 세포 활성화를 자극하는 단백질, 예컨대 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, GITR, GITR-L, CD70, CD27, CD40, DR3 및 CD28H의 효능제.
- [0177] 암을 치료하기 위한 상기 단백질 중 하나를 조정하는 예시적인 작용제는 예르보이(Yervoy)TM (이필리무맙 (ipilimumab)) 또는 트레멜리무맙(Tremelimumab) (CTLA-4에 대한 것), 갈릭시맙(galiximab) (B7.1에 대한 것), BMS-936558 (PD-1에 대한 것), MK-3475 (PD-1에 대한 것), AMP224 (B7DC에 대한 것), BMS-936559 (B7-H1에 대한 것), MPDL3280A (B7-H1에 대한 것), MEDI-570 (ICOS에 대한 것), AMG557 (B7H2에 대한 것), MGA271 (B7H3에 대한 것), IMP321 (LAG-3에 대한 것), BMS-663513 (CD137에 대한 것), PF-05082566 (CD137에 대한 것), CDX-1127 (CD27에 대한 것), 아타시셉트(Atacicept) (TACI에 대한 것), CP-870893 (CD40에 대한 것), 루카투무맙 (Lucatumumab) (CD40에 대한 것), 다세투주맙(Dacetuzumab) (CD40에 대한 것), 무로모납(Muromonab)-CD3 (CD3에 대한 것), 이필리무맙(Ipilimumab) (CTLA-4에 대한 것)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 피딜리주맙 (CT-011)과 함께 투여된다.
- [0178] 암 치료를 위해 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체와 조합될 수 있는 기타 분자는 NK 세포 상의 억제 수용체의 길항제 또는 NK 세포 상의 활성화 수용체의 효능제, 예를 들어, KIR의 길항제 (예를 들어, 리릴루맙(lirilumab))를 포함한다.
- [0179] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인의 길항제 또는 T 세포 활성화를 자극하는 시토카인의 효능제와 함께 투여될 수 있다.
- [0180] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는, 면역 반응을 자극하기 위해, 예를 들어, 증식성 질환, 예컨대 암을 치료하기 위해, (i) T 세포 활성화를 억제하는 IgSF 패밀리의 또는 B7 패밀리의 또는 TNF 패밀리의 단백질의 길항제 (또는 억제제 또는 차단제) 또는 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인 (예를 들어, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF; "면역억제 시토카인")의 길항제 및/또는 (ii) T 세포 활성화를 자극하는 IgSF 패밀리의, B7 패밀리의 또는 TNF 패밀리의 또는 시토카인의 효능제와 조합되어 사용될 수 있다.
- [0181] 조합 요법을 위한 또 다른 작용제는 RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) 또는 FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357)를 포함하는 CSF-1R 길항제 예컨대 CSF-1R 길항제 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 대식세포 또는 단핵구를 억제하거나 고갈시키는 작용제를 포함한다.
- [0182] 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 TGF- β 신호전달을 억제하는 작용제와 함께 투여될 수도 있다.
- [0183] 조합 요법을 위한 추가적인 작용제는 종양 항원 제시를 증진시키는 작용제, 예를 들어, 수지상 세포 백신, GM-CSF를 분비하는 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오타이드, 및 이미퀴모드, 또는 종양 세포의 면역원성을 증진시키는 요법 (예를 들어, 안트라사이클린)을 포함한다.
- [0184] 조합 요법에서 사용하기 위한 또 다른 요법은 Treg 세포를 고갈시키거나 차단하는 요법, 예를 들어, CD25에 특이적으로 결합하는 작용제를 포함한다.
- [0185] 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체와 조합될 수 있는 또 다른 요법은 대사 효소 예컨대 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르기나제, 또는 산화질소 신축타제를 억제하는 요법이다.
- [0186] 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체와 함께 사용될 수 있는 작용제의 또 다른 클래스는 아데노신 형성을 억제하거나 또는 아데노신 A2A 수용체를 억제하는 작용제를 포함한다.
- [0187] 조합 요법에서 사용하기 위한 기타 요법은 T 세포 무반응 또는 소진을 역전시키는/방지하는 요법 및 종양 부위에서의 염증 및/또는 선천 면역 활성화를 촉발하는 요법을 포함한다.
- [0188] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 1개를 초과하는 면역-종양학 작용제와 조합될 수 있고, 예를 들어, 면역 경로의 다중 요소

를 표적화하는 조합형 접근법, 예컨대 하기 중 하나 이상과 조합될 수 있다: 종양 항원 제시를 증진시키는 요법 (예를 들어, 수지상 세포 백신, GM-CSF를 분비하는 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오타이드, 이미퀴모드); 예를 들어, CTLA-4 및/또는 PD1/PD-L1/PD-L2 경로를 억제하고/거나 Treg 또는 다른 면역 억제 세포를 고갈시키거나 차단함으로써, 음성 면역 조절을 억제하는 요법; 양성 면역 조절을 자극하는 요법, 예를 들어, CD-137 및/또는 GITR 경로를 자극하고/거나 T 세포 이펙터 기능을 자극하는 효능제; 전신적으로 항종양 T 세포의 빈도를 증가시키는 요법; 예를 들어, CD25의 길항제 (예를 들어, 다클리주맵)를 사용하여, 또는 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의해, Treg, 예컨대 종양 내의 Treg를 고갈시키거나 억제하는 요법; 종양 내의 억제인자 골수 세포의 기능에 영향을 미치는 요법; 종양 세포의 면역원성을 증진시키는 요법 (예를 들어, 안트라사이클린); 유전자 변형 세포, 예를 들어 키메라 항원 수용체에 의해 변형된 세포 (CAR-T 요법)를 포함하는 입양 T 세포 또는 NK 세포 전달; 대사 효소 예컨대 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르기나제 또는 산화질소 신체타제를 억제하는 요법; T 세포 무반응 또는 소진을 역전시키는/방지하는 요법; 종양 부위에서의 염증 및/또는 선천 면역 활성화를 촉발하는 요법; 면역 자극 시토카인의 투여; 또는 면역 억제 시토카인의 차단.

[0189] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 양성 공동-자극 수용체를 결찰시키는 효능작용 작용제, 억제 수용체를 통한 신호전달을 약화시키는 차단제, 길항제, 및 전신적으로 항종양 T 세포의 빈도를 증가시키는 하나 이상의 작용제, 종양 미세환경 내에서의 별도의 면역 억제 경로를 극복하는 (예를 들어, 억제 수용체 결속 (예를 들어, PD-L1/PD-1 상호작용)을 차단하거나, Treg를 고갈시키거나 억제하거나 (예를 들어, 항-CD25 모노클로날 항체 (예를 들어, 다클리주맵)를 사용하여 또는 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의해), 대사 효소 예컨대 IDO를 억제하거나, 또는 T 세포 무반응 또는 소진을 역전시키는/방지하는) 작용제, 종양 부위에서의 염증 및/또는 선천 면역 활성화를 촉발하는 작용제 중 하나 이상과 함께 사용될 수 있다.

[0190] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 대상체가 BRAF V600 돌연변이 양성인 경우 BRAF 억제제와 함께 대상체에게 투여된다.

[0191] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 또 다른 면역자극 항체, 예컨대 길항작용 항-PD1 항체, 길항작용 항-PDL1 항체, 길항작용 항-CTLA4 항체, 길항작용 항-LAG3 항체와 함께 투여되고, 항-OX40 항체는 또 다른 면역자극 항체와 함께 투여된다. 특정 실시양태에서, 조합 요법은 효능작용 항-OX40 항체 및 길항작용 항-PD1 항체를 포함한다.

[0192] 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한 적절한 PD-1 길항제는, 비제한적으로, 리간드, 항체 (예를 들어, 모노클로날 항체 및 이중특이적 항체), 및 다가 작용제를 포함한다. 한 실시양태에서, PD-1 길항제는 융합 단백질, 예를 들어, Fc 융합 단백질, 예컨대 AMP-244이다. 한 실시양태에서, PD-1 길항제는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체이다. 예시적인 항-PD-1 항체는 니볼루맵 (BMS-936558) 또는 WO 2006/121168에 기재된 항체 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 및 4A11 중 하나의 CDR 또는 가변 영역을 포함하는 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-PD1 항체는 WO2012/145493에 기재된 MK-3475 (람브롤리주맵(Lambrolizumab)); 및 WO 2012/145493에 기재된 AMP-514이다. 추가의 공지된 PD-1 항체 및 기타 PD-1 억제제는 WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, 미국 특허 번호 7,635,757 및 8,217,149, 및 미국 특허 공개 번호 2009/0317368에 기재된 것들을 포함한다. WO2013/173223에 개시된 항-PD-1 항체 중 임의의 것이 또한 사용될 수 있다. 이러한 항체들 중 하나와 PD-1 상의 동일한 에피토프에 결합하고/거나 결합에 대해 경쟁하는 항-PD-1 항체 또한 조합 치료에서 사용될 수 있다. PD-1 수용체를 표적화하는 또 다른 접근법은 AMP-224로 칭해지는, IgG1의 Fc 부분에 융합된 PD-L2 (B7-DC)의 세포외 도메인으로 구성된 재조합 단백질이다. 특정 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와의 가변 영역 아미노산 서열 동일성이 적어도 약 90%이다.

[0193] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체 예컨대 TNF 및 TNFR 패밀리의 분자 (예를 들어, OX40)에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 각각 서열식별번호: 16 및 17에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 니볼루맵, 또는 그의 항원 결합 단편 및 변이체와 조합되어 사용된다. 특정 실시양태에서, 항체는 니볼루맵의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 갖는다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 18에 기재된 서열을 갖는 니볼루맵의 VH의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 19에 기재된 서열을 갖는 니볼루맵의 VL의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 20-22에 기재된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 각각 서열식별번호: 23-25에 기재된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 18 및/또는 서열식별번호: 19에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 VL 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 18 및/또는 서열식별번호: 19와의 가변 영역 동일성이 적어도 약 90%, 예를 들어, 적어도 약 90%, 95%,

또는 99%이다.

- [0194] 예시적인 항-PD-L1 항체는 BMS-936559 (WO 2007/005874 및 미국 특허 번호 7,943,743에서 12A4로 지칭됨), 또는 PCT 공개 WO 07/005874 및 미국 특허 번호 7,943,743에 기재된 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 및 13G4의 CDR 또는 가변 영역을 포함하는 항체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MEDI4736 (일명 항-B7-H1), MPDL3280A (일명 RG7446), MSB0010718C (WO2013/79174), 또는 rHigM12B7이다. WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, 미국 특허 번호 7,635,757 및 8,217,149 및 미국 공개 번호 2009/145493에 개시된 항-PD-L1 항체 중 임의의 것이 또한 사용될 수 있다.
- [0195] 예시적인 항-CTLA-4 항체는 예르보이™ (이필리무맙 또는 항체 10D1 - PCT 공개 WO 01/14424에 기술됨), 트레멜리무맙 (기존의 티실리무맙(ticilimumab), CP-675,206), 또는 간행물 WO 98/42752; WO 00/37504; 미국 특허 번호 6,207,156; 문헌 [Hurwitz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(17):10067-10071]; [Camacho et al. (2004) J. Clin. Oncology 22(145): Abstract No. 2505] (항체 CP-675206); 및 [Mokyr et al. (1998) Cancer Res. 58:5301-5304] 중 임의의 것에 기재된 항-CTLA-4 항체를 포함한다. WO2013/173223에 개시된 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것이 또한 사용될 수 있다.
- [0196] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체는 이필리무맙과 조합되어 사용된다. 특정 실시양태에서, 항체는 이필리무맙의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 갖는다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 26에 기재된 서열을 갖는 이필리무맙의 VH의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 27에 기재된 서열을 갖는 이필리무맙의 VL의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 28-30에 기재된 서열을 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 각각 서열식별번호: 31-33에 기재된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 26 및/또는 서열식별번호: 27에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 VL 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 26 또는 서열식별번호: 27에 대한 가변 영역 동일성이 적어도 약 90%, 예를 들어, 적어도 약 90%, 95%, 또는 99%이다.
- [0197] 예시적인 항-LAG3 항체는 미국 특허 공개 번호 US2011/0150892, WO10/19570 및 WO2014/008218에 기재된 항체 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 또는 17E5의 CDR 또는 가변 영역을 포함하는 항체를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 관련 분야에서 인식되는 사용될 수 있는 다른 항-LAG-3 항체는 US 2011/007023, WO08/132601, 및 WO09/44273에 기재된 IMP731 및 IMP-321을 포함한다.
- [0198] 특정 실시양태에서, 본원에서 논의된 치료 항체의 조합물은 제약상 허용되는 담체 내의 단일 조성물로서 공동으로, 또는 각각의 항체가 제약상 허용되는 담체 내에 있는 별도의 조성물들로서 공동으로 투여될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 치료 항체의 조합물은 순차적으로 투여될 수 있다. 또한, 조합 요법의 1회 초과 용량이 순차적으로 투여되는 경우, 순차적 투여의 순서는 각각의 투여 시점에 역전되거나 또는 동일한 순서로 유지될 수 있고, 순차적 투여는 공동 투여 또는 그의 임의의 조합과 조합될 수 있다.
- [0199] 특정 실시양태에서, 면역계의 자극이 이로울 수 있는 질환, 예를 들어, 암 또는 감염성 질환을 가진 대상체가 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 면역-종양학 작용제의 투여에 의해 치료된다. 예시적인 면역-종양학 작용제는 CD137 (4-1BB) 효능제 (예를 들어, 효능작용 CD137 항체 예컨대 우렐루맙 또는 PF-05082566 (WO12/32433)); GITR 효능제 (예를 들어, 효능작용 항-GITR 항체), CD40 효능제 (예를 들어, 효능작용 CD40 항체); CD40 길항제 (예를 들어, 길항작용 CD40 항체 예컨대 루카투무맙 (HCD122), 다세투주맙 (SGN-40), CP-870,893 또는 카이 롱(Chi Lob) 7/4); CD27 효능제 (예를 들어, 효능작용 CD27 항체 예컨대 바를리루맙 (CDX-1127)), MGA271 (B7H3에 대한 것) (WO11/109400)); KIR 길항제 (예를 들어, 리릴루맙); IDO 길항제 (예를 들어, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), 인독시모드, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) 또는 F001287); 톨(Toll)-유사 수용체 효능제 (예를 들어, TLR2/4 효능제 (예를 들어, 바실루스 칼메트-게랑); TLR7 효능제 (예를 들어, 힐토놀(Hiltonol) 또는 이미퀴모드(Imiquimod)); TLR7/8 효능제 (예를 들어, 레시퀴모드(Resiquimod)); 또는 TLR9 효능제 (예를 들어, CpG7909)); 및 TGF- β 억제제 (예를 들어, GC1008, LY2157299, TEW7197, 또는 IMC-TR1)를 포함한다.
- [0200] 임의적으로, 단독 면역치료제로서의 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체, 또는 효능작용 항체 및 하나 이상의 추가적인 면역치료 항체 (예를 들어, 항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 및/또는 항-LAG-3 차단)의 조합물이 면역원성 작용제, 예컨대 암성 세포, 정제된 종양 항원 (제조합 단백질, 펩티드 및 탄수화물 분자 포함), 세포, 및 면역 자극 시토카인을 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포와 추가로 조합될 수 있다 (He et al. (2004) J. Immunol. 173:4919-28). 사용될 수 있는 종양 백신의 비-제한적인 예는 흑색종 항

원의 펩티드, 예컨대 gp100, MAGE 항원, Trp-2, MART1 및/또는 티로시나제의 펩티드, 또는 시토카인 GM-CSF를 발현하도록 형질감염된 종양 세포 (하기에 추가로 논의됨)를 포함한다. 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 하나 이상의 추가적인 항체 (예를 들어, CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단)의 조합물은 추가로 표준 암 치료와 조합될 수도 있다. 예를 들어, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 하나 이상의 추가적인 항체 (예를 들어, CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단)의 조합물은 화학요법 레지멘과 효과적으로 조합될 수 있다. 이러한 예에서, 조합물과 함께 투여되는 다른 화학요법 시약의 용량이 감소될 수 있다 (Mokyr et al. (1998) Cancer Research 58: 5301-5304). 예를 들어, 흑색종의 치료를 위해 이같은 조합물은 추가적인 항체 (예를 들어, 항-CTLA-4 항체 및/또는 항-PD-1 항체 및/또는 항-PD-L1 항체 및/또는 항-LAG-3 항체)의 존재 또는 부재 하에 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체를 추가로 데카르바진 또는 인터루킨-2 (IL-2)와 조합하여 포함할 수 있다. 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 + CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단을 화학요법과 조합하는 것의 과학적 근거는 대부분의 화학요법 화합물의 세포독성 작용의 결과인 세포 사멸이 항원 제시 경로에서 종양 항원의 수준 증가를 초래하여야 한다는 것이다. 세포 사멸을 통해 CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단의 존재 또는 부재 하에 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체의 조합물과의 상승작용을 초래할 수 있는 다른 조합 요법은 방사선 조사, 수술, 또는 호르몬 고갈을 포함한다. 이러한 프로토콜 각각은 숙주에서 종양 항원의 공급원을 생성시킨다. 혈관형성 억제제 또한 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단의 조합물과 조합될 수 있다. 혈관형성의 억제는 숙주 항원 제시 경로 내로 공급된 종양 항원의 공급원일 수 있는 종양 세포 사멸에 이른다.

[0201] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체가 단독 면역치료제로서 사용될 수 있거나, 또는 항-OX40 항체 및 CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단 항체의 조합물이 Fc α 또는 Fc γ 수용체-발현 이펙터 세포를 종양 세포에 표적화하는 이중특이적 항체와 조합되어 사용될 수도 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,922,845 및 5,837,243 참조). 이중특이적 항체는 2개의 별도의 항원을 표적화하는데 사용될 수 있다. 이러한 반응의 T 세포 아군이 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단의 조합물을 사용하는 것에 의해 증대될 것이다.

[0202] 또 다른 예에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체가 단독 면역치료제로서 이용될 수 있거나, 또는 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 추가적인 면역자극제, 예를 들어, 길항작용 항-CTLA-4 항체 및/또는 길항작용 항-PD-1 항체 및/또는 길항작용 항-PD-L1 항체 및/또는 길항작용 LAG-3 작용제 (예를 들어, 항체)의 조합물이 항-신생물 항체, 예컨대 리툭산(Rituxan)® (리툭시맵), 헤르셉틴(Herceptin)® (트라스투주맵), 벡사르(Bexxar)® (토시투모맵), 제발린(Zevalin)® (이브리투모맵), 캄파스(Campath)® (알렘투주맵), 림포사이드(Lymphocide)® (에프르투주맵), 아바스틴(Avastin)® (베바시주맵), 및 타르세바(Tarceva)® (에를로티닙) 등과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 그리고 이론에 의해 제한되기를 원치 않으면서, 항암 항체 또는 독소에 접합된 항암 항체로의 치료는 암세포 사멸 (예를 들어, 종양 세포)에 이를 수 있고, 이는 면역자극제 (예를 들어, 길항작용 CTLA-4, PD-1, PD-L1 또는 LAG-3 작용제, 예를 들어, 항체)에 의해 매개되는 면역 반응을 강화할 것이다. 예시적인 실시양태에서, 과다증식성 질환 (예를 들어, 암 종양)의 치료는 공동으로 또는 순차적으로 또는 그의 임의의 조합으로 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 임의적으로는 추가적인 면역자극제, 예를 들어, 길항작용 항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 및/또는 항-LAG-3 작용제 (예를 들어, 항체)와 조합된 항암제 (예를 들어, 항체)를 포함할 수 있고, 이는 숙주에 의한 항종양 면역 반응을 강화할 수 있다.

[0203] 종양은 광범위한 메카니즘에 의해 숙주의 면역 감시를 피한다. 종양에 의해 발현되고 면역억제성인 단백질의 불활성화에 의해 이러한 메카니즘 중 다수가 극복될 수 있다. 이는, 특히, TGF- β (Kehrl et al. (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050), IL-10 (Howard & O'Garra (1992) Immunology Today 13: 198-200), 및 Fas 리간드 (Hahne et al. (1996) Science 274: 1363-1365)를 포함한다. 면역억제제의 효과에 대항하고, 숙주에 의한 항종양 면역 반응에 유리하도록 이러한 엔티티 각각에 대한 항체를 추가적인 면역자극제, 예를 들어, 길항작용 항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 및/또는 항-LAG-3 작용제, 예컨대 항체의 존재 또는 부재 하에 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체와 추가로 조합할 수 있다.

[0204] 숙주 면역 반응을 활성화하는데 사용될 수 있는 다른 작용제 (예를 들어, 항체)가 추가적인 면역자극제, 예컨대 길항작용 항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 및/또는 항-LAG-3 항체의 존재 또는 부재 하에 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체와 조합되어 추가로 사용될 수 있다. 이는 DC 기능 및 항원 제시

를 활성화하는 수지상 세포의 표면 상의 분자를 포함한다. 항-CD40 항체 (상기 문헌 [Ridge et al.])가 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 임의적으로는 추가적인 면역자극제, 예를 들어, 항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 및/또는 항-LAG-3 작용제, 예를 들어, 항체와 조합되어 사용될 수 있다. T 세포 공동-자극에 대한 다른 활성화 항체 (상기 문헌 [Weinberg et al.], 상기 문헌 [Melero et al.], 상기 문헌 [Hutloff et al.]) 또한 증가된 수준의 T 세포 활성화를 제공할 수 있다.

[0205] 상기 논의된 바와 같이, 조혈 기원의 다양한 종양을 치료하기 위해 골수 이식이 현재 사용되고 있다. 단독이거나 또는 CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단과 조합된 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체가 공여자의 생착된 종양 특이적 T 세포의 유효성을 증가시키는데 사용될 수 있다.

[0206] 여러 실험적 치료 프로토콜이 종양에 대한 항원-특이적 T 세포를 위해 항원 특이적 T 세포의 생체외 활성화 및 확장 및 이러한 세포의 수용자 내로의 입양 전달을 수반한다 (상기 문헌 [Greenberg & Riddell]). 이러한 방법은 감염체 예컨대 CMV에 대한 T 세포 반응을 활성화시키는데 또한 사용될 수 있다. 추가적인 면역자극 요법, 예를 들어, 길항작용 항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1 및/또는 항-PD-L1 및/또는 항-LAG-3 항체가 수반된 또는 수반되지 않은 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체의 존재 하의 생체외 활성화는 입양 전달된 T 세포의 빈도 및 활성을 증가시킬 것으로 예상될 수 있다.

[0207] 본원에 기재된 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 조합 항체 항체 요법은 추가적인 치료, 예컨대 방사선 조사, 화학요법 (예를 들어, 캄프토테신 (CPT-11), 5-플루오로우라실 (5-FU), 시스플라틴, 독소루비신, 이리노테칸, 파클리탁셀, 젠시타빈, 시스플라틴, 파클리탁셀, 카르보플라틴-파클리탁셀 (탁솔 (Taxol)), 독소루비신, 5-fu, 또는 캄프토테신 + apo21/TRAIL (6X 콤보)을 사용함), 하나 이상의 프로테아솜 억제제 (예를 들어, 보르테조미 또는 MG132), 하나 이상의 Bcl-2 억제제 (예를 들어, BH3I-2' (bcl-x1 억제제), 인돌아민 디옥시게나제-1 억제제 (예를 들어, INCB24360, 인독시모드, NLG-919, 또는 F001287), AT-101 (R(-)-고시폴 유도체), ABT-263 (소형 분자), GX-15-070 (오바토클락스), 또는 MCL-1 (골수성 백혈병 세포 분화 단백질-1) 길항제), iAP (아포토시스 단백질의 억제제) 길항제 (예를 들어, smac7, smac4, 소형 분자 smac 모방체, 합성 smac 펩티드 (문헌 [Fulda et al., Nat Med 2002;8:808-15] 참조), ISIS23722 (LY2181308), 또는 AEG-35156 (GEM-640)), HDAC (히스톤 데아세틸라제) 억제제, 항-CD20 항체 (예를 들어, 리툽시맵), 혈관형성 억제제 (예를 들어, 베바시주맵), VEGF 및 VEGFR을 표적화하는 항-혈관형성 작용제 (예를 들어, 아바스틴 (Avastin)), 합성 트리테르페노이드 (문헌 [Hyer et al., Cancer Research 2005;65:4799-808] 참조), c-FLIP (세포성 FLICE-억제 단백질) 조절제 (예를 들어, PPAR γ (퍼옥시솜 증식제-활성화 수용체 γ)의 천연 및 합성 리간드, 5809354 또는 5569100), 키나제 억제제 (예를 들어, 소라페닙 (Sorafenib)), 트라스투주맵 (Trastuzumab), 세툽시맵 (Cetuximab), 템시롤리무스 (Temsilolimus), mTOR 억제제, 예컨대 라파마이신 및 템시롤리무스, 보르테조미 (Bortezomib), JAK2 억제제, HSP90 억제제, PI3K-AKT 억제제, 레날리도미드 (Lenalidomide), GSK3 β 억제제, IAP 억제제 및/또는 유전자독성 약물과 조합되어 (예를 들어, 동시에 또는 별도로) 사용될 수 있다.

[0208] 본원에 기재된 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 및 조합 항체 요법은 추가로 하나 이상의 항-증식 세포독성제와 조합되어 사용될 수 있다. 항-증식 세포독성제로서 사용될 수 있는 화합물의 클래스는 하기를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다:

[0209] 알킬화제 (비제한적으로, 질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠을 포함함): 우라실 머스타드, 클로르메틴, 시클로포스파미드 (시톡산 (CYTOXAN)TM) 포스포미드, 멜팔란, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포르아민, 부술판, 카르무스틴, 로무스틴, 스트렙토조신, 데카르바진, 및 테모졸로미드.

[0210] 항대사물질 (비제한적으로, 엽산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제를 포함함): 메토타렉세이트, 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-메르캅토피리딘, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴, 및 젠시타빈.

[0211] 항증식제: 관련 분야에 공지되어 있는 다른 마이크로튜불린 안정화제에 더하여, 탁산, 파클리탁셀 (파클리탁셀은 탁솔 (TAXOL)TM로서 상업적으로 입수가 가능함), 도세탁셀, 디스코데르몰리드 (DDM), 덕티오스타틴 (DCT), 펠로루시드 (Peloruside) A, 에포틸론, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 에포틸론 C, 에포틸론 D, 에포틸론 E, 에포틸론 F, 푸라노에포틸론 D, 데스옥시에포틸론 B1, [17]-데히드로데스옥시에포틸론 B, [18] 데히드로데스옥시에포틸론 B, C12,13-시클로프로필-에포틸론 A, C6-C8 가교 에포틸론 A, 트랜스-9,10-데히드로에포틸론 D, 시스-9,10-데히드로에포틸론 D, 16-데스메틸에포틸론 B, 에포틸론 B10, 디스코데르몰리드, 파투필론 (EPO-906), KOS-862, KOS-

1584, ZK-EPO, ABJ-789, XAA296A (디스코테르몰리드(Discodermolide)), TZT-1027 (소블리도틴), ILX-651 (타시도틴 히드로클로라이드), 할리콘드린(Halichondrin) B, 에리불린(Eribulin) 메실레이트 (E-7389), 헤미아스테를린(Hemiasterlin) (HTI-286), E-7974, 크립토피신(Cryptophycin), LY-355703, 메이탄시노이드(Maytansinoid) 면역접합체 (DM-1), MKC-1, ABT-751, T1-38067, T-900607, SB-715992 (이스피네십), SB-743921, MK-0731, STA-5312, 엘레우테로빈, 17베타-아세톡시-2-에톡시-6-옥소-B-호모-에스트라-1,3,5(10)-트리엔-3-올, 시클로스트렙틴, 이소라울리말리드, 라울리말리드, 4-에피-7-데히드록시-14,16-디데메틸-(+)-디스코테르몰리드, 및 크립토틸론 1을 비제한적으로 포함함.

[0212] 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체로의 치료와 함께 또는 이러한 치료 전에, 비정상적으로 증식성인 세포를 휴지기로 만드는 것이 바람직한 경우에, 호르몬 및 스테로이드 (합성 유사체 포함), 예컨대 17 α -에티닐에스트라디올, 디에틸stil베스트롤, 테스토스테론, 프레드니손, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토락톤, 메게스트롤아세이트, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론아세이트, 류프롤리드, 플루타미드, 테레미펜, 졸라덱스(ZOLADEX)TM를 환자에게 투여할 수도 있다. 본원에 기재된 방법 또는 조성물을 이용할 때, 임상 환경에서 종양 성장 또는 전이의 조절에서 사용되는 다른 작용제, 예컨대 항-모방체를 원하는대로 투여할 수도 있다.

[0213] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, 항-OX40 항체 예컨대 OX40.21)는 암, 예를 들어, 결장직장암 또는 방광암을 가진 환자를 치료하기 위해 니볼루맵과 조합되어 (공동으로 또는 별도로) 투여된다.

[0214] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, 항-OX40 항체 예컨대 OX40.21)는 암, 예를 들어, 난소암, 방광암 또는 전립선암을 가진 환자를 치료하기 위해 이필리루맵과 조합되어 (공동으로 또는 별도로) 투여된다.

[0215] 화학요법제의 안전하고 효과적인 투여를 위한 방법이 관련 분야의 기술자에게 공지되어 있다. 추가적으로, 이들의 투여가 표준 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 다수의 화학요법제의 투여가 문헌 [Physicians' Desk Reference (PDR), (Medical Economics Company, Montvale, N.J. 07645-1742, USA)], 예를 들어, 1996판에 기재되어 있으며; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0216] 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법은 관련 분야에 널리 공지되어 있는 치료 프로토콜에 따라 투여될 수 있다. 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법의 투여가 치료 중인 질환 및 이러한 질환에 대한 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법의 공지된 효과에 따라 변할 수 있다는 것이 관련된 분야의 기술자에게 명백할 것이다. 또한, 숙련된 실무자의 지식에 따라, 치료 프로토콜 (예를 들어, 투여량의 양 및 투여 시간)이 환자 상에서의 투여된 치료제의 관찰된 효과의 관점에서, 그리고 투여된 치료제에 대한 질환의 관찰된 반응의 관점에서 변할 수 있다.

[0217] II. 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체

[0218] 본원에 기재된 방법 (조합 요법 포함)에서 사용하기에 적절한 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 새롭게 개발된 효능작용 항체, 뿐만 아니라 관련 분야에 공지되어 있는 효능작용 항체 (이러한 항체와 경쟁하거나 또는 이와 동일한 에피토프에 결합하는 항체 포함)를 포함한다. 면역자극 수용체를 표적화하는 새로운 효능작용 항체를 표준 항체 생산 및 스크리닝 기술을 사용하여 획득할 수 있고, 관련 분야에서 인정되는 검정을 사용하여 효능제 활성에 대해 테스트할 수 있다.

[0219] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한 적절한 효능작용 항체는 면역자극 수용체에 결합하여 면역자극 수용체 및 그의 하류 신호전달 경로(들)를 활성화시키고, 이에 의해 면역 반응을 자극한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 항체의 포화-근접 또는 포화 농도 (예를 들어, >80% R0를 초래하는 농도)가 기능적인 시험관내 (예를 들어, 시토키인 생산, 증식 검정, 수용체의 표면 발현) 및/또는 생체내 검정 (예를 들어, 항종양 효능)에서 80%-미만 R0를 초래하는 농도에 비교하여 효능 감소를 초래하는 "후크 효과"를 나타낸다.

[0220] 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 공동-자극 수용체, 예를 들어, 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리(TNFRSF)의 구성원, ICOS (CD278), CD28, LIGHT, CD40L, TIM1, SLAM, CD1, CD2, CD226, LFA-1 (CD11A, CD18), CD5, CD7, CD30, CD54, CD97, CD154, CD160, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, 및 TGF- β 로 이루어진 군으로부터 선택된 공동-자극 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한 공동-자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 "후크 효과"를 나타낸다.

- [0221] 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 TNFRSF의 구성원, 예를 들어, TNFR1, TNFR2, HVEM, LT β R, OX40 (CD134/TNFRSF4), CD27 (TNFRSF7), CD40, FAS, DCR3, CD30, 4-1BB, TRAILR1, TRAILR2, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, FN14, TACI, BAFFR, BCMA, GITR, TROY, DR3 (사멸 수용체 3), DR6 (사멸 수용체 6), XEDAR (엑토디스플라신 A2 수용체), 및 NGFR로 이루어진 군으로부터 선택된 수용체에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한 TNFRSF의 구성원에 결합하는 효능작용 항체는 "후크 효과"를 나타낸다.
- [0222] 일부 실시양태에서, OX40에 특이적으로 결합하는 효능작용 항체, 예를 들어, 효능작용 항-OX40 항체는 "후크 효과"를 나타낸다. 예시적인 효능작용 항-OX40 항체는 MEDI6469, MEDI0562, PF-04518600, MOXR0916, GSK3174998, RG-7888 (본레롤리주맵), INCAGN-1949, 및 WO2016/196228 (예를 들어, OX40.21); WO/1995/012673; WO199942585; WO/2014/148895; WO15153513; WO15153514; WO/2013/038191; WO2016057667; WO03106498; WO12027328; WO13028231; WO2016200836; WO 17063162; WO17134292; WO 17096179; WO 17096281; WO 17096182 (각각의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 항체이다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 하기 특성을 나타낸다:
- [0223] (a) 막-결합 인간 OX40에 결합하고, 예를 들어, FACS에 의해 측정 시, 예를 들어, 1 nM 이하 (예를 들어, 0.01 nM 내지 1 nM)의 EC₅₀으로 결합함;
- [0224] (b) 시노물구스 OX40에 결합하고, 예를 들어, FACS에 의해 측정 시, 예를 들어, 10 nM 이하 (예를 들어, 0.01 nM 내지 10 nM)의 EC₅₀으로 막-결합 시노물구스 OX40에 결합함;
- [0225] (c) 가용성 인간 OX40에 결합하고, 예를 들어, BIACORE® SPR 분석에 의해 측정 시, 예를 들어, 10 nM 이하 (예를 들어, 0.01 nM 내지 10 nM)의 K_D로 결합함;
- [0226] (d) (i) OX40-발현 T 세포에서의 IL-2 및/또는 IFN- γ 생산 증가 및/또는 (ii) 증진된 T 세포 증식에 의해 증명되는 바와 같이, T 세포 활성화를 유도하거나 또는 증진시킴; 및
- [0227] (e) OX40 리간드가 OX40에 결합하는 것을 억제하고, 예를 들어, hOX40-293 세포로의 검정에서, 예를 들어, FACS에 의해 측정 시 1 nM 이하의 EC₅₀으로 억제함.
- [0228] 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 Fc 수용체, 예를 들어, Fc γ 수용체에 결합한다.
- [0229] 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 다가 가교를 통해 T 세포 활성화를 유도하거나 또는 증진시킨다.
- [0230] 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는, 예를 들어, 종양에서, 예를 들어, T_{eff} 세포를 활성화시키므로써, Treg 세포에 의한 T-이펙터 세포의 억제를 제한함으로써, 종양 Treg 세포를 고갈시키고/거나 억제함으로써, 및/또는 NK 세포를 활성화시키므로써, 면역 반응을 자극하거나 또는 증진시킬 수 있다. 예를 들어, 효능작용 항-OX40 항체는, 예를 들어, 증진된 시토카인 (예를 들어, IL-2 및 IFN- γ) 분비 및/또는 증진된 증식에 의해 증명되는 바와 같이 T_{eff} 세포를 활성화시키거나 또는 공동-자극할 수 있다. 특정 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는, 예를 들어, 1차 인간 T 세포 또는 인간 OX40을 발현하는 T 세포 상에서 측정 시, IL-2 분비를 50%, 100% (즉, 2배), 3배, 4배, 5배 이상의 인자만큼, 임의적으로는 10배, 30배, 100배 이하의 최대값으로 증가시킨다. 특정 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는, 예를 들어, 1차 인간 T 세포 또는 인간 OX40을 발현하는 T 세포 상에서 측정 시, IFN- γ 분비를 50%, 100% (즉, 2배), 3배, 4배, 5배 이상의 인자만큼, 임의적으로는 10배, 30배, 100배 이하의 최대값으로 증가시킨다.
- [0231] 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 인간 보체의 C1q 성분에 결합한다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 활성화된 CD4+ T 세포의 NK 세포-매개 용해를 유도한다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 OX40 발현 세포의 대식세포-매개 포식작용을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 CD4+ T 세포 증식의 조절 T 세포-매개 억제를 억제한다.
- [0232] 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 인간 및 시노물구스 OX40 둘 다에 결합한다.
- [0233] 일부 실시양태에서, 효능작용 항-OX40 항체는 인간 OX40 내의 서열 DVVSSKPKPCTWCNLR (서열식별번호: 15) 전체 또는 그의 일부분에 결합한다.
- [0234] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에서 사용되는 효능작용 항-OX40 항체는 OX40.21이다. OX40.21의 중쇄 및 경쇄 서열, 가변 영역 서열, 및 CDR 서열이 하기에서 제공된다.

[0235] 표 2. OX40.21 서열의 요약

SEQ ID	OX40.21 서열	
5	VHCDR1	SYAMY
6	VHCDR2	AIDTDAGTFYADSVRG
7	VHCDR3	LGEGYFFDY
8	VLCDR1	RASQSVSSYLA
9	VLCDR2	DASNRAT
10	VLCDR3	QQRSNWPPT
11	VH	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAIDTDAGTFYADSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARLGEGYFFDYWGQGTLVTVSS
12	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGGGTKVEIK
13	HC	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAIDTDAGTFYADSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARLGEGYFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPCPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
14	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGGGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0236]

[0237]

따라서, 일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각 서열식별번호: 11 및 12의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 내에 있는 3개의 가변 중쇄 CDR 및 3개의 가변 경쇄 CDR을 포함한다.

[0238]

일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각 서열식별번호: 5-7을 포함하는 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및/또는 각각 서열식별번호: 8-10을 포함하는 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다.

[0239]

일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각 서열식별번호: 5-7로 이루어지는 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및/또는 각각 서열식별번호: 8-10로 이루어지는 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다.

[0240]

일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각 서열식별번호: 11 및 12에 기재된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0241]

일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각 서열식별번호: 13 및 14에 기재된 중쇄 및 경쇄 서열을 포함한다.

[0242]

면역자극 수용체에 결합하는 예시적인 효능작용 항체는 항-4-1BB 항체 (예를 들어, 우렐루맵 (BMS-663513) 및 PF-05082566), 항-GITR 항체 (예를 들어, TRX518, MK-4166, MK-1248, GWN323, 및 WO2017087678 (이의 내용은 전문이 본원에 참고로 포함됨)에 개시된 항체), 항-CD27 항체 (예를 들어, 바블리루맵 (CDX-1127)), 항-ICOS 항체 (예를 들어, MEDI-570, GSK3359609, JTX-2011), 항-DR3 항체 (예를 들어, PTX-25), 및 항-CD40 항체 (예를 들어, CP-870,893, 다세투주맵, 카이 롱 7/4, 루카투무맵, APX005M, ADC-1013, JNJ-64457107, SEA-CD40), 뿐만 아니라 이러한 항체와 경쟁하고/거나 이러한 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다.

[0243]

바람직하게는, 효능작용 항체는 면역자극 수용체에 높은 친화도로, 예를 들어, 10^{-7} M 이하, 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-11} M 이하, 10^{-12} M 이하, 10^{-12} M 내지 10^{-7} M, 10^{-11} M 내지 10^{-7} M, 10^{-10} M 내지 10^{-7} M, 또는 10^{-9} M 내지 10^{-7} M의 K_D 로 결합한다.

[0244]

일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 항체이다. 특정 실시양태에서, 항체는 IgG1 항-OX40 항체, 예를 들어, OX40.21이다.

[0245]

특정 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 항체의 특성을 변경시키는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 효능작용 항체는 변형되지 않은 중쇄 불변 영역이 있는 항체에 비교하여 항체의

활성을 변경시키는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 효능작용 항체는 이펙터 기능을 증진시키는 중쇄 불변 영역 내의 변형이 있다. 다른 실시양태에서, 효능작용 항체는 이펙터 기능을 감소시키는 중쇄 불변 영역 내의 변형이 있다. 예를 들어, (a) 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 증가 또는 감소시키고/거나, (b) 보체 매개 세포독성 (CDC)을 증가 또는 감소시키고/거나, (c) C1q에 대한 친화도를 증가 또는 감소시키고/거나, (d) 모체 Fc에 비교하여 Fc 수용체에 대한 친화도를 증가 또는 감소시키고/시키기 위해, Fc 영역에서의 변형이 이루어질 수 있다. 이러한 특색이 있는 변이체 Fc 영역을 생성시키도록 이루어질 수 있는 구체적인 변형 (예를 들어, 아미노산 치환(들))이 관련 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, WO2016/196228에 요약되어 있다.

[0246] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 인간, 인간화, 또는 키메라 항체이다.

[0247] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 이중특이적 항체이다.

[0248] 일부 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 검출가능한 표지 (예를 들어, 방사성 동위원소, 형광 표지, 효소 및 다른 적절한 항체 태그) 또는 항암제 (예를 들어, 항-대사산물, 알킬화제, DNA 마이너 그루브 결합제, DNA 인터칼레이터, DNA 가교제, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 핵 외수송 억제제, 프로테아솜 억제제, 토포이소머라제 I 또는 II 억제제, 열 충격 단백질 억제제, 티로신 키나제 억제제, 항생제, 및 항-유사분열제)와 같은 모이어티에 접합된 면역접합체이다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 항체-약물 접합체 (ADC)이다.

[0249] III. 조성물

[0250] 본원에 기재된 방법에서 사용하기 위한, 제약상 허용되는 담체와 함께 제형된 면역자극 수용체 (예를 들어, OX40)에 결합하는 효능작용 항체를 함유하는 조성물, 예를 들어, 제약 조성물이 본원에서 또한 제공된다.

[0251] 본원에 기재된 제약 조성물은 단독요법으로서, 또는 조합 요법, 예를 들어, 본원에 기재된 조합 요법으로서 투여될 수 있다. 예를 들어, 조합 요법은 적어도 하나의 다른 항암 및/또는 T-세포 자극 (예를 들어, 활성화) 작용제와 조합된 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체의 투여를 포함할 수 있다. 조합 요법에서 사용될 수 있는 치료제의 예는 상기에 상세하게 기재되어 있다.

[0252] 본원에서 사용된 바와 같이, "제약상 허용되는 담체"는 생리학적으로 상용성인 임의의 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항균 및 항진균 작용제, 등장성 및 흡수 지연 작용제 등을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의한 투여)에 적절하다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물, 즉, 항체, 면역접합체, 또는 이중특이적 분자는 화합물을 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작용으로부터 화합물을 보호하는 물질 내에 코팅될 수 있다.

[0253] 본원에 기재된 제약 조성물은 하나 이상의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다. "제약상 허용되는 염"은 모체 화합물의 원하는 생물학적 활성을 유지하고 어떠한 원치 않는 독성학적 효과도 부여하지 않는 염을 지칭한다 (예를 들어, 문헌 [Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19] 참조). 이같은 염의 예는 산 부가염 및 염기 부가염을 포함한다. 산 부가염은 비독성 무기 산, 예컨대 염산, 질산, 인산, 황산, 브로민화수소산, 아이오딘화수소산, 아인산 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 산 예컨대 지방족 노노- 및 디카르복실산, 페닐-치환 알칸산, 히드록시 알칸산, 방향족 산, 지방족 및 방향족 술폰산 등으로부터 유래된 것을 포함한다. 염기 부가염은 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 아민, 예컨대 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인 등으로부터 유래된 것을 포함한다.

[0254] 본원에 기재된 제약 조성물은 제약상 허용되는 항산화제를 또한 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 항산화제의 예는 (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이팅제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등을 포함한다.

[0255] 본원에 기재된 제약 조성물에 사용될 수 있는 적절한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적절한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사가 가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트를 포함한다. 예를 들어, 코팅 물질, 예컨대 레시틴의 사용, 분산액의 경우에는 요구되는 입자 크기의 유지, 및 계면활성제의 사용에 의해, 적합한 유동성이 유

지될 수 있다.

- [0256] 이러한 조성물은 또한 아주반트 예컨대 보존제, 습윤화제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 상기의 멸균 절차, 및 다양한 항균 및 항진균 작용제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등을 포함시키는 것들 다에 의해 미생물 존재의 방지가 보장될 수 있다. 등장성 작용제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 조성물 내에 포함하는 것이 또한 바람직할 수 있다. 추가적으로, 흡수를 지연시키는 작용제 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함함으로써, 주사가 가능한 제약 형태의 장기간의 흡수가 달성될 수 있다.
- [0257] 제약상 허용되는 담체는 무균성 수용액 또는 분산액, 및 무균성 주사가 가능 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 무균성 분말을 포함한다. 제약상 활성인 물질을 위해 이같은 매질 및 작용제를 사용하는 것이 관련 분야에 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비-상용성인 경우를 제외하고, 본원에 술된 제약 조성물에서의 그의 사용이 구상된다. 제약 조성물은 보존제를 포함할 수 있거나 또는 보존제가 없을 수 있다. 보충 활성 화합물이 조성물 내로 혼입될 수 있다.
- [0258] 전형적으로 치료 조성물은 제작 및 보관 조건 하에 무균성이고 안정적이어야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에멀션, 리포솜, 또는 높은 약물 농도에 적절한 다른 정렬된 구조물로서 제형될 수 있다. 담체는 물, 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적절한 혼합물을 예를 들어 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 예를 들어, 코팅 예컨대 레시틴의 사용, 분산액의 경우에는 요구되는 입자 크기의 유지, 및 계면활성제의 사용에 의해, 적합한 유동성이 유지될 수 있다. 다수의 경우에, 등장성 작용제, 예를 들어, 당, 폴리알콜 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 조성물 내에 포함하는 것이 바람직할 것이다. 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 조성물에 포함함으로써, 주사가 가능한 조성물의 장기간의 흡수가 달성될 수 있다.
- [0259] 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 하나 또는 그의 조합물과 함께, 필요한 양의 활성 화합물을 적합한 용매 내에 혼입시킨 후의 멸균 미세여과에 의해 무균성 주사가 가능 용액을 제조할 수 있다. 일반적으로, 기본 분산 매질 및 본원에 열거된 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 무균성 비히클 내로 활성 화합물을 혼입함으로써 분산액이 제조된다. 무균성 주사가 가능 용액의 제조를 위한 무균성 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 활성 성분 + 임의의 추가적인 원하는 성분의 분말이 그의 이전에 멸균-여과된 용액으로부터 산출되는 진공 건조 및 냉동-건조 (동결건조)이다.
- [0260] 단일 투여량 형태를 생산하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료 중인 대상체, 및 특정 투여 방식에 좌우될 것이다. 일반적으로, 단일 투여량 형태를 생산하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료 효과를 생성하는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로, 100 퍼센트 중에서, 이러한 양은 제약상 허용되는 담체와 조합된 약 0.01 퍼센트 내지 약 99퍼센트의 활성 성분, 바람직하게는 약 0.1 퍼센트 내지 약 70 퍼센트, 가장 바람직하게는 약 1 퍼센트 내지 약 30 퍼센트의 활성 성분의 범위일 것이다.
- [0261] 투여량 레지멘은 최적의 원하는 반응 (예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 경시적으로 투여될 수 있거나, 또는 용량이 치료 상황의 긴급성에 의해 지시되는 바와 같이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 투여량 단위 형태로 제형하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여량 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 이산된 단위를 지칭하며, 각각의 단위는 필요한 제약 담체와 함께 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 정해진 양의 활성 화합물을 함유한다. 본원에 기재된 투여량 단위 형태에 대한 상세사항은 (a) 활성 화합물의 독특한 특징 및 달성하려는 특정한 치료 효과, 및 (b) 개체에서의 감수성의 치료를 위해 이같은 활성 화합물을 배합하는 분야에 고유한 제한사항에 의해 지시되고, 이에 직접적으로 의존적이다. 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, 항-OX40 항체)의 적절한 투여량이 본원에 기재된 방법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0262] 항-OX40 항체 (예를 들어, OX40.21)의 투여의 경우, 투여량은 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 약 0.01 내지 10 mg/kg, 약 0.01 내지 5 mg/kg, 약 0.1 내지 1 mg/kg, 약 0.1 내지 0.5 mg/kg, 또는 약 0.5 내지 0.8 mg/kg 속 주 체중의 범위이다. 예를 들어, 투여량은 0.2 mg/kg 체중, 0.3 mg/kg 체중, 0.5 mg/kg 체중, 1 mg/kg 체중, 3 mg/kg 체중, 5 mg/kg 체중 또는 10 mg/kg 체중, 또는 1-10 mg/kg의 범위 내일 수 있다. 특정 실시양태에서, 투여량은 0.2 mg/kg이다. 일부 실시양태에서, 투여량은 0.25 mg/kg이다. 다른 실시양태에서, 투여량은 0.5 mg/kg이다.
- [0263] 특정 실시양태에서, 항-OX40 항체 및 항-PD-1 또는 항-CTLA-4 항체로의 조합 치료의 경우, 항체는 고정 용량으

로 투여될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 항-OX40 항체는 약 25 내지 약 320 mg, 예를 들어, 약 25 내지 약 160 mg, 약 25 내지 약 80 mg, 약 25 내지 약 40 mg, 약 40 내지 약 320 mg, 약 40 내지 약 160 mg, 약 40 내지 약 80 mg, 약 80 내지 약 320 mg, 약 30 내지 약 160 mg, 또는 약 160 내지 약 320 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 항-OX40 항체는 20 mg 또는 약 20 mg의 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-OX40 항체는 40 mg 또는 약 40 mg의 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-OX40 항체는 80 mg 또는 약 80 mg의 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-OX40 항체는 160 mg 또는 약 160 mg의 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-OX40 항체는 320 mg 또는 약 320 mg의 용량으로 투여된다. 예시적인 치료 레지멘은 1주에 한 번, 2주에 한 번, 3주에 한 번, 4주에 한 번, 1개월에 한 번, 3개월에 한 번, 4개월에 한 번, 또는 3 내지 6개월에 한 번의 투여를 수반한다.

[0264] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 약 100 내지 300 mg의 고정 용량으로 투여된다. 예를 들어, 면역-종양학 작용제의 투여량은 240 mg 또는 약 240 mg, 360 mg 또는 약 360 mg, 또는 480 mg 또는 약 480 mg일 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-PD1 항체의 용량은 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 더욱 일반적으로는 0.01 내지 5 mg/kg 속주 체중의 범위이다. 예를 들어 투여량은 0.3 mg/kg 체중 또는 약 0.3 mg/kg 체중, 1 mg/kg 체중 또는 약 1 mg/kg 체중, 3 mg/kg 체중 또는 약 3 mg/kg 체중, 5 mg/kg 체중 또는 약 5 mg/kg 체중, 또는 10 mg/kg 체중 또는 약 10 mg/kg 체중, 또는 1-10 mg/kg의 범위 내일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체의 투여량은 2주에 한 번 (Q2W)으로 투여되는 240 mg 또는 약 240 mg이다. 이러한 투여량은 더 긴 기간 또는 더 짧은 기간에 대해 비례적으로 (주당 120 mg으로) 조정될 수 있고, 예를 들어, 3주에 한 번 (Q3W)으로 투여되는 360 mg 또는 4주에 한 번 (Q4W)으로 투여되는 480 mg이다.

[0265] 일부 실시양태에서, 항-OX40 항체 및 항-PD-1 항체로의 조합 치료의 경우, 항체는 고정 용량으로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-OX40 및 항-PD-1 항체는 적어도 1회의 투여 사이클에 대해 투여되고, 여기서 사이클은 12주의 기간이고, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 적어도 1회의 용량의 항-OX40 항체가 약 1, 3, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 또는 280 mg의 고정 용량으로 투여되고, 적어도 3회의 용량의 항-PD-1 항체가 약 50, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 240, 480, 720, 또는 960 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 20, 40, 또는 80 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 20 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480 mg의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 40 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 적어도 1회의 사이클 각각에 대해, 1회 용량의 항-OX40 항체가 약 80 mg의 고정 용량으로 투여되고, 3회 용량의 항-PD-1 항체가 약 480의 고정 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 각각의 사이클의 제1일, 제29일 및 제57일에 투여된다. 한 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각의 사이클의 제1일에 투여된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 각각의 사이클의 제1일, 제29일 및 제57일에 투여되고, 항-OX40 항체는 각각의 사이클의 제1일에 투여된다. 한 실시양태에서, 필요하다면, 12주 투여 사이클이 반복될 수 있다. 한 실시양태에서, 투여는 9회 이하의 사이클로 이루어진다. 한 실시양태에서, 투여는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9회의 사이클로 이루어진다. 한 실시양태에서, 항-OX40 항체는 각각 서열식별번호: 5-7을 포함하는 중쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 8-10을 포함하는 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, OX-40 항체는 OX40.21을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵을 포함한다.

[0266] 일부 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 용량으로 투여된다. 예를 들어, 투여량은 1 mg/kg 또는 약 1 mg/kg 또는 3 mg/kg 또는 약 3 mg/kg 속주 체중일 수 있다.

[0267] 특정 실시양태에서, 동일한 날에 투여되는 경우, 항-OX40 항체는 항-PD-1 또는 항-CTLA-4 항체 전에 투여된다. 특정 실시양태에서, 동일한 날에 투여되는 경우, 항-OX40 항체는 항-PD-1 또는 항-CTLA-4 항체 후에 투여된다. 특정 실시양태에서, 동일한 날에 투여되는 경우, 항-OX40 항체는 항-PD-1 또는 항-CTLA-4 항체와 동시에 투여된다.

[0268] 일부 경우에, 투여되는 각각의 항체의 투여량이 상기 범위 내에 속하도록, 결합 특이성이 상이한 2개 이상의 모노클로날 항체가 동시에 투여된다. 추가적으로, 항체는 일반적으로 여러 번 투여된다. 단일 투여량 사이의 간격은, 예를 들어, 매주, 매월, 3개월마다, 또는 매년일 수 있다. 환자 내의 표적 항원에 대한 항체의 혈액 수준을 측정함으로써 지시되는 바와 같이, 간격이 불규칙할 수도 있다. 일부 방법에서, 투여량은 약 1-1000 μ

g/ml의 항체 농도를 달성하도록 조정되고, 일부 방법에서는 약 25-300 $\mu\text{g/ml}$ 이다.

- [0269] 항체는 지속 방출 제형으로서 투여될 수 있고, 이러한 경우 덜 빈번한 투여가 요구된다. 투여량 및 빈도는 환자에서의 항체의 반감기에 따라 변한다. 일반적으로, 인간 항체가 가장 긴 반감기를 나타내고, 인간화 항체, 키메라 항체 및 비-인간 항체가 뒤를 잇는다. 투여량 및 투여 빈도는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지 여부에 따라 변할 수 있다. 예방 용도에서는, 비교적 낮은 투여량이 비교적 덜 빈번한 간격으로 장기간에 걸쳐 투여된다. 일부 환자는 남은 생애 동안 계속 치료를 받는다. 치료 용도에서는, 질환 진행이 감소되거나 또는 종결될 때까지, 바람직하게는 환자가 질환 증상의 부분적 또는 완전한 호전을 나타낼 때까지, 비교적 짧은 간격의 비교적 높은 투여량이 때때로 요구된다. 그 후, 환자에게 예방 레지멘이 투여될 수 있다.
- [0270] 본원에 기재된 제약 조성물 내의 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이지 않으면서 특정 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 변할 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용된 본원에 기재된 특정 조성물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용 중인 특정 화합물의 배출 속도, 치료의 지속기간, 사용된 특정 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료 중인 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적인 건강 및 이전의 병력, 및 의학 분야에 널리 공지되어 있는 유사한 요인을 포함하는 다양한 약동학 인자에 좌우될 것이다.
- [0271] 본원에 기재된 항체의 "치료적 유효 투여량"은 바람직하게는 질환 상태의 중증도의 감소, 질환 증상이 없는 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 장애 또는 곤란의 방지를 초래한다. 암의 맥락에서, 치료적 유효 용량은 바람직하게는 생존 증가, 및/또는 암과 연관된 신체 증상의 추가 악화의 방지를 초래한다. 암의 증상은 관련 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 비정상적 모반 특색, 비대칭성, 경계, 색상 및/또는 직경을 포함하는 모반 외관의 변화, 새롭게 착색된 피부 영역, 비정상적 모반, 손발톱 아래의 거무스름한 영역, 유방 종괴, 유두 변화, 유방 낭, 유방 통증, 사망, 체중 감소, 쇠약, 과도한 피로, 섭식 곤란, 식욕 상실, 만성 기침, 호흡곤란 악화, 객혈, 혈뇨, 혈변, 오심, 구토, 간 전이, 폐 전이, 골 전이, 복부 포만감, 복부팽창, 복강 내의 체액, 질 출혈, 변비, 복부 팽만, 결장 천공, 급성 복막염 (감염, 열, 통증), 통증, 토혈, 다한, 열, 고혈압, 빈혈, 설사, 황달, 어지럼증, 오한, 근육 연축, 결장 전이, 폐 전이, 방광 전이, 간 전이, 골 전이, 신장 전이, 및 췌장 전이, 연하 곤란 등을 포함한다.
- [0272] 치료적 유효 용량은 암의 발병을 방지하거나 지연시킬 수 있고, 예컨대 질환의 초기 또는 예비 징후가 존재하는 경우에 바람직할 수 있다. 암 진단에서 이용되는 실험실 테스트는 화학, 혈액학, 혈청학 및 방사선학을 포함한다. 따라서, 상기 중 임의의 것을 모니터링하는 임의의 임상 또는 생화학 검정이 특정 치료가 암을 치료하기 위한 치료적 유효 용량인지 여부를 결정하는데 사용될 수 있다. 관련 분야의 통상의 기술자는 대상체의 크기, 대상체의 증상의 중증도, 및 선택된 특정한 조성물 또는 투여 경로와 같은 요인들을 기반으로 이같은 양을 결정할 수 있을 것이다.
- [0273] 본원에 기재된 항체 및 조성물은 관련 분야에 공지되어 있는 다양한 방법 중 하나 이상을 사용하여 하나 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 숙련된 기술자가 이해할 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라 변할 것이다. 본원에 기재된 항체에 대한 바람직한 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피내, 복막내, 피하, 척수 또는 기타 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은 "비경구 투여"라는 구절은 일반적으로 주사에 의한, 장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하고, 비제한적으로, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.
- [0274] 대안적으로, 항체는 비경구가 아닌 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내, 경구, 질내, 직장, 설하 또는 국소 투여될 수 있다.
- [0275] 활성 화합물은 급속한 방출에 대해 화합물을 보호할 담체와 함께, 예컨대 이식물, 경피 패치 및 마이크로캡슐화 전달 시스템을 포함하는 제어 방출 제형으로 제조될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드리드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이같은 제형의 제조를 위한 다수의 방법이 특허를 받았거나 또는 일반적으로 관련 분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다.
- [0276] 관련 분야에 공지되어 있는 의료 장치를 사용하여 항체 조성물을 투여할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 무바늘 피하 주사 장치, 예컨대 미국 특허 번호 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413;

4,941,880; 4,790,824; 또는 4,596,556에 개시된 장치로 조성물이 투여된다. 항체를 투여하는데 사용하기 위한 널리 공지되어 있는 이식물 및 모듈의 예는 의약을 제어된 속도로 분배하기 위한 이식가능한 마이크로-주입 펌프가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,487,603; 피부를 통해 의약을 투여하기 위한 치료 장치가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,486,194; 정확한 주입 속도로 의약을 전달하기 위한 의약 주입 펌프가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,447,233; 연속 약물 전달을 위한 가변 유동 이식가능 주입 장치가 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,447,224; 다중-챔버 구획이 있는 삼투 약물 전달 시스템이 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,439,196; 및 삼투 약물 전달 시스템이 개시되어 있는 미국 특허 번호 4,475,196을 포함한다. 이러한 특허들은 본원에 참조로 포함된다. 다수의 다른 이같은 이식물, 전달 시스템 및 모듈이 관련 분야의 기술자에게 공지되어 있다.

[0277] 특정 실시양태에서, 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체는 생체 내에서의 적합한 분포를 보장하도록 제형된다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽 (BBB)은 다수의 고도로 친수성인 화합물을 배제한다. 항체가 BBB를 가로지르는 것을 보장하기 위해 (원한다면, 예를 들어, 뇌암의 경우), 이는, 예를 들어, 리포솜에서 제형될 수 있다. 리포솜을 제작하는 방법에 대해, 예를 들어, 미국 특허 번호 4,522,811; 5,374,548; 및 5,399,331을 참조한다. 리포솜은 특정한 세포 또는 기관 내로 선택적으로 운반되는 하나 이상의 모이어티를 포함할 수 있고, 따라서 표적화된 약물 전달을 증진시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조). 예시적인 표적화 모이어티는 플레이트 또는 비오틴 (예를 들어, 로우(Low) 등의 미국 특허 5,416,016 참조); 만노시드 (Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); 항체 (P.G. Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); 계면활성제 단백질 A 수용체 (Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); p120 (Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090)을 포함하고, 문헌 [K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123]; [J.J. Killian; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273]을 또한 참조한다.

[0278] IV. 키트 및 단위 투여량 형태

[0279] 예를 들어, 암을 치료하는데 사용하기 위한, 본원에 기재된 방법을 사용하여 결정된 양으로 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체 (예를 들어, 항-OX40 항체) 및 제약상 허용되는 담체를 함유하는 제약 조성물을 포함하는 키트가 본원에서 또한 제공된다. 키트는 적어도 하나의 추가적인 작용제 (예를 들어, 본원에 기재된 조합 요법에 적절한 작용제, 예컨대 또 다른 치료제)를 추가로 함유할 수 있다. 임의적으로 키트는 암 (예를 들어, 고형 종양)을 가진 환자에게 조성물을 투여하기 위해 실무자 (예를 들어, 의사, 간호사, 또는 환자)가 키트 내에 함유된 조성물을 투여하게 하는 설명서를 또한 포함할 수 있으며, 이는, 예를 들어, 투여 스케줄을 포함한다. 키트는 또한 주사기를 포함할 수 있다.

[0280] 임의적으로, 키트는 상기에서 제공된 방법에 따른 단일 투여를 위한 유효량의 항체를 각각 함유하는 단일-용량 제약 조성물의 다중 패키지를 포함한다. 제약 조성물(들)을 투여하는데 필요한 기구 또는 장치가 또한 키트에 포함될 수 있다. 예를 들어, 키트는 소정량의 항체를 함유하는 하나 이상의 미리 충전된 주사기를 제공할 수 있다.

[0281] 전형적으로 키트는 키트의 내용물의 의도되는 용도를 지시하는 표지를 포함한다. 용어 표지는 키트 상에 또는 키트와 함께 공급되거나 또는 다른 방식으로 키트에 동반되는 임의의 문서 또는 기록 물질을 포함한다.

[0282] 실시예

[0283] OX-40은 T 세포 활성화 시 상향조절되는 공동-자극 수용체이다. 이는 CD4+ 및 CD8+ 이펙터 T 세포 (Teff)의 활성화, 증식 및 생존을 증가시키는 한편, T 세포 (Treg) 억제제를 억제한다. OX-40에 높은 친화력으로 결합하여, Teff 증식을 증진시키고 Treg 억제제를 억제하는, 완전히 인간형인 인간 IgG1 효능작용 모노클로날 항체의 예가 본원에서 기재된다. 도 30은 효능작용 모노클로날 항체와 OX-40의 작용 메커니즘을 도시한다.

[0284] 실시예 1: 다양한 용량의 리간드 차단 및 리간드 비-차단 항-OX40 항체의 항종양 활성

[0285] 본 실시예는 CT26 마우스 종양 모델에서의 다양한 용량의 OX40.23-mIgG1 (리간드 차단제 효능작용 항체) 및 OX40.3-mIgG1 (리간드 비-차단제)의 효과를 기재한다.

[0286] BalbC 마우스에 1×10^6 개의 CT26 세포를 이식하였다. 이식 후 제6일에, CT26 종양 (75-150 mm³)이 확립된 마우스를 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 및 10 mg/kg의 용량의 OX40.23 mIgG1 또는 OX40.3 mIgG1로 처리하였다 (Q7D x 2, d6).

[0287] 처리 군당 평균 및 중앙값 종양 성장 곡선이 도 1a (IgG 대조군 및 OX40.23) 및 도 1b (OX40.3)에 제시되고,

OX40.23-mIgG1 및 OX40.3-mIgG1 처리 마우스에 대한 평균 및 중앙값 종양 부피가 도 2a-2d에 제시된다. 처리 군당 평균 및 중앙값 종양 부피, TGI, 및 연구 종료 시의 무종양 마우스의 수가 표 3에서 요약된다.

표 3: 단독요법으로서의 OX40.23 및 OX40.3에 대한 처리군별 종양 부피, TGI, 및 무종양 마우스의 수의 요약

군	치료	제20일 평균 TV (mm ³)	제20일 중앙값 TV (mm ³)	제20일 평균 TGI (%)	제20일 중앙값 TGI (%)	제66일 무종양 마우스	P 값
1	이소타입	2121.1	1787.0	NA	NA	0/10	NA
2	OX40.3-mIgG1 0.03 mg/kg	2042.9	1579.8	-4	4	0/10	0.9997
3	OX40.3-mIgG1 0.1 mg/kg	1290.2	716.1	37	63	0/10	0.1202
4	OX40.3-mIgG1 0.3 mg/kg	1550.4	1076.0	30	54	1/10	0.5159
5	OX40.3-mIgG1 1 mg/kg	771.6	609.7	67	76	1/10	0.0010
6	OX40.3-mIgG1 3 mg/kg	465.2	216.3	78	93	2/10	0.0001
7	OX40.3-mIgG1 10 mg/kg	483.2	124.7	80	98	6/10	0.0001
8	OX40.23-mIgG1 0.03 mg/kg	2927.3	2295.0	-40	-8	0/10	0.1422
9	OX40.23-mIgG1 0.1 mg/kg	2555.2	1817.3	-22	24	0/10	0.8167
10	OX40.23-mIgG1 0.3 mg/kg	1168.0	873.1	47	59	2/10	0.0484
11	OX40.23-mIgG1 1 mg/kg	279.2	235.9	89	91	1/10	0.0001
12	OX40.23-mIgG1 3 mg/kg	462.9	342.0	81	88	3/10	0.0001
13	OX40.23-mIgG1 10 mg/kg	1067.0	603.1	55	73	3/10	0.0205

약어: TGI, 종양 성장 억제; TV, 종양 부피

1 mg/kg, 3 mg/kg 및 10 mg/kg으로 투약된 OX40.3은 이소타입 대조군 처리 군에 비교하여 76%, 93% 및 98% 중앙값 TGI를 초래하여 제20일에 유의한 종양 억제를 실현하였고, 뿐만 아니라 연구 종료 시 (제66일)에 각각 1/10, 2/10 및 6/10마리의 무종양 마우스를 실현하였다. 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 및 10 mg/kg으로 투약된 OX40.23은 이소타입 대조군 처리 군에 비교하여 59%, 91%, 88% 및 73% 중앙값 TGI를 초래하여 제20일에 유의한 종양 억제를 실현하였고, 뿐만 아니라 연구 종료 시 (제66일)에 각각 2/10, 1/10, 3/10 및 6/10마리의 무종양 마우스를 실현하였다. 0.3 mg/kg 이상의 용량의 OX40.23가 제공된 모든 군이 종양 부피가 감소되었지만, 10 mg/kg의 처리가 1 mg/kg 및 3 mg/kg에 비교하여 덜 활성이었다. 높은 용량 (10 mg/kg)에서의 감소된 항종양 활성 ("후크" 효과)가 OX40.3에 의해 처리된 군에서는 관찰되지 않았고, 이는 최고 용량에서 최대 TGI 및 무종양 마우스의 최대 마릿수를 나타냈다. OX40.23은 OX40-OX40L 상호작용을 차단하지만, OX40.3은 그렇지 않기 때문에, 이러한 데이터는 OX40L의 결속이 높은 용량에서의 OX40.23에 의한 항종양 효능 약화에 기여할 수 있다는 것을 시사하였다.

실시예 2: 항-OX40 항체 + 항-PD1 항체 조합 요법으로서의 항종양 효능의 전환

본 실시예는 항-PD1 항체와 조합된 다양한 용량의 OX40.23-mIgG1의 효과를 기재한다.

실험 조건은 실시예 1에 기재된 것과 본질적으로 동일하였다. OX40.23 (Q7D x 2) + 항-PD1 항체 (IgG1 D265A; Q4D x 3) 처리 마우스에 대한 개별적인 종양 성장 곡선이 도 3a 및 3b에 제시되고, OX40.3 + 항-PD1 항체 처리 마우스에 대한 곡선이 도 4에 제시된다. OX40.23 + 항-PD1 처리 마우스에 대한 처리 군당 평균 및 중앙값 종양 부피, TGI, 및 연구 종료 시의 무종양 (TF) 마우스의 수가 표 4에서 요약되고, OX40.3 + 항-PD1 처리 마우스에 대한 것이 표 5에서 요약된다.

[0294] 표 4: 항-PD-1 항체와 조합된 OX40.23에 대한 처리군별 종양 부피, TGI 및 무종양 마우스의 수의 요약

군	치료	제19일 평균 TV (mm ³)	제19일 종양값 TV (mm ³)	제19일 평균 TGI (%)	제19일 종양값 TGI (%)	제91일 무종양 마우스	P 값
1	이소타입	1639.7	1768.3	NA	NA	0/10	NA
2	항-PD-1	809.9	691.5	55	65	1/10	NA
3	항-PD-1 + OX40.23-mIgG1 0.03 mg/kg	794.1	791.9	56	63	1/10	0.9999
4	항-PD-1 + OX40.23-mIgG1 0.1 mg/kg	170.1	47.4	96	103	8/10	0.0001
5	항-PD-1 + OX40.23-mIgG1 0.3 mg/kg	38.7	44.3	103	103	9/10	0.0001
6	항-PD-1 + OX40.23-mIgG1 1 mg/kg	62.2	38.3	102	103	9/10	0.0001
7	항-PD-1 + OX40.23-mIgG1 3 mg/kg	86.0	48.9	101	103	9/10	0.0001
8	항-PD-1 + OX40.23-mIgG1 10 mg/kg	507.5	133.8	78	100	6/10	0.2086

[0295]

[0296] 표 5: 항-PD-1 항체와 조합된 OX40.3에 대한 처리군별 종양 부피, TGI 및 무종양 마우스의 수의 요약

군 번호	치료	제19일 평균 TV (mm ³)	제19일 종양값 TV (mm ³)	제19일 평균 TGI (%)	제19일 종양값 TGI (%)	제124일 무종양 마우스	P 값
1	이소타입	1353.2	1126.5	NA	NA	0/10	NA
2	항-PD-1	989.9	695.6	11	32	4/10	NA
3	항-PD-1 + OX40.3-mIgG1 0.03 mg/kg	990.1	964.8	-1	-31	1/10	0.9999
4	항-PD-1 + OX40.3-mIgG1 0.1 mg/kg	615.5	302.0	42	80	6/10	0.4596
5	항-PD-1 + OX40.3-mIgG1 0.3 mg/kg	826.6	468.8	16	64	5/10	0.9678
6	항-PD-1 + OX40.3-mIgG1 1 mg/kg	547.0	321.7	53	71	4/10	0.2918
7	항-PD-1 + OX40.3-mIgG1 3 mg/kg	436.5	226.0	65	88	8/10	0.1165
8	항-PD-1 + OX40.3-mIgG1 10 mg/kg	105.7	0.0	97	109	7/10	0.0046

[0297]

[0298] 표 4에 제시된 바와 같이, 항-PD1 항체와 조합되었을 때, 1/10마리의 무종양 마우스에 이른 항-PD-1 항체 단독 요법에 비교하여, 연구 종료 시에 무종양 마우스가 80%를 초과하면서, 0.1 mg/kg 내지 3 mg/kg의 투여량의 OX40.23이 항종양 효능의 유의한 개선을 실연하였다. 그러나, OX40.23의 최고 용량 (10 mg/kg)에서, 평균 및 종양값 종양 부피 둘 다가 더 낮은 용량 군보다 더 높았고, 연구 종료 시에 10마리 중 6마리만 무종양이었으며, 이는 실시예 1에서의 OX40.23 단독요법에서 관찰된 현상 ("후크" 효과)와 유사한, 높은 용량에서의 항종양 활성 감소를 시사한다.

[0299] 항-PD1 항체와 조합된 OX40.23-mIgG1의 유효한 용량은 0.1-0.3 mg/kg이고, 이는 OX40.23-mIgG1 단독요법의 유효한 용량 (1-3 mg/kg)보다 약 10배 더 낮다.

[0300] 표 5에 제시된 바와 같이, 제124일의 4/10마리의 TF 마우스 및 제19일의 32% 종양값 TGI에 이른 항-PD1 항체 단

독요법에 비교하여, 항-PD1 항체와 조합된 3 mg/kg 및 10 mg/kg으로 투약된 OX40.3은 연구 종료 시 (제124일)에 각각 8/10 및 7/10마리의 TF 마우스를 초래하였고, 제19일의 중앙값 TGI가 70%를 초과하면서 더욱 강력하게 CT26 종양의 성장을 억제하였다. OX40.23으로 나타난 것과 유사한 항-PD1 항체와 조합되었을 때의 더 낮은 용량에서의 배수-전환이 OX40.3으로 또한 관찰되었다 (도 4).

[0301] **실시예 3: 항-OX40 및 항-PD1 항체의 공동 또는 순차 투약으로의 항종양 활성**

[0302] 본 실시예는 항종양 활성에 대한 항-OX40 및 항-PD1 항체의 공동 투약 대 순차 투약의 비교를 기재한다.

[0303] 이러한 실험에서 사용된 마우스 종양 모델은 본질적으로 실시예 1 및 2에 기재된 바와 동일하였다. OX40.23을 종양 이식 후 제5일 및 제12일에 0.03 mg/kg, 0.3 mg/kg, 또는 3 mg/kg으로 마우스에게 투여하였고, 제5일, 제9일 및 제13일에 항-PD-1을 공동 투여하거나, 또는 제10일, 제14일 및 제18일에 항-PD-1을 지연 투여하여 순차 처리를 제공하였다.

[0304] 도 5에 제시된 바와 같이, CT26 종양의 급속한 진행으로 인해, 10마리 중 3마리의 무종양 마우스에 이른 제5일에 시작된 처리에 비교하여, 제10일에 시작된 지연된 항-PD-1 항체 단독은 종양 퇴행 없이 더 적은 활성을 나타냈다. OX40.23 + 공동 항-PD-1 항체 처리는 각각 0.03 mg/kg, 0.3 mg/kg, 및 3 mg/kg의 OX40.23에서의 8/10, 6/10, 및 10/10마리의 무종양 마우스로 항종양 활성의 유의한 개선을 초래하였다. OX40.23 + 지연된 항-PD-1은 0.3 mg/kg 및 3 mg/kg의 OX40.23에서의 6/10 및 7/10마리의 무종양 마우스로 공동 치료와 필적하는 항종양 활성에 이르렀다. 0.03 mg/kg의 OX40.23과 지연된 항-PD-1 처리의 조합은 상응하는 OX40.23 또는 항-PD-1 단독요법에 비교하여 더 양호한 항종양 활성을 나타내지 않았다. 이러한 결과들은 공동 투약이 항종양 활성의 관점에서 순차 투여와 유사하였음을 시사한다.

[0305] 추가적으로, 항-PD-1 또는 항-CTLA-4와 조합된 항-OX40 효능제를 실시예 1 및 2에서 기재된 것과 본질적으로 동일한 마우스 종양 모델을 이러한 실험에서 사용하여 테스트하였다. BMS-986178을 단독으로 또는 항-PD1 또는 항-CTLA와 공동으로 마우스에게 투여하였다.

[0306] 도 38에 제시된 바와 같이, 항-PD-1 또는 항-CTLA-4와 조합된 항-OX40 효능제가 증진된 항종양 활성을 나타냈다. 항-PD-1 및 BMS-986178로 처리된 10마리 중 10마리의 마우스가 무종양이었고, 항-CTLA-4 및 BMS-986178로 처리된 10마리 중 8마리의 마우스가 무종양이었다.

[0307] 총괄적으로, 실시예 1-3은 OX40.23 (리간드 차단 효능작용 항체)의 최대 활성이 단독요법에서는 3 mg/kg에서, 항-PD1 항체와의 조합 요법으로는 0.3 mg/kg에서 달성되었음을 실연한다. 단독요법에서는 10 mg/kg에서, 항-PD1 항체와의 조합 요법으로는 3 mg/kg에 최대 활성이 달성되면서, 더 낮은 용량에 대한 유사한 배수-전환이 리간드 비-차단 항체 OX40.3으로 관찰되었다. 단독요법 및 조합 요법 둘 다에서 OX40.23이 10 mg/kg으로 투여되었을 때 "후크" 효과 (활성 감소)가 관찰되었다. 그러나, 단독으로 또는 항-PD-1 항체와 조합하여 OX40.3으로 처리된 마우스에서는 이러한 "후크" 효과가 관찰되지 않았고, 이는 OX40.23으로 관찰된 더 높은 용량에서의 효능 감소가 OX40L-OX40 상호작용에 의존적이었음을 지시한다. 추가로, 조합 처리의 경우, 공동 투약이 엇갈린 레지멘에 필적하는 항종양 활성을 초래하였다.

[0308] **실시예 4: 단일 작용제로서 또는 항-PD1 항체와 조합되어 투여된 OX40.23의 수용체 점유율**

[0309] 단독요법 또는 항-PD1 항체와의 조합 요법으로 고용량 (10 mg/kg)의 항-OX40 항체가 투여된 마우스에서 관찰된 항종양 효능의 "후크" 효과의 기반을 이루는 잠재적인 메카니즘(들)을 더 잘 이해하기 위해, 혈액 및 종양 미세환경 내의 CD4+ T 세포 상에서의 OX40 수용체 점유율 (RO) 및 OX40 발현을 평가하였다.

[0310] 투약 및 샘플링 스케줄이 도 6a에 제시된다. 간략하게, BalbC 마우스에게 1×10^6 개의 CT26 세포를 이식하였다. 이식 후 제6일에, CT26 종양 (75-150 mm³)이 확립된 마우스를 지시된 용량의 지시된 단독요법 또는 조합 요법으로 처리하였고, 항-PD1 항체는 10 mg/kg으로 투여되었다.

[0311] 이식 후 제8일 및 제13일의 종양 및 혈액에서의 수용체 점유율을 평가하여, OX40.23 단독요법 및 항-PD-1 항체와의 조합 요법에 의한 CD4 서브세트에서의 OX40 수용체 점유율 및 OX40 표면 발현의 동역학 변화를 평가하였다. 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 주사기 내로의 심장 천자를 통해 혈액을 수득하였다. 히스토파크(Histopaque)®-1083 (시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)) 구매 분리에 의해 생육성 백혈구를 회수하였다. 2 ml의 히스토파크-1083을 15 ml 원뿔형 원심분리 튜브 내에 첨가하고, 항-응고 전혈을 히스토파크 매질의 상부에 조심스럽게 적층시켰다. 원심분리 동안, 적혈구 및 호중구가 폴리스크로스에 의해 응집되고, 신속하게 침강되었다. PBMC는 혈장-히스토파크 1083 계면에 남아 있었다. 세정 단계 동안 저속 원심분리

에 의해 대부분의 외래 혈소판을 제거하였다. 종양을 제거하고, 칭량하고, 젠틀맥스 옥토 디소시에이터(gentleMACS Octo Dissociator)TM (밀테니이(Miltenyi)) 상에서 프로세싱하였다; 마우스 종양 해리 키트 (밀테니이)를 종양 프로세싱에 사용하였다. 해리 후, 세포 현탁액을 세정하고, 여과하고, 계수하였다.

[0312] 개별적인 마우스의 혈액 및 종양으로부터의 단일 세포 현탁액을 점유 및 총 수용체를 별도로 테스트하기 위해 2개의 플레이트 내로 이중화하였다. 총 수용체를 테스트하기 위해, FACS 완충제 (PBS 내의 2% FBS 및 2 mM EDTA)에서 제조된 과량의 OX40.23-비오틴 항체를 10 µg/ml의 최종 농도로 첨가하고, 30분 동안 4℃에서 염색하였다. 그 후, 샘플을 FACS 완충제로 3회 세정하였고, 30분 동안의 0.5 µg/ml로의 PE-스트렙타비딘 염색이 이어졌다. 점유 수용체를 테스트하기 위해, PE-스트렙타비딘만 첨가하고, 0.5 µg/ml로 30분 동안 염색하였다. 그 후, 총 및 점유 샘플 둘 다를 3회 세정하고, 유동 세포측정법 항체를 사용하여 면역 세포 마커에 대해 염색하였다. 1 µg/ml의 DAPI를 첨가하여 생세포 및 죽은 세포를 구별한 후, 유동 세포측정법을 실행하였다. 항체 형광을 포르테사(Fortessa) (BD 바이오사이언시즈(BD Biosciences)) 상에서 유동 세포측정법에 의해 검출하고, 결과를 플로우조(FlowJo) 소프트웨어 (플로우조 엘엘씨(FlowJo, LLC))를 사용하여 분석하였다. 하기 등식에 따라 각각의 동물에 대해 수용체 점유율을 계산하였다: % RO = ([테스트의 ΔMFI] / [총의 ΔMFI])x100 [식 중, 테스트는 생체 외에서 직접적으로 평가되었을 때 OX40.23에 의해 점유된 수용체의 양이고, 총은 이러한 샘플에 첨가된 과량의 OX40.23-비오틴의 첨가로부터 결정된 바와 같은 존재하는 수용체의 총량이다].

[0313] 도 6b에 제시된 바와 같이, 수용체 점유율은 종양 및 말초 혈액에서 더 높은 용량에서 유사한 점유율이 관찰되면서 항체 용량-의존적이었다. 수용체 점유율 프로파일은 단독요법과 조합 요법 사이에서 유사하였다. 또한, 제8일에 비교하여, 제13일에 OX40 수용체 점유율이 말초 혈액에서 감소하였지만, 종양에서는 증가하였고, 특히 3 mg/kg 및 10 mg/kg 용량에서 그러하였으며, 이는 혈액에서의 항-OX40 항체의 클리어런스 및 종양에서의 항-OX40 항체의 축적을 시사한다.

[0314] OX40 수용체 점유율의 조절을 추가로 검사하기 위해, OX40 수용체의 총 및 점유 수준을 독립적으로 평가하였다. 용량 증량에 걸쳐, 세포 표면 상의 점유된 OX40 수용체의 분율이 계속 증가하였고, 제8일과 제13일 사이에 명확한 차이를 나타내지 않았다 (도 6c). 그러나, 세포 표면 상에 존재하는 OX40 수용체의 총량은 제8일 (투약 2일 후)에 0.3 mg/kg 용량 (0.3 mg/kg에서의 약 40% 수용체 점유율) 이상에서 급속한 하향조절을 나타냈고, 연구 제13일까지 계속 낮았다. 이러한 데이터는 3 mg/kg 및 10 mg/kg 용량의 OX40.23에서 관찰된 높은 계산된 수용체 점유율이, 점유 수용체의 수의 증가와 대조적으로, 총 OX40 수용체의 하향조절에 의해 구동될 가능성이 있다는 것을 시사한다.

[0315] 퍼센트 종양 성장 억제 및 OX40 수용체 점유율 사이의 관계는 OX40.23 + 항-PD1의 조합에 대해 20 내지 80% 수용체 점유율에서 최대 종양 성장 억제가 달성되는 반면, OX40 수용체 점유율이 80%를 초과할 때 종양 성장 억제 감소가 관찰되었음을 실연한다 (도 6d).

[0316] 유사한 실험에서, CT26 종양-보유 마우스를 BMS-986178 또는 이소타입 항체 IgG 대조군으로 처리하였다. OX40 RO 및 총 표면 OX40을 처리 후의 지시된 시점에 종양 샘플에서 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[0317] 도 34a-34d에 제시된 바와 같이, BMS-986178 처리 7일 후의 CT26 종양-보유 마우스로부터의 종양 샘플은 종양 Treg 상에서의 OX40 RO가 BMS-986178의 용량과 상보관련된 반면 (도 34a), 종양 Treg 상에서의 총 OX40 발현은 ≥0.3 mg/kg 용량의 BMS-986178에서 감소하였음 (도 34b)을 나타냈다. 그리고, mAb-점유 OX40이 경시적으로 감소함에 따라 (BMS-986178 처리 후 제10일 이후; 도 34c), OX40 표면 발현이 복구되었다 (도 34d). 따라서, 종양 Treg 상에서의 OX40 발현이 CT26 마우스에서 더 높은 용량의 항-BMS-986178로 감소하였다.

[0318] 종합하면, 이러한 데이터들은 효능작용 항-OX40 항체와 항-PD1 항체의 조합이 항-PD-1 항체 단독요법에 비해 치료 효능의 유의한 증진에 이르렀다는 것을 실연하고, 이때 조합물의 최대 항종양 활성은 100% 미만의 OX40 수용체 점유율에서 잘 달성된다. 수용체 점유율이 약 40%에 접근함에 따라, 표면 OX40의 극심한 하향조절이 항체 투약 2일 후에 관찰되었고, 투약 후 적어도 7일에 걸쳐 유지되었다. OX40의 이러한 하향조절이 10 mg/kg 항-OX40 용량에서의 조합물의 더 낮은 치료 활성을 설명할 수 있다. 따라서, 효능작용 항-OX40 항체의 높은 용량 (예를 들어, 10 mg/kg)에서의 항종양 활성 감소를 최소화하거나 방지하기 위해 항체 용량 및 적용 빈도의 적합한 선택이 필요하다.

[0319] 실시예 5: OX40.21이 투여된 인간 환자에서의 수용체 점유율, OX40의 표면 발현, 및 약물 노출

[0320] 본 실시예는 인간 환자에서 수용체 점유율이 증가함에 따른 OX40의 표면 발현의 상실 사이의 상관관계를 실연한다.

[0321] 실시예 4에 기재된 방법을 사용하여 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, 또는 320 mg의 OX40.21 (효능작용 항-OX40 항체)이 투여된 인간 환자에서 CD4+ T 세포 또는 Treg에서의 수용체 점유율 및 표면 OX40 발현을 결정하였다 (RO를 결정하기 위한 테스트 vs. 총 기반 등식은 실시예 4와 동일하지만, 인간 환자에서의 OX40.21 RO의 계산에 대해 개조됨). 사이클 1 제 8일 및 사이클 2 제1일에 각각의 용량 코호트에 대해 CD4+ T 세포 및 Treg에서 수용체 점유율이 80 내지 100%였다. 도 7a에 제시된 바와 같이, 그리고 실시예 4의 결과와 일관되게, 인간 환자에서 OX40.21의 수용체 점유율이 증가함에 따라 OX40의 표면 발현이 감소하는 경향이 있었다. CD4+ T 세포 및 Treg와 같이, 유사한 수용체 점유율이 코호트에 걸쳐 말초 혈액에서 관찰되었고, 이때 >20 mg의 용량 및 제2 사이클의 제1 용량 (C2D1) 후의 플레토에 >80% 수용체 점유율이 관찰되었다.

[0322] 약물 노출과 관련하여, 도 7b에 제시된 바와 같이, 니볼루맙과 조합된 OX40.21이 20-320 mg 범위의 노출에서 용량-관련 증가로 선형 PK를 나타냈다.

[0323] 실시예 6: 대안적 투약 스케줄에서 수용체 점유율을 예측하기 위한 PK-PD 모델

[0324] 본 실시예는 인간 환자에서의 수용체 점유율을 예측하기 위한 PK-PD 모델을 기재한다. 집단 PK 분석을 사용하여 선형 2-구획 PK 모델에 의해 약물 농도-시간 프로파일이 기재되었다. 도 8a 및 40에 제시된 바와 같이, PPK 모델은 관찰된 농도 데이터의 합리적인 설명을 제공하는 것으로 보인다. 대안적인 용량 스케줄에서의 개별적인 약물 노출 (Cmin1: 제1 용량 후의 최저 농도)이 PPK 모델을 기반으로 예측되었고, 이는 후속 PK-PD 모델 개발에서 사용되었다. 20-320 mg 범위의 용량의 OX40.21이 투여된 16명의 암 환자로부터의 RO 데이터를 기반으로, Emax 모델 (하기에서 제공된 등식)이 약물 농도 (Cmin1: 제1 용량 후의 최저 농도)와 C2D1의 혈액 RO 사이의 관계를 기재하는데 사용되었다.

$$RO = \frac{RO_{max} \times \text{약물 농도}}{EC_{50} + \text{약물 농도}}$$

[0325] 여기서 약물 농도는 제1 용량 후의 최저 농도인 Cmin1이고, RO_{max}는 혈액 RO의 최대 백분율이며, EC₅₀은 RO_{max}의 50%에 상응하는 약물 농도이다. 이러한 분석으로부터, 약물 EC₅₀이 0.094 µg/mL인 것으로 추산되었다 (도 8b). 확립된 PK-PD 관계 (Emax 모델)를 사용함으로써, 뿐만 아니라 PK 및 PD의 대상체간 가변성을 고려하여, 대안적인 투약 스케줄에서의 혈액 RO를 예측하기 위해 시험 자극을 수행하였다 (도 9).

[0327] 여러 암 유형 (두경부암, 자궁경부암, 요로상피암, 및 결장직장암)에 걸친 인간 종양 생검 샘플 (N = 5)로부터 생성된 데이터를 기반으로 종양 RO가 또한 예측되었고 (도 10a 및 10b), 여기서 종양 균질화물에서의 총 약물 및 총 OX40 농도가 20-320 mg의 OX40.21 용량에서 측정되었다. 다양한 용량 및 투약 레지멘에서의 종양 RO를 예측하기 위해 하기의 가정이 이루어졌다: 1) 종양 RO EC50은 혈청에서의 것과 동일하고; 2) 종양 약물 수준은 혈청에서의 것과 평형을 이루며; 3) 평균의 관찰된 종양-대-혈청 농도 비는 0.20 (범위 = 0.07-0.47)이고; 4) 평균의 관찰된 OX40 수준은 0.15 nM (범위 = 0.02-0.47 nM)이다. 예측된 종양 RO (도 10a)는 사용된 시나리오 하에 혈액 RO와 일관되었다. 그러나, 종양 RO 예측을 위해 0.47 nM의 높은 OX40 수준 및 0.07의 낮은 종양 약물 투과율이 사용되었을 때, 종양 RO가 혈액 RO로부터 벗어났다 (도 10b).

[0328] 모델-기반 시뮬레이션은 40 mg q4w, 40 mg q8w, 40 mg q12w, 및 80 mg q12w의 OX40.21 용량으로부터 생성된 노출이 혈액 (예를 들어, 약 20% 내지 약 90%의 RO, 도 9) 및 종양 (예를 들어, 0.15 nM의 평균 표적 수준 및 0.20의 평균 종양 투과율 하의 약 10% 내지 약 90%의 RO, 도 10a 및 10b) 둘 다에서의 광범위한 수용체 점유율을 초래할 수 있다는 것을 나타냈고, 따라서 덜 빈번한 투약으로 등가이거나 또는 우월한 PD 반응이 달성될 수 있는지 여부를 이해할 기회를 제공한다.

[0329] 실시예 7: OX40.21 농도와 수용체 점유율 사이의 관계의 시험관내 평가

[0330] 본 실시예는 T 세포에서 시험관 내에서 OX40.21의 농도를 상이하게 하는 것을 기반으로 수용체 점유율의 평가를 기재한다.

[0331] 간략하게, 총 T 세포를 피콜(Ficoll) 구배 원심분리를 사용하여 인간 전혈로부터 정제하였다. CD4+ T 세포를 밀테니이 CD4+ 단리 키트를 사용하여 PBMC로부터 단리하였다. 단리된 T 세포를 방사선이 조사된 CHO-OKT3-CD32A (인공적인 항원 제시 세포)의 존재 하에, 그리고 OX40.21 또는 이소타입 대조군의 단계 희석물의 존재 하에 배양하였다. 유동 세포측정법을 사용하여, 결합된 OX40 항체 대 총 표면 OX40의 비로서 수용체 점유율을 결정하였다. T 세포를 세정한 후 형광 접합된 항-인간 Fc를 첨가함으로써, 결합된 항체를 평가하였다. 포화량

의 OX40 항체를 T 세포에 첨가함으로써 총 OX40을 결정하였다. 인큐베이션 후, 세포를 세정하고, 형광 접합된 항-인간 Fc를 첨가함으로써 염색하였다.

[0332] **도 11a 및 11b**에 제시된 바와 같이, (>1 nM의 OX40.21에서) 완전한 수용체 점유율이 총 표면 OX40의 하향조절과 상호관련되었고, 이는 "후크" 효과를 반영한다. 또한 증가되는 농도의 OX40.21이 CD4⁺ T 세포의 표면 상에서 OX40을 유도하였고, 이때 더 높은 농도는 OX40을 하향조절하였다. 경시적인 OX40 표면 발현은 OX40.21에 의해 유도된 "후크" 효과가 제4일의 최고 수준의 OX40 발현과 상호관련되었음을 나타냈다 (**도 12a** (이소타입 대조군) 및 **도 12b** (OX40.21)).

[0333] 이러한 효과가 OX40.21에 대해 특이적인지 여부를 결정하기 위해, 표면 OX40의 수준에 대한 CD28 항체의 효과를 또한 평가하였다. 간략하게, 총 T 세포를 피콜 구배 원심분리를 사용하여 인간 전혈로부터 정제하였다. CD4⁺ T 세포를 밀테니이 CD4⁺ 단리 키트를 사용하여 PBMC로부터 단리하였다. 단리된 T 세포를 방사선이 조사된 CHO-OKT3-CD32A (인공적인 항원 제시 세포)의 존재 하에, 그리고 효능작용 항-OX40 항체, 이소타입 대조군, 또는 항-CD28 항체 (클론 CD28.2)의 단계 희석물의 존재 하에 배양하였다. 유동 세포측정법에 의해 총 표면 OX40 대 결합된 OX40 항체에 의해 수용체 점유율을 결정하였다. T 세포를 세정한 후 형광 접합된 항-인간 Fc를 첨가함으로써, 결합된 항체를 평가하였다. 포화량의 항-OX40 항체를 T 세포에 첨가함으로써 총 OX40을 결정하였다. 인큐베이션 후, 세포를 세정하고, 형광 접합된 항-인간 Fc를 첨가함으로써 염색하였다.

[0334] **도 13a, 13b, 32a, 및 32b**에 제시된 바와 같이, 항-CD28 항체로의 T 세포의 공동-자극이 더 높은 농도에서 상실되지 않는 높은 수준의 OX40 발현을 유도하기 때문에, 총 표면 OX40 발현에 대한 OX40.21의 효과는 OX40.21에 대해 특이적이었다. 여기서, CD137 (**도 13a 및 32a**) 및 CD28 (**도 13b 및 32b**)에 대한 모노클로날 항체는 "후크" 효과와 연관된 총 표면 OX40의 하향조절을 나타내지 않았다. 여기서, CD4⁺ T 세포가 다른 공동-자극 효능제 항체로 처리되었을 때, OX40 표면 발현의 상실이 관찰되지 않았다.

[0335] 인터페론-감마 (IFN- γ) 분비 (T 세포 활성화의 판독물) 및 그의 수용체 점유율과의 관계를 평가하기 위해 추가 실험을 수행하였다. 4일 동안 세포를 배양한 후, 상청액을 수집한 것을 제외하고는, 실험 조건은 상기 기재된 바와 동일하였다. IFN- γ 의 분비를 표준 ELISA (BD 바이오사이언시즈) 또는 균일 시간 분해 형광 (HTRF) (시스 바이오스(Cisbios))을 사용하여 정량하였다.

[0336] **도 14**에 제시된 바와 같이, OX40.21은 IFN- γ 의 분비에 의해 반영되는 바와 같이 T 세포 활성화를 유도하였다. 최대 IFN- γ 가 약 20%의 수용체 점유율에서 획득되었다. "후크" 효과와 일관되게, IFN- γ 분비가 100% 수용체 점유율에서 감소되었다.

[0337] T 세포 증식과 수용체 점유율 사이의 관계를 또한 평가하였다. 4일 동안의 세포 배양 후, 16시간 동안 세포에 3[H]-티미딘 혼입을 첨가하여 세포 증식을 테스트하고, 섬광을 카운팅한 것을 제외하고는, 실험 조건은 상기 기재된 바와 같았다.

[0338] **도 15a-15c**에 제시된 바와 같이, 최대 증식이 20-50% 수용체 점유율에서 획득되면서 OX40.21이 T 세포 증식을 유도하였다. T-세포 활성화 (CD4⁺ T 세포 상에서의 CD25의 기하 평균 형광 강도 [GMFI]에 의해 측정된 바와 같음)가 BMS-986178의 최저 용량에서 달성되었고, 40% OX40 R0에서 플래토에 도달하였다. **도 31**. 총괄적으로, 이러한 데이터는 OX40 표면 발현, T 세포 증식, 및 시토킨 생산의 관점에서의 OX40.21의 최대 활성이 약 20% 수용체 점유율로부터 획득된다는 것을 시사한다. 100% 수용체 점유율에서, T 세포의 기능성/활성화가 감소되는 "후크" 효과가 관찰된다.

[0339] BMS-986178로 처리된 T 세포에서의 Treg의 억제력을 평가하기 위해 추가 실험을 수행하였다. 다이나비드 (Dynabead) (α CD3/ α CD28; 써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific)), 라파마이신, 및 인터루킨 (IL)-2을 사용하여 인간 CD4⁺ T 세포가 Treg로 분화되었고 확장되었다. **도 33a**는 Treg 억제 검정을 도시한다. 본원에 기재된 바와 같이 유동 세포측정법에 의해 Treg 표현형이 입증되었다. 정제된 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포를 $\pm$ Treg (5:1) + BMS-986178로 배양하였다. 그 후, IL-2 분비를 세포측정 비드 어레이 검정에 의해 측정하였다.

[0340] **도 33b 및 33f**에 제시된 바와 같이, BMS-986178-처리 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포는 Treg의 존재 하에 IL-2를 생산하여, BMS-986178을 통한 OX40 효능작용이 Treg 억제력을 완화하였음을 실연한다. Treg의 존재 하에서의 CD4⁺ T 세포 (**도 33b**) 또는 CD8⁺ T 세포 (**도 33f**)에 의한 IL-2 생산은 후크 효과를 실연하였다. 한편, 상응하는 배양물로부터의 Treg 상에서의 OX40 발현 (**도 33d 및 33h**)은 약 1 μ g/mL BMS-986178에서 최대값에 도달하

였고, > 1 µg/mL의 BMS-986178은 감소된 OX40 표면 발현을 초래하였다.

[0341] 추가적으로, CD4⁺ T 세포 단독에 의해 자극된 IL-2 생산 (도 33c) 또한 후크 효과를 실연하였다. 또한, 단독으로 배양된 CD4⁺ T 세포 (도 33e) 및 CD8⁺ T 세포 (도 33i)가 0.37 µg/mL의 BMS-986178에서 최대 OX40 표면 발현을, >1 µg/mL의 BMS-986178에서 감소된 OX40 발현을 나타냈다. 반면에, 자극된 CD8⁺ T 세포는 BMS-986178 용량과 관계 없이 최대 IL-2 생산을 나타냈다 (도 33g).

[0342] 이러한 데이터들은 BMS-986178가 용량 대비 후크 효과로 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포의 Treg 억제제를 완화하였다는 것을 실연한다

[0343] **실시예 8: 가용성 OX40과 수용체 점유율 사이의 관계의 시험관내 평가**

[0344] 가용성 OX40 (sOX40)에 대해 특이적인 ELISA가 개발되었다 (도 16). 간략하게, 이러한 검정에서, 비-차단 OX40 모노클로날 항체 (OX40.8)를 먼저 메조 스케일 디스커버리(meso scale discovery) (MSD) 플레이트 상에 고정한다. 플레이트를 0.5% BSA를 함유하는 PBS로 차단한 후, 배양 상청액을 플레이트에 적용하고, 인큐베이션한다. 세정 후, 포획된 sOX40을 미리 최적화된 농도의 OX40에 대한 비오틴 접합된 양 폴리클로날 항체 (R&D 시스템 (R&D System))을 사용하여 검출한다. 인큐베이션 및 세정 후, 술포-태그 스트렙타비딘을 첨가하여, 플레이트 상에 고정된 sOX40-항체 복합체를 전기화학발광에 의해 검출한다. 이러한 검정을 사용하여 sOX40 수준과 수용체 점유율 사이의 관계를 평가하였다. 4일의 배양 후, 상청액을 수집한 것을 제외하고는 실시예 7에서 기재된 것과 동일한 조건 하에 세포를 배양하고, 검정을 사용하여 sOX40을 정량하였다.

[0345] **도 17 및 18**에 제시된 바와 같이, OX40.21의 농도를 증가시키는 것이 CD4⁺ T 세포의 표면 상에서의 OX40 발현 및 상청액 내의 sOX40을 유도하였다. sOX40의 상실이 100% 수용체 점유율에서의 세포 표면 OX40의 상실 ("후크" 효과)과 상호연관되었다. 이러한 데이터는 sOX40이 OX40 효능작용 및/또는 T 세포 활성화에 대한 판독 물로서 사용될 수 있다는 것을 시사한다. 인간 환자에서도, OX40.21 단독요법 및 OX40.21 + 니볼루맵으로의 치료 시 sOX40 수준이 증가하였다 (도 19).

[0346] 항-CD28-처리 CD4⁺ T 세포에 의해 방출된 가용성 OX40 (sOX40)를 상기 기재된 바와 같은 맞춤형-개발된 ELISA를 사용하여 측정하였다. **도 35a**에 제시된 바와 같이, 항-CD28은 더 높은 용량에서 최대값에 도달한 후 용량-의존적 방식으로 sOX40 방출을 유도하였기 때문에, BMS-986178로 처리된 세포에서 관찰된 이러한 후크 효과가 독특하였다. 추가로, **도 35b**에 제시된 바와 같이, CD4⁺ T 세포에 의해 방출된 대다수의 sOX40이 BMS-986178에 결합하였다. 따라서, BMS-986178-매개 T-세포 활성화가 sOX40 방출을 유도하였고, 이는 OX40 RO가 100%에 접근함에 따라 감소하였다.

[0347] 총 sOX40 및 OX40.21에 의해 결합된 sOX40을 또한 결정하였다. 간략하게, 총 T 세포를 피콜 구배 원심분리를 사용하여 인간 전혈로부터 정제하였다. CD4⁺ T 세포를 밀테니이 CD4⁺ 단리 키트를 사용하여 PBMC로부터 단리하였다. 단리된 T 세포를 방사선이 조사된 CHO-OKT3-CD32A (인공적인 항원 제시 세포)의 존재 하에 배양하고, 효능작용 항-OX40 항체, 이소타입 대조군, 또는 항-CD28 (클론 28.2)의 단계 희석물로 테스트하였다. 미리 정의된 시점에, 상청액을 수집하였다. 가용성 OX40을 상기 기재된 ELISA를 사용하여 정량하였다.

[0348] **도 20a 및 20b**에 제시된 바와 같이, sOX40의 수준이 OX40의 세포 표면 발현과 상호관련되었고, OX40의 절단인 세포 활성화-의존적이지만, OX40 효능제에 대해 특이적이지 않고, OX40.21에 결합된 완전한 sOX40이 총 가용성 OX40 수준의 감소와 상호관련된다 (즉, sOX40에 대한 "후크" 효과가 검출될 때 100% sOX40이 결합됨).

[0349] 다음으로, sOX40 수준에 대한 OX40.21-매개 "후크" 효과를 구제하는 항-CD28 항체의 능력을 테스트하였다. 총 T 세포를 피콜 구배 원심분리를 사용하여 인간 전혈로부터 정제하였다. CD4⁺ T 세포를 밀테니이 CD4⁺ 단리 키트를 사용하여 PBMC로부터 단리하였다. 단리된 T 세포를 방사선이 조사된 CHO-OKT3-CD32A의 존재 하에, 그리고 단독이거나 또는 일정한 농도의 항-CD28 항체 (클론 CD28.2)와 조합된 효능작용 항-OX40 항체, 이소타입 대조군의 단계 희석물의 존재 하에 배양하였다. 또 다른 사례에서, 일정한 농도의 항-CD28 항체를 단독으로 사용하였고, OX40.21 또는 이소타입 대조군의 단계 희석물을 72시간 (3일) 후에 18시간 동안 첨가하였다. 미리 정의된 시간 (D4)에 상청액을 수집하였다. 상기 기재된 MSD ELISA를 사용하여 가용성 OX40을 정량하였다.

[0350] **도 21a 및 21b**에 제시된 바와 같이, OX40.21 및 항-CD28 항체로의 세포의 공동-자극이 sOX40 수준에 대한 부가적인 효과가 있었다. 그러나, CD28 공동-자극은 sOX40에 대한 OX40.21-유도 "후크" 효과를 구제하지 않았다.

항-CD28 항체에 의해 예비-활성화된 세포를 OX40.21로 처리하는 것이 sOX40 방출을 유도하고 sOX40 수준에 대한 "후크" 효과를 관찰하는데 충분하였다. 종합적으로, 이러한 데이터는 sOX40이 시험관 내 및 체크포인트 차단과 조합된 면역자극 효능제로 치료된 환자 둘 다에서 1차 인간 T 세포 활성화의 바이오마커로서 사용될 수 있다는 것을 가리킨다. sOX40 측정이 면역자극 수용체에 결합하는 효능작용 항체가 단독요법으로서 또는 체크포인트 차단과 조합되어 제공된 환자에서 최적의 용량 및 스케줄을 결정하기 위한 임상 바이오마커로서 사용될 수 있다. 또한, 최적의 20-80% 범위를 초과하는 RO에 이르는 농도에서도 sOX40이 상실되기 때문에, sOX40의 생성은 20-40% RO 초과 OX40.21에서의 세포 표면으로부터의 OX40의 상실을 설명할 수 있는 메커니즘이 아니다. 이는 세포 표면 및 sOX40이 유사한 방식으로 조절된다는 것을 시사한다.

[0351] **실시예 9: OX40 내재화의 시험관내 평가**

[0352] 본 실시예는 차단 (OX40.21) 및 비-차단 (OX40.8) 항체로의 처리 후의 OX40의 내재화를 평가하였다. 검정의 일반적인 개략도가 도 22에 제시된다.

[0353] 더욱 구체적으로, 시험관 내에서 생성된 CD4⁺ Treg를 48시간 동안 CD3/CD28 다이내비드로 활성화시켰다. OX40.21, 비-차단제 OX40.8, 및 이소타입 대조군의 단계 회식물을 얼음 상에서 2시간 동안 세포와 함께 인큐베이션한 후, pH-민감성 접합된 항-인간 Fc를 2시간 동안 37°C에서 첨가하였다. 고정 후, 내재화에 대해 어레이 스캔(ArrayScan)에 의해 세포를 분석하였다.

[0354] 도 23에 제시된 바와 같이, OX40.21 및 OX40.8이 가교 시 Treg에 내재화되었다.

[0355] 추가적으로, 2가지 상이한 용량 (0.01 nM 및 100 nM)의 BMS-986178에 반응하여 OX40이 내재화되는 것이 측정되었다. 이러한 검정에서, 활성화된 Treg 또는 CD4⁺ T 세포를 이소타입 대조군 mAb 또는 BMS-986178과 함께 인큐베이션하였다. 그 후, pH-민감성 염료 (pHrodo)-접합된 항-Fc를 첨가하였다. 그 후, 어레이스캔 VTI (써모 피셔 사이언티픽) 상에서의 관독을 위해 세포를 고정하였다.

[0356] 도 36에 제시된 바와 같이, 0.01 또는 100 nM의 BMS-986178로 처리된 Treg 또는 CD4⁺ T 세포가 BMS-986178 농도-의존적 방식으로 약물-결합된 OX40을 내재화하였다.

[0357] **실시예 10: OX40.21의 효능작용 활성화에 대한 FcγR-매개 가교의 효과**

[0358] 본 실시예는 OX40.21의 효능작용 활성화에 대한 FcγR-매개 가교의 효과를 실연한다. 간략하게, CHO 세포를 각각 OKT3scFv 및 hFcγRIIa로 표시된 인간 FcγRIIa의 H131 대립유전자 (CD32a-H131)의 존재 (+ FcγR) 또는 부재 (- FcγR) 하에 세포막-결합 scFv 버전의 항-인간 효능제 CD3 클론, OKT3을 발현하도록 조작하였다. CHO 세포에 방사선을 조사하여 그의 증식을 제한하고, 다양한 양의 OX40.21과 함께 1차 인간 CD4 T 세포와 함께 배양하였다. T 세포 증식 및 일차 인간 CD4 T 세포에 의한 IFN-γ 분비를 4일 기간에 걸쳐 평가하였다.

[0359] 도 24에 제시된 바와 같이, BMS-986178 처리가 용량 의존적 및 가교 의존적 방식으로 CD4⁺ T 세포 증식 및 IFN-γ 생산을 유도하였다. FcγR-매개 가교가 IFN-γ 분비 및 T 세포 증식 둘 다에서 BMS-986178-매개 증가를 촉진하였다. 그러나, CHO 세포에 CD32a (CD32a-H131)가 결여되었을 때 증식 및 IFN-γ가 부재하였고, 이는 BMS-986178 활성이 FcγR-매개 가교를 필요로 한다는 것을 시사한다.

[0360] **실시예 11: 항-OX40 항체 단독요법 및 항-PD1 조합 요법에 의해 유도된 말초 약역학 마커의 특징화**

[0361] 본 실시예는 OX40.23 단독요법 또는 OX40.23 및 항-PD1 항체의 조합물로 처리된 마우스, 및 항-PD1 항체 (니볼루맵)와 조합된 OX40.21로 치료된 인간 환자에서의 특정 약역학 마커의 유도를 실연한다.

[0362] CT26 종양이 확립된 마우스를 OX40.23 단독요법으로 또는 항-PD-1 항체와 조합하여 처리하였다. OX40.23 용량 증량을 90 mg/kg까지의 3배 증가로 0.01 mg/kg에서 시작하였다. 항-PD-1 항체를 10 mg/kg (또는 200 ug/마우스 균일 용량)으로 투약하였다. OX40.23 및 항-PD1 항체를 제6일, 제13일 및 제20일에 동일한 스케줄로 투여하였다. 개별적인 마우스로부터 50 uL의 전혈을 제8일, 제12일, 제15일 및 제19일에 수집하였다. OX40.23-mIgG1 ± 항-PD-1으로의 처리 후 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포에서의 말초 약역학 마커 (ICOS, FOXP3, Ki67, 및 CD44)의 유도를 결정하기 위해 유동 분석을 수행하였다. 도 25는 투약 스케줄의 개략도를 제시한다.

[0363] 도 26a에 제시된 바와 같이, CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포 둘 다 CD4 이펙터 T 세포 (Foxp3-) 및 CD8⁺ T 세포 둘 다에서의 활성화 마커 (ICOS, CD44, Ki67)의 용량-의존적 상향조절, 및 더 높은 용량에서의 하향조절 ("후크" 효과)을 나타냈다.

- [0364] 유사하게, OX40.21 + 항-PD1 항체 (니볼루맵)으로 치료된 인간 환자에서, 조합 치료가 증식 중인 (Ki67+) CD8+ T 세포를 증가시켰고 (도 26b), 종양 기질 내의 FOXP3+ 세포를 감소시켰다 (도 26c).
- [0365] 환자 종양 샘플의 면역조직화학 분석로부터의 결과가 일관적이었다. 예를 들어, 도 26d에 제시된 바와 같이, 3가지 계통의 선행 요법 (메트록시프로게스테론, 레트로졸, 및 카르보플라틴 및 파클리탁셀)이 제공되었고, OX40.21 (320 mg) + 니볼루맵 (240 mg)으로 부분 반응이 달성된 68세의 여성 자궁내막암 환자로부터의 샘플이 Ki67+ CD8+ T 세포 수의 증가를 나타냈다. 또한 조합 요법은 안정적 질환을 달성한 난소암 환자로부터의 종양 샘플에서 FoxP3+ 세포를 감소시켰다. 도 26e에 제시된 바와 같이, FoxP3+ 세포 감소가 선행 수술 및 화학요법 (카르보플라틴 및 파클리탁셀)이 제공된 59세의 여성 장액성 난소암 환자 (상부 패널), 및 선행 수술 및 화학요법 (카르보플라틴 및 파클리탁셀)이 제공된 72세의 난소 선암종 환자 (하부 패널)에서 관찰되었다.
- [0366] **실시예 12: 초기 T 세포 활성화 마커와 항-OX40 및 항-PD1 조합 요법에 대한 종양 반응 사이의 상관관계**
- [0367] 본 실시예는 초기 T 세포 활성화 마커와 항-OX40 (OX40.23) 및 항-PD1 조합 요법에 대한 종양 반응 사이의 상관관계를 평가하였다.
- [0368] 제20일의 종양 진행 상태를 기반으로 마우스를 2개의 군으로 분리하였다. 종양 부피가 >100 mm³인 마우스는 비-반응자로 간주되었고, 종양 부피가 ≤100 mm³인 마우스는 반응자로 간주되었다.
- [0369] 도 27a 및 27b에 제시된 바와 같이, 종양 부피의 명확한 분리가 없었던 제12일의 CD44+ CD8+ 및 Ki67+ CD8+ T 세포의 백분율이 후속 종양 반응과 양의 상관관계가 있었고, 이는 조합 요법에 대한 최적의 용량 및 스케줄을 규정하게 할 수 있다. 종양 부담에서의 최대 % 감소에 의해 % Ki67+CD8+ T 세포의 최대 변화로서 플롯팅된 데이터도 또한 종양 부담의 감소와 증식 중인 CD8+ T 세포 사이의 양의 상관관계를 나타냈다 (도 27c). 유사하게, OX40.21 + 항-PD1 항체 (니볼루맵)로 치료된 인간 환자에서, 항종양 활성이 증식 중인 Ki67+CD8+ T 세포 증가와 상호관련되었다 (도 27d).
- [0370] **실시예 13: 종양 성장에 대한 항-ICOS 항체의 용량을 증가시키는 것의 효과**
- [0371] 본 실시예는 항-ICOS + 항-PD1 조합 요법에서 효능작용 항-ICOS 항체가 더 높은 용량에서의 효능 감소 (즉, "후크 효과")를 나타낸다는 것을 실연한다.
- [0372] 간략하게, CT26 종양이 확립된 마우스 (평균 체중 약 20 mg)를 항-PD-1 단독요법으로 또는 항-ICOS 항체와 조합하여 처리하였다. 항-ICOS 용량 증량을 10 mg/kg (또는 약 200 μg/마우스 균일 용량의 최대 용량)까지의 3배 증가로 0.1 mg/kg에서 시작하였다. 항-PD-1 항체를 10 mg/kg (또는 약 200 μg/마우스 균일 용량의 최대 용량)으로 투약하였다. 항-ICOS 및 항-PD1 항체를 종양 이식 후 동일한 스케줄로 (즉, 제7일에 시작하여 4일마다) 투여하였다.
- [0373] 도 28에 제시된 바와 같이, 항-ICOS + 항-PD1 조합 요법에서의 최대 종양 성장 억제 (TGI)가 테스트된 최대 용량 (10 mg/kg)보다 더 낮은 용량의 항-ICOS 항체 (3 mg/kg)에서 관찰되어, 3 mg/kg 초과 용량에서의 TGI 감소를 실연하였다. 이는, 효능작용 항-OX40 항체와 유사하게, 다른 면역자극 수용체, 예컨대 ICOS를 표적화하는 효능작용 항체가 "후크 효과"를 나타내고, 포화-미만 용량에서 최대 효능을 달성한다는 것을 시사한다.
- [0374] **실시예 14: 약동학/약역학 (PK/PD)-기반 접근법을 사용한 OX40.21의 최초 인간 대상 출발 용량의 선택**
- [0375] 종양학적 작용제의 최초 인간 (FIH) 용량은 통상적으로 국제 조화 회의 가이드라인 (International Conference on Harmonisation Guideline)을 기반으로 하고, 이는 면역 효능작용 특성이 있는 생물제약에 대해 적합한 FIH 출발 용량이 비-설치류로부터의 최고 비-중증 독성 용량 (HNSTD)의 1/6, 또는 최소 예상 생물학적 효과 수준 (MABEL)일 것을 권장한다. 그러나, MABEL-기반 접근법은 환자에게 임상 이점을 제공하지 못한다. 본 실시예는 항종양 효능, 즉, 의도되는 약리학적 효과를 기반으로 FIH 출발 용량을 선택하기 위한 PK/PD-기반 접근법을 기재한다.
- [0376] 간략하게, 유동 세포측정법을 사용하여 인간 및 무린 활성화 T 세포에서의 시험관내 결합 절반 최대 유효 농도 (EC₅₀) 값을 결정하였다. 마우스에서의 PK/PD 결정을 위해, OX40.21이 마우스 OX40에 결합하지 않기 때문에 마우스 대용물 항체 (마우스 IgG1 (mIgG1) 및 IgG2a (mIgG2a) 이소타입으로 재설정된 햄스터 항-마우스 OX40 효능제 모노클로날 항체)를 사용하였다. 항종양 효능에 대해, 마우스 MC38 및 CT26 결장 선암종 모델을 사용하여 처리군 및 대조군에서의 종양 성장 곡선의 곡선하 면적의 중앙값으로부터 퍼센트 종양 성장 억제 (%TGI)를 결정하였다. 대용물 항체 및 OX40.21을 사용하여 시노물구스 원숭이에서 PK 연구를 수행하였다. 클리어런스 및 정

상 상태 분포 부피 (V_{ss})에 대해 각각 0.85 및 1의 세기 지수로 단순 알로메트리를 사용하여 원숭이 데이터로부터 인간 PK를 예측하였다. 시험관내 시토카인 방출을 드라이 코트 양식을 사용하여 평가하였다 (예를 들어, 문헌 [Finco et al. Cytokine 2014;66:143-55] 참조). 제1일 및 제28일에 투약하면서, 시노물구스 원숭이에서 OX40.21로 아데노바이러스 혈청형 5-유인원 면역결핍증 바이러스 (Ad5-SIV) 백신접종 연구를 수행하였다. 5주 동안 주 1회로 30 mg/kg, 60 mg/kg, 및 120 mg/kg의 OX40.21을 30분 정맥내 (iv) 주입으로 원숭이에게 투여하여, 1개월 반복-투약 독성학 연구를 시노물구스 원숭이에서 수행하였다.

표 6에 제시된 바와 같이, 마우스 대용물 항체가 OX40.21의 것과 유사한 결합 EC_{50} 값을 나타냈다.

표 6

활성화된 T 세포에서의 결합 EC_{50} (pM)			
항체	인간 T 세포	시노물구스 T 세포	마우스 T 세포
OX40.21 (인간)	72	68	결합 없음
mIgG1 (마우스)	결합 없음	결합 없음	130
mIgG2a (마우스)	결합 없음	결합 없음	220

다음으로, 제1주 동안의 최대 약물 농도 ($C_{max(제1주)}$) 또는 곡선하 면적 ($AUC_{0-제1주}$)을 항종양 효능과 상호관련시키기 위해 PK/PD 분석을 수행하였다. 인간 유효 용량을 추정하고, 광범위한 환자 범위에 대해 더욱 보존적이기 위해, CT26 모델에 비교하여 항-OX40 치료에 대한 더 낮은 민감성으로 인해 MC38 모델에서의 항종양 효능에 대해 분석을 집중하였다. 햄스터에서 기원하는 것으로 인해 마우스 대용물의 PK가 제2주의 면역원성에 유의하게 영향을 받았기 때문에, 효능제의 약리학적 작용이 C_{max} 또는 초기 약물 노출에 의해 구동되는 것으로 가정하여, 효능 테스트에 사용된 다양한 레지멘 하에 제1주 C_{max} 및 AUC 데이터를 시뮬레이션하였다. 마우스 MC38 종양 모델에서의 mIgG1 및 mIgG2 모노클로날 항체의 노출-반응 관계가 **도 29**에 제시된다.

상응하는 PK 실험을 시노물구스 원숭이에서 또한 수행하였으며, 그의 결과는 **표 7**에서 요약된다.

표 7

용량, mg/kg	AUC _총 , μg/mL x 일	$T_{1/2}$, 일	클리어런스, mL/일/kg	V_{ss} , mL/kg
0.4	86 ± 5	5.6 ± 0.5	4.8 ± 0.2	36 ± 2
4	785 ± 138	6.2 ± 0.6	5.3 ± 1.0	49 ± 12

상기 마우스 및 원숭이 데이터를 기반으로, 예상 인간 $T_{1/2}$ 은 9일이었다. 마우스에서의 것과 동일한 인간에서의 $AUC_{0-제1주}$ 및 $C_{max(제1주)}$ 를 달성함으로써, OX40.21의 인간 유효 용량이 1 mg/kg인 것으로 추정되었다. 임상적으로 관련된 용량에 더욱 효율적으로 도달하기 위해 추정 유효 용량의 4-배 아래이도록 인간 출발 용량을 선택하였다 (즉, 0.25 mg/kg, 또는 80 kg 체중에 대해 20 mg).

하기와 같이, FIH 출발 용량 선택을 통지하기 위해 추가적인 지지 데이터가 획득되었다:

- 제1일 및 제28일에 원숭이에게 투여되었을 때의 OX40.21로의 Ad5-SIV 백신접종 연구에서, 4 mg/kg의 IV 용량에서 백신-유도 T-세포 반응의 최소 증진이 밝혀졌다.
- 테스트된 최고 농도 (10 μg/웰 또는 0.3 mL의 인큐베이션 부피를 사용하여 어립된 33 μg/mL)에서 드라이-코트 양식을 사용한 인간 말초혈 단핵 세포에서 OX40.21이 시토카인 방출을 유도하거나 발현 마커의 활성화를 증가시키지 않았다.
- 원숭이에서의 1개월 반복-용량 독성학 연구로부터의 HNSTD 또는 비-유해-사례 수준이 120 mg/kg/주인 것으로 결정되었고, 1/6 HNSTD 용량은 17 mg/kg (노출 기반) 또는 20 mg/kg (체중 기반)인 것으로 계산되었다.

[0389] · 테스트된 최고 용량 (2 mg/kg)의 인간에서의 약물 농도 ($\approx 40 \mu\text{g/mL}$)가 투약 첫주 전반에 걸쳐 잘 유지되었다는 사실에도 불구하고, 문헌에 보고된 또 다른 마우스 항-인간 OX40 효능제 mAb로의 임상 경험은 암 환자에 서 급성 독성을 나타내지 않았다 (문헌 [Curti et al., Cancer Res 2013;73:7189-98] 참조). 2 mg/kg에서, 인간 C_{max} 는 약 $80 \mu\text{g/mL}$, 또는 보고된 시험관내 결합 EC_{50} (48 ng/mL 또는 0.3 nM)에 비해 $>1,500$ -배였다.

[0390] 표 8은 PK/PD-기반 FIH 출발 용량에서의 C_{max} 한계 및 상기 언급된 추가적인 지지 데이터를 요약한다.

[0391] 표 8

	PK/PD-기반 FIH 출발 용량	독성학 - 기반 FIH 출발 용량 (1/6 원숭이 HNSTD)	드라이-코트 시토카인 방출 검정에서의 효과 없음 수준 ^a	원숭이에서의 최소 백신-유도된 T-세포 반응	이전에 보고된 항-OX40 효능제로의 임상적으로 허용되는 노출
용량, mg/kg	0.25	17-20	1.3	4	2
C_{max} , $\mu\text{g/mL}$	6.3	425-500	33	78	80
C_{max} 한계 (vs PK/PD-기반 FIH 출발 용량)	NA	68-80x	5.3x	13x	2.5x ^b

NA: 적용가능하지 않음

^a드라이-코트 시토카인 방출 검정에서의 약물 농도는 인큐베이션 부피 (0.3 mL)를 사용하여 근사화되었고, 인간 용량은 효과 없음 약물 수준에 40 mL/kg 의 혈장 부피를 곱하여 계산되었음

^b한계는 결합 EC_{50} 값에서의 차이로 정규화 후에 계산되었음

[0392]

[0393] 요약하면, 의도되는 약리학적 효과로서의 항종양 효능에 초점을 맞춘 PK/PD-기반 접근법이 효능작용 항-OX40 항체 OX40.21의 FIH 출발 용량을 선택 및 정당화하는데 효과적으로 사용되었다. 선택된 FIH 출발 용량 (80 kg 의 체중을 가정하여 20 mg)이 임상전 시험관내 및 생체내 독성학 데이터에 의해 지지되었다. 시험관내 및 생체내 독성학 소견과 함께, FIH 출발 용량 선택을 위한 PK/PD-기반 전략은 치료 용량 미만의 용량이 제공되는 암 환자의 수를 최소화하면서 적합한 안전성을 보장하려는 의도를 반영한다.

[0394] 실시예 15: OX40.21 단독요법 및 OX40.21 + 니볼루맵 용량-증량 시험에서의 환자 특징 및 치료-관련 유해 사례

[0395] 본 실시예는 용량-증량 시험에서 OX40.21 단독요법 ($n=20$) Q2W 및 OX40.21 + 니볼루맵 조합 요법 ($n=39$) Q2W를 받고 있는 환자에서의 기준선 인구 통계, 선행 요법, 및 종양 유형 및 유해 사례를 요약한다. 환자 특징이 표 9에서 요약되고, 유해 사례가 표 10에서 요약된다.

[0396] 표 9.

		OX40.21 단독요법	OX40.21 + 니볼루맵
중양값 나이 (범위), 세		61 (24-80)	61 (32-82)
성별, n	남성/여성	13/7	20/19
ECOG ps, n	0-1 보고되지 않음	19 1	38 1
인종, n	백인 흑인 기타	16 2 2	38 0 1
선행 요법 횟수, n	0 1 2 ≥ 3	0 9 3 8	4 9 8 18
선행 면역요법, n	선행 항-PD-1/PD-L1 선행 항-CTLA-4 둘 다	6 4 4	12 4 4
종양 유형, n	CRC 흑색종 췌장암 기타 ^a	7 4 4 5	8 6 3 22

^a유방암, 방광암, 자궁경부암, 자궁내막암, 위암, HCC, NSCLC, 난소암, 전립선암, RCC, 및 SCCHN을 포함함

CRC = 결장직장암; CTLA-4 = 세포독성 T 림프구 항원 -4; ECOG PS = 동부 종양학 협력 그룹 수행 상태; HCC = 간세포 암종; NSCLC = 비-소세포 폐암; PD-L1 = 프로그래밍된 사멸 리간드 1; RCC = 신세포 암종; SCCHN = 두경부의 편평세포암

[0397]

[0398] 표 10.

OX40.21	OX40.21 + 니볼루맵 240 mg						
	모든 단독요법 n = 20	20 mg n = 7	40 mg n = 8	80 mg n = 8	160 mg n = 8	320 mg n = 8	총 n = 39
임의의 TRAE, n	5 ^a	4	3	3	6	4	20
총 조합 코호트 내 ≥ 2명 환자에서 1등급 또는 2등급 TRAE, n							
피로	0	0	1	1	3	0	5
발열	1	0	1	2	0	2	5
관절통	0	0	1	1	2	0	4
오한	0	1	0	0	1	0	2
설사	1	1	0	0	1	0	2
감상전기능저하증	0	0	1	0	0	1	2
오심	1	0	0	0	1	1	2
임의의 3/4등급 TRAE	1 ^b	0	0	0	1 ^c	0	1 ^c

1명의 환자 각각이 심각한 유해 사례인 2등급 폐렴 (OX40.21 320 mg) 및 3등급 폐렴을 경험하여 중단에 이르렀고, 이는 DLT로 간주되었다; 1명의 환자가 3등급 피로를 경험하였다. TRAE: 치료-관련 유해 사례

[0399]

[0400] 최대-허용 용량에 도달되지 않았고, 치료-관련 사망이 발생하지 않았다. OX40.21 + 니볼루맵의 안전성 프로파일은 니볼루맵 단독요법의 것과 유사하였다.

[0401] 진행성 고형 종양이 있는 환자에서의 OX40 공동자극 효능제 BMS-986178 ± 니볼루맵 (NIVO) 또는 이필리무맵 (IPI)의 1/2a상 연구에서의 OX40 수용체 조정

[0402] 실시예 16: 조합 요법에 비교된 단독요법의 약동학

[0403] 하기 실시예는 도 39에 제시된 바와 같은 연구 디자인의 개략도를 따른다. 인간에게 단독요법 용량의 BMS-986178, 조합 용량 증량의 BMS-986178 및 240 mg의 니볼루맵 (IV Q2W), 또는 조합 용량 증량의 BMS-986178 및

1 mg/kg의 이필리무맙 (IV Q3W)을 제공하였다. **도 39**의 기준을 충족시키는 환자가 연구에 적격이었다.

- [0404] 조합 요법에 비교하여 단독요법의 약동학을 평가하기 위해, 환자 혈액 샘플을 사이토-체크스(Cyto-Chex) BCT (스트렉(Streck))에서 수집하였다. 적혈구 용해 후, 표면 마커에 대해 특이적인 형광 표지 항체를 사용하여 세포를 염색하였다. 표면 염색 후, 샘플을 고정하고, 투과시키고, 세포내 마커에 대한 항체로 염색하였다. 염색된 샘플을 베크만 쿨터 사이토플렉스(Beckman Coulter CytoFlex) S 유동 세포측정기 상에서 획득하고, 생성된 데이터를 플로우조 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.
- [0405] 이러한 연구에서, 90명의 환자가 치료되었다 (BMS-986178 단독요법, n = 20; BMS-986178 + NIVO, n = 38; BMS-986178 + IPI, n = 32). **도 40**에 제시된 바와 같이, BMS-986178 단독 또는 니볼루맙 또는 이필리무맙과의 조합물의 PK가 20 내지 320 mg의 BMS-986178 용량에 대해 선형이었다. 따라서, BMS-986178의 농도-시간 프로파일은 1차 제거로 선형, 2-구획 0차 IV 주입 모델에 의해 잘 기재되었다.
- [0406] **실시예 17: 단독요법 및 조합 (효능제 BMS-986178 ± 니볼루맙 (NIVO) 또는 이필리무맙 (IPI)) 요법의 전혈 OX40 수용체 점유율 (RO) 평가**
- [0407] 전혈 OX40 수용체 점유율 (RO) 평가를 평가하기 위해, 환자 혈액 샘플을 포화 용량의 BMS-986178과 함께 인큐베이션하여 총 OX40 발현을 측정하거나 또는 BMS-986178 없이 인큐베이션하여 결합된 약물을 측정한 후, C1D1, C1D8, C2D1, 또는 C5D1의 표면 마커에 대한 염색 및 유동 세포측정법 분석이 이어졌다.
- [0408] **도 41**에 제시된 바와 같이, Treg 상에서의 말초 OX40 RO가 BMS-986178 20 mg으로 처리된 환자에서 포화에 근접하였고, ≥40 mg의 용량에서 포화되었다.
- [0409] 다음으로, ≥ 40 mg BMS-986178으로 처리된 환자에서 말초 Treg의 하향조절이 있는지 여부를 평가하였다. 말초 Treg에서의 총 OX40을 테스트하기 위해, 환자 혈청 내의 총 sOX40을 측정하는 검정이 메조 스케일 디스커버리 (Meso Scale Discovery) (MSD) 플랫폼을 사용하여 개발 및 검증되었다. MSD 금 96웰 스트렙타비딘 플레이트를 비오틴화 포획 항체로 코팅한 후, 환자 혈청 인큐베이션이 이어졌다. 포획된 sOX40을 루테닐화 검출 항체를 사용하여 검출하고, MSD SECTOR 기구를 통해 전기화학발광을 측정하였다.
- [0410] **도 42**에 제시된 바와 같이, RO가 포화에 근접한 ≥40 mg의 BMS-986178로 치료된 환자에서 Treg의 표면 상에서의 OX40 발현의 하향조절이 관찰되었다.
- [0411] 다음으로, BMS-986178 단독요법으로 또는 BMS-986178 및 니볼루맙 또는 이필리무맙의 조합물로 치료된 개별적인 환자에서 이러한 경향이 또한 관찰되었는지 여부를 결정하였다. **도 43a 및 43b**에 제시된 바와 같이, T-세포 활성화의 마커인 sOX40이 BMS-986178 ± 니볼루맙 또는 이필리무맙으로 치료된 환자에서 시간- 및 용량-의존적 조정을 나타내어, BMS-986178에 의한 OX40 결속이 확증되었다. RO 결과 (**도 42**) 및 임상전 관찰 (데이터는 제시되지 않음)과 일관되게, ≥ 160 mg BMS-986178으로 치료된 환자에서의 sOX40 수준이 거의 포화가 되었다.
- [0412] **실시예 18: 단독요법 및 조합 (효능제 BMS-986178 ± 니볼루맙 (NIVO) 또는 이필리무맙 (IPI)) 요법의 혈청 시토키인 발현**
- [0413] 인터페론-감마 (IFN-γ) 및 IP-10을 BMS-986178 단독요법 및 조합 요법으로 치료된 환자에서 측정하였다. 간략하게, 환자 혈청 내의 IFN-γ 및 IP-10을 루미넥스(Luminex)-기반 기술 (여러 인간 염증성 MAP 패널이 조합된 맞춤형 다중-분석물 프로파일 [MAP] 패널 [미리어드 RBM(Myriad RBM)])을 사용하여 측정하였다. **도 44a 및 44b**에 제시된 바와 같이, BMS-986178 ± NIVO 또는 IPI가 TH1-연관 시토키인 IFN-γ (**도 44a**) 및 염증유발성 시토키인 10kDa IFN-γ 유도 단백질 IP-10 (**도 44b**)의 생산을 자극하였고, 이는 말초 T-세포 활성화를 시사한다. 추가로, 더 많은 명수의 BMS-986178 + NIVO 또는 IPI가 제공된 환자가 IFN-γ 및 IP-10 생산의 강건한 증가를 나타냈다.
- [0414] BMS-986178 ± NIVO 또는 IPI가 증식 중인 (Ki67+) CD4+ 및 CD8+ 이펙터 기억 T 세포의 수준을 증가시켰다는 것이 또한 관찰되었다. **도 45a 및 45b**에 제시된 바와 같이, BMS-986178 ± NIVO 또는 IPI로 치료된 환자가 증식 중인 (Ki67+) CD4+ 이펙터 기억 T 세포 (**도 45a**) 및 CD8+PD-1+ 말단 이펙터 기억 T 세포 (**도 45b**) 증가를 나타냈다. 따라서, BMS-986178 + NIVO 또는 IPI는 BMS-986178 단독보다 더 많은 명수의 환자에서 증식 중인 CD4+ 및 CD8+ 이펙터 기억 T 세포의 더욱 극심한 증가를 나타냈다.
- [0415] 상기 제시된 데이터를 기반으로, 특정 메커니즘에 제한되지 않으면서, BMS-986178 용량, OX40 RO, OX40 발현, 및 PD 조정 사이의 관계의 개략적인 모델이 **도 37**에 제시된다.

[0416] 실시예 19: 인간 총 가용성 OX40 바이오마커 검정의 개발 및 검증

[0417] 실시예 17에 기재된 바와 같이, 환자 혈청에서 총 sOX40을 측정하는 검정이 메조 스케일 디스커버리 (MSD) 플랫폼을 사용하여 개발 및 검증되었다. 정확도 및 정밀도, 희석 선형성/평행성, 특이성 (매트릭스 효과 및 약물 간섭), 안정성 및 선택성을 포함하여, 목적에 맞는 바이오마커 검증을 사용하여 검증된 검정을 수행하였다.

[0418] 검증 결과가 도 46a 내지 46h 및 표 11-12에서 제공된다. 제시된 바와 같이, 인간 혈청 총 sOX40의 검정 범위는 25 - 20,000 pg/mL였다. 7개의 표준 곡선 지점 (n = 20)의 정확도는 98-103% 내였고, CV는 ≤ 8%였다. QC 성능은 허용가능한 한도 내였고, CV는 LQC, MQC, HQC, 및 ULOQ에 대해 14% 미만이었다 (LLOQ는 26% CV). 표 11 및 12. 검정 교정물은 BMS-986178과 시판 교정물 (즉, OX40-His_Sino 및 OX40-Fc_R&D) 사이의 평행성을 실연하였다. 도 46a. 2개의 상이한 항체 쌍 사이의 혈청 OX40 상관관계 또한 양호하였다. 도 46b. 희석 선형성/평행성, 특이성, 안정성 및 선택성 모두가 예상 농도의 ± 25% 내에서 회수되었다. 도 46c 내지 46e. OX40의 보관 및 냉동-해동 안정성 또한 성능 기대치 내였다. 도 H. 마지막으로, 항-OX40 항체, OX40L 융합 단백질, 니볼루맵, 및 이필리무맵으로부터의 최소 간섭이 관찰되었다. 도 46f, 46G, 및 48. 이러한 결과들은 임상 샘플의 분석을 위한 검정의 높은 정밀도, 감도 및 적절성을 실연한다.

[0419] 표 11: 교정 곡선 검증 데이터의 요약

혈청 내 농도 (pg/mL)	20000	8000	3000	1000	300	100	50	25
플레이트 상 농도 (pg/mL)	10000	4000	1500	500	150	50	25	12.5
역-계산된 OX40 (pg/mL)								
n	20	20	20	20	20	20	20	20
평균 (pg/mL)	10180	4008	1488	496	150	51	25	12.3
%CV	8	2	3	2	2	3	5	5
%정확도	102	100	99	99	100	103	100	98

[0420]

[0421] 표 12: QC 성능

	LLOQ_A	LLOQ	LQC	MQC1	MQC2	HQC	ULOQ
n	24	40	40	40	40	40	40
평균 (pg/mL)	31	61	126	841	2462	15378	20158
%CV_검정내	14	7	7	5	5	5	6
%CV_검정간	24	13	9	9	9	8	8
%CV	26	14	11	10	10	9	10
평균 ±2 표준 편차	15-48	43-78	99-153	668-1013	1963-2960	12527-18230	16318-23998

[0422]

[0423] 검증되었으면, 검정을 사용하여 건강한 지원자 및 암 대상체에서 혈청 sOX40 수준을 측정하였다. 도 47에 제시된 바와 같이, sOX40 수준이 정상적인 건강한 개체에 비교하여 암 환자 (두경부, 난소, 또는 자궁경부)에서 유의하게 상승되었다. 이러한 결과는 암을 치료하기 위해 항-OX40 항체 (예를 들어, BMS-986178)를 단독으로 또는 다른 치료제, 예컨대 니볼루맵 및 이필리무맵과 조합하여 사용하는 것을 지지한다.

[0424] 표 13: 서열 요약

SEQ ID	설명	서열
1	인간 OX40 전구체	MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECR PGNGMVSRCRSQNTVCRPCGPGFYNDVVSSKPCPKCTWCNLRSGSE RKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPGPHFSPGDNQAC KPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPATQPQETQGPPARPIT VQPTAEWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILL ALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI
2	성숙 인간 OX40의 세포외 도메인	LHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSQNTVCRPCGPGFYNDV VSSKPCPKCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPG VDCAPCPGPHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDR DPPATQPQETQGPPARPITVQPTAEWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVA A
3	시노볼구스 OX40	MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTTAKLHCVGDTYPSNDRCCQECR PGNGMVSRCNRSQNTVCRPCGPGFYNDVVSAPCKACTWCNLRSGSE RKQPCCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPGPHFSPGDNQAC KPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPTQPQETQGPPARPIT VQPTAEWPRTSQRPSTRPVEVPRGPAAAILGLGLALGLLGPLAMLL ALLLLRRDQRLPPDAPKAPGGGSFRTPIQEEQADAHSAALAKI
4	인간 OX40-L	MEVQPLEEN VGNAARPRFE RNKILLVASV IQGLGILLCF TYICLHFSTL QVSHRYPRIQ SIKVQFTEYK KEKGFILTSQ KEDEIMKVQN NSVIINCDF YLISLKGYES QEVNISLHYQ KDEEPLFQIK KVRSVNSLMV ASLTYYKDKVY LNVT'DNTSL DDFHVNGGEL ILIHQNPGEF CVL*
5	OX40.21 VHCDR1	SYAMY
6	OX40.21 VHCDR2	AIDTDAGTFYADSVRG
7	OX40.21 VHCDR3	LGEGYFFDY
8	OX40.21 VLCDR1	RASQSVSSYLA
9	OX40.21 VLCDR2	DASNRA
10	OX40.21 VLCDR3	QQRSNWPPT
11	OX40.21 VH	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEW VSAIDTDAGTFYADSVRGRTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYF CARLGEGYFFDYWGQGLTVTVSS
12	OX40.21 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL IYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNW PPTFGGKVEIK
13	OX40.21 HC	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEW VSAIDTDAGTFYADSVRGRTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYF CARLGEGYFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTV PSSSLGTQTYICNVNHPKSTKVDKRVPEPKSCDKHTCTCPPEPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV

[0425]

		EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNNHYTKSLSLSPG
14	OX40.21 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNW PPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	OX40.21에 의해 결합된 OX40 폴리펩티드	DVVSSKPCPKCTWCNLR
16	중쇄 - 니볼루맵	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGL</u> <u>EWVAVIWDGSKRYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCATNDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT</u> <u>VPSSSLGKTCTYCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPCPAPEFLG</u> <u>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV</u> <u>EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG</u> <u>LPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSDEEMTKNQVSLTCLVKGFYP</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN</u> <u>VFSCSVMHEALHNNHYTKSLSLSLGLK</u>
17	경쇄 - 니볼루맵	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNW PRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18	중쇄 가변 영역 - 니볼루맵	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGL</u> <u>EWVAVIWDGSKRYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCATNDYWGQGLVTVSS</u>
19	경쇄 가변 영역 - 니볼루맵	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNW PRTFGGQTKVEIK
20	HCDR1 - 니볼루맵	NSGMH
21	HCDR2 - 니볼루맵	VIWYDGSKRYADSVKG
22	HCDR3 - 니볼루맵	NDDY
23	LCDR1 - 니볼루맵	RASQSVSSYLA
24	LCDR2 - 니볼루맵	DASNRAT
25	LCDR3 - 니볼루맵	QQSSNWPR
26	중쇄 가변 영역 - 이필리무맵 (WO01/014424)	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGL</u> <u>EWVTFISYDGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAIY</u> <u>YCATGWLGPFDYWGQGLVTVSS</u>
27	경쇄 가변 영역 - 이필리무맵 (WO01/014424)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGGQTKVEIK
28	HCDR1 - 이필리무맵 (WO01/014424)	SYTMH
29	HCDR2 - 이필리무맵 (WO01/014424)	FISYDGNKYYADSVKG
30	HCDR3 - 이필리무맵	TGWLGPFDY

[0426]

	(WO01/014424)	
31	LCDR1 - 이필리무맵 (WO01/014424)	RASQSVGSSYLA
32	LCDR2 - 이필리무맵 (WO01/014424)	GAFSRAT
33	LCDR3 - 이필리무맵 (WO01/014424)	QQYGSSPWT

[0427]

[0428]

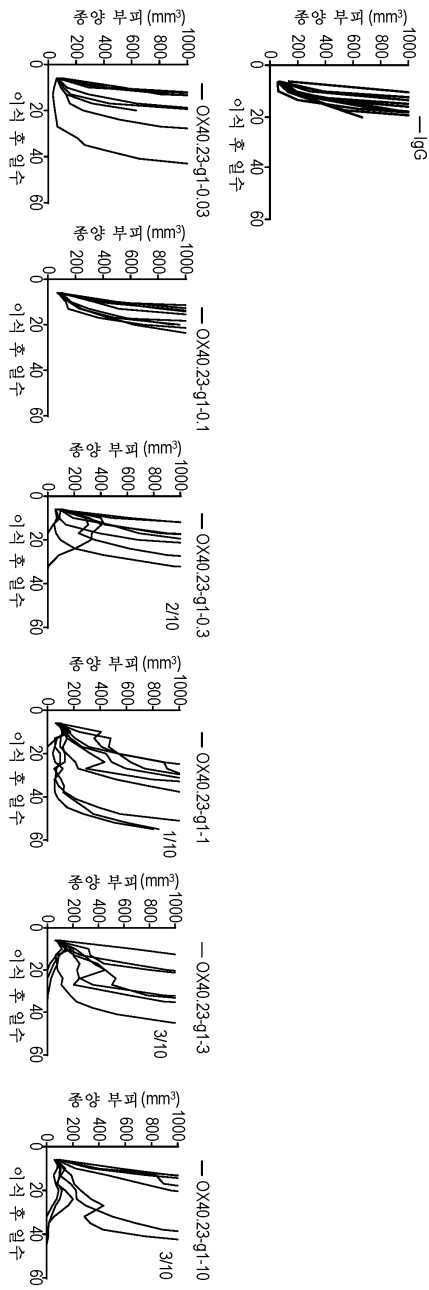
등가물:

[0429]

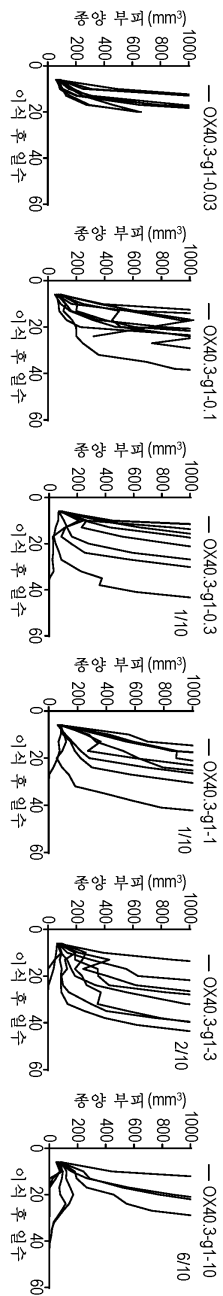
관련 분야의 기술자는 본원에 개시된 구체적 실시양태의 다수의 등가물을 인지하거나 또는 일상적인 실험을 사용하여 이를 확인할 수 있을 것이다. 이같은 등가물은 하기에 의해 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

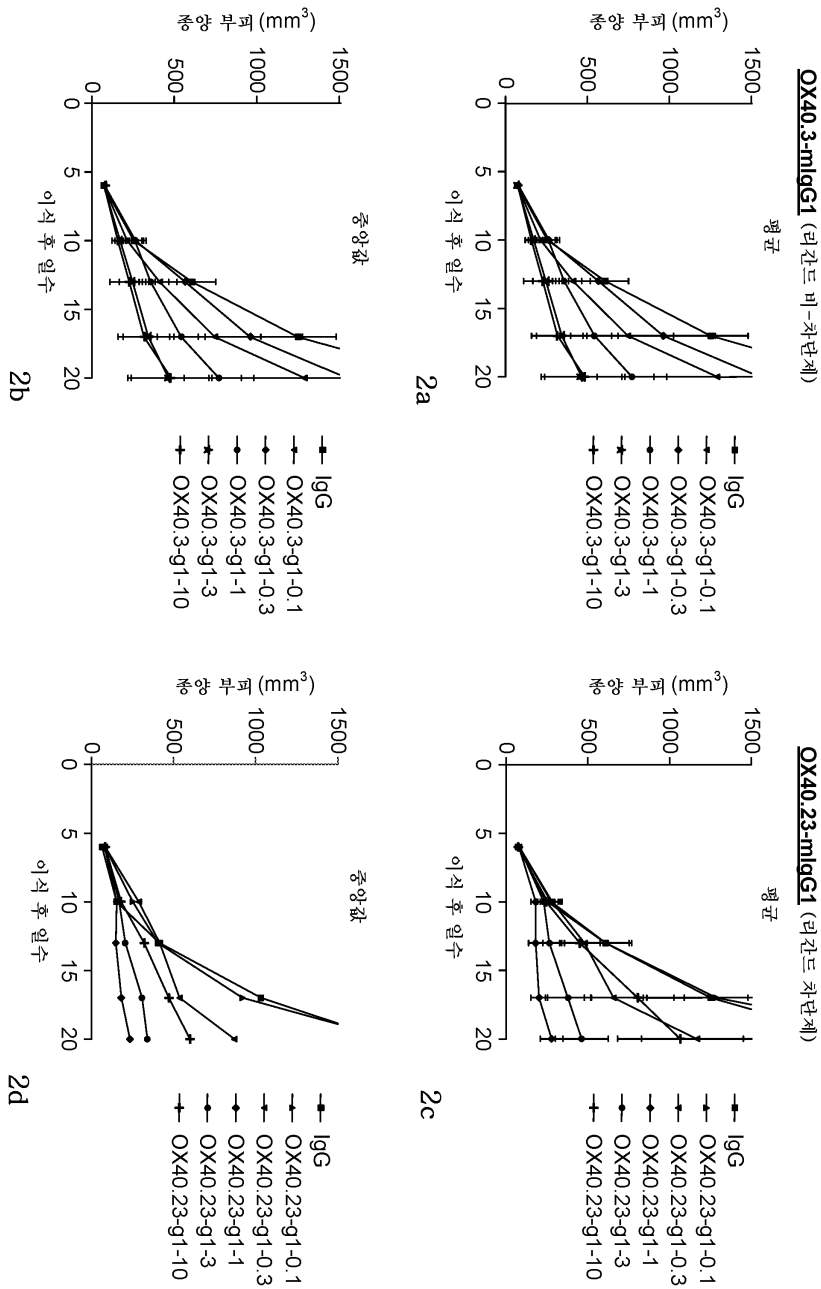
도면1a



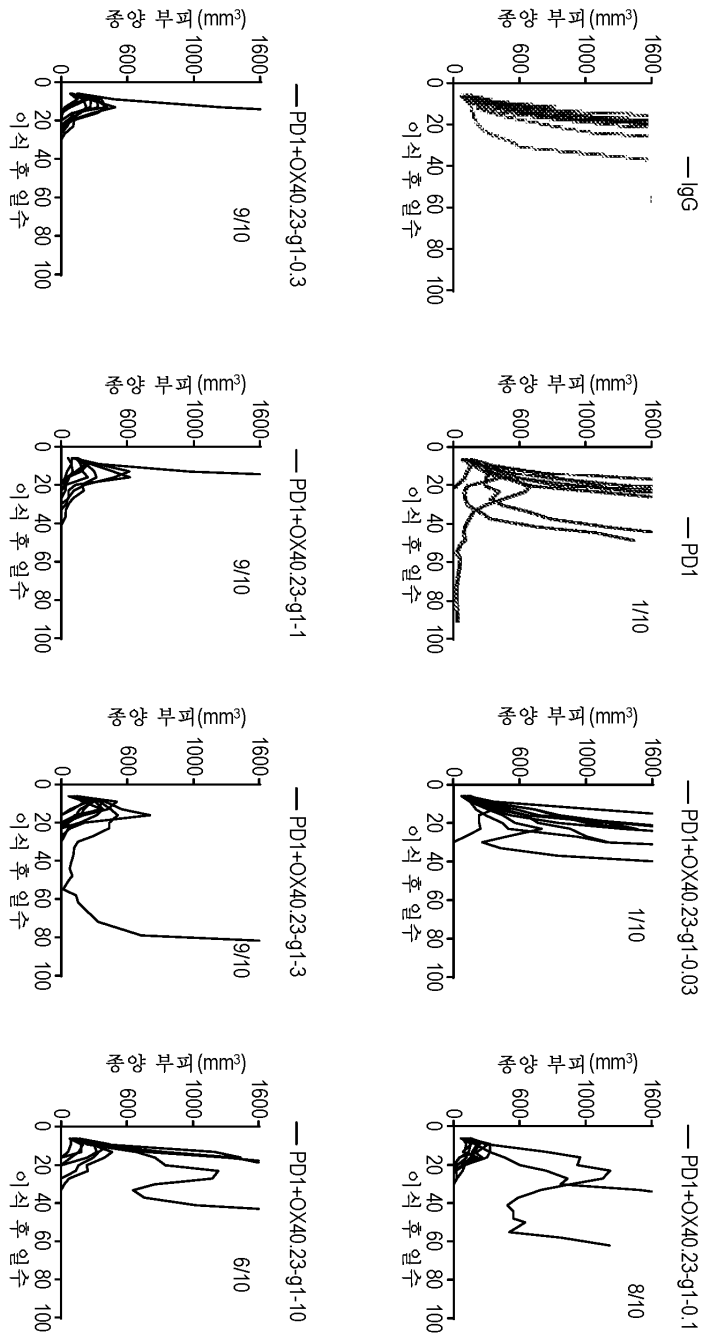
도면1b



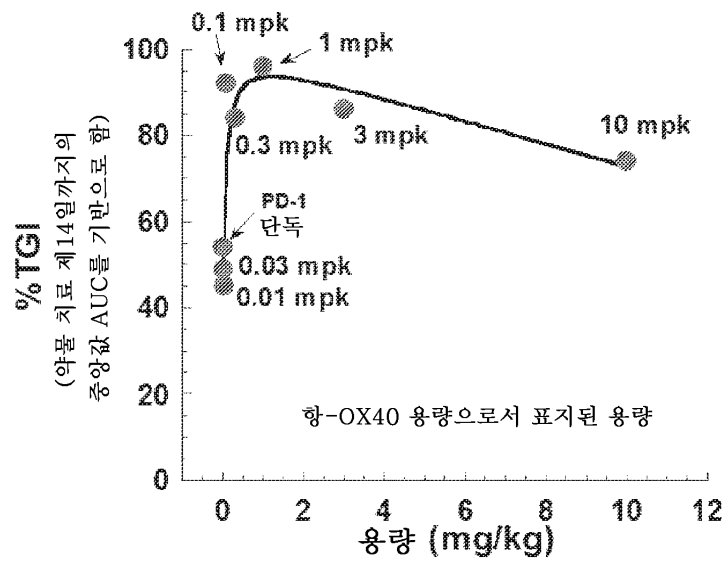
도면2



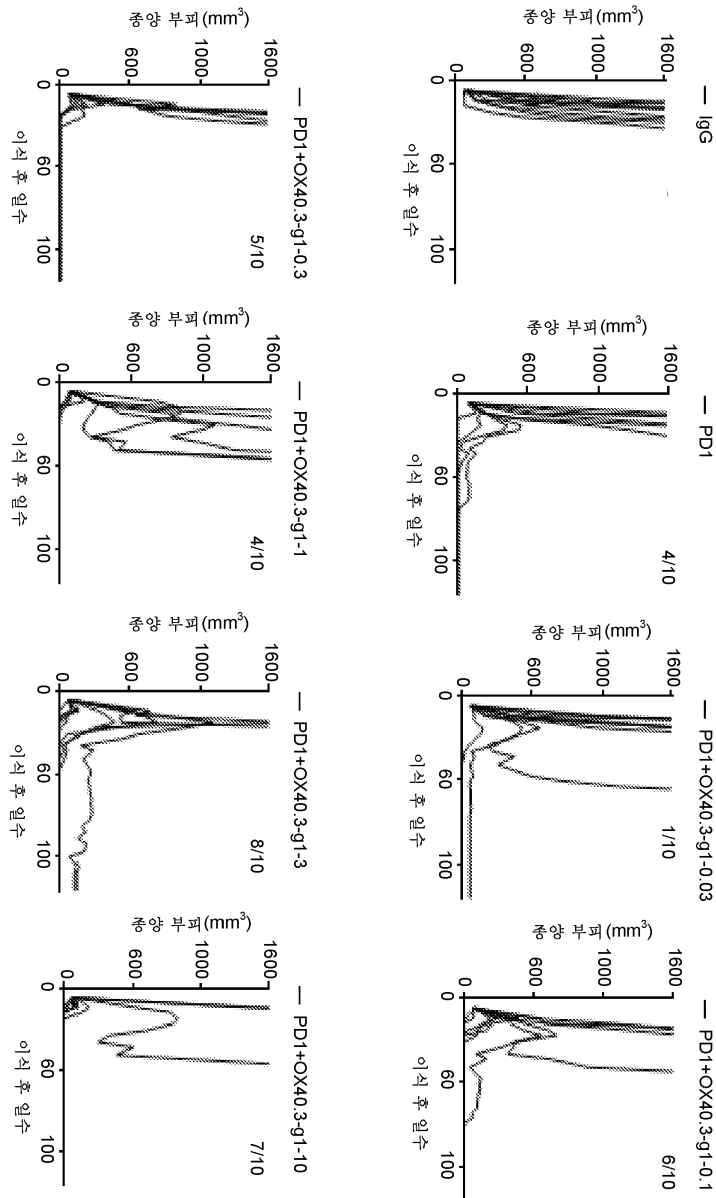
도면3a



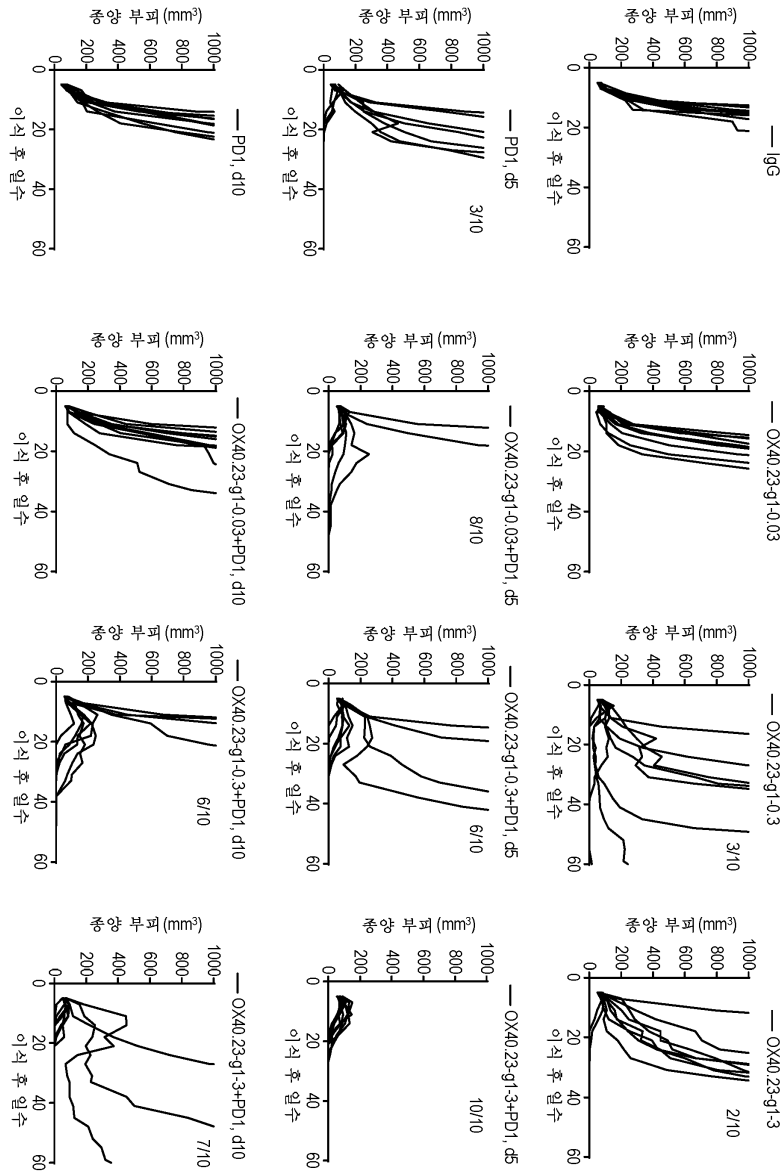
도면3b



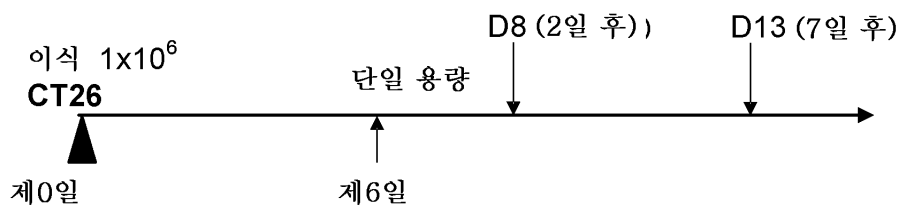
도면4



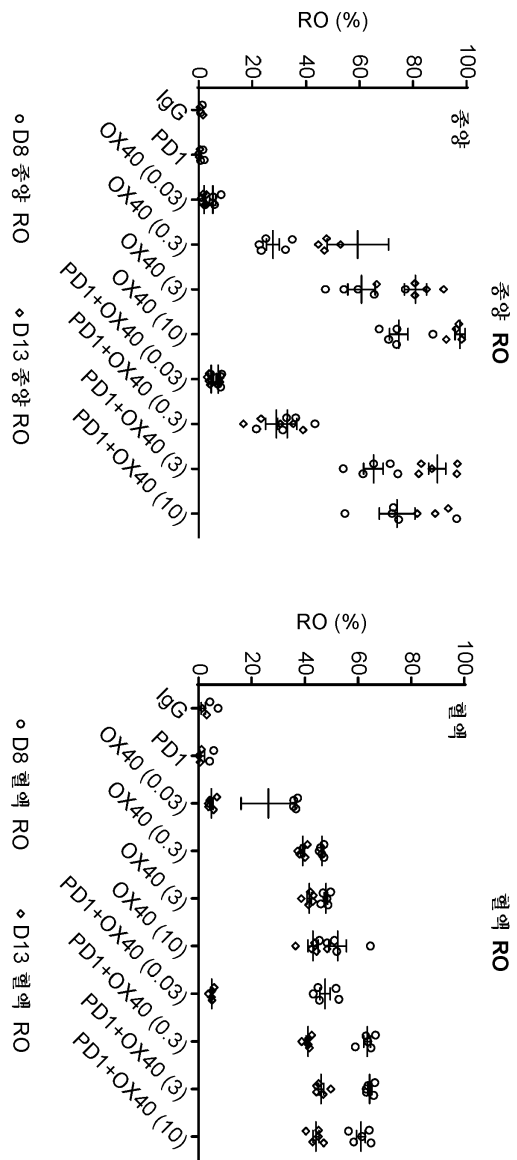
도면5



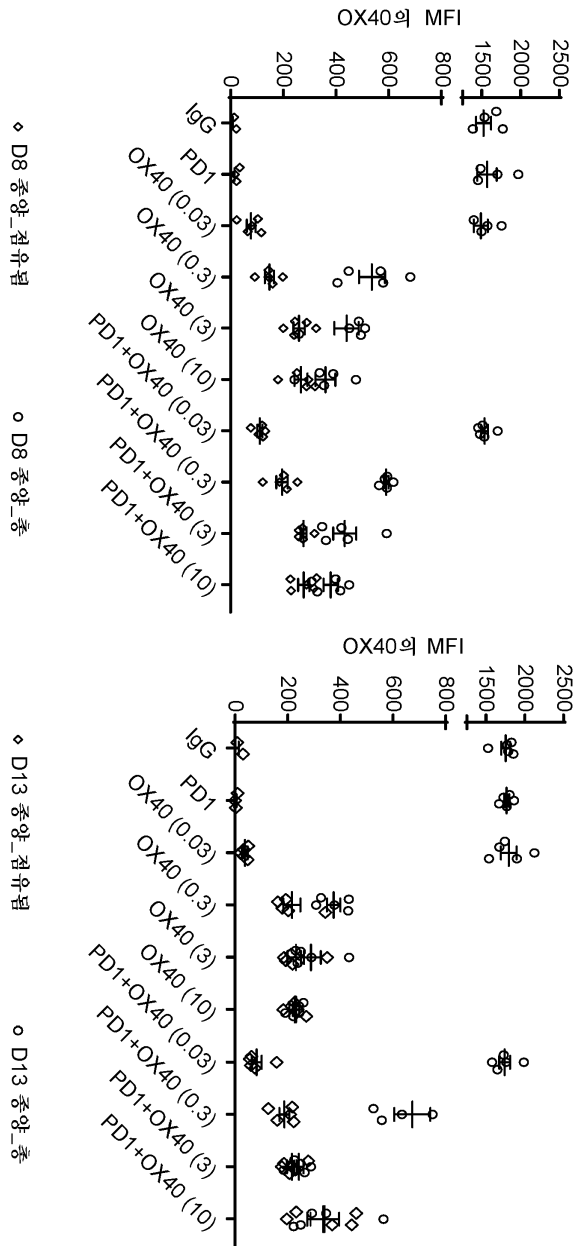
도면6a



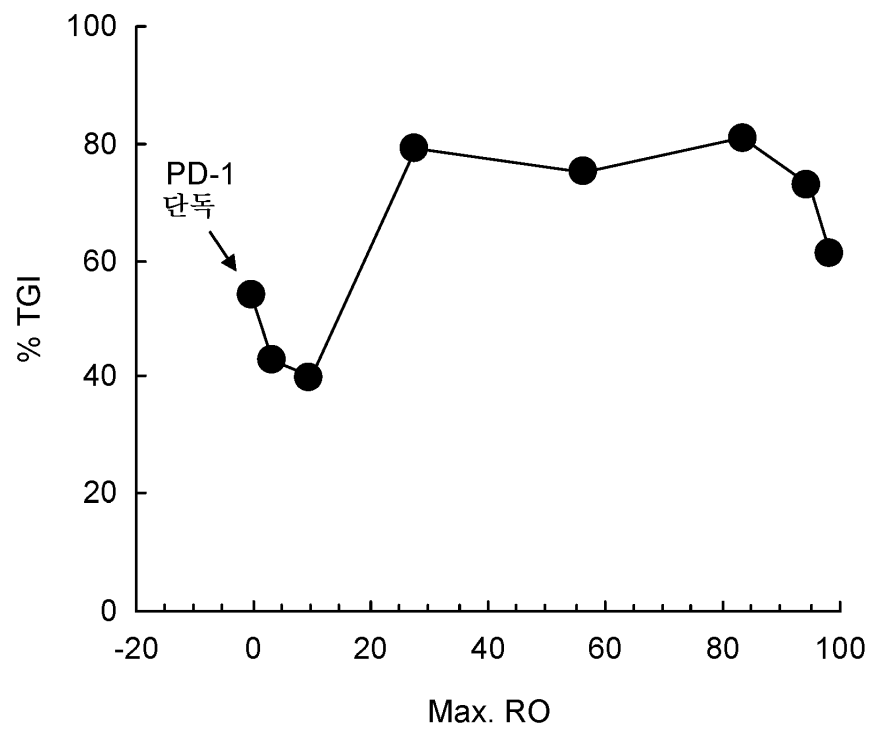
도면6b



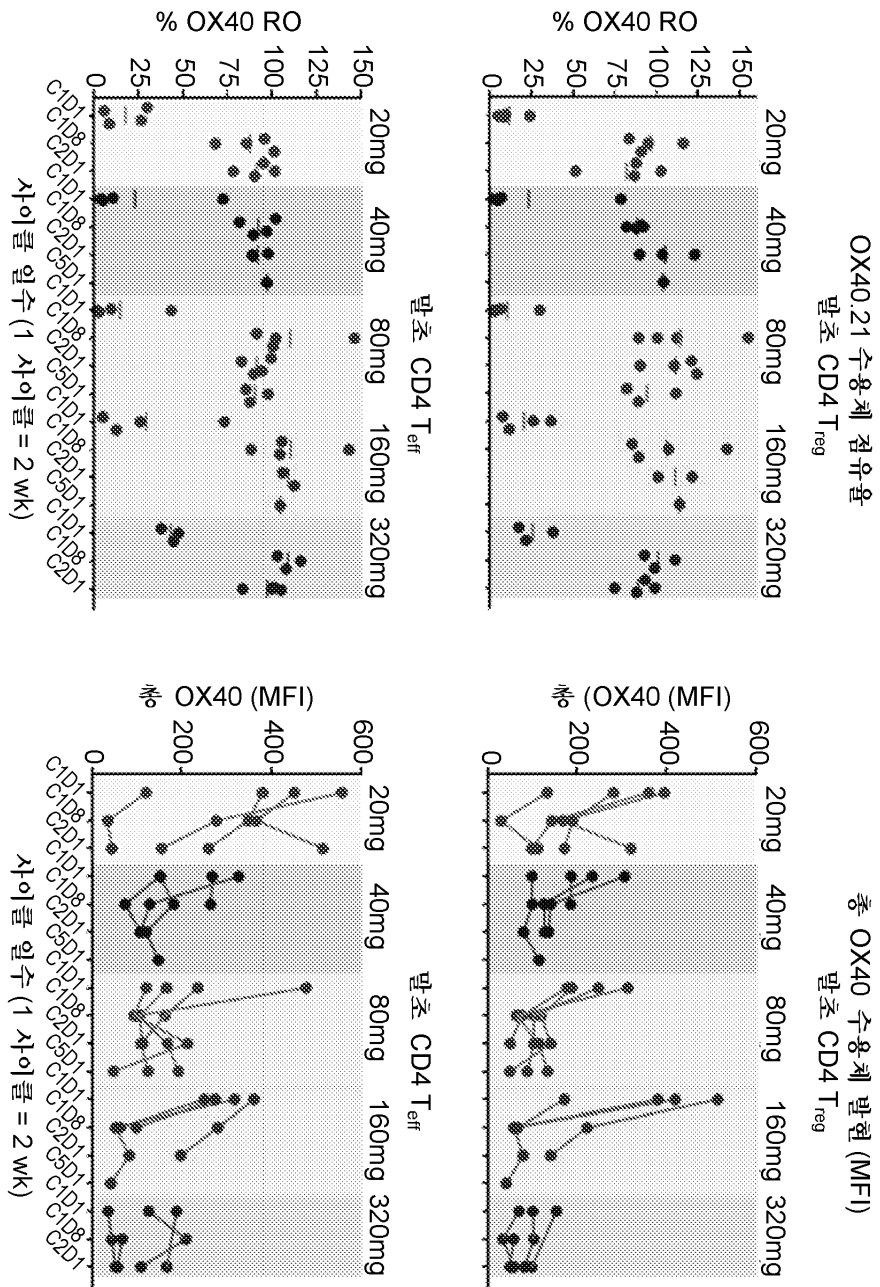
도면6c



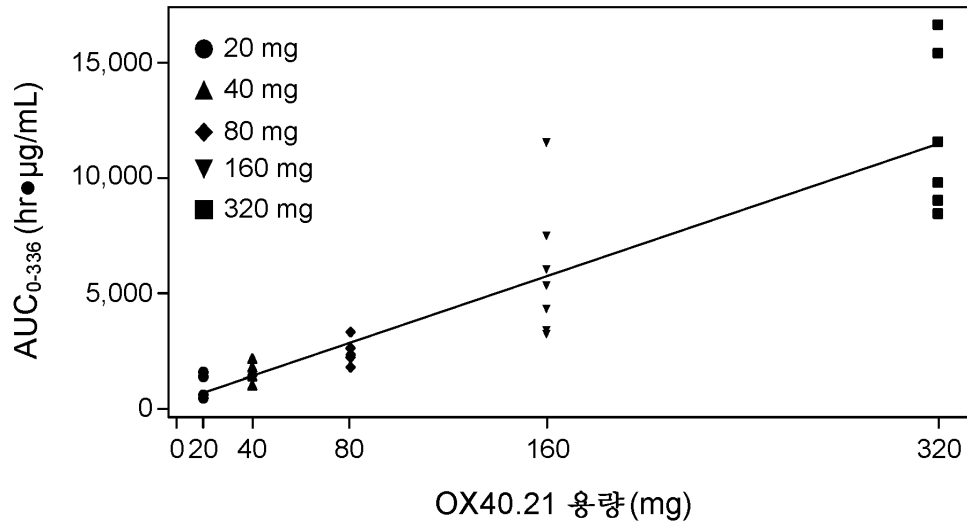
도면6d



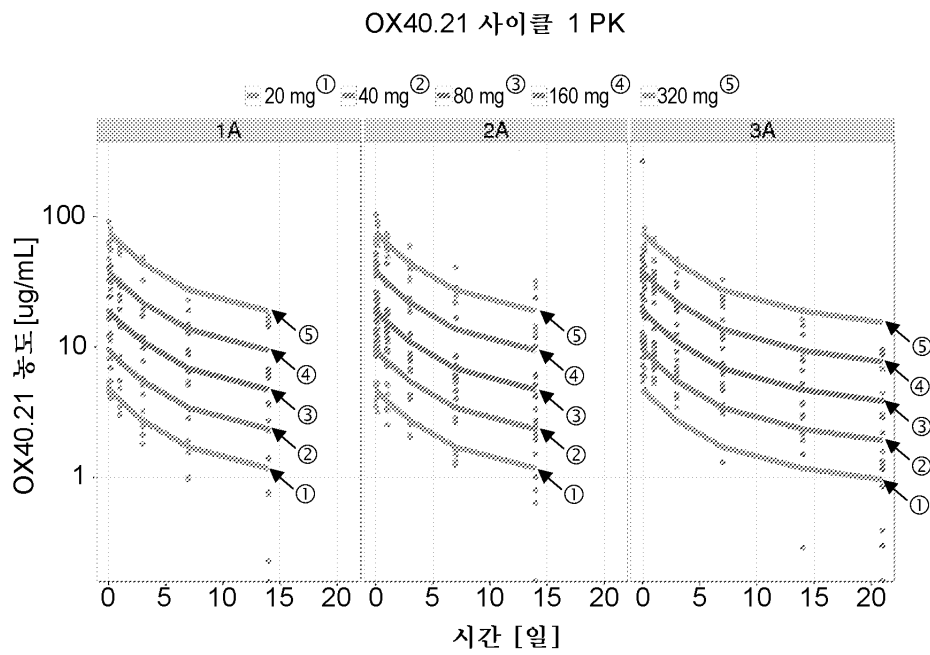
도면7a



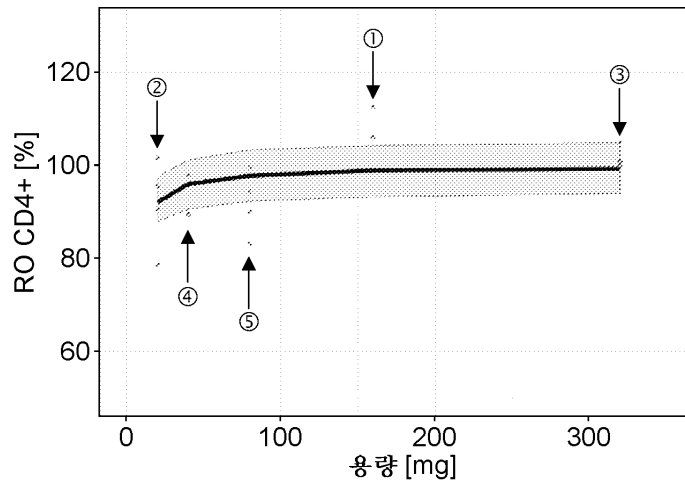
도면7b



도면8a



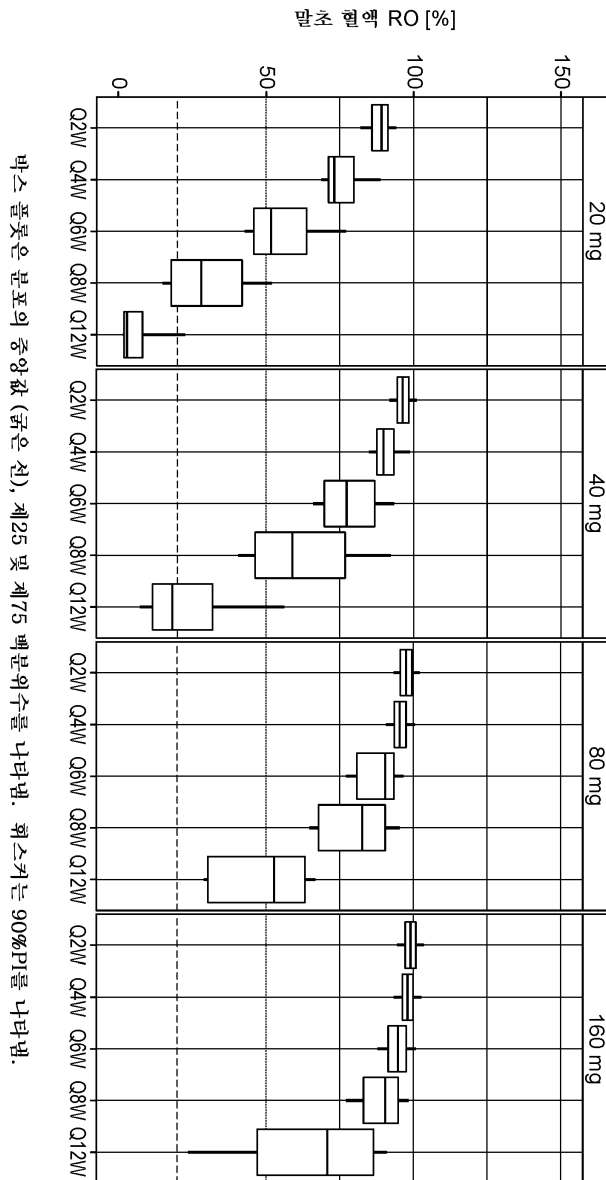
도면8b



E_{max} 모델: $RO = \frac{E_{max} \times C_{min1}}{EC_{50} + C_{min1}}$

EC₅₀=0.0937 ug/mL (~3 mg)

도면9



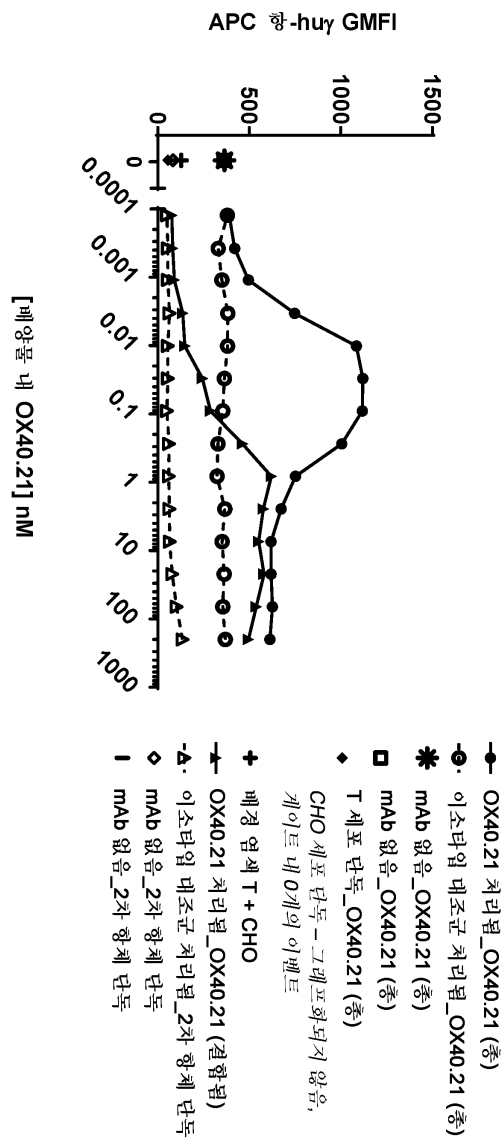
도면10a

용량 [mg]	FREQ	혈액에서의 예측 중앙값 %RO	종양에서의 예측 중앙값 %RO
20	Q2W	89	87
	Q4W	73	64
	Q6W	52	35
	Q8W	28	15
	Q12W	3	1
용량 [mg]	FREQ	혈액에서의 예측 중앙값 %RO	종양에서의 예측 중앙값 %RO
80	Q2W	97	97
	Q4W	95	95
	Q6W	90	89
	Q8W	83	78
	Q12W	53	36
용량 [mg]	FREQ	혈액에서의 예측 중앙값 %RO	종양에서의 예측 중앙값 %RO
40	Q2W	96	96
	Q4W	90	88
	Q6W	77	70
	Q8W	59	44
	Q12W	18	9
용량 [mg]	FREQ	혈액에서의 예측 중앙값 %RO	종양에서의 예측 중앙값 %RO
160	Q2W	99	99
	Q4W	98	98
	Q6W	95	94
	Q8W	90	89
	Q12W	71	60

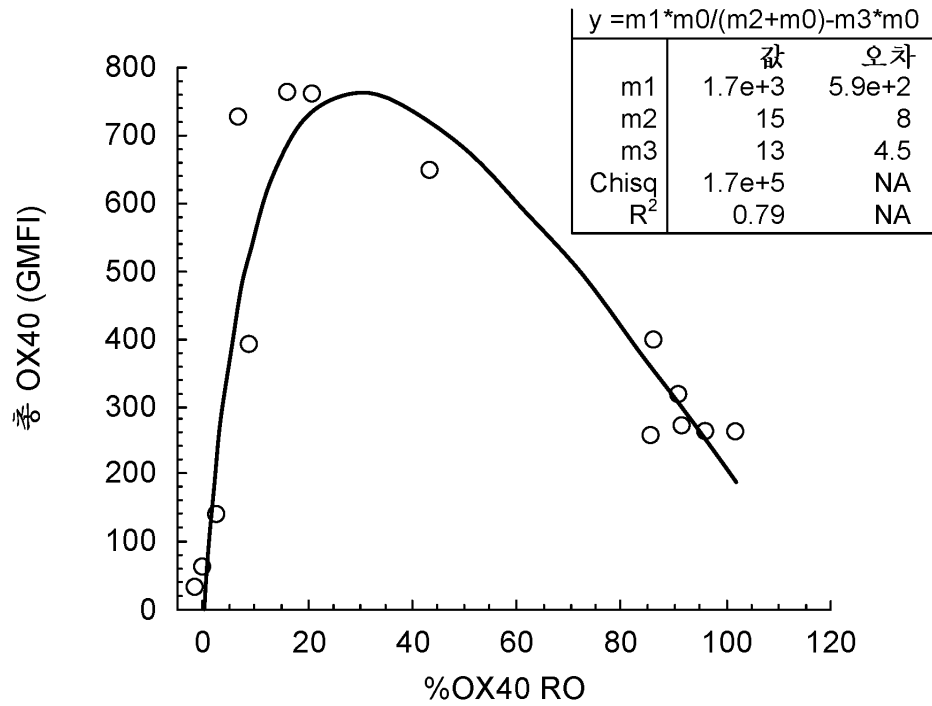
도면10b

용량 [mg]	FREQ	혈액에서의 예측 중앙값 %RO	중앙에서의 예측 중앙값 %RO	용량 [mg]	FREQ	혈액에서의 예측 중앙값 %RO	중앙에서의 예측 중앙값 %RO
20	Q2W	89	26	40	Q2W	96	65
	Q4W	73	9		Q4W	90	27
	Q6W	52	3		Q6W	77	11
	Q8W	28	1		Q8W	59	5
	Q12W	3	0.1		Q12W	18	0.7
80	Q2W	97	78	160	Q2W	99	93
	Q4W	95	54		Q4W	98	84
	Q6W	90	29		Q6W	95	50
	Q8W	83	15		Q8W	90	29
	Q12W	53	4		Q12W	71	8

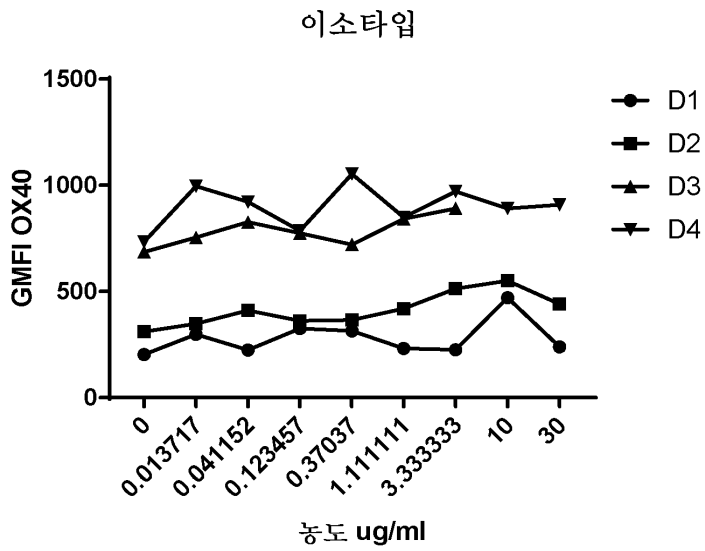
도면11a



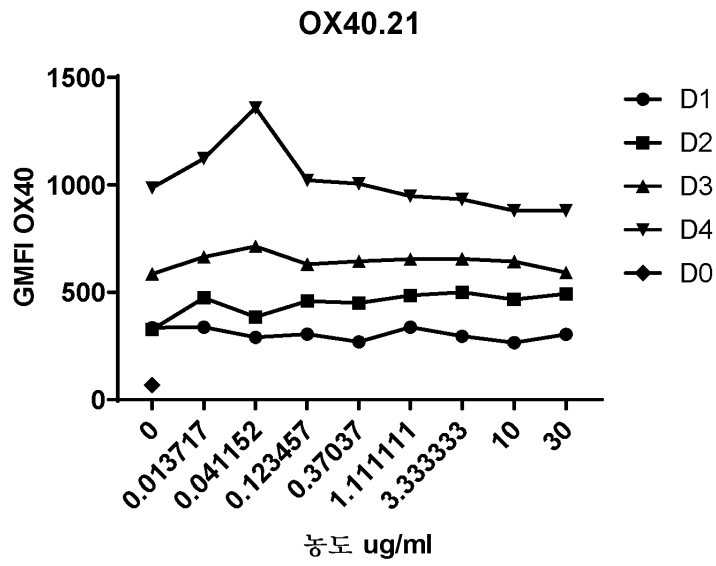
도면11b



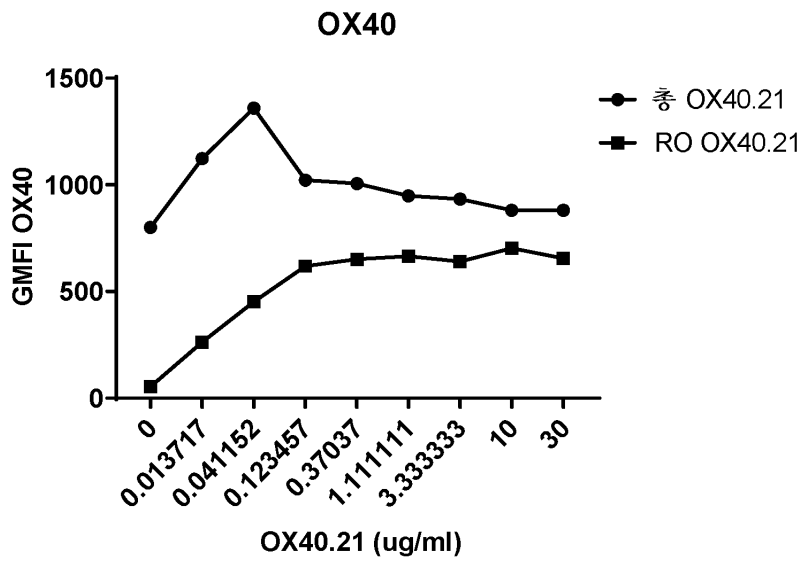
도면12a



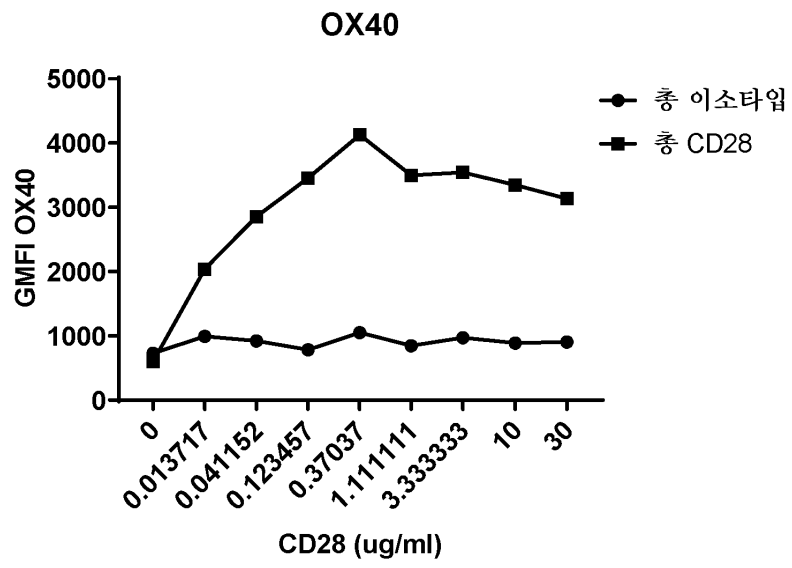
도면12b



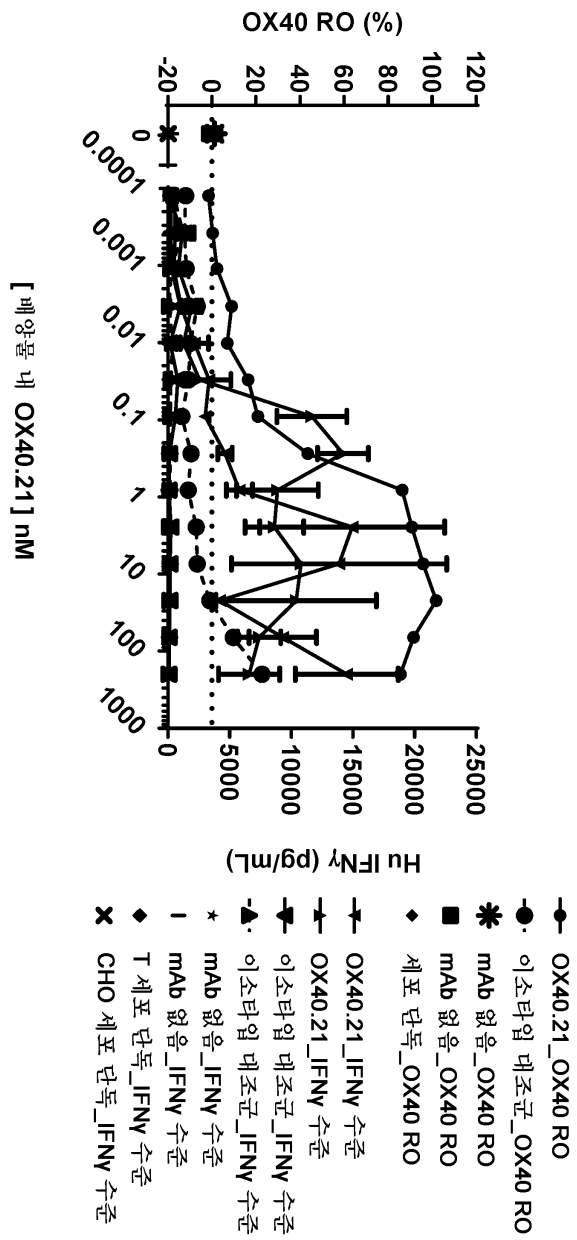
도면13a



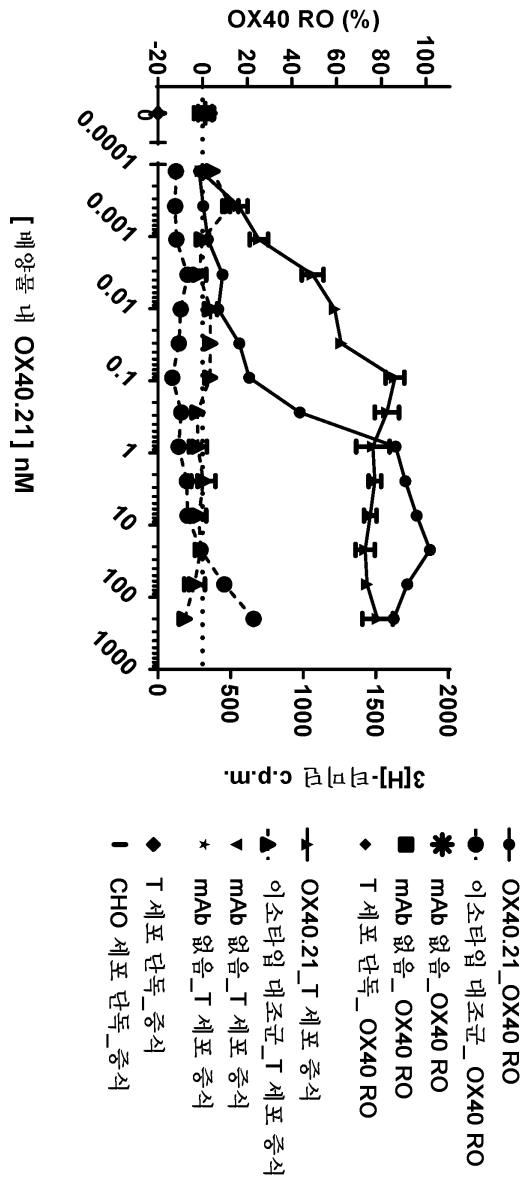
도면13b



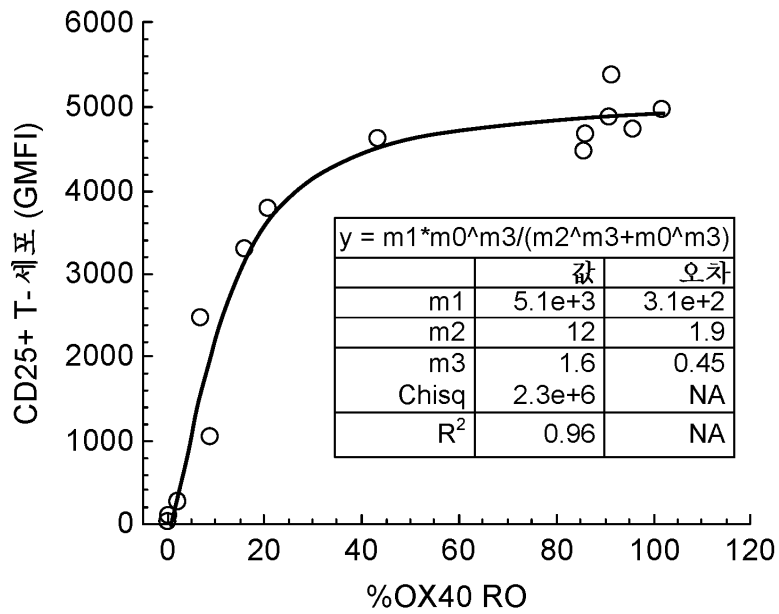
도면14



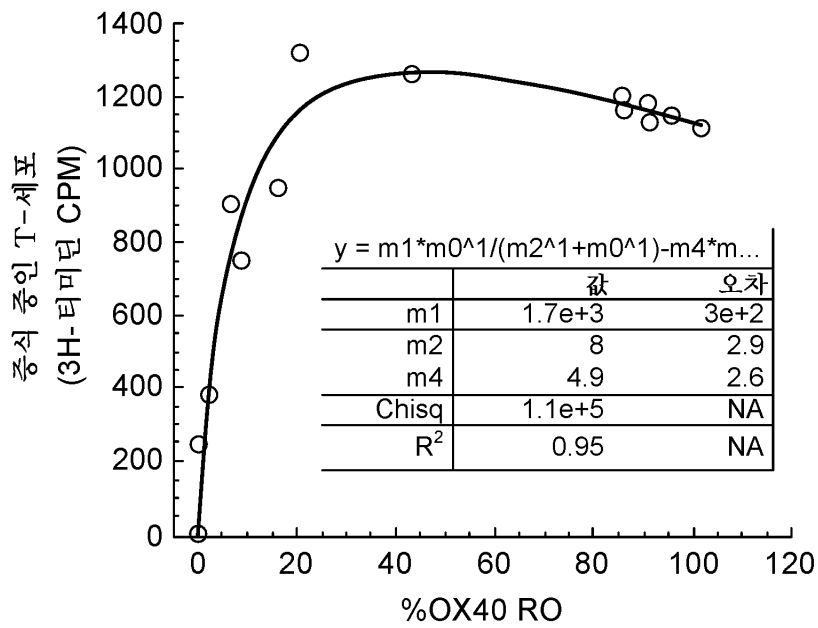
도면15a



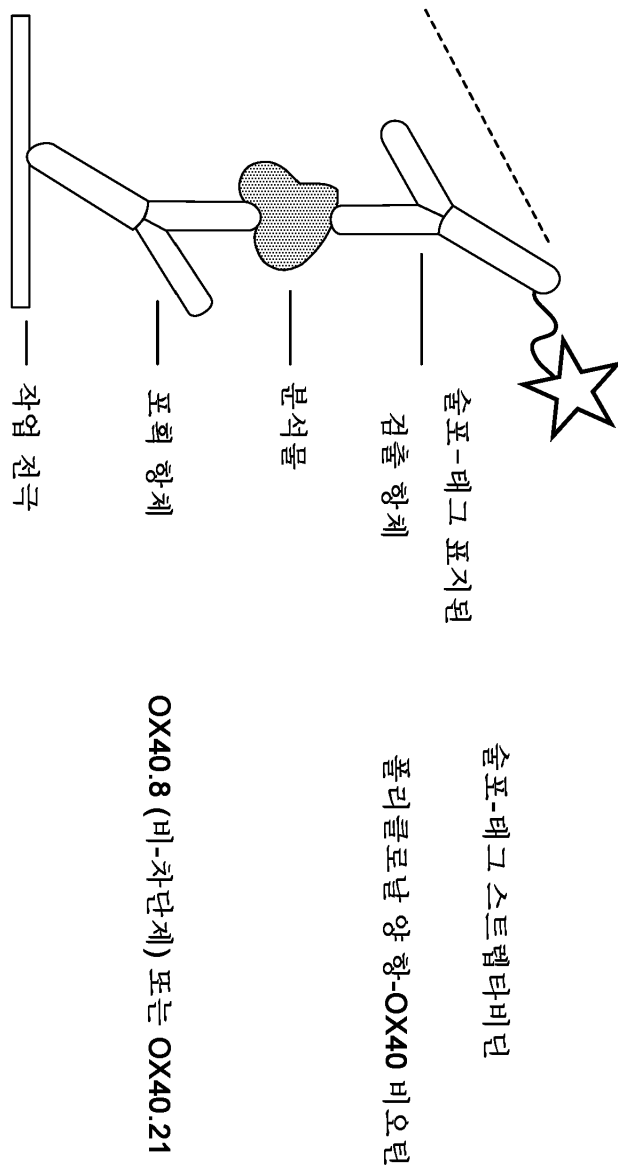
도면15b



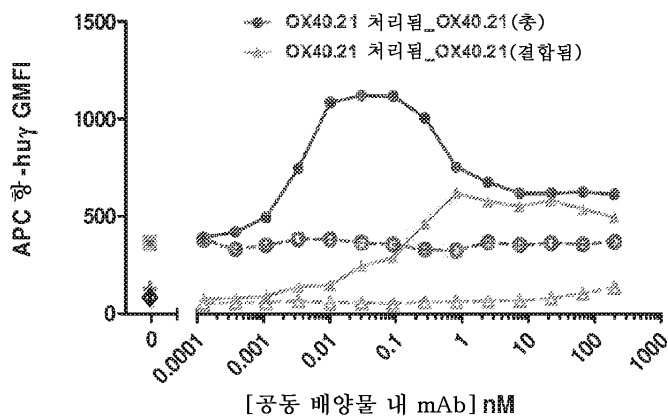
도면15c



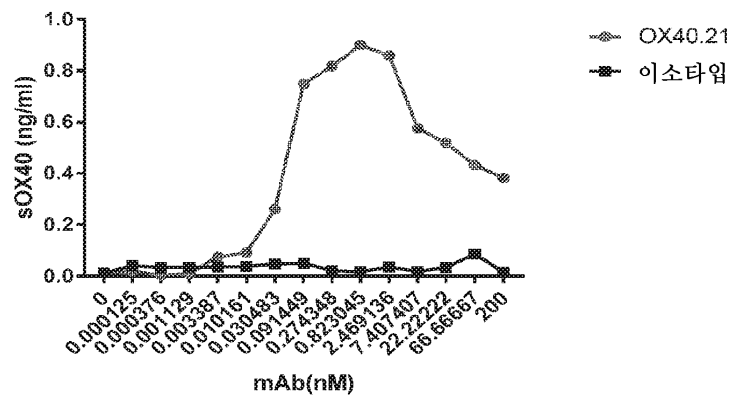
도면16



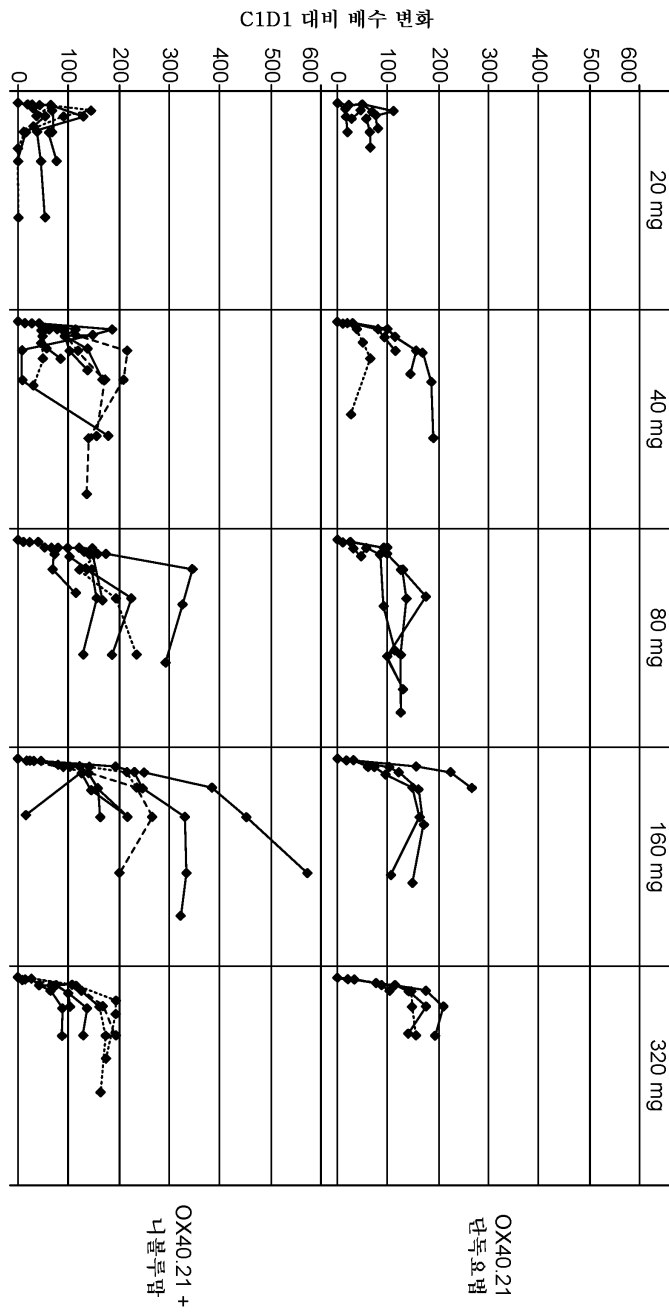
도면17



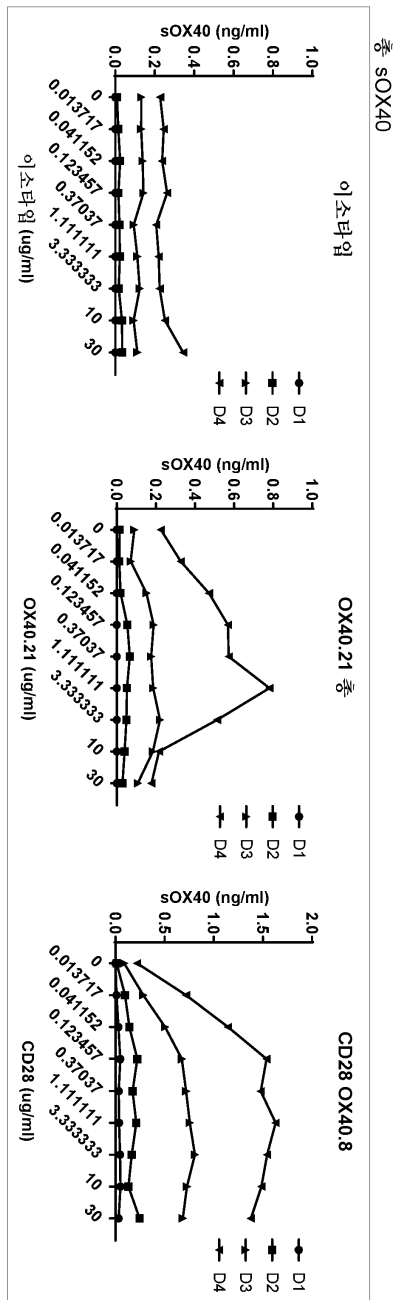
도면18



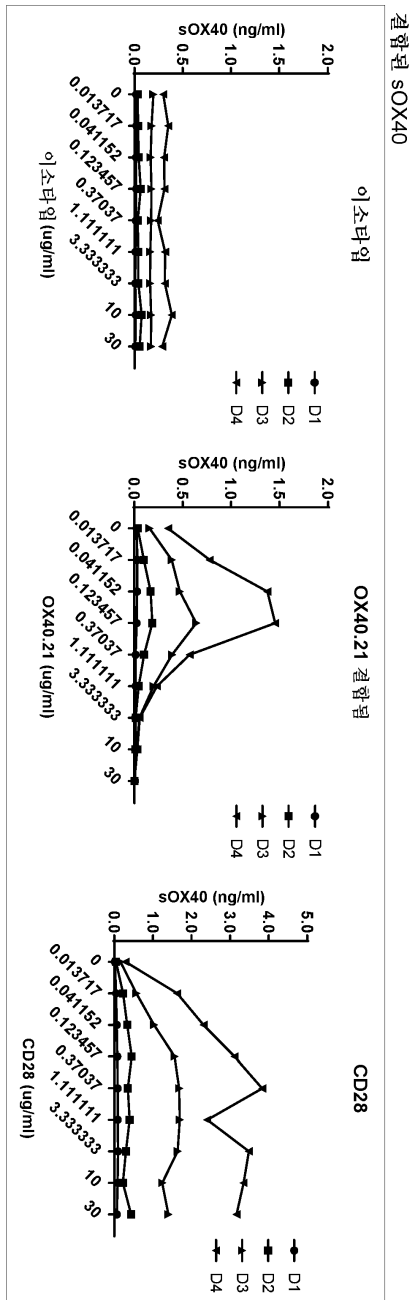
도면19



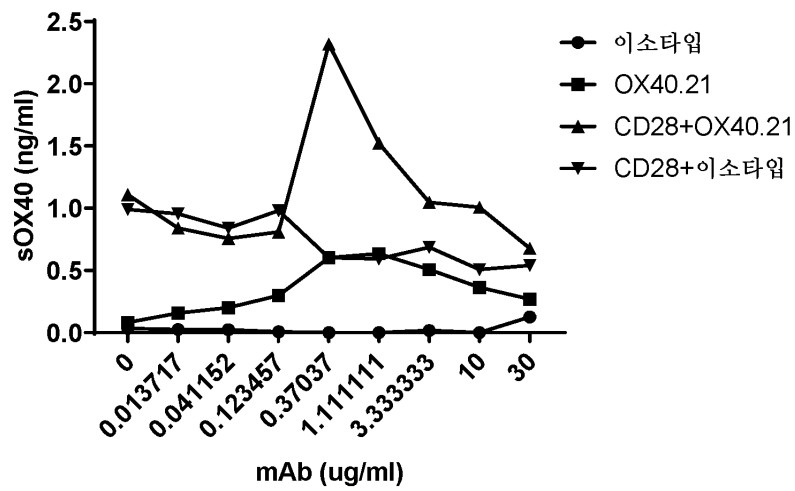
도면20a



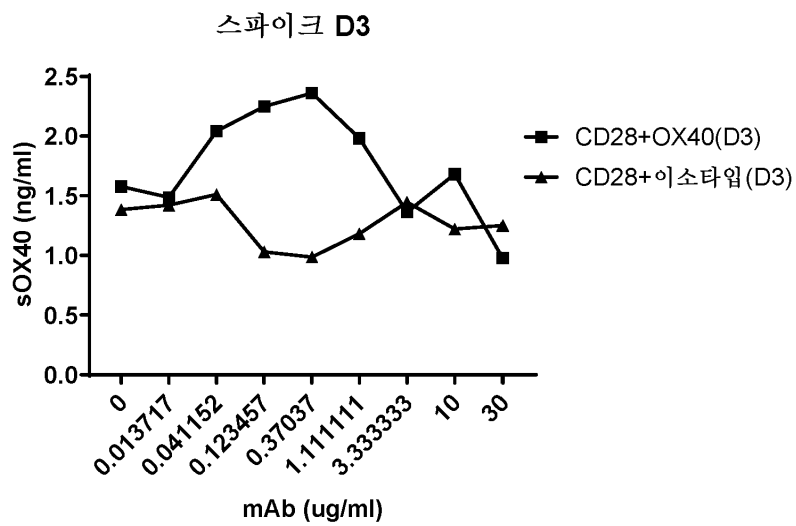
도면20b



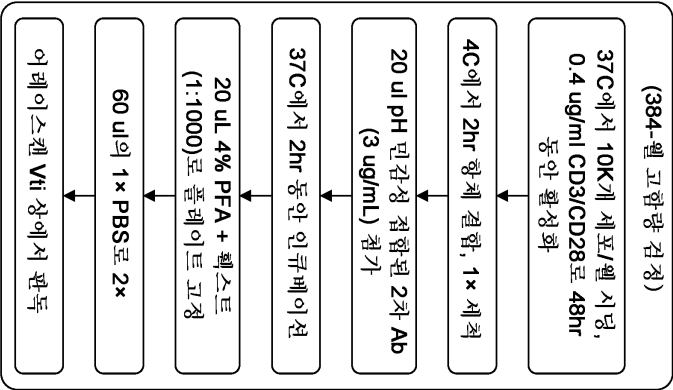
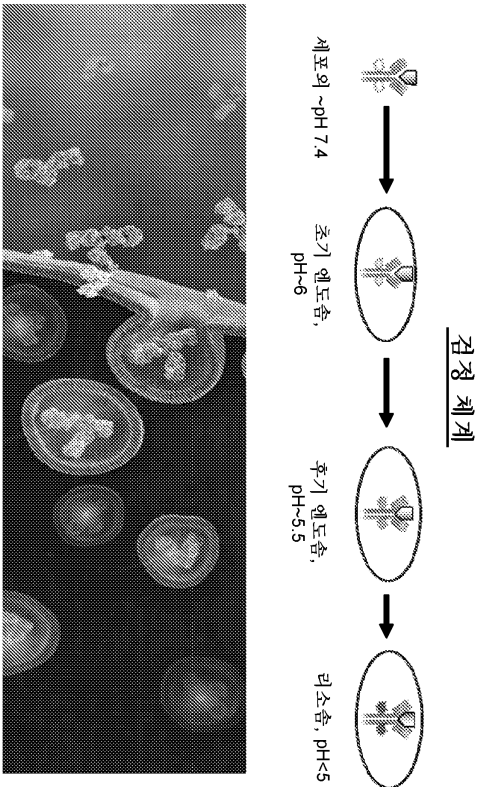
도면21a



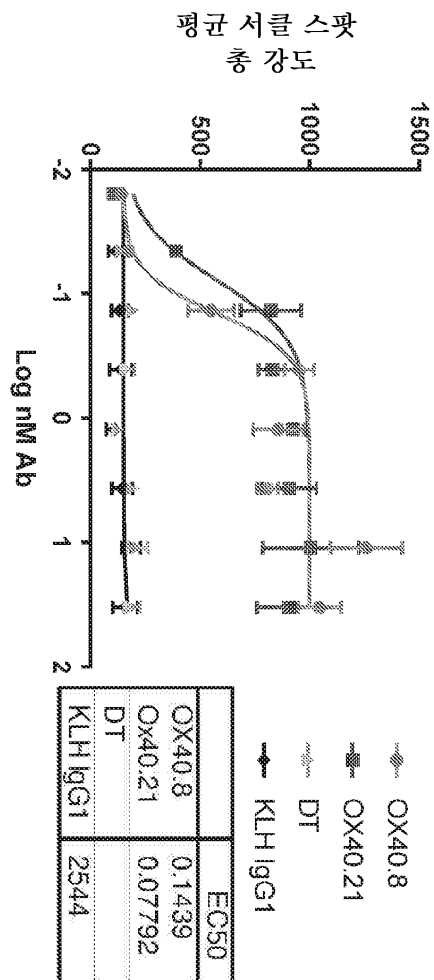
도면21b



pH 민감성 내재화 검정

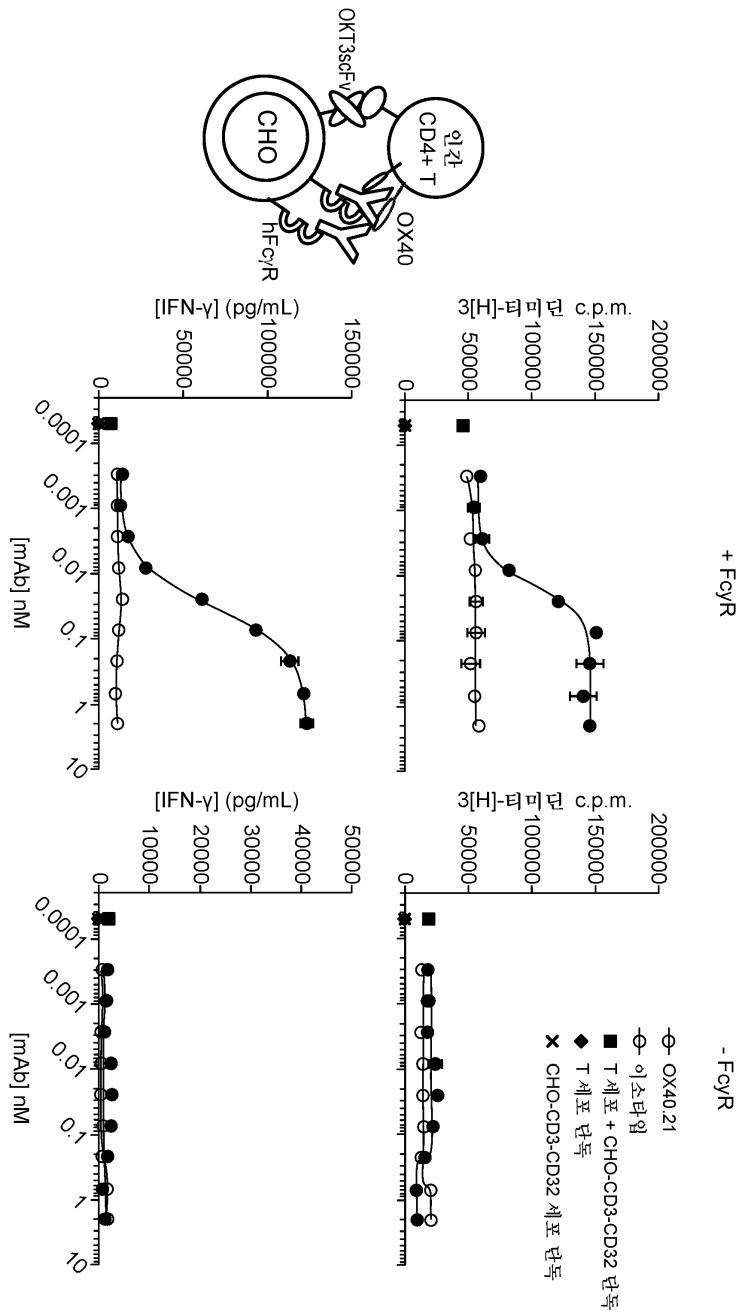


도면23

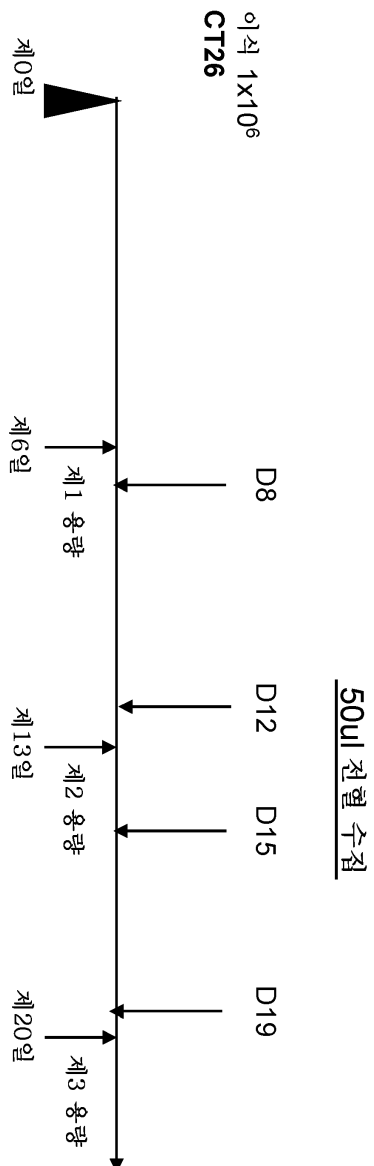


48hr CD3/CD28 활성화된 OX40 Treg 6358

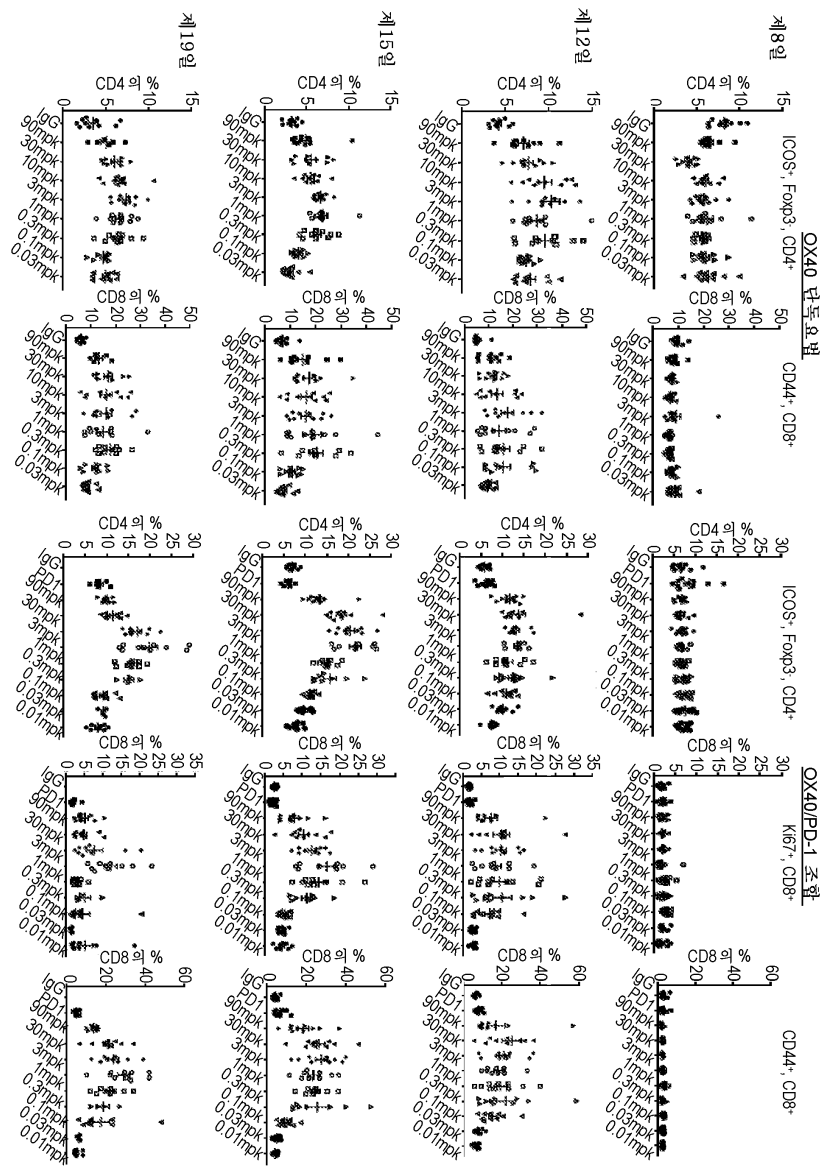
도면24



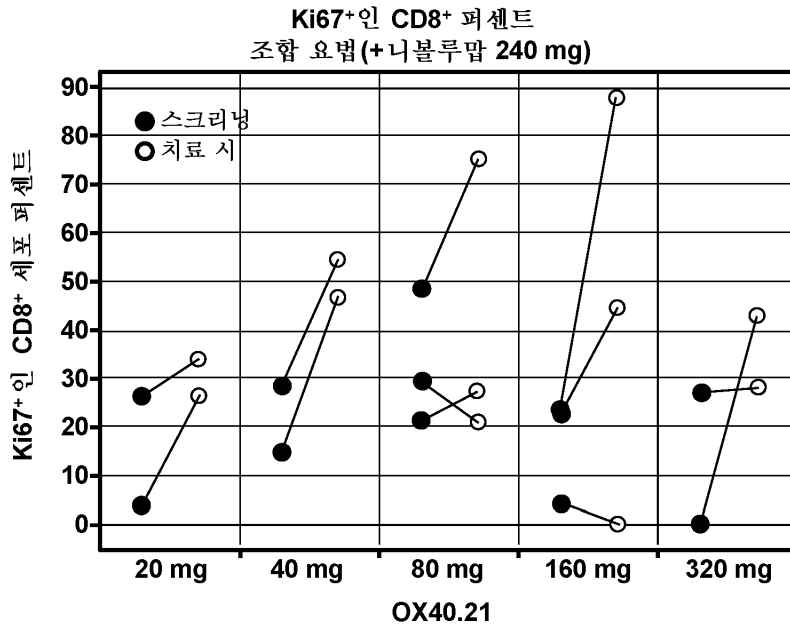
도면25



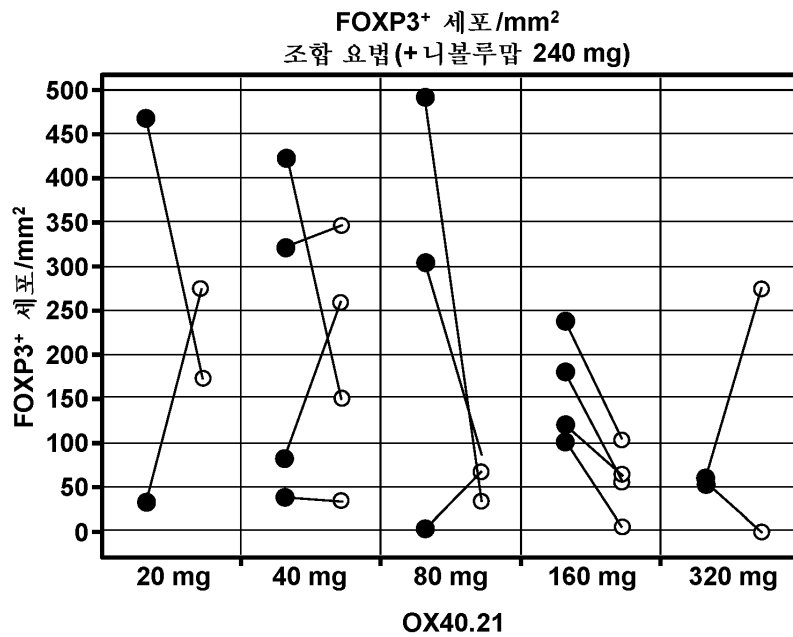
도면26a



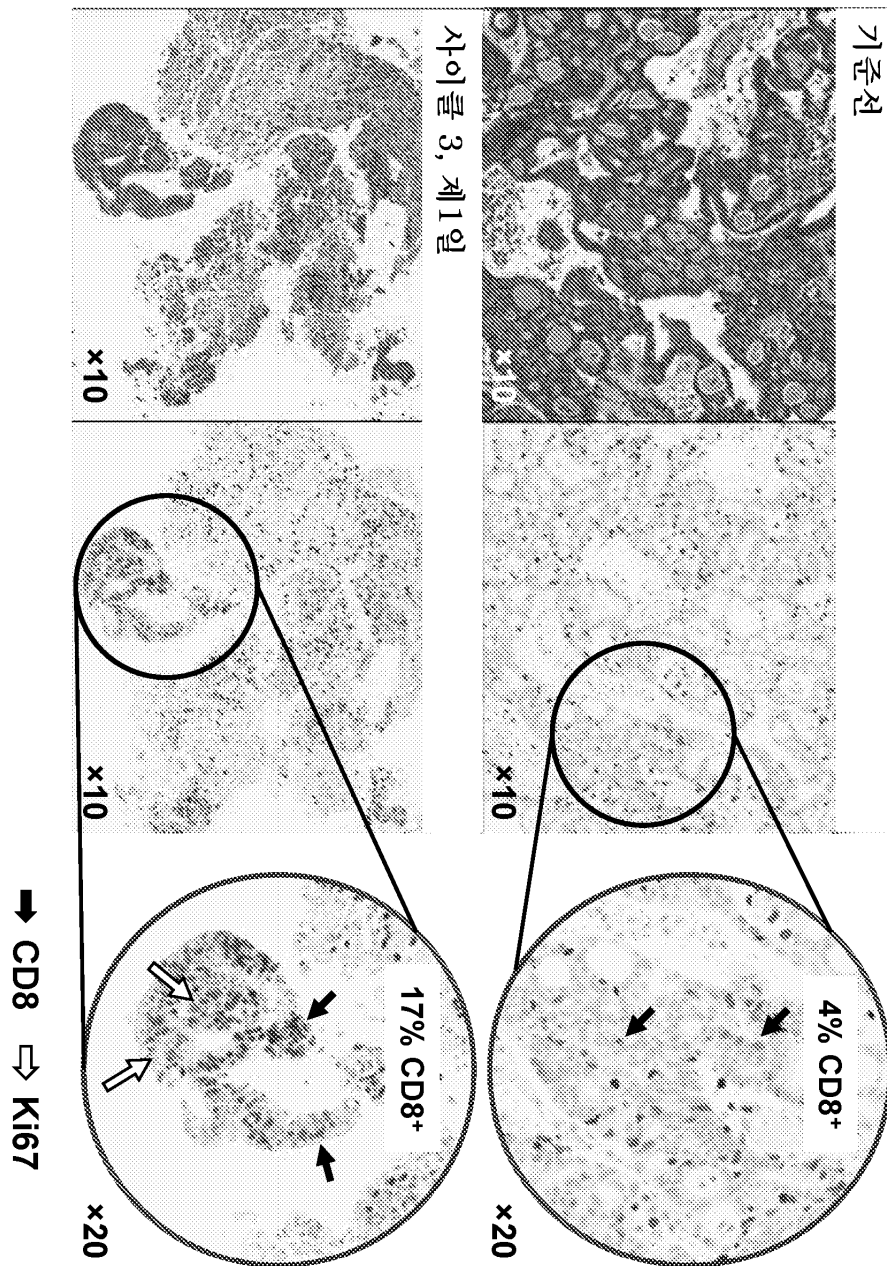
도면26b



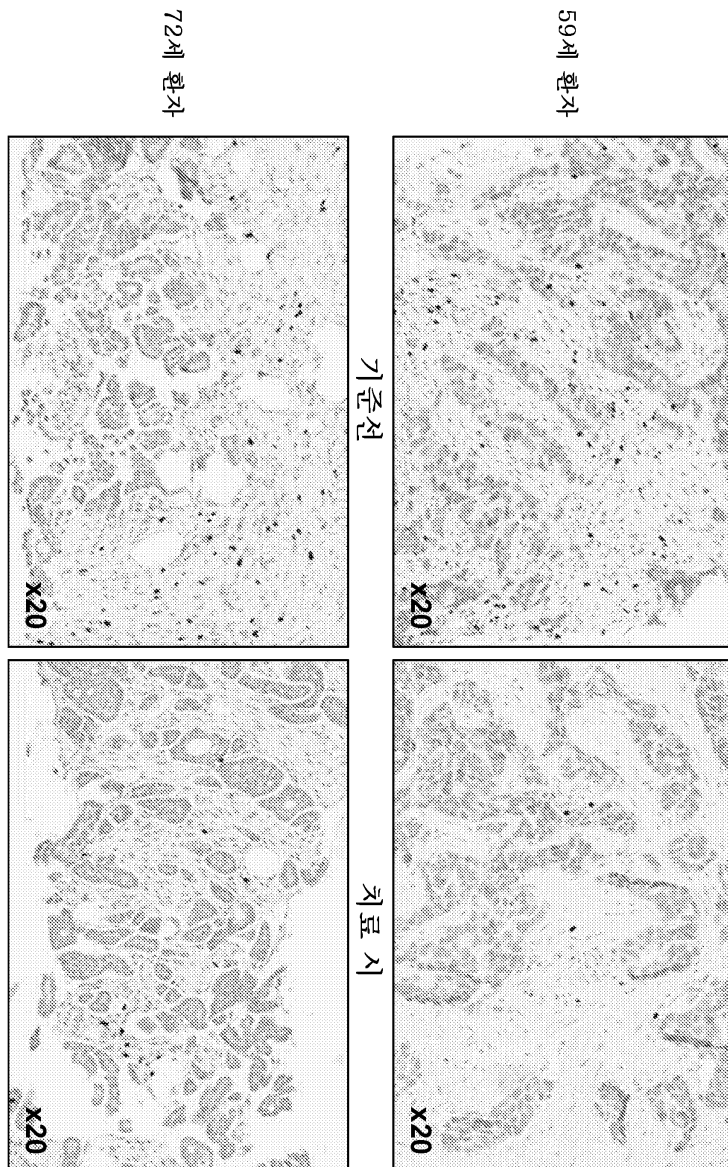
도면26c



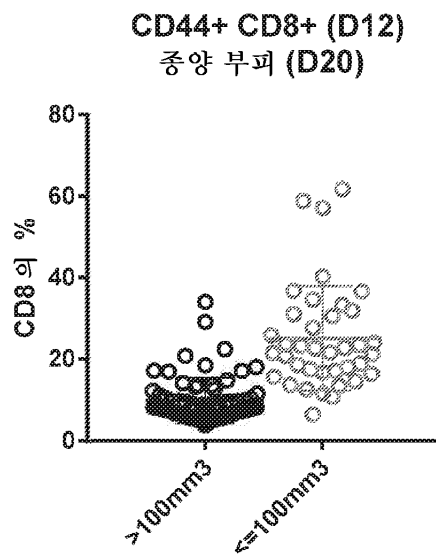
도면26d



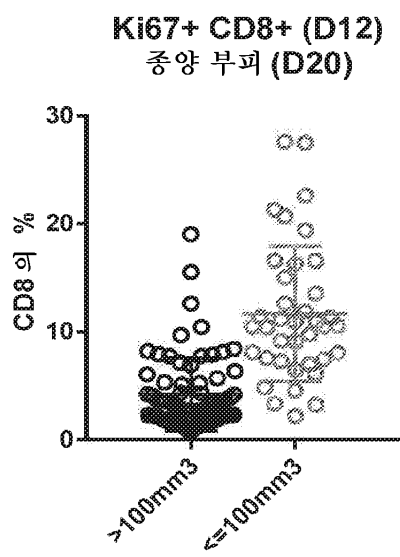
도면26e



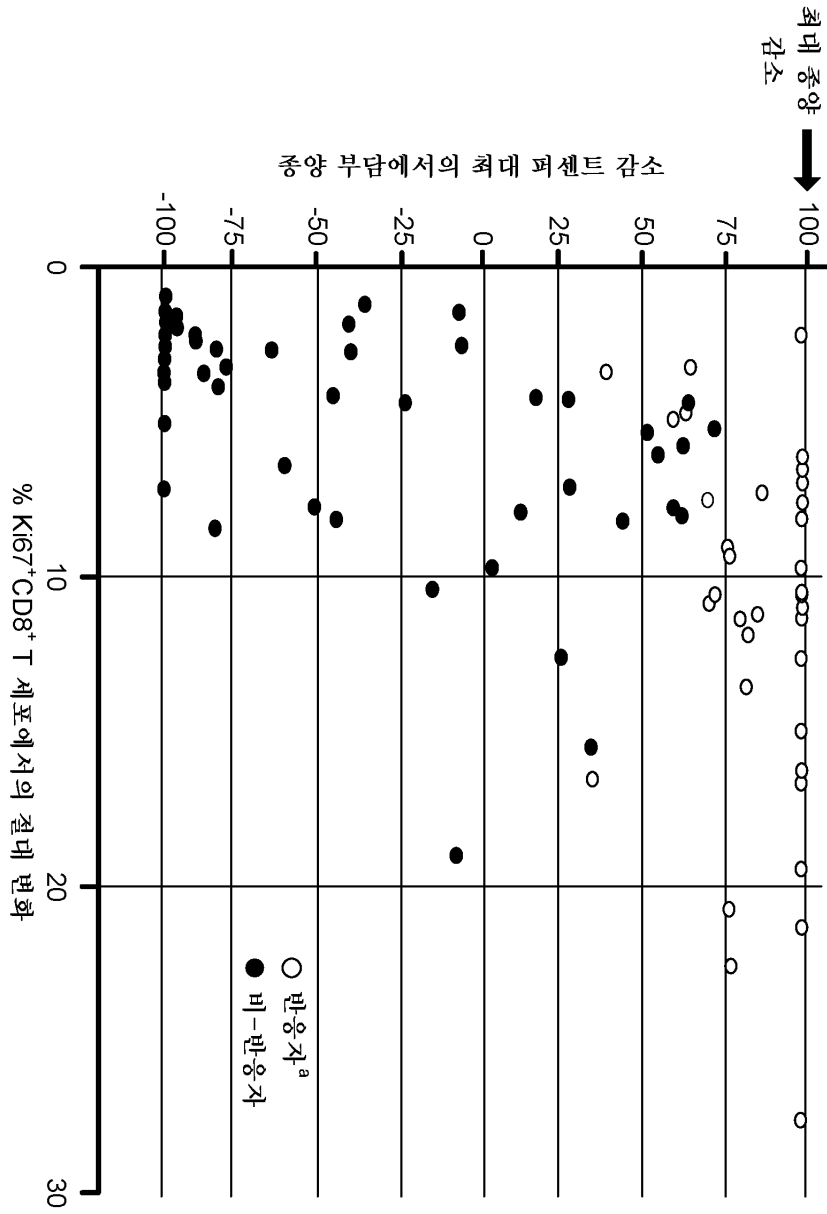
도면27a



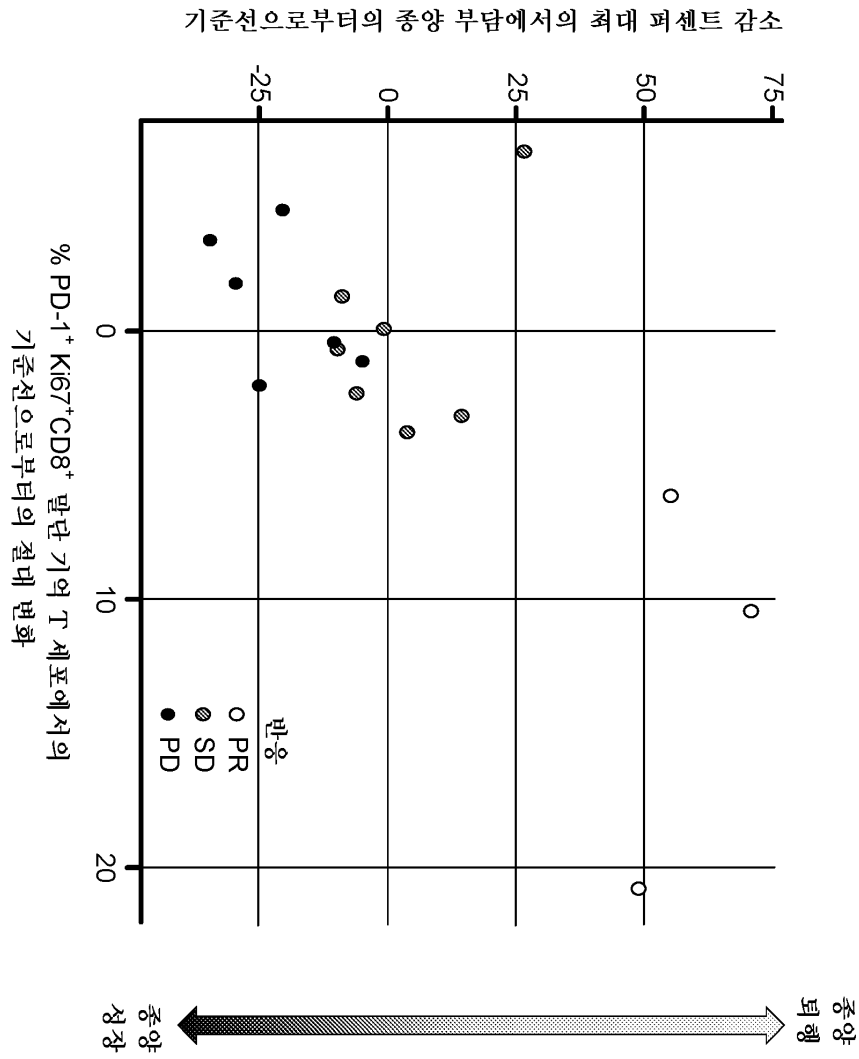
도면27b



도면27c

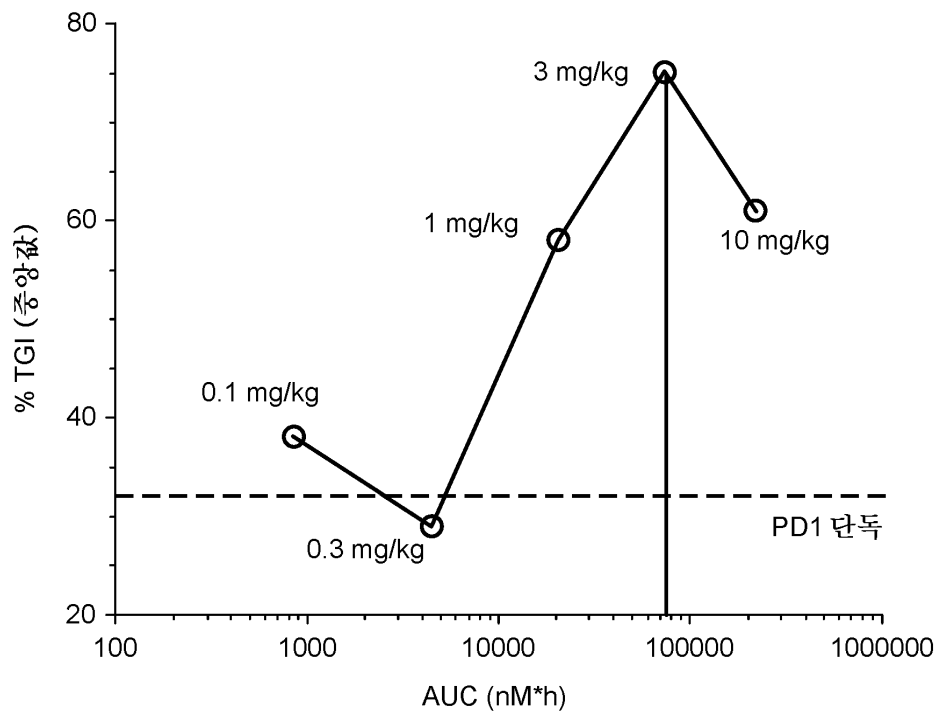


도면27d



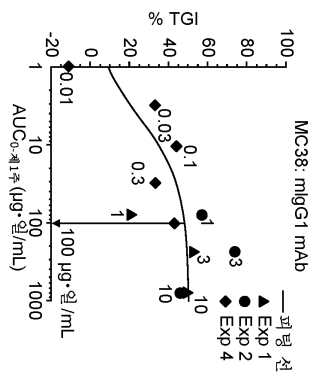
도면28

α -ICOS 항체 + α -PD1 항체

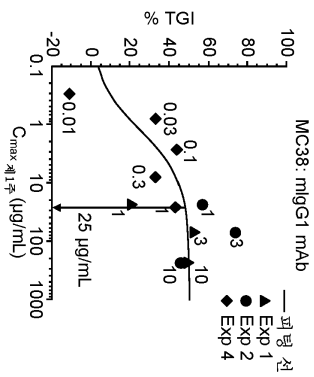


도면29

인간 유효 용량 추정을
위한 100 $\mu\text{g}\cdot\text{일}/\text{mL}$ 의
 $\text{AUC}_{0-12\text{h}}$ 표적화

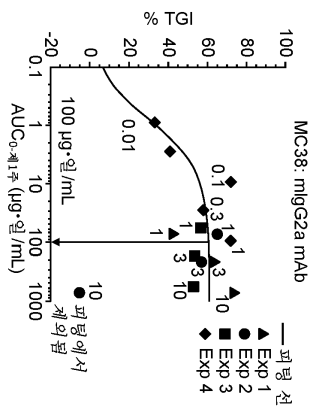


인간 유효 용량 추정을 위한 25 µg/mL의 C_{max}에 1주 표적화



폴아웃 네 잼들은 연구된 용량인
투약 레지멘:

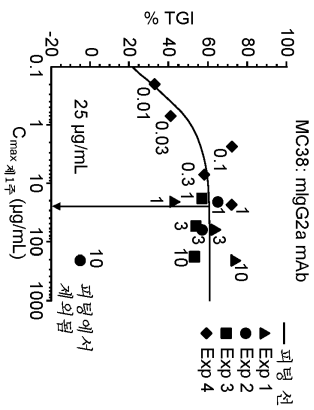
- Exp 1 & 2: 6일마다 $\times 2$
- Exp 3: 7일마다 $\times 2^a$
- Exp 4: 4일마다 $\times 2$

[illegible]

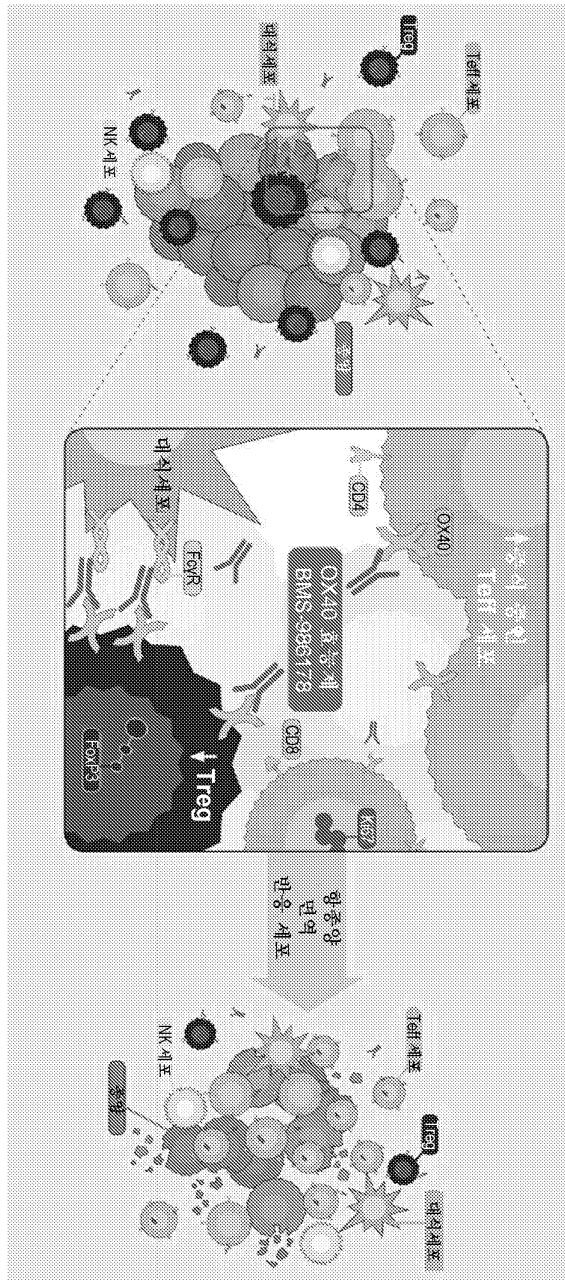
MC38: mlgG2a mAb

— 피펫 선

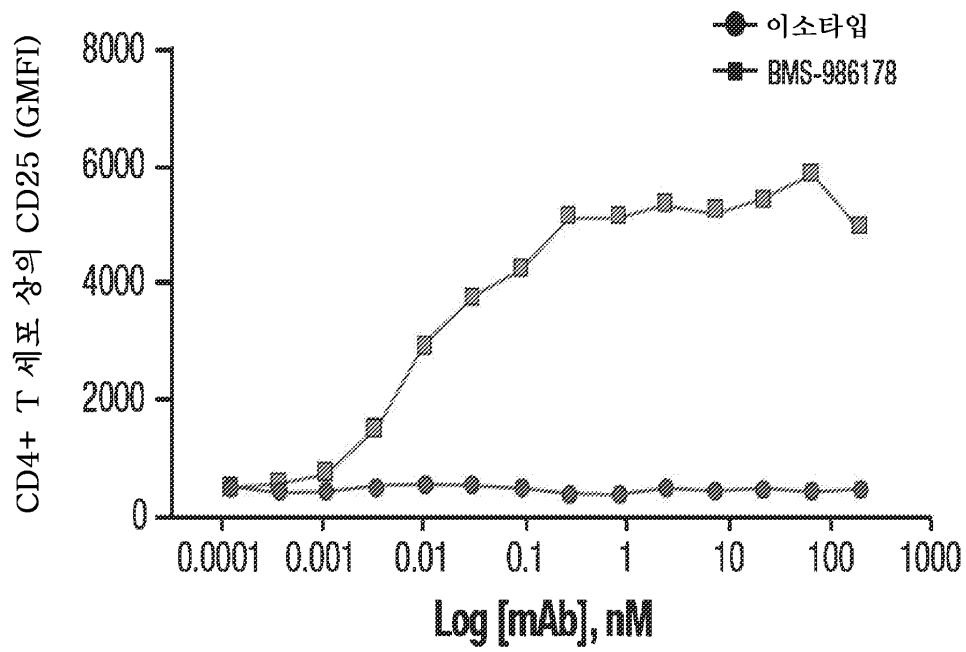
● Exp 1
▲ Exp 2
■ Exp 3
◆ Exp 4



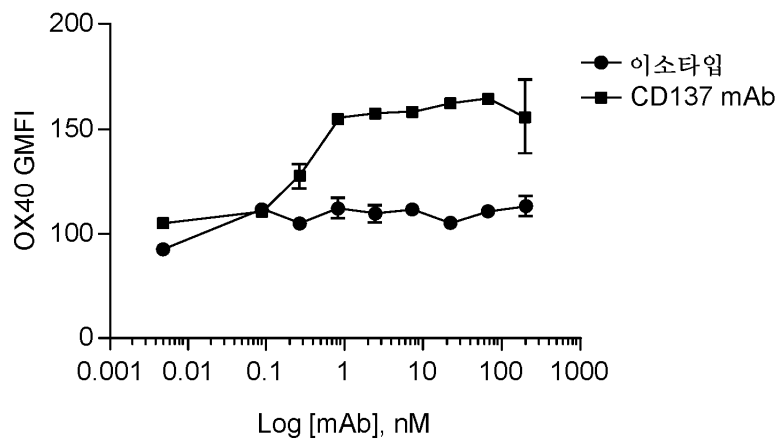
도면 30



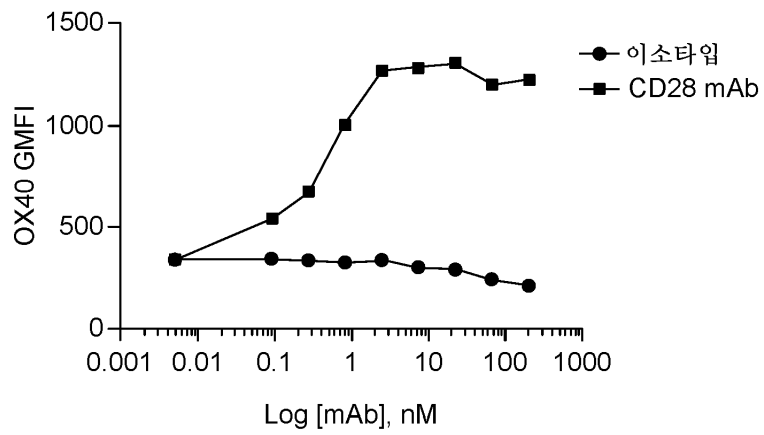
도면31



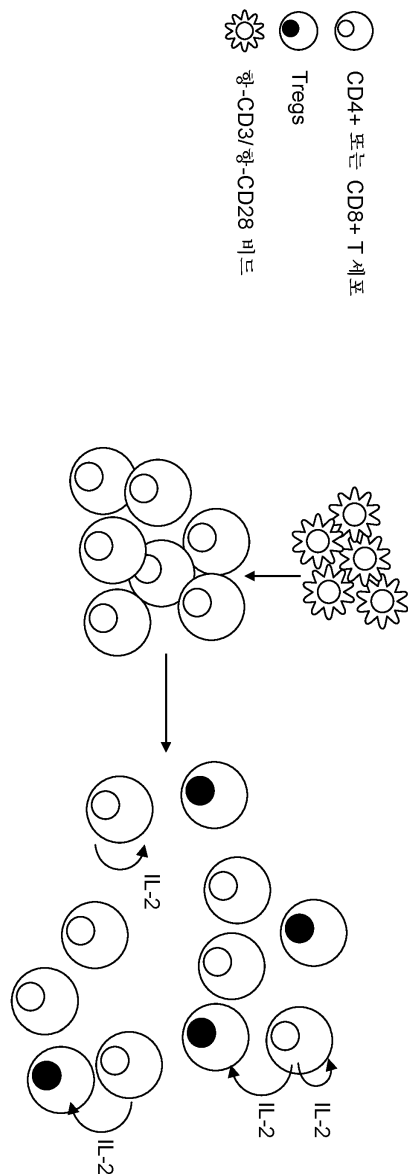
도면32a



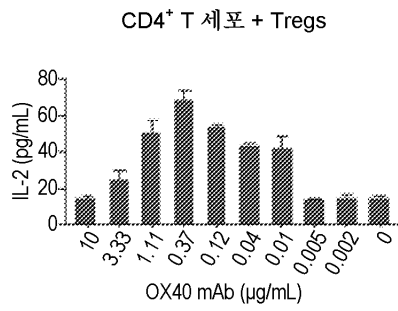
도면32b



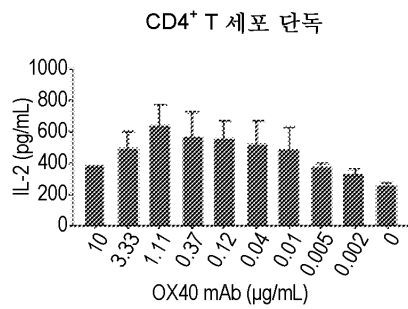
도면33a



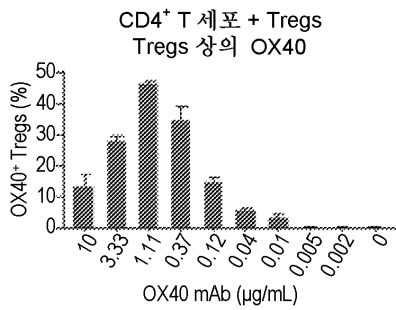
도면33b



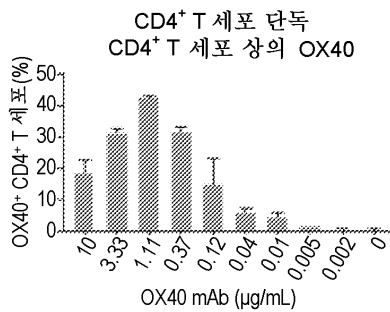
도면33c



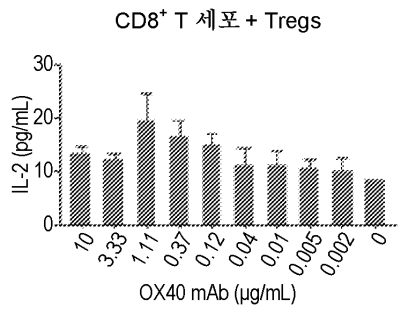
도면33d



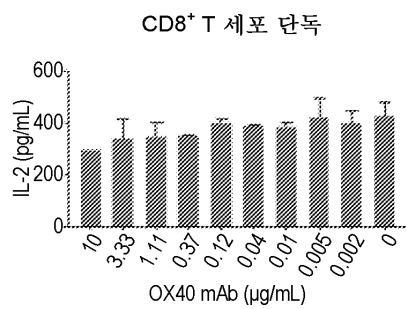
도면33e



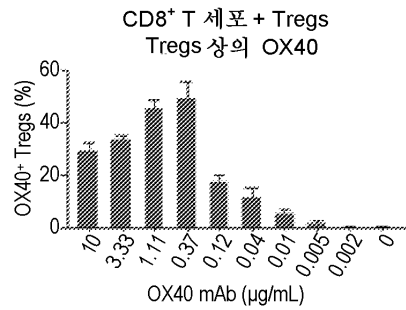
도면33f



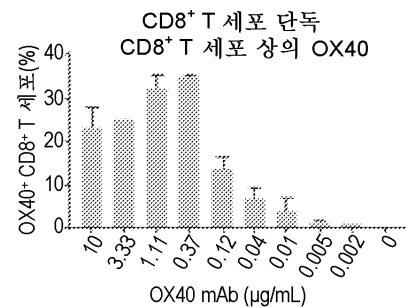
도면33g



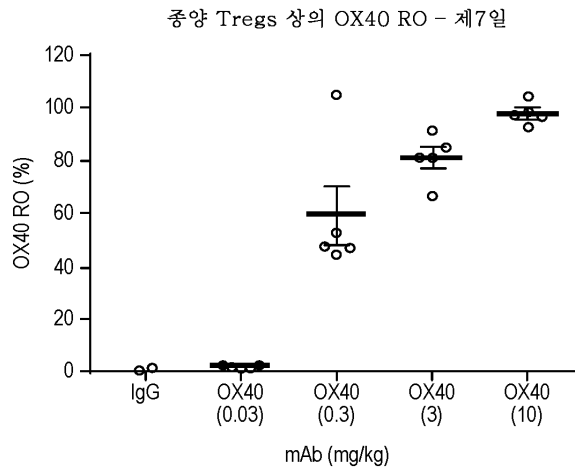
도면33h



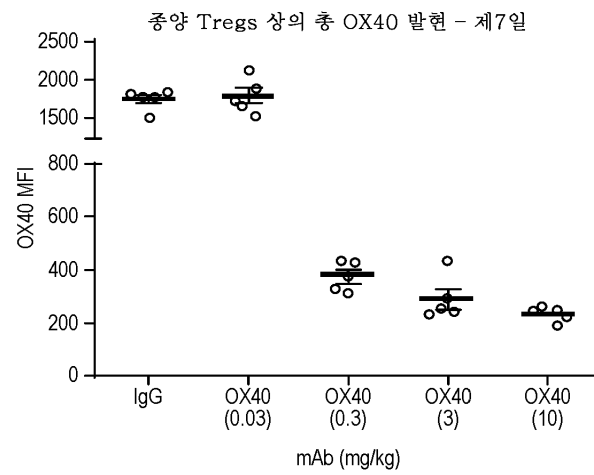
도면33i



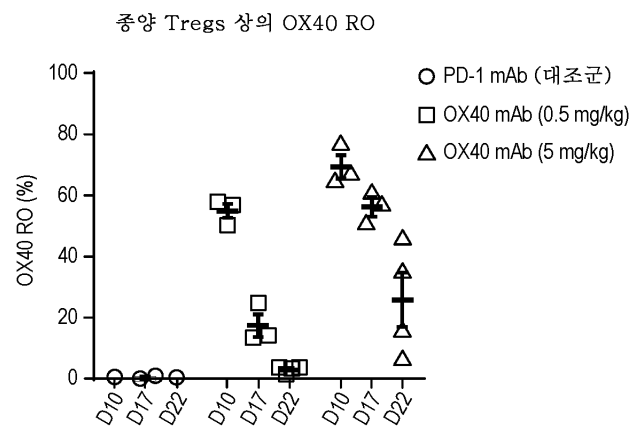
도면34a



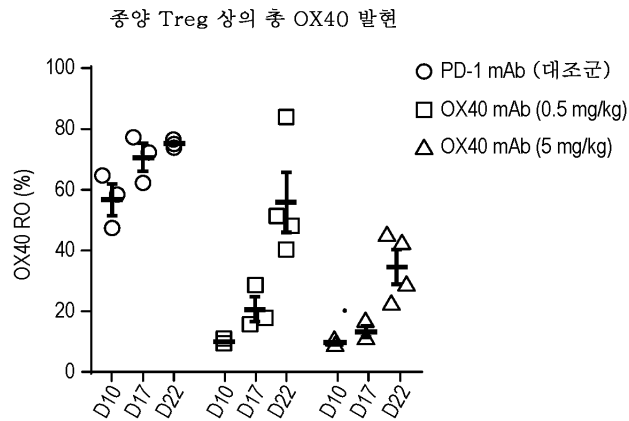
도면34b



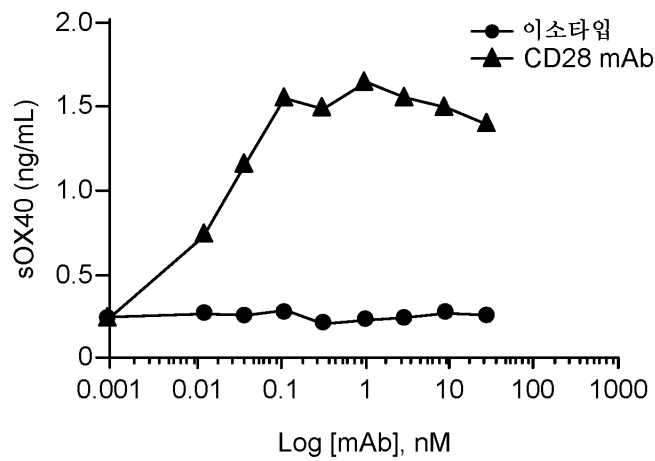
도면34c



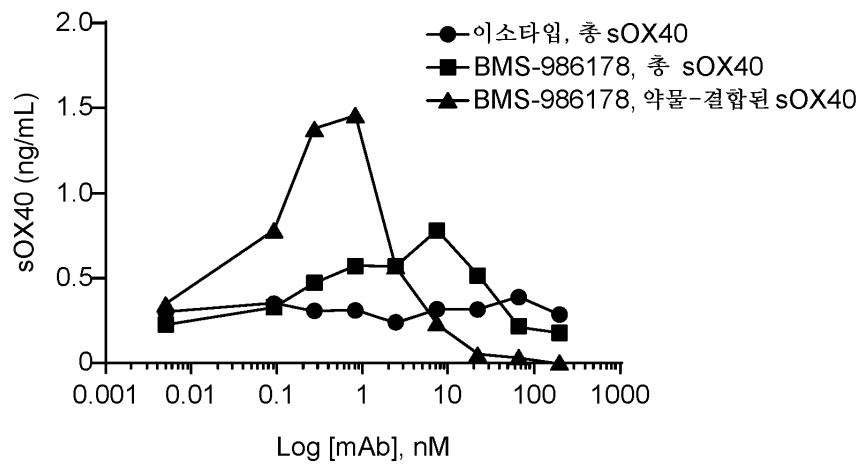
도면34d



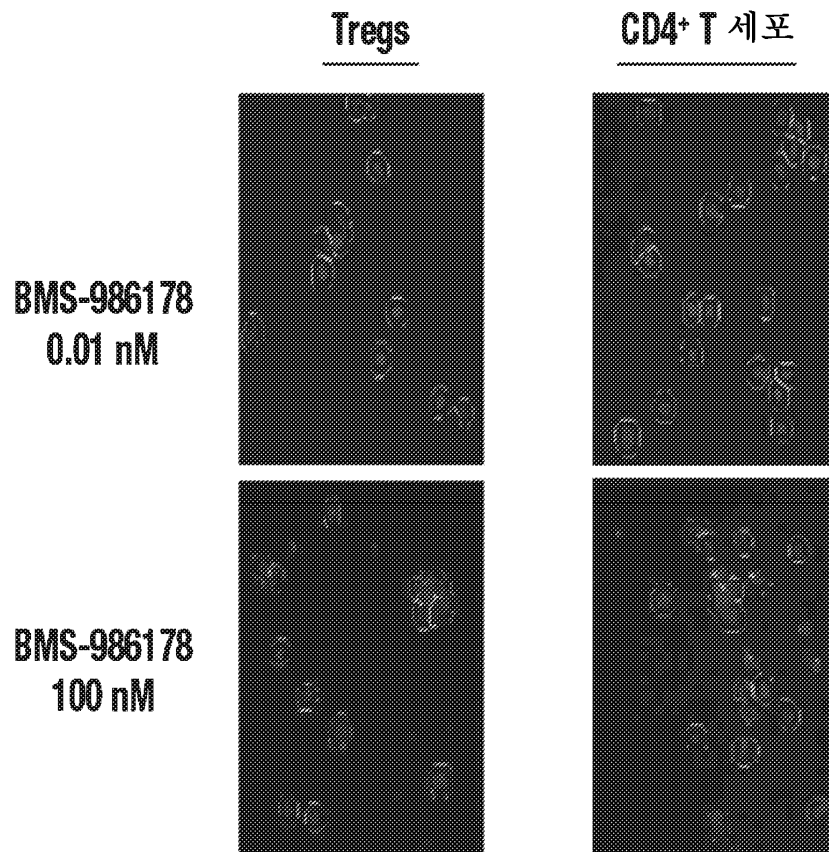
도면35a



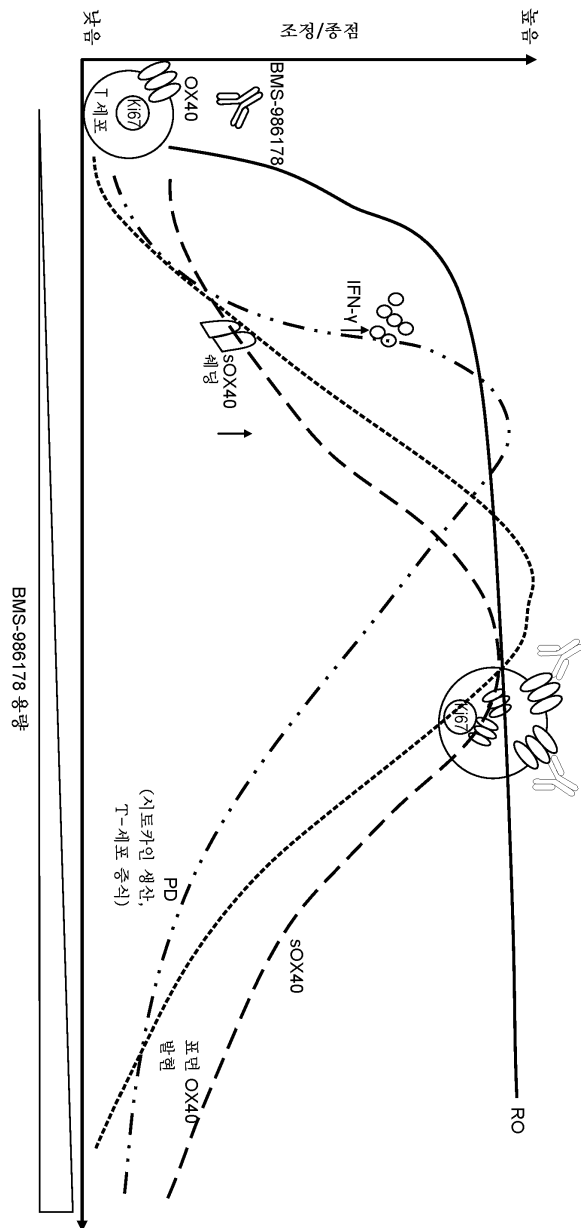
도면35b



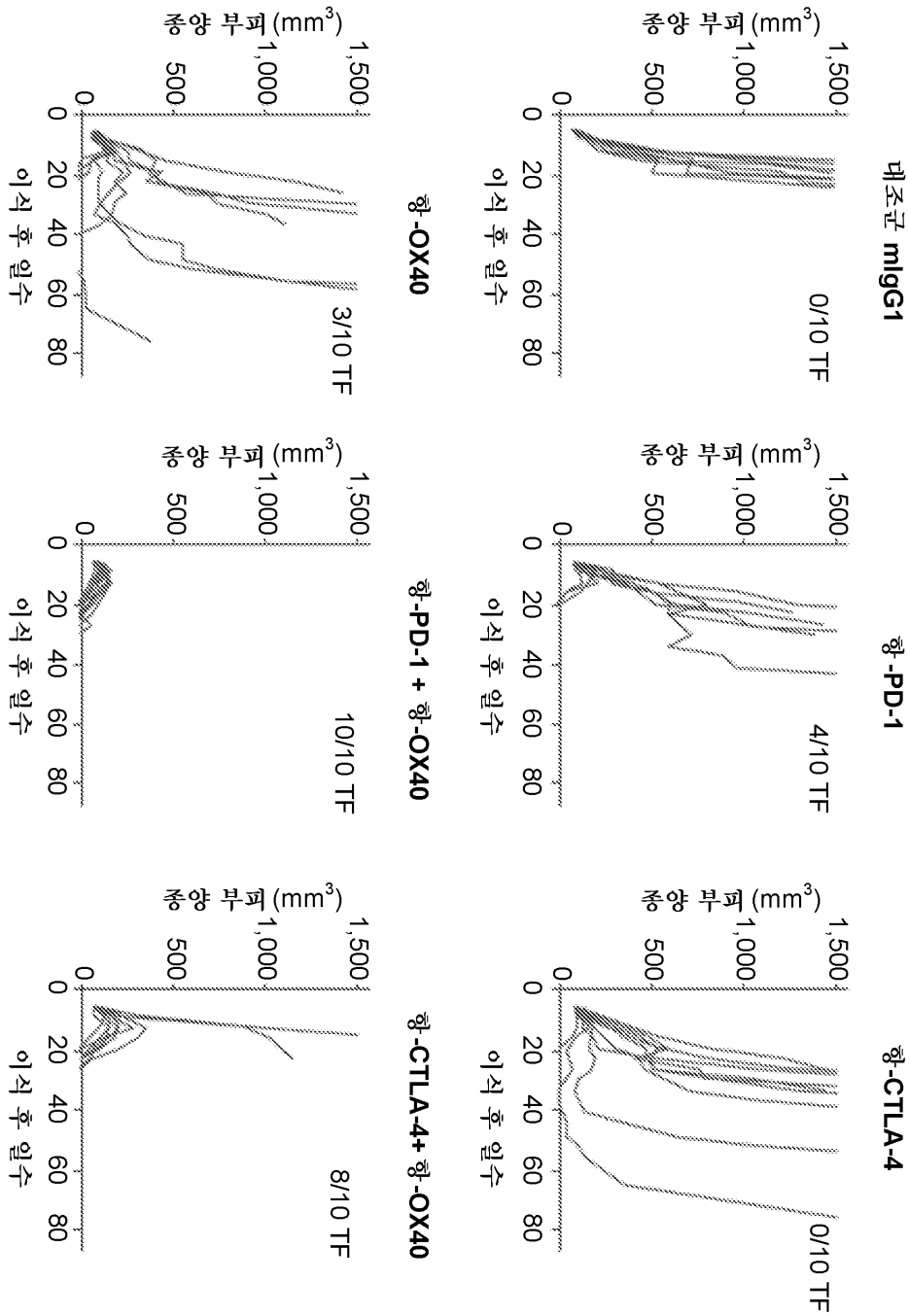
도면36



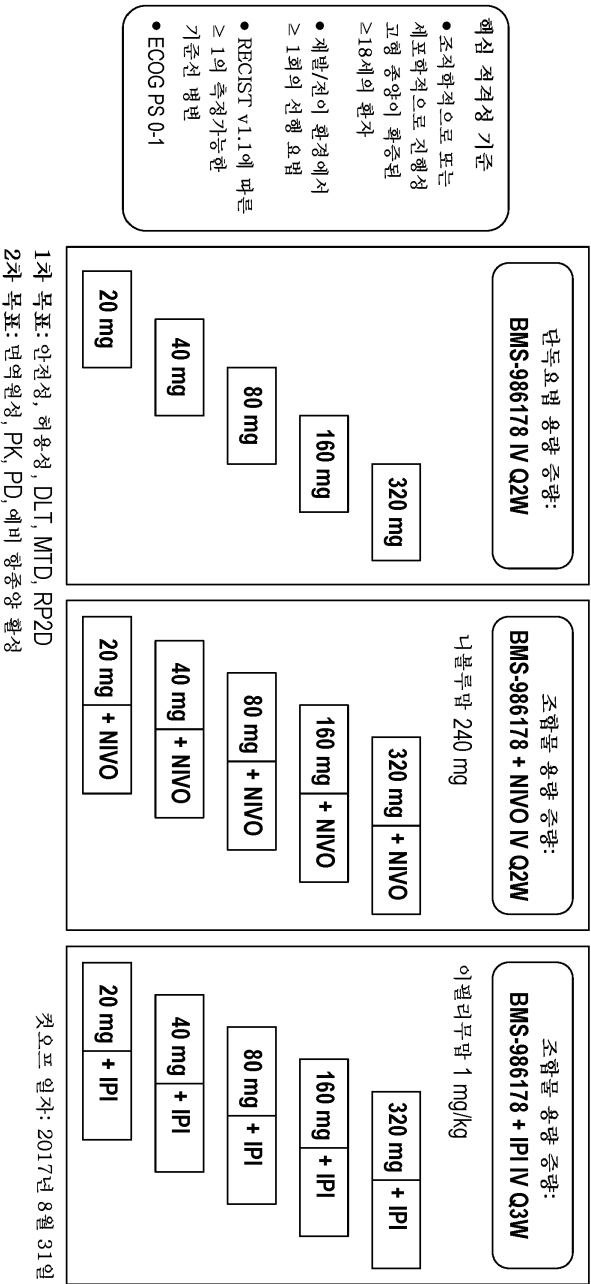
도면37



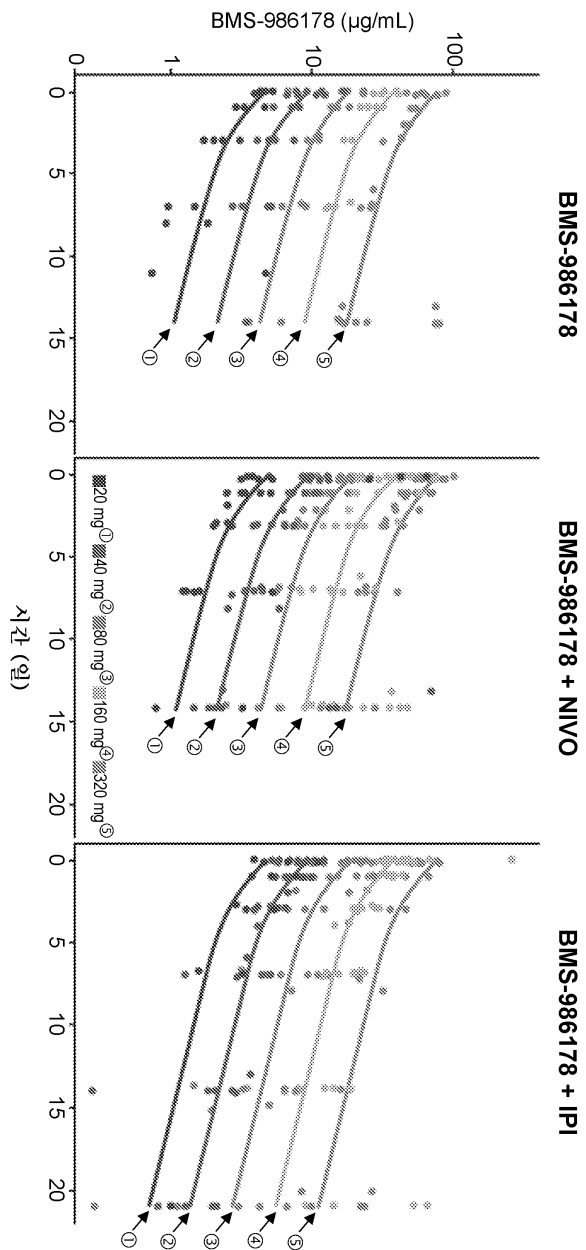
도면38



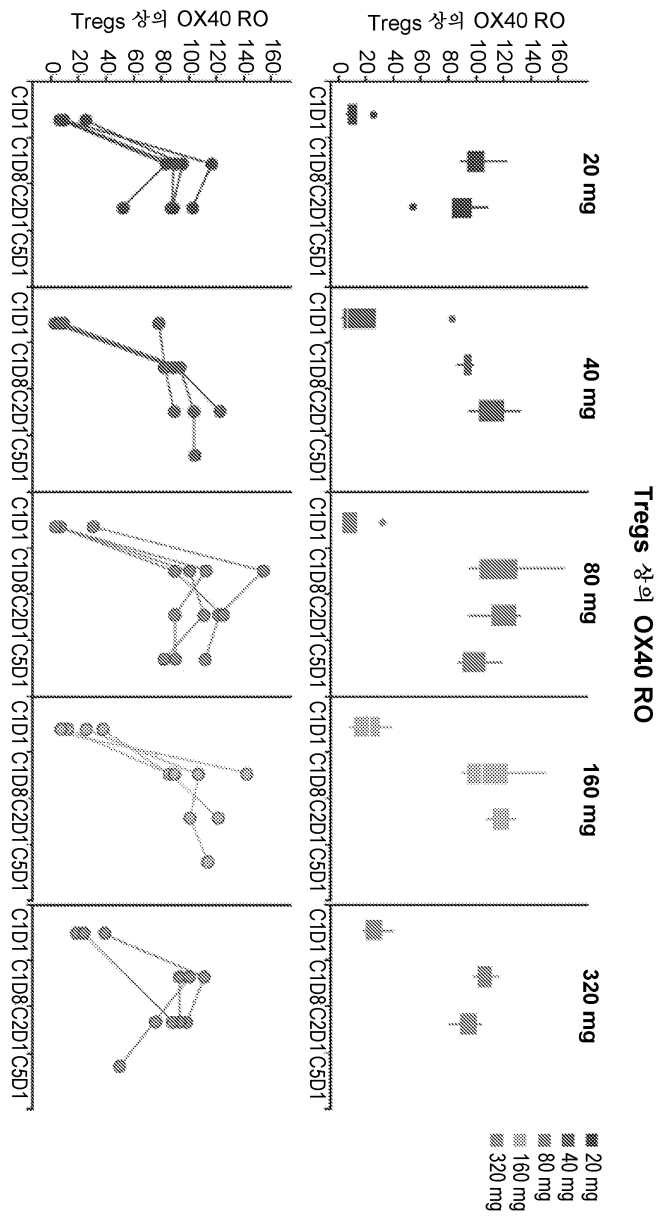
도면39



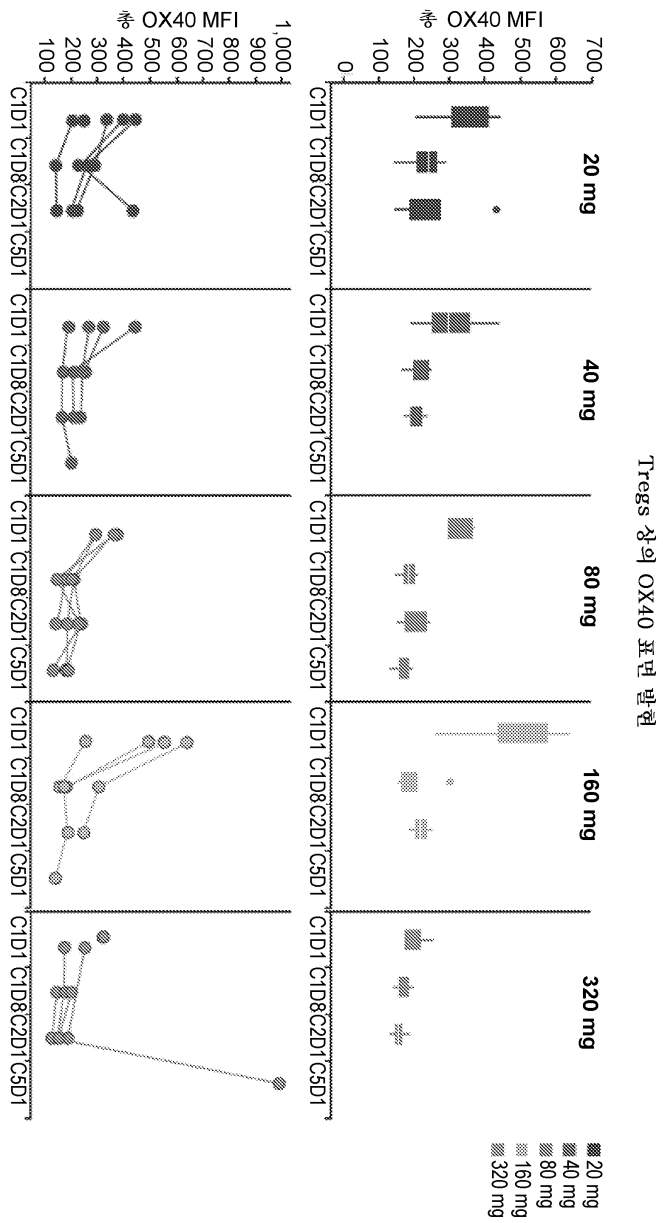
도면40



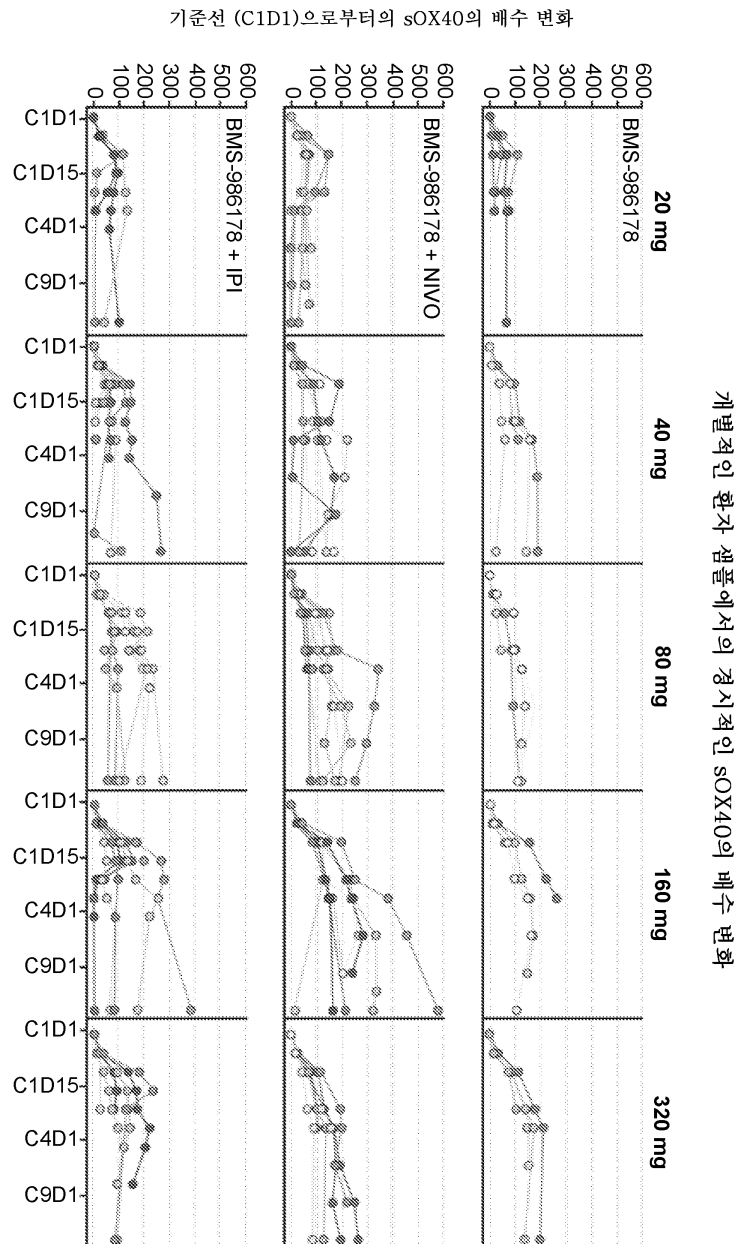
도면41



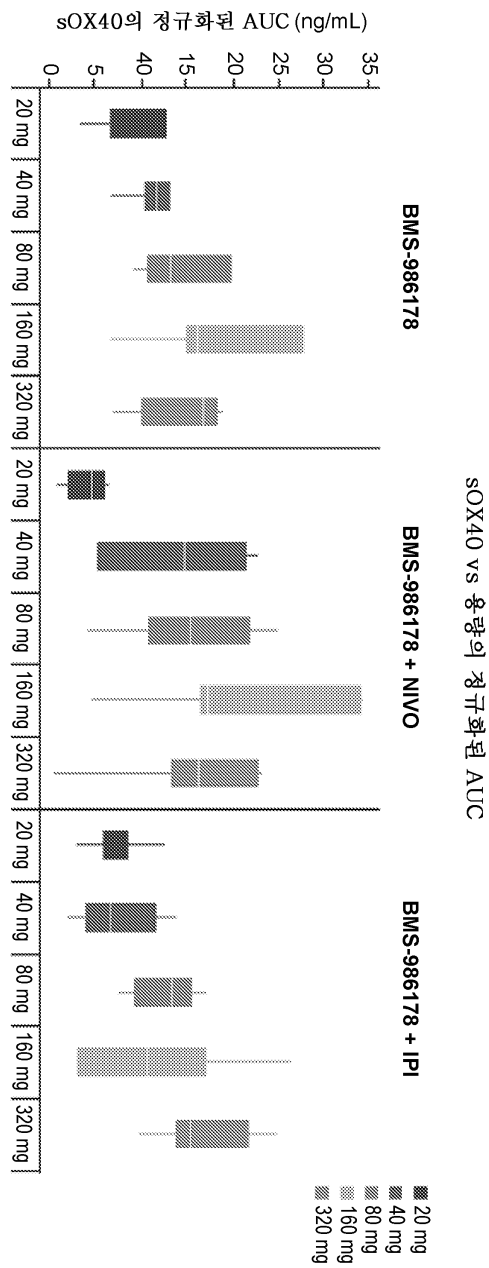
도면42



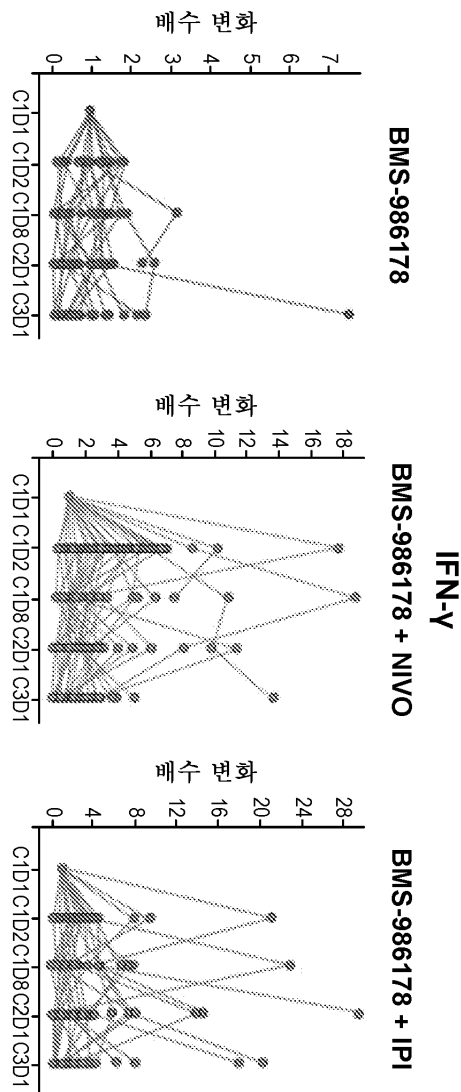
도면43a



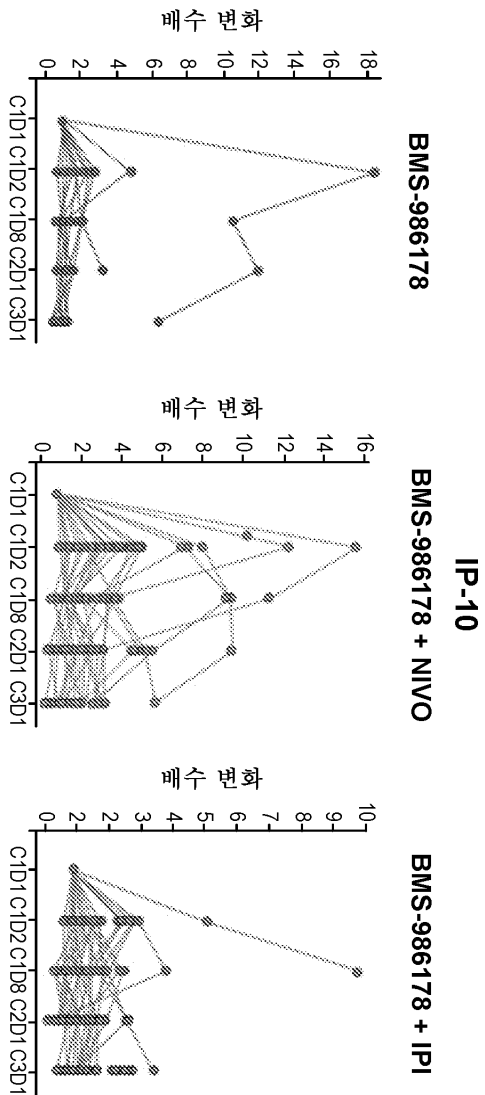
도면43b



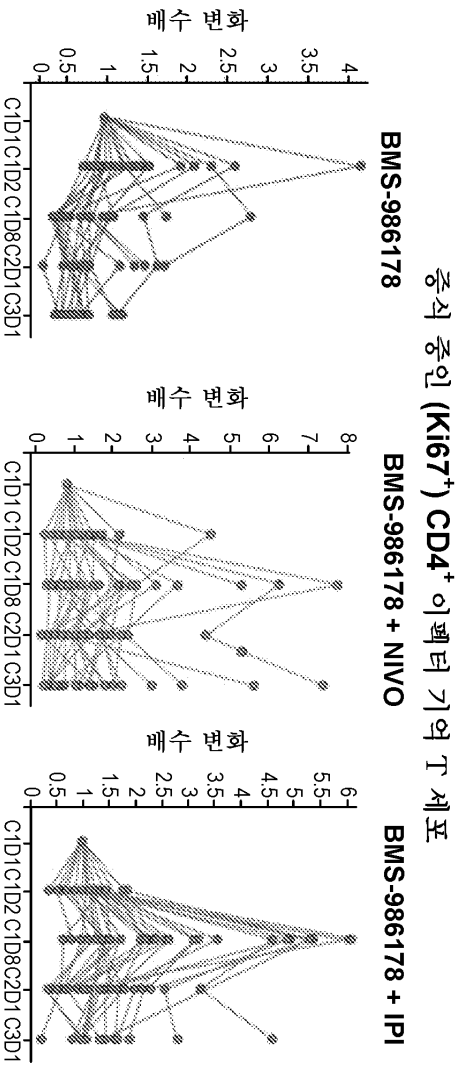
도면44a



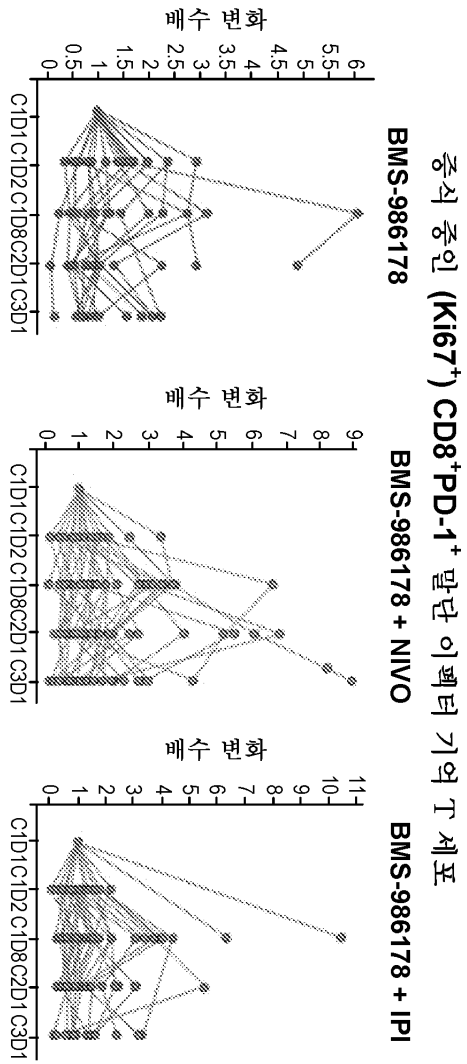
도면44b



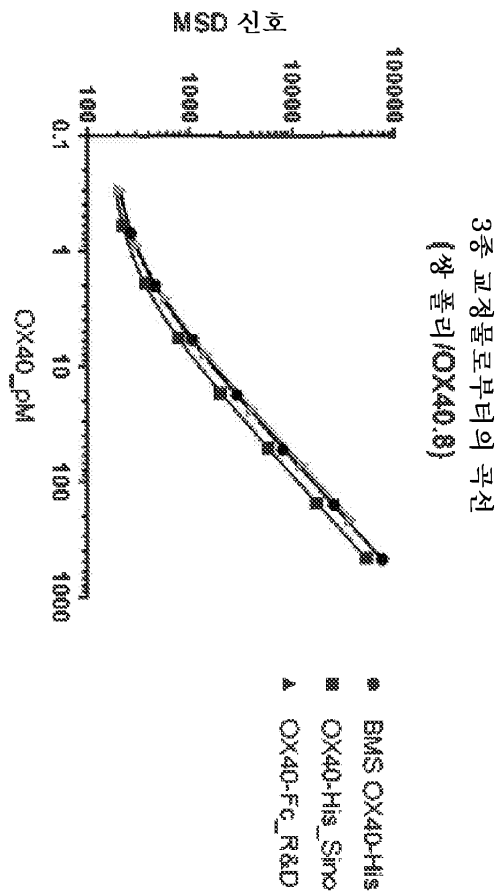
도면45a



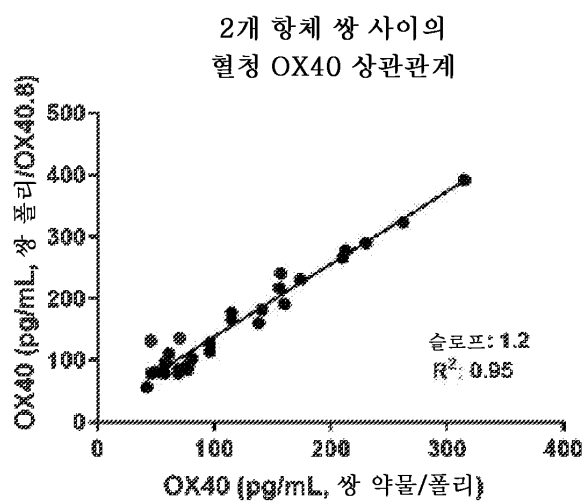
도면45b



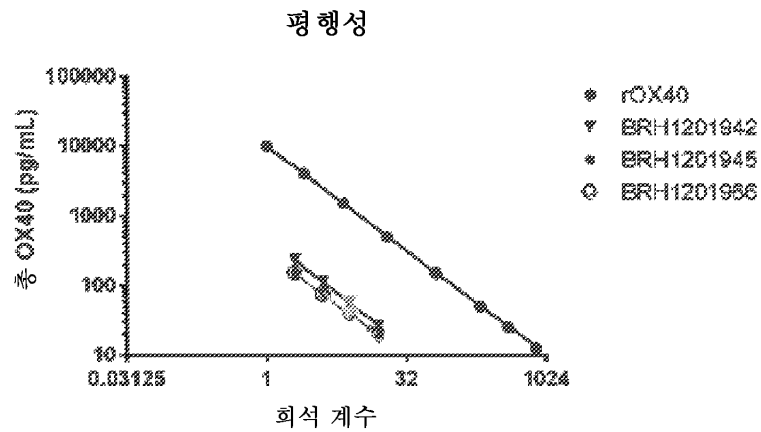
도면46a



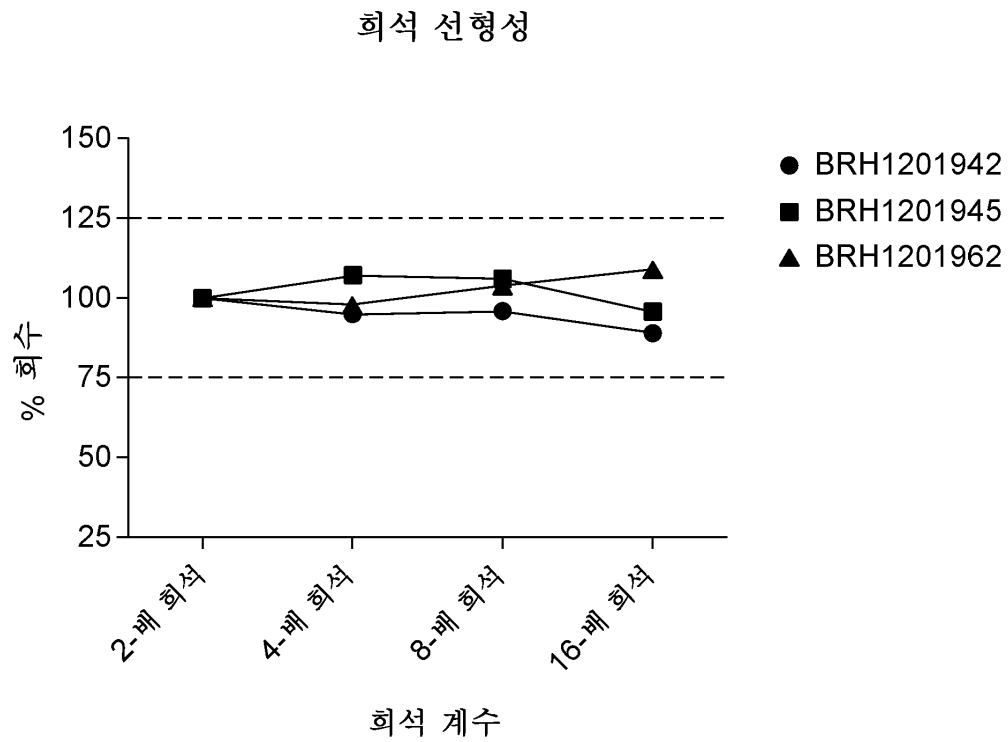
도면46b



도면46c

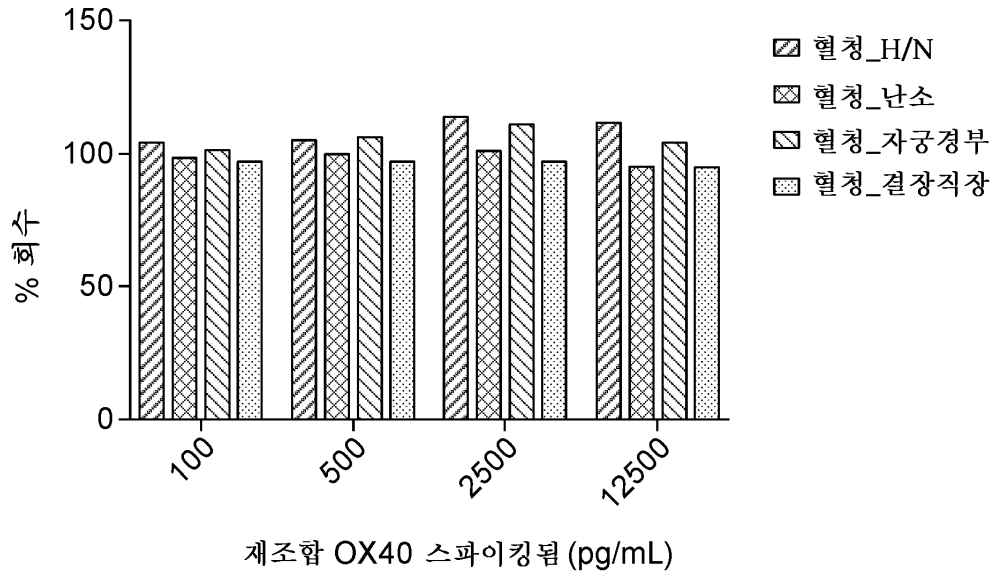


도면46d

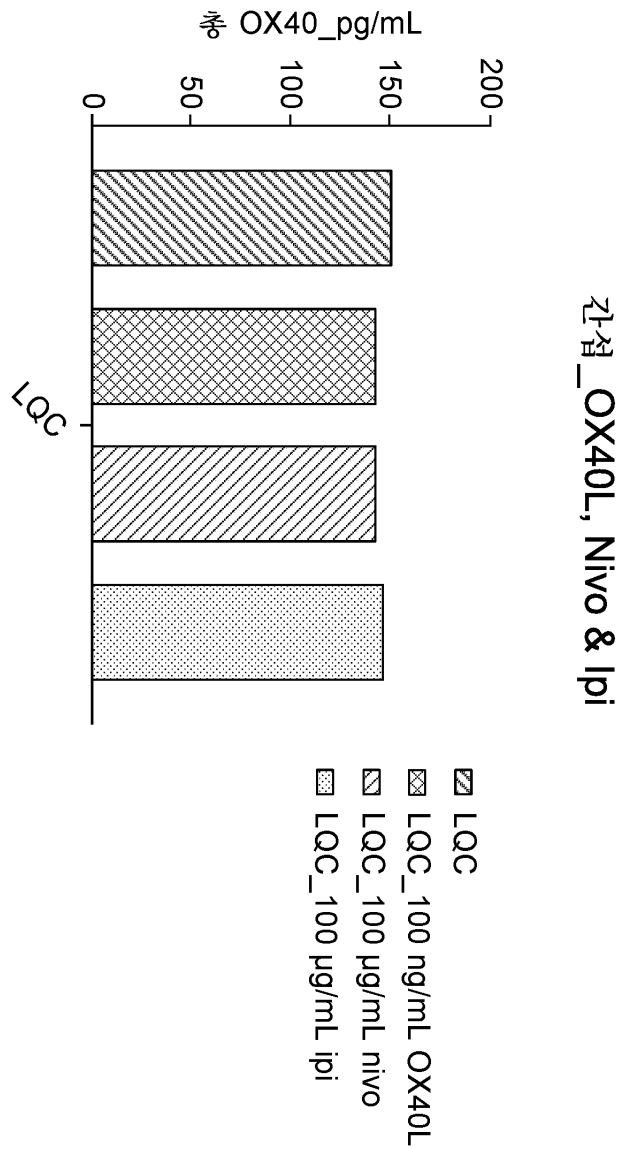


도면46e

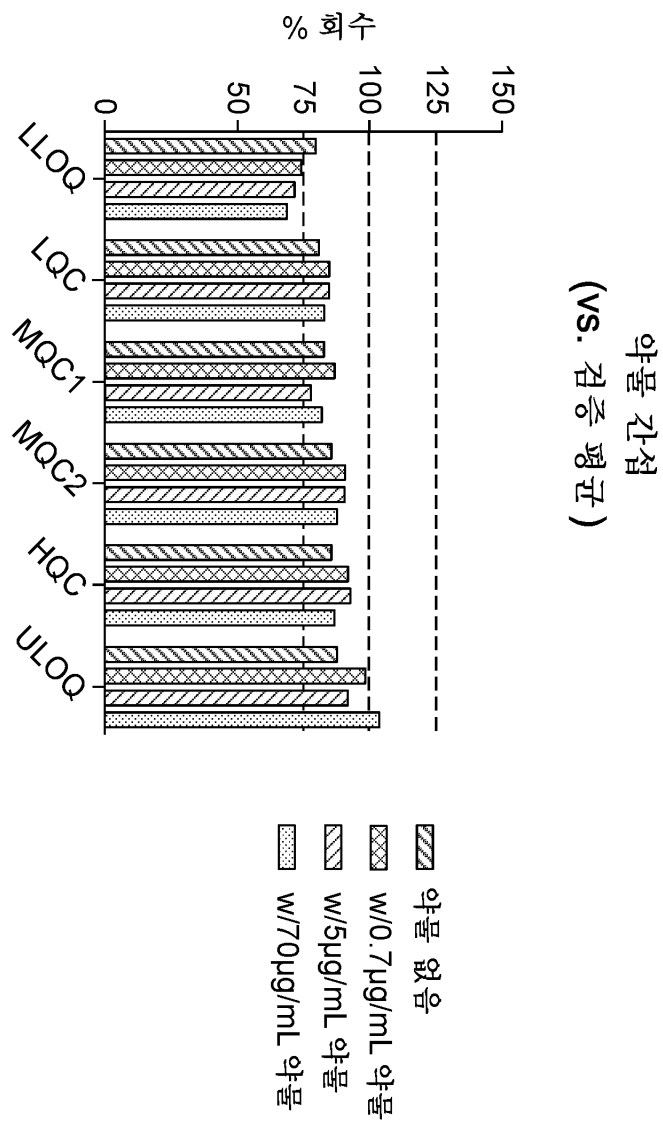
선택성



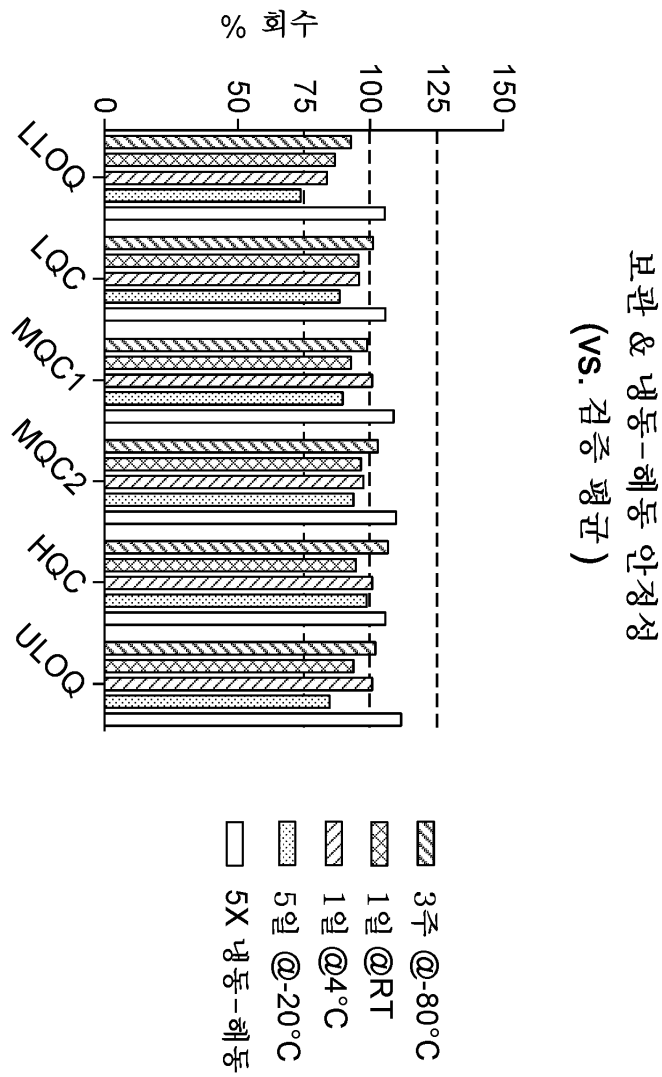
도면46f



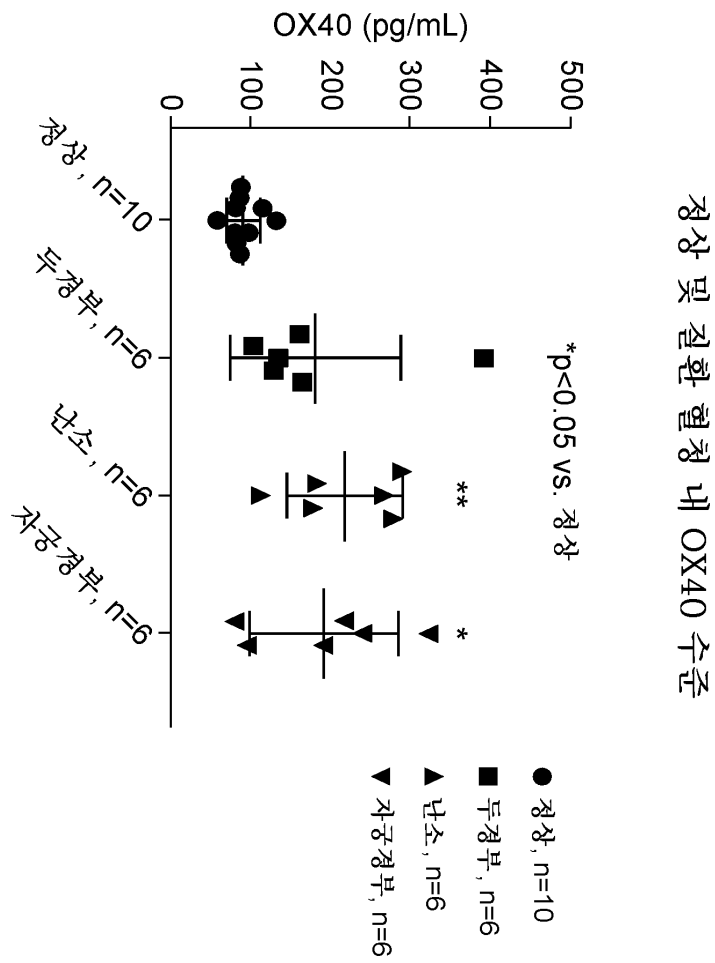
도면46g



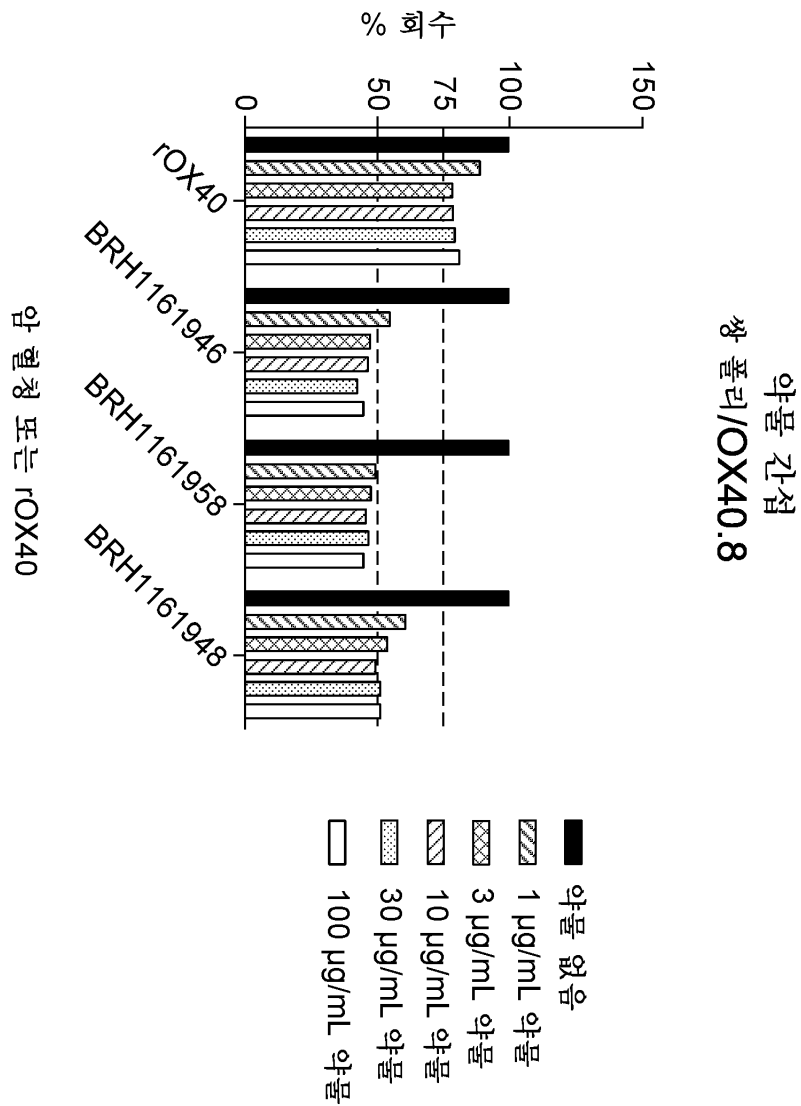
도면46h



도면47



도면48



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> IMMUNOSTIMULATORY AGONISTIC ANTIBODIES FOR USE IN TREATING CANCER

<130> 3338.115PC06

<150> 62/657,616

<151> 2018-04-13

<150> 62/628,207

<151> 2018-02-08

<150> 62/583,808

<151> 2017-11-09

<150> 62/581,905
 <151> 2017-11-06
 <150> 62/581,441
 <151> 2017-11-03
 <150> 62/580,346
 <151> 2017-11-01
 <160> 33
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 277
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Human OX40 precursor

<400> 1

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu

1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val

20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro

35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys

50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro

65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys

85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp

130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
 145 150 155 160
 Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
 165 170 175
 Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
 180 185 190

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

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270
 Thr Leu Ala Lys Ile
 275

<210> 2

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Extracellular domain of mature human OX40

<400> 2

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

Asn Thr Val Cys Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val
 35 40 45
 Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly
 50 55 60

Ser Glu Arg Lys Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg
 65 70 75 80
 Cys Arg Ala Gly Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp
 85 90 95

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

Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr
 165 170 175
 Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala
 180 185

<210> 3

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cynomolgus OX40

<400> 3

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

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

Cys Lys Ala Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys

85 90 95

Gln Pro Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Pro Thr Gln Pro

165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Thr Thr Val Gln Pro Thr

180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Arg Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu

195 200 205

Val Pro Arg Gly Pro Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Ala

210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Met Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu

225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala Pro Lys Ala Pro Gly Gly

245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser

260 265 270

Ala Leu Ala Lys Ile

275

<210

> 4

<211> 183

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human OX40 L

<400> 4

Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg

1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln

20 25 30

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser

35 40 45

Thr Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val

50 55 60

Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln

65 70 75 80

Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn

85 90 95

Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu

100 105 110

Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln

115 120 125

Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr

130 135 140

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu

145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn

165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu

180

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHCDR1

<400> 5

Ser Tyr Ala Met Tyr

1 5
 <210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VHCDR2
 <400> 6

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

1 5 10 15
 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VHCDR3
 <400> 7

Leu Gly Glu Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr

1 5
 <210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VLCDR1
 <400> 8

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10
 <210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VLCDR2
 <400> 9

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5
 <210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VLCDR3

<400> 10

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 11

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Leu Gly Glu Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210>

> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL

<400> 12

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 Arg Ser Asn Trp Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 13

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HC

<400>

> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala			
	85	90	95
Arg Leu Gly Glu Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
	100	105	110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu			
	115	120	125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys			
	130	135	140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser			
	145	150	155
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
	165	170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
	180	185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
	195	200	205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
	210	215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
	225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
	245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
	260	265	270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
	275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
	290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
	305	310	315
			320

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

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

<210> 14

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LC

<400> 14

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 Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 15

Asp Val Val Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu
1 5 10 15

Arg

<210> 16

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain nivolumab

<400> 16

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

1 5 10 15

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 80

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> 17

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain nivolumab

<400> 17

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> 18

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain variable region nivolumab

<400> 18

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

1	5	10	15
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	80
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			

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain variable region nivolumab

<400> 19

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

100 105

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR1 nivolumab

<400> 20

Asn Ser Gly Met His

1 5

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR2 nivolumab

<400> 21

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 22

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR3 nivolumab

<400> 22

Asn Asp Asp Tyr

1

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR1 nivolumab

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR2 nivolumab

<400> 24

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR3 nivolumab

<400> 25

Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg Thr

1 5

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain variable region ipilimumab

<400> 26

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

1 5 10 15

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain variable region

<400> 27

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

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

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

100	105
<210> 28	
<211> 5	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> HCDR1 ipilimumab	
<400> 28	
Ser Tyr Thr Met His	
1	5
<210> 29	
<211> 17	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> HCDR2 ipilimumab	
<400> 29	
Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
1	5 10 15
Gly	
<210> 30	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> HCDR3 ipilimumab	
<400> 30	
Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr	
1	5
<210> 31	
<211> 12	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> LCDR1 ipilimumab	
<400> 31	

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

1 5 10

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR2 ipilimumab

<400> 32

Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR3 ipilimumab

<400> 33

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr

1 5